

LAPORAN PENELITIAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak *Nannochloropsis oculata* Terhadap Penurunan Kadar TNF- α pada Tikus yang Diinduksi Bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

(The Effect of Nannochloropsis oculata Extracts to Decreased Levels of TNF- α in Gingival Tissue in Rats Which Induced by Actinobacillus actinomycetemcomitans Bacteria)

Peggie Octavia Halim*, Syamsulina Revianti**, Yoifah Rizka Wedarti***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* is a major periodontopathic bacterium with multiple virulence factors, including LPS. LPS is a potent stimulator cytokines proinflammatory such as TNF- α . *Nannochloropsis oculata* is a green micro algae that has anti-inflammatory effects. **Purpose:** The aim of this study was to prove the effect of *Nannochloropsis oculata* extracts to decreased levels of TNF- α which induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* bacteria. **Materials and Methods:** The experiment was held post test only control group design. 48 male wistar rats divided into 6 groups. K1 group was negative control group without any treatment, K2 group induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* bacteria, K3 group treated with minocycline antibiotics 0.1%, and the other groups K4, K5, K6 were treated with *Nannochloropsis oculata* extract on various concentration that is 2.375%, 2.5%, 2.625%. After treatments on the 37th day, all groups of rats were euthanized and measured the levels of TNF- α in gingival tissue by ELISA. All of the datas were analyzed by Kruskal Wallis dan Mann-Whitney U test. **Result:** This study showed the levels of TNF- α K2 group (36.9444) was significantly higher than K1 group (27.8889). K3 group (29.2778) showed no significant decreased compared to K2 group (36.9444). K4 (35.2778), K5 (33.1111) and K6 (29.2778) groups showed no significant decreased levels of TNF- α compared to K2 group (36.9444). **Conclusion:** *Nannochloropsis oculata* extracts can not reduce the levels of TNF- α in rats which induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* bacteria.

Keywords: *Nannochloropsis oculata*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, alveolar bone resorption

Correspondence: Syamsulina Revianti, Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone. 031-5912191, Email: syamsulinarevianti16@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* merupakan bakteri periodontopatik dengan beberapa faktor virulensi, termasuk LPS. LPS dapat menstimulasi pelepasan sitokin proinflamasi salah satunya adalah TNF- α . *Nannochloropsis oculata* merupakan mikro alga hijau yang memiliki banyak khasiat salah satunya sebagai antiinflamasi. **Tujuan:** Membuktikan pengaruh pemberian ekstrak *Nannochloropsis oculata* terhadap penurunan kadar TNF- α di jaringan gingiva pada tikus yang di induksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. **Bahan dan Metode:** Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian post test only control group design. 36 tikus Wistar jantan dibagi menjadi 6 kelompok. K1 merupakan kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan, K2 merupakan kelompok kontrol positif yang diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, K3 diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan diberi antibiotik minosiklin 0.1%, dan kelompok K4, K5, K6 diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* & diberi ekstrak *Nannochloropsis oculata* masing-masing dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, 2.625%. Setelah perawatan pada hari ke-37, semua kelompok tikus dikorbankan dan diukur kadar TNF- α jaringan gingiva dengan metode ELISA. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Kruskal Wallis dan Mann-Whitney U ($p > 0,05$). **Hasil:** studi menunjukkan kadar TNF- α jaringan gingival kelompok K2 (36.9444). signifikan lebih tinggi bila dibandingkan dengan K1 (27.8889). Kelompok K3 (29.2778) menunjukkan penurunan yang tidak signifikan bila dibandingkan dengan K2 (36.9444). Kelompok K4 (35.2778), K5 (33.1111) dan K6 (29.2778) menunjukkan penurunan yang tidak signifikan bila dibandingkan dengan K2 (36.9444). **Simpulan:** Ekstrak *Nannochloropsis oculata* tidak dapat menurunkan kadar TNF- α jaringan gingiva pada tikus yang diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Kata kunci: *Nannochloropsis oculata*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, TNF- α .

Korespondensi: Syamsulina Revianti, Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5912191, Email: syamsulinarevianti16@gmail.com

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit yang banyak terdapat dalam masyarakat di negara maju maupun negara berkembang. Data yang dikumpulkan WHO di 35 negara, menunjukkan prevalensi yang cukup tinggi yaitu lebih dari 75% pada orang yang berumur 35-44 tahun di 7 negara, dan 40-47% di 13 negara serta prevalensi yang sedang atau kurang dari 40% di 15 negara. Berdasarkan hasil laporan yang diterima Direktorat Kesehatan Gigi, menunjukkan gambaran prevalensi penyakit periodontal yang meningkat pada usia

34-44 tahun yaitu sekitar 77,91%-87,10%.^{1,2}

Penumpukan bakteri plak pada permukaan gigi merupakan penyebab utama penyakit periodontal. Penyakit periodontal dimulai dari gingivitis yang bila tidak terawat bisa berkembang menjadi periodontitis dimana terjadi kerusakan jaringan pendukung periodontal yang berupa kerusakan fiber, ligamen periodontal dan tulang alveolar.^{3,4}

Periodontitis dibagi menjadi periodontitis kronis, agresif dan periodontitis sebagai manifestasi penyakit sistemik. Periodontitis agresif didominasi oleh bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Bakteri

Actinobacillus actinomycetemcomitans merupakan penyebab penyakit periodontal dengan kerusakan yang progresif.⁵

Bakteri yang ada di dalam plak, termasuk lipopolisakarida (LPS) dan asam *lipoteichoic*, berinteraksi dengan *toll-like receptor* pada sel epitel, leukosit dan fibroblas, merangsang produksi sitokin seperti IL-1 beta, TNF-alfa, IL-6, IL-8, prostaglandin E2 (PGE2). Untuk memudahkan infiltrasi leukosit, fibroblas yang distimulasi oleh IL-1 beta dan TNF-alfa mensekresi matriks metalloproteinase (MMPs), yang mendegradasi molekul-molekul matriks ekstraseluler termasuk kolagen.⁶ Respon inflamasi dari jaringan periodontal dapat menimbulkan kerusakan jaringan dan resorpsi tulang alveolar.⁷

Tumor necrosis factor-α (TNF-α) memainkan peran penting dalam peradangan periodontal. TNF-α terutama dihasilkan oleh makrofag yang teraktivasi. TNF-α memiliki potensi yang kuat untuk meningkatkan resorpsi tulang dan terlibat dalam degradasi jaringan ikat dengan merangsang prostaglandin-E2 dan kolagenase.⁸ Beberapa penelitian telah melaporkan terdapat peningkatan kadar TNF-α pada *gingival crevicular fluid* (GCF) dan jaringan gingiva pada pasien dengan periodontitis.^{9,10,11}

Telah diketahui bahwa penyakit periodontal disebabkan oleh infeksi bakteri⁵, sehingga pada perawatan penyakit periodontal dapat menggunakan antibiotik yang dapat diberikan secara sistemik dan lokal. Antibiotik yang biasa digunakan adalah tetrasiklin, metronidazole, amoksisilin, klindamisin dan siprofloksasin.^{12,13} Adanya penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Abuzar membuktikan bahwa

minosiklin dalam bentuk obat kumur efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Mixed periodontopathogen* pada konsentrasi 0,1%.¹⁴

Antibiotik digunakan sebagai penunjang untuk terapi periodontal secara mekanik dalam mendapatkan peningkatan keuntungan klinis karena antibiotik mampu membunuh bakteri patogen subgingiva yang masih ada pasca perawatan mekanis.¹⁵ Namun pemberian antibiotik dapat menimbulkan berbagai efek samping seperti resistensi bakteri, reaksi alergi dan reaksi toksik, dan diskolorisasi gigi.⁵

Akhir-akhir ini konsep terapi tersebut mulai berubah, yang dibuktikan oleh penelitian mengenai respon *host* terhadap bakteri yang memberikan kontribusi utama dalam patogenesis penyakit periodontal.¹⁶ Peran respon *host* dalam proses inflamasi dan perkembangan destruksi jaringan pada penyakit periodontal merupakan dasar dari pendekatan terapi, dengan cara menghambat mediator proinflamasi yang terlibat dalam respon jaringan yang mengalami destruksi.^{17,18}

Tujuan terapi ini untuk mengeliminasi peradangan gingiva dan mengurangi kedalaman poket serta meningkatkan perlekatan.¹⁹ Penelitian menunjukkan bahwa penggunaan obat anti-inflamasi non steroid (OAINS) seperti *endometachin*, *flurbiprofen* dan *naproxen* dalam terapi periodontal yang diberikan setiap hari selama 3 tahun, secara signifikan dapat memperlambat laju kehilangan tulang alveolar dibandingkan dengan placebo.⁵

Obat anti inflamasi nonsteroid (OAINS) banyak dipakai dalam klinik untuk pelbagai penyakit pada orang

dewasa. Efek samping yang sering ditemukan adalah dispepsi ringan sampai berat bahkan erosi, ulserasi sampai hematemesis melena atau perforasi.²⁰ Oleh sebab itu perlu dikembangkan suatu obat anti inflamasi alami yang diharapkan dapat meminimalkan efek samping yang terjadi.

Nannochloropsis oculata merupakan salah satu alga laut yang mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder di antaranya fenol, tokoferol, terpenoid, karotenoid, alkaloid, *oxylipin* dan flavonoid.^{21,22}

Tokoferol atau vitamin E dan Terpenoid telah dilaporkan memiliki kandungan anti-inflamasi alami.^{23,24} Alkaloid dan flavonoid memiliki aktivitas anti inflamasi dengan cara menghambat TNF- α .²⁵ Karotenoid berfungsi sebagai antioksidan, dan imunostimulator yang dapat mencegah penyakit dan anti-inflamasi.^{26,27} *Oxylipins* berasal dari asam lemak ω - 3, seperti DHA dan EPA, yang dikenal sebagai anti-inflamasi alami.²⁸ Berdasarkan kajian di atas, maka *Nannochloropsis oculata* merupakan salah satu biota laut yang memiliki efek menguntungkan, karena memiliki sifat antibakteri, antiinflamasi, antiviral, imunomodulator dan sebagai antioksidan.^{29,30,21,22}

Berdasarkan penelitian yang dilakukan secara *in vitro* oleh Revianti dan Kristanti, ekstrak *Nannochloropsis oculata* bersifat tidak toksik pada kultur stem sel fibroblas dengan ambang batas konsentrasi 2,5% sedangkan pada konsentrasi di atas 2,5% toksik terhadap stem sel fibroblas.³¹ Oleh sebab itu penulis ingin melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui khasiat *Nannochloropsis oculata* sebagai obat anti-inflamasi alami pada konsentrasi

2,5% kemudian dinaikan 5% dan diturunkan 5%, sehingga didapatkan konsentrasi 2,375%, 2,5% dan 2,625% pada tikus yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomytans* dengan mengukur kadar TNF- α pada jaringan gingiva sebagai parameter penelitian.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental* dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*.

Besar sampel pada penelitian ini adalah 36 ekor tikus yang dibagi dalam 6 kelompok. Teknik pengambilan sampel adalah secara *simple random sampling* (acak atau secara undian).

Alat digunakan pada penelitian ini terdiri atas : masker, *gloves*, timbangan digital, timbangan analitik 4 desimal, sendok tanduk, *hotplate*, *stiller*, gelas ukur, *mortir*, *stamper/pestle*, *sput syringe* 5 cc, *yellow tip*, mikro pipet 10 μ l dan 100 μ l, vortex, *micropour*, *autoclave*, *disposable oral sponge swab*, kandang tikus wistar, tempat makan dan minum tikus, timbangan badan, alat pembedahan tikus untuk mengambil bahan uji (*scalpel*, pinset, gunting, kapas), tabung untuk sampel dan hasil uji, tabung *sentrifuge*, mikropipet, mikroplate, ELISA *washer*, inkubator, micro ELISA reader.

Bahan yang digunakan adalah : suspensi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, antibiotik *Minocycline* 0.1%, ekstrak mikroalga hijau *Nannochloropsis oculata* dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625%, makanan standar tikus Wistar, minuman tikus Wistar (minuman yang diberikan berupa air PDAM biasa

secara *ad libitum*), eter, ketamin dan *xylazine*, *Sodium Carboxymethylcellulose* 2%, PBS pH 7,6, TNF- α ELISA kit.

Setelah memperisapkan tikus sesuai dengan kriteria sampel, pada hari pertama, 36 tikus di aklimatisasi selama 7 hari dalam kandang ukuran 40cm x 30 cm x 14 cm dan ditempatkan dalam ruangan yang cukup udara dan cahaya. Kemudian pada hari ke-7, tikus dibagi dan diberi tanda menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok 1, 2, 3, 4, 5, dan 6. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 tikus yang diletakkan dalam 1 kandang.³²

Pada hari ke-8, setelah semua tikus dibagi menjadi 6 kelompok, kelompok ke-1 diinduksi dengan PBS 70 μ l secara injeksi pada lingual jaringan gingiva molar ke-2 kemudian di tetesi kembali dengan campuran PBS dan CMCNa 2% sebanyak 700 μ l. Pada kelompok ke-2 sampai ke-6, tikus diinduksi dengan bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* 1×10^9 CFU yang diencerkan dalam 70 μ L PBS secara injeksi pada lingual jaringan gingiva molar ke-2 kemudian ditetesi kembali dengan campuran 1×10^9 CFU bakteri Aa yang diencerkan dalam 700 μ L PBS dengan 2% *Sodium Carboxymethylcellulose* pada rongga mulut dengan mikropipet. Pemberian dilakukan sebanyak 3 kali dalam 4 hari yang diulangi pada 48 jam dan 96 jam kemudian setelah induksi pertama dilakukan.³³

Selanjutnya pada hari ke-12, Kelompok ke-1 dan ke-2, diberikan PBS-CMCNa 2% sebanyak 0.14 ml dengan cara dioleskan pada bagian bukal dan lingual gingiva rahang bawah masing-masing 70 μ l pada tiap tikus sebanyak 1 kali sehari selama 25 hari. Sedangkan pada kelompok ke-3 diberi antibiotik *minocycline* 0.1%

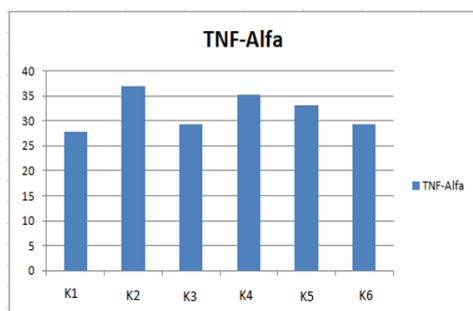
sebanyak 0.14 ml secara topikal pada bagian bukal dan lingual gingiva rahang bawah masing-masing 70 μ l pada tiap tikus sebanyak 1 kali sehari selama 25 hari. Pada kelompok 4,5,6 diberi ekstrak *Nannochloropsis oculata* sebanyak 0.14 ml secara topikal pada bagian bukal dan lingual gingiva rahang bawah masing-masing 70 μ l pada tiap tikus sebanyak 1 kali sehari selama 25 hari dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625%.^{33,34} Akhirnya pada hari ke-37 semua kelompok tikus dikorbankan dan di ambil jaringan gingivanya. Setelah itu dilakukan pengukuran kadar TNF- α dengan metode ELISA. Setelah didapatkan data hasil pengukuran, dilakukan tabulasi dan analisis data.³⁴

HASIL

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan peringkasan data guna memperjelas penyajian hasil, kemudian dilakukan uji hipotesis menggunakan statistik analitik dengan taraf signifikansi 95% ($p=0,05$) dengan menggunakan program SPSS versi 17.

Tabel 1. Rata-rata dan simpangan baku kadar TNF- α jaringan gingiva tikus pada setiap kelompok percobaan dengan satuan pg/ml.

Kelompok	Rata-rata $\pm$ Standar deviasi
K1	27.8889 $\pm$ 8.40283
K2	36.9444 $\pm$ 7.96776
K3	29.2778 $\pm$ 4.67818
K4	35.2778 $\pm$ 7.81855
K5	33.1111 $\pm$ 8.19125
K6	29.1778 $\pm$ 5.56745



Gambar 2. Rata-rata kadar TNF- α pada masing-masing kelompok

Kemudian dilakukan uji normalitas pada setiap kelompok dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, karena jumlah sampel <50 . Hasil uji *Shapiro-Wilk* pada penelitian ini menunjukkan bahwa distribusi data dinyatakan tidak normal. hasil uji

Levene didapatkan nilai signifikansi 0.861 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data hasil penelitian homogen.

Hasil data di atas diketahui memiliki distribusi data yang tidak normal dan memiliki varians yang homogen. Oleh karena itu, dilanjutkan dengan uji *Kruskal wallis*.

Hasil uji *Kruskal wallis*, diperoleh nilai $p=0.172$ ($p > 0.05$) yang artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan). Selanjutnya, untuk melihat perbedaan kadar TNF- α masing-masing kelompok perlakuan, maka dilakukan pengujian *Mann whitney* dengan signifikansi $p < 0.05$.

Tabel 2. Tabel hasil uji *Mann whitney*

Kelompok	Rata-rata $\pm$ Standar deviasi	Kelompok	Rata-rata	Sig.
K1	27.8889	K2	36.9444	0.037*
		K3	29.2778	0.261
		K4	35.2778	0.078
		K5	33.1111	0.200
		K6	29.2778	0.522
		K3	29.2778	0.092
K2	36.9444	K4	35.2778	0.749
		K5	33.1111	0.337
		K6	29.2778	0.109
K3	29.2778	K4	35.2778	0.128
		K5	33.1111	0.423
		K6	29.2778	0.810
K4	35.2778	K5	33.1111	0.631
		K6	29.2778	0.261
K5	33.1111	K6	29.2778	0.378

Berdasarkan data hasil uji non parametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis* dengan nilai signifikan 0.172 ($p > 0.05$). Didapatkan data kadar TNF- α jaringan gingiva secara keseluruhan menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan, Namun bila dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U* untuk melihat signifikansi data masing-masing kelompok, ternyata terdapat

perbedaan yang signifikan hanya pada kelompok K1 dan K2 ($p < 0,05$), sedangkan pada kelompok yang lain tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

PEMBAHASAN

Periodontitis menduduki urutan ke dua utama yang masih merupakan

masalah di masyarakat Indonesia.³ Periodontitis menyebabkan kerusakan yang progresif dan apabila tidak dirawat dapat berlanjut sampai pada tahap destruksi tulang sehingga menyebabkan kegoyangan pada gigi dan berujung pada kehilangan gigi.⁵

Penyebab periodontitis adalah bakteri anaerob, salah satunya adalah bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* yang sekarang dikenal dengan nama *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang dominan pada periodontitis agresif. Beberapa metode perawatan periodontitis agresif yang sering dijumpai dapat berupa terapi nonbedah, bedah maupun kombinasi keduanya yang disertai pemberian antimikroba/antibiotik.⁵ Banyaknya peningkatan resistensi antibiotik sekarang ini mendorong untuk menemukan senyawa antibakteri baru melalui keanekaragaman hayati biota laut Indonesia, salah satunya adalah mikroalga hijau *Nannochloropsis oculata*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak *Nannochloropsis oculata* dengan konsentrasi yang berbeda-beda terhadap penurunan kadar TNF- α pada tikus yang diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Sampel penelitian adalah tikus Wistar putih (*rattus novergicus strain wistar*) jantan dengan berat badan berkisar 250-300 gram dan berusia 6 bulan (setara dengan 18 tahun manusia). Tikus Wistar dipilih sebagai model hewan coba karena merupakan mamalia yang mempunyai tipe metabolisme dan aktivitas biologis yang sama dengan manusia, serta banyak gejala kondisi manusia yang dapat direplikasi pada tikus, sehingga hasilnya dapat digeneralisasi pada manusia.³⁵ Selain itu, penelitian ini menggunakan hewan

coba berjenis kelamin jantan karena dasar pertimbangan pada manusia yaitu jika menggunakan tikus berkelamin betina dikhawatirkan tikus tersebut akan mengalami menstruasi dimana terjadi ketidakseimbangan hormon yang akan mempengaruhi hasil penelitian.³²

Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan bahwa tikus kelompok K2 dengan induksi dan tetesan bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* menyebabkan peningkatan kadar TNF- α yang signifikan dibandingkan dengan tikus kelompok K1 yang tidak diberi induksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Actinobacillus actinomycetemcomitans merupakan bakteri penyebab penyakit periodontitis agresif, yang dapat menyebabkan kerusakan yang progresif. Bakteri ini akan mengeluarkan LPS (Lipopolisakarida) dan merangsang sel-sel radang pada jaringan periodontal untuk menghasilkan sitokin seperti IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , dan prostaglandin E2 (PGE2). Sitokin tersebut akan menyebabkan peningkatan produksi matriks metalloproteinase (MMPs) yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan matriks ekstraseluler pada jaringan periodontal.³⁶ Sitokin IL-1, IL-8, dan TNF- α juga mampu mempengaruhi kerja reseptor RANKL yang terdapat di osteoblas untuk berikatan dengan RANK sehingga menyebabkan osteoklas teraktivasi.³⁷ Peningkatan aktivitas osteoklas disertai dengan kerusakan matriks ekstraseluler yang terus menerus dapat memicu kerusakan jaringan periodontal yang menyebabkan resorpsi tulang.⁵

Pada beberapa kasus terapi dengan pemberian antibakteri merupakan upaya untuk mengatasi

faktor penyebab selain terapi mekanis. Salah satu antibakteri atau antibiotik yang sering digunakan adalah minosiklin. Minosiklin mempunyai efek bakteriostatik dan aktifitas *inhibitory* MMP (*matriksmetaloproteinase*). Minosiklin yang merupakan analog tetrasiklin, aktif melawan bakteri dengan spektrum luas dari periodontal patogen.³⁸

Minosiklin dan golongan tetrasiklin merupakan satu-satunya antibiotik yang mempunyai kapasitas sebagai *chelating agent*. Molekul minosiklin berikatan dengan logam dengan afinitas yang tinggi (kemampuan untuk mengikat elektron yang besar).³⁹ *Chelating Agent* adalah molekul yang memiliki kemampuan untuk membentuk lebih dari satu ikatan dengan logam ion, sehingga meningkatkan stabilitas dari kompleks ion yang mengikat kalsium intrasel. Penurunan kalsium intraseluler akan menghambat kerusakan oksidatif dalam sel. Minosiklin membentuk ikatan kompleks dengan ion logam seperti kalsium, magnesium, zinc dan besi.³⁴

Enzim MMPs merupakan anggota suatu sub famili besar enzim proteolitik (*proteinase*) yang tergantung pada zinc dan kalsium. Enzim MMPs merupakan protein utama yang terlibat dalam kerusakan jaringan periodontal. Enzim MMPs ditemukan pada neutrofil, makrofag, fibroblas, sel epitelial, osteoblas dan osteoklas, yang mendegradasi molekul matriks ekstraseluler seperti kolagen, elastin, dan gelatin. Enzim MMPs juga diproduksi oleh bakteri patogen *Porphyromonas gingivalis* dan *Actinobacillus actinomycetemcomitans* walaupun bukan merupakan faktor utama pada perkembangan penyakit

periodontal.⁵ Minosiklin dengan sifat *chelating agent* dapat mengikat ion kalsium dan ion Zn yang terletak di sisi aktif dari MMPs dan menghasilkan efek antiproteolitik yang dapat menghambat kerusakan jaringan periodontal.³

Pada penelitian ini didapatkan juga bahwa tikus kelompok K3 dengan induksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan pemberian antibiotik minosiklin 0.1% sebanyak 0.14 ml selama 25 hari menunjukkan penurunan kadar TNF- α yang tidak signifikan dibandingkan dengan tikus kelompok K2. Hal ini dikarenakan dosis minosiklin yang digunakan pada penelitian ini terlalu kecil untuk dapat membunuh semua bakteri, dosis tersebut mengacu pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Abuzar (2012) yang membuktikan bahwa minosiklin mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 0,1% secara *in vitro*.¹⁴ Sedangkan pada penelitian ini pemberian minosiklin dilakukan secara *in vivo*, sehingga obat harus melalui proses metabolisme tubuh, yaitu ADME (Absorpsi Distribusi Metabolisme dan Ekskresi). Selain itu, untuk dapat mempercepat penurunan kadar TNF- α yang merupakan mediator pro inflamasi harus didukung dengan pemberian antiinflamasi. Perubahan TNF- α dapat juga dipengaruhi oleh respon host, karena TNF- α merupakan reaksi dari respon imun; respon imun/ respon *host* masing-masing individu berbeda.

Pada perkembangannya penggunaan antibiotik yang tidak beraturan dapat menyebabkan residu dalam jaringan organ yang dapat menyebabkan timbulnya alergi, resistensi, dan mungkin keracunan sehingga cukup berbahaya bagi

manusia.⁴⁰ Selain itu minosiklin yang merupakan turunan dari tetrasiklin, memiliki kekurangan yaitu pada pemakaian jangka panjang dapat menyebabkan terjadinya disgenesis berupa perubahan warna gigi permanen.⁴¹ Maka dari itu, untuk mencegah terjadinya efek samping tersebut perlu dikembangkan suatu bahan yang berasal dari bahan alami serta memiliki daya antibakteri yang baik, salah satunya adalah mikroalga hijau *Nannochloropsis oculata*.

Pada penelitian ini terbukti bahwa tikus kelompok K4, K5, dan K6 dengan induksi bakteri *Actinobacillus ctinomycetemcomitans* dan diterapi dengan pemberian ekstrak *Nannochloropsis oculata* masing-masing dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625% sebanyak 0.14 ml secara topikal pada tikus selama 25 hari menunjukkan penurunan kadar TNF- α yang tidak signifikan bila dibandingkan dengan tikus kelompok 2.

Begitu pula pada kelompok K4, K5, dan K6 menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan bila dibandingkan dengan K3. Penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak *Nannochloropsis oculata* dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625% memiliki pengaruh yang sama dengan antibiotik minosiklin dalam menurunkan kadar TNF- α . Hal ini disebabkan karena dosis antibiotik minosiklin dan ekstrak *Nannochloropsis oculata* yang digunakan pada penelitian ini tidak cukup besar untuk berfungsi sebagai antiinflamasi dan untuk membunuh semua bakteri, sehingga bakteri yang masih ada melepaskan LPS yang dapat mengaktivasi makrofag untuk melepaskan TNF- α .

Nannochloropsis oculata memiliki kandungan senyawa aktif yang berkhasiat sebagai anti inflamasi, yaitu flavonoid, omega-3 dan oxypilins. Senyawa flavonoid merupakan salah satu bahan aktif yang terdapat pada ekstrak *Nannochloropsis oculata*. Flavonoid dapat berfungsi sebagai agen antiinflamasi. Flavonoid berfungsi untuk membatasi pelepasan mediator inflamasi yang dilakukan melalui penghambatan siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga terjadi pembatasan jumlah sel inflamasi yang bermigrasi ke jaringan perlukaan. Reaksi inflamasi akan berlangsung lebih singkat dan kemampuan proliferative dari TGF- β tidak terhambat, sehingga proses proliferasi dapat segera terjadi.⁴² Mekanisme flavonoid dalam menghambat proses inflamasi terjadi melalui dua cara, yaitu dengan menghambat permeabilitas kapiler dan menghambat metabolisme asam arakidonat dan sekresi ezim lisosom dari sel neutrofil dan sel endothelial.⁴³

Mekanisme *oxylipin* dalam menghambat inflamasi yaitu dengan menghambat permeabilitas kapiler dan menghambat metabolisme asam arakidonat serta sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan sel endothelial. Sebagai antioksidan, *oxylipin* mempunyai gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekulnya, dimana akan menghambat kerja enzim yang terlibat dalam reaksi produksi anion superoksida, misalnya xantin oksidase dan protein kinase. Selain itu, senyawa aktif ini juga menghambat siklooksigenase, lipooksigenase, mikrosomal monooksigenase, glutathion-S-transferase, mitokondrial suksinoksidase, NADH oksidase.^{44,45}

Omega 3 sebagai antiinflamasi memiliki mekanisme dengan

mengatur ekspresi gen dan sinyal transduksi gen sitokin proinflamatori melalui transkripsi mRNA sitokin yang menyebabkan penurunan sitokin proinflamatori (interleukin dan TNF- α).^{37,46}

Hasil kelompok K6 kadar TNF- α nya lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok K4 dan K5 namun tidak signifikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak *Nannochloropsis oculata* dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625% tidak dapat menurunkan kadar mediator pro inflamasi yaitu TNF- α . Hal ini disebabkan karena dosis ekstrak *Nannochloropsis oculata* yang digunakan pada penelitian ini tidak cukup besar untuk dapat berfungsi sebagai antiinflamasi. Selain itu, untuk uji antiinflamasi sebaiknya menggunakan indikator sitokin proinflamasi yang lain selain TNF- α seperti halnya, Interleukin-1, Interleukin-6, dan Interferon- gamma.

Pada penelitian ini, baik minosiklin 0,1% maupun *Nannochloropsis oculata* dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625% tidak dapat menurunkan kadar TNF- α pada tikus yang diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, sehingga tidak dapat digunakan sebagai terapi penyakit periodontal khususnya periodontitis agresif yang didominasi oleh bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak *Nannochloropsis oculata* pada konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625% mampu menurunkan kadar TNF- α secara tidak signifikan pada tikus

dengan induksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Ekstrak *Nannochloropsis oculata* yang paling efektif dalam menurunkan kadar TNF- α pada tikus yang diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* adalah konsentrasi 2.625%, walaupun tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Ekstrak *Nannochloropsis oculata* dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625% memiliki pengaruh yang sama dengan minosiklin dalam menurunkan kadar TNF- α pada tikus yang diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Macedo TCD, Costa MDCN, Filho ISG, Vianna MIP, Santos CT. 2006. Factors Related to Periodontal Disease in a Rural Population. Brazilian Oral Research, 20(3): 88-74.
2. Tampubolon SN. 2005. Dampak Karies Gigi dan Penyakit Periodontal terhadap Kualitas Hidup. Pidato Pengukuhan. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia. Available from http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/20526/3/ppgb_2005_nurmala_situ_morang.pdf.txt. Diakses 29 Oktober 2013.
3. Wahyukundari MA. 2009. Perbedaan Kadar Matrix Metalloproteinase-8 Setelah Scalling dan Pemberian Tetrasiklin pada Penderita Periodontitis Kronis. Jurnal PDGI, 58(1): 2-1.
4. Wangsarahardja K. 2005. Penyakit Periodontal Sebagai Faktor Risiko Penyakit Jantung Koroner. Universa Medicina, 24(3): 136.
5. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. 2012. Carranza's Clinical Periodontology, 11thed., Philadelphia: WB Saunders Company. P. 494-492, 373, 201, 194, 44-41.
6. Susilowati, Imam M. 2011. Dinamika Ekspresi Gen Matrix Metalloproteinase-8 dan Tissue Inhibitor Metalloproteinase-1 pada Pemakaian Piranti Ortodontik Lepas. Departement of Orthodontics, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanudin Makassar, Indonesia. H. 9. Available from

- <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&ved=0CCMQFjAA&url=http%3A%2F%2Frepository.unhas.ac.id%2Fbitstream%2Fhandle%2F123456789%2F606%2FMMP%2520dan%2520TIMP-1%2520Medan.doc%3Fsequence%3D1&ei=gr0BU4u9E6SpiAf-IYHQBQ&usq=AFQjCNEH7EtLMIFrkLWOIj0RBT2xvYbITg&bvm=bv.61535280,d.aGc>. Diakses 11 Januari 2014.
7. Grigoriadou ME, Spridon OK, Phoebus NM, Jorg RS. 2010. Interleukin-1 as a Genetic Marker for Periodontitis. *Quintessence International*, 41(6): 517.
 8. Morimoto Y, Kawahara KI, Tancharoen S, Kikuchi K, Matsuyama T, Hashiguchi. 2008. Tumor Necrosis Factor- α Stimulates Gingival Epithelial Cells to Release High Mobility-Group Box.1. *Journal of Periodontal Research*, 43(1): 83-76.
 9. Shapira L, Stabholz A, Rieckmann P, Kruse N. 2001. Genetic Polymorphism of the Tumor Necrosis Factor (TNF)-Alpha Promoter Region in Families with Localized Early-Onset Periodontitis. *Journal Periodontal Research*, 36(3): 186-183.
 10. Ejeil AL, Gaultier F, Tchen S, Senni K, Pellat B, Godeau G, Gogly B. 2003. Are Cytokines Linked to Collagen Breakdown During Periodontal Tissue Progression?. *Journal of Periodontology*, 74(2): 201-196.
 11. Schulz S, Machulla HK, Altermann W, Klapproth J, Zimmermann U, Glaser C, Kluttiq A, Stein J, Schaller HG, Reichert S. 2008. Genetic Markers of Tumour Necrosis Factor Alpha in Aggressive and Chronic Periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(6): 500-493.
 12. Brook I. 2003. Microbiology and Management of Periodontal Infections. *General Dentistry*, 51(5): 428-424.
 13. Krismariono A. 2009. Antibiotika sistemik dalam perawatan penyakit periodontal. *Periodontic Journal*, 1(1): 19-15.
 14. Abuzar. 2012. Penentuan Konsentrasi Optimal Obat Kumur Minosiklin Dalam Rentang Konsentrasi 0.0125%-0.2% Terhadap Bakteri Mixed Periodontopathogen. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya, Indonesia. H. 3.
 15. Yek EC, Cinton S, Topcuoglu N, Kulekci G, Issever H, Kantarci A. 2010. Efficacy of Amoxicillin and Metronidazole Combination for the Management of Generalized Aggressive Periodontitis. *Journal of Periodontology*. Vol 81(7): 974-964.
 16. Williams RC. 2007. Host Modulation for the Treatment of Periodontal Disease. *Inside Dentistry*. Vol 3(1): 5-2.
 17. Nassar CA, Nassar PO, Nassar PM, Spolidorio LC. 2005. Selective Cyclooxygenase-2 Inhibition Prevents Bone Resorption. *Brazilian Oral Research*, 19(1): 40-36.
 18. Tipton DA, Flin JC, Stein SH, Dabbous MKh, 2003. Cyclooxygenase-2 Inhibitors Decrease Interleukin-1 β -Stimulated Prostaglandin E2 and IL-6 Production by Human Gingival Fibroblasts. *Journal of Periodontology*, 74(12): 1763-1754.
 19. Mlachkova PA. 2009. Effectiveness of Additional Therapy with NSAID (aulin) on Distribution of Shallow and Periodontal Pockets in Patients with Chronic Periodontitis. *Journal of IMAB* Vol 15(2): 55.
 20. Widjojo J. 2003. Obat Antiinflamasi Non-Steroid Sebagai Penyebab Terbanyak Perdarahan Saluran Cerna. *MKB*, 35(1): 2-1.
 21. Yanuhar U. 2009. Pengaruh Pemberian Bahan Aktif Ekstrak *Nannochloropsis oculata* terhadap Kadar Radikal Bebas pada Ikan Kerapu (*Cromileptesaltivelis*) yang Terinfeksi Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 1(2): 191-185.
 22. Yanuhar U, Maizar A, Irawan B, Nurdiani R. 2011. Eksplorasi dan pengembangan bahan aktif mikroalga laut (*Nannochloropsis oculata*) sebagai antibakteri *Vibrio alginolyticus* dan respons imun secara *in vivo* pada ikan kerapu. *Humback grouper*. Berk. Penelitian Hayati Edisi Khusus: 6C (1-5).
 23. Singh S. 2012. Structural Modeling and Simulation Studies of Human Cyclooxygenase 1 (HsCOX1) with Anti-inflammatory Terpenoids: Implications in Drug Targeting and Designing. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 3(1): 12-1.
 24. Bruunsgaard H, Henrik EP, Bente KB, Kristiina N, Jari K, Jukka TS. 2003. Long-Term Combined Supplementations with α -Tocopherol and Vitamin C Have No Detectable Anti-inflammatory Effects in Healthy Men. *The Journal of Nutrition*, 133(4): 1172-1170.
 25. Mukhija M, Sundriyal A. 2013. Phytoconstituents Responsible for Anti-

43. Kurniawati A. 2005. Uji Aktivitas Anti Inflamasi Ekstrak Metanol *Graptophyllum griff* pada Tikus Putih. *Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional IV*, 11-13: 170-167.
44. Fitriyani A, Winarti L, Muslichah, Nuri. 2011. Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*, 16(1): 42-32.
45. Hertiani T, Pramono S, Supardjan. 2000. Uji Daya Antioksidan Senyawa Flavonoid Daun *Plantogo major* L. *Majalah farmasi Indonesia*, 11(4): 246-234.
46. Ernest P. 2012. Pengaruh Kandungan Ion Nitrat Terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* Sp. Skripsi, Fakultas Teknik Kimia Universitas Indonesia Jakarta, Indonesia. Available from <http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&ved=0CCsQFjAA&url=http%3A%2F%2Ffontar.ui.ac.id%2Ffile%3Ffile%3Ddigital%2F20308618-S%2B42592-Pengaruh%2Bkandungan-full%2Btext.pdf&ei=olYIU4PrPMrtrQezuIGgCA&usg=AFQjCNFwPOkDBYKCxFuUBZcC2Ljq-MBnig&bvm=bv.61725948,d.bmk>. Diakses 10 juli 2013.