

ANALISIS PERBEDAAN JUMLAH SEL FIBROBLAS SEBELUM DAN
SETELAH PEMBERIAN ETANOL PADA PROSES REMODELING TULANG
SELAMA APLIKASI GAYA ORTODONTI PADA TIKUS WISTAR (*Rattus
norvegicus*): STUDI IN VIVO

ANALYSIS OF FIBROBLAST CELL COUNTS BEFORE AND AFTER
ETHANOL EXPOSURE DURING ORTHODONTIC FORCE-INDUCED BONE
REMODELLING IN WISTAR RATS (*Rattus norvegicus*): AN IN VIVO STUDY



NUR RAUDHAH IHSANIYAH BIALANGI

J055221004

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS ORTODONTI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2025



Optimized using
trial version
www.balesio.com

**ANALISIS PERBEDAAN JUMLAH SEL FIBROBLAS
SEBELUM DAN SETELAH PEMBERIAN ETANOL PADA
PROSES REMODELING TULANG SELAMA APLIKASI GAYA
ORTODONTI PADA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*):
STUDI IN VIVO**

**NUR RAUDHAH IHSANIYAH BIALANGI
J055221004**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS ORTODONTI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2025**

**ANALYSIS OF FIBROBLAST CELL COUNTS BEFORE AND
AFTER ETHANOL EXPOSURE DURING ORTHODONTIC
FORCE-INDUCED BONE REMODELLING IN WISTAR RATS
(*Rattus norvegicus*): AN IN VIVO STUDY**

**NUR RAUDHAH IHSANIYAH BIALANGI
J055221004**



**PROGRAM STUDY OF ORTHODONTIC SPECIALIST
FACULTY OF DENTISTRY
HASANUDDIN UNIVERSITY
MAKASSAR
2025**



**ANALISIS PERBEDAAN JUMLAH SEL FIBROBLAS
SEBELUM DAN SETELAH PEMBERIAN ETANOL PADA
PROSES REMODELING TULANG SELAMA APLIKASI GAYA
ORTODONTI PADA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*):
STUDI IN VIVO**

Tesis
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mempeoleh Gelar Dokter Gigi Spesialis
Ortodonti

Porgram Studi Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ortodonti

Disusun dan diajukan oleh

NUR RAUDHAH IHSANIYAH BIALANGI
J055221004

Kepada

Pembimbing 1 : Dr. drg. Ardiansyah S. Pawinru., Sp.Ort, Subs. DDTK (K)

Pembimbing 2 : drg. Donald R. Nahusona,., M.Kes., Sp.Ort.

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS ORTODONTI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2025**



TESIS

ANALISIS PERBEDAAN JUMLAH SEL FIBROBLAS SEBELUM DAN SETELAH PEMBERIAN ETANOL PADA PROSES REMODELING TULANG SELAMA APLIKASI GAYA ORTODONTI PADA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*): STUDI IN VIVO

Disusun dan Diajukan Oleh

NUR RAUDHAH IHSANUVAH BIALANGI

J055221004

Pembimbing I

Pembimbing II

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

NIP. 197908192006041001

drg. Donald R. Nahusona, drg., M.Kes., Sp.Ort

NIP. 196307181990021002

Mengetahui

Ketua Program Studi (KPS)

PPSGS Ortodonti FKG UNHAS



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

NIP. 197908192006041001

PENGESAHAN TESIS

ANALISIS PERBEDAAN JUMLAH SEL FIBROBLAS SEBELUM DAN SETELAH PEMBERIAN ETANOL PADA PROSES REMODELING TULANG SELAMA APLIKASI GAYA ORTODONTI PADA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*): STUDI IN VIVO

Disusun dan diajukan oleh

NUR RAUDHAH IHSANIYAH BIALANGI

Nomor Pokok 221004

telah dipertahankan di Depan Panitia Ujian Tesis

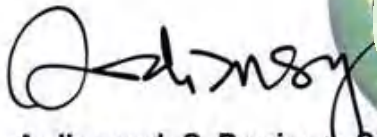
pada tanggal 15 Juli 2025

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Makassar, 16 Juli 2025

Pembimbing I

Pembimbing II



Dr. drg. Ardiansyah S. Pawinru, Sp.Ort, Subsp. DDTK (K) drg. Donald R. Nahusona, drg., M.Kes., Sp.Ort
NIP. 197908192006041001 NIP. 196307181990021002

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin

Mengetahui

Ketua Program Studi (KPS)
Prodi Ortodonti FKG UNHAS



drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D. Sp. RKG
NIP. 198102152006011009

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

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS ILMIAH

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nur Raudhah Ihsaniyah Bialangi

NIM : J055221004

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, 16 Juli 2025

A handwritten signature in black ink is written over a yellow 10000 Rupiah stamp. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'REPUBLIK INDONESIA', '10000', and 'SERI EF5ANX179150617'. The signature is fluid and cursive.

Nur Raudhah Ihsaniyah Bialangi



Optimized using
trial version
www.balesio.com

PRAKATA

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 perbedaan jumlah sel fibroblas sebelum dan setelah pemberian etanol pada proses remodeling tulang selama aplikasi gaya ortodonti pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*): studi 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. Sp. RKG**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
3. **drg. Baharuddin, Sp.Ort., Subsp. DDPK (K)**, selaku Penasehat Akademik atas bimbingan, perhatian, nasehat dan dukungan bagi penulis selama mengikuti pendidikan dijenjang Spesialis Ortodonti-1 di Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
4. **Dr. drg. Ardiansyah S. Pawinru, Sp.Ort, Subsp. DDTK (K)**, selaku Ketua Program Studi (KPS) Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ortodonti dan dosen PPDGS Ortodonti FKG Unhas, yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya dengan penuh keikhlasan serta memberikan dukungan moril kepada penulis dalam menyelesaikan Pendidikan Spesialis di bidang Ortodonti,
5. **Dr. drg. Eddy Herianto Habar, Sp.Ort, Subsp. DDPK (K)**, selaku Kepala Departemen Ortodonti dan dosen PPDGS Ortodonti FKG Unhas, yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya dengan penuh keikhlasan serta memberikan dukungan moril kepada penulis dalam menyelesaikan Pendidikan Spesialis di bidang Ortodonti,



6. **Dr. drg. Ardiansyah S. Pawinru, Sp.Ort, Subsp. DDTK (K), drg. Donald R. Nahusona, M.Kes., Sp.Ort.**, selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya dengan penuh keikhlasan untuk membantu, membimbing, dan memberikan dukungan moril kepada penulis dalam menyelesaikan karya tulis ini,
7. **Dr. drg. Eka Erwansyah, MKes, SpOrt, Subsp.DDTK(K), drg. Zilal Islamy Paramma, Sp. Ort., Subsp. DDTK (K), drg. Nasyrh Hidayati, M.KG., Sp.Ort. Subsp. DDPK (K), drg. Ita Purnama Alwi, 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,
8. Kedua orangtua, ayahanda **dr. Triyanto S. Bialangi, M.Kes**, serta ibunda **Herlinawati Habibie, S.Pd, M.Pd** yang telah memberikan kasih sayang, doa dan segala dukungan dalam bentuk moril dan materil yang tidak dapat tergantikan dengan apapun.
9. Saudaraku tersayang **dr. Agung Multazam Putranto Bialangi, dr. Alif Akbar Bialangi, Kasyful Anwar Bialangi** yang telah memberikan kasih sayang, doa dan segala dukungan dalam bentuk moril dan materil yang tidak dapat tergantikan dengan apapun serta penyemangat untuk segera menyelesaikan sekolah tepat waktu,
10. Teman-teman angkatan VI PPDGS Ortodonti **drg. Nadia Setiawati Widjaja, drg. Pepi Riyani Siregar, drg. Fadilah Abdullah, drg. Dessy Maya Kartika Eka Putri , drg. Aulya Maysita Syahputri Arif, drg. Rezki Nur Asma, drg. Bonytasari Wibowoningrum**, atas bantuan, doa, dan dukungannya selama menempuh pendidikan PPDGS,
11. Senior PPDGS Ortodonti, angkatan **I, II, III, IV, V dan Junior VII, VIII, IX, X, XI** yang telah banyak memberi dukungan selama menempuh pendidikan bersama,
12. Serta semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam segala hal kepada penulis sampai saat ini hingga selesainya penyusunan tesis ini, Kiranya Allah SWT selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada orang-orang yang telah disebutkan di atas, dan semoga tesis ini bermanfaat bagi banyak orang.

Makassar, 16 Juli 2025

Nur Raudhah Ihsaniyah Bialangi



ABSTRAK

Pendahuluan: Respon biologis jaringan periodontal terhadap gaya ortodonti berperan penting dalam efektivitas pergerakan gigi. Fibroblas memiliki peran sentral dalam proses remodeling ini. Namun, konsumsi etanol yang kerap dijumpai dalam praktik klinis telah dikaitkan dengan gangguan fungsi seluler dan keterlambatan regenerasi jaringan. Pemahaman terhadap pengaruh etanol terhadap aktivitas fibroblas selama aplikasi gaya ortodonti penting untuk mengoptimalkan hasil perawatan. **Tujuan:** Mengevaluasi dampak paparan sistemik etanol terhadap dinamika sel fibroblas selama remodeling tulang akibat gaya ortodonti. **Bahan dan Metode:** Sebanyak 40 ekor tikus jantan jenis Wistar dibagi menjadi dua kelompok: OF (hanya gaya ortodonti) dan OFE (gaya ortodonti dengan paparan etanol 20%). Masing-masing kelompok dibagi lagi berdasarkan waktu observasi (hari ke-0, 3, 7, dan 14). Gaya sebesar 50 gf (gram force) diaplikasikan menggunakan closed coil spring antara gigi insisivus dan molar pertama rahang atas. Analisis histologis dilakukan dengan pewarnaan hematoksilin-eosin, dan data dianalisis menggunakan uji ANOVA, uji lanjut LSD, dan uji t ($p < 0,05$). **Hasil:** Pada awal penelitian, jumlah fibroblas serupa antara kelompok ($p = 0,963$). Kelompok OF menunjukkan penurunan signifikan pada hari ke-3 yang diikuti pemulihan bertahap ($p = 0,000$), sementara kelompok OFE menunjukkan penurunan awal yang lebih kecil namun dengan jumlah fibroblas yang tetap tinggi ($p = 0,035$). Perbedaan antar kelompok signifikan pada hari ke-3 dan ke-7 ($p = 0,000$; $p = 0,023$), namun tidak signifikan pada hari ke-14 ($p = 0,104$), mengindikasikan resolusi yang tertunda pada kelompok OFE. **Kesimpulan:** Paparan etanol memengaruhi dinamika fibroblas selama remodeling tulang akibat gaya ortodonti, yang berpotensi memperpanjang fase inflamasi dan menunda proses perbaikan jaringan. Temuan ini menekankan pentingnya mempertimbangkan paparan etanol dalam perencanaan perawatan ortodonti.

Kata kunci: Remodeling tulang, Etanol, Fibroblas, Gaya ortodonti



ABSTRACT

Introduction: The biological response of periodontal tissues to orthodontic force is critical for effective tooth movement. Fibroblasts play a key role in this remodelling process. However, ethanol consumption frequently encountered in clinical settings has been linked to impaired cellular function and delayed tissue regeneration. Understanding its effect on fibroblast activity under orthodontic force is essential for optimising treatment outcomes.

Objective: To evaluate the impact of systemic ethanol exposure on fibroblast cell dynamics during orthodontic force-induced bone remodelling. **Materials and Methods:** Forty male Wistar rats were divided into two groups: OF (orthodontic force only) and OFE (orthodontic force with 20% ethanol). Each group was subdivided based on observation time points (days 0, 3, 7, and 14). A 50 gf (gram force) closed coil spring was applied between the maxillary incisor and first molar. Histological analysis with hematoxylin-eosin staining was performed, and data were analysed using ANOVA, LSD post hoc, and t-tests ($p < 0.05$).

Results: At baseline, fibroblast counts were comparable ($p = 0.963$). The OF group showed a significant reduction on day 3 with gradual recovery ($p = 0.000$), while the OFE group demonstrated a smaller initial decrease and persistently elevated fibroblast levels ($p = 0.035$). Intergroup differences were significant on days 3 and 7 ($p = 0.000$, $p = 0.023$), but not on day 14 ($p = 0.104$), indicating delayed resolution in the OFE group. **Conclusion:** Ethanol exposure altered fibroblast dynamics during orthodontic bone remodelling, potentially prolonging the inflammatory phase and delaying tissue repair. These findings highlight the importance of considering ethanol exposure in orthodontic treatment planning.

Keywords: Bone remodelling, Ethanol, Fibroblasts, Orthodontic force



DAFTAR ISI

SAMPUL	i
PENGESAHAN TESIS	vi
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS ILMIAH	vii
PRAKATA	viii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR DIAGRAM	xvii
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN	xviii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Pergerakan Ortodonti	2
1.2.1 Fase Pergerakan Gigi	2
1.2.2 Teori Pergerakan Gigi	3
1.2.3 Jenis Gaya Ortodonti	5
1.2.4 Besar Gaya Ortodonti	6
1.3 Respon Biologis Jaringan Periodontal terhadap Pergerakan Gigi Ortodonti	6
1.3.1 Fibroblas	8
1.3.1.1 Struktur dan Fungsi Fibroblas	10
1.3.1.2 Peran Fibroblas pada Ligamen Periodontal dalam Gerakan Gigi Ortodontik	10
1.3.1.3 Respon Fibroblas dalam Pergerakan Gigi Ortodonti	11
1.4 Etanol	17
1.4.1 Definisi Etanol	17
1.4.2 Pengaruh Etanol terhadap Sitemik	18
1.4.3 Pengaruh Etanol terhadap Pergerakan Gigi Ortodonti	18
1.4.3.1 Efek Etanol pada Fibroblas	20
1.4.3.2 Pengaruh Etanol pada Remodeling Jaringan	21
1.5 Hewan Coba	22
1.6 Kerangka Teori	23
1.7 Kerangka Konsep	24
1.8 Rumusan Masalah	25
Rumusan Penelitian	25
Manfaat Penelitian	25
Manfaat Ilmiah	25
Manfaat Aplikatif	25
Hipotesis	25



BAB II.....	26
METODE PENELITIAN	26
2.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	26
2.2 Waktu Penelitian	26
2.3 Lokasi Penelitian	26
2.4 Populasi dan Sampel Penelitian	26
2.4.1 Populasi Penelitian.....	26
2.4.2 Sampel Penelitian	26
2.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	27
2.5.1 Kriteria Inklusi.....	27
2.5.2 Kriteria Eksklusi.....	27
2.6 Identifikasi Variabel Penelitian	27
2.6.1 Variabel Bebas / Independen.....	27
2.6.2 Variabel Terikat / Dependen	27
2.6.3 Variabel Kendali	27
2.7 Definisi Operasional	28
2.8 Bahan dan Alat Penelitian.....	28
2.8.1 Bahan Penelitian	28
2.8.2 Alat Penelitian	28
2.9 Prosedur Penelitian	29
2.9.1 Persiapan <i>Ethical Clearance</i>	29
2.9.2 Persiapan dan Pembagian Kelompok Hewan Coba.....	30
2.9.3 Cara Kerja Penelitian	31
2.9.3.1 Pemasangan <i>closed coil spring</i>	31
2.9.3.2 Pemberian Etanol.....	31
2.9.3.3 Prosedur Pembuatan Preparat	32
2.9.3.4 Pengamatan dengan Menggunakan Metode HE.....	33
2.9.3.5 Pengolahan Data	34
2.10 Analisis Data	34
4.11 Alur Penelitian	35
BAB III.....	36
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
3.1 Hasil	36
3.1.1 Gambaran Histologis Fibroblas.....	36
3.1.2 Uji Statistik Jumlah Sel Fibroblas.....	40
Pembahasan	44
Pengaruh Gaya Ortodonti dan Etanol terhadap Jumlah Sel Fibroblas.....	46
1 Hari ke-0: Kondisi Awal yang Seimbang.....	46
2 Hari ke-3: Fase Inisiasi dan Penurunan Drastis Fibroblas.....	46



3.2.1.3 Hari ke-7: Fase Lag dan Awal Pemulihan	46
3.2.1.4 Hari ke-14: Fase Remodeling dan Perbedaan Respon Jaringan	47
3.2.2 Analisis Perbedaan Jumlah Fibroblas Antar Waktu dalam Tiap Kelompok.....	48
3.2.2.1 Kelompok Gaya (K).....	48
3.2.2.2 Kelompok Gaya + Etanol (P)	49
3.2.3 Perbandingan Jumlah Sel Fibroblas Antar Kelompok pada Berbagai Waktu Observasi	50
3.3 Keterbatasan Penelitian.....	52
BAB IV	53
KESIMPULAN DAN SARAN.....	53
4.1 Kesimpulan	53
4.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	63
Lampiran 1. Persetujuan Etik.....	64
Lampiran 2. Surat Izin Pembimbing	65
Lampiran 3. Surat Izin Penelitian.....	66
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian	67
Lampiran 5. Hasil Analisis Statistik	71



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Tabel Besar Gaya untuk Pergerakan Gigi Ortodonti	6
Tabel 2.1 Kelompok Hewan Coba	30
Tabel 3.1 Rerata Jumlah Sel Fibroblas Tiap Waktu Pengamatan dalam Kelompok Gaya (K) dan Gaya+Etanol (P) (Uji ANOVA Satu Arah)	40
Tabel 3.2 Hasil Uji Post Hoc LSD Jumlah Sel Fibroblas antar Hari Pengamatan dalam Kelompok Gaya (K) dan Gaya+Etanol (P)	42
Tabel 3.3 Perbandingan Jumlah Sel Fibroblas Antarkelompok Gaya (K) dan Gaya+Etanol (P) pada Hari ke-0, 3, 7, dan 14 (Uji t-Independen).....	42
Tabel 3.4 Analisis Lanjutan Jumlah Sel Fibroblas Antarkelompok dan Waktu antara Gaya (K) dan Gaya+Etanol (P) (Uji Post Hoc LSD)	43
Tabel 3.5 Hasil Uji ANOVA Dua Arah Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Berdasarkan Variabel Hari dan Kelompok	44



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Tiga tahap pergerakan gigi berdasarkan Burstone	3
Gambar 1.2 Tiga tahap pergerakan gigi berdasarkan Burstone	5
Gambar 1.3 Komponen periodonsium Tipe dari dasar kelompok serat yang dibedakan berdasarkan warna	7
Gambar 1.4 Mekanisme aktivasi fibroblas pada ligamen periodontal.....	8
Gambar 1.5 Fibroblas dan jenis sel struktural lainnya	9
Gambar 1.6 Pergerakan Gigi Ortodonti.....	12
Gambar 1.7 Proses Transduksi dari Beban Mekanis ke Sinyal Biologis	13
Gambar 1.8 Mekanisme hipotetis transduksi sinyal mekanis dalam PDL.....	14
Gambar 1.9 Mekanisme Molekuler yang Mengatur Pembentukan dan Aktivitas Osteoklas	15
Gambar 1.10 Regulasi Diferensiasi Osteoblas	16
Gambar 2.1 Regulasi Diferensiasi Osteoblas	31
Gambar 3.1 Jumlah sel fibroblas hari ke-0 dengan pengamatan Haematoxylin Eosin (HE) sebelum pemberian etanol dan aplikasi gaya ortodonti.....	36
Gambar 3.2 Jumlah sel fibroblas hari ke-3 dengan pengamatan Haematoxylin Eosin (HE) setelah pemberian gaya ortodonti tanpa etanol.....	37
Gambar 3.3 Jumlah sel fibroblas hari ke-3 dengan pengamatan Haematoxylin Eosin (HE) setelah pemberian gaya ortodonti tanpa etanol.....	37
Gambar 3.4 Jumlah sel fibroblas hari ke-14 dengan pengamatan Haematoxylin Eosin (HE) setelah pemberian gaya ortodonti tanpa etanol.....	38
Gambar 3.5 Jumlah sel fibroblas hari ke-3 dengan pengamatan Haematoxylin Eosin (HE) setelah pemberian etanol dan aplikasi gaya ortodonti.....	38
Gambar 3.6 Jumlah sel fibroblas hari ke-7 dengan pengamatan Haematoxylin Eosin (HE) setelah pemberian etanol dan aplikasi gaya ortodonti.....	39
Gambar 3.7 Jumlah sel fibroblas hari ke-14 dengan pengamatan Haematoxylin Eosin (HE) setelah pemberian etanol dan aplikasi gaya ortodonti.....	39



DAFTAR DIAGRAM

Diagram 3.1 Perbandingan Jumlah Sel Fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan pada hari ke-3, hari ke - 7 dan hari ke-14.	40
Diagram 3.2 Jumlah Sel Fibroblas antar Hari Pengamatan dalam Kelompok Gaya (K) dan Gaya+Etanol (P)	42
Diagram 3.3 Jumlah Sel Fibroblas Antarkelompok dan Waktu antara Gaya (K) dan Gaya+Etanol (P).....	44



DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

Istilah/Singkatan	Kepanjangan/Pengertian
α	Alpha (taraf signifikansi statistik)
ANOVA	Analysis of Variance, uji analisis varians
BTA	Basil Tahan Asam
CI	Confidence Interval (interval kepercayaan)
DNA	Deoxyribonucleic Acid
ECM	Extracellular Matrix (matriks ekstraseluler)
EtOH	Etanol (C_2H_5OH), alkohol yang digunakan pada penelitian
FKG	Fakultas Kedokteran Gigi
gf	Gram force (satuan gaya)
HE	Hematoxylin-Eosin, metode pewarnaan histologi
IL-1	Interleukin-1, sitokin pro-inflamasi
IL-6	Interleukin-6
LSD	Least Significant Difference, uji lanjut statistik post hoc
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase, jalur sinyal molekuler
mm	Milimeter
mm²	Milimeter persegi
MMP	Matrix Metalloproteinase, enzim degradasi matriks
OPG	Osteoprotegerin
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PDL	Periodontal Ligament (ligamen periodontal)
PDLcs	Periodontal Ligament Cells
RANKL	Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand
ROS	Reactive Oxygen Species
Runx2	Runt-related Transcription Factor 2, faktor transkripsi tulang
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences (software analisis data)
TGF-β	Transforming Growth Factor Beta
TNF-α	Tumor Necrosis Factor Alpha
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	World Health Organization



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Maloklusi adalah kondisi ketidaksejajaran gigi-geligi atau hubungan abnormal antara gigi atas (maksila) dan gigi bawah (mandibula) yang dapat memengaruhi fungsi oklusi normal (Göranson et al., 2023; Kolawole & Ayodele-Oja, 2021). Kondisi ini menjadi perhatian dalam bidang kedokteran gigi karena dampaknya terhadap kualitas hidup individu (El Ouali et al., 2023). Maloklusi juga dapat memengaruhi fungsi oklusi, kesehatan periodontal, dan estetika, dengan prevalensi global mencapai 39–93% tergantung pada populasi dan metode diagnosis yang digunakan (Habar E et al., 2021). *World Health Organization* (WHO) mengklasifikasikan maloklusi sebagai masalah kesehatan yang signifikan karena prevalensinya yang tinggi di berbagai negara, baik di negara maju maupun berkembang. Faktor penyebab maloklusi dapat mencakup faktor genetik, lingkungan, serta kebiasaan buruk seperti mengisap jari, penggunaan dot dalam jangka panjang, atau gangguan pada perkembangan rahang dan gigi (M Lone et al., 2024). Di Indonesia, prevalensi maloklusi juga cukup tinggi. Berdasarkan laporan Riskesdas, prevalensi maloklusi pada anak-anak dan remaja berkisar 20% hingga 40%, meskipun angka ini dapat bervariasi antar daerah (Cenzato et al., 2021). Bahkan, maloklusi diperkirakan terjadi pada sekitar 80% populasi Indonesia, menjadikannya sebagai salah satu masalah kesehatan gigi utama setelah karies dan penyakit periodontal (Ranggang B et al., 2020). Kondisi ini sering kali tidak ditangani secara optimal, baik karena kurangnya kesadaran masyarakat terhadap pentingnya kesehatan gigi dan mulut maupun keterbatasan akses terhadap layanan kesehatan gigi yang memadai (Zhou et al., 2024).

Di Indonesia, prevalensi maloklusi juga cukup tinggi. Berdasarkan laporan Riskesdas, prevalensi maloklusi pada anak-anak dan remaja berkisar 20% hingga 40%, meskipun angka ini dapat bervariasi antar daerah. Kondisi ini sering kali tidak ditangani secara optimal, baik karena kurangnya kesadaran masyarakat terhadap pentingnya kesehatan gigi dan mulut maupun keterbatasan akses terhadap layanan kesehatan gigi yang memadai (Cenzato et al., 2021; Zhou et al., 2024). Melihat tingginya angka prevalensi maloklusi, diperlukan perhatian lebih dalam bentuk edukasi masyarakat, pemeriksaan dini, serta intervensi ortodontik yang tepat untuk mengurangi dampak negatif dari kondisi ini terhadap kesehatan dan kualitas hidup Masyarakat (Topal, 2023).

Perawatan ortodontik adalah salah satu cabang ilmu kedokteran gigi yang digunakan untuk mendiagnosis, mencegah, dan merawat ketidaksejajaran gigi dan rahang (Rini & Scribante, 2023). Ketidaksejajaran ini, yang dikenal sebagai maloklusi, tidak berdampak pada estetika wajah, tetapi juga memengaruhi fungsi oklusi, distribusi mastikasi, serta kesehatan periodontal dan sendi temporomandibular (Monika et al.,



2024; Sicari et al., 2023). Perawatan ortodontik sering dianggap sebagai salah satu proses paling menantang dalam dunia kedokteran gigi, terutama karena lamanya waktu yang dibutuhkan (Pattanaik et al., 2024). Kemajuan terkini dalam teknik dan teknologi ortodontik telah secara signifikan meningkatkan efektivitas dan efisiensi perawatan. Inovasi tersebut memberikan hasil yang lebih baik bagi pasien dengan menawarkan solusi yang lebih tepat dan nyaman untuk memperbaiki ketidaksejajaran gigi (Ruan et al., 2024.).

Perawatan ortodonti yang dilakukan selalu bertujuan untuk memperoleh “*six keys of Andrew’s*” oklusi normal dan memperoleh estetik yang terbaik (Filho et al., 2012). Untuk memahami perawatan ortodontik yang melibatkan pergerakan gigi, penting untuk mempelajari proses serta faktor-faktor yang dapat memperlambat pergerakan gigi tersebut (Sangle et al., 2023). Pergerakan gigi ortodonti adalah proses biomekanik yang melibatkan respons kompleks dari berbagai jaringan periodontal, termasuk ligamen periodontal, tulang alveolar, dan jaringan lunak lainnya. (Rizk et al., 2023). Ortodonti terdiri dari pergerakan gigi dalam rahang dari satu posisi ke posisi lain untuk mencapai estetika (Asiry, 2018). Pergerakan gigi melalui tulang alveolar merupakan rangkaian sinergistik dari fenomena fisik dan biologis remodeling jaringan. Pergerakan gigi secara fisik oleh gaya ortodonti dilakukan berdasarkan hukum Newton. Sistem biologis gigi bereaksi terhadap variasi besarnya gaya, durasi aplikasi dan arah melalui reseptor sel dan aliran penyalan yang menghasilkan remodeling tulang dan pergerakan gigi (Li et al., 2018). Pergerakan gigi selama perawatan ortodonti ditandai oleh pembentukan zona kompresi dan tekanan yang cepat di dalam ligamentum periodontal dan bergantung pada karakteristik fisik gaya yang diberikan dan respons biologis ligament (Nakamura et al., 2024).

1.2 Pergerakan Ortodonti

Pergerakan gigi ortodonti bergantung pada koordinasi jaringan resorpsi dan aposisi pada area tulang dan ligamentum periodontal (Mutthineni et al., 2024). Beban pada gigi menyebabkan hipoksia lokal dan aliran cairan, yang memicu kaskade inflamasi aseptik yang berpuncak pada resorpsi osteoklas di area kompresi dan pengendapan osteoblas di area ketegangan (Ullrich et al., 2019a). Kompresi dan ketegangan dikaitkan dengan faktor sinyal tertentu, yang membentuk gradien lokal untuk mengatur remodeling tulang dan ligamen periodontal untuk perpindahan gigi (Jeon et al., 2021a). Respon ini melibatkan interaksi kompleks mekanisme seluler dan molekuler yang memfasilitasi remodeling tulang, suatu proses yang penting untuk pergerakan gigi yang efektif (Seddiqi et al., 2023). Respon biologis memang merupakan prasyarat penting untuk mekanika ortodontik, karena memastikan adaptasi dan remodeling tulang alveolar dan ligamen periodontal,

ngkinkan pergerakan gigi yang terkontrol. (Premkumar, 2015).

Pergerakan gigi

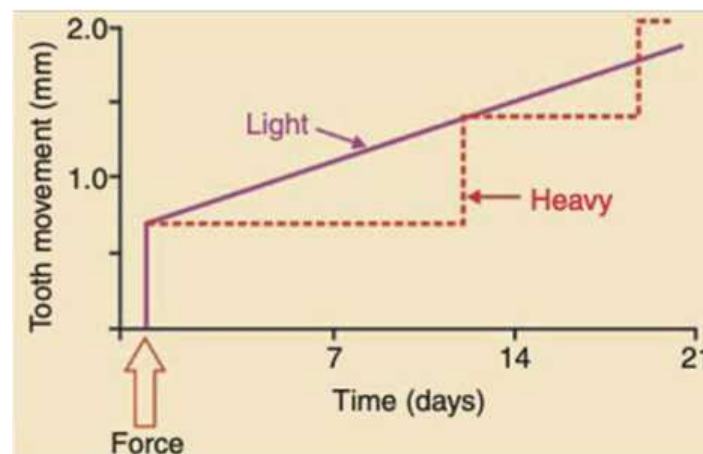
Pergerakan gigi (3) fase pergerakan gigi ortodonti (gambar 1.1);

1. Fase Inisial ; ditandai dengan pergerakan cepat segera setelah aplikasi gaya ortodonti pada gigi. Laju ini sebagian besar dapat dikaitkan dengan perpindahan gigi di ruang



ligamentum periodontal. Pergerakan gigi sekitar 0,4–0,9 mm pada tahap ini (Li et al., 2021)(Yu et al., 2024) . Periode waktu dari fase ini berkisar 24 jam – 2 hari. Akibat tekanan yang diberikan pada gigi, terjadi kompresi dan regangan pada ligamen periodontal yang kemudian menyebabkan ekstrasvasi pembuluh darah, kemoatraksi sel-sel inflamasi, dan perekrutan progenitor osteoblas dan osteoklas (Maltha & Kuijpers-Jagtman, 2023; Premkumar, 2020)

- Fase *Lag*; setelah fase inisial, terdapat periode perpindahan ke fase lag, dengan laju perpindahan gigi relative rendah bahkan nol (Ferguson & Wilcko, 2016). Diperkirakan bahwa fase lag disebabkan oleh hialinisasi pada ligamentum periodontal yang terkompresi hingga jaringan nekrose dieliminasi oleh sel (Mutthineni et al., 2024). Fase lag biasanya bertambah hingga 14 hari (Premkumar, 2020).
- Fase *Post Lag*; pergerakan gigi mengikuti periode lag, kemudian laju pergerakan gigi bertahap atau tiba-tiba meningkat, diikuti terjadi baik resorpsi frontal atau undemining resorption, tergantung jumlah besar gaya ortodonti yang diaplikasikan (Premkumar, 2020; Ubuzima et al., 2024)



Gambar 1.1. Tiga tahap pergerakan gigi berdasarkan Burstone (Premkumar, 2020) .

1.2.2 Teori Pergerakan Gigi

Gaya ortodonti yang diterapkan pada struktur gigi menghasilkan pergerakan gigi melalui aposisi dan resorpsi kembali tulang alveolar yang disebut remodeling. Gaya ini diubah menjadi aktivitas biologis, meskipun aktivitas ini belum sepenuhnya dipahami, ada tiga teori pergerakan gigi yang mungkin dikemukakan. Teori-teori tersebut adalah:

- Teori *Bone-Bending*

Ketika gaya ortodonti diterapkan pada gigi, gaya tersebut akan disalurkan ke semua jaringan di dekat area penerapan gaya. Gaya-gaya ini membengkokkan tulang, gigi, dan struktur padat ligamen periodontal. Karena tulang lebih elastis daripada struktur lainnya, tulang dapat membengkok dengan mudah dan proses pergerakan gigi pun menjadi lebih cepat (Haworth & Sandy, 2024). Hal ini juga menjelaskan pergerakan gigi yang cepat di lokasi pencabutan dan pada pasien anak-anak, di mana tulang tidak



mengalami kalsifikasi berat dan lebih fleksibel (Roosevelt et al., 2024).

- Teori *Biological Electricity*

Teori ini diajukan oleh Bassett dan Becker pada tahun 1962. Menurut mereka, setiap kali tulang alveolar *flexes* atau *bending*, maka ia melepaskan sinyal listrik dan sampai batas tertentu bertanggung jawab atas pergerakan gigi. Awalnya, sinyal ini dianggap sebagai sinyal *piezo-electric*. Karakteristik sinyal-sinyal ini adalah:

- Sinyal-sinyal ini memiliki laju peluruhan yang cepat, yang berarti sinyal ini dimulai saat gaya diberikan dan pada saat yang sama menghilang dengan cepat meskipun gaya dipertahankan.
- Sinyal-sinyal ini menghasilkan sinyal yang sama di sisi yang berlawanan saat gaya dilepaskan (Jeon et al., 2021).

Setelah tulang ter-*bending*, ion-ion berinteraksi satu sama lain di hadapan medan listrik yang menyebabkan sinyal-sinyal listrik dan perubahan suhu. Tegangan kecil yang diamati disebut sebagai "aliran potensial". Sinyal-sinyal ini berbeda dari sinyal piezoelektrik dan bahkan dapat dihasilkan oleh medan listrik eksternal, yang dapat mengubah aktivitas seluler (Proffit DDS et al., 2019). Ada jenis sinyal lain yang hadir di tulang yang tidak mengalami tekanan yang disebut sebagai "potensial bioelektrik". Tulang yang aktif secara metabolik menunjukkan perubahan elektronegatif yang proporsional dengan aktivitasnya. Defleksi tulang alveolar oleh gaya ortodonti disertai dengan perubahan konsekuensial pada ligamen periodontal. Serat periodontal yang menghasilkan tekanan pada tulang selama gaya ortodonti dievaluasi dengan sifat hubungan elektro-kimia antara gaya ortodonti dan kompleks dentoalveolar. Disimpulkan bahwa area dengan muatan elektronegatif dicirikan oleh peningkatan tingkat aktivitas osteoklastik dan area muatan elektropositif dicirikan oleh peningkatan tingkat aktivitas osteoblastik. Menurut peneliti, arus listrik eksogen bersama dengan gaya ortodonti mempercepat pergerakan gigi ortodonti. Hal ini menunjukkan bahwa respons piezoelektrik akibat *bending* tulang mungkin berfungsi sebagai "pembawa pesan pertama seluler" (Premkumar, 2020).

- Teori *Pressure-Tension*

Gigi bergerak dalam ruang periodontal dengan menciptakan sisi tekanan dan regangan. Ini menjelaskan perubahan aliran darah dalam ligamen periodontal. Perubahan ini menghasilkan kadar oksigen yang lebih rendah pada sisi tekanan karena kompresi ligamen periodontal dan sebaliknya. Tegangan oksigen yang rendah menyebabkan penurunan aktivitas Adenosin trifosfat (ATP) (Tsolakis et al., 2023). Perubahan ini dapat secara langsung atau tidak langsung bertindak pada aktivitas dan diferensiasi seluler. Respons jaringan terhadap besarnya gaya dengan tekanan darah kapiler. Jika gaya melebihi tekanan (20–25 g/cm² permukaan akar), nekrosis jaringan dapat terjadi karena periodonsium yang tertekan (Premkumar, 2020; Proffit DDS et al., 2019).

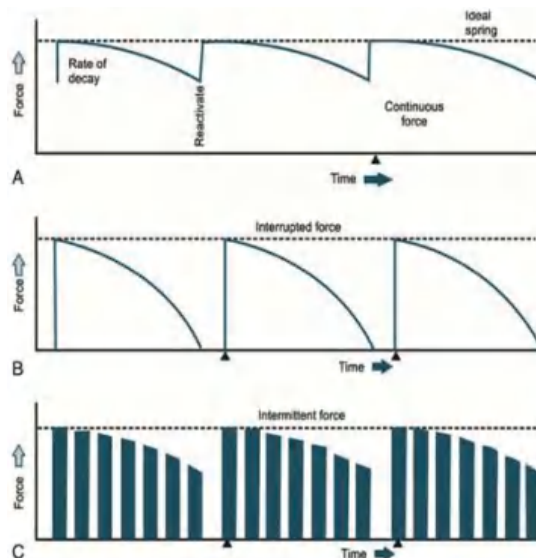


1.2.3 Jenis Gaya Ortodonti

Gaya ortodonti diklasifikasikan menjadi beberapa bagian berdasarkan durasi dan laju kerusakan dari gaya ortodonti yang terlihat pada (gambar 1.2).

- Gaya *Continuous*; gaya cukup besar dipertahankan dari kunjungan pertama pasien hingga berikutnya. Gaya ini memastikan penerapan gaya yang stabil, yang dapat menyebabkan gerakan gigi yang lebih dapat diprediksi. Aplikasi gaya terus menerus berpotensi meningkatkan risiko resorpsi akar dan ketidaknyamanan karena tekanan konstan pada gigi dan jaringan sekitarnya. (Sangle et al., 2023).
- Gaya *Interrupted*; tingkat gaya berkurang hingga nol antara dua kunjungan berikutnya. Pendekatan ini memungkinkan periode istirahat, yang dapat memfasilitasi pemulihan jaringan dan mengurangi risiko efek samping seperti resorpsi akar dan iritasi gingiva. Meskipun gaya ini dapat memperpanjang durasi pengobatan secara keseluruhan, gaya ini dapat meningkatkan kenyamanan pasien dan mengurangi kemungkinan komplikasi yang terkait dengan penerapan kekuatan kontinu (Makkad, 2023).
- Gaya *Intermittent*; tingkat gaya, di mana terjadi penurunan gaya tiba-tiba hingga ke nol ketika peranti ortodonti dilepaskan oleh pasien. Gaya ini sering dikaitkan dengan peralatan yang dapat dilepas, memungkinkan pasien untuk mengelola perawatan mereka dengan lebih fleksibel. Penerapan gaya yang terputus-putus dapat menyebabkan pergerakan gigi yang kurang dapat diprediksi dan mungkin memerlukan lebih banyak kepatuhan pasien untuk mencapai hasil yang diinginkan.

Gaya ringan (*light force*) *intermittent* direkomendasikan dan menjadi pilihan yang terbaik untuk pergerakan gigi karena jaringan memiliki fase periode istirahat, yang memungkinkan tulang dan ligamentum periodontal untuk tersusun kembali, serta berharap terjadi resorpsi yang lebih sedikit (Premkumar, 2020; Proffit DDS et al., 2019)



Gambar 1.2. Tiga tahap pergerakan gigi berdasarkan Burstone (Premkumar, 2020)

1.2.4 Besar Gaya Ortodonti

Dari hasil penelitian oleh Oppenheim dan Schwarz bahwa gaya optimum ortodonti akan setara dengan tekanan nadi kapiler atau 20–26 g/cm² dari luas permukaan akar (Tabel 1.1). Dengan gaya yang ringan ini, pergerakan gigi akan terjadi melalui aktivitas osteoklastik langsung di area dengan tekanan terbesar; resorpsi yang merusak tidak akan terjadi. Dalam praktik aktual dengan peralatan ortodonti saat ini, hanya sedikit gigi yang digerakkan dengan gaya yang ringan tersebut. Gaya optimum haruslah gaya yang menggerakkan gigi paling cepat pada posisi dan arah yang diinginkan dengan kerusakan jaringan paling sedikit dan rasa sakit paling sedikit (Premkumar, 2020).

Tabel 1.1. Tabel besar gaya untuk pergerakan gigi ortodonti (Premkumar, 2020)

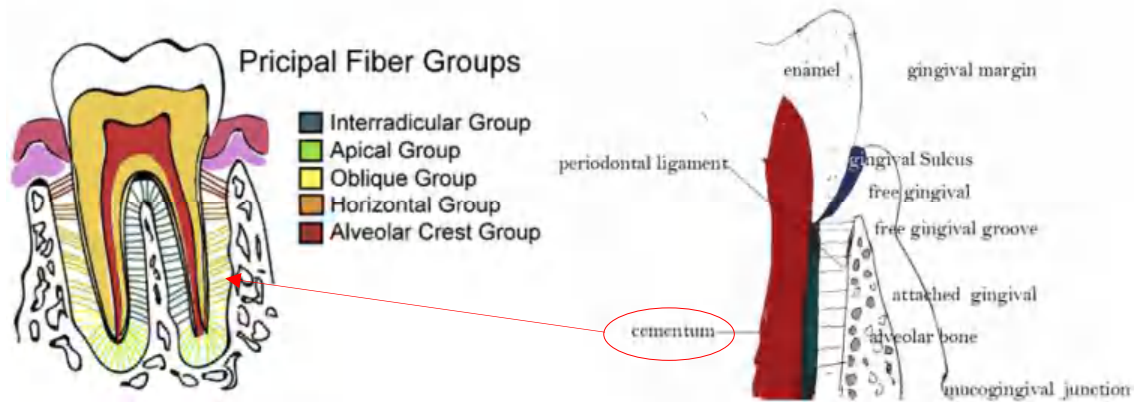
Tipe pergerakan	Besar gaya (gram force/cm)
<i>Tipping</i>	35-60
<i>Bodily</i>	70-120
<i>Root uprighting</i>	50-100
Rotasi	35-60
Ekstrusi	35-60
Intrusi	10-20

1.3 Respon Biologis Jaringan Periodontal terhadap Pergerakan Gigi Ortodonti

Periodonsium merupakan perlekatan penyokong dari gigi ke tulang alveolar. Hal ini termasuk baik jaringan lunak ligamentum periodontal dan gingiva, serta jaringan keras meliputi sementum dan tulang alveolar. Kemampuan gigi bergerak melalui tulang bergantung pada ligamentum periodontal (Yadav et al., 2022).

Ligamentum periodontal merupakan struktur jaringan ikat fibrosa padat yang terdiri dari kumpulan serat kolagen, sel, komponen saraf dan pembuluh darah, serta cairan jaringan. Ligamentum memiliki fungsi utama untuk menopang gigi dalam soket dan memungkinkan gigi menahan gaya kunyah yang cukup besar. Rata-rata, ligamentum periodontal menempati ruang selebar sekitar 0,2 mm. Bergantung pada lokasinya di sepanjang akar, lebar ligamentum periodontal dapat berkisar dari 0,15 hingga 0,38 mm, dengan bagian tertipisnya terletak di sepertiga tengah akar. Ruang ligamentum periodontal juga berkurang secara progresif seiring bertambahnya usia (I., 2014). Sebagian besar ruang ligamentum periodontal ditempati oleh kumpulan serat kolagen (terutama tipe I) yang tertanam dalam substansi interseluler. Bagian ujung ligamentum yang menyisip ke dalam sementum dan alveolar disebut serat Sharpey (Wu et al., 2023). Serat-serat ini dapat dibagi menjadi utama, serat aksesori, dan serat oksitalan (elastis). Berdasarkan orientasi dan rya di sepanjang gigi, serat utama dapat dikategorikan lebih lanjut menjadi serat ptal (atau ligamen interdental) dan ligamen alveolodental (Yadav et al., 2022).





Gambar 1.3. Komponen periodonsium. Tipe dari dasar kelompok serat yang dibedakan berdasarkan warna (I., 2014; Proffit DDS et al., 2019).

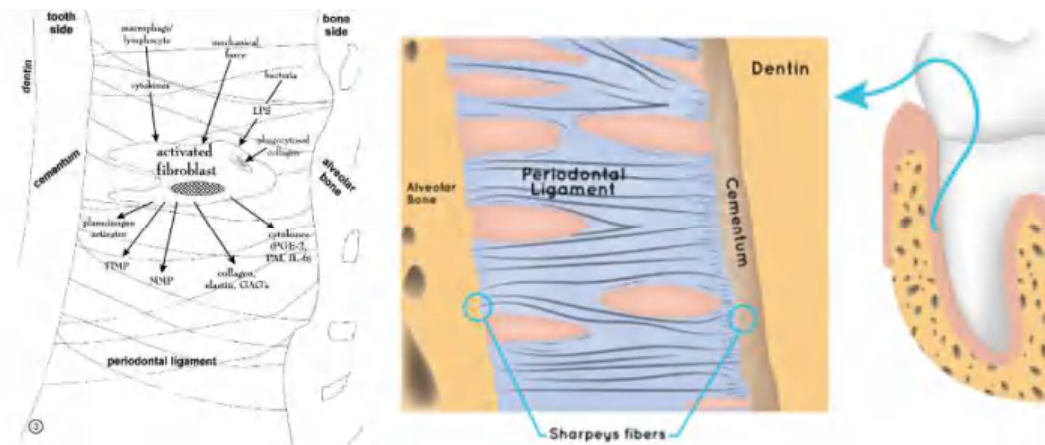
Serat transseptal (gambar 1.3) meluas ke interproksimal menghubungkan sementum gigi yang berdekatan untuk menjaga kesejajaran gigi, dan kelompok serat ligamen alveolodental membantu gigi menahan gaya kompresi selama pengunyahan. Selain serat utama, serat aksesori berjalan dari tulang alveolar ke sementum di bidang yang berbeda, lebih tangensial untuk mencegah rotasi gigi. Selain serat ligamentum periodontal, sel paradental dengan fungsi yang berbeda berada di ruang ligamentum periodontal, termasuk: 1) sel sintesis seperti fibroblas yang membentuk 50-60% dari total selularitas ligamentum periodontal, osteoblas, dan sementoblas; 2) sel resorptif seperti osteoklas, fibroblas, sementoklas; 3) sel progenitor termasuk sel mesenkimal yang tidak berdiferensiasi; 4) sel pertahanan seperti makrofag, sel mast dan limfosit; dan 5) sel epitel, yaitu sisa-sisa selubung akar epitel Hertwig. Bersama-sama, berbagai sel ini berpartisipasi dalam homeostasis periodonsium. Akhirnya, ruang ligamentum periodontal diisi dengan cairan jaringan yang dikenal sebagai cairan interstisial yang berasal dari sistem vaskular. Ruang berisi cairan ini memungkinkan ruang ligamentum periodontal untuk mendistribusikan gaya yang dibebankan pada gigi secara merata, yang berfungsi sebagai *shock absorber* (Hirashima et al., 2019) (Yadav et al., 2022).

Adanya jaringan periodontal memungkinkan perpindahan gigi terjadi di dalam tulang alveolar setelah penerapan gaya yang lama pada gigi (Yu et al., 2024b). Selama pergerakan gigi, ligamentum periodontal memberikan respon cepat terhadap stress mekanis dengan konsekuensi adanya perubahan metabolik sehingga terjadi pergerakan gigi ortodonti. Respon ini dimediasi oleh beberapa sitokin inflamasi dan enzim yang bertanggungjawab terhadap remodeling jaringan ikat. Remodeling tulang setelah pergerakan gigi diinisiasi oleh aktivasi perubahan vaskuler, sintesis sitokin, prostaglandin, *growth factor*. Tulang mengalami resorpsi pada area tekanan sejajar dengan arah gaya. Sebaliknya, tulang mengalami aposisi pada area regangan, atau arah berlawanan dengan gaya ortodonti. Peristiwa ini yang memfasilitasi terjadinya gerakan gigi dalam tulang alveolar (Tuncer et al., 2013).



Pemberian *force* melalui aplikasi gaya ortodontik memicu proses pembentukan ligamen periodontal (PDL) dan diferensiasi sel yang mendukung pergerakan gigi. Fibroblas merupakan jenis sel yang paling dominan dalam PDL, bersama dengan sel tulang dan odontoblas, yang menunjukkan respons tinggi terhadap tekanan mekanis ini (George et al., 2020). Salah satu komponen utama dari ligamen periodontal adalah fibroblas, sel-sel yang berperan penting dalam mempertahankan dan meregenerasi jaringan periodontal.

1.3.1 Fibroblas



Gambar 1.4. Mekanisme aktivasi fibroblas pada ligamen periodontal (Miki et al., 2023).

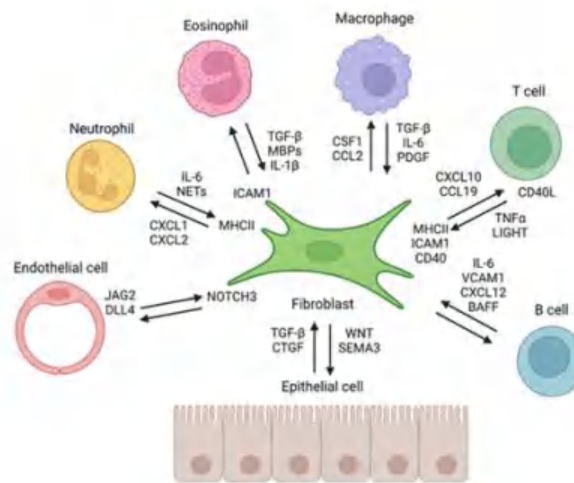
Fibroblas adalah jenis sel jaringan ikat yang berperan penting dalam pembentukan dan pemeliharaan matriks ekstraseluler (ECM). Sel ini memiliki bentuk fusiform dengan inti oval yang aktif dalam proses sintesis kolagen, glikosaminoglikan, dan komponen lain dari ECM. Fibroblas juga berperan dalam proses regenerasi dan remodeling jaringan, terutama pada jaringan yang mengalami tekanan mekanis, seperti ligamen periodontal (Schemann-Miguel et al., 2021).

Fibroblas pada ligamentum periodontal adalah sel kunci yang memainkan peran sentral dalam mempertahankan struktur, fungsi, dan homeostasis jaringan periodontal (Gambar 1.4). Aktivitas sintesis dan remodeling mereka memastikan ligamentum periodontal tetap elastis, kuat, dan mampu beradaptasi terhadap tekanan mekanis maupun inflamasi (Smith et al., 2019).

Fibroblas memproduksi kolagen dan substansi matriks ekstraseluler yang diperlukan untuk menjaga stabilitas dan elastisitas ligamen, terutama dalam menanggapi gaya mekanis yang dihasilkan dari pergerakan gigi ortodonti (Herniyati et al., 2024). Pada saat gigi mengalami tekanan mekanis selama perawatan ortodonti, ligamen periodontal mengalami perubahan adaptif yang melibatkan proliferasi fibroblas dan remodeling (Gonçalves et al., 2024). Respons fibroblas terhadap stres mekanis inilah yang menentukan seberapa cepat dan efektif pergerakan gigi dapat terjadi serta bagaimana ligamen periodontal beradaptasi dan sembuh setelah pergerakan tersebut (Chiu et al.,



Sebagaimana dijelaskan oleh Eka Erwansyah dan Eddy Heriyanto Habar (2021), proses remodeling ini juga dipengaruhi oleh mekanisme molekuler, khususnya jalur angiogenik seperti Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), yang berperan dalam meningkatkan suplai darah dan mendukung aktivitas fibroblas selama tekanan ortodontik. Aktivasi jalur VEGF, bersama dengan mediator lain seperti ROS dan MAPK, dapat memperkuat proliferasi dan fungsi fibroblas, serta mempercepat proses penyembuhan jaringan periodontal. Dengan demikian, integrasi antara tekanan mekanik dan aktivasi molekuler mendasari adaptasi jaringan selama perawatan ortodonti (Erwansyah E & Habar E et al., 2021)).



Gambar 1.5. Fibroblas dan jenis sel struktural lainnya (Miki et al., 2023)

Fibroblas sebagai pusat komunikasi dalam jaringan ikat, di mana fibroblas tidak hanya berfungsi dalam sintesis matriks ekstraseluler tetapi juga sebagai mediator penting dalam interaksi antar sel untuk mengatur homeostasis, inflamasi, dan penyembuhan jaringan (Gambar 1.5). Fibroblas berinteraksi dengan berbagai jenis sel imun, sel epitelial, dan sel endotelial melalui produksi sitokin, kemokin, dan molekul adhesi, serta menerima sinyal biologis dari sel-sel tersebut untuk mengoordinasikan respon jaringan (Horsnell et al., 2021; Miki et al., 2023).

Namun, aktivitas fibroblas dan perannya dalam regenerasi jaringan dapat dipengaruhi secara signifikan oleh faktor eksternal, termasuk penggunaan bahan kimia. Berbagai penelitian telah mengeksplorasi bagaimana agen kimia yang berbeda dapat memodulasi fungsi fibroblas, berdampak pada proses seperti proliferasi sel, migrasi, dan diferensiasi, yang sangat penting untuk perbaikan dan regenerasi jaringan yang efektif (Mitchell et al., 2023). Berbagai penelitian telah berupaya mengungkap mekanisme

uler yang mengubah gaya mekanis ini menjadi respons seluler, dan banyak di nya telah memberikan hasil yang signifikan. Berdasarkan literatur yang tersedia, hui bahwa fibroblas PDL memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi plas sebagai respons terhadap berbagai rangsangan, termasuk deformasi mekanis



pada sel. Kemampuan ini menjadikan fibroblas PDL sangat penting dalam pemeliharaan homeostasis jaringan, proses perbaikan, dan renovasi struktur periodontal (Alves et al., 2015).

Fibroblas berinteraksi dengan neutrofil melalui pelepasan kemokin CXCL1 dan CXCL2 untuk menarik neutrofil ke lokasi inflamasi, sementara molekul MHCII membantu komunikasi antigen antara fibroblas dan neutrofil. Dengan eosinofil, fibroblas memfasilitasi interaksi melalui ICAM1, sementara eosinofil menghasilkan mediator seperti TGF- β dan IL-1 β untuk mendukung proses fibrogenesis dan inflamasi. Interaksi dengan makrofag melibatkan mediator seperti CSF1 dan CCL2, yang merekrut fibroblas, serta ICAM1 dan CD40 untuk komunikasi antigen dan remodeling jaringan. Fibroblas juga berkomunikasi dengan sel T melalui CD40L dan TNF- α untuk mengatur inflamasi kronis, serta dengan sel B melalui molekul seperti IL-6 dan CXCL12 yang mendukung aktivasi dan kelangsungan hidup sel B (Sugaya, 2021; Wang et al., 2023).

Dalam konteks sel endotelial, fibroblas merespons sinyal dari protein JAG2 dan DLL4 untuk mengatur diferensiasi melalui jalur Notch, sementara interaksi dengan sel epitelial melibatkan TGF- β dan CTGF untuk mendukung proliferasi dan remodeling jaringan. Peran fibroblas menjadi krusial dalam mengatur keseimbangan antara sintesis dan degradasi matriks ekstraseluler, memediasi inflamasi akut dan kronis, serta memfasilitasi penyembuhan dan fibrosis. Oleh karena itu, fibroblas memainkan peran sentral dalam menjaga integritas jaringan dan adaptasi terhadap kondisi patologis, termasuk inflamasi kronis dan fibrosis. Interaksi multifaset ini menekankan pentingnya fibroblas dalam kesehatan jaringan dan mekanisme penyakit (Correa-Gallegos et al., 2021; Horsnell et al., 2021).

1.3.1.1 Struktur dan Fungsi Fibroblas

Fibroblas memiliki sitoplasma yang kaya akan organel seperti retikulum endoplasma kasar dan aparat Golgi, yang berperan dalam sintesis protein. Fungsi utama fibroblas meliputi:

- Sintesis Kolagen: Kolagen merupakan protein utama yang memberikan kekuatan mekanik pada jaringan periodontal (Ullrich et al., 2019).
- Produksi Matriks Ekstraseluler: Komponen ECM, seperti proteoglikan dan fibronectin, membantu dalam pemeliharaan struktur jaringan dan komunikasi antar sel (Rogers et al., 2021).
- Respon Imun: Fibroblas dapat berfungsi sebagai sel efektor dalam proses inflamasi dengan memproduksi sitokin dan kemokin (Miki et al., 2023).

1.3.1.2 Peran Fibroblas pada Ligamen Periodontal dalam Gerakan Gigi Ortodontik



asilitator Pembentukan Osteoklas: Fibroblas di ligamen periodontal (PDL) memainkan peran penting dalam memfasilitasi pembentukan dan rekrutmen osteoklas (OC). Mereka menarik prekursor OC dan mengikatnya melalui molekul adhesi antar sel, menciptakan lingkungan yang menguntungkan untuk osteoklastogenesis dengan mempromosikan pengikatan RANKL-RANK dan

mencegah fungsi osteoprotegerin (OPG) .

- Pemeliharaan Homeostasis: Fibroblas memproduksi faktor pertumbuhan seperti TGF- β dan VEGF yang berperan dalam regulasi vaskularisasi dan regenerasi jaringan.
- Ekspresi Molekul Stimulasi Osteoklastogenesis: Fibroblas meningkatkan regulasi molekul seperti M-CSF, TNF- α , dan RANKL, yang penting untuk osteoklastogenesis. Meskipun demikian, ekspresi OPG secara signifikan lebih tinggi daripada RANKL, menunjukkan keseimbangan regulasi untuk mencegah pembentukan OC yang tidak diinginkan.
- Transduksi Sinyal Mekanis: Fibroblas adalah sensor mekanis utama di PDL, bertanggung jawab untuk menerjemahkan sinyal mekanis menjadi respons biologis. Proses ini sangat penting untuk remodeling jaringan selama gerakan gigi ortodontik (OTM).
- Pengaruh Kekakuan Substrat: Kekakuan substrat di sekitar fibroblas mempengaruhi sifat adhesi mereka. Pada substrat kaku, fibroblas menunjukkan adhesi fokal yang stabil, sedangkan pada substrat yang lebih lembut, adhesi ini lebih lemah. Sifat ini mempengaruhi kekuatan perekat dan pematangan adhesi fokal, yang sangat penting untuk fungsinya di OTM.
- Proliferasi dan Respon Faktor Pertumbuhan: Fibroblas merespons faktor pertumbuhan seperti PDGF dan IGF-1, yang merangsang proliferasi mereka tanpa mempengaruhi diferensiasi. Respons ini penting untuk percepatan OTM dan remodeling periodontal.
- Peran dalam Diferensiasi Myofibroblas: Fibroblas dapat berdiferensiasi menjadi miofibroblas di bawah tekanan mekanis, berkontribusi pada kontraksi dan remodeling jaringan. Diferensiasi ini dimediasi oleh protein seperti α -SMA dan jalur yang melibatkan TGF- β 1 dan Wnt/ β -catenin.
- Remodeling Jaringan: Fibroblas membantu proses degradasi dan sintesis ulang ECM selama adaptasi terhadap stres mekanik.
- Respon Terhadap Gaya Ortodonti: Saat gaya ortodonti diberikan, fibroblas memediasi resorpsi dan pembentukan jaringan periodontal untuk mendukung pergerakan gigi (Li et al., 2021).

1.3.1.3 Respon Fibroblas dalam Pergerakan Gigi Ortodonti

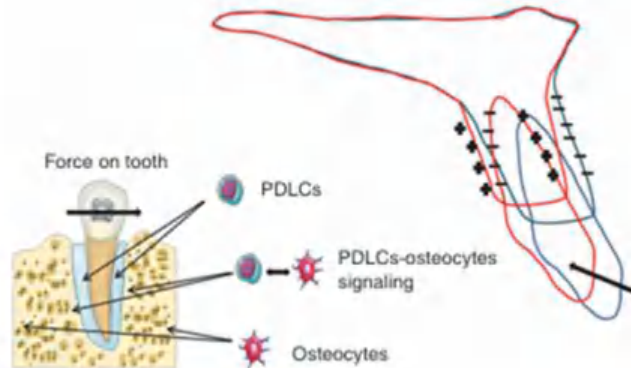
Pergerakan gigi ortodonti adalah proses biologis yang dipengaruhi oleh gaya mekanik yang menyebabkan remodeling pada tulang alveolar dan jaringan periodontal. Proses ini melibatkan area tekanan (compression) dan tarikan (tension) pada ligamen periodontal.



ada Area Tarikan: Fibroblas meningkatkan sintesis kolagen dan protein ECM untuk mendukung pembentukan jaringan baru.

ada Area Tekanan: Aktivitas fibroblas terhambat akibat peningkatan tekanan, yang menyebabkan degradasi kolagen dan perubahan dalam ECM.

- Mediator Biokimia: Fibroblas merespons sinyal biokimia seperti prostaglandin E2 (PGE2) dan interleukin-1 (IL-1), yang diinduksi oleh gaya ortodonti.

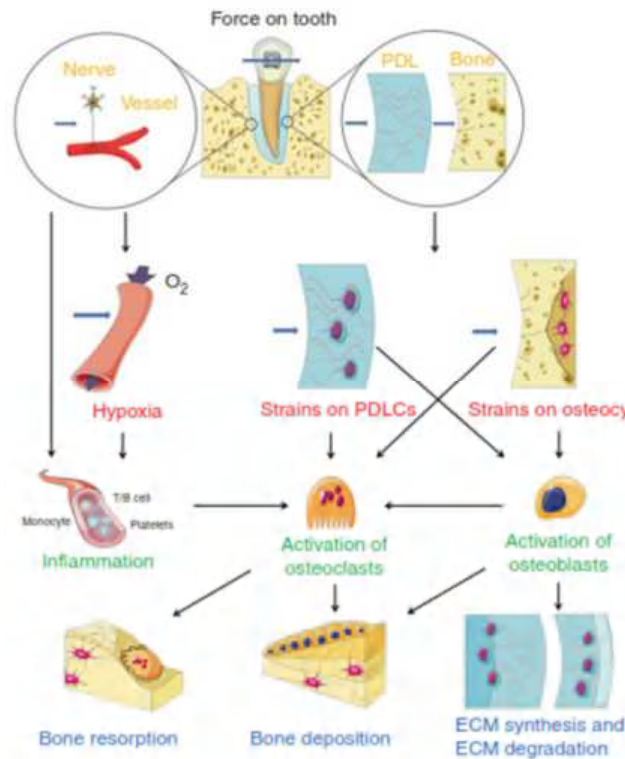


Gambar 1.6. Pergerakan Gigi Ortodonti (Li et al., 2021).

Interaksi biomekanik dan molekuler antara sel-sel ligamen periodontal (PDLs - Periodontal Ligament Cells) dan osteosit selama aplikasi gaya mekanis pada gigi, seperti yang terjadi pada pergerakan gigi selama perawatan ortodontik. Ketika gaya mekanis diterapkan pada gigi melalui perangkat ortodontik, tekanan dan regangan terjadi pada ligamen periodontal (PDL) dan tulang sekitarnya. Sel-sel PDLs yang berada di dalam ligamen periodontal bertindak sebagai sensor awal yang mendeteksi perubahan biomekanik ini, yang kemudian memicu pelepasan mediator sinyal seperti sitokin dan faktor pertumbuhan. Mediator tersebut menginisiasi komunikasi antara PDLs dan osteosit, sel tulang yang berperan sebagai sensor mekanis utama yang tertanam dalam matriks tulang. Osteosit mendeteksi perubahan tekanan dan regangan yang terjadi di tulang dan mengatur aktivitas remodeling tulang dengan memediasi aktivasi osteoklas untuk resorpsi tulang di area tekanan dan osteoblas untuk deposisi tulang baru di area regangan (Jeon et al., 2021a; Li et al., 2021).

Proses ini dikenal sebagai mekanotransduksi, yaitu konversi gaya mekanis menjadi sinyal biologis yang memungkinkan terjadinya adaptasi jaringan. Gambar 1.6 ini juga menunjukkan distribusi gaya mekanis melalui garis tekanan (merah) dan regangan (biru) di tulang, yang menunjukkan wilayah di mana remodeling tulang terjadi. Interaksi antara PDLs dan osteosit memastikan remodeling tulang yang seimbang, yang sangat penting untuk mendukung pergerakan gigi secara terkontrol selama perawatan ortodontik. Studi ini menyoroti pentingnya komunikasi seluler antara jaringan periodontal dan tulang dalam respons adaptif terhadap gaya mekanis (Mizukoshi et al., 2021).





Gambar 1.7. Proses Transduksi dari Beban Mekanis ke Sinyal Biologis (Li et al., 2021).

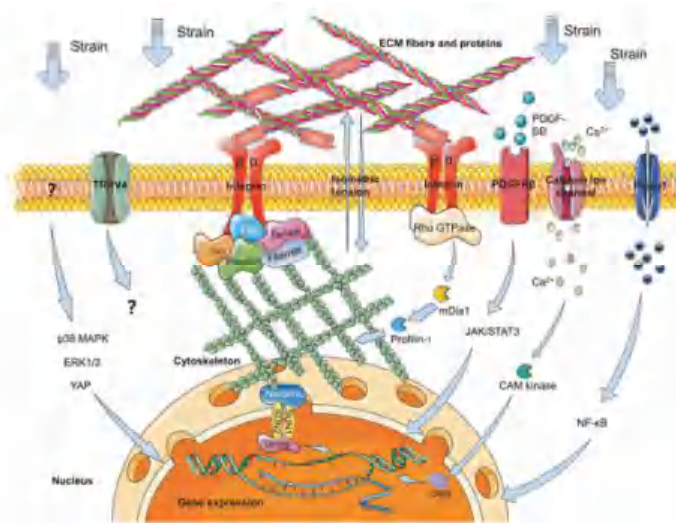
Mekanisme respons jaringan periodontal terhadap gaya mekanis yang diterapkan pada gigi, seperti yang terjadi selama pergerakan ortodontik. Ketika gaya mekanis diterapkan pada gigi, tekanan muncul pada jaringan periodontal, termasuk ligamen periodontal (PDL) dan tulang di sekitarnya (Gambar 1.7). Proses ini dimulai dengan perubahan pada aliran darah di pembuluh darah periodontal, yang dapat menyebabkan kondisi hipoksia (penurunan kadar oksigen) di area tertentu. Hipoksia ini memicu respons inflamasi dengan merekrut sel imun seperti makrofag dan sel T-helper. Selain itu, gaya mekanis juga menyebabkan regangan (strain) pada ligamen periodontal (PDLs) dan osteosit di tulang (Thanoon Younis et al., 2019).

Fibroblas, sebagai salah satu komponen utama ligamen periodontal, juga berperan penting dalam proses ini. Fibroblas bertindak sebagai sensor mekanis dan respons terhadap gaya mekanis melalui pelepasan mediator biologis, seperti sitokin (IL-6, IL-8), kemokin, dan faktor pertumbuhan (TGF- β , VEGF). Mediator-mediator ini tidak hanya mendukung komunikasi antar sel, tetapi juga berkontribusi pada pengaturan aktivitas osteoklas dan osteoblas dalam remodeling tulang. Selain itu, fibroblas berperan dalam sintesis matriks ekstraseluler (ECM) dengan memproduksi enzim seperti *metalloproteinases* (MMP) dan komponen ECM seperti kolagen. Aktivitas fibroblas memastikan bahwa struktur dan fungsi jaringan periodontal tetap terjaga selama gerakan gigi (Brockhaus et al., 2021; Schröder et al., 2018).

Regangan pada PDLs memicu aktivasi osteoklas, yang bertanggung jawab untuk



resorpsi tulang di area tekanan. Sementara itu, regangan pada osteosit mengaktifasi osteoblas, yang berperan dalam deposisi tulang baru di area regangan. Aktivasi osteoblas juga mendukung sintesis dan degradasi matriks ekstraseluler (ECM) yang diperlukan untuk remodeling jaringan. Pada akhirnya, mekanisme ini menghasilkan remodeling tulang, dengan resorpsi tulang di area tekanan dan pembentukan tulang baru di area regangan, yang memungkinkan pergerakan gigi secara terkontrol selama perawatan ortodontik. Proses ini menggambarkan bagaimana jaringan periodontal merespons gaya mekanis dengan mengubah sinyal mekanis menjadi sinyal biologis untuk mengatur remodeling jaringan secara adaptif (Huang et al., 2018).



Gambar 1.8. Mekanisme hipotetis transduksi sinyal mekanis dalam PDLC (Li et al., 2021).

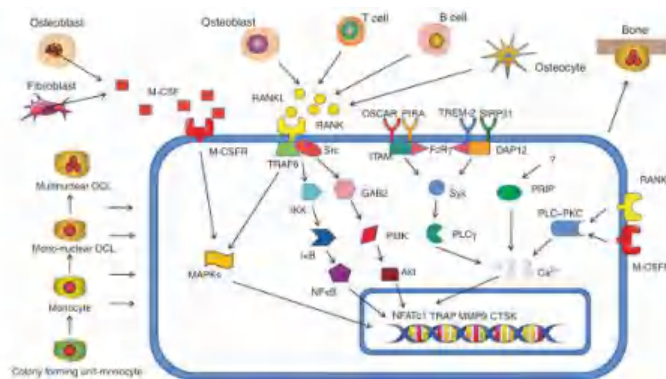
Mekanisme mekanotransduksi pada tingkat sel, di mana sel merespons dan menerjemahkan gaya mekanis menjadi sinyal biologis yang memengaruhi ekspresi gen dan fungsi seluler. Gaya mekanis (strain) diterima oleh sel melalui struktur seperti integrin dan saluran ion (TRPV4 dan saluran kalsium). Integrin, sebagai protein reseptor, menghubungkan matriks ekstraseluler (ECM) dengan sitoskeleton, sedangkan saluran ion memungkinkan masuknya ion kalsium (Ca^{2+}) sebagai sinyal untuk respons seluler. Matriks ekstraseluler (ECM), yang terdiri dari serat protein seperti kolagen dan fibronectin, menyampaikan gaya ke integrin melalui domain RGD yang berikatan dengan subunit integrin (α dan β).

Integrin bertindak sebagai sensor utama gaya mekanis dan mentransmisikan gaya ke sitoskeleton melalui protein adaptor seperti FAK (Focal Adhesion Kinase), Paxillin, Tensin, Ilin. Selain itu, reseptor faktor pertumbuhan (PDGFR) juga berkontribusi dalam mekanotransduksi dengan mengaktifkan jalur sinyal. Gaya mekanis yang diteruskan ke integrin menghasilkan respons sitoskeleton, yang berinteraksi dengan nesprin dan di nukleus untuk mengatur ekspresi gen.



Proses pensinyalan intraseluler melibatkan jalur-jalur utama seperti p38 MAPK, ERK1/2, dan YAP, yang mengatur ekspresi gen dan respons adaptif. Rho GTPase mengatur perubahan sitoskeleton, sementara mDia1 dan Profilin-1 mendukung reorganisasi aktin. Selain itu, jalur JAK/STAT3, NF- κ B, dan CREB mengatur transkripsi gen yang terkait dengan respons inflamasi dan remodeling jaringan. Ion Ca^{2+} yang masuk melalui saluran ion atau TRPV4 juga mengaktifkan CAM kinase, yang kemudian memengaruhi jalur pensinyalan lain, seperti NF- κ B, untuk modulasi ekspresi gen.

Gaya mekanis yang diteruskan ke nukleus melalui sitoskeleton memengaruhi protein nuklir seperti nesprins, yang berperan dalam mengatur ekspresi gen. Aktivasi jalur transkripsi, seperti NF- κ B dan CREB, menghasilkan perubahan ekspresi genetik untuk menyesuaikan respons sel terhadap gaya mekanis. Hasil akhir dari mekanotransduksi ini meliputi ekspresi gen yang terkait dengan proliferasi, diferensiasi, inflamasi, dan remodeling jaringan, serta adaptasi seluler, seperti perubahan fungsional dalam remodeling matriks ekstraseluler, reorganisasi sitoskeleton, dan adaptasi jaringan terhadap gaya mekanis. Gambar 1.8 ini menunjukkan kompleksitas mekanotransduksi yang melibatkan berbagai komponen seluler, protein adaptor, dan jalur pensinyalan untuk mengintegrasikan gaya mekanis ke dalam respons biologis (Li et al., 2021).



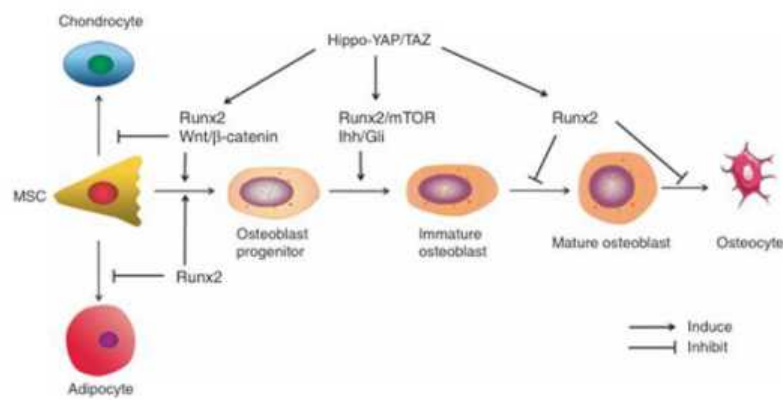
Gambar 1.9. Mekanisme Molekuler yang Mengatur Pembentukan dan Aktivitas Osteoklas (Li et al., 2021).

Gambar 1.9 tersebut menggambarkan mekanisme molekuler yang mengatur pembentukan dan aktivitas osteoklas, sel yang bertanggung jawab dalam resorpsi tulang. Proses pembentukan osteoklas dimulai dari fibroblas dan osteoblas yang memproduksi M-CSF (*Macrophage Colony-Stimulating Factor*), yang berikatan dengan reseptor M-CSFR pada permukaan monosit, prekursor osteoklas. Selain itu, osteoblas, T-cell, B-cell, dan osteosit menghasilkan RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand*), berikatan dengan reseptor RANK pada prekursor osteoklas. Pengikatan ini memicu protein adaptor seperti TRAF6, yang kemudian mengaktifkan beberapa jalur sinyal, termasuk IKK/NF- κ B untuk transkripsi gen osteoklas, dan MAPK untuk proliferasi diferensiasi (Brunetti et al., 2020; Györi & Mócsai, 2020). Selain itu, reseptor berbasis ITAM (*Immunoreceptor Tyrosine-Based Activation Motif*),



seperti OSCAR, PIR-A, dan TREM-2, berperan penting dalam diferensiasi osteoklas dengan mengaktifkan protein adaptor seperti DAP12, yang memicu aktivasi Syk dan GAB2. Jalur ini kemudian mengaktifkan pensinyalan PI3K-Akt dan PLC γ -Ca²⁺, yang berperan dalam fungsi dan maturasi osteoklas. Aktivasi jalur pensinyalan ini menginduksi ekspresi gen yang diperlukan untuk fungsi osteoklas, seperti NFATc1, yang merupakan faktor transkripsi utama, serta protein-protein efektor seperti TRAP, MMP9, dan CTSK, yang bertanggung jawab atas degradasi matriks tulang.

Proses ini menghasilkan diferensiasi monosit menjadi osteoklas multinuklear yang aktif dalam resorpsi tulang. Dalam konteks interaksi seluler, T-cell dan B-cell berkontribusi pada produksi RANKL, sementara osteosit memodulasi RANKL di lingkungan tulang untuk mendukung remodeling tulang. Jalur sinyal melalui M-CSFR dan RANK memainkan peran utama dalam mengarahkan diferensiasi osteoklas. Dengan demikian, gambar ini mengilustrasikan kolaborasi berbagai jalur sinyal dan interaksi antar sel dalam mengontrol pembentukan dan aktivitas osteoklas, yang merupakan komponen krusial dalam homeostasis tulang dan proses remodeling jaringan tulang (X. Chen et al., 2018; Li et al., 2021).



Gambar 1.10. Regulasi Diferensiasi Osteoblas (Li et al., 2021).

Gambar 1.10 tersebut menjelaskan jalur diferensiasi *mesenchymal stem cells* (MSC) menjadi berbagai jenis sel, termasuk osteoblast (sel pembentuk tulang), kondrosit (sel tulang rawan), dan adiposit (sel lemak), dengan fokus utama pada osteogenesis (pembentukan tulang). MSC adalah sel progenitor multipoten yang dapat berdiferensiasi ke arah tertentu melalui regulasi jalur pensinyalan spesifik. Diferensiasi MSC menjadi osteoblast dipandu oleh faktor transkripsi utama Runx2, yang berperan penting dalam mengarahkan jalur osteogenesis. Jalur pensinyalan Wnt/ β -catenin mendukung aktivasi Runx2, sedangkan jalur lain seperti Hippo-YAP/TAZ, mTOR, dan Ihh/Gli turut berkontribusi proses ini, terutama dalam perkembangan osteoblast dari tahap progenitor hingga di osteosit, yaitu sel tulang dewasa yang tertanam dalam matriks tulang (Thomas & than, 2022).

lain osteogenesis, MSC juga dapat berdiferensiasi menjadi kondrosit melalui regulasi



yang dipengaruhi oleh Runx2. Kondrosit memainkan peran penting dalam pembentukan tulang melalui proses endokondral, di mana tulang rawan menjadi kerangka awal bagi pembentukan tulang. Sebaliknya, jika osteogenesis terganggu, MSC dapat berdiferensiasi ke arah adipogenesis untuk membentuk adiposit, yang berfungsi menyimpan energi dalam bentuk lipid. Runx2 juga diketahui menghambat diferensiasi MSC menjadi adiposit, menjaga keseimbangan antara pembentukan tulang dan lemak (F. Liu et al., 2022).

Hasil akhir dari jalur diferensiasi ini adalah pembentukan osteoblast matang yang dapat bermineralisasi dan berkembang menjadi osteosit, pembentukan kondrosit untuk mendukung tulang endokondral, atau pembentukan adiposit untuk penyimpanan energi. Dengan demikian, diferensiasi MSC sangat dipengaruhi oleh jalur pensinyalan seperti Runx2, Wnt/ β -catenin, dan Hippo-YAP/TAZ, yang secara kolektif memastikan pembentukan jaringan yang sehat serta mengatur keseimbangan antara osteogenesis, kondrogenesis, dan adipogenesis (Prideaux et al., 2021).

1.4 Etanol

1.4.1 Definisi Etanol

Alkohol, umumnya dalam bentuk *ethyl alcohol* atau etanol, memiliki peranan penting dalam peradaban manusia paling tidak selama 8000 tahun. Pada kebudayaan barat, *beer* dan *wine* merupakan minuman utama dalam kehidupan sehari-hari sampai abad ke-19. Di beberapa negara, alkohol merupakan minuman yang mudah didapatkan sehingga cenderung banyak disalahgunakan (Onyekwelu et al., 2017).

Etanol dengan rumus molekul C_2H_6O adalah cairan bening, kelompok alkohol dengan kelompok senyawa kimia yang molekulnya mengandung gugus hidroksil, $-OH$, yang terikat dengan atom karbon. Etanol tidak berwarna, mudah menguap, dan berbau harum yang dihasilkan dari fermentasi gula. Etanol adalah salah satu dari banyak jenis alkohol dan merupakan satu-satunya jenis alkohol yang dapat dikonsumsi. Selain untuk dikonsumsi, etanol digunakan untuk beberapa keperluan lain seperti bahan bakar untuk menggerakkan mesin, sebagai disinfektan (karena aktivitas bakterisidanya), sebagai pelarut dan pengawet, serta berfungsi sebagai bahan utama dalam pembuatan minuman beralkohol (Lamounier et al., 2020; Zhao et al., 2019).

Etanol adalah salah satu senyawa kimia yang sering digunakan dalam berbagai aplikasi klinis dan medis. Ketergantungan alkohol merupakan masalah kesehatan utama secara global, berkontribusi terhadap sekitar 3,3 juta kematian setiap tahun karena efek kesehatannya yang merugikan (Ayenigbara, 2018). Laporan Status Global tentang Alkohol dan Kesehatan 2014 menyoroti masalah kesehatan masyarakat yang signifikan di Asia, di mana sekitar 1.180.900 orang dilaporkan menderita ketergantungan alkohol. Ini mewakili 0,7% dari populasi Indonesia, menunjukkan beban besar gangguan alkohol di negara ini. Prevalensi ketergantungan alkohol tidak hanya menimbulkan gangguan kesehatan tetapi juga masalah sosial ekonomi dan hukum, terutama di daerah-daerah seperti Jakarta (Aztyamalia et al., 2019).



1.4.2 Pengaruh Etanol terhadap Sistemik

Etanol adalah molekul yang larut dalam air dan diserap dengan cepat pada saluran pencernaan. Ketika minuman beralkohol dikonsumsi, ia melewati lambung ke usus halus, tempat ia diserap dan didistribusikan dengan cepat ke seluruh tubuh. Puncak konsentrasi etanol dalam darah dapat dicapai dalam waktu 30 menit setelah ingesti etanol dalam keadaan lambung kosong. Volume distribusi untuk etanol mendekati total air dalam tubuh (0,5-0,7 l/kg). Alkohol tidak dapat disimpan dalam tubuh, oleh karena itu, tubuh harus memetabolismenya untuk membuangnya (Olds & Jones, 2024).

Alkohol hanya dapat dimetabolisme di hati, tempat enzim ditemukan untuk memulai proses tersebut. Etanol dimetabolisme dalam tubuh untuk menyediakan energi dan tidak memiliki mineral, vitamin, karbohidrat, lemak, atau protein yang terkait dengannya, dan sebagai akibatnya, ia secara langsung berkontribusi terhadap kekurangan gizi. Kekurangan gizi umum sering kali tercermin dalam penurunan berat badan, terutama jaringan adiposa dan otot. Hilangnya cadangan nutrisi ini sebagian disebabkan oleh asupan protein yang tidak memadai dalam menghadapi konsumsi alkohol yang terus-menerus. Alkohol sangat kaya akan energi, mengandung tujuh kalori per gram. Semakin banyak kalori yang dikonsumsi seseorang dalam alkohol, semakin kecil kemungkinan orang tersebut akan makan cukup makanan untuk memperoleh nutrisi yang cukup (Zhao et al., 2019).

Alkohol mengganggu pengaturan eksitasi atau inhibisi di otak, sehingga mengonsumsi alkohol dapat mengakibatkan terjadinya disinhibisi, ataksia, dan sedasi. Lebih banyak etanol ditemukan dalam darah dan otak daripada di otot atau jaringan lemak. Efek farmakologis etanol meliputi pengaruhnya pada proses timbulnya penyakit, perkembangan prenatal, sistem gastrointestinal, kardiovaskular dan sistem saraf pusat. Etanol mengganggu keseimbangan eksitasi dan inhibisi transmisi listrik di otak, yang menyebabkan disinhibisi, ataksia dan sedasi. Toleransi terhadap etanol mulai timbul setelah penggunaan kronis yang ditunjukkan antara lain dengan gangguan psikis dan aktivitas bila konsumsi alkohol dihentikan secara tiba-tiba (Lamounier et al., 2020).

Alkohol bertindak sebagai depresan sistem saraf pusat (SSP) dan sebagai diuretik dan memengaruhi beberapa sistem neurotransmitter di dalam otak seperti glutamat, asam gamma-amino-butirat (GABA), dopamin, dan sistem serotonin. Etanol juga digunakan sebagai bahan bakar untuk mesin pembakaran internal baik sendiri maupun dalam kombinasi dengan bahan bakar lain dan memiliki keuntungan ekonomi jangka pendek dan jangka panjang dibandingkan bahan bakar fosil (Onyekwelu et al., 2017).



Pengaruh Etanol terhadap Pergerakan Gigi Ortodonti

Konsumsi alkohol yang berlebihan merusak tulang dengan menghambat genesis dan, bila diberikan secara berlebihan dalam pola seperti pesta minuman meningkatkan resorpsi osteoklastik. Efek memabukkan dari etanol dilaporkan mengganggu remodeling tulang, yang menyebabkan peningkatan risiko patah tulang dan

osteoporosis. Berbagai mekanisme molekuler dan seluler telah diduga bertanggung jawab atas dampak penggunaan alkohol pada remodeling tulang, termasuk dampak langsung pada osteoblas dan osteoklas. Selain itu, efek konsumsi alkohol kronis dapat mengatur komposisi tubuh, meningkatkan stres oksidatif, menghasilkan *nitric oxide* (NO) dan menurunkan vitamin D, yang memiliki dampak tidak langsung pada sel-sel tulang (Yang et al., 2020a).

Konsumsi etanol dengan dosis yang berlebihan telah terbukti mengurangi resorpsi tulang, yang merupakan proses penting dalam pergerakan gigi ortodontik. Sebuah studi menggunakan tikus Wistar menunjukkan bahwa paparan etanol menyebabkan penurunan jumlah osteoklas, menunjukkan keterlambatan pergerakan gigi karena berkurangnya aktivitas remodeling tulang (Pawinru et al., 2024) (Araujo et al., 2014a). Dampak etanol pada kualitas tulang lebih lanjut didukung oleh temuan bahwa minum berlebihan dapat menurunkan kualitas tulang alveolar, mengurangi ketebalan trabekular dan kepadatan tulang, yang penting untuk perawatan ortodontik yang efektif (Frazão et al., 2020). Metabolisme etanol menginduksi stres oksidatif, yang dapat menyebabkan perubahan seluler pada fibroblas ligamen periodontal. Stres ini dikaitkan dengan proses inflamasi yang dapat mengakibatkan kematian sel atau penghentian siklus sel, berpotensi menghambat remodeling yang diperlukan untuk pergerakan gigi (Barcia et al., 2017). Ekspresi sinyal pro-inflamasi, seperti interleukin dan metaloproteinase, dimodifikasi oleh etanol, mempengaruhi jalur seperti GSK β , Rho, dan ERK, yang sangat penting untuk fungsi fibroblas ligamen periodontal selama perawatan ortodontik (Barcia et al., 2017a). Paparan etanol mempengaruhi perilaku fibroblas dengan cara yang bergantung pada dosis. Pada dosis yang lebih tinggi, etanol menurunkan aktivitas seluler dan merusak fungsi mitokondria, menyebabkan perubahan dalam organisasi sitoskeleton dan peningkatan kekakuan sel (Kar et al., 2021a). Fibroblas ligamen periodontal, yang penting untuk regenerasi dan remodeling jaringan periodontal, menunjukkan perubahan tingkat proliferasi dan apoptosis di bawah kompresi mekanis selama pergerakan gigi ortodontik. Stres oksidatif yang diinduksi etanol dapat memperburuk efek ini, semakin mempersulit proses ortodontik (Pawinru et al., 2024) (Brockhaus et al., 2021).

Penelitian mengenai pengaruh etanol terhadap pergerakan gigi ortodonti masih sedikit dan perlu dieksplorasi lebih mendalam. Penelitian oleh Liu, *et al.* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan pada pergerakan gigi dan resorpsi akar antara etanol dan kelompok kontrol. Sebaliknya, penelitian oleh Araujo, *et al.* menunjukkan bahwa adanya resorpsi tulang yang sedikit pada akhir pergerakan gigi, sehingga menyebabkan pergerakan gigi yang tertunda (Yang et al., 2020a) (Araujo et al., 2014b;). Artinya, efek alkohol terhadap *bone loss* berkaitan dengan jumlah yang dikonsumsi. Penelitian ini menemukan bahwa hewan coba yang menerima 10% dari total kalori alkohol memiliki efek terhadap parameter tulang, namun hewan coba lain yang menerima 5% dari kalori alkohol menunjukkan reduksi densitas mineral dan kekuatan tulang. Dapat



disimpulkan bahwa penelitian terkait alkohol meningkatkan resorpsi tulang yang tidak dikompensasi oleh peningkatan pembentukan tulang. Hal ini didukung oleh beberapa penelitian yang menunjukkan konsumsi alkohol meningkatkan osteoklastogenesis dan aktivitas osteoklas pada hewan coba dan manusia. Gangguan homeostasis tulang dapat menyebabkan hilangnya tulang dengan menggeser keseimbangan ke arah resorpsi tulang (Barcia et al., 2017) (Eby et al., 2020) (Pawinru et al., 2024).

1.4.3.1 Efek Etanol pada Fibroblas

Etanol memiliki dampak yang signifikan terhadap aktivitas fibroblas melalui berbagai mekanisme molekuler dan seluler yang berpotensi merugikan fungsi jaringan. Salah satu mekanisme utama adalah penghambatan sintesis protein, di mana etanol mengganggu fungsi retikulum endoplasma, organel yang bertanggung jawab untuk sintesis dan pelipatan protein. Gangguan ini menyebabkan penurunan produksi protein, termasuk kolagen, yang merupakan komponen utama matriks ekstraseluler dan berperan penting dalam menjaga struktur jaringan. Penurunan sintesis kolagen dapat mengganggu proses perbaikan dan remodeling jaringan yang bergantung pada aktivitas fibroblas (Ranzer et al., 2011).

Selain itu, etanol dapat meningkatkan stres oksidatif dalam fibroblas dengan memicu produksi *reactive oxygen species* (ROS), molekul reaktif yang dapat merusak membran sel, protein, dan DNA. Akumulasi ROS yang tidak terkendali dapat menyebabkan kerusakan seluler yang signifikan, termasuk disfungsi organel seperti mitokondria, yang berperan penting dalam metabolisme energi seluler. Kerusakan akibat ROS juga dapat memengaruhi jalur pensinyalan intraseluler, sehingga menghambat kemampuan fibroblas untuk merespons rangsangan lingkungan secara efektif (Ji, 2012; Y. Liu et al., 2022).

Lebih lanjut, paparan etanol dalam konsentrasi tinggi diketahui dapat memicu apoptosis fibroblas, yaitu proses kematian sel terprogram. Apoptosis fibroblas diinduksi oleh aktivasi jalur molekuler seperti *caspase cascade* yang diaktifkan oleh stres oksidatif atau gangguan mitokondria. Penurunan populasi fibroblas yang disebabkan oleh apoptosis dapat secara langsung mengurangi kemampuan jaringan untuk memperbaiki kerusakan, terutama di ligamen periodontal, yang bergantung pada aktivitas fibroblas untuk mempertahankan homeostasis jaringan (Reed et al., 2024).

Efek gabungan dari mekanisme ini menunjukkan bahwa etanol tidak hanya memengaruhi fungsi fibroblas secara langsung tetapi juga memiliki implikasi yang luas terhadap proses penyembuhan jaringan, remodeling matriks ekstraseluler, dan homeostasis jaringan. Kerusakan yang diinduksi oleh etanol pada fibroblas dapat

erburuk kondisi patologis, seperti penyakit periodontal atau penyembuhan luka yang ggu, terutama pada individu dengan paparan etanol kronis. Studi lebih lanjut rkan untuk memahami mekanisme molekuler yang mendasari efek etanol pada as dan mengeksplorasi strategi untuk mengurangi dampaknya dalam konteks klinis al., 2020).



1.4.3.2 Pengaruh Etanol pada Remodeling Jaringan

Etanol secara signifikan memengaruhi proses remodeling jaringan melalui mekanisme yang berbeda di area tarikan dan tekanan, yang merupakan bagian integral dari respons biomekanik jaringan. Di area tarikan, fibroblas memainkan peran kunci dalam sintesis dan deposisi komponen matriks ekstraseluler (ECM), seperti kolagen, elastin, dan proteoglikan, yang diperlukan untuk regenerasi dan pemulihan struktur jaringan. Namun, paparan etanol dapat menurunkan aktivitas fibroblas secara drastis melalui mekanisme seperti penghambatan sintesis protein, peningkatan stres oksidatif, dan induksi apoptosis. Penurunan aktivitas fibroblas ini menyebabkan terganggunya pembentukan jaringan baru di area tarikan, sehingga menghambat proses penyembuhan dan memperlambat regenerasi jaringan. Akibatnya, struktur dan fungsi jaringan tidak dapat dipertahankan dengan baik, yang berpotensi menyebabkan kelemahan struktural jangka panjang di area tersebut (Ranzer et al., 2011) (Kar et al., 2021b).

Sebaliknya, di area tekanan, etanol berkontribusi pada degradasi berlebihan matriks ekstraseluler melalui mekanisme yang lebih kompleks. Etanol diketahui meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS), yang menginduksi aktivitas protease seperti *matrix metalloproteinases* (MMP) dan enzim lain yang berperan dalam degradasi ECM. Aktivasi jalur degradasi ini mempercepat kerusakan kolagen dan komponen ECM lainnya, sehingga melemahkan struktur jaringan di area tekanan. Efek toksik etanol juga dapat memperburuk ketidakseimbangan antara resorpsi dan deposisi matriks, yang sangat penting dalam proses remodeling. Kerusakan ECM di area tekanan ini dapat memicu respons inflamasi lebih lanjut, yang memperburuk disfungsi jaringan dan memperlambat adaptasi jaringan terhadap tekanan mekanis (Sushma et al., 2023).

Kombinasi dari penurunan pembentukan jaringan baru di area tarikan dan peningkatan degradasi ECM di area tekanan menunjukkan bahwa paparan etanol memiliki efek ganda yang merusak pada proses remodeling jaringan. Gangguan ini tidak hanya memperlambat penyembuhan jaringan tetapi juga meningkatkan risiko kerusakan jaringan lebih lanjut, terutama dalam kondisi patologis seperti penyakit periodontal atau selama perawatan ortodontik. Oleh karena itu, paparan etanol dapat menjadi faktor yang memperburuk prognosis penyembuhan jaringan periodontal, dengan implikasi serius bagi pengelolaan klinis. Studi lebih lanjut diperlukan untuk mengeksplorasi mekanisme molekuler yang mendasari pengaruh etanol pada remodeling jaringan dan untuk mengembangkan intervensi terapeutik yang dapat memitigasi efek merugikan ini (Poole & Arteel, 2016).

Pemilihan waktu penelitian sangat penting untuk memahami perubahan dinamis remodeling tulang. Namun, penting untuk mempertimbangkan bahwa pengaruh eksternal, seperti etanol, dapat bervariasi tergantung pada proses biologis spesifik terjadi pada setiap tahap. Dampak etanol pada peradangan dan aktivitas seluler cenderung mengubah proses remodeling. Hari ke-3 mewakili fase awal respons biologis, di mana peningkatan aktivitas inflamasi dan migrasi seluler, termasuk fibroblas, yang



memulai proses remodeling. Hari ke-7 mencerminkan fase proliferasi, di mana fibroblas aktif memproduksi matriks ekstraseluler untuk mendukung pembentukan jaringan baru. Sementara itu, hari ke-14 menunjukkan fase maturasi, di mana penyembuhan jaringan periodontal mendekati tahap penyelesaian. Pemilihan waktu ini memberikan gambaran komprehensif tentang pengaruh etanol terhadap remodeling tulang pada setiap tahap prosesnya (Gao et al., 2018; Schröder et al., 2018).

Studi mengenai pengaruh etanol pada aktivitas fibroblas dalam kondisi pergerakan gigi ortodonti menjadi sangat penting, mengingat fibroblas memiliki peran kunci dalam menjaga homeostasis ligamen periodontal dan memungkinkan pergerakan gigi yang aman tanpa merusak jaringan penyangga gigi. Beberapa literatur mengatakan etanol terbukti memengaruhi aktivitas fibroblas, maka ini dapat memberikan implikasi klinis penting bagi pasien yang sedang menjalani perawatan ortodonti, terutama yang terpapar etanol secara langsung atau tidak langsung, misalnya melalui konsumsi alkohol, penggunaan obat-obatan tertentu, atau penggunaan produk kimia yang mengandung etanol.

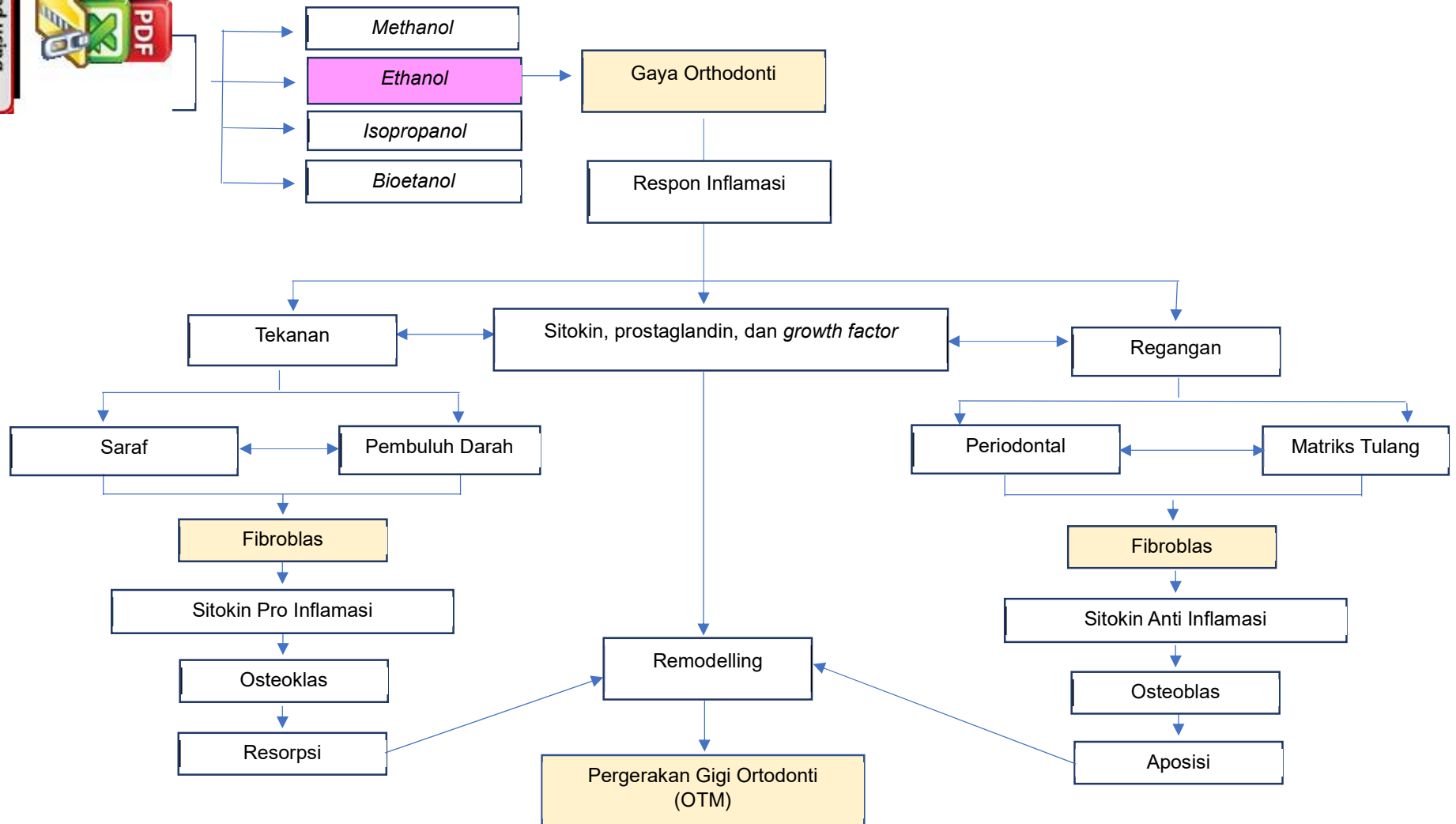
Penelitian ini memiliki kebaruan (novelty) dalam beberapa aspek yang belum banyak dijelajahi pada studi sebelumnya, khususnya dalam konteks ortodonti. Pertama, penelitian ini merupakan salah satu studi awal yang secara spesifik memetakan perubahan jumlah fibroblas ligamen periodontal selama proses pergerakan gigi ortodonti dengan paparan etanol pada tiga titik waktu pengamatan yang kritis secara biologis, yaitu hari ke-0 (baseline), hari ke-3 (fase inflamasi awal), hari ke-7 (fase proliferasi), dan hari ke-14 (fase resolusi). Sebagian besar studi sebelumnya hanya mengevaluasi satu atau dua titik waktu, atau berfokus pada sel lain seperti osteoklas. Kedua, fokus terhadap aktivitas fibroblas, sel utama dalam remodeling jaringan periodontal, dengan perlakuan kombinasi gaya ortodonti dan etanol, memberikan pendekatan metodologis yang berbeda dari studi terdahulu yang umumnya mengevaluasi efek etanol terhadap tulang secara umum atau menggunakan model non-ortodontik. Ketiga, belum ada studi in vivo yang secara eksplisit mengkaji efek etanol terhadap respons fibroblas dalam konteks tekanan ortodonti yang dinamis, khususnya pada model hewan percobaan. Oleh karena itu, penelitian ini menawarkan kontribusi ilmiah yang spesifik dan relevan terhadap praktik klinis, terutama bagi pasien ortodonti yang terpapar etanol dalam kesehariannya.

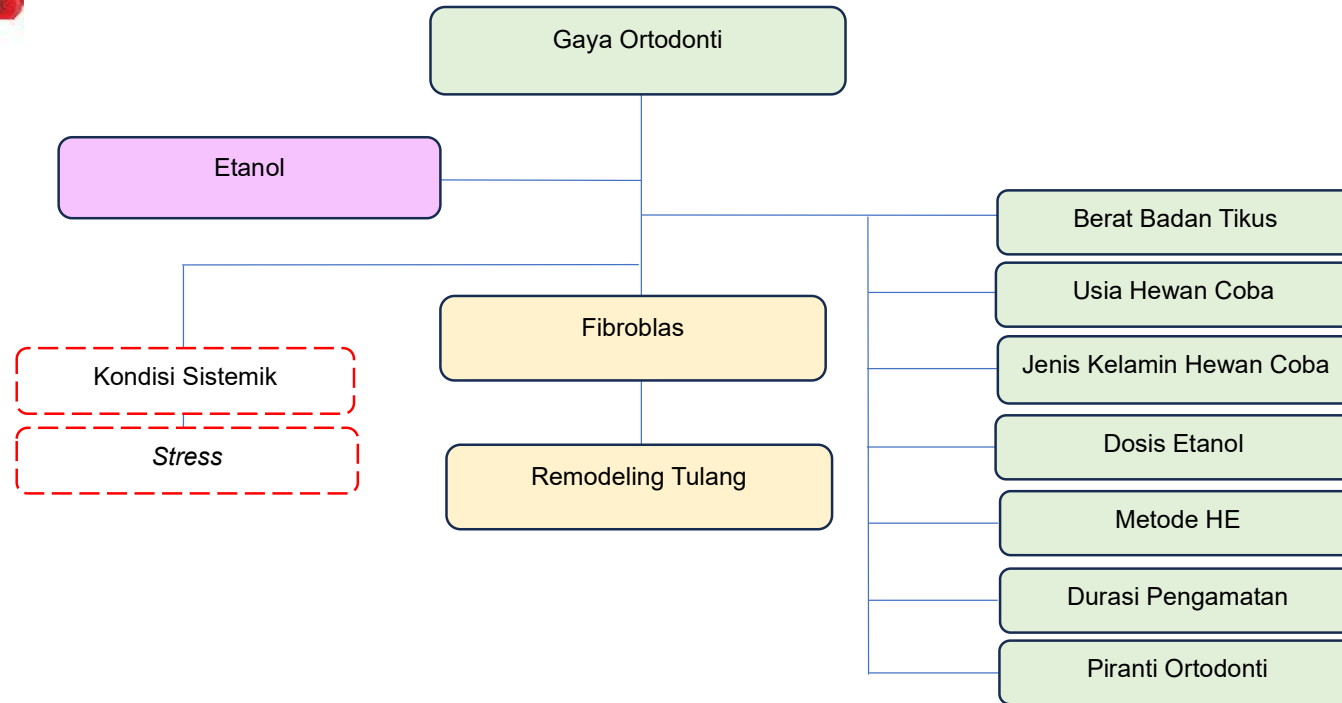
1.5 Hewan coba

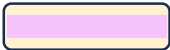
Sprague dawley adalah tikus yang pertama kali dihasilkan oleh Robert S. Dawley pada tahun 1920 dengan mengawinkan tikus Wistar betina dengan hybrid jantan yang tidak diketahui asalnya. Sprague dawley telah digunakan sebagai hewan uji untuk kondisi

es, obesitas, kanker, dan kardiovaskular yang terjadi pada manusia (Brower dkk., Menurut Baker dkk. (2013) berikut adalah taksonomi dari Sprague dawley ; (1) Kelas : Mammalia ; (2) Subkelas : Theria ; (3) Infrakelas : Eutharia ; (4) Ordo : Rodentia ; (5) Famili : Muridae ; (6) Subfamili : Murinae ; (7) Genus : Rattus ; Spesies : ***Rattus norvegicus*** (galur: Sprague dawley).







-  : Variabel Independen
-  : Variabel Dependen
-  : Variabel Kendali
-  : Variabel Tidak Terkendali

1.8 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat perbedaan jumlah sel fibroblas sebelum dan setelah pemberian etanol selama proses remodeling tulang akibat gaya ortodonti?
2. Apakah ada perbedaan jumlah sel fibroblas sebelum dan setelah pemberian etanol pada hari ke 3, ke 7 dan ke 14 pada proses remodeling tulang selama aplikasi gaya ortodonti ?

1.9 Tujuan Penelitian

1. Menganalisis perbedaan jumlah sel fibroblas sebelum dan setelah pemberian etanol pada proses remodeling tulang selama aplikasi gaya ortodonti
2. Mengevaluasi perubahan perbedaan jumlah sel fibroblas sebelum dan setelah pemberian etanol pada hari ke 3, ke 7 dan ke 14 pada proses remodeling tulang selama aplikasi gaya ortodonti

1.10 Manfaat Penelitian

1.10.1 Manfaat Ilmiah

1. Menambah wawasan dalam ortodonti terkait pengaruh etanol terhadap jaringan periodontal, khususnya fibroblas.
2. Sebagai bahan kajian bagi peneliti selanjutnya mengenai pengaruh konsumsi etanol pada proses biomekanik remodeling tulang selama aplikasi gaya ortodonti.

1.10.2 Manfaat Aplikatif

1. Memberikan panduan kepada dokter gigi ortodontis mengenai dampak konsumsi etanol pada keberhasilan perawatan ortodonti.
2. Membantu merumuskan rekomendasi gaya hidup yang mendukung keberhasilan perawatan ortodonti.

1.11 Hipotesis Penelitian

1. Terdapat perbedaan jumlah sel fibroblas sebelum dan setelah pemberian etanol pada proses remodeling tulang selama aplikasi gaya ortodonti.
2. Terdapat perbedaan jumlah sel fibroblas sebelum dan setelah pemberian etanol pada hari ke 3, ke 7 dan ke 14 pada proses remodeling tulang selama aplikasi gaya ortodonti



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris dengan desain penelitian *post - test only control group*.

2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2025 – April 2025.

2.3 Lokasi Penelitian

- Proses perlakuan hewan coba dilakukan di laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
- Pembuatan preparat jaringan tulang alveolar dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
- Pemeriksaan pewarnaan dengan metode *Haematoxylin Eosin (HE)* di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
- Perhitungan jumlah sel fibroblas dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

2.4 Populasi dan Sampel Penelitian

2.4.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah 40 hewan coba tikus wistar spesies *Rattus norvegicus* berjenis kelamin jantan.

2.4.2 Sampel Penelitian

- Teknik Pengambilan Sampel Penelitian
Pemilihan sampel penelitian menggunakan teknik *purposive sampling*.
- Besar Sampel Penelitian
Pemilihan jumlah hewan coba mengacu pada rumus Indra 1999 yaitu :

$$n = \frac{(15 + p)}{p}$$

Keterangan:

n : Jumlah pengulangan/ besar sampel dalam kelompok

p : Jumlah perlakuan/ besarnya kelompok

Dalam penelitian ini jumlah kelompok perlakuan ada 4 kelompok, maka jumlah sampel yang dibutuhkan untuk masing-masing kelompok perlakuan adalah:

$$n = \frac{(15 + p)}{p}$$



$$n = \frac{(15 + 4)}{4}$$

$$n = \frac{19}{4}$$

$$n = 4,75$$

$$n = 5$$

Berdasarkan jumlah minimum sampel yang diperbolehkan secara statistik dan tidak melanggar prinsip 3R (*Reduction, Replacement, and Refinement*) yaitu pada penelitian ini menggunakan hewan coba, jumlah sampel untuk tiap kelompok adalah 5 ekor.

Jadi jumlah sampel keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 40 ekor tikus. Keseluruhan tikus akan dibagi menjadi 4 kelompok dan tiap kelompok terdiri atas 5 ekor tikus pada masing-masing hari ke-0, ke- 3, ke 7 dan ke 14.

2.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

2.5.1 Kriteria Inklusi :

- 1) Kondisi tikus sehat.
- 2) Tidak ada abnormalitas anatomis yang tampak.
- 3) Berat badan 200 – 250 gram.
- 4) Jenis kelamin jantan.
- 5) Usia tikus 2-3 bulan.

2.5.2 Kriteria Eksklusi :

- 1) Tikus mati saat penelitian berlangsung.

2.6 Identifikasi Variabel Penelitian

2.6.1 Variabel bebas / Independen

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah etanol.

2.6.2 Variabel terikat / Dependen

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah Fibroblas dan Remodeling Tulang.

2.6.3 Variabel kendali

Variable terkendali dalam penelitian ini antara lain:

- a) Berat Badan Tikus
- b) Usia Hewan Coba
- c) Jenis Kelamin Hewan Coba
- d) Dosis Etanol



- e) Metode HE
- f) Durasi Pengamatan
- g) Piranti Ortodonti

2.7 Definisi Operasional

Variabel	Defenisi operasional	Alat Ukur	Skala
1. Etanol	Senyawa yang terkandung pada minuman alkohol yang merupakan minuman keras golongan C dengan kadar etanol sebesar 20%. Larutan etanol yang akan disondasi pada hewan coba adalah $2,06\text{ml/kgBB} \times 0,25 \text{ kg}$ massa hewan coba yaitu 0,515 mL/hari.	-	Nominal
2. Fibroblas	Fibroblas adalah sel matriks ekstraseluler pada jaringan periodontal dan sekitar tulang alveolar hewan coba yang diidentifikasi dengan menggunakan prosedur pewarnaan yang menggunakan <i>Haematoxylin Eosin</i> (HE) Pengamatan sediaan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Perhitungan jumlah fibroblas dengan menghitung jumlah fibroblas yang aktif memiliki sitoplasma yang besar, kromatin halus, nukleusnya ovoid dan tampak nyata.	HE (<i>Haematoxylin Eosin</i>)	Rasio

2.8 Bahan dan Alat Penelitian

2.8.1 Bahan Penelitian

- a. Pakan standar hewan coba (Turbo, Indonesia) dan air minum
- b. Etanol 20%
- c. *Flowable Composite (Hexa Orthobond LC)*
- d. Bahan anestetikum Ketamin HCL (Bernofarm)
- e. Bahan Embendding
- f. *Aquadest* (WIDA, Indonesia)
- g. *Buffered Neutral Formalin 10% (Millipore, Germany)*
- h. Asam Formiat 10%
- i. *Xylol (Millipore, Germany)*
- j. *Meyer egg albumin (Medsupplypartners, USA)*
- k. *Paraffin solid (Histoplast, USA)*
- l. *Entellan/Canada Balsam (Millipore, Germany)*



- m. Label (*Self Adhesive Labels*, Indonesia)
- n. Kertas saring (*Whatman, England*)
- o. *Phosphate buffer saline* (pH 7,6)
- p. *Peroxidase blocking solution*
- q. *Prediluted blocking serum*
- r. *Horseradish peroxidase (HRP)*
- s. Antibodi sekunder biotin

2.8.2 Alat Penelitian

- a. Kandang pemeliharaan hewan coba (Lion Star, Indonesia)
- b. Tempat makan dan minum hewan coba (Lion Star, Indonesia)
- c. *Closed coil spring applier* (American Orthodontic)
- d. Neraca
- e. *Syringe* (Onemed)
- f. Gelas ukur (Pyrex, Japan)
- g. *Beaker glass* (Pyrex, Japan)
- h. *Blade Scalpel* (Dentica, USA)
- i. *Scalpel* (Dentica, USA)
- j. Alat potong tulang/knoble tang (Yamaco, Japan)
- k. Pinset anatomi (Dentica, USA)
- l. Botol untuk dekalsifikasi (Lion Star, Indonesia)
- m. Mikrotomotor *contra angle low speed*
- n. *Minidrill*
- o. *Diamond round bur no.1* (*Edents, Switzerland*)
- p. *Waterbath* (Roundfin, China)
- q. *Paraffin dispenser* (Roundfin, China)
- r. Kuas kecil (Mastona, China)
- s. Kertas saring
- t. *Staining jar*
- u. Mikroskop cahaya (Leica, Germany)
- v. *Object glass* (Sail Brand, China)
- w. *Deck glass* (Sail Brand, China)
- x. Sarung tangan dan masker (Sensi Gloves, Indonesia)
- y. *Digital Gear Tooth Caliper* (Mitotoyo)
- z. *Tension Gauge Orthodontic*
- aa. Kamera

dur Penelitian

Persiapan *Ethical Clearance*

Keterangan kelayakan etik penelitian yang diproses agar peneliti dapat melakukan penelitian dengan serangkaian kegiatan pada hewan coba. Keterangan



kelayakan etik penelitian ini dikeluarkan oleh Unit Etika dan Advokasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.

2.9.2 Persiapan dan Pembagian Kelompok Hewan Coba

Hewan coba dilakukan aklimatisasi selama satu minggu sebelum diberikan perlakuan untuk proses adaptasi dengan tempat tinggal dan makanan. Hewan coba yang sudah diadaptasikan akan dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol positif (K) yang hanya diberikan gaya sebesar 50 gf dan kelompok perlakuan (P) yang diberikan gaya 50 gf dan juga sondasi etanol 0,515 ml, seperti tabel di bawah ini:

Tabel 2.1. Kelompok Hewan Coba

Kelompok	Perlakuan	Jumlah		Durasi
K	Gaya 50 gf	10	K0: 5 ekor	0 hari
			K1 : 5 ekor	3 hari
			K2 : 5 ekor	7 hari
			K3 : 5 ekor	14 hari
P	Gaya 50 gf + etanol 0,515 ml	10	P0 : 5 ekor	0 hari
			P1 : 5 ekor	3 hari
			P2 : 5 ekor	7 hari
			P3 : 5 ekor	14 hari

Hewan coba yang sudah dipastikan akan dikelompokkan menjadi 6 kelompok, yaitu :

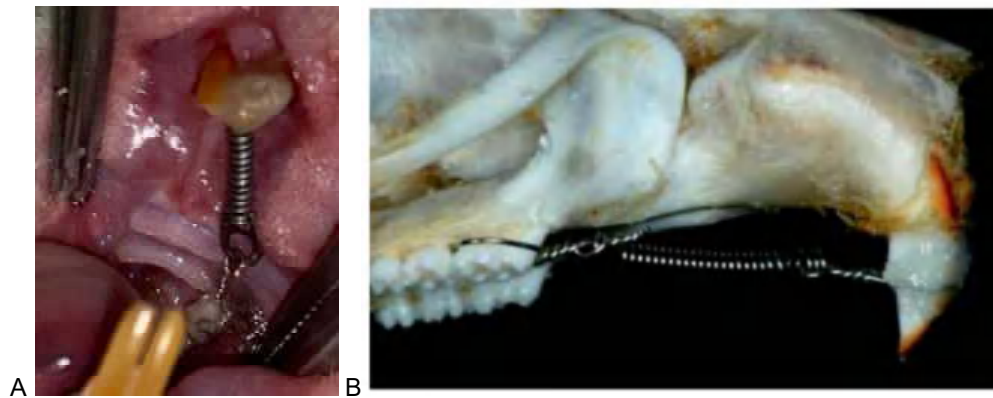
- Kelompok K0 : Merupakan kelompok kontrol yang tidak diberikan perlakuan apa pun pada hari ke 0 sebanyak 5 ekor.
- Kelompok K1 : Merupakan kelompok kontrol yang diberi gaya ortodonti selama 3 hari sebanyak 5 ekor.
- Kelompok K2 : Merupakan kelompok kontrol yang diberi gaya ortodonti selama 7 hari sebanyak 5 ekor.
- Kelompok K3 : Merupakan kelompok kontrol yang diberi gaya ortodonti selama 14 hari sebanyak 5 ekor.
- Kelompok P0 : Merupakan kelompok perlakuan yang tidak diberikan perlakuan apa pun pada hari ke 0 sebanyak 5 ekor.
- Kelompok P1 : Merupakan kelompok perlakuan yang diberi gaya ortodonti dan larutan etanol selama 3 hari sebanyak 5 ekor.
- Kelompok P2 : Merupakan kelompok perlakuan yang diberi gaya ortodonti dan larutan etanol selama 7 hari sebanyak 5 ekor.
- Kelompok P3 : Merupakan kelompok perlakuan yang diberi gaya ortodonti dan larutan etanol selama 14 hari sebanyak 5 ekor.



2.9.3 Cara Kerja Penelitian

2.9.3.1 Pemasangan *closed coil spring*

- Sebelum prosedur pemasangan dan aktivasi *Ni-Ti closed coil spring*, dilakukan injeksi intramuskuler. Bahan anastesi yang digunakan berupa ketamin.
- Kemudian dilakukan pemasangan *Ni-Ti closed coil spring* pada satu sisi dengan fiksasi 0.1 *stainless steel ligature wire*.
- Kemudian dilakukan pengukuran besar gaya menggunakan *tension gauge* untuk menghasilkan gaya sebesar 50 gf.
- Setelah didapatkan besar gaya penelitian *closed coil spring* difiksasi pada sisi yang berbeda dengan 0.1 *stainless steel ligature wire*.
- Untuk meningkatkan retensi, diaplikasikan *flowable composite*.
- Setelah dilakukan pemasangan *closed coil spring* di hari yang sama dilanjutkan dengan pemberian etanol pada hewan coba.



Gambar 2.1. A. Tampak oklusal (Pawinru et al., 2024). B. Tampak Lateral ilustrasi hewan coba dengan perlakuan kekuatan mekanik menggunakan *coil spring* NiTi. *Coil spring* NiTi dengan gaya 50 gf (Inset: *wire* tambahan dimasukkan ke dalam ujung *coil spring*) antara molar kiri atas pertama dan gigi insisivus atas untuk gerakan. (Akhoundi, 2016 ; Sella, 2012)

2.9.3.2 Pemberian Etanol

- Etanol sebagai representasi minuman beralkohol
- Pengenceran etanol 20% dengan rumus

Dengan diketahui:

- Sediaan etanol yang ada = 95%
- Konsentrasi yang diharapkan = 20%
- Volume konsentrasi etanol 20% = 100ml

Penyelesaian:

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$95\%.V1 = 20\%.100\text{ml}$$



$$V_1 = \frac{20\% \cdot 100\text{ml}}{95\%} = 21,05 \text{ ml} \sim 21,1 \text{ ml}$$

Jadi 21,1 ml + 78,9 ml Aquades = larutan 100ml etanol 20%

3. Volume dosis etanol yang diberikan

Volume etanol yang disondasi secara oral ke lambung hewan coba dengan rumus :

$$\rho = \frac{m}{v}$$

ρ = massa jenis (g/ml)

m = massa (g)

v = volume (ml)

Dengan diketahui:

- Massa jenis alkohol 20% = 0,9704 g/ml
- Massa dari konsentrasi yang akan diberikan = 2 g/kg BB
- Massa hewan coba = 250 g = 0,25kg

Jadi, untuk mengetahui volume etanol yang akan disondasi pada hewan coba, sbb:

$$\rho = m/v \Rightarrow 0,9704 \text{ g/ml} = m/v$$

$$0,9704 \text{ g/ml} = \frac{2 \text{ g}}{v}$$

$$v = \frac{2 \text{ g}}{0,9704 \text{ g/ml}}$$

$$v = \frac{2 \text{ g}}{0,9704 \text{ g/ml}} = v = 2,06 \text{ ml}$$

Jadi, volume larutan yang akan disondasi pada hewan coba adalah 2,06 ml/kgBB x 0,25 kg massa hewan coba = 0,515 ml yang akan disondasi/hari. (Araujo *et al.*, 2014)

Pemberian etanol pada hewan coba dengan menggunakan sonde volume larutan yang akan disondasi pada hewan coba adalah 2,06 ml/kgBB x 0,25 kg massa hewan coba = 0,515 ml yang akan disondasi/hari.

2.9.3.3 Prosedur Pembuatan Preparat

Pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi. Pada kelompok sampel hari ke 0, 3, 7 dan ke 14 pada masing – masing perlakuan, dilakukan dekapitasi. Sebelum *sacrificed* hewan coba, tikus diberi injeksi *ketamine* 160 mg/kgBB dan *xylazine* 20 mg/kgBB yang diinjeksikan secara intramuskular pada paha bagian atas. Tikus akan didekapitasi dengan *cervical dislocation* (ibu jari dan jari telunjuk ditempatkan dikedua sisi leher pada dasar tulang tengkorak, tangan lainnya menarik ekor atau kaki bagian belakang sehingga bagian servikal tikus terpisah dari tulang tengkorak). Maksila diambil dan direndam ke dalam larutan untuk proses lisis dan fiksasi selama 24 jam. Fiksasi dilakukan dengan memasukan jaringan tulang yang telah diambil ke dalam formalin 10% (pH 7,0)



untuk memelihara struktur jaringan.

Prosedur pembuatan preparat histopatologi dengan tahapan:

a) *Embedding*

Maksila direndam dalam larutan fiksatif berupa formalin selama 1-7 hari. Kemudian direndam dalam etanol 70% selama 24 jam dan dilanjutkan dengan etanol 80% selama 2 jam, direndam dalam etanol 90% dan 96% secara berurutan masing-masing 30 menit. Dilanjutkan perendaman sebanyak 3x dalam etanol selama 30 menit masing-masing dalam botol yang berbeda. Direndam dalam xylol sebanyak 2x masing-masing selama 30 menit. Proses selanjutnya dikerjakan dalam *incubator* dengan suhu 56-58°C. Direndam dalam xylol, kemudian dalam paraffin sebanyak 3 kali, kemudian dilanjutkan dengan *embedding* dengan mencelupkan maksila dalam parafin cair yang telah dituang dalam wadah. Setelah beberapa saat, parafin akan memadat dan mandibula berada dalam blok.

b) *Coating objek glass*

Objek gelas (baru) ditandai dengan kikir atau pen dan direndam dalam alkohol 70% selama semalam. Dikeringkan dan dihindarkan dari debu. Dichelupkan selama 30 detik dalam 0,05% gelatin hangat yang dilarutkan dalam aquades. Gelatin 0,5% sebanyak 100 ml digunakan untuk 100 objek gelas. Kemudian dikeringkan dalam ruang tertutup.

c) Pembuatan preparat jaringan

Jaringan pada blok paraffin hasil embedding dimasukkan dalam penjepit (blok holder) mikrotom dan diatur kesejajaran permukaannya potong dengan mata pisau mikrotom. Pemotongan diawali dengan mengatur ketebalan irisan diatas 10 mikrometer. Pemotongan yang bagus akan menghasilkan bentuk potongan seperti pita. Irisan diambil dengan pinset dan dimasukkan air (suhu ruang) untuk membuka lipatan yang mungkin terjadi pada preparat. Hasil irisan dipindahkan dengan menggunakan jarum bertangkai ke air hangat (38°-40°C) untuk meluruskan kerutan halus yang ada. Irisan yang terentang sempurna diambil dengan gelas objek. Potongan terpilih dikeringkan dan diletakkan di atas *hotplate* (38°-40°C) sampai kering. Selanjutnya preparat disimpan dalam *incubator* suhu 38°-40°C selama 24 jam. (Castellazzi Sella et al., 2012; Herniyati, 2016)

2.9.3.4 Pengamatan dengan Menggunakan Metode HE

- Proses deparafinisasi, yaitu penghilangan parafin dengan memasukkan preparat ke dalam seri larutan xylol III, xylol II, dan xylol I
- Proses rehidrasi, yaitu dengan memasukkan preparat ke dalam seri larutan alkohol absolut sampai alkohol 70% secara berurutan.
- Preparat diwarnai dengan pewarna hematosiklin dilanjutkan dengan



- pencucian dalam akuades
- Preparat diwarnai dengan eosin lalu preparat dimasukkan kedalam alkohol bertingkat mulai alkohol 70% sampai alkohol absolut setelah itu dilakukan penjernihan (clearing) dengan xylol murni.
 - Sediaan ditutup dengan cover glass (mounting) dan siap untuk dilakukan pengamatan di bawah mikroskop
 - Pengamatan sediaan dilakukan dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x untuk melakukan penghitungan jumlah sel fibroblas.

2.9.3.5 Pengolahan Data

Data dikumpulkan dan diolah dengan menggunakan aplikasi SPSS.

2.10 Analisis Data

Data primer jumlah sel fibroblas yang diperoleh dari hasil pengamatan histologis di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dianalisis menggunakan pendekatan statistik parametrik. Uji normalitas dilakukan terlebih dahulu dengan metode Shapiro-Wilk untuk memastikan bahwa distribusi data memenuhi asumsi normalitas. Selanjutnya, untuk menganalisis perbedaan jumlah fibroblas antar waktu dalam setiap kelompok (Gaya dan Gaya+Etanol) digunakan uji ANOVA satu arah, yang kemudian dilanjutkan dengan uji post hoc LSD. Sementara itu, untuk membandingkan jumlah fibroblas antar dua kelompok (Gaya vs Gaya+Etanol) pada setiap titik waktu pengamatan (hari ke-0, ke-3, ke-7, dan ke-14), digunakan uji t-independen. Perbandingan lebih lanjut antar kelompok dan waktu kombinasi dilakukan melalui uji post hoc LSD antar kelompok. Seluruh hasil analisis dianggap signifikan apabila nilai $p < 0,05$. Interpretasi dan visualisasi data kuantitatif didukung oleh tampilan deskriptif yang menyajikan rerata dan standar deviasi jumlah fibroblas pada masing-masing kelompok dan waktu.

