

KARYA TULIS AKHIR

**EFEK PEMBERIAN *CAFFEIC ACID PHENETHYL*
ESTER TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN NF-KB
PADA PERGERAKAN GIGI ORTODONTI
TIKUS WISTAR JANTAN
(*PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS*)**



Oleh:
KIRANA SALIKHA
021918066312

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI
SPESIALIS ORTODONTI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2022

LEMBAR PENGESAHAN

**EFEK PEMBERIAN *CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER*
TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN NF-K β PADA
PERGERAKAN GIGI ORTODONTI
TIKUS WISTAR JANTAN
(PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS)**

KARYA TULIS AKHIR

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk
Menyelesaikan Pendidikan Program Spesialis
Ortodonti di Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Airlangga
Surabaya**

Oleh:

**KIRANA SALIKHA
021918066312**

Menyetujui

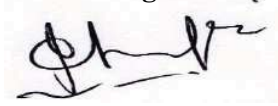
Pembimbing Ketua


**Prof. Dr. Ida Bagus Narmada, drg.,
Sp.Ort (K)
NIP. 195601071981031003**

Pembimbing Serta


**Alida, drg., M.Kes., Sp.Ort (K)
NIP. 198011022009122003**

Ketua Program Studi


**Ervina R. Winoto, drg., Sp.Ort(K), MKes
NIP. 19740721200604200**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ORTODONTI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

PENETAPAN PANITIA

PENGUJI KARYA TULIS AKHIR

Karya Tulis Akhir ini telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 1 Agustus 2022

PANITIA PENGUJI KARYA TULIS AKHIR

Ketua : 1. Prof. Dr. I Gusti Aju Wahyu Ardani., drg.,SpOrt(K)

Sekretaris : 2. Prof. Dr. Ida Bagus Narmada, drg.,SpOrt(K)

Anggota : 3. Alida, drg., Mkes.,SpOrt(K)

4. Prof. Thalca Hamid., drg., MHPed.,PhD., SpOrt(K)

5. Dr. Ari Triwardhani, drg.,MSc.,SpOrt(K)

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Kirana Salikha

NIM : 021918066312

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ortodonti

Fakultas : Kedokteran Gigi

Universitas : Airlangga

Jenjang : Spesialis (Sp)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penelitian tugas akhir saya yang berjudul:

**EFEK PEMBERIAN *CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER*
TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN NF-K β PADA
PERGERAKAN GIGI ORTODONTI
TIKUS WISTAR JANTAN
(PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS)**

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Apabila suatu saat saya terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Surabaya, 16 November 2022

Yang membuat surat pernyataan



Kirana Salikha

NIM 021918066312

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala limpahan rahmat, karunia, kasih sayang dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan tugas karya tulis akhir yang berjudul “Efek Pemberian *Caffeic Acid Phenethyl Ester* Terhadap Ekspresi TNF- α dan NF- κ B Pada Pergerakan Gigi Ortodonti Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*)”. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk dapat mengikuti dan menyelesaikan pendidikan ini.
2. Ervina R.Winoto, drg., Sp.Ort(K), Mkes, selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ortodonti Universitas Airlangga yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan, pengarahan, bimbingan serta motivasi selama penulis menempuh masa studi di Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ortodonti Universitas Airlangga.
3. Prof. Dr. Ida Bagus Narmada, drg., Sp. Ort (K), selaku guru besar bidang Ortodonti dan pembimbing utama dalam penulisan karya tulis ini yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan, pengarahan, bimbingan serta motivasi selama penulis menempuh masa studi di Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ortodonti Universitas Airlangga.
4. Alida, drg., M.Kes., Sp.Ort (K) selaku pembimbing serta dalam penulisan karya tulis akhir ini yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan, semangat, masukan dan bimbingan yang sangat berharga hingga terselesaikannya karya tulis akhir ini.

5. Seluruh staf pengajar Program Studi Ortodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, yang banyak memberikan ilmu pengetahuan yang bermanfaat, pengalaman klinik dan pengarahan yang sangat berhargaselama penulis mengikuti pendidikan.
6. Seluruh pihak yang terkait di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya Malang, dan Research Center Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga atas bantuan dan kerjasamanya dalam proses pelaksanaan penelitian hingga karya tulis ini dapat terselesaikan dengan baik.
7. Suami dan anak penulis, Ardhiyan dan Arka, atas kasih sayang, dukungan, dan doa selama penulis melaksanakan pendidikan dokter gigi spesialis.
8. Kedua orangtua penulis, Imam Bachroni dan Indrastuti, atas kasih sayang, dukungan, dan doa selama penulis melaksanakan pendidikan dokter gigi spesialis.
9. Seluruh keluarga besar penulis, atas kasih sayang, dukungan, dan doa selama penulis melaksanakan pendidikan dokter gigi spesialis.
10. Teman-teman sejawat PPDGS Ortodonsia, terutama angkatan 2019, atas dukungan, masukan, dan kerjasama yang baik selama penulis menempuh pendidikan.
11. Berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu penulis selama menempuh pendidikan dan sampai selesainya penulisan karya tulis akhir ini.

Surabaya, 18 Juli 2022

Penulis

ABSTRACT

Background: Orthodontic tooth movement (OTM) changes the periodontal tissue and increases the incidence of root resorption (OIRR). Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE), an antioxidant and anti-inflammatory chemical generated from honey propolis, might be useful in controlling inflammation during OTM and so reducing the risk of OIRR. Based on this background, we would like to evaluate if CAPE supplementation has an anti-inflammatory impact on tumor necrosis factor- α (TNF- α) and nuclear factor κ B (NF- κ B) during experimental OTM in male Wistar rats. **Methods:** 48 healthy male Wistar rats were divided into positive control group (OTM application) and experimental group (OTM application and CAPE administration). Each groups were observed for 3, 7, 14 days. A nickel-titanium closed coil spring that was 8.0 mm long and 10 g/mm² thick was inserted between the upper left first molar and upper central incisor in order to move the molar mesially. A 20 mg/kg body weight dose of CAPE was taken orally. Using immunohistochemistry, the expression of TNF- α and NF- κ B was examined on the compression side of the OTM. Both the Tukey's honest significant difference test and the one-way analysis of variance test were applied ($p < 0.05$). **Results:** TNF- α and NF- κ B expression in the compression side differed considerably across groups ($p < 0.05$). Daily administration of CAPE significantly downregulate TNF- α and NF- κ B expression in the compression side. **Conclusions:** Administration of CAPE throughout OTM can successfully reduce the number of TNF- α and NF- κ B expression in the compression side

Keywords: Caffeic acid phenethyl ester, experimental tooth movement, tumor necrosis factor- α , nuclear factor- κ B, medicine.

ABSTRAK

Latar belakang: Pergerakan Gigi Ortodonti (PGO) mengubah jaringan periodontal dan meningkatkan insidensi resorpsi akar. Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE), bahan kimia antioksidan dan anti-inflamasi yang dihasilkan dari propolis madu, mungkin berguna dalam mengendalikan peradangan selama PGO dan mengurangi risiko resorpsi akar. Berdasarkan latar belakang ini, kami ingin mengevaluasi apakah suplementasi CAPE memiliki dampak anti-inflamasi pada *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) dan *nuclear factor κ B* (NF- κ B) selama percobaan PGO pada tikus Wistar jantan. **Metode:** 48 ekor tikus Wistar jantan sehat dibagi menjadi kelompok kontrol positif (perlakuan PGO) dan kelompok eksperimen (perlakuan PGO dan pemberian CAPE). Masing-masing kelompok diamati selama 3, 7, 14 hari. *Closed coil spring* nikel-titanium dengan panjang 8,0 mm dan tebal 10 g/mm² disisipkan di antara gigi molar pertama kiri atas dan gigi seri tengah atas untuk menggerakkan gigi molar ke arah mesial. Dosis CAPE 20 mg/kg berat badan diberikan secara oral. Menggunakan metode imunohistokimia, ekspresi TNF- α dan NF- κ B diperiksa pada sisi tekanan PGO. Analisis statistik menggunakan *tukey's honest significant difference test* dan *one-way analysis of variance test* ($p < 0,05$). **Hasil:** Ekspresi TNF- α dan NF- κ B pada sisi tekanan antar kelompok berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Pemberian CAPE harian menurunkan regulasi ekspresi TNF- α dan NF- κ B secara signifikan di sisi tekanan. **Kesimpulan:** Administrasi CAPE melalui PGO berhasil mengurangi jumlah ekspresi TNF- α dan NF- κ B di sisi tekanan.

Kata kunci: *Caffeic acid phenethyl ester, experimental tooth movement, tumor necrosis factor- α , nuclear factor- κ B, medicine.*

SUMMARY

Orthodontic force alters the local environment and blood flow, which has an impact on the homeostasis of the periodontal ligament region. In the compression and tension parts of the periodontal ligament (PDL), chemical mediators activate cellular activity differentially, leading to bone resorption on the compression side and bone formation on the tension side. Compression force is linked to a variety of other biological impacts as well (hyalinization) (Hisham et al., 2019; Narmada et al., 2019).

Orthodontically induced inflammatory root resorption, or OIRR, is a kind of root resorption that occurs more frequently and changes the periodontal tissue. OIRR, an iatrogenic condition that develops after orthodontic therapy, known that it is brought on by intricate inflammatory processes involving a number of factors including mechanical pressures, tooth root shape, alveolar bone, PDL, cementum, and known biological messengers (Krishnan and Davidovitch, 2021; Kojima et al., 2013).

Tumor necrosis factor- α (TNF- α) is one among the chemical mediators and is referred to be the "master regulator" of cytokines. It participates in innate immunity and inflammatory responses. TNF- α levels were found to be higher during OTM in gingival crevicular fluid (GCF) (Kojima et al., 2013).

In almost all cell types, exposure of cells to TNF- α induces NF κ B activation. This will stimulate the development of osteoclasts, which might lead to bone resorption during orthodontic tooth movement (OTM) (Nareswari et al., 2019). Therefore, in order to get the best treatment results, shorten OTM, and avoid OTM's negative consequences, efforts should be made to enhance alveolar bone remodeling during OTM (Pramusita et al., 2020; Inayati et al., 2020).

Propolis is a natural remedy that has been used for hundreds of years and is now available as dietary supplements (Vagis, 2017). One of the most bioactive substances detected in bee propolis is caffeic acid phenethyl ester (CAPE). CAPE has anti-inflammatory and antioxidant, that make it a viable option to root canal irrigation solutions (Tosun and Karataslioglu, 2010). CAPE treatment during the animal model's tooth extraction resulted with faster repair of alveolar bone abnormalities (Günay et al., 2014). In endotoxin-induced periodontitis, CAPE

also improves bone repair. Previous research has also discovered that CAPE suppresses osteoclast activity in orthodontic tooth movement (Kızıldağ et al., 2019). In orthodontics, CAPE may also increase the proportion of osteoblasts on the tension side while reducing the proportion of osteoclasts on the compression side (Narmada et al., 2021). Additionally, the goal of this study is to examine how CAPE supply affects TNF- α and NF- κ B during experimental OTM in male Wistar rats.

This study used an analytical experimental design with a randomized post-test only control group. Healthy male Wistar rats ($n = 48$), weighing 200–250g and aged 16–20 weeks, were divided into two groups of 24 rats each, group K (positive control, OTM application) and group KP (OTM application and CAPE dose of 0,5 mg). Each group was then divided into three subgroups based on the day of observation: day 3, day 7, and day 14. Phenethyl caffeate (C₁₇H₁₆O₄) (CAPE) was dissolved in 10ml distilled water at a dose of 20 mg/kg. The solution was given once daily by oral gavage for 1, 7, or 14 days, depending on the experimental group (Park et al., 2004).

The experimental animals were given ketamine (100 mg/kg bw) and xylazine (5 mg/kg bw) to make them more comfortable during the installation of the OTM apparatus. An 8.0 mm long nickel titanium closed coil spring was placed between the upper left first molar and upper central incisor to move the molar mesially at a force of, 10 g/mm². A 0.07 stainless steel ligature wire was used to hold the maxillary central incisive and first molars in place.

The premaxilla tissue was removed and immersed in 10% formalin for 4 days as part of the fixation procedure. The premaxilla was immersed in 10% EDTA for two months after the fixation process. After the sample had been prepared for tissue, it was dried in a graduated sequence of ethanol before being embedded in paraffin. On a 5 m rotary microtome, the sections were cut. Before being dried at 60°C for 16 days, paraffin ribbons were flattened in a 40°C water bath (Savi et al., 2017).

TNF- α (1:200 dilution) antibody was employed in this study to detect TNF- α expression, whereas NF- κ B (1:200 dilution) antibody was used to detect NF- κ B expression. In addition, 3,3'-diaminobenzidine stain kit was used for

immunohistochemical staining, and hematoxylin-eosin (HE) was used for counterstaining. The number of TNF- α and NF- κ B expressions in the alveolar bone were detected and estimated on the compression side (Narmada et al., 2021). Using a microscope at 400 $\times$ magnification, two observers manually observed and computed in five perspective fields of vision..

From day 4 (K1) through day 14, the control group's TNF- α expression has been demonstrated to increase (K3). The treatment groups' TNF- α expression is at its greatest on day 4 (KP1), then declines on days 7 (KP2) and 14 (KP3) (KP3). The findings of Krishnan and Davidovitch (2021) showed that orthodontic tooth movement in animals resulted in a significant increase in TNF-staining intensity in cells of the PDL and alveolar bone. According to Kook et al. (2011), compression forces in vitro increase the expression of the genes for TNF- α and osteoclastogenesis in human periodontal ligament (hPDL) cells. As a result of OTM tension, the periodontal ligament (PDL) experiences oxidative stress, which leads to the migration of inflammatory cytokines including TNF- α . Almost all cell types experience NF- κ B activation stimulation from TNF- α . When NF- κ B moves from the cytoplasm to the nucleus, numerous genes involved in inflammation start to express themselves (Armutcu et al., 2015).

From day 4 (K1) through day 14 (K3) of this study, the control group's NF- κ B expression increased, with day 14 having the greatest NF- κ B expression (K3). In contrast, NF- κ B expression decreased in the treatment groups from day 4 (KP1) to day 14 (KP3), with day 4 (KP1) being the greatest and day 14 the lowest (KP3). This is consistent with Zuo et al. (2007) finding, which showed that OTM stimuli raise NF- κ B levels. A prior study that showed CAPE therapy can lower NF- κ B expression support this as well (Natarajan et al., 1996)

The activation of NF- κ B caused by a variety of inflammatory stimuli, such as TNF- α , phorbol ester ceramide, okadaic acid, and H₂O₂, was completely inhibited by CAPE. The anti-inflammatory properties of CAPE are obtained during inflammation via the lipxygenase route of arachidonic acid metabolism, and they help to lessen NF- κ B activation brought on by reduced ROS (Armutcu et al., 2015). According to Toyoda et al. (2009), CAPE treatment inhibited IB breakdown and p65 phosphorylation, which in turn decreased Helicobacter

pylori-induced NF- κ B activation. Local CAPE treatment was found to increase leukocyte apoptosis and significantly reduce the number of neutrophils monocytes in the exudate from the inflamed site (Al-Hariri et al., 2021).

One goal of OTM is to efficiently reposition and align the teeth with the least amount of damage to the teeth and surrounding tissue (Von Böhl et al., 2009). Alveolar bone remodelling balance must be carried out to attain optimal OTM. Anti-inflammatory and antioxidant properties of CAPE may promote bone formation and inhibit bone resorption (Narmada et al., 2021; Murtaza et al., 2014). Our research indicates that CAPE treatment can slow the OTM rate by suppressing TNF- α and NF- κ B expression. Adjuvant herbal-based therapy that includes CAPE, which is present in propolis, may be a possibility for avoiding recurrence after orthodontic treatment or OIRR brought on by excessive OTM force.

RINGKASAN

Kekuatan ortodonti dapat mengubah jaringan sekitar dan aliran darah, yang berdampak pada perubahan homeostasis daerah ligamen periodontal. Di daerah tekanan dan tarikan ligamen periodontal, mediator kimiawi mengaktifkan aktivitas seluler secara berbeda, yang memicu resorpsi tulang di sisi tekanan dan pembentukan tulang di sisi tarikan. Kekuatan tekanan juga terkait dengan berbagai dampak biologis lainnya seperti hialinisasi (Hisham *et al.*, 2019; Narmada *et al.*, 2019).

Orthodontically induced inflammatory root resorption (OIRR) adalah jenis resorpsi akar sering terjadi. OIRR, suatu kondisi iatrogenik yang timbul setelah terapi ortodonti, diketahui disebabkan oleh proses inflamasi yang rumit yang melibatkan sejumlah faktor termasuk tekanan mekanis, bentuk akar gigi, tulang alveolar, PDL, dan sementum (Krishnan dan Davidovitch, 2021; Kojima *et al.*, 2013).

Tumor necrosis factor- α (TNF- α) adalah salah satu mediator kimiawi yang berpartisipasi dalam imunitas bawaan dan respons inflamasi. Kadar TNF- α ditemukan lebih tinggi selama pergerakan gigi ortodonti (PGO) dalam cairan sulkus gingiva (Kojima *et al.*, 2013). Paparan sel terhadap TNF- α mengaktifasi NF κ B. Ini akan merangsang osteoklas, yang dapat menyebabkan resorpsi tulang selama pergerakan gigi ortodontik (Nareswari *et al.*, 2019). Oleh karena itu, untuk mendapatkan hasil pengobatan terbaik, mempersingkat PGO, dan menghindari konsekuensi negatif PGO, harus dilakukan upaya untuk meningkatkan remodeling tulang alveolar selama PGO (Pramusita *et al.*, 2020; Inayati *et al.*, 2020).

Propolis adalah obat alami yang telah digunakan selama ratusan tahun dan sekarang tersedia sebagai suplemen makanan (Vagis, 2017). Salah satu zat paling bioaktif yang terdeteksi dalam propolis lebah adalah caffeic acid phenethyl ester (CAPE). CAPE memiliki anti-inflamasi dan antioksidan, yang menjadikannya pilihan untuk cairan irigasi saluran akar (Tosun dan Karataslioglu, 2010). Pemberian CAPE selama pencabutan gigi pada hewan coba menghasilkan penyembuhan tulang alveolar yang lebih cepat (Günay *et al.*, 2014). Pada periodontitis yang diinduksi endotoksin, CAPE juga meningkatkan perbaikan

tulang. Penelitian sebelumnya juga menemukan bahwa CAPE menekan aktivitas osteoklas dalam pergerakan gigi ortodontik (Kızıldağ *et al.*, 2019). Dalam bidang ortodonti, CAPE juga dapat meningkatkan proporsi osteoblas pada sisi tarik sekaligus mengurangi proporsi osteoklas pada sisi tekan (Narmada *et al.*, 2021). Selain itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji bagaimana asupan CAPE mempengaruhi TNF- α dan NF- κ B selama PGO pada tikus Wistar jantan.

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen analitik dengan *randomized post-test only control group*. Tikus Wistar jantan sehat ($n = 48$), dengan berat 200–250g dan berumur 16–20 minggu, dibagi menjadi dua kelompok masing-masing 24 ekor, kelompok K (kontrol positif, aplikasi PGO) dan kelompok KP (aplikasi PGO dan dosis CAPE 0,5mg). Masing-masing kelompok kemudian dibagi menjadi tiga subkelompok berdasarkan hari pengamatan yaitu hari ke-3, hari ke-7, dan hari ke-14. *Phenethyl caffeate* (C₁₇H₁₆O₄) (CAPE) dilarutkan dalam 10 ml akuades dengan dosis 20 mg/kg. Larutan CAPE diberikan sekali sehari dengan metode sondasi selama 1, 7, atau 14 hari, tergantung pada kelompok eksperimen (Park *et al.*, 2004).

Hewan coba diberi *ketamine* (100 mg/kg bb) dan *xylazine* (5 mg/kg bb) agar lebih nyaman selama pemasangan alat PGO. Pegas *closed coil* titanium nikel sepanjang 8,0 mm ditempatkan di antara gigi molar pertama kiri atas dan gigi seri tengah atas untuk menggerakkan gigi molar ke arah mesial dengan gaya 10 g/mm². Kawat pengikat stainless steel 0,07 digunakan untuk menahan insisivus sentral rahang atas dan gigi molar pertama pada tempatnya.

Jaringan premaksila diambil dan direndam dalam formalin 10% selama 4 hari untuk difiksasi. Premaxilla direndam dalam EDTA 10% selama dua bulan setelah proses fiksasi. Setelah sampel disiapkan untuk jaringan, sampel tersebut dikeringkan dalam etanol serial bertahap sebelum dimasukkan dalam parafin. Sebelum dikeringkan pada suhu 60°C selama 16 hari, parafin direndam dalam penangas air bersuhu 40°C (Savi *et al.*, 2017).

Antibodi TNF- α (pengenceran 1:200) digunakan dalam penelitian ini untuk mendeteksi ekspresi TNF- α , sedangkan antibodi NF- κ B (pengenceran 1:200)

digunakan untuk mendeteksi ekspresi NF- κ B. Selain itu, kit pewarnaan 3, 3'-*diaminobenzidine* digunakan untuk pewarnaan imunohistokimia. Menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x, dua pengamat mengamati dan menghitung secara manual dalam lima bidang pandang perspektif.

Dari hari ke 4 (K1) sampai hari ke 14, TNF- α di kelompok kontrol tampak meningkat (K3). Ekspresi TNF- α di kelompok perlakuan tampak paling besar pada hari ke-4 (KP1), kemudian menurun pada hari ke-7 (KP2) dan ke-14 (KP3). Temuan Krishnan dan Davidovitch (2021) menunjukkan bahwa pergerakan gigi ortodontik pada hewan menghasilkan peningkatan intensitas pewarnaan TNF yang signifikan pada sel PDL dan tulang alveolar. Menurut Kook dkk. (2011), gaya kompresi *in vitro* meningkatkan ekspresi gen untuk TNF- α dan osteoklastogenesis dalam sel ligamen periodontal manusia (hPDL). Akibat ketegangan PGO, ligamen periodontal (PDL) mengalami stres oksidatif, yang menyebabkan migrasi sitokin inflamasi termasuk TNF- α . Hampir semua tipe sel mengalami stimulasi aktivasi NF- κ B dari TNF- α . Ketika NF- κ B berpindah dari sitoplasma ke nukleus, banyak gen yang terlibat dalam peradangan mulai mengekspresikan dirinya (Armutcu *et al.*, 2015).

Dari hari ke-4 (K1) sampai hari ke-14 (K3) penelitian ini, ekspresi NF- κ B kelompok kontrol meningkat, dengan hari ke-14 memiliki ekspresi NF- κ B (K3) terbesar. Sebaliknya, ekspresi NF- κ B menurun pada kelompok perlakuan dari hari ke-4 (KP1) sampai hari ke-14 (KP3), dengan hari ke-4 (KP1) paling besar dan hari ke-14 paling rendah (KP3). Hal ini sesuai dengan Zuo *et al.* (2007) temuan, yang menunjukkan bahwa rangsangan PGO meningkatkan kadar NF- κ B. Sebuah studi sebelumnya yang menunjukkan terapi CAPE dapat menurunkan ekspresi NF- κ B juga mendukung hal ini (Natarajan *et al.*, 1996)

Aktivasi NF- κ B yang disebabkan oleh berbagai rangsangan peradangan, seperti TNF- α , *phorbol ester ceramide*, *okadaic acid*, dan H₂O₂, sepenuhnya dihambat oleh CAPE. Sifat anti-inflamasi CAPE diperoleh selama peradangan melalui jalur lipoksigenase dari metabolisme asam arakidonat, dan membantu mengurangi aktivasi NF- κ B yang disebabkan oleh penurunan ROS (Armutcu *et al.*, 2015). Menurut Toyoda *et al.* (2009), pengobatan CAPE menghambat

kerusakan IB dan fosforilasi p65, yang pada gilirannya menurunkan aktivasi NF- κ B yang diinduksi *Helicobacter pylori*. Pengobatan CAPE lokal ditemukan meningkatkan apoptosis leukosit dan secara signifikan mengurangi jumlah neutrofil dan monosit dalam eksudat dari daerah yang mengalami peradangan (Al-Hariri *et al.*, 2021).

Salah satu tujuan PGO adalah untuk memposisikan ulang dan menyelaraskan gigi secara efisien dengan kerusakan paling sedikit pada gigi dan jaringan di sekitarnya (Von Böhl *et al.*, 2009). Keseimbangan remodeling tulang alveolar harus dilakukan untuk mencapai PGO yang optimal. Sifat anti-inflamasi dan antioksidan CAPE dapat meningkatkan pembentukan tulang dan menghambat resorpsi tulang (Narmada *et al.*, 2021; Murtaza *et al.*, 2014). Penelitian kami menunjukkan bahwa pengobatan CAPE dapat memperlambat laju PGO dengan menekan ekspresi TNF- α dan NF- κ B. Terapi berbasis herbal adjuvan yang mencakup CAPE, yang ada dalam propolis, mungkin merupakan kemungkinan untuk menghindari relaps setelah perawatan ortodonti atau OIRR yang disebabkan oleh kekuatan PGO yang berlebihan.

DAFTAR ISI

COVER.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI KARYA TULIS AKHR.....	iii
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRACT.....	vii
ABSTRAK.....	viii
SUMMARY.....	ix
RINGKASAN.....	xi
DAFTAR ISI.....	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xxi
DAFTAR TABEL.....	xxiixii
DAFTAR SINGKATAN.....	xxiii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat.....	3

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Pergerakan Gigi Ortodonti (PGO)	4
2.1.1 Teori Pergerakan Gigi	6
2.2 Nuclear Factor- κ B (NF- κ B)	8
2.2.1 Jalur Sinyal NF κ -B	9
2.3 Tumor Necrosis Factor (TNF)- α	10
2.4 Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)	11
2.4.1 Struktur dan Sifat	11
2.4.2 CAPE dan Jaringan Penyangga Gigi	12
2.5 Imunohistokimia	12
2.6 <i>Orthodontically Induced Inflammatory Root Resorption</i> (OIRR)	14
2.7 Tikus Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>)	15
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	17
3.1 Kerangka Konseptual	17
3.2 Keterangan Kerangka Konseptual	18
3.3 Hipotesis Penelitian	19
BAB 4 METODE PENELITIAN	20
4.1 Jenis Penelitian	20
4.2 Rancangan Penelitian	20
4.3 Sampel	21
4.3.1 Unit Sampel	21

4.3.2	Besar Sampel	22
4.4	Variabel Penelitian	22
4.4.1	Variabel Bebas	22
4.4.2	Variabel Terikat	22
4.4.3	Variabel Terkendali	23
4.5	Definisi Operasional Variabel	23
4.6	Tempat dan Waktu Penelitian	24
4.6.1	Tempat Penelitian	24
4.6.2	Waktu Penelitian	24
4.7	Alat dan Bahan Penelitian	24
4.7.1	Alat	24
4.7.2	Bahan	24
4.8	Cara Kerja	25
4.8.1	Persiapan Hewan Coba	25
4.8.2	Pemasangan <i>Closed Coil Spring</i> pada Tikus Wistar	25
4.8.3	Ekstraksi Jaringan	26
4.8.4	Pembuatan Sediaan Histopatologis	26
4.8.5	Pengukuran TNF- α dan NF- κ B dengan Imunohistokimia	28
4.9	Analisis Data Penelitian	28
4.10	Alur Penelitian	29
BAB 5 HASIL PENELITIAN		30

5.1	Hasil Perhitungan Ekspresi TNF- α pada Pergerakan Gigi Ortodonti	30
5.2	Hasil Perhitungan Ekspresi NF- κ B pada Pergerakan Gigi Ortodonti	34
BAB 6 PEMBAHASAN		37
BAB 7 PENUTUP		39
7.1	Kesimpulan	39
7.2	Saran	39
DAFTAR PUSTAKA		40
LAMPIRAN		45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Fase Pergerakan Gigi Ortodonti	6
Gambar 2.2 Jalur Sinyal NF-Kb	10
Gambar 2.3 Struktur Kimia CAPE	11
Gambar 5.1 Diagram rerata ekspresi TNF- α pada pergerakan gigi ortodonti	31
Gambar 5.2 Gambaran imunohistokimia ekspresi TNF- α di daerah tekanan gigi tikus Wistar	33
Gambar 5.3 Diagram rerata ekspresi NF- κ B pada pergerakan gigi ortodonti	34
Gambar 5.4 Gambaran imunohistokimia ekspresi NF- κ B pada sel osteoblast di daerah tekanan gigi tikus Wistar	36

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil uji Kolmogorov-Smirnov dan Lavene Statistic ekspresi TNF- α	30
Tabel 5.2 Nilai rerata, simpangan baku dan uji Anova ekspresi TNF- α pada pergerakan gigi ortodonti	31
Tabel 5.3 Hasil uji Post Hoc Test LSD ekspresi TNF- α daerah tekanan	33
Tabel 5.4 Hasil uji Kolmogorov-Smirnov dan Lavene Statistic ekspresi NF- κ B	34
Tabel 5.5 Nilai rerata, simpangan baku dan uji Anova ekspresi NF- κ B pada pergerakan gigi ortodonti	36
Tabel 5.6 Hasil uji Post Hoc Test LSD ekspresi NF- κ B daerah tekanan	36

DAFTAR SINGKATAN

CAPE	: <i>Caffeic Acid Phenethyl Ester</i>
GCF	: <i>Gingival Crevicular Fluid</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa B</i>
OIRR	: <i>Orthodontically Induced Inflammatory Root Resorption</i>
PGO	: Pergerakan Gigi Ortodonti
RANK	: <i>Receptor Activator of Nuclear Factor κ B</i>
RANK-L	: <i>Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligand</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>