

**PERBEDAAN KADAR MATRIKS METALLOPROTEINASE 8 CAIRAN SULKUS  
GINGIVA PADA PEMAKAIAN ALAT ORTODONTI CEKAT YANG  
BERTUJUAN TERAPI DAN AKSESORIS**

**TESIS**

**Oleh:**

**AIDA FITRIANA**

**NO BP : 1121212017**



**PROGRAM PASCASARJANA ILMU BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
TAHUN 2013**

	No. Alumni Universitas	AIDA FITRIANA	No. Alumni Fakultas
	<p>a). Tempat/Tgl.lahir :Rambatan,21-9-1977; b). Nama Orang Tua (Ayah) : (Alm) Baharuddin Jamid(Ibu):Hj.Fatimah; c) Program Studi: IlmuBiomedik; d).Fakultas: PascaSarjana;e) No.BP : 1121212017; f). Tgl lulus:8 November 2013; g).Predikat lulus:Sangat memuaskan h) IPK : 3,60 ; i) Lama Studi: 2 tahun; j). Alamat:Kompleks Taruko I A.14 Padang</p>		
<p><b>PERBEDAAN KADAR MATRIKS METALLOPROTEINASE 8 CAIRAN SULKUS GINGIVA PADA PEMAKAIAN ALAT ORTODONTI CEKAT YANG BERTUJUAN TERAPI DAN AKSESORIS</b> (Dibawah Bimbingan : Prof. DR.dr. Eryati Darwin.,PA(K) dan dr. Zulkarnain Edward.,MS.,Ph.D)</p> <p><b>ABSTRAK</b></p> <p>Alat ortodonti cekat digunakan untuk menggerakkan gigi ke posisi ideal dalam lengkung rahang. Fenomena yang terjadi di masyarakat sekarang ini menunjukkan alat ortodonti cekat digunakan bertujuan sebagai aksesoris bukan untuk terapi. Proses pergerakan gigi memerlukan aktivitas suatu enzim yaitu enzim Matriks metalloproteinase-8 (MMP-8) yang dihasilkan oleh PMN, fibroblas, makrofag. MMP-8 memainkan peran sangat penting dalam proses pergerakan gigi, dengan adanya MMP-8 kolagen tipe I yang dominan ditemui pada ligamen periodontal akan terdegradasi sehingga memungkinkan osteoklas dan osteoblas bergerak dalam matriks ekstraseluler. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ada perbedaan kadar MMP-8 CSG pada pemakaian ortodonti cekat untuk tujuan terapi dan aksesoris dengan lama pemakaian kurang dari 6 bulan dan lebih dari 6 bulan</p> <p>Duapuluh empat subyek dibagi menjadi empat kelompok yaitu kelompok aksesoris dengan pemakaian kurang dari 6 bulan, lebih dari 6 bulan, kelompok terapi dengan pemakaian kurang 6 bulan, kelompok terapi dengan pemakaian lebih 6 bulan. Masing-masing subyek diambil sampel cairan sulkus gingiva (CSG) dengan teknik <i>intrasucular superficialis</i> menggunakan <i>paper point</i> no 15 selama 3 menit pada bagian mesial dan distal Kaninus rahang atas. Kemudian dilakukan uji ELISA menggunakan <i>Human MMP8 kit</i> Abcam.</p> <p>Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari analisa statistik tidak terlihat ada perbedaan kadar MMP-8 yang signifikan antara kelompok terapi dan kelompok aksesoris dengan lama pemakaian kurang dari 6 bulan maupun yang lebih dari 6 bulan (<math>p&gt;0,05</math>).</p> <p>Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan kadar MMP-8 CSG pada pemakaian ortodonti cekat dengan tujuan terapi maupun aksesoris, baik yang kurang dari 6 bulan maupun yang lebih dari 6 bulan.</p> <p>Kata kunci : MMP-8, ortodonti, terapi, aksesoris, CSG</p>			

Tesis telah dipertahankan di depan sidang pengujian dan dinyatakan lulus pada tanggal 8 November 2013

Abstrak telah disetujui oleh pembimbing dan pengujian.

Tanda tangan	1.	2.	3.	4.	5.
Nama terang	Prof. DR.dr. Eryati Darwin.,PA(K)	dr. Zulkarnain Edward.,MS.,Ph.D)	Prof. dr. Fadil Oenzil,PhD,SpGK	DR.drg.Isnindiah Koerniati	drg.Mustafa Noer., MS

Mengetahui:

Ketua Program Studi: Prof.DR. dr. DelmiSulastris, MS, SpGK. \_\_\_\_\_

Nama

TandaTangan

Alumnus telah mendaftarkan ke Pascasarjana / Universitas dan mendapatkan Nomor Alumnus:

	Petugas Pascasarjana/Universitas
No. : Alumni Program Pascasarjana	Nama Tanda Tangan
No.: Alumni Universitas	Nama Tanda Tangan

## **ABSTRACT**

### **THE DIFFERENCE OF LEVEL MATRIX METALLOPROTEINASE 8 GINGIVAL CREVICULAR FLUID ON ORTHODONTIC FIXED APPLIANCE FOR THERAPY AND ACCESSORIES PURPOSE**

**Aida Fitriana**

Fixed orthodontic appliance used to move the teeth into the ideal position in the arch . Phenomena shows fixed orthodontic appliance used as an accessory not intended for treatment . Tooth movement process requires an enzyme activity of the enzyme matrix metalloproteinase - 8 ( MMP - 8 ) is produced by PMN , fibroblasts , macrophages . MMP - 8 plays a very important role in the process of tooth movement , in the presence of MMP - 8 is predominantly type I collagen found in the periodontal ligament would be degraded to allow osteoclasts and osteoblasts move in the extracellular matrix The aims of this study to determine whether there are differences in the levels of MMP - 8 GCF on the use of fixed orthodontic therapy purpose and accessories with duration of use less than 6 months and more than 6 months.

Twenty- four subjects were divided into four groups: use accessories with less than 6 months , more than 6 months , therapy group with the use of less 6 months , therapy group over 6 months. Each subject taken gingival crevicular fluid samples ( GCF ) with superficial intrasulcular technique using paper point No. 15 for 3 minutes on the mesial and distal maxillary canines . Then performed using the ELISA kit Human MMP8 Abcam.

From the statistical analysis it appears there was no difference between the levels of MMP - 8 accessories group with the therapy group (  $p > 0,05$  ).

From the results of this study concluded that there was no difference between therapy groups with the accessories purpose group.

Keywords : MMP - 8 , orthodontic, therapy , accessories, GCF.

## HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Perbedaan Kadar Matriks Metalloproteinase 8 Cairan Sulkus  
Gingiva Pada Pemakaian Alat Ortodonti Cekat yang Bertujuan  
Terapi dan Aksesoris  
Nama Mahasiswa : Aida Fitriana  
Nomor BP : 1121212017  
Program Studi : Ilmu Biomedik Peminatan Imunologi

Tesis ini telah diuji dan dipertahankan di hadapan pembimbing dan Tim Penguji Ujian Akhir Program Magister (S2) Program Pascasarjana Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dan dinyatakan lulus pada tanggal 8 November 2013 pukul 10.00 WIB.

**Menyetujui,**

**Komisi Pembimbing**

**Ketua**

**Anggota**

**Prof.DR.dr. Eryati Darwin.,PA(K)**

**Dr.Zulkarnain Edward, MS., Ph.D**

**Mengetahui**

**Ketua Program Studi,**

**Dekan,**

**Prof.DR.dr.Delmi Sulastri.,MS.,Sp.GK**  
NIP. 1967.0510.1997022.001

**DR.dr. Masrul.,MSc.,Sp.GK**  
NIP. 1956.61226.1987101.001

**PERBEDAAN KADAR MATRIKS METALLOPROTEINASE 8 CAIRAN SULKUS  
GINGIVA PADA PEMAKAIAN ALAT ORTODONTI CEKAT YANG  
BERTUJUAN TERAPI DAN AKSESORIS**

**TESIS**

**Oleh:**

**AIDA FITRIANA**

**NO BP : 1121212017**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Magister Biomedik Pada  
Program Pascasarjana Universitas Andalas**

**PROGRAM PASCASARJANA FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS ANDALAS**

**PADANG**

**2013**

## **PERNYATAAN KEASLIAN TESIS**

Dengan ini saya menyatakan bahwa isi Tesis yang berjudul “ **Perbedaan Kadar Matriks Metalloproteinase 8 Cairan Sulkus Gingiva pada Pemakaian Alat Ortodonti Cekat yang Bertujuan Terapi dan Aksesoris**” adalah kerja/ karya sendiri dan bukan merupakan jiplakan dari hasil karya orang lain kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika di kemudian hari pernyataan ini tidak benar, maka status kelulusan dan gelar yang saya peroleh menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, 2013

Yang memberi pernyataan

Aida Fitriana

1121212017

## DAFTAR RIWAYAT HIDUP

### Data Pribadi

Nama : drg. Aida Fitriana  
Tempat/ tgl lahir : Rambatan/ 21 September 1977  
Jenis Kelamin : Perempuan  
Kewarganegaraan : Indonesia  
Status pernikahan : Menikah  
Agama : Islam  
Alamat : Kompleks Taruko I Blok A no. 14 Padang  
Email : [aidanoferi@gmail.com](mailto:aidanoferi@gmail.com)  
No Hp : 081374331703

### Pendidikan Formal :

1. Sekolah Dasar No. 1 Rambatan (1984- 1989)
2. Sekolah Menengah Pertama No.2 Batusangkar (1989- 1992)
3. Sekolah Menengah Atas Batusangkar ( 1992- 1995)
4. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran Bandung ( 1995- 2002)
5. Strata 2 Ilmu Biomedik fakultas Kedokteran Universitas Andalas (2011-2013)

### Riwayat pekerjaan :

1. Dokter gigi PTT di RSUD Pasir Pengaraian Kab Rokan Hulu Riau (2003-2005)
2. Dosen Kopertis wilayah X (2005-2012)
3. Dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas (2012- sekarang)

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas segala nikmat dan rahmat yang telah Allah SWT berikan kepada Saya sehingga saya dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **Perbedaan Kadar Matriks Metalloproteinase-8 Cairan Sulkus Gingiva pada Pemakaian Alat Ortodonti Cekat yang bertujuan Terapi dan Aksesoris.**

Penulisan tesis ini merupakan salah satu syarat untuk meraih gelar akademik Magister Biomedik dalam bidang Imunologi di Program Pascasarjana Universitas Andalas.

Saat ini telah terjadi pergeseran paradigma berfikir masyarakat tentang perawatan ortodonti cekat, bukan hanya digunakan untuk terapi maloklusi tapi juga untuk keperluan aksesoris. Dalam wacana terapi tentu akan memberikan manfaat yang diharapkan oleh pasien tapi untuk aksesoris tentu ada dampak yang ditimbulkan oleh pemakaian alat tersebut. Pada penelitian ini saya tertarik meneliti kadar enzim yang aktif pada saat gigi geligi menerima tekanan dari alat ortodonti yaitu enzim Matriks Metalloproteinase-8 (MMP-8) yaitu suatu enzim yang dapat mendegradasi kolagen pada jaringan periodontal sehingga dapat meningkatkan risiko pergerakan gigi, yang pada pemakaian untuk aksesoris tidak diharapkan terjadi.

Peneliti menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga kritik dan saran dari pembaca sangat kami harapkan. Semoga hasil penelitian ini dapat memneri kontribusi yang bermanfaat bagi pengembangan Program Studi Ilmu Biomedik khususnya peminatan Imunologi dan dunia Kedokteran Gigi umumnya.

Peneliti

## UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan hati yang tulus dan penuh rasa syukur atas tersusunnya tesis hasil penelitian ini, Saya mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat:

Prof.DR.dr.Eryati Darwin., PA(K) dan dr. Zulkarnain Edward., MS., Ph.D selaku pembimbing yang telah ikhlas meluangkan waktu membimbing, memotivasi, membuka wawasan keilmuan serta memberikan saran dan dukungan secara terus menerus sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini.

Dekan Fakultas Kedokteran DR.dr.Masrul.,Sp.GK dan Ketua Program Studi Ilmu Biomedik yang lama Prof.dr. Fadhil Oenzil.,Ph.D., Sp.GK dan Ketua Program Studi Ilmu Biomedik yang baru Prof.DR.dr.Delmi Sulastri.,MS.,Sp.GK yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan pada Program Studi Ilmu Biomedik Universitas Andalas.

Tim penguji Prof.dr. Fadhil Oenzil.,Ph.D., Sp.GK; DR.drg. Isnindiah Koerniati ; drg. Mustafa Noer., MS yang telah bersedia menguji dan memberikan masukan untuk menyempurnakan tesis ini.

Kepala Sekolah dan seluruh civitas akademika SMKN 6 yang telah memberikan kesempatan dan bantuan serta dukungan selama pelaksanaan penelitian.

Bapak Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas dan seluruh civitas akademika yang telah memberikan kesempatan saya untuk dapat melanjutkan pendidikan di jenjang S2 ini.

Drg. Didin K., Sp.Ort yang telah banyak memberikan bantuan dalam pengumpulan sampel. Kepada seluruh subyek penelitian yang telah bersedia menjadi sampel pada penelitian ini. Seluruh staf sekretariat S2 Biomedik yang telah membantu kelancaran pendidikan selama ini.

Teman-teman peserta didik Program S2 angkatan 2011 Ilmu Biomedik Pascasarjana Universitas Andalas ( Chaca, Iin, ni Kori, ni Anita, Rahma, Indah, Tia) terimakasih atas kerjasama dan dukungan yang selalu ada dalam setiap naik turun perjalanan pendidikan ini. Semoga silaturahmi kita tetap terjalin selamanya.

Kepada suami tercinta Indra Noferi SSTP., MSi terimakasih atas kesempatan dan dukungan dan do'a yang diberikan selalu serta anak-anakku yang manis Bilqis Shazia Arrafi dan Aisha Namiya Arrafi terimakasih sudah memberikan pengertiannya selama menyelesaikan studi ini meski itu kadang mengurangi waktu dengan ananda.

Yang mulia Ayahanda Baharuddin Jamid (alm) dan ibunda Hj. Fatimah yang selalu memberi kesempatan, semangat dan doa yang terus menerus semoga Allah SWT selalu memberikan kesehatan, keridhoan dan pahala yang selalu mengalir atas jasa-jasa mendidik, menyayangi kami anak-anakmu.

Kakak-kakak yang selalu meberikan semangat dan doa walaupun dari jauh sehingga saya kembali bersemangat dalam studi ini.

Akhirnya segala puji dan syukur saya ucapkan kepada Allah SWT, semoga ilmu yang diperoleh ini dapat bermanfaat bagi kehidupan dunia dan akhirat. Aamiin.

Peneliti

## DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i> .....	ii
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	iv
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
UCAPAN TERIMAKASIH.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Akademik.....	5
1.4.2 Manfaat Terapan.....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Pergerakan Gigi Secara Ortodontik.....	7
2.1.1 Teori Pergerakan Gigi.....	10
2.1.2 Tahap-tahap pergerakan Gigi.....	14
2.1.3 Mekanisme Seluler dan molekuler.....	17
2.2 Jaringan Periodontal.....	18
2.2.1 Struktur Jaringan Periodontal.....	18
a. Gingiva .....	18
b. Periodontal Ligamen (PDL).....	20
c. Sementum.....	21
d. Tulang Alveolar.....	21
2.3 Matriks Ekstraseluler.....	22
2.4 Matriks Metalloproteinase.....	22
2.4.1 Matriks Metalloproteinase 8 (MMP 8).....	25
2.5 Cairan Sulkus Gingiva (CSG).....	26
2.5.1 Teknik Pengambilan Cairan Sulkus Gingiva.....	27
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b>	
3.1 Kerangka Konseptual.....	31
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep.....	32
3.3 Hipotesis.....	32

<b>BAB 4. METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Desain Penelitian.....	33
4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	33
4.3 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel.....	33
4.4 Variabel Penelitian.....	35
4.5 Cara Pengambilan Cairan Sulkus Gingiva (CSG).....	35
4.6 Bahan dan Instrumen Penelitian.....	35
4.7 Definisi Operasional.....	36
4.8 Persyaratan Etik Penelitian.....	37
4.9 Prosedur Pengumpulan Data.....	38
4.9.1 Kerangka Operasional Penelitian.....	39
4.9.2 Prosedur Penelitian.....	39
4.10 Analisis Data.....	40
<b>BAB 5. HASIL PENELITIAN</b>	
5.1 Perbedaan Kadar MMP-8 CSG pada Pemakaian Ortodonti Cekat sebagai Terapi dan Aksesoris dengan Lama Pemakaian Kurang dari 6 Bulan.....	43
5.2 Perbedaan kadar MMP-8 CSG pada pemakaian Ortodonti Cekat sebagai Terapi dan Aksesoris dengan Lama Pemakaian Lebih dari 6 Bulan.....	43
<b>BAB 6. PEMBAHASAN</b>	
6.1 Perbedaan Kadar MMP-8 CSG pada Pemakaian Ortodonti Cekat sebagai Terapi dan Aksesoris dengan Lama Pemakaian Kurang dari 6 Bulan.....	44
6.2 Perbedaan kadar MMP-8 CSG pada pemakaian Ortodonti Cekat sebagai Terapi dan Aksesoris dengan Lama Pemakaian Lebih dari 6 Bulan.....	46
<b>BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
7.1 Kesimpulan.....	48
7.2 Saran .....	48
<b>KEPUSTAKAAN.....</b>	<b>49</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>52</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Aplikasi Tekanan Ortodontik pada Gigi.....	8
Gambar 2.2 Kelompok serat Kolagen.....	19
Gambar 2.3 Peran kolagenase dalam memecah kolagen.....	23
Gambar 2.4 Struktur domain kolagenase.....	23
Gambar 2.5 MMP-8 pada Manusia	25
Gambar 2.6 Cairan Sucus Gingiva (CSG).....	26
Gambar 2.7 Pengambilan CSG dengan <i>Periopaper strip</i> .....	26
Gambar 2.8 Menggunakan Mikropipett dan <i>Paper Point</i> .....	27
Gambar 2.9 Ilustrasi cara penempatan paper untuk diambil CSG.....	27
Gambar 5.1 diagram kadar MMP-8 CSG masing-masing kelompok.....	42

## DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Hasil analisis Kruskal Wallis.....	42
-----------	------------------------------------	----

## DAFTAR SINGKATAN

CSG	Cairan Sulkus Gingiva
PDL	Periodontal Ligament
PMN	Polymorphonuclear
MMP-8	MatriksMetalloproteinase-8
IgA	Imunoglobulin A
IgM	Imunoglobulin M
IL-1	Interleukin 1
IL-6	Interleukin 6
TNF	Tumor Necrosis factor
PBS	Phospat Buffer Solution
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate
Zn	Zinc
DNA	Deoxyribonucleic acid
C3	Complement 3
C4	Complement 4
C5	Complement 5
ELISA	Enzyme Linked Imunosorbent Assay

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1	Data induk Kadar MMP-8 cairan sulkus gingiva
Lampiran 2	Prosedur Pemeriksaan MMP-8
Lampiran 3	Kurva Standar MMP-8
Lampiran 4	Keterangan Lolos kaji etik
Lampiran 5	Surat Keterangan melaksanakan Penelitian
Lampiran 6	Surat keterangan Bebas Laboratorium
Lampiran 7	Informed consent
Lampiran 8	Print Out Hasil uji statistik
Lampiran 9	Dokumentasi Penelitian

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Perawatan ortodontik berhubungan dengan pengaturan gigi geligi yang tidak teratur dengan cara menggerakkan gigi geligi tersebut ke tempat yang ideal. Pergerakan gigi secara ortodontik merupakan hasil dari reaksi biologis terhadap stress biomekanik yang dihasilkan oleh tekanan ortodontik pada *Periodontal ligament* (PDL) dan tulang alveolar (Takahashi, 2003). Pada saat gigi menerima tekanan dari alat ortodontik dalam periode waktu yang lama, terjadilah respons yang menyerupai peradangan. Tekanan ortodontik ini mengakibatkan perubahan dan fungsi tulang alveolar dan berikutan sel-selnya. Perubahan tersebut meliputi aposisi pada sisi tarikan dan resorpsi pada sisi tekanan (Krishnan, 2006).

Gigi-gigi akan bergerak jika dikenai tekanan, diikuti oleh perubahan dalam jaringan ikat. Di masa lalu, ortodontik hanyalah berhubungan dengan proses resorpsi pada sisi tekanan dan proses aposisi pada sisi tarikan. Sejalan dengan perkembangan ilmu dan teknologi, penemuan-penemuan baru telah memperlihatkan resorpsi dan aposisi jaringan tulang dilihat dari berbagai disiplin ilmu dasar dan klinis, yang semuanya berguna bagi manusia. Dari hasil penelitian mutakhir, suatu perspektif dalam pergerakan gigi ortodontik berdasar pada ilmu dasar biologi molekuler, yang juga melibatkan aspek imunologi. Aspek imunopatologis memfokuskan pada fungsi metabolik dari matriks ekstraseluler jaringan periodontal dan tulang alveolar yang terlibat dalam pergerakan gigi yang dapat digunakan sebagai identifikasi biologis dalam mengevaluasi perubahan-perubahan metabolik sebagai alat diagnostik untuk memonitor pergerakan gigi secara ortodontik (Miecke, 2006).

Pada kondisi fisiologis, sintesis dan degradasi struktur periodontal adalah rendah, hanya untuk mempertahankan homeostasis. Setelah aplikasi tekanan, keseimbangan ini terganggu dan peningkatan *remodelling* pada ligamentum periodontal dan tulang alveolar

menyebabkan gigi bergerak. Pada sisi resorpsi, jaringan periodontal dan tulang alveolar didegradasi untuk mendapatkan ruang untuk menggerakkan gigi sedangkan jaringan periodontal baru secara bersamaan dibentuk untuk mempertahankan perlekatan (Redlich,2001).

Penelitian tentang pergerakan gigi dimulai kurang lebih 100 tahun yang lalu, dilihat dari aspek-aspek seluler, histologis, radiologis, dan yang terbaru adalah biologi molekuler dan genetika. Profil dari bermacam-macam sitokin, faktor pertumbuhan, gen, dan enzim-enzim yang dihubungkan dengan pergerakan gigi secara ortodontik telah banyak diteliti, dan biasanya pengambilan sampelnya dari cairan sulkus gingiva (CSG) yang berada di sulkus gingiva.. Apajalahti (2003) menyatakan bahwa peningkatan kadar MMP-8 secara signifikan ditemukan pada CSG pasien ortodontik setelah aktivasi, menunjukkan bahwa sel dalam periodonsium dirangsang untuk memproduksi MMP-8 yang diinduksi oleh tekanan ortodontik. Surlin *et al* (2009) mengemukakan bahwa peningkatan kadar MMP-8 pada cairan sulkus gingiva merupakan akibat dari terjadinya inflamasi pada jaringan periodontal. Ribagin dan Rashkova (2012) mengemukakan bahwa analisis kuantitatif matriks metalloproteinase-8 dan interleukin 1 $\beta$  pada sampel cairan sulkus gingiva (CSG) merupakan metode non invasif yang potensial sehingga ortodontis dapat memperoleh informasi tentang proses remodelling di periodonsium selama perawatan ortodontik.

Gigi geligi akan bergerak jika dikenai tekanan. Piranti-piranti ortodontik aktif, dapat memberikan tekanan ke arah yang dikehendaki operator dengan tujuan untuk memperbaiki maloklusi. Tekanan pada gigi akan menimbulkan perubahan-perubahan pada jaringan periodontal dan tulang alveolar. Pada sisi regangan / tarikan akan terjadi aposisi sedangkan pada sisi tekanan, akan terjadi resorpsi tulang alveolar yang memerlukan keaktifan sel-sel osteoblas dan osteoklas yang berada di dalam matriks ekstraseluler. Untuk

memudahkan mobilitas sel-sel tersebut, diperlukan suatu enzim yang dapat memecah kolagen yang merupakan komponen terbesar dari matriks ekstraseluler yaitu kolagenase (matriks metaloproteinase/ MMP), misalnya MMP-1, -8, dan -13 ( *Ingman ,2005*).

Respon lokal tulang terhadap tekanan ortodontik adalah suatu proses yang kompleks yang terbagi atas resorpsi matriks anorganik oleh aktivitas osteoklas dan pelarutan matriks organik oleh enzim Matriks Metaloproteinase (MMP) yang dikenal memainkan peran sangat penting dalam melarutkan matriks organik ekstraseluler (Kiili,2002). Matriks metaloproteinase-8 (MMP-8) adalah familia gen dari sekurang-kurangnya 25 enzim proteolitik yang berperan dalam degradasi kolagen dan *remodelling* matriks ekstraseluler. MMP-8 tidak hanya dihasilkan oleh lekosit polimorfonuklear (PMN), tetapi juga oleh sel bukan turunan PMN, misalnya fibroblas gingiva, makrofag, sel-sel tulang dan plasma. MMP-8 paling efektif dalam menghidrolisis kolagen jenis I dan III dan merupakan kolagenase interstitial utama pada ligamentum periodontal dan gingiva manusia ( *Sasano ,2002*). Dengan mengukur kadar MMP-8 pada cairan sulkus gingiva akan menggambarkan aktivitas degradasi kolagen dari matriks ekstraseluler. Degradasi kolagen sendiri pada jaringan periodontal memudahkan pergerakan osteoblas dan osteoklas sehingga memungkinkan pergerakan gigi ( *Susilowati,2010*).

Perawatan ortodonti merupakan suatu perawatan jangka panjang dan bertahap. Oleh karena itu dibutuhkan kerjasama yang baik antara operator dengan pasien. Dengan melakukan kunjungan berkala yang bertujuan untuk mengaktivasi atau memberikan tekanan pada gigi geligi sehingga bisa digerakkan menuju posisi idealnya. Juga pasien bertanggung jawab terhadap kebersihan mulutnya karena dengan adanya piranti ortodonti di rongga mulut ini dapat memicu risiko terjadinya akumulasi plak yang lebih banyak.

Pada saat ini di masyarakat telah terjadi pergeseran pandangan terhadap pemakaian alat ortodontik cekat. Beberapa tahun yang lalu hanya orang-orang tertentu dan dari kelas ekonomi tertentu yang menggunakan alat tersebut tapi saat ini dapat dengan mudah ditemui orang-orang yang menggunakan alat ortodonti cekat. Tujuan penggunaan alat ini pun berbeda, kalau dulu digunakan untuk memperbaiki susunan gigi geligi tapi sekarang dianggap sebagai aksesoris, bukan untuk menggerakkan gigi. Fenomena ini terjadi karena ada golongan tertentu yang bukan klinisi mengerjakan pemasangan alat ortodonti cekat tanpa dibekali oleh pengetahuan dan ilmu dasar mengenai biomekanika tulang dan ilmu-ilmu lain yang berkaitan.

Sehubungan dengan maraknya hal tersebut, pemerintah melalui Kementerian Kesehatan RI juga telah memberi perhatian besar terhadap fenomena ini, dengan keluarnya Permenkes no 1871/MENKES/PER/IX/2011 tentang pengaturan tukang gigi hanya boleh mengerjakan pembuatan gigi tiruan lepasan akrilik dan dilarang melakukan pemasangan alat ortodonti, penambalan ataupun ekstraksi.

Melihat kompleksnya proses yang terjadi akibat tekanan alat ortodonti ini, resorpsi dan deposisi tulang alveolar tergantung dari besar, arah dan durasi dari tekanan yang diberikan. Untuk mengontrol proses tersebut dibutuhkan pengetahuan tentang konsep-konsep biomekanik yang dimiliki oleh klinisi.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan permasalahan yang telah diuraikan diatas tersebut maka penulis ingin meneliti :

1. Apakah ada perbedaan kadar MMP-8 CSG pada pemakaian alat ortodonti cekat sebagai terapi lama pemakaian kurang dari 6 bulan dengan pemakaian alat ortodonti cekat bertujuan aksesoris lama pemakaian kurang dari 6 bulan?

2. Apakah ada perbedaan kadar MMP-8 CSG pada pemakaian alat ortodonti cekat sebagai terapi lama pemakaian lebih 6 bulan dengan pemakaian alat ortodonti cekat bertujuan aksesoris lama pemakaian lebih dari 6 bulan?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui perbedaan kadar Matriks Metalloproteinase-8 (MMP-8) pada pemakaian alat ortodonti cekat yang bertujuan untuk aksesoris dan dikerjakan bukan oleh klinisi dengan kadar MMP-8 pada pemakaian alat ortodontik cekat untuk terapi maloklusi.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1.3.2.1 Untuk mengetahui perbedaan kadar MMP-8 CSG pada pemakaian alat ortodonti cekat sebagai terapi lama pemakaian kurang dari 6 bulan dengan pemakaian alat ortodonti cekat bertujuan aksesoris lama pemakaian kurang dari 6 bulan.

1.3.2.2 Untuk mengetahui perbedaan kadar MMP-8 CSG pada pemakaian alat ortodonti cekat sebagai terapi lama pemakaian lebih 6 bulan dengan pemakaian alat ortodonti cekat bertujuan aksesoris lama pemakaian lebih dari 6 bulan.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1 Manfaat Akademik**

Diharapkan dari penelitian ini dapat membuktikan bahwa pemakaian alat ortodonti cekat yang bertujuan untuk aksesoris akan memberikan efek yang tidak diharapkan atau/ merugikan pemakai/pasien di tingkat seluler.

#### **1.4.2 Manfaat Terapan**

Penelitian ini diharapkan dapat memberi masukan bagi pihak Kementerian Kesehatan, Persatuan Dokter Gigi Indonesia (PDGI) dan semua pihak yang terkait, sehingga dapat menentukan kebijakan mengenai para non klinisi yang mengerjakan pemasangan ortodonti cekat. Diharapkan dengan ada kebijakan yang tepat akan menyelamatkan masyarakat luas dari kerugian yang ditimbulkan.

## **BAB 2**

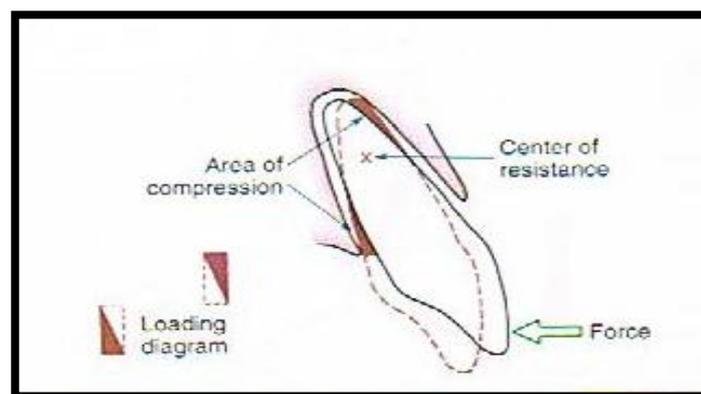
### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Pergerakan Gigi secara Ortodontik**

Pergerakan gigi ortodontik berasal dari tekanan pada gigi. Tekanan ini berasal dari piranti yang digunakan (kawat, braket, elastomer dsb) yang dipasang dan diaktivasi oleh klinisi. Gigi geligi dan jaringan pendukungnya merespons gaya tersebut dengan suatu reaksi biologis yang kompleks sehingga terjadi pergerakan gigi melalui tulang. Sel-sel dalam periodonsium yang bereaksi akibat tekanan yang diberikan, tidak tergantung dari desain braket, bentuk kawat atau campuran logam, tetapi aktivitasnya tergantung dari tekanan dan regangan yang terjadi di sekelilingnya. Untuk mendapatkan respon yang tepat, rangsangan mekanis yang diberikan juga harus tepat. Pengetahuan akan prinsip-prinsip mekanis mengenai gaya diperlukan untuk mengontrol perawatan ortodontik. Dasar dari perawatan ortodontik adalah aplikasi klinis konsep-konsep biomekanik, yaitu mekanika yang berhubungan dengan sistem biologis ( Williams, 2000).

Pergerakan gigi secara ortodontik dihasilkan dari kombinasi reaksi biologis terhadap tekanan biomekanik oleh gaya ortodontik di PDL dan tulang alveolar (Takahashi *et al*, 2003). Pergerakan gigi disebabkan oleh aplikasi tekanan ortodontik yang ditandai oleh terjadinya perubahan pada gigi dan jaringan periodontal. Keberhasilan perawatan ortodontik dipengaruhi oleh berbagai faktor termasuk kesehatan jaringan periodontal, kebersihan mulut dan tekanan ortodontik. Pergerakan gigi secara ortodontik merupakan hasil dari reaksi biologis terhadap stres biomekanik yang dihasilkan tekanan ortodontik dalam PDL dan tulang alveolar. PDL terutama terdiri dari kolagen tipe I dan III yang menghubungkan tulang alveolar dengan akar gigi, yang akan memberikan stabilitas mekanik dinamis terhadap gigi (Melcher 1989 dalam Takahashi *et al*, 2003).

Periodontal ligamen (PDL) memegang peranan sangat penting dalam proses pergerakan gigi secara ortodontik karena kemampuannya dalam merespons kekuatan mekanik yang diterima menyebabkan terjadinya *remodelling* tulang alveolar sehingga memungkinkan gigi bergerak. Apabila suatu tekanan diberikan pada gigi maka PDL yang mengalami tarikan akan terjadi aposisi tulang dan di daerah tekanan akan terjadi resorpsi tulang (gambar 2.1) PDL terdiri atas matriks ekstraseluler yang terutama terdiri atas serat kolagen dengan bahan dasar proteoglikans dan glukoprotein serta serat oksitalin. Pada PDL juga terdapat beberapa sel yaitu fibroblas, osteoblas, osteoklas dan sementoblas, selain itu masih ada sel-sel lain misalnya makrofag, dan kadang-kadang terdapat sisa-sisa sel Malassez serta banyak pembuluh darah kapiler yang merupakan pleksus (Rahardjo, 2009). Fibroblas bertanggung jawab terhadap perubahan matriks ekstraseluler dan mempunyai aktivitas metabolik yang tinggi. Osteoblas terletak pada permukaan tulang dan bertanggung jawab terhadap proses pembentukan matriks organik tulang yang kemudian mengalami mineralisasi menjadi tulang.



Gambar 2.1 Aplikasi tekanan ortodontik pada gigi (Nanda,2005)

Skeleton secara kontinyu mengalami remodelling sepanjang hidup melalui resorpsi oleh osteoklas dan pembentukan tulang baru oleh osteoblas. Peristiwa ini terjadi bergantian untuk mempertahankan integritas struktur tulang. Remodelling dipelopori oleh osteoblas

dan melibatkan suatu jaringan kerja yang kompleks dari interaksi sel-sel dan sel matriks yang melibatkan hormon, sitokin, faktor pertumbuhan, yang kebanyakan terpusat di matriks tulang dan lingkungan mekanis dari sel-sel (Meikle, 2006).

Ortodontik dan ortopedik berhubungan dengan remodelling, sehingga memerlukan pengetahuan tentang biologi tulang, terutama yang berhubungan dengan tekanan mekanis dan berbagai jenis pada tulang. Akan tetapi, proses pergerakan gigi lebih rumit karena memerlukan perubahan-perubahan pada ligamentum periodontal dan juga tulang alveolar pendukung, yang mempunyai populasi sel dan ciri-ciri remodelling yang berbeda. Tulang alveolar menerima beban secara intermitten selama pengunyahan, tetapi mengalami deformasi atau tekanan secara kontinyu dan jika dikenai tekanan yang memadai akan terjadi *bone bending* dari alveolar. Tulang alveolar mengalami resorpsi dan deposisi selama pergerakan gigi ortodontik yang selanjutnya tergantung dari besar, arah dan durasi dari tekanan yang diberikan (Meikle, 2006).

Penelitian pada awal abad ke duapuluh berusaha untuk menganalisis secara histologis jaringan periodontal setelah pergerakan gigi. Penelitian tersebut menunjukkan aktivitas seluler yang meluas pada ligamentum periodontal yang mengalami tekanan, yang melibatkan fibroblas sel endotel, osteoblas dan osteosit. Selain penemuan ini, ditemukan pula bahwa tekanan mekanis merubah struktur jaringan dalam tingkat seluler, molekuler, genetik sebagai respon terhadap gaya ortodontik. Pada tahap awal terjadi reaksi yang cepat dan kemudian mengalami perubahan adaptif yang lebih lambat.

Tekanan ortodontik merangsang terjadinya respon menyerupai inflamasi. Inflamasi adalah respon lokal host terhadap jejas, umumnya berupa invasi mikroorganisme, tapi juga terhadap rangsang kimia dan rangsang fisik (Radunovic, 1999). Selama perawatan ortodontik, tekanan menghasilkan distorsi pada matriks ekstraselular PDL sehingga terjadi

perubahan pada bentuk sel dan konfigurasi sitoskeletal dan menghasilkan piezoelektrik singkat dan mengarah pada aktivasi selular dengan merubah polaritas membran dan aktivitas canal ion. Perubahan pada jaringan periodontal ini juga menyebabkan pelepasan neuropeptida dari ujung araf aferen. Beberapa bersifat vasoaktif sehingga menyebabkan vasodilatasi dan migrasi leukosit ke rongga ekstrasvaskular. Sel-sel migratori ini mensintesa dan mensekresikan berbagai macam sitokin dan *growth factor*. Kemudian kapiler melebar berlebihan dan terjadi kerusakan jaringan. Kejadian-kejadian ini mengarah pada sintesis dan sekresi komponen matriks ekstra seluler , enzim degradasi jaringan, asam-asam dan faktor-faktor lokal, yang menyebabkan proliferasi selular dan diferensiasi, juga terjadinya penyembuhan luka dan *remodelling* jaringan ( Tsatala, 2002).

Tekanan yang besarmenyebabkan ligamentum periodontal akan tertekan sehingga terjadi trombosis kapiler, kematian sel dan terbentuk area terlokalisasi yang bebas sel atau hialinisasi karena mirip kartilago hialin. Pada sisi ini, resorpsi osteoklas pada dinding alveolar di dekatnya tidak terjadi secara langsung, tetapi dimulai oleh suatu proses yang disebut resorpsi *undermining* dari ruang sumsum di dekatnya (Person,2005).

### **2.1.1 Teori Pergerakan Gigi**

Ada berbagai teori pergerakan gigi, secara umum dapat dibagi :

#### *i. Pressure Tension Theory*

Lebih dari 100 tahun yang lalu Sandstedt, Oppenheim dan Scwharz menyatakan bahwa jika gigi mendapatkan gaya ortodonti maka akan terjadi daerah tekanan dan regangan. Daerah tekanan adalah daerah periodonsium yang mengalami tekanan karena gigi bergerak mendekat dan daerah tarikan adalah daerah periodonsium yang mengalami tarikan karena gigi bergerak menjauh. Daerah tekanan akan mengalami resorpsi tulang sedangkan daerah tarikan akan mengalami

aposisi tulang. Di sisi tekanan, dengan tekanan ringan, tulang alveolar yang diresorpsi langsung oleh banyak multinukleat osteoklas di *Howship lacunae* (Meikle,2006). Dengan kekuatan yang besar, jaringan periodontal dikompresi, yang menyebabkan trombosis kapiler, kematian sel, dan produksi lokal daerah bebas sel dari apa yang disebut hialinisasi (karena penampilan *glasslike* yang menyerupai hialin tulang rawan secara histologis). Pada daerah tersebut, resorpsi osteoklastik dari dinding alveolar yang berdekatan tidak terjadi secara langsung, tapi diprakarsai oleh proses yang disebut oleh Sandstedt sebagai *undermining resorption* dari ruang sumsum terdekat. Sebagaimana dibahas kemudian, ketika tulang dikenakan deformasi mekanik terus menerus, permukaan cekung ditandai dengan osteogenesis dan bagian cembung permukaan dengan resorpsi tulang.

Penelitian histologis klasik tentang pergerakan gigi oleh Sandstedt (1904), Oppenheim (1911), dan Schwarz (1932) menyebabkan mereka berhipotesis bahwa gigi bergerak dalam ruang periodontal dengan menghasilkan sisi tekanan dan sisi tarikan. Hipotesis pada sisi tekanan, PDL menampilkan disorganisasi dan berkurangnya produksi serat. Di sini, replikasi sel menurun tampaknya karena penyempitan pembuluh darah. Di sisi tarikan, stimulasi diproduksi oleh peregangan hasil serat bundel PDL di peningkatan replikasi sel. Aktivitas proliferasi ditingkatkan mengarah pada akhirnya ke peningkatan produksi serat. Schwarz menyatakan lebih lanjut, dengan menghubungkan respon jaringan terhadap besarnya tekanan yang diaplikasikan dengan tekanan darah kapiler. Dapat disimpulkan bahwa tekanan disampaikan sebagai bagian dari terapi ortodontik tidak boleh melebihi tekanan darah kapiler (20-25 g/cm<sup>2</sup> dari permukaan akar).

Jika melebihi tekanan ini, kompresi dapat menyebabkan nekrosis jaringan melalui "sesak napas dari periodontium terjepit." Penerapan tingkat kekuatan yang lebih besar akan menghasilkan kontak fisik antara gigi dan tulang, menghasilkan resorpsi di bidang tekanan dan *undermining resorption* atau hialinisasi dalam ruang sumsum yang berdekatan. Ini mendalilkan bahwa lebar perubahan dalam menyebabkan perubahan dalam populasi sel PDL dan peningkatan aktivitas selular. Ada jelas gangguan serat kolagen dalam PDL, dengan bukti kerusakan sel dan jaringan. Tanda pertama dari hialinisasi adalah adanya inti pyknotic dalam sel, diikuti oleh bidang aselular, atau zona sel- bebas. Resolusi masalah dimulai ketika unsur-unsur selular seperti makrofag, *giant cell bodies*, dan osteoklas dari daerah yang berdekatan rusak menyerang jaringan nekrotik. Sel-sel ini juga mengisap bagian bawah tulang berbatasan langsung dengan wilayah nekrotik PDL dan dikeluarkan bersama-sama dengan jaringan nekrotik. Proses ini dikenal sebagai *undermining resorption*.

Menurut Scwarz, 1932 ( dalam Krishnan, 2006), gaya yang diberikan dalam perawatan ortodonti tidak boleh melebihi tekanan darah kapiler 20-25 g/cm<sup>2</sup>), jika melebihi maka dapat terjadi nekrosis jaringan. Daerah nekrosis ini disebut jaringan hialin karena tidak terdapat vaskularisasi. Tanda awal terjadinya daerah hialinisasi adalah adanya area aseluler atau *cell free zone* dilanjutkan keluarnya elemen seluler seperti makrofag dan osteoklas.

Setelah beberapa hari elemen seluler dari daerah PDL yang lain mulai memasuki jaringan yang rusak. Osteoklas terbentuk pada ruang sumsum tulang di dekatnya dan mulai merusak tulang di sekeliling daerah nekrotis sehingga disebut juga *undermining resorption*. Bila terjadi hialinisasi dan *undermining resorption*

maka pergerakan gigi akan melambat. Hal ini mungkin disebabkan oleh lambatnya stimulasi pembentukan osteoklas pada sumsum tulang dan lebih tebalnya tulang yang harus diresorpsi. Pergerakan gigi yang simultan terjadi pada resorpsi frontal, sedang pada pemberian tekanan yang besar, pergerakan gigi seperti melompat.

ii. *Blood Flow Theory*

Teori ini disebut juga sebagai *fluid dynamic theory* yang diperkenalkan oleh Bien pada tahun 1966. Berdasar teori ini, pergerakan gigi timbul karena cairan yang dinamis di dalam PDL. PDL terdapat pada ruangan periodontal yang dibatasi oleh permukaan akar gigi dan tulang alveolar, terdiri dari sistem cairan yang terbuat dari cairan interstitial, elemen selular, pembuluh darah dan perlekatan substansi dasar berisi serat-serat periodontal. Kandungan PDL menghasilkan kondisi hidrodinamik yang unik dan menyerupai mekanisme hidrolis dan *shock absorber*. Aplikasi gaya eksternal pada gigi menyebabkan terjadinya pergerakan cairan di dalam kanalikuli. Ketika cairan kanalikuli berkurang, terjadilah apoptosis osteosit yang terdapat dalam tulang kemudian akan menarik osteoklas sehingga terjadi resorpsi tulang.

iii. *Bone Bending and Piezoelectric Theory*

*Bone bending* pada tulang alveolar merupakan hal yang penting dalam pergerakan gigi secara ortodonti, hal ini pertamakali dikemukakan oleh Farrar (1988). Ketika alat ortodonti diaktivasi, gaya yang diberikan pada gigi disalurkan ke semua jaringan di sekelilingnya sehingga gigi akan bergerak lebih besar dibandingkan dengan lebar PDL yang menyebabkan terjadinya defleksi pada tulang alveolar. Defleksi pada tulang juga memicu keluarnya potensial elektrik pada permukaan tulang atau *piezoelectric* yang sering ditemukan pada material kristalin.

Deformasi atau perubahan bentuk struktur kristal menghasilkan arus listrik seperti elektron yang berpindah dari molekul kristal yang satu ke molekul kristal yang lain. Bila struktur kristal mengalami deformasi, elektron bermigrasi sehingga terjadi aliran listrik. Jika terdapat tekanan maka struktur kristal masih stabil dan tidak terjadi perpindahan elektron, namun jika tekanan dilepaskan, kristal akan kembali ke bentuk semula dan aliran elektron akan terjadi pada arah yang berlawanan. Sumber struktur kristal tidak hanya pada mineral tulang, tapi terdapat juga pada kolagen, hidroksi apatit, batas antara kolagen hidroksiapatit dan mukopolisakarida pada substansi dasar. Pada saat gigi diberi tekanan, tulang alveolar di sekitarnya akan mengalami tekukan. Daerah yang cekung diasosiasikan dengan arus negatif dan menyebabkan deposisi tulang sedangkan daerah yang cembung diasosiasikan dengan arus positif dan menyebabkan resorpsi tulang,

### **2.1.2 Tahap-tahap Pergerakan Gigi**

Pergerakan gigi ortodontik menurut Burstone (1962) terdiri dari tiga fase: *Initial phase*, *Lag phase* dan *Postlag phase*

#### *1. Initial phase*

Tahap awal ditandai dengan gerakan segera dan cepat dan terjadi 24 jam sampai 48 jam setelah aplikasi pertama kekuatan untuk gigi dan merupakan gerakan awal dari gigi dalam soket tulang. Tingkat ini sebagian besar disebabkan oleh perpindahan gigi di ruang PDL. Reaksi seluler dan jaringan dimulai pada fase awal perpindahan gigi, segera setelah aplikasi kekuatan. Karena kompresi dan peregangan dari serat dan sel tekanan PDL dan daerah ketegangan, masing-masing proses kompleks perekrutan osteoklas dan nenek moyang osteoblas, serta ekstravasasi dan chemoattraction sel-sel inflamasi, dimulai.

## 2. *Lag phase*

Berlangsung 20 sampai 30 hari dan menunjukkan yang relatif sedikit atau tidak ada perpindahan gigi. Fase ini ditandai dengan terjadinya hialianisasi PDL di wilayah kompresi. Tidak ada gerakan selanjutnya gigi terjadi sampai sel menyelesaikan penghapusan semua jaringan nekrotik. Kehadiran zona hialinisasi di daerah tekanan dibuktikan dalam percobaan terakhir bahkan di tahap awal. Pada tahap kedua, daerah kompresi yang mudah diakui oleh penampilan terdistorsi normal pengaturan serat PDL. Gangguan aliran darah karena distorsi ini mengarah pada pengembangan daerah hialinisasi dan penangkapan perpindahan gigi, yang dapat berlangsung dari 4 sampai 20 hari. Hanya penghapusan jaringan nekrotik dan resorpsi tulang sumsum yang berdekatan (tidak langsung resorpsi) dan dari arah dari PDL (*undermining resorbtion*) memungkinkan pergerakan gigi. Proses komprehensif membutuhkan perekrutan sel fagosit seperti makrofag, *giant cells bodies*, dan osteoklas dari daerah tidak rusak yang berdekatan dari PDL dan rongga alveolar sumsum tulang. Sel-sel ini bertindak tandem untuk menghapus jaringan nekrotik dari kompresi area PDL dan tulang alveolar yang berdekatan. Di daerah-daerah tarikan, osteoblas diam (lapisan permukaan tulang sel) yang membesar dan mulai memproduksi matriks tulang baru (Osteoid). Nenek moyang osteoblas baru direkrut dari populasi *fibroblast-like cells* (pericytes) sekitar kapiler PDL. preosteoblas Ini berkembang biak dan bermigrasi ke arah permukaan tulang alveolar, bersama membentang serat Sharpey. Bersamaan, fibroblas PDL di zona tarikan mulai bertambah banyak dan *remodelling* matriks sekitarnya.

## 3. *Postlag phase*

Mengikuti *lag fase*, di mana tingkat pergerakan meningkat. (Vinod Krishnan, 2006) pergerakan gigi dipercepat, sebagian besar pergerakan gigi total selama perawatan

ortodontik. Juga dikenal sebagai percepatan dan linier tahap, masing-masing mulai sekitar 40 hari setelah awal aplikasi kekuatan. Tekanan sisi gigi menunjukkan serat kolagen tanpa orientasi yang tepat. Di sini, permukaan tulang yang tidak teratur ditemukan, menunjukkan resorpsi langsung atau resorpsi frontal. Namun, sebuah laporan baru-baru ini mempresentasikan data pada zona hialinisasi pada daerah tekanan bahkan selama tahap ini, terutama di daerah di mana tekanan yang tinggi diberikan. Temuan ini menunjukkan bahwa pembangunan selama perpindahan gigi, bukan peristiwa tunggal. Kesimpulan ini didukung oleh Melsen yang hypothesis bahwa "resorpsi tulang langsung di sisi tekanan tidak reaksi terhadap kekerasan tetapi upaya untuk menghapus iskemik tulang terjadi berdekatan dengan jaringan hialin. Selanjutnya resorpsi tulang langsung bisa dianggap sebagai bagian dari proses renovasi.

### **2.1.3 Mekanisme Seluler dan Molekuler**

Aplikasi tekanan yang kontinyu pada mahkota gigi akan menuntun pergerakan gigi dalam alveolus yang ditandai oleh penyempitan membran periodontal terutama daerah marginal. Setelah beberapa periode tertentu, osteoklas berdiferensiasi sepanjang dinding tulang alveolar, biasanya pada usia muda terjadi setelah 30-40 jam.

Fase awal pergerakan gigi secara ortodontik selalu melibatkan respons inflamasi akut yang ditandai oleh vasodilatasi kapiler dan migrasi leukosit ke kapiler. Sel-sel yang bermigrasi ini memproduksi berbagai sitokin. Sitokin ini merangsang sintesis dan sekresi berbagai substansi untuk sel target seperti prostaglandin, *growth factor* dan berbagai sitokin (Krishnan and Davidovitch, 2006).

Inflamasi akut yang terjadi merupakan *initial phase* dan bersifat eksudatif. 1 atau 2 hari kemudian fase inflamasi akut menjadi inflamasi kronik bersifat proliferaatif yang melibatkan fibroblas, sel-sel endotel, osteoblas dan sel-sel tulang alveolar. Selama periode

ini leukosit terus bermigrasi ke jaringan paradental dan mengatur proses *remodelling* (Capelli *et al*, 2010)

Ada dua jalur pergerakan gigi menurut Mostafa *et al* (dalam Krishnan and Davidovitch, 2006) yaitu jalur I dan jalur II.

Jalur I : pada jalur ini tekanan ortodontik menciptakan tekanan dan tarikan, mengarah pada *bone bending*, menimbulkan polarisasi bioelektrik jaringan dan *remodelling* tulang berikutnya. Jalur ini juga menggambarkan arah atau kontrol pergerakan gigi dengan bantuan antara bagian cekung dan cembung tulang alveolar yang mengalami tarikan.

Jalur II : jalur alternatif selain jalur klasik dalam pergerakan gigi. Tekanan ortodontik bersamaan dengan peningkatan permeabilitas vaskular dan infiltrasi selular memicu proses inflamasi pada gigi dan jaringan paradental. Limfosit, monosit dan makrofag menginvasi jaringan ini, mempertinggi pelepasan prostaglandin dan sekresi enzim hidrolitik. Peninggian lokal prostaglandin dan berikut peningkatan pada konsentrasi cAMP selular meningkatkan aktivitas osteoklas. Pengeluaran enzim hidrolitik seperti Kolagenase, melarutkan matriks ekstraselular yang secara mekanis menerima tarikan.

## **2.2 . Jaringan Periodontal**

### **2.2.1 Struktur jaringan Periodontal**

Jaringan periodontal terdiri dari gingiva, ligamen perodontal, sementum dan tulang alveolar.

#### **a. Gingiva**

Gingiva adalah bagian dari mukosa oral yang mengelilingi gigi dan menutupi *alveolar ridge*. Dibedakan atas dua bagian yaitu gingiva bebas yang berdekatan dengan permukaan email berjarak 0,5- 2 mm ke arah koronal *cementoenamel junction*, dan

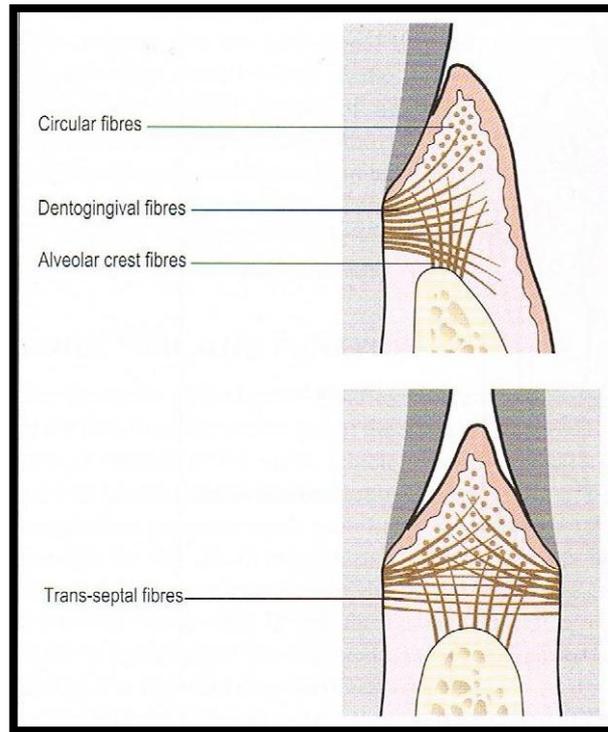
gingiva cekat yang melekat ke tulang alveolar dan sementum oleh serat jaringan ikat, melekat sampai ke *mucogingival junction* ( Graber *et al* ,2005)

Gingiva dapat beradaptasi terhadap perubahan lingkungan, dimana mulut merupakan gerbang pertama saluran pencernaan yang akan mendapat berbagai macam rangsang seperti temperatur, konsistensi makanan dan minuman, komposisi kimia, keasaman dan alkalis yang berbeda-beda. Kesamaan dengan jaringan ikat lainnya, jaringan ikat gingiva fibrosa yang terdiri dari sel *fibroblast specialized* dan jaringan fibrosa kolagen tertanam dalam matriks ekstraselular terdiri dari proteoglikan dan glikoprotein matriks lainnya. Fungsi jaringan ikat normal melibatkan renovasi konstan komponen matriks dan tergantung pada interaksi antara sel-sel dan molekul matriks dalam lingkungan mereka (Elley *et al* ,2010).

Jaringan ikat gingiva terdiri dari rangkaian bundel serat kolagen yang mengandung pembuluh darah dan saraf, fibroblas, makrofag, sel mast, limfosit sel plasma dan sel-sel sistem pertahanan lainnya ( Elley *et al* ,2010). Jaringan ikat merupakan komponen utama pada gingiva terdiri dari serat kolagen (60%), fibroblas (5%), dan pembuluh darah, saraf dan matriks (35%) ( Graber *et al* ,2005).

Serat kolagen dapat dibedakan menjadi beberapa kelompok (gambar. 2.2) :

- a) *Dentogingival fibers*
- b) *Circular fibres*
- c) *Dentoperiosteal fibers*
- d) *Transeptal fibers*



Gambar 2.2 Kelompok serat kolagen (Elley *et al* , 2010)

Kolagen disintesis oleh fibroblas dan disekresikan dalam bentuk inaktif yaitu prokolagen, kemudian dirubah menjadi tropokolagen. Pada rongga ekstraselular, tropokolagen dipolimerisasi menjadi benang-benang kolagen yang kemudian beragregasi ke dalam bundel kolagen dengan membentuk ikatan silang. ( Elley *et al*, 2010)

#### **b. Periodontal ligamen (PDL)**

PDL adalah jaringan lembut, kaya akan pembuluh darah dan jaringan ikat selular yang mengelilingi akar gigi dan menggabungkan sementum dengan lamina dura atau tulang alveolar. PDL merupakan jaringan ikat yang sangat spesifik dengan lebar sekitar 0,2 mm menghubungkan tulang alveolar dengan akar gigi. Merupakan perantara remodelling tulang selama fisiologis dan pergerakan gigi secara ortodontik,

berpartisipasi dalam pertahanan dan menyediakan nutrisi bagi struktur yang berdekatan. Untuk dapat beradaptasi terhadap perubahan posisi gigi, fibril kolagen terus menerus mengalami remodelling. Tingkat pergantian kolagen pada PDL lebih tinggi dibanding jaringan apapun (Ten Cate and Deporter 1974 dalam Apajalahti, 2004). Kumpulan serat kolagen pada ligamen terutama disusun oleh kolagen interstitial tipe I dan III. Pada tiap ujungnya, kumpulan serat ini melekat pada sementum atau tulang, bagian yang melekat ini disebut serat Sharpey. PDL juga mengandung serat oksitalan yang menggambarkan bentuk elastin immatur (Ten Cate ,1997 dalam Apajalahti,2004).

Sel utama pada PDL adalah fibroblas yang bertanggung jawab pada sintesis dan pemecahan kolagen. Sel pada PDL meliputi osteoblas, osteoklas, sementoblas, makrofag, sel mesenkim yang tidak berdiferensiasi dan epitel Malassez.

#### **c. Sementum**

Sementum adalah lapisan tipis matriks ekstraseluler termineralisasi yang menutupi permukaan akar. Tersusun dari hidroksiapatit dan kolagen tipe I, avaskular, tidak memiliki inervasi dan tidak mengalami remodelling. Secara tradisional dibagi menjadi dua yaitu tipe selular dan aselular, tergantung dari ada atau tidak sementosit (Apajalahti,2004).

#### **d. Tulang Alveolar**

Merupakan bagian spesifik pada tulang maksila dan mandibula yang membentuk struktur pendukung utama untuk gigi geligi. Prosesus alveolaris terdiri dari tulang kortikal padat yang mengelilingi tulang kanselus (trabekular). Kolagen tipe I terdiri dari komponen organik mayor dalam tulang termineralisasi (Sodek and McKee, 2000).

### **2.3 Matriks Ekstraseluler**

Matriks ekstraseluler adalah sekumpulan protein fibrosa yang melekat pada gel polisakarida terhidrasi. Molekul makro yang membentuk matriks ekstraseluler disekresi oleh sel-sel, terutama fibroblas. Untuk matriks yang lebih khusus, misalnya kartilago atau tulang, maka matriks ekstraseluler disekresi oleh sel-sel yang berdiferensiasi lebih tinggi, misalnya osteoblas, yang membentuk tulang dan atau kondrosit yang membentuk kartilago ( Gendron,1999). Komponen matriks ekstraseluler utama adalah protein-protein jaringan, antara lain kolagen, fibronektin dan glikosaminoglikan yang berikatan dengan protein membentuk proteoglikan. Protein-protein ini yang bertanggung jawab atas integritas struktural dari jaringan pendukung gigi. Kerusakan dari jaringan pendukung ini ditandai oleh degradasi matriks ekstraseluler yang dapat menyebabkan kerusakan permanen dari jaringan lunak periodontal dan tulang alveolar (Kerrigan,2000).

### **2.4 Matriks Metalloproteinase**

Matriks metalloproteinase (MMP) adalah sejenis enzim proteolitik sebagai subfamilia *matrixin* dan familia *zinc metalloproteinase* yang pada manusia dijumpai sekurang-kurangnya 25 macam pada saat ini (Apajalahti, 2004). Seringkali sulit untuk mengidentifikasi aktivitas MMP karena beberapa anggota familia MMP dapat melakukan aktivitas enzimatik yang identik. Dengan demikian, bila satu enzim dihambat fungsinya, yang lain bisa lebih banyak diekspresi untuk mengkompensasi keadaan. Semua MMP disekresi dari sel sebagai enzim yang laten dan diaktivasi di lingkungan periseluler melalui pemutusan ikatan Zn sistein yang memblok reaktivitas dari sisi aktif ( Velasco, 1999).

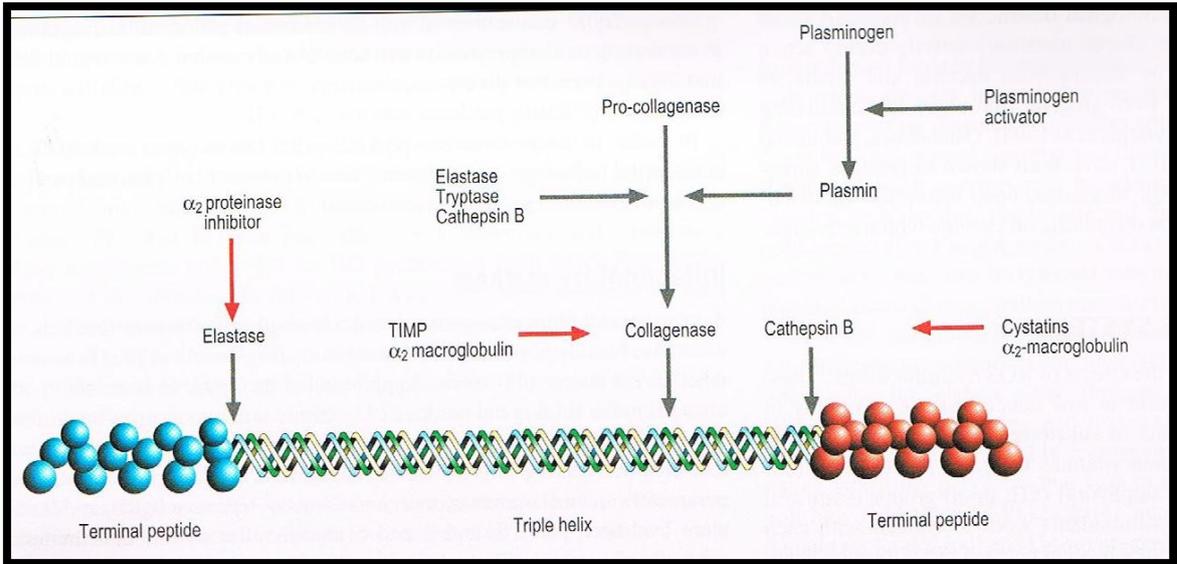
Sel-sel jaringan ikat endogen dan juga beberapa jenis sel hematopoitik yang mensintesis MMP. Matriks ini pertama kali ditemukan oleh Gross dan Lapiere tahun 1962

pada vertebrata termasuk homo sapiens, tetapi kemudian ditemukan juga pada invertebrata dan tumbuhan. MMP dibedakan dengan endopeptidase lain karena ketergantungannya pada ion logam sebagai kofaktor dan kemampuannya untuk mendegradasi matriks ekstraseluler, serta ciri-ciri khasnya dalam sekuens DNA revolusioner (Kerrigan. 2000).

Matriks Metalloproteinase (MMP) dapat diproduksi oleh berbagai sel imunoeffektor seperti neutrofil, monosit/ makrofag, fibroblast (Uitto, 2003; Avellan *et al*, 2005). Juga dipengaruhi oleh pelepasan neuropeptida pro inflamasi dari saraf sensoris yang dekat pada berbagai jaringan termasuk gingiva ( Luthman *et al*, 1999 dalam Avellan, 2005).

Matriks metalloproteinase (MMP) tidak hanya mendegradasi hampir semua matriks ekstraseluler dan komponen membran basal tapi juga growth factor, reseptor permukaan sel, sitokin proinflamasi sehingga mengakibatkan pengaturan sel dan penghantaran sinyal. Sebagai tambahan, MMP terlibat erat pada kondisi patologik seperti *Rheumatoid arthritis*, invasi tumor dan metastasis, infeksi pernafasan kronis, penyakit periodontal dan penyakit mata (dirangkum oleh Apajalahti, 2004).

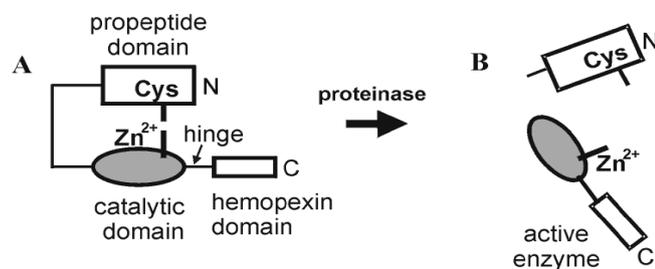
Berdasarkan gambaran strukturnya, MMP dapat dibagi menjadi kolagenase, gelatinase, stomelisin, matrilisin dan matriks metaloproteinase jenis membran. Kolagenase sebagai anggota subfamilia MMP terdiri atas kolagenase-1 (MMP-1), kolagenase-2 (MMP-8) dan kolagenase-3 (MMP-13). Kolagenase mempunyai kemampuan yang unik dalam memecah kolagen fibriler naif tipe I, II dan III ( Murphy,1992).



Gambar2.3 Peran kolagenase dalam memecah tiple helix kolagen

(Elley *et al*, 2010)

Kolagenase sanggup menginisiasi degradasi kolagen dengan mengurai *triple helix* (gambar 2.3). *Triple helix* kolagen membelah pada tempat spesifik untuk menghasilkan N-terminal  $\frac{3}{4}$  dan C terminal  $\frac{1}{4}$  fragmen dimana pada suhu tubuh dapat berubah menjadi gelatin (Apajalahti, 2004). MMP-1,-8, -13 mempunyai tiga domain penting pada struktur primernya yaitu domain propeptida yang hilang pada saat aktivasi, domain katalitik mengandung  $Zn^{+2}$  *binding site* dan C-terminal domain hemopexin (gambar 2.4)



Gambar 2.4 Struktur domain kolagenase (Apajalahti,2004)

Semua kolagenase disekresi dari sel sebagai proenzim laten dan diaktivasi *in vivo* secara ekstraseluler terutama terhadap pemotongan proteolitik oleh *host derived tissue* dan serine protease (MMP lain, PMN elastase, plasmin, cathepsin G, trypsin-2) atau oleh proteinase bakterial. Pada pengeksresian proenzim laten, residu cystein pada domain propeptida berikatan secara kovalen terhadap  $Zn^{+2}$  pada domain katalitik. Pada aktivasi proteolitik, ikatan kovalen tersebut terganggu dan domain propeptida (berat molekul sekitar 10-20 kD) dipotong, menghasilkan reduksi massa molekuler (Apajalahti,2004).

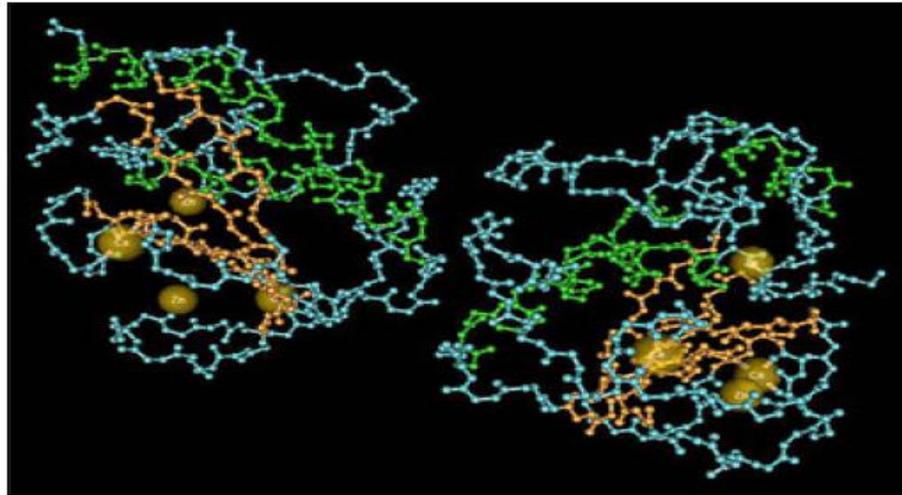
### **2.3.1 Matriks Metalloproteinase 8 (MMP-8)**

Matriks Metalloproteinase 8 (MMP-8) bagian dari keluarga *zinc-dependent endopeptidase* yang berperan dalam pengrusakan kolagen (Surlin 2000), paling efektif mendegradasi kolagen tipe I (Apajalahti,2004) yang paling banyak ditemukan pada PDL. MMP-8 pada awalnya dianggap terbatas pada netrofil, tetapi akhirnya dapat dideteksi pada kondrosit dari kartilago osteoarthritis, fibroblas sinovial dan sel endotel, sel odontoblas dan sel pulpa gigi (Sasano, 2002).

Fungsi dari MMP-8 antara lain adalah berhubungan dengan penyakit mielofibrosis, ruptur dini, melanoma, terlibat dalam proses proteolisis, proses katabolik kolagen, metabolisme peptidoglikan; protein yang diharapkan mempunyai fungsi molekuler aktivitas kolagenase netrofil, ikatan ion zinc, ikatan ion kalsium, aktivitas kolagenase interstitial, aktivitas metaloendopeptase; terlokalisasi di ruang ekstra seluler, matriks ekstra seluler proteinaseus dan matriks ekstraseluler ( Palosaari, 2000). Kadar MMP-8 menurut penelitian Mantyla *et al* (2003) menunjukkan pada kondisi periodontitis sekitar 2500  $\mu\text{g/L}$ , pada gingivitis sekitar 750  $\mu\text{g/L}$  dan pada kondisi sehat sekitar 100  $\mu\text{g/L}$ .

Matriks metalloproteinase-8 (MMP-8) adalah enzim pemecah kolagen yang terdapat pada jaringan ikat dari kebanyakan mamalia. Pada manusia, protein MMP-8

disandi oleh gen MMP-8. Pada umumnya, MMP disekresi dalam bentuk proprotein yang diaktifkan ketika dipecah oleh proteinase ekstraseluler. Akan tetapi, enzim ini disimpan di granuler sekunder dari netrofil yang diaktivasi dengan cara pemecahan autolitik. Fungsinya adalah untuk mendegradasi kolagen jenis I,II dan III ( Nagase,2006; Apajalahti,2004).



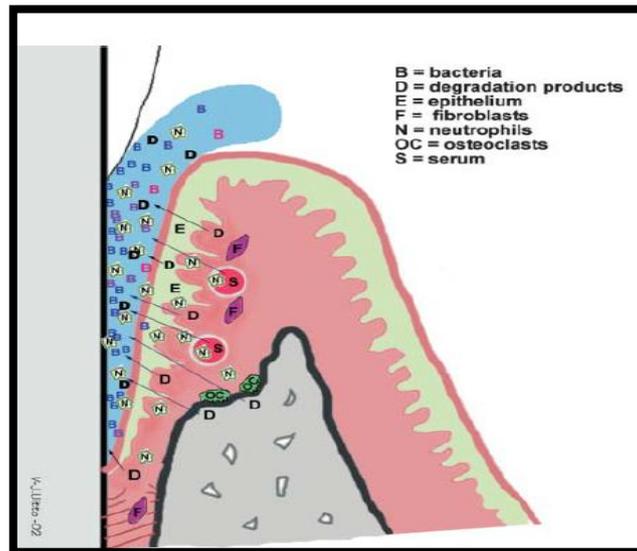
Gambar 2.5 MMP 8 pada manusia (Krizkova, 2011)

## 2.5 Cairan Sulkus Gingiva (CSG)

Cairan sulkus gingiva (CSG) merupakan cairan yang sangat berguna sebagai sarana diagnostik bagi para klinisi karena mengandung penanda-penanda biologis (biomarker) yang spesifik pada kondisi tertentu, yang dapat dijadikan penilaian untuk mengetahui kondisi biologis dari jaringan periodonsium ( Waddington, 2001).

Cairan Sulkus Gingiva (CSG) ini adalah suatu eksudat inflamatoris yang berasal dari pleksus pembuluh darah gingiva di korium gingiva, dijumpai di sulkus gingiva. Cairan ini cenderung meningkat jumlahnya pada kondisi inflamasi dan meningkatnya permeabilitas kapiler (Meeran,2011). Cairan ini keluar pada tepi gingiva dan dapat dikumpulkan melalui berbagai prosedur yang bervariasi dengan proses yang spesifik pada

sisi tertentu dan non invasif. Pengumpulannya dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu menggunakan *platinum loop*, *filter-paper strip*, pembilasan gingiva dan pipet mikro (Lehner, 1996).



Gambar 2.6 Cairan sulkus Gingiva (CSG) terdiri dari substansi yang berasal dari serum, leukosit, bakteri, sel-sel epitel, sel-sel jaringan ikat dan sel tulang. (Uitto,2003)

### 2.5.1 Teknik pengambilan Cairan Sulkus Gingiva

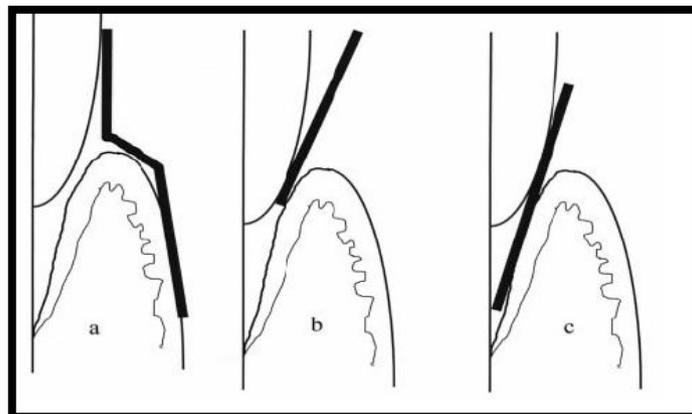


Gambar 2.7 Pengambilan CSG dengan Periopaper strips  
(Capelli *et al*, 2010)



Gambar 2.7 Menggunakan Mikropipet dan *Paper point*

(Hassan *et al*, 2010)



Gambar 2.8 Ilustrasi cara penempatan *paper* untuk diambil CSG nya (a) metode *extracrevicular*, (b) metode *intracrevicular superficial* (c) metode *intracrevicular deep* (Carranza, 2006)

Komponen-komponen seluler dan humoral darah dapat mencapai gigi dan permukaan epitel mulut dengan cara cairan tersebut mengalir melalui epitel junctional

gingiva. Oleh karena itu fungsi dan struktur epitel junctional adalah penting dalam hal relasi biologis antara komponen vaskuler dan struktur periodontal. Epitel junctional membentuk suatu perlekatan organik ke gigi dan bersambung dengan epitel sulkus yang meluas ke tepi gingiva. Epitel junctional berbeda dengan epitel lainnya karena mempunyai dua lamina basalis, satu melekat ke jaringan ikat dan satunya ke gigi (Lehner, 1996). Dalam CSG dijumpai komponen cairan dan seluler. Komponen cairan dari CSG antara lain mengandung imunoglobulin A, Ig G dan IgM, komplemen C3, C4, dan C5 dan proaktifator C3. IgG cairan krevikuler mengandung antibodi spesifik terhadap sejumlah mikroorganisme mulut, misalnya *Streptococcus mutans*. Aktivasi dari fagosit (netrofil dan monosit) menyebabkan kerusakan dan respon peradangan (Kinney, 2007). Selama proses inflamasi, produk interseluler dibuat dan bermigrasi ke sulkus gingiva atau poket periodontal. Mediator-mediator dari aktivitas penyakit seperti IL-1 $\alpha$ , IL-6, TNF telah diidentifikasi dan dijadikan sampel dari berbagai cairan biologis misalnya saliva dan CSG (Kinney, 2007).

Komponen seluler pada CSG yang paling banyak dijumpai adalah netrofil (92%). Sel-sel lainnya adalah mononuklear, terdiri dari makrofag, limfosit T dan B. Sel-sel ini bermigrasi dari darah melalui epitel junctional, dan mungkin sel-sel ini setelah memakan bakteri, menuju ke sulkus gingiva. Proporsi netrofil dalam cairan krevikuler lebih tinggi dibanding yang dijumpai dalam darah (70%) secara konsisten walaupun diketahui bahwa netrofil mempunyai kapasitas untuk bermigrasi (Lehner, 1996).

Kegunaan CSG dalam menilai gerakan ortodontik akan dipengaruhi oleh berbagai parameter. Trauma resorptif/ sintetik pada jaringan periodonsium akan menyebabkan keluarnya cairan yang bisa dipakai untuk menilai faktor-faktor yang mempengaruhi

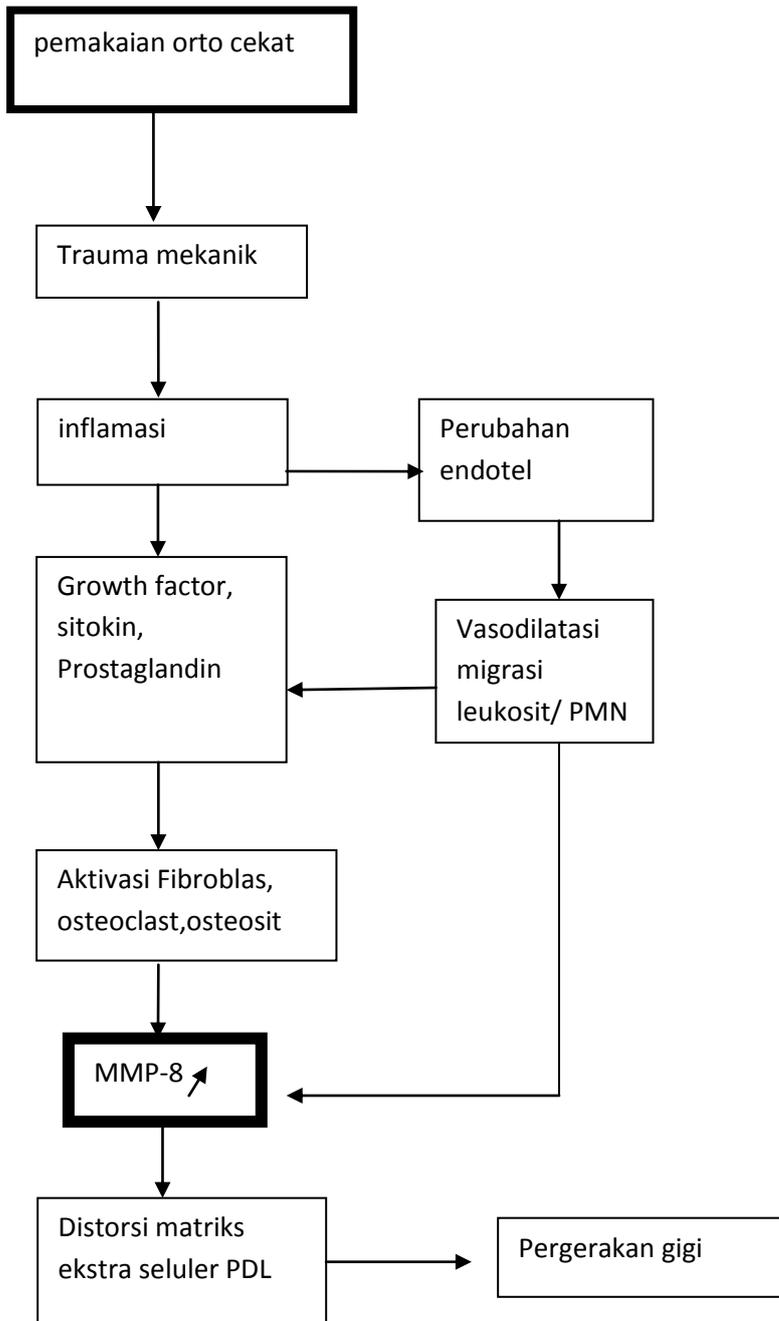
penilaian ortodontik. Gerakan dari tulang alveolar dan PDL memproduksi faktor-faktor matriks ekstraseluler yang digunakan sebagai penanda biologis dari perawatan ortodontik

Cairan Sulkus Gingiva (CSG) muncul pada margin gingiva dan dapat bervariasi digambarkan sebagai transudat atau eksudat. Laju aliran ini terkait dengan tingkat inflamasi gingiva, dan tingkat 0,05-0,20 per menit dilaporkan dalam kasus peradangan minimal. Jumlah cairan aliran adalah antara 0,5 dan 2,4 mL per hari. Studi terbaru dalam pergerakan gigi ortodontik telah menggunakan CSG karena noninvasif dan kemudahan pengambilan sampel berulang dari tempat yang sama dengan bantuan *platinum loop*, strip kertas saring, *gingival wash*, dan mikropipet. Cairan ini digunakan untuk menganalisis berbagai penanda biokimia seperti produksi prostaglandin dan aksi berbagai faktor ekstraseluler dan intraseluler, seperti IL-1, faktor pertumbuhan epidermal IL-6, TNF-2 mikroglobulin, cathepsin, aspartat aminotransferase, basa fosfatase, dan laktat dehidrogenase. Perubahan remodelling dalam tulang alveolar dan PDL menginduksi produksi berbagai mediator sel atau enzim yang dapat digunakan sebagai biomarker perawatan ortodontik. Apajalahti *et al* (2003) menemukan jumlah MMP-8 signifikan lebih tinggi dalam CSG setelah aplikasi gaya ortodontik selama 4 sampai 8 jam. Mereka menyarankan bahwa peningkatan ekspresi dan aktivasi MMP-8 pada CSG mencerminkan terjadinya peningkatan remodelling periodontal setelah aplikasi kekuatan ortodontik. Mereka menyimpulkan bahwa kehadiran penanda tersebut dalam CSG mungkin berguna dalam mengidentifikasi kegiatan *remodelling* tulang selama perawatan ortodontik. Cairan ini dianggap menjanjikan dan dapat diandalkan untuk penelitian masa depan, karena berbagai penelitian sudah mulai memberikan gambaran proses dalam jaringan paradental selama terapi ortodontik.

## BAB 3

### KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan : MMP-8 diperiksa

### **3.2 Penjelasan Kerangka Konsep**

Bila gigi menerima tekanan ortodontik yang merupakan trauma mekanis maka akan memicu terjadinya respon menyerupai respons inflamasi berupa perubahan pada endotel sehingga terjadi vasodilatasi dan migrasi leukosit/ PMN ke jaringan. Inflamasi dan vasodilatasi yang diikuti migrasi leukosit/PMN ini juga akan mengaktifasi beberapa mediator kimia seperti berbagai jenis sitokin, *growth factor* dan prostaglandin. Teraktifasinya mediator-mediator kimia ini juga akan yang akan mengaktifasi osteoblas, osteoklas dan fibroblas yang berada di matriks ekstra seluler untuk bergerak menuju daerah yang mendapat tekanan dan tarikan. Agar dapat dengan mudah mencapai daerah tersebut maka matriks ekstraseluler yang paling banyak ditemui pada PDL yaitu kolagen tipe I dipecah terlebih dahulu ikatannya dengan bantuan enzim Matriks Metalloproteinase-8 (MMP8) yang dihasilkan oleh Polimorfonuklear (PMN) dan fibroblas sehingga terjadi distorsi matriks ekstra seluler PDL dan memungkinkan gigi untuk bergerak.

### **3.3 Hipotesis**

- 3.3.1 Tidak ada perbedaan kadar MMP-8 CSG antara pemakaian alat ortodonti cekat untuk terapi dan aksesoris dengan lama pemakaian kurang dari 6 bulan.
- 3.3.2 Tidak ada perbedaan kadar MMP-8 CSG antara pemakaian alat ortodonti cekat untuk terapi dan aksesoris dengan lama pemakaian lebih dari 6 bulan.

## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan pendekatan *Cross Sectional study comparative* dimana variabel independen dan dependen diperiksa dalam waktu bersamaan.

#### **4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Lokasi penelitian dilakukan di Sekolah Menengah Kejuruan 6 di wilayah kerja Kecamatan Padang Timur Kota Padang dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Unand.

Penelitian berlangsung dari Mei sampai Oktober 2013.

#### **4.3 Populasi, Sampel, Besar sampel dan Teknik Pengambilan Sampel**

##### **4.3.1 Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah semua remaja yang menggunakan alat ortodonti cekat

##### **4.3.2 Sampel**

Sampel adalah bagian dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, pada penelitian ini adalah yang menggunakan alat ortodonti cekat yang bertujuan untuk aksesoris dan untuk terapi maloklusi yang memenuhi kriteria eksklusi dan inklusi

Kriteria inklusi :

- Usia 15 th sampai 18 tahun

- Tidak ada tanda-tanda inflamasi pada gingiva
- Tidak merokok
- Bersedia menjadi subyek penelitian
- Sehat fisik dan mental

Kriteria eksklusi :

- Sedang menstruasi
- Mengonsumsi antibiotik dan anti inflamasi

#### 4.3.3 Teknik Pengambilan Sampel

Sampel diambil dengan teknik *stratified random sampling* yaitu pengambilan sampel dengan membagi dulu populasi menjadi beberapa strata kemudian dari masing-masing strata diambil sampel secara acak (Notoatmodjo, 2005).

#### 4.3.4 Besar Sampel

$$n = 2 \left[ \frac{(Z\alpha + Z\beta) S}{(x1 - x2)} \right]^2$$

$n = 4,17 \rightarrow 5$  sampel tiap kelompok

Keterangan :

$Z\alpha$  : kesalahan tipe 1 sebesar 5% = 1,645

$Z\beta$  : kesalahan tipe 2 sebesar 20% = 0,842

$(x1 - x2)$ : selisih minimal yang dianggap bermakna = 10,3<sup>14</sup>

S : standar deviasi = 6<sup>14</sup>

Untuk mengantisipasi subjek yang drop out, maka dilakukan perhitungan :

$$n' = n / (1-f)^{63}$$

$n = 5,67 \rightarrow 6$  sampel tiap kelompok

Keterangan :

n : besar sampel yang dihitung

f : perkiraan proporsi drop out = 10% = 0,1

#### **4.4 Variabel penelitian**

Pada penelitian ini terdapat dua variabel yaitu :

a. Variabel Bebas (*independent variable*)

Variabel bebas pada penelitian ini adalah penggunaan alat ortodontik cekat yang bertujuan aksesoris dan terapi

b. Variabel Terikat (*dependent variable*)

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar MMP-8 pada cairan sulkus gingiva (CSG). Serta waktu penggunaan alat ortodonti cekat untuk terapi dan aksesoris.

#### **4.5 Cara Pengambilan Cairan Sulkus Gingiva (CSG)**

Cairan Sulkus gingiva (CSG) diambil menggunakan *paper point* no.15 pada bagian mesial dan distal gigi Caninus atas dengan teknik *intraalveolar superficial*.

#### **4.6 Bahan dan Instrumen Penelitian**

##### **4.6.1 Bahan Penelitian**

1. MMP-8 human ELISA Kit Abcam
2. *Paper point no. 15*

#### 4.6.2 Instrumen yang diperlukan untuk penelitian

1. Mikrotube
2. *Tube Eppendorf* ukuran 1,5 mL
3. Kaca mulut
4. Sonde
5. Pinset
6. *Cotton roll*
7. Stopwatch
8. *Sentrifuge Thermo Scientific* kecepatan 3000- 5000 rpm
9. Lemari pendingin penyimpanan sampel suhu minus 20 C
10. Microplate Elisa reader (Biorad)
11. Vortex (Blared)
12. Mikropipet (Eppendorf)

#### 4.7 Definisi Operasional

1. Alat ortodonti cekat untuk terapi adalah suatu alat yang dipasang oleh dokter gigi pada permukaan gigi yang bertujuan untuk menggerakkan gigi ke daerah yang diinginkan agar tercapai fungsi dan estetik yang baik

Cara ukur : observasi langsung

Alat Ukur : kaca mulut

Hasil ukur : sebagai terapi

Skala : nominal

2. Alat ortodonti cekat bertujuan aksesoris adalah suatu alat yang dipasang bukan oleh klinisi pada permukaan gigi yang bertujuan bukan untuk menggerakkan gigi, hanya sebagai aksesoris

Cara ukur : observasi langsung

Alat Ukur : kaca mulut

Hasil ukur : sebagai aksesoris

Skala : nominal

3. Kadar MMP-8 adalah kadar enzim pemecah kolagen terutama tipe I yang terdapat pada jaringan ikat dari kebanyakan mamalia.

Cara ukur : doble antibody sandwich Elisa

Alat ukur : ELISA

Hasil ukur : pg/mL

Skala ukur : rasio

4. Waktu pemakaian alat ortodonti adalah lama pemakaian alat ortodonti baik sebagai terapi maupun sebagai aksesoris

Cara ukur : wawancara

Alat ukur : kalender

Hasil ukur : kurang dari 6 bulan, lebih dari 6 bulan

Skala ukur : nominal

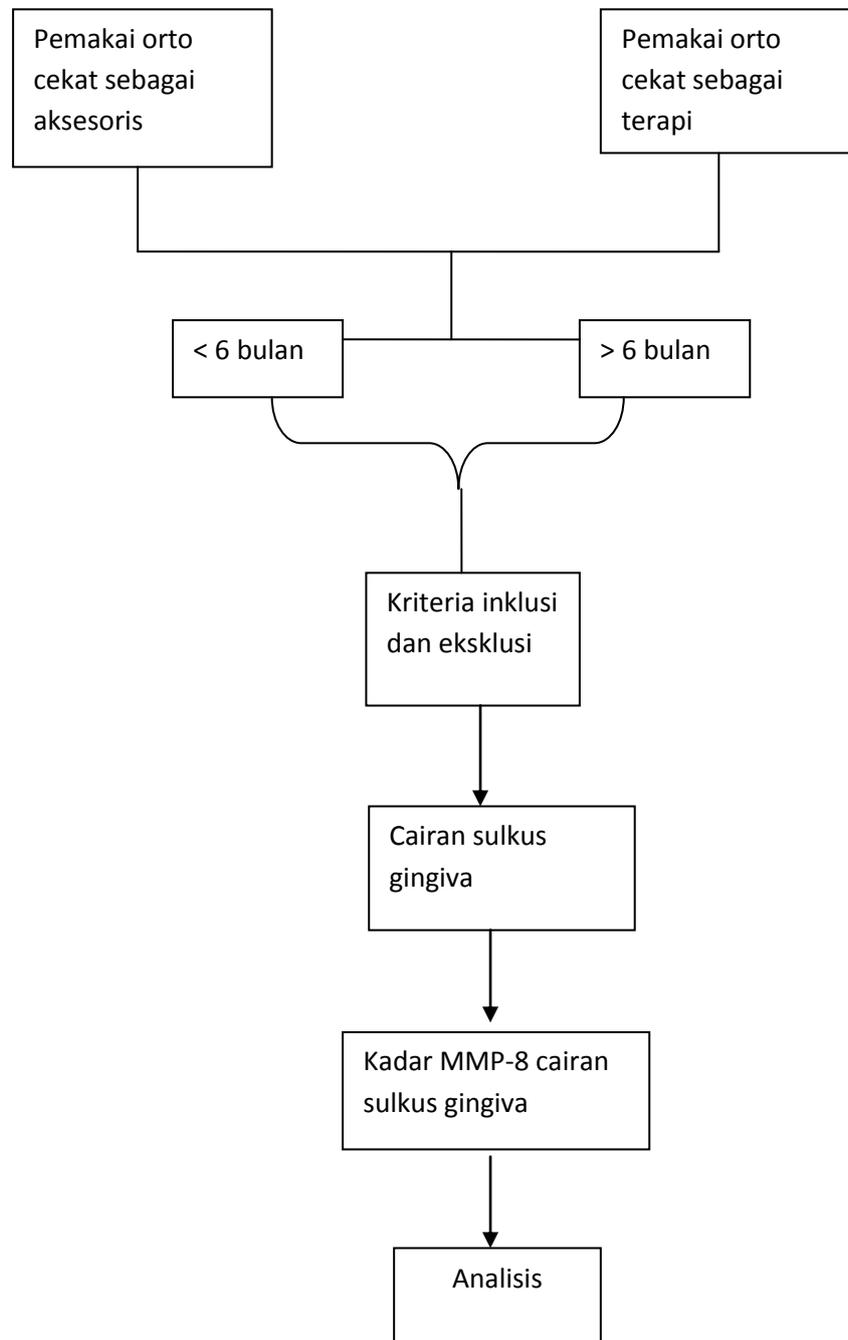
#### **4.8 Persyaratan Etik Penelitian**

Sebelum melakukan penelitian akan diminta persetujuan kepada Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dengan melampirkan proposal penelitian, informasi yang diberikan pada subyek penelitian yang meliputi alasan diikutsertakan dalam penelitian, subyek bebas menolak, tujuan penelitian dan waktu yang diperlukan, pemberitahuan hasil penelitian risiko penelitian dan manfaat langsung.

#### 4.9 Prosedur Pengumpulan Data

1. Sebelum CSG dikumpulkan, dilakukan kumur-kumur dengan larutan Klorheksidin untuk menyamakan kondisi masing-masing subyek dan meminimalisir keterlibatan bakteri oral.
2. Daerah yang akan diambil cairan sulkus dibersihkan dari plak dan dikeringkan, kemudian diisolasi dengan *cotton roll* pada bagian bukal
3. *Paper point* di insersikan dengan lembut, menggunakan teknik *intraalveolar superficial*
4. Dibiarkan selama 3 menit, waktu diatur menggunakan *stopwatch*
5. Kemudian *paper point* diambil dan dimasukkan ke tabung *Eppendorf* yang telah berisi larutan *buffer* PBS sebanyak 200 $\mu$ L
6. Sampel disimpan pada suhu -20C sampai jumlah sampel mencukupi

#### 4.9.1 Kerangka Operasional Penelitian



#### 4.9.2 Prosedur Penelitian

Semua pemakai alat ortodonti cekat diwawancarai apakah tujuan memakai alat ortodonti cekat dan dipasang oleh klinisi atau bukan serta berapa lama waktu pemakaiannya, waktu pemakaian dibagi dua secara garis besar yaitu kurang dari 6

bulan dan lebih dari 6 bulan, apabila bertujuan untuk aksesoris dan dilakukan oleh non klinisi maka dapat dijadikan calon subyek penelitian kemudian memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, maka dapat dijadikan sampel penelitian. Peneliti memberikan penjelasan dan meminta persetujuan untuk ikut berpartisipasi dalam penelitian ini, kemudian sampel diminta mengisi formulir *informed consent*. Cairan sulkus gingiva dikumpulkan menggunakan teknik *intracrevicular superficialis* selama 3 menit. Cairan sulkus gingiva juga dikumpulkan pada kelompok yang tidak menggunakan alat ortodonti cekat.

#### **4.10 Analisis Data**

Data hasil pengukuran ELISA dianalisis menggunakan uji statistik *one way ANOVA* jika data berdistribusi normal, namun jika data berdistribusi tidak normal maka digunakan Uji Kruskal Wallis dilanjutkan dengan *Post hoc* Mann Whitney. Hasil analisis data ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik.

## BAB 5

### HASIL PENELITIAN

Telah dilakukan penelitian terhadap dua puluh empat orang terpilih dan dibagi menjadi dua kelompok secara garis besar yaitu kelompok terapi dan kelompok aksesoris. Kelompok terapi dan aksesoris dibagi lagi menjadi masing-masing kelompok yang menggunakan alat ortodonti cekat ini kurang dari 6 bulan dan lebih dari 6 bulan. Masing-masing kelompok tidak diberi perlakuan apapun hanya diambil cairan sulkus gingiva (CSG) menggunakan *paper point* no 15 yang ditempatkan selama 3 menit pada sulkus gingiva bagian mesial dan distal gigi Kaninus rahang atas. Sampel yang terkontaminasi darah dan saliva dikeluarkan. Cairan Sulkus Gingiva juga diambil dari suatu kelompok yang tidak menggunakan alat ortodonti cekat sebagai pembanding. Setelah semua sampel mencukupi dilakukan pengukuran kadar enzim Matriks Metalloproteinase-8 (MMP-8) cairan sulkus gingiva pada masing-masing kelompok dengan uji ELISA dan diukur pada panjang gelombang 450 nm. Dari hasil ELISA ada beberapa sampel yang tidak terbaca seperti dapat dilihat di tabel induk (lampiran 1). Konsentrasi yang tidak terbaca ini dikeluarkan dan masing-masing kelompok menjadi 5 sampel pemeriksaan. Hasil uji normalitas terhadap variabel penelitian kadar MMP-8 menunjukkan data berdistribusi tidak normal ( $p > 0,05$ ). Hasil uji normalitas Saphiro-Wilk menunjukkan data berdistribusi tidak normal, maka dilakukan uji alternatif Kruskal-Wallis dan apabila  $p < 0,05$  maka dilanjutkan dengan *Post hoc* Mann Whitney untuk melihat kelompok mana yang memiliki perbedaan.

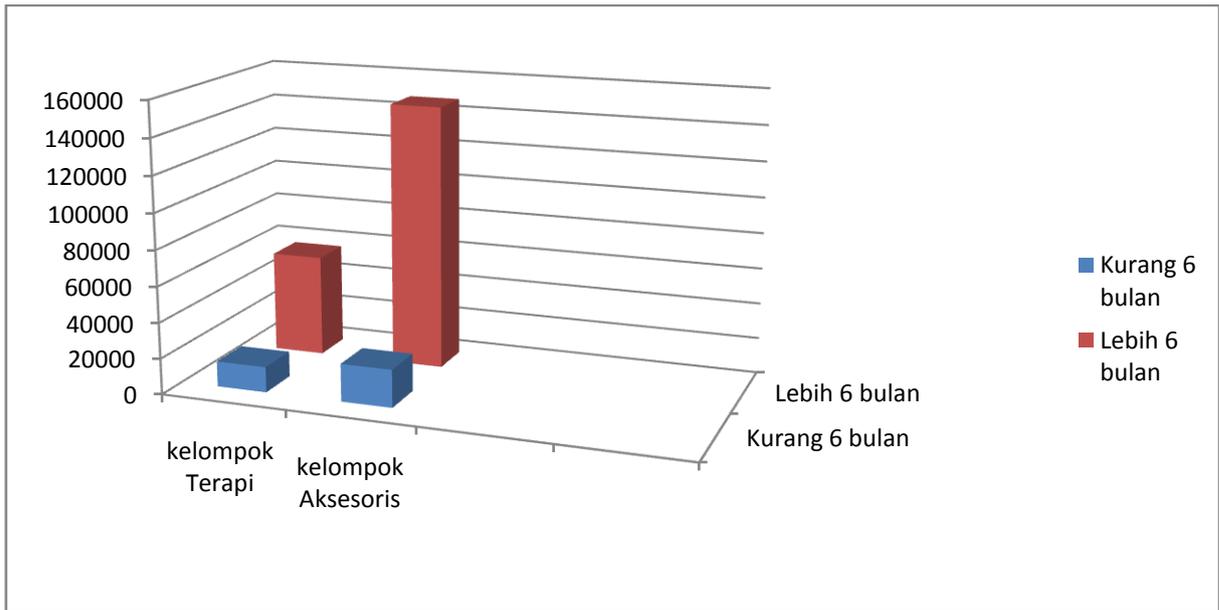
Tabel 5.1 Hasil Analisis Kruskall Wallis

		n	Median ( minimum-maksimum)	P
Kelompok ortodonti cekat	Kelompok terapi kurang 6 bulan	5	14237,56 (4228,33-56830,94)	0,148
	Kelompok terapi lebih 6 bulan	5	56830,94 (3466,82-197340,20)	
	Kelompok aksesoris kurang 6 bulan	5	21091,67 (3956,40-37737,36)	
	Kelompok aksesoris lebih 6 bulan	5	147892,66 (17468,79-354984,60)	

\*Ket: kadar MMP-8 dalam satuan pg/ml

Hasil uji Kruskall Wallis menunjukkan bahwa tidak ada dua kelompok yang mempunyai perbedaan yang berarti secara statistik, hal ini dapat diketahui dari nilai  $p > 0,05$ .

Berdasarkan tabel 5.1 dapat dilihat bahwa kadar MMP-8 tertinggi ada pada kelompok aksesoris dengan lama pemakaian lebih dari 6 bulan. Kadar MMP-8 pada kelompok ini mencapai 147892,66 pg/ml dan kadar MMP-8 paling rendah dijumpai pada kelompok terapi kurang dari 6 bulan sebesar 14237,56 pg/ml. Kelompok terapi lebih dari 6 bulan memiliki kadar MMP-8 sebesar 56830,94 pg/ml sedangkan kelompok aksesoris kurang dari 6 bulan memiliki kadar MMP-8 sebesar 21091,67 pg/ml. Perbedaan kadar MMP-8 masing-masing kelompok dapat dilihat pada gambar 5.1.



Gambar 5.1 Diagram Kadar MMP-8 CSG masing-masing Kelompok

### 5.1 Perbedaan Kadar MMP-8 CSG pada Pemakaian Ortodonti Cekat sebagai Terapi dan Aksesoris dengan Lama Pemakaian Kurang dari 6 Bulan

Pada tabel 5.1 dapat dilihat nilai  $p = 0,148$  ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan konsentrasi MMP-8 antara dua kelompok manapun, sehingga tidak perlu melakukan uji *Post-hoc* Mann-Whitney. Gambar 5.1 memperlihatkan bahwa kelompok aksesoris kurang dari 6 bulan mempunyai kadar MMP-8 yang lebih tinggi (21091,67 pg/ml) dibanding kelompok terapi kurang dari 6 bulan (14237,56 pg/ml).

### 5.2 Perbedaan kadar MMP-8 CSG pada pemakaian Ortodonti Cekat sebagai Terapi dan Aksesoris dengan Lama Pemakaian Lebih dari 6 Bulan

Berdasarkan uji Kruskal Wallis ( $p = 0,148$ ), pada kedua kelompok ini juga tidak ditemukan ada perbedaan konsentrasi MMP-8 CSG. Walaupun pada gambar 5.1 terlihat perbedaan konsentrasi yang cukup besar. Kadar MMP-8 pada kelompok terapi lebih dari 6

bulan sebesar 56830,94 pg/ml dan kadar MMP-8 pada kelompok aksesoris lebih dari 6 bulan adalah 147892,66 pg/ml.

## **BAB 6**

### **PEMBAHASAN**

#### **6.1 Perbedaan Kadar MMP-8 CSG pada Pemakaian Ortodonti Cekat sebagai Terapi dan Aksesoris dengan Lama Pemakaian Kurang dari 6 Bulan**

Pada penelitian ini tidak ditemukan perbedaan bermakna secara statistik pada kadar MMP-8 CSG antara kelompok pemakaian ortodonti cekat sebagai terapi dan kelompok aksesoris dengan lama pemakaian kurang dari 6 bulan. Namun dari kadar MMP-8 CSG terlihat bahwa kelompok aksesoris kurang dari 6 bulan mempunyai kadar MMP-8 yang lebih tinggi (21091,67 pg/ml) dibanding kelompok terapi kurang dari 6 bulan (14237,56 pg/ml).

Perbedaan kadar MMP-8 ini menunjukkan bahwa pada kedua kelompok telah terjadi degradasi kolagen akibat pemakaian alat ortodonti cekat dalam tingkat yang berbeda. Kadar yang lebih tinggi pada kelompok aksesoris kurang dari 6 bulan menunjukkan bahwa kerusakan kolagen yang terjadi lebih banyak dan lebih besar dibandingkan pada kelompok terapi kurang dari 6 bulan. Ini terjadi akibat tekanan yang diberikan pada kelompok aksesoris tidak terkontrol besarnya sementara pada kelompok terapi kurang 6 bulan, dimana sampel diambil 2 minggu setelah insersi alat untuk pertama kali dan saat itu belum diberi tekanan untuk menggerakkan gigi sehingga masih dalam tahap *levelling* dan *aligning*.

Jika dibandingkan dengan kadar MMP-8 pada kondisi tanpa tekanan ortodonti yang kadarnya 1018,92 pg/ml terlihat bahwa pada kelompok terapi mengalami kenaikan 14 kali lipat sedangkan jika dibandingkan dengan kelompok aksesoris kadar MMP-8 mengalami

kenaikan 20 kali lipat. Hal ini hampir sama dengan penelitian Sorsa dkk, 1992 bahwa terjadi peningkatan aktivitas kolagenase total 10 kali lipat dibanding dengan kontrol. Penelitian Ingman *et al*, 2005 juga menyatakan bahwa terjadi peningkatan kadar MMP-1 dan -8 sebesar 12 kali lipat setelah aktivasi dalam pantauan selama 1 bulan. Namun pada penelitian ini didapatkan peningkatan yang lebih besar patut diduga bahwa daya yang bekerja pada kelompok aksesoris ini lebih besar dibanding kelompok terapi, sehingga memungkinkan gigi bergerak lebih banyak dibandingkan kelompok terapi. Hal ini tidak direncanakan dan tidak diharapkan pada kelompok aksesoris karena pada kelompok ini tujuan utamanya bukan untuk menggerakkan gigi serta tidak memiliki indikasi perawatan ortodonti karena tidak mengalami maloklusi yang membutuhkan perawatan ortodonti. Di samping itu diduga ada keterlibatan inflamasi gingiva dan jaringan periodontal yang tidak terlihat secara klinis, mengingat kelompok aksesoris ini tidak melakukan kontrol secara berkala ke dokter gigi. Pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan dan penilaian secara obyektif terhadap kesehatan jaringan periodontal menggunakan *Periodontal Index* ataupun *Gingival index*, sehingga adanya kelainan pada periodontal atau gingiva tidak terdeteksi secara jelas.

Kadar MMP-8 CSG yang besar menunjukkan terjadi proses penghancuran kolagen yang banyak sehingga meningkatkan kadar MMP-8 sebagai enzim pengurai kolagen. Hal ini juga menunjukkan telah terjadi proses *remodelling* yang akan berakibat terjadinya pergerakan gigi. Menurut penelitian Surlin *et al*, 2010 bahwa peningkatan kadar MMP-8 pada CSG akan berlanjut terus dan akan berkembang meskipun telah melewati 4-8 jam setelah aktivasi yang dianggap puncak peningkatan kadar MMP-8 (Mantyla, 2003). Peningkatan kadar MMP-8 ini akan terus terjadi pada pemakaian alat ortodonti cekat meskipun tidak ada keterlibatan bakteri ( Surlin *et al*, 2010).

Perawatan ortodonti bertujuan untuk menggerakkan gigi secara efisien dan tidak menimbulkan efek yang merugikan pada gigi maupun jaringan pendukung. Daya optimal dibutuhkan agar diperoleh respon biologis yang adekuat pada ligamen periodontal. Selain itu juga ditentukan oleh tipe dan besar daya serta lama perawatan (Pilon et al,1996 dalam Bohl, Kuipjer, 2008). Gigi geligi bila diberi tekanan akan menimbulkan respon inflamasi pada jaringan periodontal, dan sel-sel seperti PMN dan fibroblas gingiva akan teraktivasi sehingga memproduksi enzim MMP-8 yang berfungsi untuk mendegradasi kolagen khususnya kolagen tipe I yang paling banyak ditemui pada jaringan periodontal. Enzim ini memainkan peranan penting dalam perusakan jaringan selama proses inflamasi (Apajalahti,2004).

## **6.2 Perbedaan kadar MMP-8 CSG pada pemakaian Ortodonti Cekat sebagai Terapi dan Aksesoris dengan Lama Pemakaian Lebih dari 6 Bulan**

Pada penelitian ini tidak ditemui perbedaan yang bermakna secara statistik antara kedua kelompok. Kadar MMP-8 pada kelompok terapi lebih dari 6 bulan sebesar 56830,94 pg/ml dan kadar yang lebih tinggi ditemui pada kelompok aksesoris dengan lama pemakaian lebih dari 6 bulan yaitu sebesar 147892,66 pg/ml. Data ini juga merupakan bukti bahwa pada kelompok aksesoris lebih dari 6 bulan ternyata telah terjadi degradasi kolagen yang besar dibanding dengan kelompok terapi. Degradasi kolagen yang besar ini dapat mengakibatkan kerusakan jaringan periodontal sehingga mengakibatkan terjadinya pergerakan gigi yang tidak terkontrol dan akan merusak sistem dentofasial.

Kadar MMP-8 yang tinggi pada kelompok aksesoris menimbulkan dugaan bahwa terjadi *hyalinisasi* pada kelompok ini. *Hyalinisasi* adalah kematian jaringan yang disebabkan oleh tekanan yang besar dan tiba-tiba, hal ini terjadi pada kelompok aksesoris karena dikerjakan bukan oleh ahli yang kompeten dan tidak mempunyai pengetahuan

biomekanik tulang. Pada daerah *hyalinisasi* ini makrofag akan teraktivasi dan makrofag tersebut juga akan mengaktivasi MMP-8 sehingga akan terjadi peningkatan kadar MMP-8.

Kadar MMP-8 akan berada pada level tertinggi dalam waktu 4-8 jam setelah aktivasi (Apajalahti, 2004). Penelitian Ribagin dan Rashkova, 2012 menyatakan bahwa kadar MMP8 dan IL-1 $\beta$  menurun tipis dibandingkan dengan nilai awal dan memperlihatkan terjadinya peningkatan setelah bulan ketiga perawatan ortodonti. Literatur mengenai kadar MMP-8 dan IL-1 $\beta$  dalam perawatan jangka panjang masih sangat terbatas.

Pemakaian ortodonti cekat sebagai terapi memerlukan daya optimal dan perawatan yang teratur sehingga gigi dapat digerakkan ke posisi yang ideal. Gigi yang mendapat tekanan akan mengalami tarikan dan tekanan. Tekanan akan memicu terjadinya respons inflamasi pada ligamen periodontal, kejadian ini akan diikuti oleh teraktivasinya PMN sehingga akan mengaktivasi enzim MMP-8 yang non aktif sehingga dapat mendegradasi kolagen, hal ini akan menyebabkan kolagen terurai dan memungkinkan terjadinya *remodelling* tulang alveolar dan ligamen periodontal. Tekanan yang besar untuk terapi harus terukur sehingga tidak menimbulkan ketidaknyamanan pada pemakai.

Di samping karena tekanan ortodonti yang besar, peningkatan kadar MMP-8 CSG ini juga dapat terjadi akibat adanya inflamasi yang disebabkan oleh aktivitas bakteri dari marginal gingiva. Mengingat bahwa kelompok yang menggunakan alat ortodonti cekat untuk tujuan aksesoris ini tentu tidak melakukan kontrol plak yang adekuat sehingga sangat besar kemungkinan terjadinya inflamasi gingiva dan mengalami kelainan periodontal. Kadar MMP-8 CSG pada perawatan ortodonti lebih rendah jika dibandingkan dengan kondisi gingivitis dan periodontitis, tapi lebih tinggi daripada kontrol, hal ini membuktikan bahwa MMP khususnya MMP-8 mempunyai peranan penting dalam pergerakan gigi dan *remodelling* jaringan (Meeran,2012).

Pada penelitian ini ada beberapa sampel yang tidak terbaca pada uji ELISA, diduga karena sampel yang terlalu sedikit sehingga tidak memungkinkan dibuat duplo serta tidak diketahui jumlah CSG secara kuantitatif. Untuk itu perlu dicoba menggunakan teknik pengambilan sampel yang lain seperti metoda pencucian (*washing method*) ataupun menggunakan *Periopaper strip*. Pada penelitian selanjutnya diperlukan penanganan analisa laboratorium yang lebih teliti seperti menggunakan pengenceran yang lebih besar sehingga kadar MMP-8 CSG dapat diketahui. Penelitian melibatkan jumlah subyek yang lebih besar mungkin diperlukan.

## **BAB 7**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **7.1 Kesimpulan**

1. Tidak ada perbedaan kadar MMP-8 CSG pada pemakaian ortodonti cekat sebagai terapi dan aksesoris dengan lama pemakaian kurang dari 6 Bulan
2. Tidak ada perbedaan kadar MMP-8 CSG pada pemakaian ortodonti cekat sebagai terapi dan aksesoris dengan lama pemakaian lebih dari 6 Bulan

#### **7.2 Saran**

1. Sebaiknya pada penelitian selanjutnya digunakan teknik pengumpulan sampel yang lain untuk mengantisipasi jumlah sampel yang sedikit untuk analisa.
2. Pada pengambilan cairan sulkus gingiva sebaiknya diikuti dengan pengukuran secara kuantitatif sehingga ada standar jumlah atau berat minimal untuk dilakukan pemeriksaan.
3. Sebaiknya pada penelitian selanjutnya dilakukan pemeriksaan kondisi kesehatan gingiva untuk mengetahui apakah ada faktor inflamasi yang sedang terjadi di samping karena tekanan ortodonti.

## KEPUSTAKAAN

- Apajalahti S, Sorsa T, Railavo S, Ingman T. 2003. The in vivo level of Matrix Metalloproteinase-1 and -8 in Gingival Crevicular Fluid during initial orthodontic tooth Movement. *Journal of Dental Research*; Dec 2003; 82,12; Proquest. Pg 1018-1022
- Apajalahti S. 2004. *Short Root Anomaly (SRA) Prevalence and Phenotypic Features in families- with Emphasis on matrix Metalloproteinases in Gingival Crevicular Fluid of SRA and Orthodontic Patients*. Academic dissertation. Institute of Dentistry Departement of Pedodontics and Orthodontics, University of Helsinki, Finland
- Ariffin SHZ, Yamamoto Z, Abidin IZZ, Wahab RMA, Ariffin ZZ.2011. Cellular and molecular Changes in orthodontic Tooth movement. *TheScientific WorldJOURNAL*, vol 11, pp. 1788-1803
- Avellan NL et al. 2005. Painful tooth Stimulation Elevates Matrix Metalliproteinase-8 Levels Locally in Human Gingival Crevicular Fluid. *Journal of Dental Research*; Apr 2005; 84,4; ProQuest pg. 335
- Capelli J, Fidel R, Figueredo CM, Teles RP. 2010. Change in the Gingival fluid volume during maxillary canine retraction. *Dental Press J. Orthod*. Vol.15.no.2
- Carranza.2006. *Clinical periodontology*.Philadelphia.Saunders company.
- Elley BM, Soory M, Manson JD. 2010. *Periodontics*. Sixth edition. Toronto. Churchill Livingstone. Elsevier
- Gendron R,Grevier D, Sorsa T, Mayrand D. 1999. Inhibition of the activities of MMP2,8 and 9 by chlorhexidine. *Clin Diag Lab Immuno*.6(3); 431-9
- Graber, Vanarsdall, Vig. 2000. *Orthodontics- current principles and techniques*. 4th ed. Elsvier Mosby. Missouri
- Hassan KS, Alagi AS, Ali I. 2010. Periodontal status following self ligature versus archwire ligation techniques in orthodontically treated patients- Clinical, microbiological and biochemical evaluation. *Orthodontics waves*. Vol. 69(4). p 164-170. Sciencedirect.com.akses 25 Januari 2013.
- Ingman T, Terrahartiala T, Ding Y, Sorsa T. 2005. Matrix metalloproteinase and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *J clin Periodontol* 23 (12):1127-32
- Ingman T,Apajalahti S, Mantyla P, Sorsa T. Matrix metalloproteinase-1 and -8 in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement: a pilot study during 1 month of follow up after fixed appliance activation. *European J Orthod*.2005;27:202-07
- Kerrigan JJ,Mansell Jp, Sandy JR.2000. Matriks turnover. *J Orthod* 2000;27 (3):227-33
- Kiili M.2002. collagenase-2 and MMP13 in adult periodontitis molecular forms and levels in GCF and immunolocalization in gingival tissue. *J clin periodontol* 2002;29: 224-32

- Kinney JS, Ramshiera Ca, Giannobile WV. 2007. Oral fluid-based biomarkers of alveolar bone loss in periodontitis. *Ann N Y Acad Sci*; 1098:230-51
- Krishnan V, Davidovitch Z. 2006. Cellular, molecular and tissue-level reactions to orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006 ; 129-469
- Krishnan V, Davidovitch Z. 2009. On a Path to Unfolding the Biological Mechanism of Orthodontic Tooth Movement. *J Dent Res*. 88(7) :597-608, 2009
- Krizkova et al. 2011. Clinical importance of matrix metalloproteinases. *Bratisl Lek Listy*. 112 (80). p435-440
- Lehner T. 1996. *Immunology of oral disease*. 3rd ed. Massachusetts: Blackwell Sci Publ. Ed. 18-27
- Meeran NA. 2011. The role of gingival crevicular fluid in orthodontic tooth movement- a review. *SRM University Journal of Dental Sciences*. Vol 2(2). P129-133
- Mieke S. 2006. The role of extra cellular matrix during orthodontic treatment. *Folia Medica Indonesiana* 2006; 42 (5):1-5
- Meikle MC. 2006. The tissue, cellular and molecular regulation of orthodontic tooth movement : 100 years after Carl Sandstedt. *European J Orthod* 2006; 28:221-40
- Murphy G, Allan JA, Willenbrock F. 1992. The role of C-terminal domain in collagenase and stromelysin specificity. *J Biol Chem*. 267;9612-8
- Nagase H, Visse R, Murphy G. 2006. Structure and function of matrix metalloproteinase and TIMP. *Cardiovascular Res*. 69(3). 562-70
- Nanda R. 2005. *Biomechanics and Esthetics Strategies in Clinical Orthodontics*. Missouri. Elsevier Saunders
- Notoatmodjo, 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Rineka Cipta. Jakarta
- Palosaari H, Walgren J, Larmas M, Ronka H. 2000. The expression of MMP-8 in human odontoblast and dental pulp cells is down regulated by TGF-beta 1. *J Dent Res*; 79:77-84
- Persson M. 2005. A 100th anniversary : Sandstedt's experiment on tissue changes during tooth movement. *J Orthod*. 32;27-8
- Radunovic VV. 1999. Neural Modulation of inflammatory reactions in dental tissues incident to orthodontic movement. A review of the literature. *European journal of Orthodontics* ;21 (231-47)
- Rahardjo P. 2009. *Ortodonti dasar*. Surabaya. Pusat penerbitan dan Percetakan Unair.
- Redlich M, Reichenberg E, Harari D, Zaks B, Shshan S, Palmin A. 2001. The effect of mechanical force on mRNA levels of collagenase, collagen type I, and tissue inhibitors of metalloproteinases in gingivae of dogs. *J dent Rest* 2001;80

- Ribagin, Lora S;Rashkova, Maya R.2012. Matrix Metalloproteinase-8 and Interleukin-1[Beta] in Gingival Fluid. *Folia Medica*; Jul-Sep 2012; 54, 3; ProQuest Medical Library. pg. 50
- Sasano Y, Jing-Xu Z, Tsubota M. 2002. Gene expression of MMP-8 and MMP-13 during embryonic development of bone and cartilago in the rat mandibula and hind limb. *J Histochem Cytochem* 2002; 50 (30)
- Sodek, McKee. 2000. Molecular and Cellular biology of Alveolar Bone. *Periodontology* 2000.24. p 99-126
- Susilowati.2010. Peran matriks metaloproteinase-8 pada cairan krevikular gingiva selama pergerakan gigi ortodontik. *Dentofasial*. 9 (1) 55-62
- Surlin et al. 2010. Correlation beetwen the gingival crevicular fluid MMP8 levels and gingival overgrowth in patients with fixe orthodontics devices. *Romanian journal of Morphology and Embryology* 2010;51(3): 515-519
- Takahashi, I;Nishimura, M;Onodera, K;Bae, J W;et al. Expression of MMP-8 and MMP-13 genes in the periodontal ligament during tooth movement in rats. *Journal of Dental Research*; Aug 2003; 82, 8; ProQuest. pg. 646
- Takahashi I *et al.* 2006. Expression of genes for gelatinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in periodontal tissues during orthodontic tooth movement. *J Mol Hist* (2006). 37:333-342
- Tsatala SK, Kaklamanos E,Tsalikis L.2002. Effects of orthodontic treatment on gingival crevicular fluid flow rate and composition: Clinical implication and application.. *Int J Adult Orthod orthogntic surg*.17(3):191-205
- Uitto VJ. 2003. Gingival crevice fluid- an introduction. *Periodontology* 2000. Vol.31.2003.9-11
- Yamaguchi M. Kasai K. 2005. Inflammation in Periodontal tissues in response to mechanical forces. *Arch immunol Ther Exp*.2005, 53, 388-398
- Ribagin, L. Rashkova M. 2012. Matrix Metalloproteinase-8 and Interleukin-1 $\beta$  in gingival fluid of Children in the first three month of orthodontic treatment with fixed appliances. *Folia medica*; Jul- Sep 2012; 54, 3; ProQuest Medical Library.p 50-56
- Velasco G, Pendas AM, Fueyo A, Knauper V, Murphy G, Lopez-Otin C. 1992. Cloning and characterization of human MMP-23, a new matrix metalloproteinase predominantly expressed in reproductive tissues and lacking conserved domains in other family member. *J Biol Chem* 1992;267:9612-8
- Waddington RJ, Emberry G. 2001. Proteoglycans and orthodontics tooth movement. *J orthod*. 28;281-90
- Williams JK, Cook PA, Isaacson Kg, Thom AR. *Alat-alat ortodonti cekat: Prinsip dan praktek* (Fixed orthodontics appliances; principle and practice). Alih bahasa : Susetyo B. Jakarta; EGC;2000. p.60-2

**DATA INDUK KADAR MMP-8 CAIRAN SULKUS GINGIVA**

	KELOMPOK	WAKTU PEMAKAIAN	KONSENTRASI
1	Terapi	Kurang 6 bulan	4228,331 14237,557 7873,028 22070,823 - 56830,941
2		Lebih 6 bulan	5993,725 - 3466,816 56830,941 197340,151 132226,127
3	Aksesoris	Kurang 6 bulan	20116,876 - 3956,395 37737,355 25008,298 21091,665
4		Lebih 6 bulan	17468,785 - 354984,631 91591,059 147892,659 164048,770
	Kontrol		39,762 529,341 1018,921 1508,500 3466,816 2462,937

Lampiran 2:

## **PROSEDUR PEMERIKSAAN KADAR MMP-8**

### 1. Pengantar

ab100609 Human MMP8 ELISA(Enzyme Linked Immunosorbent-Assay) kit adalah in vitro enzyme-linked immunosorbent assay untuk pengukuran kuantitatif MMP8 manusia dalam serum, plasma (Kumpulkan plasma menggunakan heparin sebagai antikoagulan. EDTA dan Sitrat tidak dianjurkan) dan supernatan kultur sel. Optimisation mungkin diperlukan dengan sampel urin.

Uji ini menggunakan antibodi spesifik yang dilapisi human MMP8 pada 96-sumur. Standar dan sampel dipipet ke dalam sumur dan MMP8 yang ada dalam sampel terikat pada sumur oleh immobilized antibody. Sumur dicuci dan antibodi biotinylated anti human MMP8 ditambahkan. Setelah dicuci dan dibuang antibodi yang tidak terikat biotinylated, HRP-conjugated streptavidin dipipet ke dalam sumur kemudian cuci lagi. Larutan substrat TMB ditambahkan dan terjadi perubahan warna sesuai dengan ikatan MMP8. Stop solution merubah warna dari biru menjadi kuning dan diukur pada 450 nm.

### 2. Ringkasan

Siapkan semua reagen, sampel dan standar seperti yang diinstruksikan. Tambahkan standar 100µl atau sampel untuk setiap sumur. Inkubasi selama 2,5 jam di suhu kamar atau lebih malam di 4 ° C. Tambahkan 100µl siap antibodi biotin untuk setiap sumur. Inkubasi 1 jam di suhu kamar. Tambahkan 100µl disiapkan solusi Streptavidin. Inkubasi 45 menit pada suhu kamar. Tambahkan 100µl TMB Satu - Langkah Substrat Reagen untuk setiap sumur. inkubasi 30 menit pada suhu kamar. Tambahkan 50µl Stop Solution untuk setiap sumur. Baca pada 450nm segera.

### 3. Isi kit

- lempeng MMP8 ( Butir A ) : 96 sumur ( 12 strip x 8 sumur ) dilapisi dengan MMP8 anti - manusia.
- Cuci Buffer Konsentrat ( 20x ) ( Butir B ) : 25 ml 20x• larutan pekat.
- Standar ( Barang C ) : 2 botol rekombinan MMP8 manusia.

- Assay Pengencer ( Butir E ) : 15 ml buffer 5x terkonsentrasi . untuk Standar / Sampel ( serum / plasma sampel / kultur selmenengah / urine ) pengencer.
- Deteksi Antibodi MMP8 ( Butir F ) : 2 botol terbiotinilasi anti-manusia MMP8 (masing-masing botol sudah cukup untuk uji setengah lempeng)
- HRP - Streptavidin konsentrat ( Butir G ) : 200 ml 600x terkonsentrasi streptavidin HRP - terkonjugasi.
- TMB Satu - Langkah Substrat Reagen ( Barang H ) : 12 ml 3,3', 5,5' - tetramethylbenzidine ( TMB ) dalam larutan buffer.
- Stop Solution ( Butir I ) : 8 ml 0,2 M asam sulfat.

#### 4. Bahan Tambahan

- Diperlukan 1 lempeng pembaca mampu mengukur absorbansi pada 450nm .
- Presisi pipet untuk memberikan 2 ml untuk 1 volume ml .
- Adjustable 1-25 ml pipet untuk persiapan reagen .
- 100 ml dan 1 liter silinder lurus .
- kertas penyerap.
- sulingan atau deionisasi air.
- Log- log kertas grafik atau komputer dan perangkat lunak untuk ELISA Data analisis.
- 8 Tabung untuk mempersiapkan standar atau sampel pengenceran.

#### 5. Persiapan Reagen

- a. Bawalah semua reagen dan sampel untuk suhu kamar ( 18 - 25 ° C ) sebelum digunakan.
- b. Pengenceran sampel : Jika sampel Anda perlu diencerkan , Assay Pengencer ( Barang E ) digunakan untuk pengenceran serum / plasma / kultur supernatan / urin .  
\* Harap diperhatikan bahwa kadar protein target dapat bervariasi antara spesimen yang berbeda . Faktor pengenceran optimal untuk setiap sampel harus ditentukan oleh penyidik .
- c. Assay Pengencer ( Barang E ) harus diencerkan 5 kali lipat dengan deionisasi atau air suling sebelum digunakan .
- d. Persiapan standar : Secara singkat spin botol Item C dan kemudian tambahkan 400 ml 1x Assay Pengencer ( Barang E ) menjadi Barang C vial untuk mempersiapkannya / ml standar 50 . Larutkan bubuk secara menyeluruh oleh lembut campuran .

Tambahkan 80 ml standar MMP8 dari botol item C, menjadi tabung dengan 586,7 ml 1x Assay Pengencer Buffer (untuk serum / plasma sampel / media kultur sel / urine ) untuk mempersiapkan 6000 pg / ml larutan standar saham . Pipet 400µl 1x Assay Pengencer ke masing-masing tabung . Gunakan larutan standar saham untuk menghasilkan serangkaian pengenceran (ditampilkan di bawah ) . Campur setiap tabung secara menyeluruh sebelum berikutnya mentransfer. Lembut vortex untuk mencampur. 1x Assay Pengencer berfungsi sebagaistandar nol ( 0 pg / ml ) .

- e. Jika Konsentrat Wash ( 20x ) ( Barang B ) berisi kristal terlihat, hangat untuk suhu kamar dan campuran lembut sampai larut. Mencairkan 20 ml Wash Buffer Konsentrat ke deionisasi atau suling air untuk menghasilkan 400 ml 1x Cuci Buffer .
- f. Secara singkat spin Deteksi Antibodi vial ( Butir F ) sebelum digunakan . menambahkan100 ml 1x Assay Pengencer ke botol untuk mempersiapkan deteksi suatu antibodi berkonsentrasi . Pipet atas dan ke bawah untuk campuran lembut ( yang konsentrat dapat disimpan pada suhu 4 ° C selama 5 hari ) . deteksi konsentrat antibodi harus diencerkan 80 kali lipat dengan 1x Assay Pengencer dan digunakan pada langkah 4 Bagian 7 Metode Assay .
- g. Secara singkat spin konsentrat vial HRP - Streptavidin ( Barang G ) sebelum digunakan . HRP - Streptavidin konsentrat harus diencerkan 600 kali lipat dengan 1x Assay Pengencer. Sebagai contoh: singkat spin botol ( Barang G ) dan pipet dan bawah untuk campuran lembut . Tambahkan 20 ml HRP - Streptavidin konsentrat ke dalam tabung dengan 12 ml 1x Assay Pengencer untuk mempersiapkan 600 kali lipat diencerkan HRP - Streptavidin solusi ( tidak menyimpan larutan diencerkan untuk digunakan hari berikutnya ) .

## 6. Metode uji

- a. Bawalah semua reagen dan sampel untuk suhu kamar ( 18 - 25 ° C ) sebelum digunakan. Dianjurkan agar semua standar dan sampel dijalankan setidaknya dalam rangkap dua.
- b. Tambahkan 100 ml setiap standar (lihat Persiapan Reagen langkah4 ) dan sampel ke sumur yang sesuai . Tutup dengan baik dan inkubasi selama 2,5 jam pada suhu kamar atau lebih malam di 4 ° C dengan menjinakkannya getaran.
- c. Buang solusi dan mencuci 4 kali dengan 1x Cuci Solution. Wash dengan mengisi masing-masing dengan baik dengan Wash Buffer ( 300 ml ) dengan menggunakan

multi-channel pipet atau autowasher . Penghapusan lengkap cair pada setiap langkah sangat penting untuk kinerja yang baik. Setelah terakhir menwash , menghilangkan Buffer Wash tersisa dengan aspirasi atau decanting . Balikkan piring dan menghapuskan melawan kertas yang bersih handuk.

- d. Tambahkan 100 ml 1x siap antibodi biotinylated (lihat Persiapan Reagen langkah 6 ) masing-masing dengan baik. Inkubasi selama 1 jam pada ruang suhu dengan gemetar lembut.
- e. Buang solusinya. Ulangi mencuci seperti pada langkah 3.
- f. Tambahkan 100 ml disiapkan solusi Streptavidin (lihat Persiapan Reagen langkah 7 ) masing-masing dengan baik. Inkubasi selama 45 menit di kamar suhu dengan gemetar lembut.
- g. Buang solusinya. Ulangi mencuci seperti pada langkah 3.
- h. Tambahkan 100 ml TMB Satu - Langkah Substrat Reagen ( Barang H ) untuk setiap sumur . Inkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dalam gelap dengan gemetar lembut
- i. Tambahkan 50 ml Stop Solution ( Butir I) masing-masing dengan baik. Baca pada 450 nm segera.