**EFEK EKSTRAK DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) TERHADAP SEL OSTEOKLAS
TULANG ALVEOLAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

Nenny Prasetyaningrum*, Soemardini, Mochammad Nur Fadillah*****

*Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, Malang

**Departemen Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

***Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, Malang

Korespondensi: Nenny Prasetyaningrum, E-mail: nennyrachmady@yahoo.com

ABSTRAK

Periodontitis merupakan peradangan pada jaringan pendukung gigi yang menyebabkan kerusakan tulang alveolar. Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menghasilkan Lipopolisakarida (LPS) yang dapat meningkatkan aktivitas osteoklas. Teh hijau memiliki kandungan *epigallocatechin gallate* (EGCG) yang dapat menurunkan aktivitas dan diferensiasi sel osteoklas dengan menghambat peningkatan RANKL. **Tujuan:** untuk mengetahui efek ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap penurunan jumlah sel osteoklas tulang alveolar tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan diinduksi lipopolisakarida. **Metode:** Tikus putih sebanyak 28 ekor dibagi dalam 4 kelompok, yaitu Kelompok K- (tidak diberi perlakuan), Kelompok K+ (diinduksi LPS *Aa*), Kelompok P1 dan Kelompok P2 (masing-masing diinduksi LPS *Aa* dan diberi ekstrak daun teh hijau dengan dosis 150 mg / 100 gram BB dan 200 mg / 100 gram BB). Tikus didekapitasi untuk diambil tulang alveolar rahang bawah dan dilakukan pengamatan sel osteoklas dengan pewarnaan HE. **Hasil:** terdapat perbedaan jumlah sel osteoklas yang signifikan antar kelompok (One Way Anova, $p < 0,05$) dan tidak terdapat perbedaan jumlah sel osteoklas yang signifikan antar kelompok P1 dan P2 (Post Hoc, $p > 0,05$). **Kesimpulan:** ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) mempunyai efek terhadap penurunan jumlah sel osteoklas tulang alveolar tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan diinduksi lipopolisakarida dimana dosis efektif ekstrak daun teh hijau 150mg/100grBB.

Kata Kunci : Ekstrak daun teh hijau, Osteoklas, Lipopolisakarida, tulang alveolar

**EFFECT OF GREEN LEAF TEA (*Camellia sinensis*) EXTRACT ON OSTEOCLAS BONE
ALVEOLAR RATS (*Rattus norvegicus*)**

ABSTRACT

*Periodontitis is an inflammation in teeth supporting tissue thus allowing the destruction in alveolar bone. Aggregatibacter actinomycetemcomitans bacteria which produces lipopolysaccharide (LPS) to increase osteoclast production. Green tea contains epigallocatechin gallate (EGCG) which is able to decrease the activity and differentiation of osteoclast by obstructing the increase of RANKL expression. **Objectives:** To determine the effects of green tea (*Camelia Sinensis*) extract towards decreasing number of osteoclast in white rat's (*Rattus Norvegicus*) socket which is induced by lipopolysaccharide. **Method:** the 28 rats is divided into 4 groups. The groups are K- group (the experimental animals weren't given any treatment), K+ group (the experimental animals were induced by Aa's LPS), P1 and P2 group (the experimental animals were induced by Aa's LPS and with 150 mg/100 g and 200 mg/100 g weight of green tea extract). The rats will be sacrificed and dissected to take its lower jaw's alveolar bone. Then HE staining is done to observe the osteoclast. **Result:** There is a significant difference in osteoclast number in each group. (The One-way ANOVA, ($p < 0,05$). There is no significant difference in osteoclast cell count between P1 and P2 groups (Post Hoc, $p > 0,05$). **Conclusion:** The green tea (*Camellia Sinensis*) extract has an effect towards the decrease of osteoclast number on White Rat's (*Rattus norvegicus*) alveolar bone which is induced with lipopolysaccharide, and the effective dose is 150 mg/100 g weight.*

Keywords: *Green Tea Lesf Extract, Osteoclast, Lipopolysaccharide, Alveolar Bone*

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan salah satu masalah kesehatan gigi dan mulut yang memiliki prevalensi tinggi di masyarakat.¹ Di Indonesia, prevalensi penyakit periodontal mencapai 96,58% di semua kelompok umur. Salah satu penyakit

periodontal yang sering dijumpai adalah periodontitis.² Periodontitis merupakan peradangan yang disebabkan oleh bakteri pada jaringan pendukung gigi sehingga terjadi kerusakan pada ligamen periodontal dan tulang alveolar. Bakteri yang paling banyak berperan pada periodontitis adalah bakteri Gram negatif, yaitu *Porphyromonas*

gingivalis, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, dan *Prevotella intermedia*. Bakteri ini akan mengeluarkan produk Lipopolisakarida (LPS) yang akan menyebabkan terjadinya peradangan pada gingiva dan kerusakan tulang alveolar.³

LPS yang dihasilkan oleh bakteri gram negatif akan mengaktifkan respon imun. Makrofag akan memicu pelepasan mediator kimia, yaitu *Tumor Necrosis Factor* (TNF) dan interleukin-1 β (IL-1 β) yang akan mengaktifasi pelepasan sel Limfosit. Sel Limfosit akan meningkatkan stimulasi pengeluaran RANKL (*receptor activator of nuclear factor kappaB ligand*). Peningkatan RANKL akan meningkatkan pembentukan dan aktivitas osteoklas yang menstimulasi pembentukan MMP (*Matrix Metalloproteinase*), dimana MMP memiliki peran penting dalam destruksi tulang alveolar. Apabila terjadi peningkatan pada MMP, maka akan terjadi penurunan densitas tulang alveolar.⁴

Saat ini, banyak penelitian dilakukan berbasis tanaman obat herbal untuk terapi pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit. Teh hijau (*Camellia sinensis*) merupakan salah satu tanaman obat herbal yang banyak digunakan sebagai obat tradisional karena memiliki banyak kandungan bahan aktif untuk pengobatan. Teh hijau adalah salah satu hasil dari pengolahan teh segar tanpa melalui proses fermentasi.⁵

Teh hijau memiliki kandungan *polyphenolic* yang disebut sebagai katekin atau polifenol. Jenis katekin dalam teh

hijau, yaitu *epigallocatechin gallate* (EGCG), *epigallocatechin* (EGC), *epicatechin gallate* (ECG), dan *epicatechin* (EC). Terdapat 30%-40% kandungan zat katekin yang terdapat dalam ekstrak daun teh hijau. EGCG merupakan jenis katekin terbanyak yang terdapat pada teh hijau, yaitu 67% dari total zat katekin dalam ekstrak daun teh hijau. Dalam penelitian tikus model *Rheumatoid Arthritis*, EGCG merupakan zat dalam teh hijau yang dapat menurunkan aktivitas dan diferensiasi sel osteoklas dengan menghambat peningkatan dari ekspresi RANKL sehingga densitas tulang dapat meningkat. Dosis yang digunakan dalam penelitian tersebut adalah 150 mg/gr, dimana dosis tersebut merupakan dosis yang efektif dalam menghambat peningkatan dari ekspresi RANKL.⁶

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap penurunan jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan diinduksi lipopolisakarida *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa).

METODE

Penelitian ini menggunakan desain *true experimental design in vivo* laboratorium dan rancangan *randomized post test only controlled group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Faal dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Sampel penelitian menggunakan 28 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur

wistar jantan yang dibagi 4 kelompok, yaitu kelompok K- (Kontrol negatif, kelompok yang tidak diberi perlakuan apapun), kelompok K+ (Kontrol positif, kelompok yang diinduksi LPS *Aa*), kelompok P1 (perlakuan 1, kelompok yang diinduksi LPS *Aa* dan diberi ekstrak daun teh hijau dengan dosis 150mg/100gram BB) dan kelompok P2 (perlakuan 2, kelompok yang diinduksi LPS *Aa* dan diberi ekstrak daun teh hijau dengan dosis 200mg/100gram BB).

Sebanyak 1 mg LPS sediaan jadi dalam bentuk serbuk dilarutkan dalam 1 ml aquadest kemudian diencerkan dengan PBS dengan dosis 5 µg LPS *Aa* dalam 3 µl PBS. Ekstrak daun teh hijau didapatkan dengan teknik maserasi. Daun teh hijau dalam sediaan serbuk kering sebanyak 200 gram direndam dalam pelarut etanol 96% dan didiamkan selama 2-3 hari serta ditutup dengan menggunakan aluminium foil. Rendaman serbuk daun teh hijau diperas dengan menggunakan kertas saring. Hasil saringan daun teh hijau diekstrak menggunakan rotavapor dengan suhu 50°C selama 4 jam yang berguna untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak teh hijau. Lalu ekstrak daun teh hijau dilarutkan ke dalam DMSO (*dimetil sulfoksida*) agar ekstrak dapat diinjeksikan kedalam gingiva.

Gingiva gigi insisif pertama kanan rahang bawah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dioleskan topikal anestesi kemudian diinjeksi LPS *Aa* dengan dosis 5 µg/3 µl PBS menggunakan jarum 25 G

sebanyak 50 µl pada sulkus gingiva, diberikan selama 20 hari dengan interval 2 hari sekali. Pada hari ke 20 dilakukan pengamatan makroskopis untuk mengetahui gambaran klinis periodontitis, yaitu adanya inflamasi pada daerah margin gingiva dan adanya penambahan kedalaman poket yang diukur dengan melakukan *Probing*. Pada kelompok P1 dan P2 dilakukan pemberian ekstrak daun teh hijau pada hari ke-21 dengan injeksi ekstrak daun teh hijau dengan dosis 150mg/100mg BB dan 200mg/100mg BB yang telah dikonversi ke µg dengan pengenceran DMSO menggunakan jarum 25 G pada sulkus gingiva yang sebelumnya dioleskan topikal anestesi.

Perlakuan dilakukan setiap hari sampai hari ke-36. Pada hari ke-37 semua sampel dikorbankan dan diambil tulang alveolar rahang bawah tikus putih dengan fiksasi buffer formalin 10%, kemudian dilakukan dekalsifikasi dengan EDTA sebelum dibuat sediaan preparat dengan pewarnaan HE (*Hematosilin-Eosin*). Analisis penghitungan jumlah sel osteoklas dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x/ 5 lapang pandang

HASIL PENELITIAN

Sel osteoklas diidentifikasi sebagai sel berinti banyak (multinukleus) dan pipih yang berada di daerah cekungan dangkal (*Howship's lacunae*) pada permukaan tulang serta berwarna merah dengan inti berwarna kebiruan.

Gambar 1. Perbandingan Histologis tulang alveolar tikus dengan pewarnaan Hematoksine-Eosin menggunakan mikroskop elektrik dengan perbesaran 400x.

Ket: (A) Kelompok K-, (B) Kelompok K+, (C) Kelompok P1, dan (D) Kelompok P2.

Tanda panah menunjukkan sel osteoklas.

Analisis jumlah sel osteoklas dilakukan dengan menggunakan mikroskop elektrik dengan perbesaran 400x/ lima lapang pandang.

Gambar 2. Diagram rerata dan standar deviasi jumlah sel osteoklas

Pada gambar 2 menunjukkan bahwa Kelompok K+ memiliki rata-rata jumlah sel

osteoklas paling banyak, yaitu 32,06 jika dibandingkan dengan kelompok K-, P1, dan P2. Kelompok K- memiliki rata-rata jumlah sel osteoklas sebesar 21,13. Kelompok P1 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah sel osteoklas mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yaitu 24,11. Kelompok P2 memiliki rata-rata jumlah sel osteoklas paling sedikit dibandingkan dengan kelompok k+ dan P1 yaitu 22,14. Kelompok P2 memiliki rata-rata jumlah sel osteoklas yang mendekati rata-rata jumlah sel osteoklas pada Kelompok K.

Uji normalitas dengan menggunakan Shapiro-Wilk didapatkan nilai $p > 0,05$. Nilai tersebut menunjukkan data penelitian terdistribusi normal. Pada uji

Anova, didapatkan nilai $p < 0,05$, sehingga dapat dikatakan terdapat perbedaan signifikan jumlah sel osteoklas dari pada semua kelompok. Untuk melihat perbedaan jumlah sel osteoklas antar kelompok K-, K+, P1 dan P2, pengamatan dilakukan dengan menggunakan *Post Hoc Test*.

Tabel 1. Hasil Post hoc test antara kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif

Kelompok	Mean	Sig.
K-	21,3	,000
K+	32,05	

Hasil Post Hoc Test menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok K+ dengan K-.

Tabel 2. Hasil Post hoc test antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 1

Kelompok	Mean	Sig.
K+	32,057	,000
P1	24,114	

Mean=r ata-rata jumlah angiogeneis, Sig. Menunjukkan tingkat signifikansi pengujian.

Hasil Post Hoc Test menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok K+ dengan kelompok P1 (dosis ekstrak teh hijau 150mg/100grBB).

Tabel 3. Hasil Post hoc test antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 2

Kelompok	Mean	Sig.
K+	32,057	,000
P2	22,143	

Hasil Post Hoc Test menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok K+ dengan kelompok P2 (dosis ekstrak teh hijau 200mg/100grBB).

Tabel 4. Hasil Post hoc test antara kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 2

Kelompok	Mean	Sig.
P1	24,114	,368
P2	22,143	

Hasil Post Hoc Test menunjukkan belum adanya perbedaan signifikan ($p > 0,05$) antara kelompok P1 dengan kelompok P2

Tabel 5. Hasil Uji Korelasi Pearson

		Dosis	Jumlah Osteoklas
Dosis	Pearson	1	-,922
	Correlation		
	n		
		Sig.	,000
Jumlah Osteoklas	Pearson	-,922	1
	Correlation		
	n		
		Sig.	,000

Hasil Uji Korelasi Pearson menunjukkan adanya korelasi yang kuat dan terdapat hubungan antara pemberian dosis ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan penurunan jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan diinduksi LPS. Sifat korelasi negatif karena nilai negatif yang artinya makin tinggi dosis pemberian

ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*), makin menurun jumlah sel osteoklas.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian berdasarkan hasil uji oneway ANOVA didapatkan perbedaan bermakna jumlah sel osteoklas antara kelompok K-, kelompok K+, kelompok P1 dan kelompok P2. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) mempunyai efek terhadap penurunan jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan diinduksi lipopolisakarida. EGCG dalam ekstrak daun teh hijau mampu menurunkan aktivitas resorpsi tulang melalui penghambatan pembentukan sel osteoklas.⁷ EGCG dalam teh hijau juga memiliki antiosteogenesis (anti pembentukan sel osteoklas) yang mengurangi produksi induksi RANKL dengan NFATc1 sebagai prekursor dari osteoklas.⁸

Kelompok K+ yang diinduksi LPS Aa menunjukkan rerata jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar lebih banyak dibandingkan kelompok K- yang tidak diinduksi LPS. Hal ini mengindikasikan bahwa LPS Aa mampu menyebabkan peningkatan jumlah sel osteoklas. LPS merupakan zat endotoksin dari bakteri *Aggregobacter actinomycetecomitans* (Aa) yang akan mengaktifkan makrofag didalam tubuh. Aktivasi makrofag merupakan salah satu respon alami imun tubuh. Makrofag akan memicu pelepasan mediator kimia *Tumor Necrosis Factor* (TNF) dan

Interleukin (IL), Prostaglandin E₂ (PGE₂), dan *Matrix metalloproteinase* (MMP). Selain respon alami tubuh, LPS juga akan mengaktifkan sistem adaptif tubuh dengan terbentuknya Limfosit B dan T yang dibantu oleh mediator kimia TNF.⁹

Limfosit-T dan Limfosit-B akan mensekresi RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa- β Ligand*) yang memiliki peranan terhadap peningkatan aktivitas osteoklas dan destruksi tulang alveolar. RANKL akan berikatan dengan RANK sebagai proses awal destruksi tulang. Ikatan ini akan menginduksi TNF reseptor-associated 6 (TRAF 6) yang menjadi kunci proses transkripsi osteoklas. TRAF 6 ini akan mengaktifkan *Nuclear Factor- κ B* (NF κ B) dan *mitoge-activated kinases* (MAPKs) yang sangat penting dalam diferensiasi osteoklas. NF κ B dan MAPKs ini akan menginduksi faktor NFATc1 yang akan meregulasi sejumlah gen spesifik osteoklas seperti *Katepsin K* sehingga osteoklas mengadakan diferensiasi.^{9,10,11}

Apabila peningkatan RANKL tidak diimbangi oleh peningkatan OPG (Osteoprogenitor), dimana OPG merupakan inhibitor dari RANKL, maka akan terjadi resorpsi tulang alveolar. Apabila jumlah OPG lebih banyak dari RANKL maka resorpsi tulang dapat dicegah. Jika ikatan antara RANKL dengan RANK terjadi maka aktivasi osteoklas akan terjadi, sedangkan ikatan RANKL dengan OPG tidak akan mengaktifkan osteoklas. Apabila peningkatan aktivitas osteoklas telah terbentuk, maka osteoklas akan

memproduksi MMP. MMP ini akan merusak ikatan jaringan antara ginggiva dan tulang alveolar, lalu MMP akan merusak tulang alveolar melalui penurunan densitas tulang alveolar dan terjadi resorpsi tulang alveolar.¹² Penelitian sebelumnya juga membuktikan bahwa induksi LPS Aa dapat menyebabkan peningkatan jumlah sel osteoklas dan terjadinya resorpsi tulang alveolar dan menyebabkan periodontitis.¹³

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan bermakna jumlah sel osteoklas pada kelompok P1 (dosis ekstrak daun teh hijau 150mg/100grBB) dan P2 (dosis ekstrak daun teh hijau 200mg/100grBB) dibanding dengan kelompok K+. Hal ini sesuai dengan teori bahwa kandungan senyawa Katekin khususnya *epigallocatechin gallate* (EGCG) dalam teh hijau (*Camellia sinensis*) dapat menekan proliferasi dan diferensiasi sel osteoklas melalui jalur RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-β Ligand*). Pada penelitian Shen *et al*, EGCG akan menurunkan ekspresi dari RANKL yang diaktivasi oleh Sel limfosit, sehingga RANKL dan OPG akan dalam keadaan seimbang. Hal ini menyebabkan diferensiasi osteoklas akan menurun dan densitas tulang menjadi meningkat. EGCG menghambat sinyal RANKL melalui pengurangan aktivitas transkripsi dari NF-κβ dan penghambatan ikatan dengan RANK sehingga jumlah sel osteoklas dapat menurun yang sesuai dengan penelitian ini.^{14,15}

Hasil penelitian kelompok P1 (ekstrak daun teh hijau dosis 150mg/100gr

BB) dan P2 (ekstrak daun teh hijau dosis 200mg/100grBB) tidak terdapat perbedaan yang bermakna walaupun berdasarkan rerata kelompok P2 lebih rendah daripada kelompok P1. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun teh hijau dengan dosis 200mg/100grBB dan 150mg/100gr BB mempunyai efek yang sama terhadap penurunan sel osteoklas pada tulang alveolar tikus putih dengan induksi LPS. Dosis efektif dipilih dimana dosis minimal dapat memberikan efek maksimal. Sehingga pemberian dosis pada kelompok P1, yaitu 150mg/100grBB merupakan dosis yang efektif dalam menurunkan jumlah sel osteoklas. Hal ini sesuai dengan penelitian tikus model *Rheumatoid Arthritis*, dimana pada dosis 150 mg/gram merupakan dosis yang efektif dalam menghambat peningkatan dari ekspresi RANKL sehingga terjadi penurunan pembentukan osteoklas.⁷

Berdasarkan hasil statistik uji korelasi Pearson, didapatkan bahwa terdapat korelasi yang sangat kuat yaitu 0,922 dan arah korelasi negatif, yang berarti semakin besar dosis ekstrak teh hijau, maka semakin menurun jumlah sel osteoklas pada tikus *Rattus norvegicus*.

KESIMPULAN

Ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) mempunyai efek terhadap penurunan jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi lipopolisakarida. Dosis efektif dalam penelitian ini adalah

ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) 150mg/ 100gr BB.

SARAN

Perlu penelitian lebih lanjut tentang efek kandungan bahan aktif yang ada seperti flavonoid dalam teh hijau yang berperan dalam terapi periodontitis dan efek samping dari ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai terapi periodontitis

DAFTAR PUSTAKA

1. Dharmayanti, A. *Deoxyypyridinoline Level in Gingival Crevicular Fluid as Alveolar Bone Loss Biomarker in Periodontal Disease*. J KG Unej. 2012; 2(3): 2-6.
2. Dinas Kesehatan Kota Malang. 2009. *Laporan Bulanan Kegiatan Puskesmas Tahun 2009*. Tidak Diterbitkan.
3. Laine ML, Crielaard W, Loos BG. *Genetic Susceptibility to Periodontitis*. Periodontol J. 2010; 58(1): 37-68.
4. Carranza FA, Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR. *Carranza's Clinical Periodontology*. 12th Edition. Missouri: Saunders Elsevier; 2015; p. 99-607.
5. Towaha J, Balittri. *Kandungan Senyawa Kimia pada Daun Teh*. Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. 2013; 19(3): 12-6.
6. Shen CL, Yeh JK, Cao JJ, Wang JS. *Green Tea and Bone Metabolism*. Nutr Res J. 2009; 29(7): 437-56.
7. Marinobu A, Biao W, Tanaka S, Horiuchi M, Jun L. *Epigallocatechin-3-gallate suppresses osteoclast differentiation and ameliorates experimental arthritis in mice*. Arthritis Rheum J. 2009; 58(7): 2012-8.
8. Lee JH, Jin H, Shim HE, Lee ZH. *Epigallocatechin-3-gallate Inhibits Osteoclastogenesis by Down-Regulating e-Fos Expression and Suppressing the Nuclear Factor- κ B Signal*. Molecular Pharmacology J. 2010; 77(1): 17-25.
9. Johansson, A. 2011. *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans Leukotoxin: A Powerful Tool With Capacity to Cause Imbalance in The Host Inflammatory Respon*. Journal Toxins. 2011; 3: 242-59.
10. Mariano FS, Sardi JCO, Duque C, Hofling JF, Goncalves RB. *The Role of Immune System in The Development of Periodontal Disease: a Brief Review*. Rev Odonto Cienc. 2010; 25(3): 300-5.
11. Prahasanti, C. *Immunohistochemical Analysis of NF- κ B (P50/P65) in Patient with Aggressive and Chronic Periodontitis*. Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease. 2013; 4(4): 56-9.
12. Zhao R, Kamon M, Sakamoto K. *Epigallocatechin-3-gallate Interferes RANKL/RANK Signal Pathway and Induces Apoptosis during Osteoclastogenesis in RAW 264 Cell*. Food and Nutrition Sciences J. 2013; 5:107-16.

13. Madeira MFM, Cisalpino D, Wemeck SMC, Kikuchi H. *MyD88 is Essential for Alveolar Bone Loss Induced by Aggregatibacter actinomycetemcomitans Lipopolysaccharide in Mice*. J Molecular Oral Microbiology. 2013; 28(6): 415-24.
14. Widyaningrum, N. 2013. *Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) pada Daun Teh Hijau sebagai Anti Jerawat*. Majalah Farmasi dan Farmakologi. 2013; 17(3): 95-8.
15. Shabri, Rohdiana D. *Optimasi dan Karakterisasi Ekstrak Polifenol Teh Hijau dari Berbagai Pelarut*. Jurnal Penelitian Teh dan Kina. 2016; 19(1): 57-66.