
POTENSI MANGIFERIN (*Mangifera indica* Linn) DALAM MEMPERCEPAT REMODELING TULANG DAN MENCEGAH RELAPS PERAWATAN ORTODONTIK PADA TIKUS

Yenita Alamsyah, Azmil Hadi, Edrizal

Departemen Ortodonti, FKG Universitas Baiturrahmah

Email : alamsyah.yenita@yahoo.com

KEYWORDS

bone remodeling,
mangiferin, osteoblasts,
osteoclasts, relapse

ABSTRACT

Introduction: Relapse is a problem that still often occurs and results in a decrease in the success of orthodontic treatment. Bone remodeling is beneficial in orthodontic treatment especially to prevent relapse of treatment results. Osteoblasts and osteoclasts have a very important role during the bone remodeling process. Mangiferin (*Mangifera indica* Linn) has good biocompatible properties on bone. Mangiferin as an immunomodulator, inhibits osteoclast formation and bone resorption by inhibiting the RANKL pathway and has anti-resorptive properties. **Aim:** The purpose of this study was to prove that mangiferin (*Mangifera indica* Linn) has the potential to help the bone remodeling process to prevent relapse after orthodontic treatment. **Methods:** Standardized mangiferin was made to produce hydrogel with a concentration of 6.25% and 12.5%. The research samples were 36 male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) aged 3-4 months with the positive control (nickel-titanium closed coil installed without mangiferin application), and treatment group (nickel-titanium closed coil installed with mangiferin application with concentrations of 6.25% and 12.5%). Installation of ni-ti closed coil spring on maxillary incisors and molars for 10 days. A constant force of 10 gr/mm² was generated using a ni-ti closed coil spring to move the maxillary first molars mesially. Spring was attached to the first molar and maxillary right incisor using a stainless wire ligature and then released. After removal, mangiferin hydrogel was applied twice a day for 14 days and decapitated on days 1, 3, 5, 7, and 14. Histological examination with hematoxylin and eosin staining to see osteoblasts and osteoclasts. **Results:** The increase in reactive osteoblasts was higher than osteoclasts indicating post-orthodontic bone remodeling. Both osteoblast and osteoclast profiles were significantly different ($p < 0.05$). **Conclusion:** Mangiferin (*Mangifera indica* Linn) has the ability to induce osteoblasts in bone formation and inhibit osteoclast differentiation to accelerate the bone remodeling process to prevent relapse after orthodontic treatment.

PENDAHULUAN

Maloklusi merupakan penyimpangan pertumbuhan dan perkembangan gigi dan struktur anatomi yang terkait dapat mengganggu kondisi psikologis seseorang. Maloklusi dapat dirawat dengan menggunakan alat ortodonti

agar didapat oklusi yang normal dan muka yang menyenangkan.^{1,2} Perawatan ortodonti bertujuan mengoreksi maloklusi dan menempatkan gigi-geligi pada posisi ideal dan seimbang dengan tulang basal. Perawatan ortodonti harus dapat memperbaiki fungsi

orofasial, yang terdiri dari sistem dentoalveolar, jaringan skeletal dan jaringan lunak termasuk juga otot-otot di sekitar mulut.³

Retainer diperlukan setelah perawatan ortodonti selesai yang berfungsi mempertahankan hasil perawatan ortodonti. Retainer ortodonti lepasan maupun cekat berfungsi mempertahankan posisi gigi yang baru sampai jaringan lunak dan tulang stabil.⁴ Menurut Proffit tahun 2013 meskipun pasien merasa perawatan telah selesai ketika alat ortodonti dilepas, gigi masih dalam posisi belum stabil sehingga tekanan dari jaringan lunak di sekitarnya secara terus menerus dapat memicu terjadinya *relaps*. Stabilitas dan relaps setelah perawatan ortodontik tidak dapat diprediksi, dengan kecenderungan relaps 33-90% setelah kurang lebih 10 tahun pasca perawatan.⁵

Remodeling tulang sangat membantu pada perawatan ortodonti, terutama untuk mencegah *relaps* hasil perawatan. Hal itu disebabkan *relaps* gigi yang digerakkan oleh kekuatan ortodonti merupakan respon fisiologis jaringan pendukung terhadap tekanan yang diterima.^{6,7} Hasil remodeling tulang yang baik mencegah resorpsi tulang yang berlebihan ditunjukkan dengan tidak terjadinya perubahan posisi gigi-gigi yang digerakkan dan mempertahankan kedudukan gigi geligi pada posisi yang baru setelah perawatan aktif selesai dan alat ortodonti dilepas. Resorpsi dan pembentukan tulang terjadi secara seimbang dan massa tulang

dipertahankan dalam level konstan pada orang dewasa sehat. Proses remodeling dilakukan terutama oleh osteoklas dan osteoblas.⁸ Osteoklas bertanggungjawab untuk resorpsi tulang dan berasal dari *stem cells* hematopoetik yang dikenal dengan monosit, sedangkan osteoblas bertanggung jawab untuk pembentukan tulang dan berasal dari sumsum tulang *stromal cells*.⁹

Relaps dipengaruhi oleh stabilitas oklusal yang belum tercapai, peningkatan tekanan yang dipengaruhi oleh serabut transeptal dan resorpsi tulang alveolar oleh osteoklas. *Relaps* dapat terjadi osteoklas masih meresorpsi tulang.¹⁰ *Relaps* terjadi dengan cepat pada saat awal alat ortodonti dilepas, tetapi setelah tiga hari baik kecepatan *relaps* maupun persentasenya mulai berangsur-angsur menurun.³ Setelah alat ortodonti dilepas, gigi mulai bergerak *relaps* ke posisi semula, disertai adanya perubahan jumlah dan distribusi osteoklas.¹¹ Jumlah osteoklas menurun secara signifikan baik pada mesial dan distal akar gigi molar pertama selama 3 hari, kemungkinan sebagai akibat apoptosis atau penurunan kepadatan pembuluh darah.¹² Jumlah osteoklas sangat menurun pada hari ke 14 dan mulai stabil pada hari ke-14 sampai ke-21 periode *relaps*. Beberapa penelitian pada gigi molar tikus yang digerakkan menunjukkan pola aktivitas *relaps* yang sama yaitu setelah digerakkan secara ortodonti selama 7 hari maka pada hari 1 terjadi *relaps* sebesar 72,2%, pada hari ke 4 sebesar 89,9%. Pada penelitian yang digerakkan selama 10

hari, terjadi relaps sebesar 62,5% pada hari pertama dan 68,9% pada hari ke 5.⁵

Obat-obatan tertentu dan faktor biologis mungkin memiliki efek dalam mencegah relaps pasca perawatan ortodonti.¹³ Di Indonesia pemanfaatan herbal dianjurkan kepada masyarakat sebagai alternatif pengganti obat paten karena Indonesia termasuk salah satu negara yang memiliki banyak tanaman obat yang potensial. Diperkirakan lebih dari 70% tanaman obat yang tumbuh di Asia ada di Indonesia. Hal ini berarti jumlahnya sangat besar. Indonesia sebagai negara agraris dan beriklim tropis memiliki berbagai jenis kekayaan alam termasuk di dalamnya kekayaan alam berupa tumbuh-tumbuhan yang memiliki khasiat dalam pengobatan berbagai macam penyakit dan pemeliharaan kesehatan.¹⁴

Kulit mangga (*Mangifera indica* Linn) mengandung mangiferin yang memiliki efek immunomodulasi. Mangiferin dapat menghambat pembentukan osteoklas dan resorpsi tulang melalui supresi aktivasi RANKL (*Receptor Activator of Nuclear factor Kappa-B Ligand*) yang menginduksi NF-kB (*Nuclear Factor kappaB*) dan ERK (*Extracellular signal-Regulated Kinase*). NF-kB telah terbukti memainkan peran sangat penting dalam osteoklastogenesis. Supresi aktivasi NF-kB akan menghambat pembentukan osteoklas. Mangiferin melemahkan pembentukan dan fungsi osteoklas melalui supresi jalur NF-kB dan ERK.¹⁵

Untuk mencegah terjadinya *relaps* karena kepadatan tulang yang belum optimal pasca perawatan ortodonti pada tahap *finishing* perawatan maka dibutuhkan suatu bahan yang dapat menstimulus percepatan remodeling tulang. Salah satu bahan alam yang memiliki potensi adalah mangiferin dari mangga (*Mangifera indica* Linn). Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan mangiferin (*Mangifera indica* Linn) berpotensi membantu proses remodeling tulang dalam mencegah *relaps* pasca perawatan ortodonti terhadap profil osteoklas dan osteoblas.

METODE

Mangiferin yang digunakan adalah mangiferin terstandarisasi dari kulit batang mangga (*Mangifera indica* Linn). Dilakukan pembuatan hidrogel dengan menggunakan alat antara lain:

Vortex, *Centrifuge tube* 20 ml, *Timbangan*, *Magnetic stirrer*, *Pippettor*, *Tip* 1000 µL, *Filtered tips* 1000 µL, *Botol Schott*, *Vial* 5 mL, *Biohazard Safety Cabinet*, *Syringe* 3 mL dan 50 mL (*Terumo*®), *Water bath*, *pH meter*, *Inkubator CO2*, *Inkubator 37°C*, *Scanning Electrone Microscope*.

Persiapan pembuatan hidrogel dengan menggunakan bahan untuk 1 Liter dengan menggunakan mangiferin terstandarisasi 1%, HPMC 2%, Etanol 30%, Aquadest 17%, Propilen Glikol 50%. Pembuatan hidrogel dengan membuat 3 (tiga) larutan. Larutan A : Panas aquadest dalam beker glass setelah panas masukkan HPMC dan aduk sampai

kalis dan tambahkan Propilen Glikol sebanyak 25%. Larutan B : Mangiferin dilarutkan dalam Etanol dan tambahkan Propilen Glikol sebanyak 25%. Campurkan larutan A dan larutan B dan blender dibuat konsentrasi 6,25 mg/ml dan 12,5.

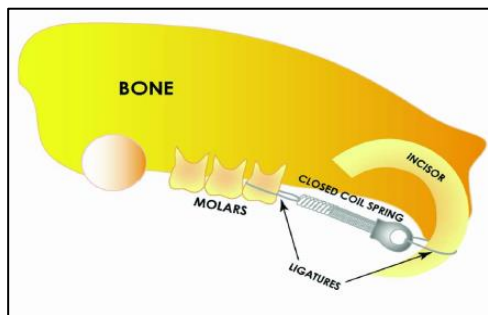
Tikus Wistar jantan umur 3-4 bulan dengan perkiraan berat 200-250 gram. Tikus Wistar diadaptasikan selama \pm 1 minggu agar terbiasa dengan lingkungan sekitar. Tikus Wistar disimpan dalam kandang *stainless-steel* dengan pendingin ruangan dan cahaya standar 12 jam siklus terang/gelap. Sebelum perlakuan masing-masing tikus ditimbang berat badan dan secara fisik diamati kesehatan tikus tersebut. Jika didapatkan ada yang sakit, maka tikus tersebut dikeluarkan dari penelitian dan diganti dengan tikus baru dengan kriteria yang sama dan diambil secara random. Makanan diberikan dengan cara diletakkan dalam wadah khusus.

Sampel pada penelitian ini 36 ekor tikus (*Ratus novergitus*). Seluruh sampel hewan coba dibagi secara acak dalam 3 kelompok: Kelompok kontrol negatif (9 sampel) adalah tikus wistar tidak diberi perlakuan apapun, setelah 10 hari kemudian tikus wistar didekapitasi untuk diambil tulang alveolar rahang atas. Kelompok kontrol positif (9 sampel) adalah tikus wistar yang dipasang *ni-ti closed coil spring* selama 10 hari untuk pergerakan gigi, kemudian setelah 10 hari *ni-ti closed coil spring* dilepas dan pada hari 1, 3, 5, 7 dan 14 setelah pasca pergerakan gigi, kemudian tikus wistar didekapitasi untuk

diambil tulang alveolar rahang atas. Kelompok perlakuan adalah tikus wistar yang dipasang *ni-ti closed coil spring* selama 10 hari untuk pergerakan gigi kemudian setelah 10 hari *ni-ti closed coil spring* dilepas dan diberi aplikasi hidrogel mangiferin 2x sehari dengan konsentrasi 6.25% (Kelompok Perlakuan 1) dengan 9 sampel dan 12.5% (Kelompok Perlakuan 2) dengan 9 sampel selama 14 hari. Kemudian tikus wistar didekapitasi untuk diambil tulang alveolar rahang atas pada hari 1, 3, 5, 7 dan 14 pasca perawatan ortodonti.

Prosedur perlakuan pemasangan *ni-ti closed coil spring* pada tikus dengan cara mempersiapkan alat dan bahan penelitian. Selama prosedur pemasangan dan aktivasi *ni-ti closed coil spring*, dilakukan injeksi anastesi intermuskuler pada tikus dengan larutan ketamine-acepromazin. Sebelum dipasang kekuatan *ni-ti closed coil spring* diukur dengan menggunakan *tension gauge* untuk menghasilkan kekuatan sebesar 10 gr/mm². Pemasangan *ni-ti closed coil spring* pada gigi insisivus dan molar rahang atas selama 10 hari. Sebuah gaya konstan sebesar 10 gr/mm² dihasilkan menggunakan *ni-ti closed coil spring* untuk memindahkan molar pertama rahang atas ke mesial. *Spring* melekat pada molar pertama dan gigi insisivus rahang atas kanan menggunakan kawat baja pengikat (*ligature wire*) *stainless*. Untuk meningkatkan retensi, bahan *glass ionomer cement* diaplikasikan pada perforasi yang dihasilkan oleh diamond bur sepanjang sudut garis

mesio-palatal dan disto-palatal dari molar pertama rahang atas dan sisi distal dari gigi insisivus untuk memastikan retensi maksimum dari *ni-ti closed coil spring*. Sisi kiri gigi molar pertama digunakan sebagai kelompok kontrol negatif. Kelompok perlakuan adalah tikus wistar dipasang *ni-ti closed coil spring* yang berkekuatan konstan sebesar 10 gr/mm^2 selama 10 hari untuk pergerakan gigi dan setelah itu *ni-ti closed coil spring* dilepas kemudian diberi aplikasi hydrogel mangiferin 2x sehari selama 14 hari dengan konsentrasi 6.25% dan 12.5% hari 1, 3, 5, 7 dan 14 pasca pergerakan gigi.¹⁷ Setelah ketiga kelompok tikus wistar didekapitasi untuk dilakukan pengamatan, selanjutnya dianestesi dengan menggunakan *ketamine* didekapitasi untuk pengambilan jaringan tulang rahang atas. Kemudian dimasukkan dalam larutan formalin *buffer* 10% dengan pH 7.0.



Gambar 1. Pemasangan *closed coil spring* pada gigi insisivus dan molar rahang atas



Gambar 2. Pemasangan *ni-ti closed coil spring* pada tikus wistar



Gambar 3. Pergerakan gigi pasca pemasangan *ni-ti closed coil spring* pada tikus wistar

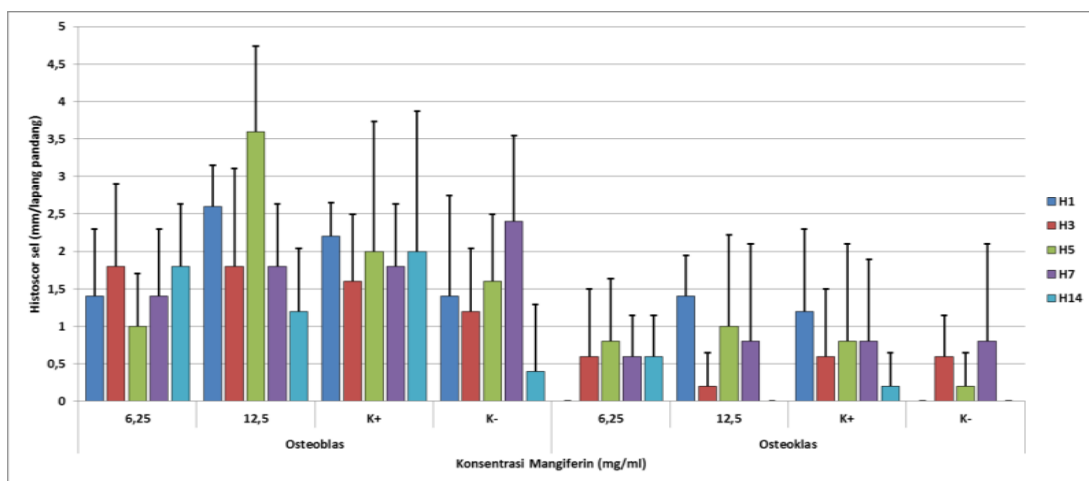
Tikus dieuthanesia dan dibedah untuk diambil tulang rahang atas, bagian kepala dan leher direndam atau difiksasi dalam larutan *neutral buffered formaline* 10%. Dibuat sediaan preparat histopatologis sesuai dengan prosedur yang dimulai dengan *trimming* organ yaitu memotong tulang dengan ukuran 1 cm x 1 cm x 1 cm, tahap selanjutnya dilakukan dekalsifikasi dan dilanjutkan dengan dehidrasi dalam larutan aseton sebanyak 2 kali masing-masing dalam waktu 1.5 jam, lalu dilakukan proses *clearing* dengan memasukkan otak ke dalam larutan *xylol* sebanyak 2 kali dalam waktu 1.5 jam. Kemudian, dilakukan proses infiltrasi parafin dengan memasukkan organ ke dalam parafin cair sebanyak 2 kali dalam waktu 1.5 jam yang dilakukan di dalam oven pemanas

dengan suhu 60 °C. Langkah terakhir adalah *embedding*/blok jaringan dengan menanam otak ke dalam blok parafin dan dibiarkan membeku untuk diiris dengan ukuran 5 µm dengan menggunakan *microtom rotary*. Hasil irisan dibentangkan dalam air dengan suhu 50 °C kemudian ditempelkan pada *object glass* yang telah diberi perekat *albumin Mayers* dan dikeringkan di atas *hot plate* selama ±2 menit serta dibiarkan pada suhu kamar selama ±24 jam. Pewarnaan hematoxylin eosin dilakukan untuk melihat struktur keseluruhan. Pengamatan dilakukan terhadap profil histopatologis osteoblas, osteoklas,

menggunakan mikroskop (Olympus BX-51) pembesaran 400X.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil osteoblas dan osteoklas pada kelompok perlakuan (dipasang *nickel titanium closed coil* dan diberikan mangiferin berdasarkan konsentrasi 6.25 % dan 12.5 %), Kontrol positif (tikus yang dipasang *nickel titanium closed coil* tanpa diberikan mangiferin), kontrol negatif (tanpa perlakuan). Semua kelompok diamati hari ke 1, 3, 5, 7, dan 14 terlihat pada Gambar 1.



Gambar 3. *Histocore* osteoblas dan osteoklas tulang rahang atas setelah pemberian aplikasi mangiferin (mg/ml) berdasarkan waktu (hari). Kontrol positif (tikus yang dipasang *nickel titanium closed coil* tanpa diberikan mangiferin), kontrol negatif (tikus tanpa dipasang *nickel titanium closed coil* dan tanpa diberikan mangiferin), sedangkan kelompok perlakuan (dipasang *nickel titanium closed coil* dan diberikan mangiferin berdasarkan konsentrasi 6.25 % dan 12.5 %)

Tabel 1. Rerata dari jumlah osteoblas dan osteoblas pada kelompok perlakuan konsentrasi 6.25 %, konsentrasi 12.5 %, kontrol positif dan kontrol negatif

Kelompok	Osteoblas	Osteoklas
Konsentrasi 6.25 %	1.48	0.52
Konsentrasi 12.5 %	2.20	0.68
Kontrol positif	1.78	0.72
Kontrol negatif	1.44	0.32

Rerata jumlah osteoblas dan osteoklas pada Tabel 4.4 dapat disimpulkan bahwa terjadi peningkatan osteoblas yang reaktif lebih tinggi dibandingkan dengan osteoklas. Rerata jumlah osteoblas dengan aplikasi mangiferin konsentrasi 12.5 % lebih tinggi dibandingkan

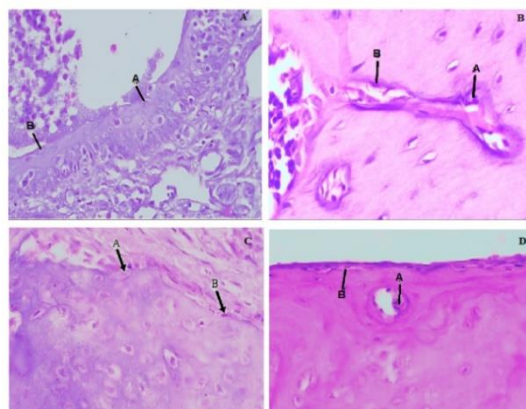
kelompok yang lain. Hal ini dapat disimpulkan bahwa mangiferin memiliki kemampuan untuk menginduksi osteoblas dalam pembentukan tulang dan menghambat differensiasi osteoklas untuk mempercepat proses remodeling tulang pasca perawatan ortodonti.

Tabel 2. Analisis *Wilcoxon histoscore* osteoblas dan osteoklas tulang rahang atas setelah pemberian aplikasi mangiferin (%)

Variabel	Wilcoxon Analisis			
	N	Min	Osteoblas Vs Osteoklas	Konsentrasi
Osteoblas	30	1,00		
Osteoklas	30	0,00		
Konsentrasi	30	6,25	0,00*	0,00*
Waktu	30	1,00		

Uji *Wilcoxon* pada Tabel 2 untuk menganalisis *histoscore* osteoblas dan osteoklas tulang rahang atas setelah pemberian aplikasi mangiferin. Profil osteoblas dan osteoklas keduanya berbeda bermakna ($p < 0.05$). Selain itu profil kedua sel tersebut dipengaruhi oleh waktu pemberian aplikasi dan konsentrasi mangiferin ($p < 0.05$). Artinya mangiferin memiliki potensi dalam mempercepat proses remodeling tulang dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif.

Profil Histologi Osteoblas dan Osteoklas Tulang Rahang Atas



Gambar 3. Profil osteoblas dan osteoklas tulang rahang atas. Pada Gambar A konsentrasi mangiferin 6.25%, Gambar B konsentrasi mangiferin 12.5%, Gambar C (Kontrol negatif) dan Gambar D (kontrol positif). Keterangan osteoblas/pembentukan tulang (A) dan osteoklas/resorpsi tulang (B). Semua gambar diambil pada hari ke-7 perlakuan pembesaran 400X

Kekuatan ortodonti untuk menggerakkan gigi menghasilkan berbagai reaksi dari gigi itu sendiri maupun dari jaringan sekitarnya. Pergerakan gigi secara ortodonti terdapat keseimbangan antara resorpsi tulang alveolar dengan aposisi tulang baru. Pasca perawatan ortodonti dibutuhkan remodeling tulang, terjadinya remodeling tulang ditandai dengan produksi osteoblas dan osteoklas. Osteoblas dan osteoklas terlibat aktif pada remodeling tulang.¹⁸ Osteoblas tidak hanya memainkan peran sentral dalam pembentukan tulang dengan mensintesis beberapa protein matriks tulang, tetapi juga mengatur pematangan osteoklas oleh faktor-faktor terlarut dan interaksi menghasilkan resorpsi tulang. Terjadi peningkatan osteoblas reaktif lebih tinggi dibanding osteoklas terlihat dari rerata jumlah osteoblas dan osteoklas pada Tabel 1. artinya mangiferin memiliki kemampuan untuk menginduksi osteoblas dalam pembentukan tulang dan menghambat

differensiasi osteoklas untuk mempercepat proses remodeling tulang pasca perawatan ortodonti. Remodeling tulang merupakan proses yang diatur melalui mekanisme absorpsi dan resorpsi tulang yaitu terjadinya penggantian tulang melalui resorpsi osteoklastik yang berurutan dengan membentuk tulang osteoblastik.¹⁹

Daerah tarikan, gigi akan menjauhi dinding alveolus, melebarkan ruang ligamen periodontal akan menimbulkan tarikan di daerah tersebut dan terjadi aposisi tulang. Dengan aplikasi hydrogel mangiferin dapat mempercepat differensiasi osteoblas, menambah tahap awal mineralisasi dan meningkatkan pembentukan nodul tulang. Jumlah osteoblas meningkat karena penurunan mediator proinflamasi mengakibatkan pembentukan dan aktifitas osteoklas terhambat. Osteoblas berproliferasi dan berkembang menjadi osteoblas matur sehingga jumlah osteoblas meningkat dan kepadatan tulang juga akan bertambah, kemudian sel osteoprogenitor mengadakan differensiasi merubah osteoblas menjadi osteoid dengan cepat dan akan menjadi tulang keras.²⁰

Aplikasi mangiferin dengan konsentrasi 6.25% dan konsentrasi 12.5% masih menunjukkan jumlah osteoklas lebih sedikit, sedangkan osteoblas masih mendominasi (Gambar 1). Artinya mangiferin memiliki potensi dalam mempercepat proses remodeling tulang untuk mencegah *relaps* pasca perawatan ortodonti. Mangiferin

merupakan senyawa polifenolik yang dapat mengurangi kerusakan tulang dan menghambat differensiasi osteoklastik dengan menginduksi aktivitas WST-1 yang secara signifikan lebih besar yang mendukung terjadinya proliferasi sel.²¹ Selain itu mangiferin secara signifikan meningkatkan level mRNA dari faktor transkripsi terkait runt (RunX2), tetapi tidak mempengaruhi ekspresi mRNA RunX1. Mangiferin secara signifikan mengurangi pembentukan sel multinuklear asam fosfatase yang resisten terhadap asam tartrat.²²

Mangiferin dapat menghambat resorpsi tulang osteoklastik dengan menekan differensiasi osteoklas dan mempromosikan ekspresi ER β mRNA dalam sel makrofag sumsum tulang tikus.²³ Ini juga memiliki potensi untuk pembentukan tulang osteoblastik dengan proliferasi sel dan mendorong differensiasi sel dalam sel MC3T3-E1 preosteoblast melalui RunX2. Selain itu efek dari mangiferin pada penyakit tulang telah dilaporkan pada rheumatoid arthritis dengan mengurangi kerusakan jaringan tulang pada tikus arthritis yang diinduksi antibodi kolagen tipe I.²⁴ Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa mangiferin dapat menghambat differensiasi osteoklastik sel-sel RAW 264.7.¹⁵ Sebagai pembanding, mangiferin memberikan respon terhadap perbaikan tulang dengan mempertahankan keseimbangan pembentukan tulang oleh osteoblas dan resorpsi tulang oleh osteoklas.²⁵ Keterbatasan penelitian ini hanya menggunakan 2 (dua)

variasi konsentrasi yaitu konsentrasi 6.25% dan 12.5% . Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut agar didapatkan konsentrasi yang optimal.

SIMPULAN

Hasil analisis data dan pembahasan pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa mangiferin (*Mangifera Indica Linn*) merupakan salah satu senyawa penting yang memiliki potensi dalam mengontrol produksi osteoblas dan osteoklas pada remodeling tulang untuk mencegah relaps pasca perawatan ortodonti.

DAFTAR PUSTAKA

1. Foster TD, 2012., *Buku Ajar Ortodonti Edisi 3*, Jakarta; Penerbit buku Kedokteran EGC, 168 - 86.
2. Li Y, Jacox LA, Little SH, 2018., Orthodontic tooth movement: the biology and clinical implications. *Kaohsiung J Med Sci.*;34(4):207–214. doi:10.1016/j.kjms.2018.01.007
3. Balajhi SI, 2007., *Orthodontic The Art an Science 4nd*, New Delhi; Arya Publishing House, 491-502.
4. Littlewood SJ, Millett DT, Doubleday B, Bearn DR, Worthington HV, 2016., Review Retention procedures for stabilising tooth position after treatment with orthodontic braces *Cochrane Database Syst Rev*; (1):CD002283. Epub 2016 Jan 29
5. Tanya J, Franzen, Sherif E, Zahira, Abbadi EK, Vaska VR., 2015., The Influence of Low-level laser on Orthodontics Relapse in Rats., *European Journal of Orthodontics.*, 2015, 111–117doi:10.1093/ejo/cju053.
6. Heasman, P., 2003. *Restorative Dentistry, Paediatric Dentistry and Orthodontics*. England : Churchill Livingstone, 378.
7. Afshari Z, Shirban F, Tahamtan S, Rahimi A, 2021., The Effect Of Statins on Relapse After Orthodontic Treatment : systemativ review *European Journal of Molecular and Clinical Medicine* (Vol. 8, Issue1) Publishe : Research Trentz.
8. Krishnan V, Davidovitch Z, 2015., *Biological Mechanisms of Tooth Movement 2nd*, Wiley Blackwell, Publishers Since 1807.
9. Kondo Y, Irie K, Ikegame M, Ejiri S, Hanada K, Ozawa H, 2001., Role of Stromal Cells in Osteoclast Differentiation in Bone Marrow, *J Bone Miner Metab*;19(6):352-8.
10. Masella RS, Meister M, 2006., Current concepts in the biology of orthodontic tooth movement. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* ; 129 (4):458–468.
11. Utari R, Dewi I, Sripudyani P, Asmara W, 2021., The intrasulcular Application Effect of Bisphosphonate Hydrogel Toward Osteoclast Activity and Relapse Movement, *The Saudia Dental Journal*, Volume 33, Issue 5, July 2021, Pages 292-298, <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2020.03.003>.
12. Noxon, S.J., 2001., Osteoclast clearance from periodontal tissues during orthodontic tooth movement. *American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics : official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics*, 120(5), 466–76.
13. Eleftherios G. Kaklamanos, Miltiadis A. Makrygiannakis, Athanasios E., 2021., Could Medications and Biologic Factors Affect Post-Orthodontic Tooth Movement., changes? A systematic review of animal studies, *Orthodontics and Craniofacial Research*, <https://doi.org/10.1111/ocr.12411>
14. Soepandi, 2017., *Tanaman Obat Tradisional* Ed.3, Penerbit: Sarana Pancakarya Nusa, ISBN : 978-979-678-936-8
15. Ang E., Liu Q., Qi M., Liu H. G., Yang, X., Chen H., Ming H, Zheng, Xu J., 2011, Mangiferin attenuates osteoclastogenesis, bone resorption, and RANKL-induced activation of NF-κB and ERK. *Journal of cellular biochemistry*, 112(1), 89-97.
16. Proffit WR, Fields HW, Sarver DM, 2013., *Contemporary Orthodontics*, 5th ed., Saint Louis, Mosby Elsevier., 296-300, 331-4.
17. Olin GMJ , Alejandro DK , Farid ADV , Juan Fap , María de los ÁMB , Marco FSO, Miguel ACS, 2022., . *Use of Hydrogels to Regulate Orthodontic Tooth Movement in Animal Models: A Systematic Review*. Appl. Sci. 2022, 12, 6683. <https://doi.org/10.3390/app12136683>
18. Tanaka Y., Nakayamada S., Okada Y, 2005., Osteoblasts and osteoclasts in bone remodeling and inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 4(3), 325-328. doi:10.2174/1568010054022015

19. Eriksen, E. F. 2010., Cellular mechanisms of bone remodeling. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*, 11(4), 219-227. doi:10.1007/s11154-010-9153-1
20. Indahyani DE, Barid I, Handayani ATW. 2010., Minyak Ikan Lemuru (*Saedinella Longiceps*) Meregulasi Survival Osteoblas dan Osteoklas, Ekspresi Integrin $\alpha\beta3$ Tulang Alveolaris serta Struktur Gigi Pada Tikus yang Mengalami Infeksi Periodontal selama Masa Odontogenesis. Laporan Penelitian Fundamental. Universitas Jember. H. 9-42
21. Boabaid F., Cerri P. S., Katchburian E, 2001. Apoptotic bone cells may be engulfed by osteoclasts during alveolar bone resorption in young rats. *Tissue and Cell*, 33(4), 318-325.
22. Bronckers A. L., Sasaguri K., Engelse, M. A, 2003., Transcription and immuno localization of Runx2/Cbfa1/Pebp2 α A in developing rodent and human craniofacial tissues: Further evidence suggesting osteoclasts phagocytose osteocytes. *Microscopy research and technique*, 61(6), 540-548.
23. Sekiguchi Y., Mano H., Nakatani S., Shimizu J., Kataoka A., Ogura K., Wada M, 2017., Mangiferin positively regulates osteoblast differentiation and suppresses osteoclast differentiation. *Molecular medicine reports*, 16(2), 1328-1332. doi:10.3892/mmr.2017.6752.
24. Sekiguchi Y., Mano H., Nakatani S., Shimizu J., Wada M, 2010., Effects of the Sri Lankan medicinal plant, *Salacia reticulata*, in rheumatoid arthritis. *Genes & nutrition*, 5(1), 89
25. Zhao B., Takami M., Yamada A., Wang, X., Koga T., Hu X., Ivashkiv L. B., 2009. Interferon regulatory factor-8 regulates bone metabolism by suppressing osteoclastogenesis. *Nature medicine*, 15(9), 1066.