

PENGARUH GEL EKSTRAK DAUN KARI TERHADAP EPITEL GINGIVA DAN OSTEOKLAS TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI PERIODONTITIS

Dewi Saputri^{1*}, Nuzulul Ismi², Zulfan M. Alibasyah³, Fathiya Zuhra⁴, Gebrina Dimah Risky⁵

^{1,2,3}Bagian Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

^{4,5}Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

Korespondensi: Dewi Saputri, dewisaputri@usk.ac.id

ABSTRAK

Latar Belakang: Periodontitis merupakan penyakit inflamasi pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh kelompok bakteri yang mengakibatkan kerusakan progresif ligamen periodontal dan tulang alveolar sehingga terjadi resesi gingiva dan pembentukan poket periodontal. Epitel gingiva merupakan lapisan terluar dari gingiva yang memiliki peran dalam melindungi jaringan dibawahnya dari trauma mekanis, kimiawi dan termal serta invasi mikroba. Kerusakan tulang alveolar ditandai dengan aktivitas sel osteoklas, yaitu sel yang meresorpsi tulang alveolar. Daun Kari (*Murraya koenigii*) mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin. Senyawa flavonoid dapat menurunkan jumlah sel osteoklas sehingga dapat mengurangi resorpsi tulang. **Tujuan:** penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh gel ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) terhadap ketebalan epitel gingiva dan jumlah sel osteoklas pada tikus Wistar jantan yang diinduksi periodontitis. **Metode:** penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris dengan menginduksi periodontitis pada tikus Wistar jantan selama 21 hari dan dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok perlakuan (gel ekstrak daun Kari), kontrol positif (*metronidazole*) dan kontrol negatif (akuades). Penghitungan ketebalan epitel gingiva dan jumlah sel osteoklas dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya. **Hasil:** Analisis data menggunakan *one-way Anova* memperlihatkan terdapat perbedaan yang signifikan terhadap peningkatan ketebalan gingiva pada semua kelompok dan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* terlihat adanya perbedaan yang signifikan terhadap penurunan jumlah sel osteoklas tikus Wistar jantan yang diinduksi periodontitis pada semua kelompok. **Kesimpulan:** gel ekstrak daun Kari 10% (*Murraya koenigii*) memiliki pengaruh terhadap peningkatan ketebalan epitel gingiva dan penurunan jumlah sel osteoklas pada tikus Wistar jantan yang diinduksi periodontitis, tetapi terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif.

Kata kunci: Periodontitis, ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*), osteoklas, epitel gingiva

ABSTRACT

Background: Periodontitis is an inflammatory disease of the supporting tissues of the teeth caused by a group of bacteria which results in progressive destruction of the periodontal ligament and alveolar bone resulting in gingival recession, and pocket formation. The gingival epithelium is the outermost layer of the gingiva which has a role in protecting the underlying tissue from mechanical, chemical and thermal trauma and microbial invasion. Meanwhile, alveolar bone damage is characterized by the activity of osteoclast cells, namely cells that resorb alveolar bone. Curry leaves (*Murraya koenigii*) contain alkaloids, saponins, flavonoids and tannins. Flavonoid compounds can reduce the number of osteoclast cells so that they can reduce bone resorption. **Purpose:** this research aims to determine the effect of curry leaf extract gel (*Murraya koenigii*) to the thickness of the gingival epithelium and the number of osteoclasts in male Wistar rats induced by periodontitis. **Methods:** this research was an experimental laboratory by inducing periodontitis in male Wistar rats for 21 days and divided into three groups: treatment group (Kari leaf extract gel), positive control (*metronidazole*) and negative control (aquadest). Counting the thickness of the gingival epithelium and the number of osteoclast cells was carried out using a light microscope. **Results:** data analysis using test *one-way Anova* showed there was a significant difference on the increase thickness of gingival epithelium and using test *Kruskal-Wallis* showed a significant decrease the number of osteoclast cells in male Wistar rats induced by periodontitis in all groups. **Conclusion:** Kari leaf extract gel 10% (*Murraya koenigii*) has an effect on increasing the thickness of the gingival epithelium and decreasing the number of osteoclast cells in male Wistar rats induced by periodontitis, but there was a significant difference to the positive control.

Keywords: Periodontitis, Kari leaves extract (*Murraya koenigii*), osteoclast, gingival epithelium

PENDAHULUAN

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh kelompok bakteri tertentu yang mengakibatkan kerusakan progresif dari ligamen periodontal dan tulang alveolar sehingga terjadi resesi gingiva serta pembentukan poket periodontal.¹ Bakteri tersebut dapat menghasilkan faktor virulensi yakni lipopolisakarida (LPS) yang dapat merusak jaringan ikat sehingga menimbulkan penyakit periodontal.²

Dengan adanya respon imun pada rongga mulut, LPS dapat mengaktifasi sel-sel inflamasi yang akan melepaskan enzim proteolitik yaitu protease. Peningkatan infiltrasi dari inflamasi sel akan menyebabkan mekanisme fagositosis terhadap aktivitas antigen sehingga menimbulkan radikal bebas. Protease dan radikal bebas tersebut selain dapat merusak sel yang terpapar patogen, juga dapat mengakibatkan kerusakan sel, protein, dan komponen matriks ekstraseluler pada epitel.³ Epitel gingiva merupakan lapisan terluar dari gingiva yang memiliki peran dalam melindungi jaringan dibawahnya dari trauma mekanis, kimiawi dan termal serta invasi mikroba.¹

Reaksi inflamasi kronis yang disebabkan oleh bakteri dapat mengakibatkan terjadinya resorpsi tulang alveolar. Produksi toksin dari bakteri memicu monosit, leukosit polimorfonuklear, makrofag, dan sel lainnya melepaskan mediator inflamasi seperti IL-1, TNF- α dan PGE2.⁴ Interleukin-1 dan TNF- α memiliki peran dalam resorpsi tulang alveolar pada penyakit periodontal, keduanya mengatur keseimbangan antara RANKL dan OPG.⁵

Receptor activator of nuclear factor kappa β ligand (RANKL) adalah ligand yang mengikat RANK (*Receptor activator of Nuclear Factor Kappa*) yang disekresikan oleh banyak sel termasuk osteoblas dan fibroblas, sedangkan osteoprotegerin (OPG) berfungsi untuk mengikat RANKL.⁴ Pengikatan RANKL ke RANK akan menghasilkan diferensiasi dan aktivasi sel osteoklas. Sel osteoklas yang teraktivasi akan menghasilkan sejumlah asam yang mendekalsifikasi kandungan mineral pada tulang dan memecah matriks organik. Osteoklas akan memfagositosis matriks yang telah dipecah, sehingga terjadi resorpsi tulang alveolar.⁵ Osteoblas akan menghasilkan OPG untuk mengikat RANKL sehingga mencegahnya berikatan dengan RANK.⁶

Resorpsi tulang ditandai dengan aktivitas sel osteoklas, dimana osteoklas merupakan sel yang meresorpsi tulang alveolar. Sel osteoklas berbentuk besar yang bersifat multinukleat, dan berasal dari sel *hematopoietic* yang merupakan prekursor sel monosit/makrofag.⁷

Selama proses *remodeling* tulang, sel osteoklas dan osteoblas mengatur keseimbangan yang dinamis. Ketidakseimbangan *remodeling* tulang terjadi akibat jumlah sel osteoklas lebih banyak daripada jumlah sel osteoblas sehingga terjadinya resorpsi tulang alveolar.⁸ Apabila perawatan yang tepat tidak segera dilakukan, maka dapat menyebabkan kehilangan gigi.⁹

Perawatan inisial atau perawatan non bedah yang sering dilakukan untuk periodontitis adalah skeling, penghalusan akar dan pemberian antibiotik.¹⁰ Skeling dan

penghalusan akar merupakan terapi inisial untuk menghilangkan biofilm bakteri pada permukaan gigi dan akar gigi, yang efektif memperbaiki kondisi peradangan jaringan gingiva seperti perdarahan, kedalaman probing, dan tingkat kehilangan perlekatan klinis.¹ Pemakaian antibiotik secara berlebihan akan memicu resistensi antibiotik, oleh karena itu perlu adanya terapi alternatif yang lebih fleksibel, aman dan efisien.¹¹

Terapi penunjang lainnya adalah menggunakan mediator antibakteri tambahan yang dapat memberikan hasil perawatan akhir lebih baik pada pasien periodontitis dibandingkan hanya dengan tindakan skeling saja. Agen kemoterapi modern sangat efektif dalam mengobati penyakit periodontal, tetapi karena efek samping yang sering ditimbulkan, penggunaan produk herbal menjadi pilihan akhir-akhir ini. Salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk perawatan periodontitis adalah daun Kari (*Murraya koenigii*).¹²

Daun Kari (*Murraya koenigii*) merupakan tanaman berdaun hijau dari golongan famili *Rutaceae* atau disebut juga dengan suku jeruk-jerukan.¹³ Tanaman ini berasal dari India dan Sri Lanka, serta dapat tumbuh pada daerah beriklim tropis.¹⁴ Tanaman Kari banyak ditemukan di daerah Aceh, dikenal dengan sebutan daun “temurui” yang digunakan dalam berbagai jenis masakan Aceh untuk menambah aroma dan sebagai bahan penyedap masakan oleh masyarakat. Tanaman Kari digunakan juga untuk mengobati rematik, luka, diare, disentri dan gigitan ular.¹⁵

Berdasarkan penelitian Sukma dkk 2018 menyatakan bahwa daun Kari (*Murraya*

koenigii) mengandung beberapa senyawa aktif, seperti flavonoid, terpenoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang bersifat antibakteri.¹⁶ Senyawa kimia aktif yang ditemukan pada daun Kari dilaporkan memiliki bermacam-macam manfaat seperti antidiabetes, aktivitas larvisidal, anti anxietas, antioksidan, dan aktivitas antimikroba. Daun Kari (*Murraya koenigii*) juga dikenal sebagai tumbuhan yang memiliki kandungan alkaloid karbazol paling banyak, dimana alkaloid karbazol ini memiliki sifat antiinflamasi, antitumor, antimutagenik, dan antioksidatif.¹⁷ Hasil penelitian Unita dkk 2016 menunjukkan bahwa ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) dengan konsentrasi 10% memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat dibandingkan dengan konsentrasi 2,5%, 5%, dan 7,5%.¹⁸

Berdasarkan uraian di atas, peneliti ingin melakukan penelitian terkait pengaruh gel ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) dengan konsentrasi 10% terhadap ketebalan epitel gingiva dan jumlah sel osteoklas pada tikus Wistar jantan yang diinduksi periodontitis.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli hingga Desember 2022, di beberapa tempat yaitu di Laboratorium Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Jakarta, Laboratorium Farmasi Bahan Alam dan Obat Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Syiah

Kuala, Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan (FKH) Universitas Syiah Kuala, serta Laboratorium Struktur dan Pengembangan Jurusan Biologi (FMIPA) Universitas Syiah Kuala. Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah 9 ekor tikus Wistar jantan dan daun Kari. Penelitian ini telah lolos etik dengan nomor etik 419/KE/FGK/2022.

Pembuatan Ekstrak Daun Kari (*Murraya koenigii*)

Daun Kari (*Murraya koenigii*) sebanyak 2 kg dicuci dengan air yang mengalir sampai bersih, lalu dilakukan pengeringan dengan cara diangin-anginkan untuk mengurangi kadar air. Setelah kering daun Kari (*Murraya koenigii*) diblender sampai halus. Selanjutnya diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80% pada suhu ruangan, dan untuk mempercepat kontak permukaan daun Kari (*Murraya koenigii*) dengan pelarut dilakukan pengadukan. Setelah 5 hari ekstrak disaring untuk memisahkan antara filtrat dan residu, Kemudian filtrat dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* agar diperoleh ekstrak yang pekat.^{19, 20} Ekstrak daun Kari pada penelitian ini diperoleh sebanyak 66 gram.

Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kari (*Murraya koenigii*)

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa-senyawa yang terkandung pada ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*). Pada penelitian ini, uji fitokimia yang akan dilakukan adalah uji flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan steroid.²¹

Uji Flavonoid

Ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) sebanyak 0,5 gram dilarutkan dalam 5 mL etanol.²² Kemudian ditambahkan serbuk magnesium dan 2 tetes HCl pekat. Reaksi positif bila terbentuk warna merah.²³

Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL HCl 2 N dan 9 mL akuades, lalu panaskan selama 2 menit, dinginkan dan saring. Kemudian filtrat dibagi menjadi 3 tabung masing-masing sebanyak 3 tetes. Tabung yang pertama ditambahkan pereaksi Bouchardat, jika terbentuk endapan coklat maka hasilnya positif. Tabung yang kedua ditambahkan pereaksi Mayer, jika terbentuk endapan putih atau kuning maka hasilnya positif. Tabung yang ketiga ditambahkan pereaksi Dragendorff, reaksi positif bila terbentuk endapan berwarna merah bata.^{24, 25}

Uji Saponin, Steroid, dan Terpenoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) dimasukkan ke dalam tabung dan ditambahkan 10 mL akuades kemudian dikocok dengan kuat selama 10 detik sehingga terbentuk buih setinggi 3 cm dan setelah penambahan HCl 2 N busa tidak hilang dengan ketinggian 2 cm selama 30 detik. Busa yang stabil ini menandakan bahwa ekstrak mengandung senyawa saponin. Lalu diuji dengan reagen *Lieberman-Buchard*. Jika terlihat warna hijau atau biru menandakan positif steroid dan jika terlihat warna ungu atau merah menandakan positif terpenoid.¹⁶

Uji Tanin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) ditambahkan 5 mL akuades. Kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl₃ 10%. Jika hasilnya positif, maka akan terjadi perubahan warna menjadi hijau tua.²⁶

Pembuatan Gel Ekstrak Daun Kari (*Murraya koenigii*), Gel Akuades, dan Gel Metronidazole

Pembuatan gel ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) dimulai dengan mengembangkan karbopol di dalam air pada suhu 70°C, lalu ditambahkan 10% ekstrak daun Kari hingga menjadi campuran. Metil paraben dilarutkan dalam air, kemudian ditambahkan gliserin, trietanolamin, dan propilen glikol. Selanjutnya ditambahkan campuran ekstrak daun Kari dan karbopol, lalu diaduk dan ditambahkan akuades, kemudian diaduk kembali hingga homogen.²⁷

Pembuatan gel akuades dimulai dengan melarutkan metil paraben ke dalam akuades, kemudian ditambahkan pembentuk gel (karbopol) dan diaduk hingga mengembang dan membentuk gel, kemudian ditambahkan propilen glikol sebagai humektan dan TEA sebagai penetral pH karbopol.²⁸

Pembuatan gel metronidazole dimulai dengan mengembangkan HPMC di dalam air dan diaduk terus-menerus sampai homogen. Metronidazole dilarutkan dalam pelarut propilen glikol dan ditambahkan ke larutan HPMC. Kemudian ditambahkan metil paraben dan propil paraben dan diaduk terus menerus.²⁹

Evaluasi Sediaan Gel Ekstrak Daun Kari (*Murraya koenigii*)

Untuk mengetahui stabilitas fisik suatu gel dilakukan beberapa pengujian. Uji organoleptik dilakukan untuk melihat bentuk fisiknya meliputi bentuk, warna dan bau. Uji pH dilakukan menggunakan pH meter. Uji viskositas menggunakan viskometer rheology dengan kecepatan 100 rpm. Uji daya sebar dilakukan menggunakan dua kaca objek yang berada diantara sediaan gel lalu tambahkan beban kelipatan 25 gram. Uji homogenitas dengan meletakkan gel diatas kaca objek dan diamati. Uji daya lekat dilakukan dengan meletakkan sediaan gel diantara 2 kaca objek lalu ditambahkan beban 250 gram selama 5 menit lalu lepas 50 gram beban.^{30, 31}

Manipulasi Periodontitis pada Tikus Wistar Jantan

Sebanyak 9 ekor tikus dianastesi pada otot paha belakang secara intramuskular dengan kombinasi *Ketamin Hydrochloride* 100mg/ kg berat badan dan *Xylazine* 5mg/ kg berat badan. Setelah itu, dilakukan manipulasi periodontitis pada tikus menggunakan *wire ligature* 0,008mm yang diikatkan pada daerah subgingiva mengelilingi gigi insisivus mandibula dan dibiarkan selama 21 hari sampai terlihat gejala periodontitis. Gejala klinis periodontitis meliputi perdarahan, kemerahan serta resesi pada gingiva tikus.^{31, 32}

Aplikasi Gel Ekstrak Daun Kari (*Murraya koenigii*)

Setelah 21 hari, tikus akan mengalami periodontitis, yang ditandai dengan perdarahan, kemerahan serta resesi pada gingiva. Sebanyak 9 ekor tikus yang telah mengalami periodontitis dibagi dalam 3 kelompok. Masing-masing kelompok perlakuan berjumlah 3 ekor tikus

yang diaplikasikan gel ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) konsentrasi 10%, gel metronidazole, dan gel akuades dengan menggunakan *syringe* pada sulkus gingiva gigi insisivus mandibula tikus yang mengalami periodontitis. Gel dimasukkan hingga memenuhi daerah poket periodontal. Perlakuan dilakukan 2 kali sehari (pagi dan sore hari) pada pukul 09.00 WIB dan pukul 16.00 WIB selama 7 hari.³³

Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histopatologi

Tikus yang telah dieutanasia kemudian dipotong pada bagian mandibula khususnya daerah gigi 31 dan 41, lalu difiksasi dengan neutral buffer formalin 10%. Kemudian jaringan didekalsifikasi dengan menggunakan *formic acid solution* 10% selama 14 hari.³⁴ Setelah itu, jaringan didehidrasi dengan menggunakan alkohol dan dilanjutkan dengan penjernihan melalui perendaman jaringan di dalam xylol selama 3 jam.³⁵ Selanjutnya dilakukan proses *embedding* jaringan untuk membuat blok parafin. Lalu dilakukan pemotongan blok parafin dengan ketebalan 6 μm menggunakan mikrotom. Tahap selanjutnya adalah pewarnaan dengan menggunakan *Hematoxylin Eosin* (HE), kemudian preparat diamati dibawah mikroskop cahaya.^{36,37}

HASIL PENELITIAN

Hasil Uji Fitokimia

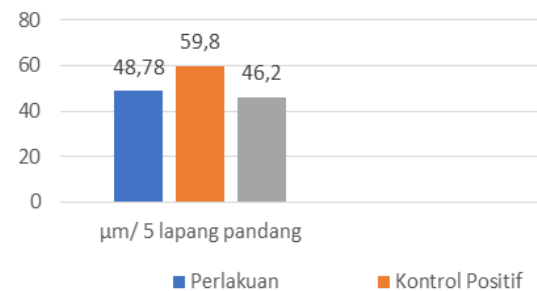
Hasil uji fitokimia ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kari

Kandungan Senyawa	Reagen	Hasil Uji
-------------------	--------	-----------

Tanin	FeCl_3	+
Flavonoid	Logam Mg dan HCl	+
Alkaloid	Bouchardat	+
	Mayer	+
	Dragendorff	+
Saponin	Pengocokan	+
Steroid	Liebermann-Burchard	-

Hasil Pengamatan dan Perhitungan Ketebalan Epitel Gingiva



Gambar 1. Jumlah Ketebalan Epitel

Hasil pengaplikasian gel pada masing-masing kelompok menunjukkan pengaruh yang berbeda-beda. Berdasarkan Gambar 1, ketebalan epitel yang paling tebal terdapat pada kelompok kontrol positif yaitu sebesar 59,8 $\mu\text{m}/5$ lapang pandang diikuti dengan kelompok perlakuan sebesar 48,78 $\mu\text{m}/5$ lapang pandang, sedangkan ketebalan epitel yang paling rendah terdapat pada kelompok kontrol negatif sebesar 46,2 $\mu\text{m}/5$ lapang pandang.

Hasil analisis statistik terhadap ketebalan epitel gingiva tikus Wistar jantan antara kelompok perlakuan gel ekstrak daun Kari konsentrasi 10%, kelompok kontrol positif, dan kelompok kontrol negatif dengan uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan gel ekstrak daun Kari dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif terhadap peningkatan ketebalan epitel pada

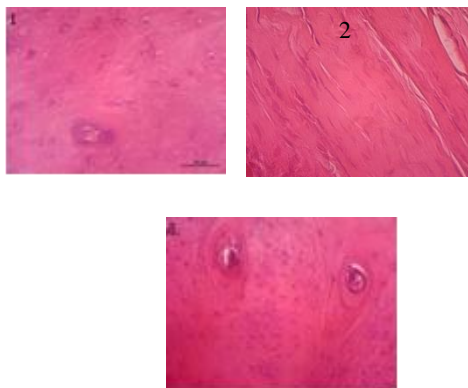
gingiva tikus Wistar jantan dengan nilai signifikansi $p=0,004$ ($p \leq 0,05$).

Tabel 2. Hasil Uji One Way Anova

	Sum of Squares	df	Mean Squares	Sig.
Total	10,867	2	7,598	0,004

Hasil Pengamatan dan Penghitungan Jumlah Sel Osteoklas

Penghitungan jumlah sel osteoklas dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali yang dilihat dari 5 lapang pandang.



Gambar 2. Gambaran Sel Osteoklas (1) Kelompok Perlakuan, (2) Kontrol Positif, (3) Kontrol Negatif

Pada Gambar 2 terlihat gambaran sel osteoklas yang berbentuk oval tidak teratur dengan ukuran yang besar, yaitu sekitar 50-100 μm . Tabel 3 menunjukkan bahwa jumlah rata-rata sel osteoklas yang dilihat dari 5 lapang pandang paling sedikit terdapat pada kelompok kontrol positif (0,8 sel/ 5 lapang pandang) diikuti dengan kelompok perlakuan (2,06 sel/ 5 lapang pandang). Sedangkan

kelompok kontrol negatif menunjukkan jumlah rata-rata sel osteoklas paling banyak (3,8 sel/ 5 lapang pandang).

Tabel 3. Jumlah Rata-rata Sel Osteoklas Dilihat dari 5 Lapang Pandang

Sampel	Rata-rata Jumlah Sel Osteoklas dilihat dari 5 Lapang Pandang (sel/5 lapang pandang)		
	Perlakuan	Kontrol (+)	Kontrol (-)
1	2,8	0	3,4
2	1,6	0,4	6,2
3	1,8	2	1,8
Rata-rata	2,06	0,8	3,8

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data terdistribusi tidak normal karena $p < 0,05$. Jika distribusi data tidak normal maka uji *One Way Anova* tidak dapat digunakan, sehingga dilakukan uji *Kruskal-Wallis*.

Tabel 4. Hasil Uji Kruskal-Wallis

Hasil Jumlah Sel Osteoklas	
p	0,000

Hasil uji statistik *Kruskal-Wallis* memperlihatkan bahwa gel ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) mempunyai pengaruh signifikan terhadap penurunan jumlah sel osteoklas pada tikus Wistar jantan yang diinduksi periodontitis ($p < 0,05$).

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini peneliti menggunakan ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) yang telah diketahui mengandung senyawa metabolik sekunder golongan alkaloid, flavonoid, dan saponin yang bermanfaat sebagai antibakteri, antioksidan

dan antiinflamasi.³⁸ Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi karena metode ini tidak memerlukan pemanasan sehingga mengurangi resiko rusaknya senyawa-senyawa pada daun yang bersifat termolabil.³⁹ Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah pelarut etanol karena memiliki tingkat toksisitas yang rendah dibandingkan dengan pelarut lainnya.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin, tetapi tidak mengandung senyawa steroid (Tabel 1). Hal ini berbeda dengan hasil penelitian Argal *et al.* 2011 yang menyatakan bahwa daun Kari (*Murraya koenigii*) tidak hanya mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin, tetapi juga mengandung senyawa steroid.⁴⁰ Daun Kari (*Murraya koenigii*) pada penelitian tersebut berasal dari India, sedangkan daun Kari (*Murraya koenigii*) pada penelitian ini didapatkan dari Aceh Besar. Berdasarkan penelitian Katuuk dkk 2019 menyatakan bahwa kandungan fitokimia dari suatu tanaman dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan, seperti cahaya, kelembapan, suhu, dan kandungan unsur hara di dalam tanah.⁴¹

Periodontitis adalah penyakit inflamasi pada jaringan periodontal yang menyebabkan hilangnya perlekatan gingiva dan resorpsi tulang alveolar, yang ditandai dengan terjadinya resesi gingiva dan pembentukan poket periodontal.⁴² Gambaran klinis pada periodontitis kronis adalah adanya

akumulasi plak, pembengkakan dan perubahan warna gingiva, perdarahan saat probing, terbentuknya poket periodontal, kehilangan perlekatan, dan resesi gingiva.⁴³ Gambaran klinis pada tikus dalam penelitian ini sesuai dengan pendapat Prasetya dkk 2014, bahwa pada tikus yang diinduksi periodontitis ditemukan adanya akumulasi plak, warna margin gingiva menjadi kemerahan, kontur margin gingiva membulat dan terjadi penurunan margin gingiva atau resesi gingiva.⁴⁴

Epitelisasi merupakan parameter keberhasilan pengobatan yang dilihat dengan adanya peningkatan ketebalan epitel. Proses epitelisasi ini sangat penting terkait dengan fungsi epitel sebagai barier pertama antara tubuh dan lingkungan.⁴⁵ Selain itu, jaringan epitel juga menyediakan penghalang fisik pertama terhadap infeksi dan memainkan peran aktif dalam pertahanan inang dengan menanggapi bakteri secara interaktif.¹ Bakteri penyebab periodontitis dapat mengakibatkan kerusakan komponen matriks ekstraseluler pada epitel yang mengakibatkan kerusakan epitel.⁴⁵

Dari perhitungan ketebalan epitel pada preparat jaringan dilihat dari 5 lapang pandang didapat jumlah ketebalan epitel pada kelompok perlakuan memiliki rata-rata ketebalan epitel sebesar 48,78 μm / 5 lapang pandang, pada kontrol positif sebesar 59,8 μm / 5 lapang pandang, sedangkan pada kelompok kontrol negatif memiliki rata-rata ketebalan epitel sebesar 46,2 μm / 5 lapang pandang (Gambar 1).

Berdasarkan rata-rata ketebalan epitel, kelompok perlakuan yang diaplikasikan gel ekstrak daun Kari memiliki jumlah rata-rata ketebalan epitel yang lebih tebal dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini disebabkan oleh adanya senyawa flavonoid, tanin dan saponin pada daun Kari yang dapat merangsang proliferasi sel epitel.⁴² Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Fadlil dkk, tahun 2016 yang menyatakan bahwa sifat epitelisasi oleh senyawa saponin pada biji kopi robusta dapat meningkatkan ketebalan epitel.⁴⁶

Sel osteoklas adalah sel yang meresorpsi tulang, dibentuk oleh fusi sel-sel mononuklear yang berasal dari sumsum tulang. Sel osteoklas merupakan sel raksasa berinti banyak dengan ukuran 50-100 μm berbentuk oval yang tidak beraturan.⁴⁷ Sel osteoklas ditemukan pada cekungan tulang yang disebut lakuna *howship*. Bagian sel yang menyentuh tulang tampak seperti permukaan yang berbelit-belit, disebut dengan *ruffled border*.⁴³ Resorpsi tulang terjadi karena ketidakseimbangan remodeling tulang yang merupakan akibat dari jumlah sel osteoklas lebih banyak daripada jumlah sel osteoblas. Perkembangan sel osteoklas dikendalikan oleh sel stromal melalui sumbu RANK, RANKL, dan OPG.^{47,8} Sel osteoklas memiliki kapasitas untuk berkembang dan melekat pada matriks tulang yang kemudian mensekresi asam dan enzim litik yang mendegradasi dan memecah komponen organik dan mineral tulang dan tulang rawan yang terkalsifikasi.⁴⁸

Dari perhitungan jumlah sel osteoklas pada preparat jaringan yang dilihat dari 5

lapang pandang didapatkan jumlah rata-rata sel osteoklas untuk kelompok kontrol positif sebanyak 0,8 sel/ 5 lapang pandang, sedangkan untuk kelompok kontrol negatif memiliki jumlah rata-rata sel osteoklas sebanyak 3,8 sel/ 5 lapang pandang, serta untuk kelompok gel ekstrak daun Kari memiliki jumlah rata-rata sel osteoklas sebanyak 2,06 sel/ 5 lapang pandang. Jumlah rata-rata sel osteoklas pada kelompok perlakuan yang diaplikasikan gel ekstrak daun Kari, memiliki jumlah rata-rata sel osteoklas lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang diaplikasikan akuades, hal ini mungkin disebabkan karena gel ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) mengandung senyawa flavonoid. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Syarif dkk 2020 yang menyatakan bahwa kandungan flavonoid pada daun Kelor dapat meningkatkan produksi sel osteoblas dan menurunkan jumlah sel osteoklas.⁴⁹ Penelitian Handayani dan Brahmana 2018 menyatakan bahwa kandungan flavonoid yang terdapat di dalam ekstrak propolis dapat mengurangi resorpsi dan meningkatkan jumlah osteoblas pada daerah tarikan tulang alveolar saat perawatan ortodonti.⁵⁰ Namun pada penelitian ini, berdasarkan rata-rata ketebalan epitel dan jumlah sel osteoklas, kelompok kontrol positif yang diaplikasikan gel metronidazole memiliki jumlah ketebalan epitel yang lebih tebal dan sel osteoklas yang lebih sedikit dibandingkan kelompok perlakuan yang diaplikasikan gel ekstrak daun Kari 10%.

Hal ini dikarenakan metronidazole dapat membantu meningkatkan ikatan

fibronektin. Fibronektin diproduksi oleh fibroblas, sel epitel dan sel endotel. Fibronektin memainkan peran penting dalam penyembuhan luka dan berhubungan dengan perlekatan sel satu dengan lainnya dan dengan matriks ekstraselular.⁵¹ Metronidazole dipilih sebagai kontrol positif karena memiliki sifat bakterisidal yang efektif dalam membunuh bakteri anaerob dengan cara melakukan difusi ke dalam mikroorganisme, menghambat sintesis protein, dan interaksi dengan DNA bakteri yang mengakibatkan rusaknya untai DNA pada bakteri, sehingga terhambatnya sintesis DNA yang menyebabkan kematian bakteri.³⁴ Metronidazole secara signifikan dapat menghambat lipopolisakarida (LPS) dari bakteri penyebab periodontitis akut yang menginduksi produksi TNF dan IL-1 β , dimana penghambatan sitokin ini dapat berperan dalam mengurangi proses destruksi jaringan yang dimediasi sitokin pada periodontitis.⁵² Akuades dipilih sebagai kontrol negatif karena tidak mempunyai daya hambat atau daya bunuh terhadap bakteri, sehingga tidak memberikan efek antibakteri pada kontrol negatif.⁵³

Berdasarkan pembahasan ini maka dapat disimpulkan bahwa penggunaan gel ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) 10% dapat meningkatkan ketebalan epitel gingiva dan menurunkan jumlah sel osteoklas pada tikus Wistar jantan yang mengalami periodontitis, akan tetapi secara statistik terdapat perbedaan yang bermakna terhadap kontrol positif, yaitu kelompok gel metronidazole.

KESIMPULAN DAN SARAN

Penggunaan gel ekstrak daun Kari (*Murraya koenigii*) pada tikus Wistar jantan yang diinduksi periodontitis terbukti dapat meningkatkan ketebalan epitel gingiva dan menurunkan jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar karena daun Kari (*Murraya koenigii*) memiliki kandungan aktif berupa senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Kandungan flavonoid dapat meningkatkan produksi sel osteoblas dan menurunkan jumlah sel osteoklas sehingga dapat mengurangi resorpsi tulang alveolar pada periodontitis. Perlu penelitian lanjutan untuk menguji efek toksisitas dan karsinogenik daun Kari sehingga gel ekstrak daun Kari bisa dijadikan alternatif dalam merawat penyakit periodontal, terutama periodontitis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan kepada semua pihak terkait yang telah membantu dalam proses penelitian hingga penerbitan artikel ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan sehubungan dengan publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Domisch H, Kebschull M. Periodontitis in Newman and Carranza's Clinical Periodontology and Implantology. 14th ed. Missouri: Elsevier. 2024: 295
- Klokkevold C, Takei N. Clinical Evaluation of the Implant Patient. Carranza's Clinical Periodontology. 13th ed. Philadelphia: Elsevier Inc. 2019: 65,92-3,342-7.

- Banjar W, Alshammari MH. Genetic factors in pathogenesis of chronic periodontitis. *Journal of Taibah University Medical Science*. 2014;9:245–7.
- Sell AM, Alencar JB, et al. Immunopathogenesis of Chronic Periodontitis. *World's Largest Science Technology & Medicine Open Access Book Publisher*. 2017; 143-67.
- Seymour GJ, Bergglundh T, Trombelli L. Pathogenesis of Periodontitis in Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 6th ed. Wiley Blackwell. 2015:266.
- Preshaw PM. Periodontal Disease Pathogenesis In Carranza's Clinical Periodontology. Elsevier. 2019:102.
- Mahmudati N. Kajian Biologi Molekuler peran Estrogen/ Fitoestrogen pada Metabolisme Tulang Usia Menopause. *Semin Nas VIII Pendidik Biol*. 2016:421-430.
- Omi M, Mishina Y. Roles of osteoclast in alveolar bone remodelling. *Genesis Wiley*. 2022; 1-18
- Dave PH, Mahendra J, Bedi M, Namasivayam A. Alveolar bone destruction in periodontitis – an overview. *International Journal of Drug Research and Dental Science*. 2023;5(4):21-28
- Yi YS, Son YJ, Ryou C, Sung GH, Kim JH, Cho JY. et al. Functional roles of Syk in macrophage-mediated inflammatory responses. *Mediators Inflammation*. 2014;2014:1-12
- Marquardt RR, Li S. Antimicrobial resistance in livestock: advances and alternatives to antibiotics. *American Society of Animal Science*. 2018;8(2):1-8
- Eid Abdelmagyd HA, Ram Shetty DS, Musa Musleh Al-Ahmari DM. Herbal medicine as adjunct in periodontal therapies- A review of clinical trials in past decade. *J Oral Biol Craniofacial Res*. 2019;9(3):212-217.
- Mittal J. Curry Leaf (*Murraya koenigii*): A Spice with Medicinal Property. *MOJ Biol Med*. 2017;2(3).
- Wang W, Nguyen KTK, Zhao C, Hung HC. Earliest curry in Southeast Asia and the global spice trade 2000 years ago. *Sci Adv*. 2023;9:5517.
- Rahayu, Ningsih S, Nehru F, Amna U, Halimatussakdiah H. Free radical scavenging activity of methanolic extract of temurui (*Murraya koenigii* L. Spreng) collected from Langsa, Aceh. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2019;364
- Sukma FF, Sahara D, Ihsan FN, Halimatussakdiah, Pujiwahyuningsih, Amna U. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Temurui (*Murraya koenigii* L) Kota Langsa, Aceh. *Jurnal Jeumpa*, 5 (1)- Juli. 2018. 2018;5(1):34-39.
- Kamat N, Pearline D, Thiagarajan P. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. ISSN. 2015. 6(5):691-7.
- Unita L. Daya Hambat Ekstrak Daun Kari (*Murraya koenigii*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah PANMED*. 2016; 10(3); 287-91.
- Rasidah, Noviyana S, Munira, Zakiah N. Formulasi dan Uji Aktivitas Sediaan Gargarisma Ekstrak Etanol Daun kari (*Murraya Koenigii* L) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *J Ilm Farm Simplisia*. 2021;1(1):12- 18.
- Haryanti S, Larasati RD, Augusta H. Optimasi Waktu Maserasi dan Konsentrasi Ekstrak Gel Antiseptik Kulit. 2020;9(2):17-24.
- Diana F, Ukhty N, Ajurullah. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kari (*Murraya koenigii*) Untuk Mengobati Benih Ikan Patin Siam *Pangasianodon hypophthalmus*) Yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Akuakultura*. 2018;2(2):41-51.
- Setiani LA, Sari BL, Indriani L, Jupersio. Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol 70% Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) dengan Metode Maserasi dan MAE (Microwave Assisted Extraction). 2017;7(2):1-14.
- Utami YP, Umar AH, Syahrini R, Kadullah I. Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum*). *J Pharm Med Sci*. 2017;2(1):32-39.
- Malik A, Edward F, Waris R. Skrining Fitokimia dan Penetapan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Metanolik Herba

- Boroco (*Celosia argentea L.*). J Fitofarmaka Indonesia. 2014;1(1):1-5.
- Sulistiyarini I, Sari DA, Wicaksono TA. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). J Ilm Cendekia Eksakta. 2019;56-62.
- Syafitri NE, Bintang M, Falah S. Kandungan Fitokimia , Total Fenol , dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine D. Don*). Curr Biochem. 2014;1(3):105– 15. 52.
- Sugihartini N, Jannah S, Yuwono T. Formulasi Gel Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam*) Sebagai Sediaan Antiinflamasi. Pharm Sci Res. 2020;7(1):9-16.
- Hidayanti UW, Fadraersada J, Ibrahim A. Formulasi dan Optimasi Basis Gel Carbopol 940 dengan Berbagai Variasi Konsentrasi. Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian ke-1. 2015; 68-75.
- Bagchi A, Sarkar U. Development and Evaluation of Metronidazole Containing Topical Gel Using Different Gelling Agent. Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2018; 4(6): 785-789.
- Sandeep DS, Nayak P, Jose J, Relita RM, Sumana DR. Formulation and evaluation of antibacterial herbal gels of *Murraya koenigii* leaves extract. Research Journal Pharmacy and Technology. 2017;10:1798– 801.
- Ulfa M, Hendrarti W, Muhram PN. Formulasi Gel Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) Sebagai Anti Inflamasi Topikal Pada Tikus (*Rattus norvegicus*). Journal of Pharmaceutichal in Medicinal Science. 2016;1:30–35.
- Ionel A, Lucaciu O, Moga M, Buhatel D, Ilea A, Tabaran F, Catoi C, Berce C, Toader S, Campian RS. et al. Periodontal disease induced in Wistar rats-experimental study. International Journal of Bioflux Society. 2015;7:90–5.
- Tamara A, Oktiani BW, Taufiqurrahman I. Pengaruh ekstrak flavonoid propolis kelulut (*G.thoracica*) terhadap jumlah sel netrofil pada periodontitis (studi *in vivo* pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan). Jurnal Kedokteran Gigi Dentin. 2019;3:10–6.
- Dewi A, Shita P, Meilawaty Z, et al. Effectiveness of Cassava Leaves Extract (*Manihot esculenta Crantz*) on the Number of Osteoblast and Osteoclast of Periodontitis Rat Model. Humanistic Network for Science and Technology. 2022;6(8):373-381.
- de Souza DM, Rodrigues VA, Silva A de A, et al. Influence of different alcohol intake frequencies on alveolar bone loss in adult rats: A sem study. J Clin Exp Dent. 2018;10(9):e852-e857.
- Kusmayani KN, Warditha AAGJ, Berata IK. Aktivitas Angiogenesis Gel Extract Biji Cacao pada Penyembuhan Luka Insisi Gusi Marmut. Bul Vet Udayana. 2022;(158):295.
- Ariyadi T, Suryono H. Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave dan Conventional Histoprocessing Pewarnaan Hematoxylin Eosin. J Labora Med. 2017;1(1):7-11.
- Arbi TA, Noviyandri PR, Fadhila M. Influence of Curry leaves (*Murraya koenigii L.*) against of bleeding time of *Rattus norvegicus*. Journal of Syiah Kuala Dentistry Society. 2021;5:70–74
- Badaring DR, Sari SPM, Nurhabiba S, Wulan W, Lembang SAR. Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Indonesia J Fundam Sci. 2020;6(1):16.
- Argal MH, Kumar S, Choundary HS, Thakkar RM, Verma SK, Seniya C. The Efficacy of *Murraya koenigii* leaf extract on some bacterial and a fungal strain by disc diffusion method. J Chem Pharm Res. 2011;3(5):697-704.
- Katuuk RHH, Wanget SA, Tumewu P. Pengaruh Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder pada Gulma Babadotan (*Ageratum conyzoides L.*). Cocos. 2019;1(4):1-6.
- Dumitrescu AL, Kobayashi J. Genetic variant in periodontal health and disease. Berlin: Springer; 2018. p.7-8
- Elangovan S, Lee CT, Kotsakis GA, Dragan IF, Newman MG. Clinical periodontology and implantology in the era of precision medicine in Newman and Carranza's

- Clinical Periodontology and Implantology. 14th ed. Missouri: Elsevier. 2024: 1-2
- Prasetya RC, Purwanti N, Haniastuti T. Infiltrasi neutrofil pada Tikus dengan periodontitis setelah pemberian ekstrak etanolik kulit manggis. *Majalah Kedokteran Gigi*. 2014;21(1):33-8
- Vitkov L, Singh J, Schaver C, Minnich B, Kronic J, Oberthaler H, et al. Breaking the gingival barrier in periodontitis. *International Journal of Molecular Science*. 2023;24(4544):1-14
- Fadlil PNI, Ermawati T, Hikmah N. Pengaruh pemberian gel ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*) terhadap ketebalan epitel gingiva model tikus periodontitis yang diinduksi *Porphyromonas gingivalis*. *Prosiding The 3th Dentistry Scientific Meeting of Jember*. 2016.
- He Y, Gao X, Ma Q, Zhang X, Zhang Y, Song W. Nanotopographical cues for regulation of macrophages and osteoclasts: emerging opportunities for osseointegration. *Journal of Nanobiotechnology*. 2022;20(510):1-22
- Rios HF, Bashutski JD, Giannobile W V. Bone as a Living Organ. In: Lang NP, Lindhe J, eds. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 6th ed. Wiley Blackwell; 2015:53 -54.
- Syarif RD, Kusumaningsih T, Arundina I. Changes in osteoblast and osteoclast cell count after *Moringa oleifera* leaf extract administration during orthodontic tooth movement. *Journal of Dentomaxillofacial Science*. 2020 5(2); 98 -102.
- Handayani B, Brahmanta A. Jumlah Osteoblas pada Daerah Tarikan dengan Pemberian Ekstrak Propolis sebagai Pencegahan Relaps Ortodonti. *Denta: Jurnal Kedokteran Gigi*. 2018;12(1):28-33
- Rismadiani A, Poetri AR, Feranisa A. Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Manggis Terhadap Peningkatan Jumlah Sel Fibroblas Pada Proses Penyembuhan Periodontitis Tikus Wistar (*Rattus novargicus*). *Kontelasi Ilmiah Mahasiswa Unissula (KIMU)* 7. 2022;709:86-93.
- Yu Z, Xiong Y, Fan M, Li J, Liang K. Metronidazole and ketoprofen loaded mesoporous magnesium carbonate for rapid treatment of acute periodontitis in vitro. *ACS Omega*. 2021;8:25441-25452
- Nisa MA, Oktiani BW, Putri DK. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Rambai (*Sonneratia caseolaris*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Jur Ked Gigi*. 2022; 4(3): 153-160.