

POTENSI EKSTRAK DAUN UNGU DALAM MENURUNKAN JUMLAH SEL OSTEOKLAS TIKUS YANG DIINDUKSI *PORPHYROMONAS GINGIVALIS***THE POTENTIAL OF PURPLE LEAF EXTRACT TO REDUCE THE NUMBER OF OSTEOCLAST CELLS IN *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*-INDUCED RATS****Atik Kurniawati¹, Melok Aris Wahyukundari², Syafira Dwi Astuti³**¹Bagian Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember²Bagian Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember³Program Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

Corresponding Author: atik.fkg@unej.ac.id

Abstrak

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi pada jaringan periodontal. *Porphyromonas gingivalis* merupakan salah satu bakteri patogen pemicu periodontitis. Respons awal inflamasi dipicu oleh faktor virulen *P.gingivalis* antara lain lipopolisakarida (LPS) yang berlanjut pada kerusakan ligamen periodontal sehingga memicu resorpsi tulang alveolar yang diperankan oleh sel osteoklas. Ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff) diketahui dapat menghambat *P.gingivalis* secara in vitro, namun kemampuannya sebagai antiinflamasi dalam menurunkan jumlah sel osteoklas pada kejadian periodontitis belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi ekstrak daun ungu (EDU) dalam menurunkan jumlah sel osteoklas pada tikus wistar yang diinfeksi dengan *P.gingivalis*. Penelitian dilakukan pada tikus wistar yang terdiri atas 6 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 tikus wistar. Enam kelompok yang terdiri dari kelompok normal (KN): tanpa perlakuan, kelompok kontrol negatif (K-): diinfeksi *P.gingivalis* (Pg), kelompok kontrol positif (K+): Pg + Tantum Verde, dan 3 kelompok perlakuan yaitu: KP2,5% (Pg + EDU 2,5%), KP5% (Pg + EDU 5%) serta KP10% (Pg + EDU10%). Pemeriksaan histologi dengan pengecatan Haematoxylin-Eosin (HE), jumlah sel osteoklas pada jaringan gingiva, ditentukan dengan menghitung jumlah rata-rata dari 3 lapang pandang tiap potongan jaringan. Analisis data dengan *One Way Anova* dilanjutkan *LSD*. Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak daun ungu berpotensi menurunkan jumlah sel osteoklas pada jaringan gingiva tikus wistar ($p < 0,05$).

Kata Kunci: Ekstrak Daun Ungu, Periodontitis, Sel Osteoklas**Abstract**

Periodontitis is an inflammatory disease of the periodontal tissue. *Porphyromonas gingivalis* is a pathogenic bacterium that triggers periodontitis. The initial response to inflammation is triggered by *P.gingivalis* virulent factors, including lipopolysaccharide (LPS), which leads to periodontal ligament damage, which triggers alveolar bone resorption, played by osteoclasts. Purple leaf extract (*Graptophyllum pictum* L. Griff) is known to inhibit *P.gingivalis* in vitro, but its ability as an anti-inflammatory in reducing the number of osteoclasts in the incidence of periodontitis is unknown. This study aims to evaluate the potential of purple leaf extract (EDU) in reducing the number of osteoclasts in wistar rats infected with *P.gingivalis*. The research was carried out on wistar rats consisting of 6 groups. Each group consisted of 5 wistar rats. Six groups consisting of normal group (KN): no treatment, negative control group (K-): infected with *P.gingivalis* (Pg), positive control group (K +): Pg + Tantum Verde, and 3 treatment groups, namely: KP2.5% (Pg + EDU 2.5%), KP5% (Pg + EDU 5%) and KP10% (Pg + EDU10%). Histological examination with Haematoxylin-Eosin (HE) staining, the number of osteoclasts in the gingival tissue was determined by calculating the average number of 3 view fields of each tissue section. Data analysis with *One Way Anova* followed by *LSD*. The conclusion of this study is that purple leaf extract has the potential to reduce the number of osteoclasts in the gingival tissue of wistar rats ($p < 0.05$).

Keywords: Purple Leaf Extract, Periodontitis, Osteoclast Cells

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal di Indonesia masih tergolong tinggi prevalensinya yaitu sebesar 60%. Dalam kelompok penyakit gigi dan mulut, penyakit periodontal menduduki peringkat kedua yang banyak diderita rakyat Indonesia karena relatif tidak menimbulkan keluhan.^{1,2} Penyakit periodontal umumnya merujuk pada keadaan inflamasi pada struktur pendukung gigi yang meliputi gingiva, tulang alveolar, ligamen periodontal, dan sementum.³

Plak terbentuk dari deposit lunak serta membentuk lapisan biofilm yang melekat erat pada gigi, gingiva dan permukaan keras lainnya di dalam rongga mulut.⁵ Mikroorganisme patogen yang ada pada bakteri plak antara lain: *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*), *Treponema forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, dan *Prevotella intermedia*. *P.gingivalis* merupakan salah satu bakteri patogen periodontal dan faktor virulensi yang mempengaruhi pertahanan imun inang.⁴ Bakteri patogen yang ada sebagai biofilm plak kompleks pada permukaan gigi yang mengeluarkan enzim kolagenase yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan gingiva dan tulang pendukung gigi. Di antara berbagai spesies bakteri periodontopatogen tersebut, maka *P.gingivalis* ditemukan dalam plak subgingiva pasien periodontitis kronis sebesar 85,75%.⁶ Mikroorganisme yang melekat pada plak gigi dan berkontak dengan margin gingiva akan menimbulkan inflamasi^{3,6}, termasuk Pg.

Respons awal inflamasi dipicu oleh faktor virulen *P.gingivalis*, seperti lipopolisakarida (LPS). Lipopolisakarida pada dinding sel Pg akan berikatan dengan *Lipopolisakarida Binding Protein* (LBP) dan membentuk kompleks molekul. Reseptor CD14 (*Cluster of Differentiation* 14) yang berada di permukaan sel target akan mengenali kompleks molekul kemudian *Toll Like Reseptor* (TLR 4). Kompleks yg terbentuk, selanjutnya akan mengaktifkan makrofag. Makrofag akan mengeluarkan sitokin inflamatori berupa *interleukin-1* (IL-1), *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), dan *prostaglandin* (PGE2).^{7,8} Mediator dan sitokin inflamasi tersebut memacu terbentuknya osteoklas dari sel progenitornya melalui jalur *Receptor Activator for Nuclear Factor- κ B Ligand* (RANKL) dengan *Receptor Activator for Nuclear Factor- κ B* (RANK) serta *Osteoprotegerin* (OPG). *Macrophage-Colony Stimulating Factor* (M-

CSF), IL-1 dan RANKL akan menyebabkan prekursor osteoklas berdiferensiasi dan mengalami fusi kemudian menjadi osteoklas *multinuclear* yang dapat mengaktifkan osteoklastogenesis. Osteoklas yang aktif akan mensekresikan *Matrix Metallo Proteinase* (MMP) 8 dan enzim lisosomal Chatepsin K yang menyebabkan resorpsi tulang melalui pelepasan mineral-mineral tulang dan melisiskan protein dalam kolagen tulang. Proses itulah yang menyebabkan terjadinya kerusakan ligamen periodontal sehingga memicu resorpsi tulang alveolar yang diperankan oleh sel osteoklas.⁹

Kerusakan tulang alveolar merupakan salah satu tahap *advance* periodontitis. Kerusakan tulang pada periodontitis bisa disebabkan karena meningkatnya jumlah sel osteoklas, sehingga penting untuk mengontrol jumlah osteoklas tersebut. Sel osteoklas yang berlebih dapat dikontrol menggunakan obat kimiawi. Salah satu obat kimiawi yang mengandung bahan antiinflamasi yang dijual di pasaran yaitu obat kumur Tantum Verde. Efek anti-inflamasi dari obat kumur ini diketahui bermanfaat dalam pengobatan periodontitis, sehingga dipilih obat ini sebagai kontrol positif pada penelitian ini.¹² Akan tetapi ada peneliti lain yang menyatakan bahwa sering menggunakan Tantum Verde *oral rinse* dapat menyebabkan perubahan warna pada gigi,¹³ sehingga perlu dicari alternatif terapi periodontitis, salah satunya dari bahan alam.

Ada berbagai bahan alam yang banyak digunakan untuk pengobatan alternatif suatu penyakit maupun sebagai pemeliharaan kesehatan. Tanaman *Graptophyllum pictum* L. (*Griff*) atau karotong (Madura), daun ungu (Jawa) dan handeleum (Sunda) termasuk bahan alam yang banyak dan mudah ditemukan oleh masyarakat Indonesia. DITJEN POM mengembangkan daun ungu yang masuk dalam tiga belas tanaman obat unggulan.¹⁴ Tanaman ini banyak digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan terhadap tumor, dermatitis, abses, vulnus, dan secara eksperimental dapat menghambat pembengkakan dan penurunan permeabilitas membran.¹⁵

Daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. *Griff*) memiliki senyawa kimia antara lain triterpenoid atau steroid bebas, alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin dan tanin.¹⁶ Flavonoid berfungsi sebagai antiinflamasi dengan menghambat pembentukan prostaglandin yang dibentuk oleh asam

arakidonat.¹⁸ Flavonoid juga berfungsi sebagai antioksidan dengan menstabilkan radikal bebas sehingga dapat mengurangi kerusakan sel karena inflamasi.¹⁹

Hasil penelitian sebelumnya secara *in vitro* menyatakan bahwa ekstrak daun ungu efektif menghambat pertumbuhan *P.gingivalis* pada kertas cakram zona hambat yang dibentuk semakin besar ketika semakin tinggi konsentrasi dari ekstrak.²⁰ Demikian pula, Ekstrak etanol daun ungu sebagai anti inflamasi dapat mempengaruhi fungsi fagositosis makrofag, pembentukan immunoglobulin M dan TNF alpha pada mencit terinduksi LPS *Saphylococcus aureus*.²¹ Berdasarkan pernyataan tersebut, penulis ingin melakukan penelitian secara *in vivo* tentang kemampuan ekstrak daun ungu konsentrasi 2,5%, 5% dan 10% terhadap penurunan osteoklas pada tikus wistar yang diinduksi *P.gingivalis*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini termasuk jenis eksperimental laboratoris, dengan desain *The Post Test Only Control Group*. Daun ungu yang digunakan yaitu *Graptophyllum pictum* L. Griff yang sudah diidentifikasi di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi-Pasuruan melalui Surat Keterangan Identifikasi Tumbuhan No. 1109/IPH.06/HM/2019 tanggal 11 Oktober 2019. Jumlah sampel yang digunakan, yaitu 5 ekor tikus wistar pada setiap subkelompok. Penelitian ini terdiri atas 6 kelompok yaitu: kelompok normal (KN): tanpa perlakuan, kelompok kontrol negatif (K-): diinfeksi Pg, kelompok kontrol positif (K+): Pg + Tantum Verde, kelompok perlakuan 2,5% (KP2,5%): Pg + EDU2,5%, kelompok perlakuan 5% (KP5%): Pg + EDU5% dan kelompok perlakuan 10% (KP10%): Pg + EDU10%.

Semua prosedur pada penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dengan No. 612/UN25.8/KEKP/DL/2019. Tikus wistar yang digunakan dengan kriteria inklusi: tikus wistar jantan, berat 175-200 gram, usia 2-3 bulan, keadaan umum baik, dan diberi makan minum seragam. Model tikus periodontitis merupakan tikus wistar jantan yang diinduksi *P.gingivalis* strain ATCC 33277 dengan konsentrasi 2×10^9 CFU/ml sebanyak 0,05ml. Pelarut yang dipakai pada pembuatan ekstrak daun ungu adalah etanol 96% dengan metode maserasi dan hasil yang didapat berupa

ekstrak pekat yang kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 2,5%, 5% dan 10%.

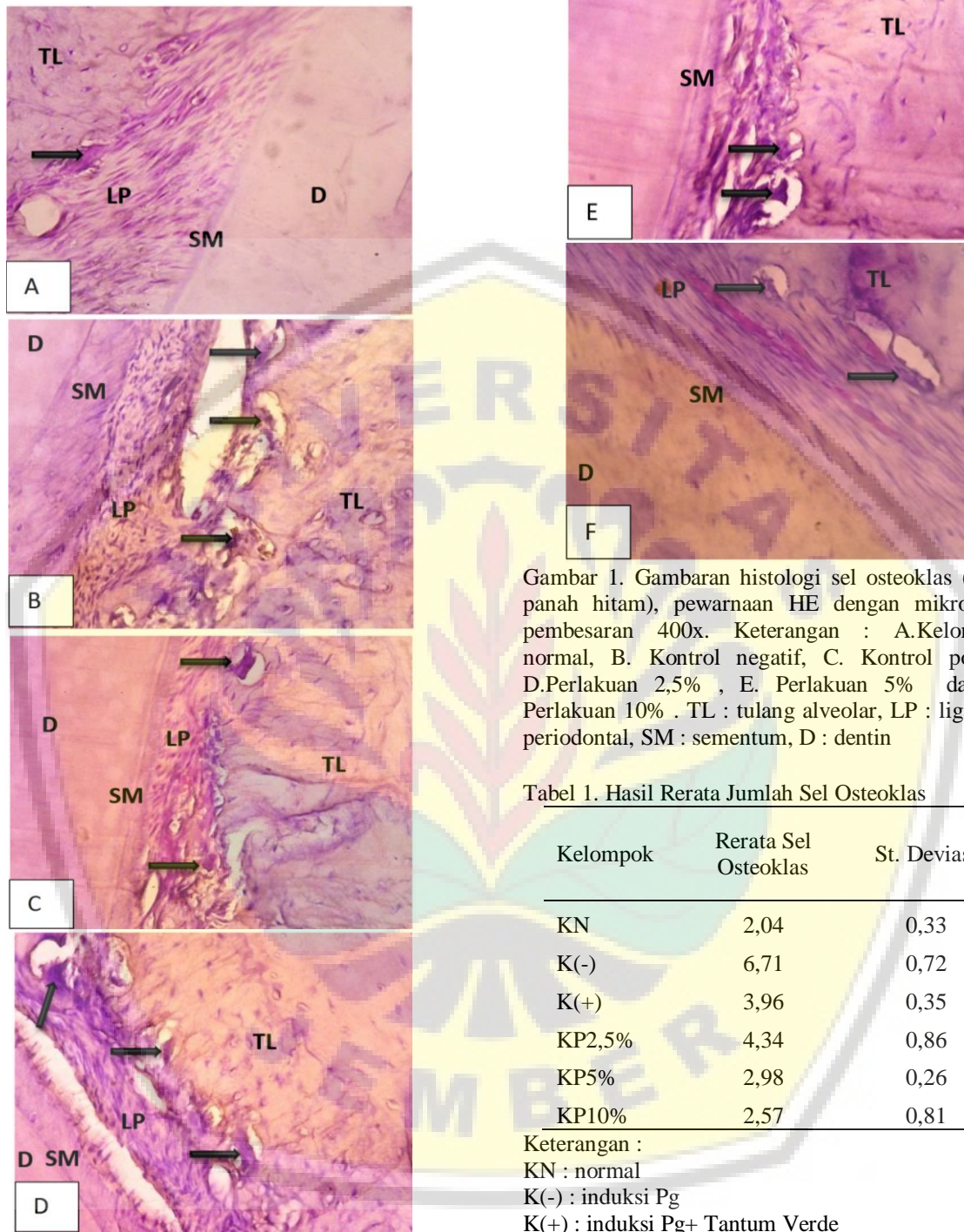
Model tikus periodontitis dibuat dengan menginjeksikan *P.gingivalis* ATCC 33277 sebanyak 10^6 CFU dalam 30 μ l (0,03 ml) pada sulkus gingiva gigi molar 1 kiri bawah pada bagian bukal. Injeksi dilakukan 3 hari sekali selama 14 hari hingga mengalami periodontitis yang ditandai dengan adanya inflamasi pada gingiva dan resorpsi tulang alveolar secara radiografi. Perlakuan Tantum Verde dan ekstrak daun ungu diaplikasikan dengan cara irigasi menggunakan *needle* 30G pada sulkus gingiva satu kali sehari selama 7 hari. Kelompok normal adalah kelompok tanpa perlakuan apapun. Kelompok kontrol negatif adalah kelompok yang diinduksi *P.gingivalis*. Kelompok kontrol positif merupakan kelompok yang diinduksi *P.gingivalis* kemudian diberi perlakuan Tantum Verde. Kelompok perlakuan 2,5%, 5% dan 10% merupakan kelompok yang diinduksi *P.gingivalis* kemudian diberi perlakuan ekstrak daun ungu 2,5%, 5% dan 10%. Selanjutnya pembuatan preparat histologi dan pewarnaan menggunakan *Hematoxylin-Eosin* (HE). Pengamatan dan perhitungan sel osteoklas dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan dilakukan oleh 3 observer. Jumlah sel osteoklas ditentukan dengan menghitung jumlah rata-rata sel osteoklas dari 3 lapang pandang tiap sampel.

Data yang diperoleh dari penelitian, dianalisis dengan *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS). Selanjutnya dilakukan uji *Saphiro-wilk* untuk melihat normalitas data dan uji *Lavene* untuk melihat homogenitas data. Data yang diperoleh adalah normal dan homogen kemudian dianalisis dengan *One Way Anova*, bermakna bila $p < 0,05$, kemudian dilanjutkan uji LSD.

HASIL

Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan rerata jumlah sel osteoklas yang terendah pada KP10% yaitu kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak daun ungu konsentrasi 10%. Kelompok KP10% diperoleh rata-rata jumlah sel osteoklas sebesar 2,57. Kemudian kelompok KP5% sebesar 2,98, kelompok KP2,5% sebesar 4,34, kelompok K(+) sebesar 3,96 dan kelompok KN sebesar 2,04. Rata-rata jumlah sel osteoklas yang tertinggi pada kelompok K(-) yang merupakan kelompok kontrol negatif yang diinduksi Pg.

Pada kelompok K(-) rata-rata jumlah sel osteoklas sebesar 6,71.



Gambar 1. Gambaran histologi sel osteoklas (anak panah hitam), pewarnaan HE dengan mikroskop pembesaran 400x. Keterangan : A.Kelompok normal, B. Kontrol negatif, C. Kontrol positif, D.Pelakuan 2,5% , E. Pelakuan 5% dan F. Pelakuan 10% . TL : tulang alveolar, LP : ligamen periodontal, SM : sementum, D : dentin

Tabel 1. Hasil Rerata Jumlah Sel Osteoklas

Kelompok	Rerata Sel Osteoklas	St. Deviasi
KN	2,04	0,33
K(-)	6,71	0,72
K(+)	3,96	0,35
KP2,5%	4,34	0,86
KP5%	2,98	0,26
KP10%	2,57	0,81

Keterangan :

KN : normal

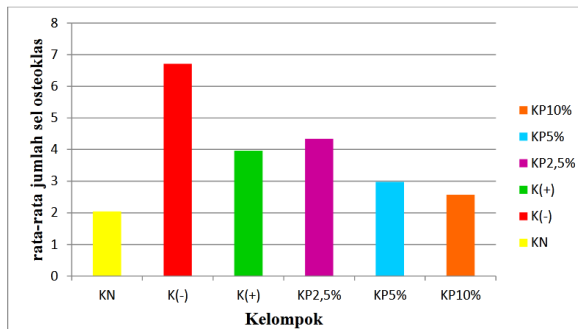
K(-) : induksi Pg

K(+): induksi Pg+ Tantum Verde

KP2,5% : induksi Pg+ ekstrak daun ungu 2,5%

KP5% : induksi Pg+ ekstrak daun ungu 5%

KP10% : induksi Pg+ ekstrak daun ungu 10%



Gambar 2. Grafik Batang Rata-Rata Jumlah Sel Osteoklas

Hasil uji normalitas dan uji homogenitas menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji *One Way Anova* menunjukkan hasil signifikan ($p < 0,05$). Hasil uji LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok normal, kelompok kontrol positif, kelompok ekstrak daun ungu 2,5%, 5% dan 10%. Tetapi tidak berbeda signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak daun ungu 2,5% ($p < 0,05$).

PEMBAHASAN

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi potensi ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff) terhadap penurunan jumlah sel osteoklas pada tikus wistar yang diinduksi *P.gingivalis*. Rata-rata jumlah sel osteoklas pada kelompok kontrol negatif menunjukkan hasil yang paling tinggi dibandingkan kontrol positif dan kelompok lainnya. Hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa *P.gingivalis* dapat menyebabkan terstimulasinya prostaglandin dan prekursoranya, interleukin 1- α dan β , sitokin pro-inflamasi TNF- α yang dihasilkan host sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan ligamen periodontal selanjutnya memicu resorpsi tulang alveolar yang diperankan oleh sel osteoklas^{9,10}.

Ekstrak daun ungu pada konsentrasi 2,5%, 5% dan 10% dapat menurunkan jumlah sel osteoklas pada tikus wistar yang diinduksi *P.gingivalis*. Ekstrak daun ungu memiliki kandungan senyawa kimia meliputi alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, tripenoid, saponin dan glikosida. Hal ini sesuai dengan hasil uji kandungan senyawa kimia ekstrak daun ungu. Senyawa kimia yang banyak terkandung meliputi alkaloid sebesar 64,48, flavonoid sebesar 54,04, fenolik sebesar 13,53 dan tanin

sebesar 12,17. Flavonoid, alkaloid, dan saponin dapat dimanfaatkan sebagai obat kumur antiinflamasi yang sekaligus berperan sebagai antibiotik untuk penderita periodontitis (Pratiwi, 2012). Hal ini menunjukkan bahwa penurunan jumlah sel osteoklas pada penelitian ini karena adanya efek sinergis antara senyawa kimia dalam ekstrak daun ungu.

Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan hasil signifikan ($p < 0,05$). Artinya terdapat kemampuan pada masing-masing kelompok penelitian dalam menurunkan jumlah sel osteoklas pada tikus wistar yang diinduksi *P.gingivalis*. Baik itu kelompok perlakuan ekstrak daun ungu konsentrasi 2,5%, 5% dan 10% maupun kelompok kontrol positif dengan obat kumur Tantum Verde. Hal ini disebabkan adanya kandungan senyawa aktif dalam kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol positif. Hasil uji LSD menunjukkan bahwa KP 5% dan KP 10% yang bermakna ($p < 0,01$) terhadap K(+). Artinya konsentrasi efektif sebagai terapi periodontitis dengan parameter penurunan jumlah osteoklas, pada KP5% dan KP10% yang efektif. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Prasetyaningrum dkk (2018) yang meneliti efek ekstrak daun teh hijau terhadap sel osteoklas tulang alveolar tikus putih (*Rattus norvegicus*) periodontitis bahwa jumlah konsentrasi suatu ekstrak mempengaruhi efektifitas penurunan sel osteoklas.³²

Kelompok yang diberi ekstrak daun ungu 10% tidak berbeda signifikan dengan kelompok normal. Hal ini dapat diartikan bahwa ekstrak daun ungu konsentrasi 10% mempunyai kemampuan sama dalam menurunkan jumlah sel osteoklas dan mengembalikan jumlah sel osteoklas seperti keadaan normal. Ekstrak daun ungu 10% memiliki efek antiinflamasi yang berpotensi sebagai terapi untuk periodontitis. Hal ini dikarenakan daun ungu memiliki kandungan tanin dan flavonoid yang mampu menurunkan kadar TNF- α pada kelompok perlakuan sampai mendekati kelompok yang hanya diberi pakan standar dan minum (normal).³³ Terhambatnya sitokin pro-inflamasi akan menurunkan asam arakidonat. Penurunan asam arakidonat dapat menurunkan apoptosis sel osteoblas. Sel osteoblas mensekresi *osteoprotegerin* (OPG). OPG berfungsi untuk menghambat ikatan RANKL dengan RANK, sehingga terjadi apoptosis sel osteoklas yang menyebabkan penurunan resorpsi tulang.³⁴

Kelompok kontrol positif (Tantum Verde) tidak berbeda signifikan dengan kelompok yang diberi ekstrak daun ungu 5% dan 10%. Hal ini artinya ekstrak daun ungu konsentrasi tersebut bisa sebagai alternatif terapi untuk penyakit periodontitis. Tantum Verde yang mengandung *benzylamine* HCl 0.15% mempunyai efek yang sama dengan ekstrak daun ungu konsentrasi 5% dan 10% sebagai antiinflamasi yang mempengaruhi jumlah osteoklas. *Benzylamine* HCl termasuk golongan NSAID yang bekerja dengan menghambat jalur siklooksigenase. COX memproduksi berbagai zat kimia seperti prostaglandin yang menyebabkan inflamasi.

Benzylamine HCl dapat mencegah terjadinya inflamasi dan rasa sakit dengan menghambat terbentuknya prostaglandin.³⁵ Penelitian farmakologi menunjukkan bahwa *benzylamine* HCl memiliki sifat analgesik, antiinflamasi, antipiretik, anastesi lokal dan antibakteri. *Benzylamine* HCl berpengaruh pada mekanisme lokal proses inflamasi. *Benzylamine* HCl berada pada konsentrasi tinggi di jaringan yang inflamasi sedangkan jaringan normal konsentrasinya sangat rendah, dengan demikian pemberian topikal meningkatkan efektifitasnya.¹² Dari hasil penelitian ini, dapat dikatakan bahwa ekstrak daun ungu mampu menurunkan jumlah sel osteoklas pada tikus wistar yang diinduksi *P.gingivalis* dan berpotensi sebagai terapi alternatif pada periodontitis dengan konsentrasi efektif 5% dan 10%, dengan cara diaplikasikan melalui irigasi pada sulkus gingiva.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff) memiliki potensi untuk menurunkan jumlah sel osteoklas pada tikus wistar yang diinduksi *P.gingivalis* dengan konsentrasi optimal 5% dan 10%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Depkes RI. Riset Kesehatan Dasar. <http://www.depkes.co.id> [diakses pada 20 Juni 2019] :118-220.
2. Susilawati, I. D. A. Periodontal infection is a "Silent Killer". *Stomatognathic (J.K.G. Unej)* 2011; 8(1): 21-26.
3. Bostanci, N. & Belibasakis, G. N. Porphyromonas gingivalis: an Invasive & Evasive. *FEMS Microbiol Lett* 2012; 333(1): 1-9.
4. Newman, M.G., Caranza, F.A., Takei, H.H., dan Klokkevold, P.R. *Newman and Carranza's Clinical Periodontology*. 13th Edition. Philadelphia: Elsevier. 2019: 89.
5. Toar, A. I., Posangi, J., dan Wowor, V. Daya Hambat Obat Kumur Cetylpyridinium Chloride dan Obat Kumur Daun Sirih Terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans. *Jurnal biomedik (JBM)* 2013; 5(1): 163-168.
6. How, K. Y., Song, K. P., dan Chan, K. G. Porphyromonas gingivalis: an Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line. *J. Frontiers in Microbiology* 2016; 7(53): 1-14.
7. Yustina, A. R., Suardita, K., dan Agustin, D. Peningkatan Jumlah Osteoklas pada Keradangan Periapikal Akibat Induksi Lipopolisakarida Porphyromonas gingivalis. *JBP* 2012; 14(3): 140-44.
8. Kim, H. J., Seo, J. Y., Suh, H. J., Lim, S. S., dan Kim, J. S. Antioxidant Activities of Licorice-derived Prenylflavonoids. *Nutr Res Pract* 2012; 6(6): 491-98.
9. Mescher, A. L. *Histologi Dasar Junqueira Teks dan Atlas*. 14th Edition. Jakarta: EGC. 2015 p.138-59
10. Rubin, J. & Greenfield, E. M. Osteoclast: Origin & Differentiation. *Journal of Medical and Dental* 2012; 59(3): 65-74.
11. Zulfa, L. & Mustaqimah, D. N. Terapi Periodontal Non-Bedah. *Dentofasial* 2011; 10(1): 36-41.
12. Firza, T.A., Umar, N., dan Ihsan, M. Perbandingan Obat Kumur Benzylamine HCl 22,5 mg dan Ketamin 40 mg dalam Mengurangi Nyeri Tenggorok & Suara Serak Akibat Intubasi Endotrakeal. *Jurnal Anestesi Perioperatif*. 2017; 5(1): 57-66.
13. Ulusoy, N. B., Arkan, V., dan Oba, A. A. Effect of Mouthwashes On The Discolouration of Restorative Materials Commonly Used In Paediatric Dentistry. *European Archives of Paediatric Dentistry* 2018: 1-7.
14. Balai Besar Pelatihan Pertanian (BBPP) Lembang. *Potensi Tanaman Obat Indonesia*. Lembang, Kementerian Pertanian Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian. 2012: 1-3.
15. Sumarny, R., Yuliandini, dan Rohani, M. Efek Anti-Inflamasi dan Anti-Diare

- Ekstrak Etanol Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*L.) & Daun Ungu (*Graptophyllum pictum*L. Griff). *Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi Dan Klinik III* 2013: 207-11.
16. Sitompul, N. Aktivitas Antibakteri & Analisis Kandungan Kimia Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff). *Prosiding Seminar Nasional Biologi Meningkatkan Peran Biologi dalam Mewujudkan "National Achievement with Global Reach"*. Medan: USU Press 2011: 245-49.
 17. Purwanto, B. *Herbal & Keperawatan Komplementer*. Yogyakarta: Nuha Medika. 2013.
 18. Ardiana, T., Kusuma, A. R. P., dan Firdausy, M. D. Efektivitas Pemberian Gel Binahong (*Anredera Cordifolia*) 5% Terhadap Jumlah Sel Fibroblast Pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Marmut (*Cavia Cobaya*). *J. ODONTO Dental*. 2015; 2(1): 64-70.
 19. Fitria, L., Utami, I. D., dan Suranto, R. D. P. Uji Potensi Buah Luwungan (*Ficus hispida* L.f) Sebagai Penurun Kadar Kolesterol Darah dengan Hewan Model Tikus Wistar (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Hiperlipidemia. *Laporan Penelitian Fakultas Biologi Dana BOPTN 2015*. Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. 2015: 1-20.
 20. Baskhara, M. E., Ratih, P. H., dan Failasufa, H. Efektivitas Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* (In vitro). *Skripsi*. Semarang: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Semarang. 2018: 5-6.
 21. Kusumawati, I. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Ungu (EEDU) *Graptophyllum pictum* L.Griff terhadap Fungsi Fagositosis serta Pembentukan Immunoglobuli M dan TNF-alpha pada mencit. *Disertasi*, Fakultas Pasca Sarjana, Universitas Airlangga, Surabaya 2002: 32-64.
 22. Mysak, J., Podzimek, S., Sommerova, P., Lyuya-Mi, Y., Bartova, J., Janatova, T., Prochazkova, J., dan Duskova, J. *Porphyromonas gingivalis*: Major Periodontopathic Pathogen Overview. *J. Immunology Research* 2014; 2014: 1-8.
 23. Nasution, A. I. *Hubungan Molekuler Osteoporosis, Inflamasi, Sistem Imunologi dan Aging*. Biologi Oral FKG UI.
 24. Iskandar, P. & Ismaniati, N. A. Peran Prostaglandin pada Pergerakan Gigi Ortodontik. *Dentofasial* 2010; 9(2): 91-100.
 25. Cochran, D. L. Inflammation and Bone Loss In Periodontal Disease. *J. Periodontol* 2008; 79(8): 1569-76.
 26. Zhang, W., Ju, J., Rigney, T., dan Tribble, G. *Porphyromonas gingivalis* Increases Osteoclastic Bone Resorption & Osteoblastic Bone Formation in a Periodontitis Mouse Model. *BMC Oral Health* 2014: 1-9.
 27. Kurniawan, B. & Aryana, W. F. Binahong (*Cassia alata*L) as Inhibitor of *Escherichiacoli* Growth. *J Majority*. 2015; 4(4): 100-104.
 28. Sani, F. & Yustimartina, P. Uji Efektivitas Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Subang-subang (*Scaevola taccada* L.). terhadap Mencit yang Diinduksi Karagenan. *Seminar Nasional Ilmu Kesehatan*. 2016: 40-45.
 29. Astuti, S. M. *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga & Umbi Tanaman Binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis.)*. Bogor: Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH). 2011: 3-4
 30. Pramitaningastuti, A. S. & Anggraeny, E. N. Uji Efektivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona squamosa*.L) Terhadap Edema Kaki Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *J Ilmiah Farmasi*. 2017; 13(1): 8-14.
 31. Pratiwi, L. C. Adhesi *Porphyromonas gingivalis* pada Netrofil yang Diinduksi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. 2012: 41-50.
 32. Prasetyaningrum, N. Soemardini, M. Fadil. Efek Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia cinensis*) Terhadap Jumlah Sel Osteoklas Tulang Alveolar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *E-Prodenta Journal of Dentistry* 2018: 130-39.
 33. Tjahjani, N. P., Kristina, T. N., dan Lestari, E. S. Efektivitas Ekstrak Etanol

- Daun Ungu (*Gratophyllum pictum*(L.))
untuk Menurunkan Kadar TNF- α & NO.
Pharmaciana. 2016; 6(2): 191-200.
34. Bartold, P. M., Cantley, M. D., dan Haynes, D. R. Mechanisms & Control of Pathologic Bone Loss In Periodontitis. *Periodontology 2000*. 2010; 53: 55-69.
35. Suparwi, A. D. Perbedaan Efektivitas Obat Kumur Chlorhexidine & Methylsalicylate dalam Menurunkan Jumlah Koloni Bakteri Rongga Mulut. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. 2010: 12-20.
36. Sunarto, H. Plak Sebagai Penyebab Utama Keradangan Jaringan Periodontal. *Skripsi*. Jakarta: Departemen Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. 2014: 1-12.

