

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran pada bulan Agustus – September 2016 bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap penurunan jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi lipopolisakarida *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Penelitian dimulai dengan injeksi LPS Aa selama 20 hari. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Madeira *et al*, 2013 sebelumnya, bahwa injeksi LPS Aa selama 20 hari pada ginggiva tikus dapat menyebabkan kerusakan tulang alveolar yang dibuktikan gambaran klinis adanya oedem dan kemerahan pada ginggiva tikus serta gambaran radiografi yang menunjukkan adanya penurunan tulang alveolar. Penelitian ini tidak menggunakan gambaran radiografi untuk menunjukkan adanya penurunan tulang alveolar, namun menggunakan pengukuran poket ginggiva tikus dengan melakukan *Probing* sebelum dan sesudah dilakukan injeksi LPS Aa. *Probing* dilakukan dengan menggunakan *Dental probe*. *Dental probe* digunakan karena memiliki tekstur yang rigid, sehingga dental probe dapat masuk ke sulkus.

Ekstrak teh hijau dibuat menggunakan teknik maserasi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Sabri dan Dadan, 2016 yang menunjukkan bahwa ekstraksi teh hijau dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96% akan mendapatkan kadar polifenol sebesar 20-40% dari total kandungan ekstraksi. Hal ini dikarenakan teknik maserasi dapat memisahkan bahan aktif teh hijau yang mengandung polifenol secara maksimal sehingga akan didapatkan kandungan katekin khususnya EGCG secara maksimal pula. Hasil ekstrak teh hijau berupa sediaan kental, sehingga untuk injeksi pada ginggiva tikus harus dilakukan pengenceran dengan menggunakan DMSO (*dimetil sulfoksid*). DMSO

dipilih karena dapat membantu penetrasi / transport obat melewati membran dan tidak mempengaruhi zat aktif obat (Tedjo Yuwono dkk, 2013). Ekstrak teh hijau diinjeksikan selama 16 hari setelah injeksi LPS Aa selesai. Hal ini sesuai dengan penelitian Marinobu, 2008 bahwa setelah dilakukan injeksi ekstrak teh hijau selama 16 hari pada model tikus *Rheumatoid Arthritis*, terdapat penurunan aktivitas resorpsi tulang melalui penghambatan diferensiasi osteoklas.

Hasil penelitian berdasarkan hasil uji oneway ANOVA didapatkan perbedaan bermakna jumlah sel osteoklas antara kelompok K-, kelompok K+, kelompok P1 dan kelompok P2. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap penurunan jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi lipopolisakarida. Hal ini sesuai dengan penelitian Marinobu *et al*, 2008 yang menunjukkan bahwa EGCG dalam ekstrak teh hijau mampu menurunkan aktivitas resorpsi tulang melalui penghambatan pembentukan sel osteoklas. Penelitian Lee *et al*, 2010 juga menunjukkan bahwa EGCG dalam teh hijau memiliki antiosteogenesis (anti pembentukan sel osteoklas) yang mengurangi produksi induksi RANKL dengan NFATc1 sebagai prekursor dari osteoklas.

Kelompok kontrol positif yang diinduksi LPS Aa menunjukkan jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol negatif yang tidak diinduksi LPS. Hal ini mengindikasikan bahwa LPS Aa mampu menyebabkan peningkatan jumlah sel osteoklas. LPS merupakan zat endotoksin dari bakteri *Aggregobacter actinomycetecomitans* (Aa) yang akan mengaktifkan makrofag didalam tubuh. Aktivasi makrofag merupakan salah satu respon alami imun tubuh. Makrofag akan memicu pelepasan mediator kimia *Tumor Necrosis Factor* (TNF) dan Interleukin (IL), Prostaglandin E₂ (PGE₂), dan *Matrix metalloproteinase* (MMP). Selain respon alami tubuh, LPS juga akan mengaktifkan sistem adaptiv tubuh dengan terbentuknya Limfosit B dan T yang

dibantu oleh mediator kimia TNF. Limfosit-T dan Limfosit-B akan mensekresi RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa- β Ligand*) yang memiliki peranan terhadap peningkatan aktivitas osteoklas dan destruksi tulang alveolar. RANKL akan berikatan dengan RANK sebagai proses awal destruksi tulang. Ikatan ini akan menginduksi TNF reseptor-associated 6 (TRAF 6) yang menjadi kunci proses transkripsi osteoklas. TRAF 6 ini akan mengaktifkan *Nuclear Factor- κ B* (NF κ B) dan *mitoge-activated kinases* (MAPKs) yang sangat penting dalam diferensiasi osteoklas. NF κ B dan MAPKs ini akan menginduksi faktor NF κ B1 yang akan meregulasi sejumlah gen spesifik osteoklas seperti *Katepsin K* sehingga osteoklas mengadakan diferensiasi (Caranza,2015).

Apabila peningkatan RANKL tidak diimbangi oleh peningkatan OPG (Osteoprogenitor), dimana OPG merupakan inhibitor dari RANKL, maka akan terjadi resorpsi tulang alveolar. Apabila jumlah OPG lebih banyak dari RANKL maka resorpsi tulang dapat dicegah. Jika ikatan antara RANKL dengan RANK terjadi maka aktivasi osteoklas akan terjadi, sedangkan ikatan RANKL dengan OPG tidak akan mengaktifkan osteoklas. Apabila peningkatan aktivitas osteoklas telah terbentuk, maka osteoklas akan memproduksi MMP. MMP ini akan merusak ikatan jaringan antara ginggiva dan tulang alveolar, lalu MMP akan merusak tulang alveolar melalui penurunan densitas tulang alveolar dan terjadi resorpsi tulang alveolar (Zhao, Ran *et al*, 2013). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Madeira *et al*, 2013 juga membuktikan bahwa induksi LPS Aa dapat menyebabkan peningkatan jumlah sel osteoklas dan terjadinya resorpsi tulang alveolar dan menyebabkan periodontitis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah sel osteoklas pada kelompok P1 (dosis ekstrak teh hijau 150mg/100grBB) dan P2 (dosis ekstrak teh hijau 200mg/100grBB) dibanding dengan kelompok K+. Hal ini sesuai

dengan teori bahwa kandungan senyawa Katekin khususnya *epigallocatechin gallate* (EGCG) dalam teh hijau (*Camellia sinensis*) dapat menekan proliferasi dan diferensiasi sel osteoklas melalui jalur RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa- β Ligand*). Pada penelitian Shen *et al*, EGCG akan menurunkan ekspresi dari RANKL yang diaktivasi oleh Sel limfosit, sehingga RANKL dan OPG akan dalam keadaan seimbang. Hal ini menyebabkan diferensiasi osteoklas akan menurun dan densitas tulang menjadi meningkat. EGCG menghambat sinyal RANKL melalui pengurangan aktivitas transkripsi dari NF- κ B dan penghambatan ikatan dengan RANK sehingga jumlah sel osteoklas dapat menurun yang sesuai dengan penelitian ini (Shen *et al*,2009).

Hasil penelitian kelompok P1 (ekstrak teh hijau dosis 150mg/100grBB) dan P2 (ekstrak teh hijau dosis 200mg/100grBB) tidak ditemukan perbedaan yang bermakna. Hal ini dapat disebabkan kemungkinan dosis yang diberikan berada dalam rentang jangkauan kurang panjang, sehingga penurunan jumlah sel osteoklas antar dosis tidak terlihat perbedaan bermakna secara statistik. Namun melalui penghitungan jumlah sel osteoklas secara manual antar dosis, jumlah sel osteoklas masih tetap mengalami penurunan seiring bertambahnya dosis ekstrak teh hijau. Dosis pada perlakuan pertama yaitu 150mg/100grBB merupakan dosis yang efektif dalam menurunkan jumlah sel osteoklas karena dengan pemberian dosis 150mg/100grBB telah mampu menurunkan jumlah sel osteoklas dengan maksimal dan perbedaan penurunan jumlah sel osteoklas antara dosis pertama dan kedua tidak mengalami perbedaan yang bermakna. Hal ini juga dikarenakan dengan penggunaan dosis yang pertama telah memiliki efek yang hampir sama dengan dosis kedua dalam menurunkan jumlah sel osteoklas. Sehingga dengan penggunaan dosis 150mg/100grBB sudah dapat menurunkan jumlah sel osteoklas dengan efektif. Hal ini sesuai dengan penelitian tikus model *Rheumatoid Arthritis*, dimana pada dosis 150 mg/gram merupakan dosis yang

efektif dalam menghambat peningkatan dari ekspresi RANKL sehingga terjadi penurunan pembentukan osteoklas (Shen *et al*, 2009).

Berdasarkan hasil statistik uji korelasi Pearson, didapatkan bahwa terdapat korelasi yang sangat kuat yaitu 0,922 dan arah korelasi negatif, yang berarti semakin besar dosis ekstrak teh hijau, maka semakin menurun jumlah sel osteoklas pada tikus *Rattus norvegicus*. Hal ini sesuai dengan penelitian Zhao, Ran *et al*, 2013 bahwa ekstrak teh hijau mampu menurunkan jumlah sel osteoklas melalui penghambatan ikatan RANKL.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) mampu menurunkan jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi lipopolisakarida *Aggregatibacter actinomycetecomitans*. Hal ini dapat dilihat dari penurunan jumlah osteoklas setelah pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) pada dosis 150 mg/100gr.

