

Pengaruh Pemberian Minyak Biji Rami Per Oral terhadap Peningkatan Jumlah Osteoblas pada Tikus Putih Jantan Galur Sprague Dawley dengan Periodontitis

Ketut Virtika Ayu¹

¹Departemen Ortodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Mahasaraswati Denpasar
e-mail: drg.virtika@gmail.com

Abstrak

Perawatan ortodonti banyak dilakukan pada praktek kedokteran gigi untuk memperbaiki maloklusi namun perawatan tersebut sulit dilakukan bila terjadi kelainan pada periodontal yang melibatkan resorpsi tulang. Minyak biji rami mengandung omega-3 yang tinggi dapat menurunkan aktivitas inflamasi sehingga menurunkan adanya resorpsi tulang. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pemberian minyak biji rami meningkatkan jumlah osteoblas pada tikus dengan periodontitis.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan metode *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Subjek penelitian terdiri dari 32 tikus putih jantan galur Sprague Dawley berumur 8-12 minggu dibagi 2 kelompok yakni kelompok kontrol mendapatkan pemberian plasebo (glycerin) per oral selama 21 hari dan kelompok perlakuan dengan pemberian minyak biji rami 700 mg/200grBB per oral selama 21 hari. Pada hari ke-30 tikus dieutanasia untuk pengambilan jaringan tulang alveolar pada rahang bawah untuk dibuat preparat histologi dengan pengecatan HE (*Harris Hematoxylin-Eosin*). Data yang diperoleh dianalisis, dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dan dilanjutkan dengan *independent t-test*.

Hasil menunjukkan bahwa rerata jumlah osteoblas kelompok perlakuan dengan pemberian minyak biji rami ($64,62 \pm 4,288$ sel per 5 lapang pandang) lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($36,56 \pm 3,483$ sel per 5 lapang pandang). Hasil penelitian berdasarkan uji perbandingan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan minyak biji rami dengan *independent t-test* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna jumlah osteoblas dan kepadatan tulang tikus putih jantan galur Sprague Dawley ($p < 0,05$).

Penelitian ini menyimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian minyak biji rami per oral terhadap peningkatan jumlah osteoblas pada tikus putih jantan galur Sprague Dawley dengan periodontitis.

Kata kunci: minyak biji rami, periodontitis, osteoblas

Abstract

The orthodontic treatments of dentistry is to correct malocclusions. However, these treatments are difficult due to periodontal disorders involving alveolar bone resorption. Periodontitis is a chronic inflammatory disease leading to tooth loss. Flaxseed oil contains high omega-3 that can reduce inflammatory activity thereby reducing bone resorption. This study was conducted to prove the flaxseed oil enhance the osteoblasts number in periodontitis rats.

This study was a purely experimental research with Randomized Post Test Only Control Group Design. Research subjects consisted of 8-12 week 32 white male rats of Sprague Dawley strain were divided into 2 groups; a control group were given placebo (glycerin) orally for 21 days, whereas the treatment group were given flaxseed oil 700 mg/200grBW orally for 21 days. On the 30th day, mice were euthanized for mandibula alveolar bone tissue sampling and histological preparations were made by HE (Harris Hematoxylin-Eosin) staining. The data were analyzed using SPSS program processed using Shapiro-Wilk for normality test and then continued using the independent t-test.

The results showed that the mean of osteoblasts number at the treatment group by oral administration of flaxseed oil (64.62 ± 4.288 cells per 5 field of view) was significantly higher than the control group (36.56 ± 3.483 cells per 5 field of view). Test results based on comparison between the control group and the group treated with flaxseed oil with independent t-test showed that significant differences in the osteoblasts number and bone density of white male Sprague Dawley rats ($p < 0.05$).

This study concluded that there's effect of oral administration of flaxseed oil enhance the osteoblasts number in white male rats of Sprague Dawley strain with periodontitis.

Keywords: flaxseed oil, periodontitis, osteoblasts

Pendahuluan

Dewasa ini, perawatan ortodonti bagi individu dewasa menjadi salah satu tantangan bagi ortodontis dalam merawat maloklusi dan memperbaiki penampilan mereka, namun bila gigi yang mengalami kerusakan pada periodontal diberi gaya, maka dapat terjadi kerusakan jaringan yang cepat^{1,2}. Penyakit periodontal adalah penyakit inflamasi pada jaringan penyangga gigi yaitu jaringan periodontal³. Penyakit periodontal terdiri dari gingiva, ligament periodontal, sementum dan tulang alveolar⁴.

Periodontitis adalah peradangan pada jaringan pendukung gigi, yang disebabkan oleh mikroorganisme tertentu, yang menyebabkan kerusakan progresif dari ligamen periodontal dan tulang alveolar dengan pembentukan poket, resesi gingiva atau keduanya⁵.

Periodontitis umumnya dihubungkan dengan keberadaan dan atau meningkatnya jumlah bakteri pathogen spesifik, diantaranya yaitu *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* dan *Bacteriodes farsytus*⁴. *P. gingivalis* dapat mengekspresikan berbagai factor virulensi antara lain: fimbriae, lipopolisakarida (LPS), proteinase, metabolit organik seperti asam butirat serta berbagai enzim seperti arginin, gingipain, kolagenase, gelatinase dan hyaluronidase⁶.

LPS berperan sebagai kunci penting dalam memicu dan mendukung respon inflamasi pada gingiva dan jaringan periodontal, sehingga LPS memiliki potensi kuat sebagai stimulator inflamai apabila diinjeksikan pada hewan coba⁴.

Meskipun penyakit periodontal diawali oleh kolonisasi bakteri pada permukaan gigi dan sulkus gingiva, respon tubuh terhadap infeksi tersebut mempunyai peranan dalam kerusakan jaringan ikat dan tulang melalui mediator dan sitokin pro-inflamasi⁷. Selain inflamasi disebabkan oleh karena bakteri, diet berlebihan omega-6 juga akan meningkatkan jumlah *Arachidonic Acid* (AA) dalam tubuh yang jika disintesis oleh enzim siklooksigenase akan menghasilkan

prostaglandin (PGE_2) yang merupakan mediator terjadinya inflamasi. Mediator dan sitokin pro-inflamasi ini akan mengaktifkan osteoklastogenesis pula sehingga terjadi resorpsi tulang alveolar⁸.

Asam lemak esensial omega-3 yakni *Alpha Linolenic Acid* (ALA) yang terkandung dalam tanaman maupun *Eicosapentaenoic Acid* (EPA) dan *Docosahexaenoic Acid* (DHA) pada ikan air dingin atau minyak ikan, akhir-akhir ini banyak digunakan dalam diet seseorang untuk mengatasi osteoporosis atau resorpsi tulang. Minyak biji rami (*Linum usitatissimum*) mengandung ALA yang tinggi dimana ALA sebagian kecil akan diubah oleh tubuh menjadi EPA dan DHA. Asam lemak esensial dalam minyak biji rami dapat memulihkan kesehatan dan fungsi kekebalan tubuh. Konsentrasi asam lemak esensial yang luar biasa dalam minyak biji rami tersebut dinilai dapat memenuhi semua kebutuhan asam lemak esensial seseorang seumur hidupnya. Minyak biji rami yang mengandung omega 3, 6 dan 9, merupakan alternatif yang akan memberikan manfaat yang sama seperti minyak ikan tanpa perlu waspada terhadap bahaya racun^{9, 10}.

Di Indonesia masih sangat sedikit kesadaran untuk mengkonsumsi makanan yang kaya akan omega-3 seperti ikan salmon maupun ikan tuna padahal tubuh sangat membutuhkan omega-3 baik dari ikan maupun tumbuhan seperti minyak biji rami. Para vegetarian maupun yang alergi ikan juga memerlukan omega-3 bagi tubuh sehingga minyak biji rami sangat baik dijadikan diet sehari-hari. Minyak biji rami pun relatif lebih murah dibandingkan dengan minyak ikan dan juga mudah didapat di supermarket.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa omega-3 dapat menurunkan mediator pro-inflamasi seperti *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), *interleukin-1 β* dan *interleukin-6* (IL-6)¹¹. Selain itu omega-3 dapat menghambat metabolisme AA menjadi prostaglandin (PGE_2) yang dapat merangsang terjadinya inflamasi dan AA akan digantikan posisinya oleh omega-3, sehingga omega-3 dikatakan sebagai anti-inflamasi^{8,12}. Oleh karena penurunan mediator pro-inflamasi mengakibatkan pembentukan dan aktivitas osteoklas terhambat sehingga osteoblas melakukan proliferasi dan diferensiasi untuk menjadi osteoblas yang matur sehingga jumlah osteoblas meningkat⁹.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan metode *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Subjek penelitian terdiri dari 32 tikus putih jantan galur Sprague Dawley berumur 8-12 minggu dibagi 2 kelompok yakni kelompok kontrol mendapatkan pemberian plasebo (glycerin) per oral selama 21 hari dan kelompok perlakuan dengan pemberian minyak biji rami 700 mg/200grBB per oral selama 21 hari. Pada hari ke-30 tikus dieutanasia untuk pengambilan jaringan tulang alveolar pada rahang bawah untuk dibuat preparat histologi dengan pengecatan HE (*Harris Hematoxylin-Eosin*).

Periodontitis adalah inflamasi jaringan periodontal yang ditimbulkan oleh injeksi LPS *E. coli* selama 8 hari dengan tanda klinis kemerahan dan pembengkakan pada gingiva, kehilangan perlekatan gingiva terhadap tulang alveolar dan poket yang dalam. Secara histologis adanya penurunan jumlah osteoblas.

LPS *E. coli* merupakan endotoksin dari bakteri gram negatif *E. coli* yang didapat dari Sigma Aldrich (LPS *E. coli* 0111: B4, L2630) dengan bentuk sediaan bubuk kemudian diencerkan dengan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) steril dengan dosis 5 μg dalam 0,05 ml PBS.

Osteoblas adalah jumlah osteoblas pada tulang alveolar berupa sel berinti satu dan pipih yang berada di endosteum, dengan sitoplasma yang basofilik dibuat preparat atau sediaan

mikroskopis dengan pengecatan HE (*Harris Hematoxylin - Eosin*) dan dilihat pada 5 lapang pandang dengan menggunakan mikroskop elektrik Olympus CX35 dengan perbesaran 400x.

Dosis minyak biji rami yang diberikan pada manusia (berat 70 kg) adalah 2 sendok makan perhari (setara dengan 30 ml) mengandung 14 g minyak biji rami (Cornish dan Chilibeck, 2009). Kemudian dikonversikan pada tikus (200 gr BB) dilihat pada tabel yakni 0,018 sehingga menjadi 252 mg/200grBB tikus. Berdasarkan penelitian pendahuluan, dosis yang paling efektif adalah 700 mg/200grBB (Ayu, 2014).

Data yang diperoleh dianalisis, dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dan dilanjutkan dengan *independent t-test*.

Hasil Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan sebanyak 32 ekor tikus putih jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan 180-200gr/BB yang terbagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol P₀ (glycerin) dan kelompok P₁ (minyak biji rami 700mg/200grBB) masing-masing berjumlah 16 ekor. Analisa deskriptif kedua sampel menggambarkan rerata, range dan simpang baku dari jumlah osteoblas tikus putih jantan yang diberi perlakuan selama 21 hari. Analisa ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisis deskriptif jumlah osteoblas dan kepadatan tulang antar kelompok

| Variabel | n | Minimal | Maksimal | Rerata | SB |
|------------------------|----|---------|----------|--------|-------|
| Jumlah osteoblas (Sel) | | | | | |
| Kontrol | 16 | 33 | 47 | 36,56 | 3,483 |
| Perlakuan | 16 | 60 | 71 | 64,62 | 4,288 |

Tabel 1 menunjukkan bahwa rerata jumlah osteoblas kelompok kontrol adalah $36,56 \pm 3,483$ sel per 5 lapang pandang, rerata kelompok perlakuan minyak biji rami adalah $64,62 \pm 4,288$ sel per 5 lapang pandang.

Data jumlah osteoblas dan kepadatan tulang pada kelompok kontrol maupun perlakuan diuji normalitasnya dengan *Shapiro-Wilk*. Hasilnya menunjukkan data berdistribusi normal ($p > 0,05$), disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji normalitas data jumlah osteoblas (sel) antar kelompok

| Kelompok Subyek | n | p | Keterangan |
|-----------------|----|-------|------------|
| Kontrol | 16 | 0,794 | Normal |
| Perlakuan | 16 | 0,552 | Normal |

Data jumlah osteoblas dan kepadatan tulang tikus putih jantan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan diuji homogenitasnya dengan menggunakan *Levene's test*. Hasilnya menunjukkan data homogen ($p > 0,05$), disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji homogenitas data jumlah osteoblas

| Variabel | F | p | Keterangan |
|------------------------|-------|-------|----------------|
| Jumlah Osteoblas (Sel) | 1,109 | 0,301 | Varian homogen |

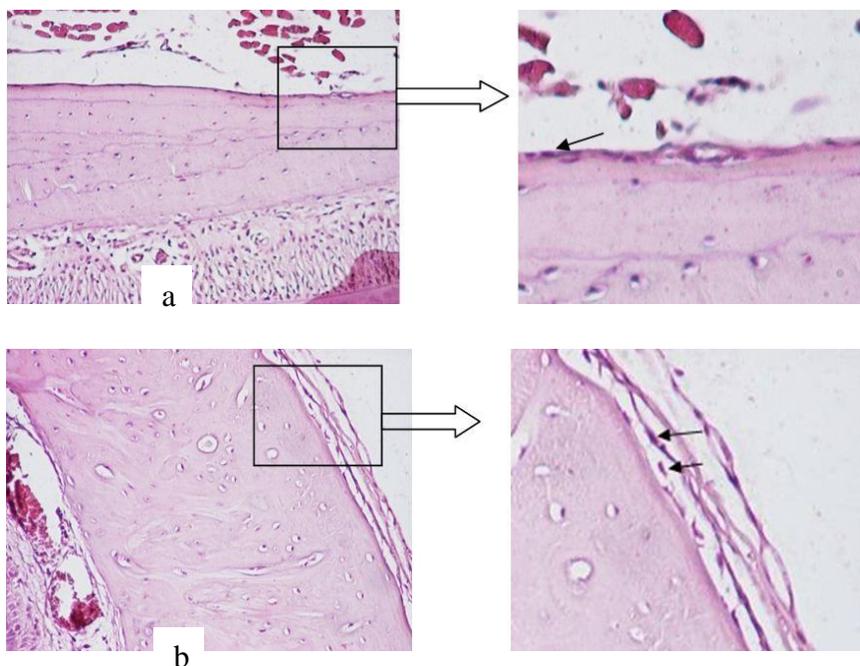
Analisis komparabilitas diuji berdasarkan rerata jumlah osteoblas tikus putih jantan antar kelompok kontrol dan perlakuan. Hasil analisis kemaknaan dengan *independent t-test* disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata jumlah osteoblas antar kelompok

| Kelompok Subyek | n | Rerata Jumlah Osteoblas (Sel) | SB | Beda Rerata | t | p |
|-----------------|----|-------------------------------|-------|-------------|--------|-------|
| Kontrol | 16 | 36,56 | 3,483 | 28,06 | 20,321 | 0,001 |
| Perlakuan | 16 | 64,62 | 4,288 | | | |

Tabel 4 menunjukkan bahwa rerata jumlah osteoblas kelompok kontrol adalah $36,56 \pm 3,483$ sel per 5 lapang pandang, rerata kelompok perlakuan minyak biji rami adalah $64,62 \pm 4,288$ sel per 5 lapang pandang. Analisis kemaknaan dengan *independent t-test* nilai $p = 0,001$ berarti rerata jumlah osteoblas antar kelompok berbeda bermakna ($p < 0,05$).

Gambaran Histologis Jumlah Osteoblas Antar Kelompok



Gambar 1 Gambaran histologis sel osteoblas (anak panah ←) pada kelompok kontrol (a), dan pada kelompok perlakuan (b), dengan perbesaran 400x.

Pada Gambar 1 terlihat jumlah osteoblas pada kelompok perlakuan lebih banyak dibanding dengan kelompok kontrol.

Diskusi

Berdasarkan hasil penelitian di atas, didapatkan bahwa terjadi peningkatan jumlah osteoblas tikus putih jantan secara bermakna pada kelompok perlakuan yang diberi minyak biji rami per oral disebabkan minyak biji rami memiliki efek anti-inflamasi¹³. Anti-inflamasi pada minyak biji rami dapat menurunkan mediator dan sitokin pro-inflamasi sehingga menurunkan aktivitas osteoklastogenesis yang kemudian mengakibatkan peningkatan jumlah osteoblas.

Resorpsi tulang alveolar merupakan suatu proses dinamis pada jaringan tulang karena ketidakseimbangan antara sel osteoklas sebagai sel yang membantu kerusakan tulang dan sel osteoblast sebagai sel yang membantu pembentukan tulang dimana sel osteoklas jumlahnya lebih tinggi daripada sel osteoblast. Pengaruh LPS dalam mengganggu remodeling tulang alveolar dimulai dengan LPS mampu menembus ke dalam jaringan periradikuler, lalu menyebabkan peradangan pada periradikuler dan juga berlanjut pada kerusakan tulang, sehingga menyebabkan adanya resorpsi tulang alveolar¹⁴.

Selain inflamasi disebabkan oleh karena bakteri, diet berlebihan omega-6 juga akan meningkatkan jumlah AA dalam tubuh yang bila disintesis oleh enzim siklooksigenase akan menghasilkan prostaglandin (PGE₂) yang merupakan mediator terjadinya inflamasi. Mediator dan sitokin pro-inflamasi ini akan mengaktifkan osteoklastogenik sehingga terjadi resorpsi tulang alveolar. Prostaglandin dalam jumlah sedikit sampai sedang dapat menjaga homeostasis namun pada keadaan inflamasi kronis oleh karena adanya induksi bakteri maupun hasil sintesis AA pada diet omega-6, prostaglandin (PGE₂) mampu menstimuli mediator maupun sitokin pro-inflamasi dalam proses osteoklastogenesis⁸.

Minyak biji rami mengandung omega-3 ALA yang akan dimetabolisme oleh tubuh menjadi EPA dan DHA dimana EPA dan DHA maupun ALA dapat dikatakan sebagai anti-inflamasi karena dapat menurunkan mediator inflamasi. Omega-3 (EPA dan DHA) mampu menghambat metabolisme AA menjadi prostaglandin (PGE₂) dan LTB₄ yang dapat merangsang terjadinya inflamasi dengan memblokir enzim siklooksigenase, omega-3 juga dapat menggantikan posisi AA dalam membran fosfolipid sehingga omega-3 dikatakan sebagai anti-inflamasi. Oleh karena penurunan mediator pro-inflamasi mengakibatkan pembentukan dan aktivitas osteoklas terhambat sehingga osteoblas melakukan proliferasi dan diferensiasi untuk menjadi osteoblas yang matur sehingga jumlah osteoblas meningkat dan kepadatan tulang akan meningkat pula^{8,9,12}. Pada minyak biji rami, sangat sedikit sekali kandungan EPA dan DHA oleh hasil konversi dari ALA. Masih sedikit penelitian tentang pengaruh zat aktif ALA terhadap anti-inflamasi. Namun ada penelitian baru-baru ini oleh Anand dan Kaithwas (2014) mereka menguji bahan aktif ALA mampu sebagai anti inflamasi secara *in vitro*. Minyak biji rami sebagai anti-inflamasi dapat menurunkan mediator pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6 dan menghambat PGE₂ ditunjukkan pada penelitian oleh Cornish dan Chilibeck (2009)^{11,13}.

Pada Gambar 1 yang ditandai oleh anak panah terlihat jumlah osteoblas pada kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan dengan kelompok perlakuan sehingga pembentukan tulang diharapkan akan meningkat.

Simpulan

Terdapat pengaruh pemberian minyak biji rami per oral terhadap peningkatan jumlah osteoblas tikus putih jantan galur Sprague Dawley dengan periodontitis.

Saran

Dari penelitian ini diharapkan adanya penelitian lebih lanjut terhadap efek minyak biji rami sebagai anti inflamasi, dan juga zat aktif dari minyak biji rami terhadap peningkatan osteoblast.

Daftar Pustaka

1. Yovela, Krisnawati. 2009. Penatalaksanaan Kasus Protrusif Gigi Anterior Atas dengan Kelainan Periodontal pada Pasien Dewasa. *Indonesian Journal of Dentistry*. 16(1): 25 - 31.
2. Susanto, S.A., Farmasyanti, C.A., Kuswayuning. 2016. Perawatan Ortodontik pada Kasus Periodontitis Kronis dengan Kerusakan Tulang Infraboni Secara Menyeluruh. *Majalah Kedokteran Gigi Klinik*. 2(2): 101-6.
3. Singrhao, S., Harding, A., Poole, S. 2015. *Porphyromonas gingivalis* Periodontal Infection and Its Putative Links with Alzheimer's Disease. *Journal Mediators of Inflammation*.
4. Newman, M., Takei, H., Klokkevold, P., Carranza, F. 2015. *Carranza's Clinical Periodontology*. 12th Ed. St. Louis. Elsevier.
5. Gyawali, R., Bhattarai, B. 2017. Orthodontic Management in Aggressive Periodontitis. *International Scholarly Research Notices*. Vol. 17: 1-8.
6. Imamura, T. 2003. The Role of Gingipain in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *Journal of Periodontology*. 74(1): 111-8.
7. Kajiya, M., Giro, G., Taubman, M.A., Han, X., Mayer, M.P.A., Kawai, T. 2010. Role of Periodontal Pathogenic Bacteria in RANKL-Mediated Bone Destruction in Periodontal Disease. *J Oral Microbiol*. 2: 5532 – 48
8. Calder, P.C. 2009. Polyunsaturated Fatty Acid and Inflammatory Processes : New Twist in an Old Tale. *Biochimie*. 91: 791 – 5.
9. Indahyani, D.E., Pudnyani, P.S., Santoso A, Jonarta, A.L. 2003. Pengaruh Diet Minyak Jagung dan Minyak Ikan terhadap Ekspresi Osteoklas Periapikal Gigi pada Tikus. *JDI*. 10(3): 31 - 6.
10. Kim, Y., Ilich, J.Z. 2011. Implications of Dietary α -Linolenic Acid in Bone Health. *Nutr J*. 27(11): 1101 - 7.
11. Cornish, S.M., Chilibeck, P.D. 2009. Alpha-Linolenic Acid Supplementation and Resistance Training in Older Adults. *Appl Physiol Nutr Metab*. 34(1): 49 - 59.
12. Mozaffarian, D., Wu, J.H.Y. 2011. Omega-3 Fatty Acids and Cardiovascular Diseases, Effects on Risk Factor, Molecular Pathway, and Clinical Events. *J Am Coll Cardiol*. 58(20): 2047 – 67.
13. Kaithwas, G., Mukherjee A., Chaurasia, A.K., Majumdar, D.K. 2011. Antiinflammatory, Analgesic and Antipyretic Activities of *Linum usitatissimum* L. (Flaxseed / Linseed) Fixed Oil. *IJEB*. 49: 932 - 8.
14. Yustina, A. 2012. Peningkatan Jumlah Sel Osteoklas pada Keradangan Periapikal Akibat Induksi Lipopolisakarida *Porhyromonas gingivalis* (Suatu Penelitian Laboratories Menggunakan Tikus). *Jurnal Bioscience Pasacasaryana*. 14(3): 140-4