

Pengaruh Ekstrak Biji Delima (*Punica granatum*) Terhadap Jumlah Osteoblas Dan Osteoklas Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Pencabutan Gigi

Edrizal¹, Alfina Rahma², Yenita Alamsyah³, Kornialia⁴

¹ Bagian Orthodonti, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah Padang, Indonesia

² Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah Padang, Indonesia

³ Bagian Orthodonti, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah Padang, Indonesia

⁴ Bagian Orthodonti, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah Padang, Indonesia

Abstrak

Latar belakang: Pencabutan gigi menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan keras berupa tulang alveolar yang akan mengalami proses penyembuhan melalui mekanisme remodeling tulang. Proses ini melibatkan keseimbangan antara aktivitas sel osteoblas sebagai pembentuk tulang dan osteoklas sebagai sel peresorpsi tulang. Ketidakeimbangan aktivitas kedua sel tersebut dapat menghambat proses penyembuhan pasca pencabutan gigi. Ekstrak biji delima (*Punica granatum*) diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid dan polifenol yang bersifat antioksidan dan antiinflamasi, sehingga berpotensi memengaruhi proses penyembuhan tulang. Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji delima (*Punica granatum*) terhadap jumlah sel osteoblas dan osteoklas pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca pencabutan gigi. Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris *in vivo* dengan desain *post-test only control group*. Subjek penelitian terdiri dari 24 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif dan tiga kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak biji delima dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20%. Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-7, ke-14, dan ke-21 pasca pencabutan gigi. Jumlah sel osteoblas dan osteoklas diamati melalui pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan hematoksin-eosin (HE). Data dianalisis menggunakan uji Shapiro-Wilk, uji Levene, One-Way ANOVA, dan uji lanjut LSD dengan tingkat signifikansi 0,05. Hasil: Hasil menunjukkan bahwa kelompok tanpa pemberian ekstrak biji delima mengalami peningkatan jumlah osteoklas yang lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan. Pemberian ekstrak biji delima secara signifikan menurunkan jumlah osteoklas dan meningkatkan jumlah osteoblas dibanding kelompok K- ($p < 0,05$). Kesimpulan: Pemberian ekstrak biji delima (*Punica granatum*) berpengaruh terhadap jumlah sel osteoblas dan osteoklas pada proses penyembuhan tulang alveolar pasca pencabutan gigi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*), namun perbedaan konsentrasi ekstrak 10%, 15%, dan 20% tidak menunjukkan perbedaan efek yang bermakna.

Kata kunci: Ekstrak biji delima, osteoblas, osteoklas, pencabutan gigi, *Rattus norvegicus*

Abstract

Background: Tooth extraction causes damage to hard tissue in the form of alveolar bone which will undergo a healing process through a bone remodeling mechanism. This process involves a balance between the activity of osteoblast cells as bone formers and osteoclasts as bone resorbing cells. Careless activity of these two cells can inhibit the healing process after tooth extraction. Pomegranate seed extract (Punica granatum) is known to contain bioactive compounds such as flavonoids and polyphenols which have antioxidant and anti-inflammatory properties, thus potentially affecting the bone healing process. Objective: This study aims to determine the effect of administering pomegranate seed extract (Punica granatum) on the number of osteoblast and osteoclast cells in white rats (Rattus norvegicus) after tooth extraction. Method: This study is an in vivo laboratory experimental study with a post-test only control group design. The subjects consisted of 24 male white rats (Rattus norvegicus) which were divided into four groups, namely a negative control group and three treatment groups given pomegranate seed extract with concentrations of 10%, 15%, and

*20%. Sampling was carried out on the 7th, 14th, and 21st days after tooth extraction. The number of osteoblasts and osteoclasts was observed through histopathological examination with hematoxylin-eosin (HE) staining. Data were analyzed using the Shapiro–Wilk test, Levene's test, One-Way ANOVA, and LSD follow-up test with a significance level of 0.05. Results: The results showed that the group without pomegranate seed extract experienced a higher increase in the number of osteoclasts compared to the treatment group. Administration of pomegranate seed extract significantly reduced the number of osteoclasts and increased the number of osteoblasts compared to the K- group ($p < 0.05$). Conclusion: Administration of pomegranate seed extract (*Punica granatum*) affected the number of osteoblasts and osteoclasts in the alveolar bone healing process after tooth extraction in white rats (*Rattus norvegicus*), but differences in extract concentrations of 10%, 15%, and 20% did not show the intended effect. Keywords: Pomegranate seed extract, osteoblasts, osteoclasts, tooth extraction, *Rattus norvegicus**

PENDAHULUAN

Pencabutan gigi merupakan salah satu tindakan bedah minor dalam bidang kedokteran gigi yang dilakukan apabila suatu gigi tidak dapat dipertahankan lagi karena kondisi seperti infeksi, fraktur, atau gangguan jaringan periodontal. Tindakan ini menyebabkan kerusakan baik pada jaringan lunak maupun jaringan keras di rongga mulut, khususnya tulang alveolar. Setelah pencabutan, area bekas gigi akan mengalami proses penyembuhan yang berlangsung dalam beberapa fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodelling, yang secara keseluruhan membentuk proses regenerasi tulang yang kompleks dan dinamis ¹.

World Health Organization (WHO) melaporkan lebih dari 3,5 miliar orang mengalami masalah kesehatan mulut, termasuk 2 miliar dewasa dengan karies permanen dan 514 juta anak dengan karies gigi susu. Penyakit periodontal juga menyebabkan kehilangan gigi dan menurunnya kualitas hidup. Akses perawatan gigi tetap terbatas, terutama di negara berpendapatan rendah ².

Menurut World Health Organization (WHO), masalah kesehatan mulut di kawasan Asia dan Asia Tenggara cukup serius. Di wilayah ini, sekitar 43,8% anak-anak usia 1–9 tahun mengalami karies pada gigi susu, sementara 28,7% orang dewasa di atas usia 5 tahun mengalami karies pada gigi permanen. Selain itu, terdapat sekitar 307 juta kasus penyakit periodontal berat dan 52,7 juta orang mengalami kehilangan gigi total (edentulisme). Asia Tenggara juga mencatat angka kejadian dan kematian akibat kanker mulut tertinggi dibandingkan wilayah lain di dunia, dengan angka kematian pria mencapai 8,1 per 100.000, lebih dari dua kali lipat rata-rata global. Kendala utama dalam meningkatkan kesehatan mulut di kawasan ini meliputi ketidakmerataan akses terhadap layanan kesehatan gigi, terutama bagi kelompok miskin dan rentan, kurangnya tenaga profesional di bidang kedokteran gigi, serta biaya perawatan yang tinggi ³.

Menurut Riskesdas 2018, 57,6% penduduk Indonesia mengalami masalah gigi dan mulut, dengan 45,3% mengalami gigi berlubang dan 14% gusi bengkak. Hanya 2,8% yang rutin menyikat gigi dua kali sehari. Indeks DMF-T rata-rata nasional 7,1, jauh dari target bebas karies. Anak usia 5–6 tahun dengan karies mencapai lebih dari 90%. Akses perawatan gigi rendah, hanya 10,2% yang mendapat layanan medis. Provinsi dengan akses terbaik adalah DKI Jakarta dan DIY (16,4%), sementara Sulawesi Tengah memiliki masalah tinggi namun layanan rendah (8,2%) ⁴.

Masalah kesehatan gigi dan mulut di Sumatera Barat cukup tinggi, dengan prevalensi mencapai 43,87%, naik dari 22,1% pada Riskesdas 2013. Indeks DMF-T pada gigi permanen sebesar 7,1 menandakan kerusakan gigi yang cukup signifikan.⁵ Dari penderita masalah gigi dan mulut, 47,3% menerima konseling, 5,2% mendapat perawatan, 3,3% menjalani penambalan, 7,4% mengalami pencabutan gigi, dan hanya 0,3% yang

mendapatkan tindakan bedah mulut. Hal ini menunjukkan masih adanya keterbatasan akses layanan kesehatan gigi di daerah tersebut ⁶.

Pencabutan gigi dikatakan ideal jika dalam pelaksanaannya tidak disertai rasa sakit, trauma yang terjadi pada jaringan sekitar gigi seminimal mungkin, luka pencabutan dapat sembuh secara normal dan tidak menimbulkan permasalahan pasca pencabutan ⁷. Seluruh rencana perawatan pada tindakan pencabutan gigi harus didasari dengan ketelitian dalam memeriksa keadaan umum pasien sebelum melakukan tahap perawatan.⁸ Dalam melakukan tindakan pencabutan gigi akan dijumpai beberapa masalah kesehatan yang sama dan terdapat pada masing-masing pasien pencabutan gigi. Hal demikian yang akan menjadi faktor resiko terjadinya komplikasi pencabutan gigi. Beberapa faktor resiko yang biasanya menjadi penyebab komplikasi pencabutan gigi antara lain penyakit sistemik, umur pasien, keadaan akar gigi, dan adanya gangguan pada sendi temporomandibula (Lande *et al.*, 2015).

Penyembuhan pasca pencabutan gigi melibatkan jaringan lunak dan keras dimana terdapat 3 fase yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodeling. Tahap awal inflamasi berlangsung sejak awal terjadinya luka sampai kira-kira hari ke-lima, pada fase ini melibatkan respons seluler dan vaskular. Respon vaskular meliputi vasokonstriksi dan vasodilatasi pembuluh darah sedangkan pada respon seluler terjadi fagositosis dan pemusnahan dari bakteri dan debris. Fase proliferasi yang berlangsung mulai hari 3-14, pada fase ini terjadi angiogenesis yang ditandai dengan migrasi fibroblas dan pembentukan kapiler.¹⁰ Proses selanjutnya pembentukan jaringan granulasi dan epitelisasi. Fase remodeling merupakan fase terakhir yang berlangsung pada hari 8-21 dan terjadi deposisi kolagen. Pada tahap ini osteoklas dan osteoblas merupakan sel yang sangat berperan dalam remodeling tulang ¹¹.

Tulang memiliki beberapa jaringan yang dinamis serta mengalami pembaharuan secara konstan yang disebut dengan proses *remodeling*, dan merupakan suatu proses yang melibatkan resorpsi tulang yang diikuti dengan pembentukan tulang baru. Proses ini ditujukan untuk pengaturan homeostatis kalsium, memperbaiki jaringan yang rusak akibat pergerakan fisik, kerusakan minor karena faktor stres dan pembentukan kerangka pada masa pertumbuhan. Jaringan tulang memiliki tiga sel yakni osteosit, osteoblas, dan osteoklas. Proses remodeling melibatkan osteoblas dan osteoklas melalui mekanisme sinyal parakrin dan endokrin. Osteoklas adalah sel tulang dengan beberapa inti sel dan berkembang dari hematopoietic stem cells serta memiliki fungsi dalam meresorpsi tulang, sedangkan osteoblas memiliki fungsi sebagai penghasil matriks organik (yang terdiri dari protein kolagen dan non kolagen) serta mengatur proses mineralisasi (kalsium-fosfat) pembentuk osteoid. Osteoblas berkembang dari *osteoprogenitor* yang terdapat dibagian dalam periosteum sumsum tulang ¹².

Sel osteoblas adalah sel pembentuk tulang yang berkembang dan berperan dalam pengaturan metabolisme tulang, termasuk tulang alveolar yang menyangga gigi. Selama deposisi aktif dari matriks baru, mereka tersusun sebagai lapis epiteloid sel-sel kuboid atau kolumnar pada permukaan tulang. Inti sel osteoblas biasanya terletak pada ujung sel paling jauh dari permukaan tulang. Sitoplasmanya sangat basofilik dan sebuah kompleks golgi tampak mencolok sebagai daerah lebih pucat antara inti dan dasar sel. Pada mikroskop elektron, sel osteoblas memiliki struktur yang diharapkan dari sel yang aktif menghasilkan protein. Retikulum endoplasmanya yang luas ditaburi ribosom dan banyak ribosom bebas terdapat dalam sitoplasma ¹¹.

Osteoklas adalah sel multijangka yang berasal dari prekursor hematopoietik, khususnya monosit dan makrofag, yang berperan utama dalam degradasi tulang dan remodeling jaringan tulang. Pembentukan osteoklas dimulai dengan stimulasi oleh dua sitokin utama: M-CSF (Macrophage Colony-Stimulating Factor) dan RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand*). M-CSF berfungsi untuk proliferasi dan kelangsungan

hidup prekursor osteoklas serta meningkatkan ekspresi RANK pada permukaan sel. Sementara itu, RANKL mengikat RANK dan mengaktifkan jalur sinyal seperti NF- κ B dan NFATc1, yang berperan sebagai pengatur utama dalam diferensiasi osteoklas. Aktivasi jalur ini menyebabkan fusi sel prekursor menjadi osteoklas dewasa, yang kemudian mengeluarkan asam dan enzim proteolitik untuk melarutkan matriks tulang, serta mengalami apoptosis untuk menjaga keseimbangan jaringan tulang¹³.

Osteoklas secara langsung berperan pada proses degradasi tulang rawan pada steoarthritis (OA) melalui proses resorpsi tulang. Degradasi tulang rawan akan mengakibatkan reaksi inflamasi yang diperantarai oleh sitokin proinflamasi seperti *interleukin-1* (IL-1), *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) *interleukin-6* (IL-6) yang akan mempengaruhi proses *remodelling* tulang. Proses inflamasi pada OA mengakibatkan peningkatan aktivitas sel osteoklas yang berperan dalam resorpsi tulang. Dengan pemberian delima, diharapkan aktivitas sel osteoklas akan menurun, sehingga proses pembentukan tulang baru akan semakin cepat¹⁴.

Salah satu tanaman herbal yang mulai banyak diteliti dalam bidang kedokteran regeneratif adalah delima (*Punica granatum*), khususnya ekstrak bijinya. Delima dikenal luas sebagai buah dengan kandungan antioksidan yang tinggi, seperti flavonoid, tanin, dan asam punikat. Beberapa studi menunjukkan bahwa ekstrak biji delima memiliki efek farmakologis seperti anti-inflamasi, antioksidan, antibakteri, serta potensial dalam mempercepat regenerasi jaringan. Aktivitas anti-inflamasi dari senyawa-senyawa dalam delima dipercaya dapat menurunkan kadar sitokin proinflamasi seperti IL-1 β dan TNF- α , yang berperan dalam aktivasi osteoklas¹⁵.

Punica granatum (delima) merupakan salah satu tanaman obat penghasil buah yang dikenal efektif dan tersebar luas di wilayah Mediterania selatan Eropa, Afrika utara dan tropis, anak benua India, Asia Tengah, serta daerah kering di Asia Tenggara. Biji delima mengandung berbagai senyawa aktif seperti asam punicic, asam ellagic, estrogen steroid dan fitoestrogen nonsteroid, termasuk coumestrol, isoflavon genistein, daidzein, dan vitamin C¹⁶.

Delima memiliki senyawa estrogenik seperti luteolin, quercetin, kaempferol, estron, dan estradiol yang berperan dalam pembentukan tulang dan penghambatan resorpsi. Senyawa fitoestrogenik nonisoflavon seperti quercetin, rutin, apigenin, dan coumestrol juga ditemukan dalam beberapa jenis kacang-kacangan. Ekstrak mentah dan minyak biji delima terbukti dapat mempercepat penyembuhan tulang, mencegah osteoporosis dengan merangsang osteoblas, menghambat osteoklas, serta mengurangi peradangan. Selain itu, delima juga menunjukkan potensi sebagai agen penghambat aktivitas asetilkolinesterase, sehingga berpotensi digunakan dalam pengelolaan penyakit Alzheimer¹⁶.

Kulit dan biji buah delima mempunyai khasiat menyembuhkan luka sifat yang terutama dikaitkan dengan ellagic-nya dan asam galat dan senyawa fenolik lainnya. Selain itu, biji delima kaya akan delphinidin-3-glukosida, delphinidin-3, 5-diglukosida, sianin-3-glukosida, sianidin-3, 5-diglukosida, pelargonidin-3,5-diglukosida, dan pelargonidin-3-glukosida^{5, 8} (Bahadoram *et al.*, 2022). Delima (*Punica granatum*) memiliki banyak biji yang dikelilingi sari berwarna merah dan dipisahkan oleh lapisan putih bermembran. Sekitar 50% berat buah terdiri dari kulit, yang kaya senyawa bioaktif seperti fenol dan flavonoid. Sari buahnya, sekitar 40% dari berat buah, mengandung air, gula, pektin, asam organik (seperti asam askorbat), serta senyawa fenolik dan flavonoid. Biji delima, sekitar 10% dari berat total, kaya akan serat, pektin, gula, folat, vitamin (E, C, dan K), polisakarida, mineral, serta senyawa fenolik dan flavonoid. Biji delima juga mengandung steroid (seperti 17- β -estradiol dan estriol), triterpenoid, dan asam lemak, termasuk asam lemak jenuh (30-35%), tak jenuh tunggal (35-37%), tak jenuh ganda (25-39%), dan tak jenuh ganda (1-10%, terutama asam punat sekitar 65,3%)¹⁸.

Minyak biji delima terbukti memengaruhi metabolisme tulang rawan pada tikus dengan osteoarthritis (OA). Menurut Wang dan Zheng (2019), pemberian minyak biji delima 20%

pada tikus betina ovariectomi menurunkan kadar calcitonin receptor (CTR) osteoklas sebesar 20% serta secara signifikan menghambat penyerapan dan kerusakan tulang melalui regulasi gen osteoklas. Kandungan fitoestrogen dalam minyak ini dapat menghambat aktivitas osteoklas dan merangsang osteoblas. Mekanismenya melibatkan pengaruh terhadap ekspresi RANKL-RANK dan penanda osteoklas, peningkatan aktivitas alkali fosfatase, serta mineralisasi matriks melalui jalur pensinyalan Wnt/ β -catenin, yang menghambat osteoklastogenesis. Selain itu, fitoestrogen dalam minyak biji delima mampu berikatan dengan reseptor estrogen sebagai pengganti estrogen yang menurun akibat ovariectomi, dan berperan dalam meningkatkan regulasi TGF- β yang menghambat resorpsi tulang serta meningkatkan apoptosis osteoklas¹⁴.

Adapun tujuan penelitian adalah untuk mengetahui efek pemberian ekstrak biji delima (*Punica granatum*) terhadap jumlah osteoblas dan osteoklas tulang alveolar tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada luka pasca pencabutan gigi.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris secara in vivo dengan menggunakan desain post-test only control group design. Penelitian dilakukan untuk menilai pengaruh pemberian ekstrak biji delima (*Punica granatum*) terhadap jumlah sel osteoblas dan osteoklas pada tulang alveolar tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca pencabutan gigi. Populasi penelitian adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*), dengan sampel sebanyak 24 ekor tikus yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Sampel dipilih menggunakan teknik simple random sampling, kemudian dibagi menjadi empat kelompok, yaitu satu kelompok kontrol negatif (tanpa pemberian ekstrak biji delima) dan tiga kelompok perlakuan yang masing-masing diberikan ekstrak biji delima dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20%.

Penelitian dilaksanakan di beberapa laboratorium terkait, meliputi laboratorium farmasi untuk proses pembuatan ekstrak, laboratorium hewan coba untuk perlakuan dan pencabutan gigi, serta laboratorium histopatologi untuk pembuatan preparat jaringan. Setelah dilakukan pencabutan gigi pada tikus, ekstrak biji delima diberikan sesuai kelompok perlakuan. Pengambilan sampel jaringan dilakukan pada hari ke-7, ke-14, dan ke-21 pasca pencabutan gigi. Jaringan soket gigi kemudian diproses menjadi preparat histologi dan diwarnai menggunakan hematoksin-eosin (HE) untuk menghitung jumlah sel osteoblas dan osteoklas secara mikroskopis.

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan uji Shapiro-Wilk untuk mengetahui normalitas data dan uji Levene untuk menguji homogenitas varians. Selanjutnya, analisis perbedaan antar kelompok dilakukan dengan uji One-Way ANOVA, dan apabila terdapat perbedaan bermakna, dilanjutkan dengan uji lanjut LSD (Least Significant Difference). Seluruh pengujian statistik dilakukan dengan tingkat kemaknaan $\alpha = 0,05$ untuk menentukan signifikansi hasil penelitian.

HASIL

Penelitian yang telah dilakukan untuk melihat pengaruh ekstrak biji delima terhadap jumlah osteoblas dan osteoklas pada tikus putih pasca pencabutan gigi dengan keempat kelompok (K-, P1, P2, P3) kelompok negatif tidak diberikan perlakuan apapun dan kelompok perlakuan diberikan ekstrak biji delima dengan konsentrasi 10%, 15%, 20% kemudian diamati pada hari ke-7, 14, dan 21.

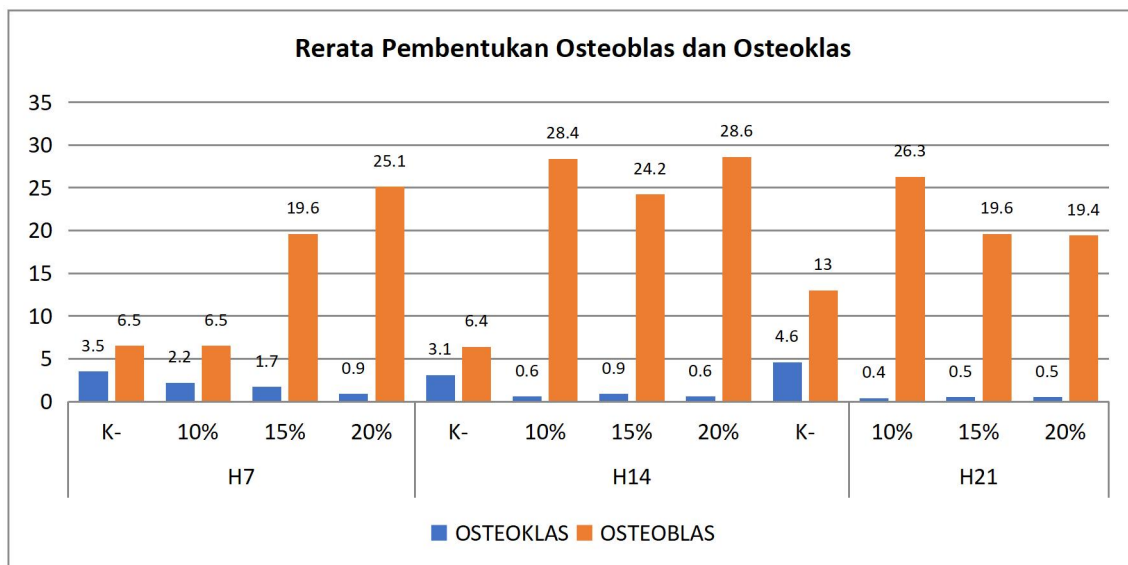
TABEL 1. Rerata Pembentukan Osteoblas dan Osteoklas

Hari	Kelompok	Rerata	
		Osteoklas	Osteoblas
H7	K-	3,5	6,5
	10%	2,2	19,6
	15%	1,7	24,9

H14	20%	0,9	25,1
	K-	3,1	6,4
	10%	0,6	28,4
	15%	0,9	24,2
H21	20%	0,6	28,6
	K-	4,6	13
	10%	0,4	26,3
	15%	0,5	19,6
	20%	0,5	19,4

Temuan hasil penelitian yang dilakukan terhadap 24 sampel tikus putih *wistar* jantan diamati dengan mikroskop *olympus* perbesaran 400x pada satu lapangan pandang untuk setiap preparat jaringan.

Tabel penelitian yang ditunjukkan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus*) mengalami peningkatan jumlah osteoblas dan osteoklas selama fase penyembuhan luka setelah pencabutan gigi pada hari ke-7 diperoleh nilai rerata peningkatan osteoblas tertinggi pada kelompok perlakuan konsentrasi 20% yaitu 25,1 dan osteoklas paling rendah 0,9, pada hari ke-14 peningkatan jumlah sel osteoblas tertinggi pada kelompok perlakuan konsentrasi 20% yaitu 28,6 dan osteoklas paling rendah 0,6 dan pada hari ke-21 peningkatan jumlah osteoblas tertinggi pada kelompok perlakuan 10% yaitu 26,3 dan osteoklas paling rendah 0,4.

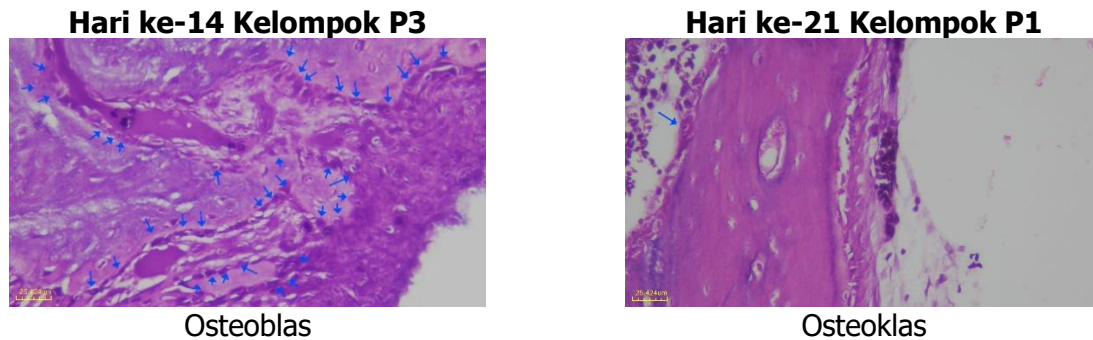


Gambar 1. Diagram Batang Rerata Jumlah Sel Osteoblas dan Osteoklas

Diagram menunjukkan adanya perbedaan rerata jumlah sel osteoblas dan osteoklas antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan ekstrak biji delima pada berbagai waktu pengamatan. Pada hari ke-7, kelompok perlakuan memiliki rerata jumlah sel yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif. Peningkatan rerata jumlah sel osteoblas terlihat jelas pada hari ke-14, terutama pada kelompok ekstrak biji delima konsentrasi 20% dan penurunan jumlah osteoklas paling rendah terlihat pada kelompok ekstrak biji delima konsentrasi 10% hari ke-21. Pada hari ke-21, jumlah osteoblas mulai menurun namun tetap lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol, sementara jumlah osteoklas tetap rendah, menandakan proses remodeling tulang yang berlanjut.

Berikut gambaran mikroskopis osteoblas yang paling banyak dan osteoklas yang paling rendah pasca pencabutan gigi tikus putih wistar jantan dari 4 kelompok hari ke-7, 14, dan 21 diamati menggunakan mikroskop *olympus* dengan perbesaran 400x untuk memperjelas

perebedaan peningkatan jumlah osteoblas dan osteoklas pada masing-masing kelompok perlakuan setiap minggunya.



Gambar 2. Histopatologi Jaringan Hewan Coba

Gambaran histologi menunjukkan terdapat peningkatan jumlah osteoblas paling banyak pada kelompok P3 hari ke-14 dan penurunan jumlah osteoklas paling rendah terjadi pada kelompok P1 hari ke-21. Gambaran histologi tersebut juga menunjukkan bahwa osteoblas lebih banyak mengalami peningkatan sebagai sel pembentuk tulang dibandingkan osteoklas yang berfungsi untuk meresorpsi tulang.

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan program statistic SPSS. Untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal dan homogen terlebih dahulu dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* kemudian dilanjutkan uji homogenitas dengan *Levene-Test*.

TABEL 2. Uji *Shapiro-Wilk*

Tests of Normality				
	Kelompok Perlakuan	Shapiro-Wilk		
		Statisti c	Df	Sig.
Jumlah rata-rata aktivitas osteoklas dan osteoblas	K (-)	.810	6	.072*
	P1 10%	.944	6	.690*
	P2 15%	.931	6	.591*
	P3 20%	.803	6	.062*

Berdasarkan hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* diperoleh nilai sig pada kelompok K-, 10%, 15%, dan 20% masing-masing sebesar 0,072; 0,690; 0,591 dan 0,062. Seluruh nilai tersebut adalah $> 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa data pada keempat kelompok tersebut berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas.

TABEL 3. Uji *Levene Test*

Tests of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hasil osteoklas dan osteoblas	Based on Mean	1.226	3	20	.326*
	Based on Median	.965	3	20	.429
	Based on Median and with adjusted df	.965	3	12.310	.440
	Based on trimmed mean	1.197	3	20	.336

Tabel 3 diperoleh hasil sig yaitu 0,326. Hal ini sesuai dengan syarat dimana nilai sig harus $> 0,05$. Maka data diatas dikatakan homogen. Selanjutnya dilakukan pengujian *One Way Anova* karena syarat data berdistribusi normal dan homogen.

TABEL 4. *ji One-Way ANOVA*

ANOVA					
Jumlah rata-rata aktivitas osteoklas dan osteoblas					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	721.565	3	240.522	10.570	.000*
Within Groups	455.113	20	22.756		
Total	1176.678	23			

Berdasarkan hasil uji *One-Way ANOVA*, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$), yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada jumlah rata-rata aktivitas osteoklas dan osteoblas antar kelompok perlakuan ekstrak biji delima. Hasilnya H_0 diterima, berarti terdapat pengaruh ekstrak biji delima (*Punica granatum*) terhadap jumlah osteoklas dan osteoblas pada proses penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan masing-masing variabel maka dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui besarnya perbedaan tiap kelompok.

TABEL 5. Uji LSD (*Least Significant Difference*)

Multiple Comparisons		
Dependent Variable: Jumlah rata-rata aktivitas osteoklas dan osteoblas		
LSD		
(I) Kelompok Perlakuan	(J) Kelompok Perlakuan	Sig.
K (-)	P1 10%	.000*
	P2 15%	.000*
	P3 20%	.000*
P1 10%	K (-)	.000*
	P2 15%	.498
	P3 20%	.774
P2 15%	K (-)	.000*
	P1 10%	.498
	P3 20%	.694
P3 20%	K (-)	.000*
	P1 10%	.774
	P2 15%	.694

Uji lanjut LSD menunjukkan bahwa seluruh kelompok perlakuan ekstrak biji delima berbeda bermakna dengan kontrol negatif ($p < 0,05$), namun tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p > 0,05$).

Pembahasan

Berdasarkan temuan hasil penelitian terlihat ekstrak biji buah delima dapat mempengaruhi aktivitas jumlah osteoblas dan osteoklas, adanya peningkatan jumlah osteoblas pada sampel tikus putih wistar jantan paling banyak pada kelompok P3 hari ke-14, dengan rerata jumlah osteoblas sebesar 28,6 dan penurunan jumlah osteoklas paling rendah

pada kelompok P1 hari ke-21 dengan rerata jumlah osteoklas sebesar 0,4.¹⁹ Berdasarkan pengamatan histologi bahwa peningkatan jumlah osteoblas dan penurunan osteoklas lebih banyak saat hari ke-14 dan 21 pada kelompok perlakuan dari pada kelompok kontrol negatif.²⁰

Penyembuhan pasca pencabutan gigi melibatkan jaringan lunak dan keras dimana terdapat 3 fase yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodeling. Fase remodeling merupakan fase terakhir yang berlangsung pada hari 8-21 dan terjadi deposisi kolagen. Pada tahap ini osteoklas dan osteoblas merupakan sel yang sangat berperan dalam remodeling tulang¹¹

Unit remodeling tulang terdiri dari sel osteoklas dan sel osteoblas yang secara berurutan melaksanakan resorpsi tulang tua dan pembentukan tulang baru. Sel osteoblas adalah sel pembentuk tulang yang berkembang dan berperan dalam pengaturan metabolisme tulang, termasuk tulang alveolar yang menyangga gigi²¹.

Osteoklas ialah sel multinuklear besar yang terdapat di sepanjang permukaan tulang tempat terjadinya resorpsi, remodeling, dan perbaikan tulang. Pembentukan osteoblas dapat berlangsung secara independen tanpa memerlukan interaksi dengan progenitor osteoklas. Sebaliknya, pembentukan osteoklas membutuhkan interaksi yang kompleks dengan progenitor osteoblas, dimana diferensiasi CFU-GM menjadi osteoklas tidak dapat berlangsung tanpa adanya interaksi seluler komponen sel-sel stroma yang memproduksi osteoblas²².

Peningkatan jumlah sel osteoblas dan osteoklas yang diamati pada kelompok perlakuan dapat dijelaskan melalui senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak biji delima. Biji buah delima mempunyai khasiat menyembuhkan luka sifat yang terutama dikaitkan dengan ellagic-nya dan asam galat dan senyawa fenolik lainnya. Selain itu, biji delima kaya akan delphinidin- 3-glukosida, delphinidin-3, 5-diglukosida, sianin-3-glukosida, sianidin-3, 5-diglukosida, pelargonidin-3,5-diglukosida, dan pelargonidin-3- glukosida. Ekstrak biji delima mengandung senyawa antioksidan dan fitoestrogenik yang terbukti dapat meningkatkan aktivitas osteoblas dan menghambat osteoklas¹⁷.

Delima dikenal luas sebagai buah dengan kandungan antioksidan yang tinggi, seperti flavonoid, tanin, dan asam punikat. Beberapa studi menunjukkan bahwa ekstrak biji delima memiliki efek farmakologis seperti anti-inflamasi, antioksidan, antibakteri, serta potensial dalam mempercepat regenerasi jaringan. Aktivitas anti-inflamasi dari senyawa-senyawa dalam delima dipercaya dapat menurunkan kadar sitokin proinflamasi seperti IL-1 β dan TNF- α , yang berperan dalam aktivasi osteoklas¹⁵. Kondisi ini mendukung peningkatan jumlah osteoblas dan osteoklas yang diamati pada kelompok perlakuan dibandingkan kontrol negatif.²³

Berdasarkan hasil uji statistik *One-Way ANOVA* menunjukkan hasil signifikansi $p = 0,001$ ($p < 0,05$), yang berarti pengujian ini menerima H_a yaitu terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antar kelompok penelitian.²⁴ Hasil ini memperkuat temuan deskriptif berupa perbedaan rerata jumlah osteoblas dan osteoklas antara kelompok negatif dan kelompok perlakuan.²⁵ Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak biji buah delima (*Punica granatum*) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah sel osteoblas dan osteoklas pada proses penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Uji lanjut *Least Significant Difference* (LSD) dilakukan untuk mengetahui perbedaan spesifik antar kelompok. Hasil uji LSD menunjukkan bahwa seluruh kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan dibanding kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$).²⁶ Temuan ini menegaskan bahwa pemberian ekstrak biji delima pada berbagai konsentrasi secara nyata meningkatkan jumlah sel osteoblas dan menurunkan sel osteoklas dibandingkan tanpa perlakuan.²⁷ Sebaliknya, tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan dengan konsentrasi 10%, 15% dan 20% ($p > 0,05$).²⁸ Hal ini menunjukkan bahwa dalam rentang konsentrasi yang diuji, ekstrak biji delima telah

memberikan efek maksimal terhadap jumlah sel osteoblas dan osteoklas, sehingga peningkatan konsentrasi tidak menghasilkan perbedaan respons yang signifikan.

Hal ini mengindikasikan bahwa dalam rentang konsentrasi yang digunakan, efek biologis ekstrak biji delima terhadap aktivitas osteoblas dan osteoklas cenderung serupa.²⁹ Fenomena ini dapat dijelaskan oleh kemungkinan tercapainya ambang efektivitas biologis pada konsentrasi tertentu, sehingga peningkatan dosis tidak lagi menghasilkan peningkatan respons jaringan yang signifikan. Kondisi serupa juga dilaporkan pada penelitian bahan alami lain yang menunjukkan adanya efek plateau pada dosis tertentu akibat mekanisme saturasi reseptor atau keterbatasan absorpsi jaringan.³⁰

Pada temuan hasil penelitian ini terbukti ekstrak biji delima mampu meningkatkan aktivitas jumlah osteoblas dan mengurangi aktivitas osteoklas pada proses *remodeling* tulang alveolar tikus putih wistar jantan sekaligus membuktikan bahwa Ha penelitian ini diterima.³¹ Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Wang dan Zheng (2019) yang menunjukkan bahwa pemberian minyak biji delima 20% pada tikus betina dengan ovariectomi terbukti mampu menurunkan kadar *Calcitonin Receptor* (CTR) osteoklas 20% dan secara signifikan melemahkan penyerapan tulang dan kerusakan tulang melalui regulasi gen osteoklas, kemudian senyawa yang terkandung dalam minyak biji delima yaitu fitoestrogen yang mampu menghambat kerja osteoklas dalam meresorpsi tulang dan meningkatkan kerja osteoblas¹⁴.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak biji delima (*Punica granatum*) efektif terhadap peningkatan jumlah osteoblas dan osteoklas pada proses *remodeling* tulang alveolar tikus putih wistar jantan, sehingga dapat direkomendasikan sebagai obat alternatif pengganti bahan kimia.

SIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji delima (*Punica granatum*) berpengaruh terhadap proses penyembuhan tulang alveolar pasca pencabutan gigi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*), yang ditandai dengan peningkatan jumlah sel osteoblas dan penurunan jumlah sel osteoklas dibandingkan kelompok kontrol tanpa perlakuan. Efek ini menunjukkan bahwa ekstrak biji delima memiliki potensi dalam mendukung proses remodeling tulang melalui stimulasi pembentukan tulang dan penghambatan resorpsi tulang. Namun demikian, perbedaan konsentrasi ekstrak biji delima sebesar 10%, 15%, dan 20% tidak menunjukkan perbedaan pengaruh yang bermakna secara statistik, sehingga dapat disimpulkan bahwa seluruh konsentrasi yang digunakan memiliki efektivitas yang relatif sama dalam memengaruhi jumlah osteoblas dan osteoklas pada proses penyembuhan tulang pasca pencabutan gigi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ozzo, S. & Kheirallah, M. The efficiency of two different synthetic bone graft materials on alveolar ridge preservation after tooth extraction: a split-mouth study. *BMC Oral Health* (2024).
2. WHO. *Global oral health status report. Who*, vol. 57 (2022).
3. WHO. *Action plan for oral health in South-East Asia 2022–2030*. (2022).
4. Kemenkes RI. Buku Kode Riskesdas 2018 (IND). **2018**, 1–12 (2018).
5. Rusdy, H., Suryani, A., Saruksuk, P., Dalimunte, R. S. & Dohude, G. A. Laporan penelitian Efektivitas getah batang betadine (*Jatropha multifida* L.) terhadap penyembuhan luka pasca pencabutan gigi pada tikus Sprague-Dawley. *J. Kedokt. Gigi Univ. Padjadjaran* **037**, 145–152 (2021).
6. Riskesdas. *Riset Kesehatan Dasar Provinsi Sumatera Barat Tahun 2018. Laporan Riskesdas Nasional 2018* (2018).

7. Eni, N. & Asridiana, A. Prevalensi Pencabutan Gigi Permanen Di Poliklinik Gigi Puskesmas Kaluku Bodoa Di Kota Makassar. *Media Kesehat. Gigi Politek. Kesehat. Makassar* **19**, 12–19 (2020).
8. Amanda, H. K., Ferdina, R. & Iswani, R. Uji aktivitas antibakteri ekstrak biji buah naga merah terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada plat resin akrilik: studi eksperimental. *Padjadjaran J. Dent. Res. Students* **8**, 51 (2024).
9. Lande, R., Kepel, B. J. & Siagian, K. V. Gambaran Faktor Risiko Dan Komplikasi Pencabutan Gigi Di Rsgm Pspdg-Fk Unsrat. *e-GIGI* **3**, (2015).
10. Nyoman, H. S. H. H. L. E. EFEKTIVITAS GEL EKSTRAK ETANOL DAUN SENGGANI (*Melastoma candidum* D. Don.) TERHADAP DIAMETER LUKA PASCA PENCABUTAN GIGI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*). *J. Ilm. Biol.* **10**, 44–53 (2021).
11. Edrizal & Seprina, R. P. Y. MEKANISME KERJA OSTEOLAS SAAT PENYEMBUHAN LUKA PASCA PENCABUTAN GIGI PADA PASIEN OSTEOPOROSIS (SCOPING REVIEW) EDRIZAL, RAHMI PUTRI YENI SEPRINA Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah. *Ensiklopedia J.* **3**, 355–365 (2021).
12. Edrizal, Busman & Novera, Y. Efektivitas ekstrak kulit buah delima (*Punica granatum*) secara topikal terhadap proses pembentukan kembali (remodelling) pada fraktur tulang paha tikus putih galur wistar betina (*Rattus norvegicus*). *MENARA ilmu* **13**, 1–12 (2020).
13. Tsukasaki, M. & Takayanagi, H. Osteoclast biology in the single-cell era. *Inflamm. Regen.* **42**, (2022).
14. Urrohmah, N. A., Tilqza, A. & Wahyuningsih, D. STUDI PUSTAKA SISTEMATIS: PENGARUH DELIMA (*Punica granatum* L.) TERHADAP KADAR OSTEOKLAST PADA OATEOARTHRITI. ... *Komunitas (Journal ...* 1–13 (2021).
15. Ahmed, S., Wang, N., Hafeez, B. Bin, Cheruvu, V. K. & Haqqi, T. M. *Punica granatum* L. extracts inhibits IL-1 β -induced expression of matrix metalloproteinases by inhibiting the activation of MAP kinases and NF- κ B in human chondrocytes in vitro. *J. Nutr.* **135**, 2096–2102 (2005).
16. Siddiqui, S. & Arshad, M. Osteogenic potential of *punica granatum* through matrix mineralization, cell cycle progression and *runx2* gene expression in primary rat osteoblasts. *DARU, J. Pharm. Sci.* **22**, 1–8 (2014).
17. Bahadoram, M., Hassanzadeh, S., Bahadoram, S. & Mowla, K. Effects of Pomegranate on Wound Repair and Regeneration. *World J. Plast. Surg.* **11**, 157–159 (2022).
18. Shaban, N. Z., Talaat, I. M., Elrashidy, F. H., Hegazy, A. Y. & Sultan, A. S. THERAPEUTIC ROLE OF *PUNICA GRANATUM* (POMEGRANATE) SEED OIL EXTRACT ON BONE TURNOVER AND RESORPTION INDUCED IN OVARIECTOMIZED RATS. *J. Nutr. Heal. aging* **21**, 1299–1306 (2017).
19. Dewi, C. D., Syamsudin, E. & Hadikrishna, I. <p>Karakteristik pasien dan diagnosis pencabutan gigi pada pasien di klinik eksodontia RSGM Universitas Padjadjaran</p>Characteristics patient and indications of tooth extraction of patients at the exodontia clinic Padjadjaran Universi. J. Kedokt. Gigi Univ. Padjadjaran **34**, 152 (2022).
20. Yamsun, R. D. & Anindita, R. Kejang Demam Kompleks Pada Anak Usia 2 Tahun : Laporan Kasus. *Proceeding 17 th Contin. Med. Educ. Fac. Med. Univ. Muhammadiyah Surakarta (CME FK UMS* 35–42 (2024).
21. Ni, S. A. W. Peningkatan sel osteoblast mandibula tikus wistar jantan yang diberi fermentasi teh kombucha 1. *e-journal unmasJournal* (2018).
22. Wangko, S. & Kalangi, S. J. R. Peran estrogen pada remodeling tulang. *J. biomedik* (2012).
23. Sumarwoto, T., Hartanto, D. & Utomo, P. Managing fractures in geriatrics: Current approaches and update. *J. Kedokt. dan Kesehat. Indones.* (2023) doi:10.20885/JKKI.Vol14.Iss1.art11.
24. Nge, S. T., Ballo, A. & Keguruan, F. ANALISIS SENYAWA POLIFENOL EKSTRAK KULIT

- BUAH DAN BIJI DELIMA (*Punica granatum* L). **16**, 14–19 (2019).
25. Sophia, L. S. & Hayati, H. Glaukoma Sekunder Pada Pasien Dengan Penggunaan Steroid Topikal Rutin : Laporan Kasus. *Prepotif J. Kesehat. Masy.* **8**, 5580–5588 (2024).
 26. Sukartiningsih, Y. N. N. T., Edi, H. J. & Siampa, J. P. FORMULASI SEDIAAN GEL EKSTRAK ETANOL DAUN KALIANDRA (*Calliandra surinamensis* Benth) SEBAGAI ANTIBAKTERI. *Pharmacon* **8**, 801 (2019).
 27. Tosubu, C., Sulistyani, N. & Khikmah, N. POTENSI INFUSA DAUN NANGKA SEBAGAI OBAT KUMUR HERBAL. *Pharmacogn. Mag.* **75**, 399–405 (2021).
 28. Firdiana, E. R. Delima (*Punica granatum* L.): salah satu koleksi Kebun Raya Purwodadi berpotensi obat. *<i>Prosiding Biol. Achiev. Sustain. Dev. Goals with Biodivers. Confronting Clim. Chang. 2021 Nov 08; Makassar, Indones.* 107–112 (2021).
 29. Kalton, G. Simple Random Sampling. *Introd. to Surv. Sampl.* 9–16 (2022) doi:10.4135/9781412984683.n2.
 30. Rizqa, I. & Widani, I. D. PERAN ESTROGEN REMODELLING TULANG PADA KASUS OSTEOPOROSIS POST-MENOPAUSAL. *J. Inov. Pendidik. dan Sains* **4**, 159–166 (2023).
 31. Hussain, S., Naseer, B., Qadri, T., Fatima, T. & Bhat, T. *Fruits Grown in Highland Regions of the Himalayas.* (2021).