

**PENGARUH PEMBERIAN LIMBAH CAIR TAHU TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOKLAS TULANG ALVEOLAR
TIKUS MODEL PERIODONTITIS**

Dini Rachmawati ¹⁾, Saiful Anwar ²⁾

¹Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya

²Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya

Korespondensi: Saiful Anwar; Email: saan110100@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Periodontitis adalah peradangan Jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh bakteri anaerob yang mengakibatkan kerusakan ligamen periodontal dan tulang alveolar. Obat antiinflamasi digunakan untuk penyakit periodontal yaitu golongan non steroid. Adanya efek samping yang ditimbulkan obat antiinflamasi maka perlu alternatif yang lebih aman seperti limbah cair tahu. Limbah industri pembuatan tahu lebih banyak berupa cairan yang masih mengandung isoflavin sehingga dapat dimanfaatkan dalam menjaga kesehatan jaringan periodontal. **Tujuan:** Untuk mengetahui pengaruh pemberian limbah cair tahu terhadap jumlah sel osteoklas pada jaringan periodontal tikus model periodontitis. **Metode:** Penelitian ini menggunakan tikus wistar dengan 5 kelompok yaitu: K-(tanpa perlakuan), K+(perlakuan bakteri Pg 0,03ml 3 hari sekali), KE-1(perlakuan bakteri Pg 0,03ml 3 hari sekali+limbah cair tahu 6ml/KgBB), KE-2(perlakuan bakteri Pg 0,03ml 3 hari sekali+limbah cair tahu 12ml/KgBB), dan KE-3(perlakuan bakteri Pg 0,03ml 3 hari sekali + limbah cair tahu 18ml/KgBB) dan setelah 28 hari dilakukan pengambilan tulang alveolar untuk dibuat preparat HE. Pengamatan sel osteoklas dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dan dengan 5 lapang pandang. **Hasil:** Uji *One way* annova dan uji *tukey* HSD menunjukkan adanya pengaruh pemberian limbah cair tahu terhadap jumlah sel osteoklas ($p < 0,05$). Pada uji korelasi pearson menunjukkan adanya hubungan yang berbanding terbalik antara dosis yang diberikan dengan jumlah sel osteoklas ($p < 0,05$). **Kesimpulan:** Pemberian limbah cair tahu berbagai dosis memiliki hubungan yang signifikan terhadap jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar tikus wistar dan dosis 18ml/KgBB memiliki kemampuan yang paling efektif untuk menekan jumlah sel osteoklas.

Kata Kunci : Periodontitis, Anti Inflamasi, Isoflavin, Limbah Cair Tahu.

**THE EFFECT OF TOFU LIQUID WASTE ON OSTEOCLAST CELLS IN THE ALVEOLAR BONE OF
PERIODONTITIS MODEL RATS**

ABSTRACT

Background: Periodontitis is an inflammation of the supporting tissue caused by anaerobic bacteria resulting damage to the periodontal ligament and alveolar bone. Anti-inflammatory drugs used for periodontal disease, usually non-steroidal group. Many side effects caused by anti-inflammatory drugs, so it needs safer alternative, such as tofu liquid waste. The liquid tofu waste which still contains isoflavones can be used in maintaining the health of periodontal tissues. **Purpose:** To knowing the effect of tofu liquid waste on the periodontal health of periodontitis rats. **Methods:** This study used wistar rats with 5 groups, namely: K-(without treatment), K+(treatment of Pg bacteria 0.03ml every 3 days), KE-1(treatment of Pg bacteria 0.03ml every 3 days + tofu liquid waste 6ml/KgBB), KE-2(Pg bacteria treatment 0.03ml every 3 days+tofu liquid waste 12ml/KgBB), and KE-3(Pg bacteria treatment 0.03ml every 3 days+tofu liquid waste 18ml/KgBB) and after 28 days, alveolar bone was taken to make HE preparations. Observation osteoclasts cell was carried out by light microscopy with a magnification of 400x and with 5 field of view. **Results:** One way annova test and Tukey HSD test showed the effect of giving tofu liquid waste on the number of osteoclasts cells ($p < 0.05$). Pearson correlation test showed inversely proportional relation between the dose and the number of osteoclasts cells ($p < 0.05$). **Conclusion:** The provision of tofu liquid waste at various doses had a significant relationship to the osteoclast cells in Wistar rats and the dose of 18ml/KgBB had the most effective ability to suppress the amount of osteoclast cells.

Keywords: Periodontitis, Anti-Inflammation, Isoflavones, Tofu Liquid Waste.

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit gigi dan mulut yang banyak di jumpai di masyarakat dunia khususnya di Indonesia. Penyakit periodontal yang banyak dijumpai adalah keradangan gusi atau gingivitis dan periodontitis¹. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2007, prevalensi penduduk Indonesia yang mengalami penyakit gigi dan mulut termasuk penyakit periodontal yaitu 23,4% (Depkes RI, 2008). Prevalensi tersebut mengalami kenaikan yaitu menjadi 25,9% sesuai dengan hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013².

Penyebab awal terjadinya penyakit periodontal adalah ditandai dengan adanya penumpukan bakteri plak pada permukaan gigi sehingga menyebabkan inflamasi pada gingiva yang ditandai dengan perubahan warna, kontur, dan konsistensi serta perdarahan saat dilakukan *probing*. Bakteri Gram negatif anaerob beraktivitas merusak jaringan pendukung gigi yang mengakibatkan kehilangan perlekatan antara jaringan periodontal dengan gigi dan mengalami kerusakan yaitu resorpsi tulang alveolar. Periodontitis ditandai dengan adanya gambaran klinis yaitu adanya poket periodontal, ulserasi epitel poket, penghancuran ligamen periodontal kolagen, dan resorpsi tulang. Perubahan ini menyebabkan mobilitas dan akhirnya terjadi kehilangan gigi³.

Periodontitis adalah adanya peradangan gingiva di tempat yang telah mengalami migrasi apikal dari epitel junctional ke permukaan akar dengan hilangnya secara bersamaan perlekatan

jaringan ikat dan tulang alveolar⁹. Pada penyakit periodontitis, patogen utama yang berperan dalam inisiasi dan progresi periodontitis adalah bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Beberapa faktor virulensi yang dimiliki oleh bakteri *Porphyromonas gingivalis* diantaranya adalah fimbriae, kapsul polisakaida, vesikel membran luar, hematglutinin, lipopolisakarida (LPS), A. Gray enzim dan protein antigen. Faktor virulensi ini dapat merusak immunoglobulin, *complement faktor* dan mendegradasi perlekatan epitel jaringan periodontal sehingga dapat terbentuk poket periodontal. Bakteri penyebab periodontitis memiliki kemampuan untuk mengeluarkan endotoksin biologi aktif atau Lipopolisakarida (LPS) yang mempunyai kemampuan untuk mensintesis proinflamatori, interleukin (IL-1), tumor necrosis faktor- α (TNF- α), Prostaglandin E2 (PGE2) dan enzim hidrolitik¹⁰.

Periodontitis dapat menyebabkan terjadinya destruksi tulang dengan melibatkan proses kompleks dari 2 aksi yaitu sel osteoklas dan osteoblas. Osteoblas dan osteoklas adalah dua jenis sel yang ditemukan di tulang, berfungsi dalam remodeling tulang. Progenitor osteoblas akan mensekresikan RANKL/ODF sebagai mediator kunci pada perkembangan dan aktivitas osteoklas¹¹. Osteoklastogenesis terjadi akibat RANKL yang menstimulasi aktivitas dari osteoklas untuk meresorpsi tulang sedangkan osteoprotegerin (OPG) merupakan bagian dari TNF yang berperan sebagai faktor penghambat osteoklastogenesis¹²

Perawatan periodontitis meliputi terapi mekanis yang dilakukan dengan pembersihan karang gigi (*scaling*) dan penghalusan

permukaan akar (*root planning*) yang ditunjang pemberian obat-obatan antibiotika dan antiinflamasi⁴. Obat antiinflamasi steroid atau non steroid banyak digunakan untuk mengobati peradangan gingiva. Obat-obatan ini biasanya disertai dengan efek samping yang tidak terduga, dan juga tidak digunakan sebagai pilihan klinis yang baik untuk gangguan inflamasi kronis. Karena itu, sangat dibutuhkan temuan terapi antiinflamasi yang efektif dan aman⁵. Alternatif lain yang dapat digunakan untuk mengatasi periodontitis adalah obat-obatan herbal yang mampu meningkatkan kesehatan jaringan periodontal. Obat herbal memiliki efek samping yang sangat rendah dan memiliki kelebihan banyak khasiat farmakologis, sehingga *World Health Organization* (WHO) menganjurkan untuk mengolah dan memanfaatkan bahan alami untuk memelihara kesehatan⁶.

Salah satu tanaman yang banyak memiliki kemampuan anti-inflamasi adalah kedelai. merupakan salah satu bahan alami yang dapat digunakan dalam menjaga kesehatan jaringan periodontal. Investigasi terbaru menunjukkan polifenol dari sumber tanaman khususnya pada kedelai dapat mengobati inflamasi, kandungan flavonoid yang ada pada kedelai menunjukkan aktivitas anti-inflamasi pada *in vitro* dan *in vivo*⁷.

Isoflavon merupakan jenis flavonoid yang berfungsi sebagai anti-inflamasi dengan secara efektif menghambat peradangan yang diinduksi LPS yang dihasilkan oleh bakteri, mengurangi jumlah leukosit dalam darah tikus, dan menurunkan produksi IL-1, IL-6, nitrat oksida (NO), dan prostaglandin E2 (PGE2) di

kedua supernatan sel eksudat peritoneum dan cairan eksudat peritoneal¹³

Salah satu olahan dari bahan dasar kedelai yang banyak ditemukan di Indonesia adalah tahu. Limbah yang dihasilkan oleh industri pembuatan tahu lebih banyak berupa cairan. Kandungan kadar protein tinggi terdapat pada cairan ini dan dapat terurai dengan cepat. Pada limbah cair tahu terdapat bahan olahan organik kompleks yang tinggi terutama protein dan asam amino dalam bentuk padatan tersuspensi (selaput lendir dan bahan organik lain) maupun terlarut yang masih mengandung isoflavon sehingga masih dapat dimanfaatkan dalam menjaga kesehatan jaringan periodontal⁸. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian limbah cair tahu terhadap jumlah sel osteoklas pada jaringan periodontal tikus model periodontitis

METODE PENELITIAN

Penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *true experimental design post test control only*. Pada jenis desain ini terdapat sampel yang secara acak dipilih masuk ke kelompok eksperimen (diberi perlakuan) dan kelompok kontrol (tidak diberi perlakuan). Penelitian ini menggunakan tikus putih galur wistar. Tikus dibagi menjadi lima kelompok yaitu kelompok K-, K+, KE-1, KE-2, dan KE-3 dan pada setiap kelompok berisi 7 ekor tikus dengan berat 250-300 gram berumur 2-3 bulan (*Ethical Clearance*, No: 1158-KEP-UB).

Sampel dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu K- (tanpa perlakuan), K+ (perlakuan bakteri Pg 0,03ml 3 hari sekali), KE-1 (perlakuan bakteri Pg

0,03ml 3 hari sekali + limbah cair tahu 6ml/KgBB), KE-2 (perlakuan bakteri Pg 0,03ml 3 hari sekali + limbah cair tahu 12ml/KgBB), dan KE-3 (perlakuan bakteri Pg 0,03ml 3 hari sekali + limbah cair tahu 18ml/KgBB).

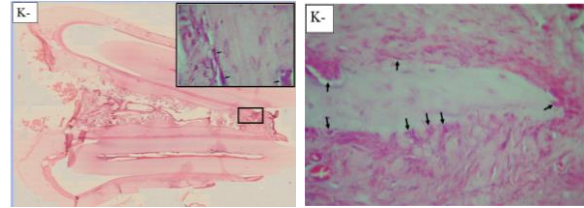
Hewan uji dilakukan aklimatisasi selama 2 minggu agar tikus dapat beradaptasi dengan lingkungan penelitian. Pembuatan tikus model periodontitis dilakukan dengan aplikasi bakteri *P. gingivalis* dilakukan setiap 3 hari sekali dengan dosis 0.03 ml menggunakan *micropipette* 10-100 µl dan tip.

Limbah cair tahu di aplikasikan pada masing-masing kelompok menggunakan sonde *gastric* yang telah berisi limbah cair tahu dengan dosis 6ml, 12ml, dan 18ml ke dalam mulut dan mengeluarkannya tepat di lambung agar efektif dan tidak dimuntahkan lagi oleh tikus¹⁴.

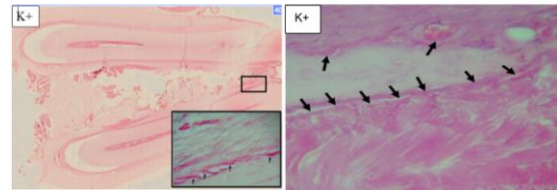
Setelah hari ke-28 tikus-tikus di dekaputasi dengan cara menganastesi tikus secara intra muskular menggunakan ketamin. Selanjutnya, pengambilan tulang alveolar rahang bawah dengan menggunakan gunting bedah dan merendam rahang bawah tersebut dengan buffer formalin (*paraformaldehyde*) 10% untuk kemudian dibuat sediaan mikroskopis.

Pembuatan preparat dan pewarnaan HE dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pengamatan sel osteoklas dilakukan secara manual pada mikroskop digital OLYMPUS dengan perbesaran 40x, 400x, dan 1000x.

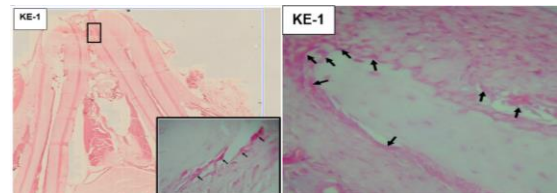
HASIL PENELITIAN



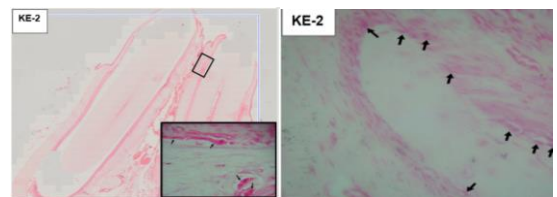
Gambar 1 Gambaran histologis Sel Osteoklas Kontrol – (K-) dengan pewarnaan *Hematoksin-Eosin* yang diambil menggunakan mikroskop elektrik Olympus BX51 perbesaran 40X, 400X, dan 1000X.



Gambar 2 Gambaran histologis Sel Osteoklas Kontrol + (K+) dengan pewarnaan *Hematoksin-Eosin* yang diambil menggunakan mikroskop elektrik Olympus BX51 perbesaran 40X, 400X, dan 1000X

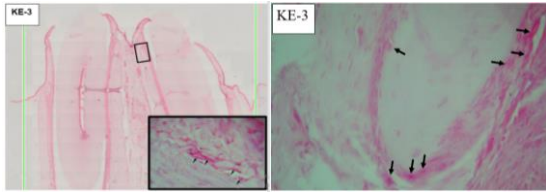


Gambar 3 Gambaran histologis Sel Osteoklas perlakuan bakteri Pg 0,03ml 3 hari sekali + limbah cair tahu 6ml/KgBB (KE-1) dengan pewarnaan *Hematoksin-Eosin* yang diambil menggunakan mikroskop elektrik Olympus BX51 perbesaran 40X, 400X, dan 1000X



Gambar 4 Gambaran histologis Sel Osteoklas perlakuan bakteri Pg 0,03ml 3 hari sekali + limbah cair tahu 12ml/KgBB (KE-2)

dengan pewarnaan *Hematoksin-Eosin* yang diambil menggunakan mikroskop elektrik Olympus BX51 perbesaran 40X, 400X, dan 1000X



Gambar 5 Gambaran histologis Sel Osteoklas perlakuan bakteri Pg 0,03ml 3 hari sekali + limbah cair tahu 18ml/KgBB (KE-3) dengan pewarnaan *Hematoksin-Eosin* yang diambil menggunakan mikroskop elektrik Olympus BX51 perbesaran 40X, 400X, dan 1000X

Tanda panah menunjukkan sel osteoklas dengan ciri sel raksasa multinukleus berbentuk bulat atau lonjong, sitoplasma berwarna merah kebiruan dan permukaan yang berada pada sisi tulang yang diresorpsi sedikit kasar dan berada dekat dengan tulang alveolar tikus wistar. Terlihat sel osteoklas sedikit pada K- dan banyak pada K+. Serta pada KE-1, KE-2, dan KE-3 menurun berbanding terbalik dengan jumlah dosis limbah cair tahu yang diberikan.

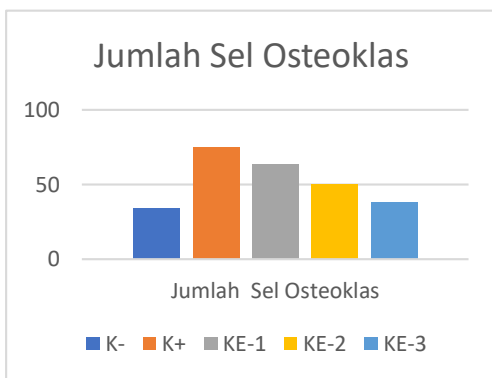


Diagram 1. Diagram hasil rata-rata perhitungan jumlah sel osteoklas pada kelompok K-,K+,KE-1,KE-2, dan KE-3.

Dari tabel diatas menunjukkan hasil rata-rata jumlah sel osteoklas pada setiap lapang pandang dengan jumlah tertinggi sejumlah 75,2 pada Kelompok Kontrol Positif (K+) diikuti kelompok Kelompok Eksperimen 1 (KE-1) dengan jumlah 62,6 pada urutan kedua, dilanjutkan urutan ketiga oleh Kelompok Eksperimen 2 (KE-2) dengan jumlah 49,8, urutan keempat oleh Kelompok Eksperimen 3 (KE-3) dengan jumlah 37,4, dan yang paling sedikit adalah Kelompok Kontrol Negatif (K-) dengan jumlah rata-rata sel osteoklas yaitu 34,4.

Uji normalitas menggunakan Saphiro-Wilk Test karena jumlah data 27 ($n < 50$). Uji normalitas terpenuhi jika nilai signifikansi hasil penghitungan $p > 0,05$ maka distribusi data normal. Data telah terpenuhi dan data berdistribusi normal. Uji homogenitas data menunjukkan nilai signifikansi 0,105, dapat disimpulkan data tersebut homogen. Uji *one way annova* diperoleh nilai signifikansi 0,00 ($p < 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan jumlah sel osteoklas pada setiap kelompoknya. Uji korelasi *pearson* menunjukkan nilai signifikansi $0,00 < 0,05$, maka terdapat hubungan antara dosis limbah cair tahu dan jumlah sel osteoklas. Nilai *pearson correlation* mencapai -0,889 dapat disimpulkan bahwa hubungan dosis limbah cair tahu dan jumlah osteoklas adalah berbanding terbalik yaitu semakin tinggi dosis limbah cair tahu semakin rendah jumlah sel osteoklas.

Berdasarkan uji *One Way Annova* dan Post-Hoc data hasil perhitungan sel osteoklas pada tulang alveolar tikus wistar yang diinduksi bakteri Pg menunjukkan perbedaan yang

signifikan antara kelompok kontrol positif (K+) dengan kelompok eksperimen 1 dosis 6 ml/KgBB (KE-1), kelompok eksperimen 2 dosis 12 ml/KgBB (KE-2), dan kelompok eksperimen 3 dosis 18 ml/KgBB (KE-3). Rata-rata jumlah sel osteoklas pada kelompok kontrol negatif (K-) sebanding dengan rata-rata jumlah sel osteoklas kelompok eksperimen 3 (KE-3) atau dapat dikatakan bahwa jumlahnya hampir sesuai dengan kondisi normal jaringan tulang. Berdasarkan perhitungan manual dan data spesifik tersebut dapat dikatakan bahwa kelompok eksperimen 3 (KE-3) dengan dosis 18ml/KgBB memiliki kemampuan tertinggi dalam menghambat terbentuknya sel osteoklas jika dibandingkan dengan kelompok eksperimen dengan dosis 6ml/KgBB dan 12ml/KgBB.

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian in vivo dengan tikus galur wistar untuk mengetahui pengaruh limbah cair tahu terhadap jumlah sel osteoklas pada tikus model periodontitis. Pada data yang didapatkan, rata-rata jumlah sel osteoklas pada kelompok kontrol positif (K+) lebih tinggi apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K-). Hal ini menunjukkan bahwa Bakteri *Porphyromonas gingivalis* merupakan salah satu bakteri penyebab periodontitis yang memiliki faktor virulensi atau potensi toksin. Faktor virulensi ini dapat merusak immunoglobulin, *complement faktor* dan mendegradasi perlekatan epitel jaringan periodontal sehingga dapat terbentuk poket periodontal. Bakteri periodontitis ini bekerja dengan mengeluarkan endotoksin biologi aktif atau Lipopolisakarida (LPS) yang

mempunyai kemampuan untuk mensintesis proinflamatori, interleukin (IL-1), tumor necrosis faktor- α (TNF- α), Prostaglandin E2 (PGE2) dan enzim hidrolitik.

Pada proses inflamasi, sel yang berfungsi dalam pembentukan tulang yaitu osteoblas mengalami penurunan jumlah maupun aktivitasnya, sedangkan sel yang berperan untuk pemecahan dan resorpsi tulang yaitu osteoklas akan meningkat jumlah dan aktivitasnya¹⁶. Osteoblas akan mensekresikan RANKL/ODF dan membentuk ikatan yang bersifat aktif dengan RANK pada sel progenitor osteoklas yang mengakibatkan terjadi pematangan osteoklas sel sehingga membentuk osteoklas yang fungsional, dan pada saat yang sama juga akan disekresikan faktor penghambat osteoklastogenesis yang dikenal sebagai osteoprotegerin (OPG). OPG kemudian akan berikatan dengan RANKL untuk menghambat osteoklastogenesis .

Proses remodeling merupakan faktor fisiologi dari tulang di mana terjadi keseimbangan sel osteoblas dan osteoklas. Bila sel osteoklas lebih tinggi daripada sel osteoblas maka akan terjadi resorpsi tulang. Resorpsi yang berlebihan akan mengganggu keseimbangan proses remodeling tulang¹⁷.

Hasil perhitungan sel osteoklas menunjukkan adanya penurunan yang signifikan setelah diberi limbah cair tahu berbagai dosis. Penurunan jumlah dan aktivitas sel osteoklas pada tulang alveolar rahang bawah tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diinduksi bakteri Pg dapat membuktikan bahwa isoflavon dalam limbah cair tahu sebagai bahan natural yang mempunyai fungsi anti inflamasi dengan

mengurangi jumlah leukosit, dan menurunkan produksi sitokin pro-inflamasi TNF- α , IL-1, IL-6, nitrat oksida (NO), dan prostaglandin E2 (PGE2).

Beberapa penelitian telah meneliti efek pemberian suplemen phytoestrogen yang salah satunya adalah isoflavon pada kepadatan mineral tulang (BMD) dan tindakan kesehatan tulang lainnya menunjukkan bahwa isoflavon pada kedelai aman dan efektif dalam mengurangi jumlah kekeroposon pada tulang, kehilangan tulang alveolar dan dalam menjaga perlekatan jaringan periodontal pada wanita pasca-menopause¹⁸.

Penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang sudah dilakukan Devitaningtyas, dkk yang menyatakan terdapat hubungan antara dosis limbah cair tahu dengan penurunan jumlah sel osteoklas pada mandibula tikus wistar pasca ovariektomi. Tindakan ovariektomi dengan arah korelasi negatif, yang berarti semakin besar dosis limbah cair tahu yang diberikan maka semakin kecil jumlah sel osteoklas⁸.

Berdasarkan penelitian berikut dapat diketahui bahwa isoflavone dapat menjadi antiinflamasi natural dengan menekan aktivitas bakteri sehingga dapat menekan jumlah sel osteoklas pada periodontitis.

KESIMPULAN

Pemberian limbah cair tahu berbagai dosis memiliki hubungan yang signifikan terhadap jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar tikus wistar dan dosis 18ml/KgBB memiliki kemampuan yang paling efektif untuk menekan jumlah sel osteoklas.

DAFTAR PUSTAKA

1. Newman, M.G., Takel, H.H., dan Klokkevold, P.R. Carranza's Clinical Periodontology 12th Edition. Canada: Elsevier, 2015. pp. 9-38; 50-51; 79-80; 130;132; 144-145.
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Repu-blik Indonesia. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Nasional 2013. Jakarta, 2013; p. 146-7.
3. Hasan, A., and R. M. Palmer. A clinical guide to periodontology: Pathology of periodontal disease. British dental journal. 2014; 216 (8) 457-461.
4. Prasetya, R. C., Purwanti, N., & Haniastuti, T. Infiltrasi Neutrofil pada Tikus dengan Periodontitis setelah Pemberian Ekstrak Etanolik Kulit Manggis. Majalah Kedokteran Gigi Indonesia. 2014; 21(1), 33-38.
5. Yu, J., Bi, X., Yu, B. and Chen, D. Isoflavones: anti-inflammatory benefit and possible caveats. Nutrients. 2016; 8(6), p.361.
6. Koptaria, A. Daya Antibakteri Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis* Dominan Periodontitis (In Vitro) (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta). 2015.
7. Dower, J.I., Geleijnse, J.M., Gijsbers, L., Zock, P.L., Kromhout, D. and Hollman, P.C. Effects of the pure flavonoids epicatechin

- and quercetin on vascular function and cardiometabolic health: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *The American journal of clinical nutrition*. 2015; *101*(5), pp.914-921.
8. Devitaningtyas, N., Permatasari, N. and Sidharta, R. Pengaruh Pemberian Limbah Cair Tahu Sebagai Isoflavon Terhadap Jumlah Sel Osteoklas Pada Tulang Mandibular Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Pasca Ovariektomi. *E-Prodenta Journal of Dentistry*. 2018; *2*(2), pp.155-162.
 9. Rose, L.F. dan Mealey, B.L. *Periodontics Medicine, Surgery and Implant*. Mosby, USA. 2004.
 10. Sari, D.R., Lestari, C. and Yandi, S. Pengaruh Pemberian Asam Usnat Terhadap Jumlah Sel Osteoblas Pada Tikus Periodontitis. *B-Dent. Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah*. 2018; *5*(2), pp.124-134.
 11. Nasution. Hubungan Molekuler Osteoporosis, Inflamasi, Sistem Imunologi Dan Aging. Departemen Oral Biologi FKG UI. 2015.
 12. Kolahi, S., Ghorbanihaghjo, A., Rashtchizadeh, N., Khabbazi, A., Hajjalilo, M., Noshad, H., dkk. Osteoprotegerin (OPG) levels, total soluble receptor activator of nuclear factor-Kappa B ligand (total sRANKL), and RANKL/OPG ratio in patients with rheumatoid arteritis. *Rheumatology Research*. 2017; *2*(1), 23-29.
 13. Kao, T. H., Wu, M. W., C. F. Hung, W. B. Wu, and B. H. Chen. Anti-inflammatory effects of isoflavone powder produced from soybean cake. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2007; *55* (26) 11068-11079.
 14. Guvva, S., Patil, M.B. and Mehta, D.S. Rat as laboratory animal model in periodontology. *International Journal of Oral Health Sciences*. 2017; *2*(2), p.68.
 15. Salim, S. and Kuntjoro, M., Efek Kombinasi Spirulina Kitosan untuk Preservasi Soket terhadap Osteoblas, Osteoklas dan Kepadatan Kolagen. *Dentika Dental Journal*. 2018; *18* (3), pp.225-231.
 16. Indahyani, D. E. Minyak ikan Lemuru (*Sardinella longicep*) menurunkan apoptosis osteoblas pada tulang alveolaris tikus wistar (Fish oil of Lemuru (*Sardinella longicep*) reduced the osteoblast apoptosis in wistar rat alveolar bone). *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 2013; *46*(4), 185-189.
 17. Yustina, A. R. Peningkatan Jumlah Osteoklas Pada Keradangan Periapikal Akibat Induksi Lipopolisakarida *Porphyromonas Gingivalis (eksperimental laboratoris)* (Doctoral dissertation, Airlangga). 2012.
 18. Intini, G., Katsuragi, Y., Kirkwood, K.L. and Yang, S. Alveolar bone loss: mechanisms, potential therapeutic targets, and interventions. *Advances in dental research*. 2014; *26*(1), pp.38-46.