

THE EFFECT OF PORPHYROMONAS GINGIVALIS INFECTION ON MENOPAUSE TO THE MECHANICAL STRENGTH OF THE MANDIBLE AND FEMUR

Agustin Wulan Suci Dharmayanti*, Roedy Budirahardjo**, Bangun Febrianto***

*Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

**Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Jember

*** Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Jember

Correspondence: agustinwulan.fkg@unej.ac.id

Keywords:

Mechanical strength;
Ovariectomy; Ovarian
dysfunction;
Porphyromonas gingivalis

ABSTRACT

Background: Menopause is physiological condition signed estrogen deficiency. Porphyromonas gingivalis (Pg), Gram-negative bacteria, and the products might induce estrogen deficiency. Estrogen is a sex steroid hormone played an essential role in bone remodeling. The purpose of this study was to determine the effect of Pg infection to menopause on the mechanical strength of the mandible and the femur. Following this study, we suggested that there were efforts to improve the health of oral, reproductive, and bones, particularly improving women's quality of life. This study was an experimental laboratory by post-test only control group design.

Method: This study used female Wistar rats (*Rattus norvegicus*) divided into four groups. The groups were the control group (K), ovariectomy (OVX), Pg-induced (PG), and Pg-induced ovariectomy (OPG). OVX indicated ovarian dysfunction due to physiological processes. PG indicated experimental animals infected with Pg bacteria which was suspected of causing ovarian dysfunction. OPG indicated that experimental animals infected with Pg bacteria were in a state of menopause. A three-point bending test analyzed bone strength.

Result: The results showed that the average mechanical strength of the mandibular bone in the control group and the treatment group had a significant difference ($p < 0.05$), but there was no significant difference between the strength of the femur bone between the control group and the PG group ($p > 0.05$).

Conclusion: Pg infection in menopause triggered a decrease in the mechanical strength of bones, especially the mandibular bone.

PENDAHULUAN

Menopause merupakan proses fisiologis yang terjadi pada wanita dan ditandai berakhirnya siklus menstruasi secara. Menopause pada umumnya terjadi pada wanita usia 45-55 tahun, akan tetapi bisa terjadi lebih awal (sebelum usia 45 tahun) disebut *early menopause*. *Early menopause* disebabkan oleh banyak faktor, salah satunya adalah infeksi bakteri Gram negatif. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa infeksi bakteri gram negatif *Escherichia coli* dan produknya (endotoxin) dapat memicu terjadinya disfungsi ovarium. *E. coli* dan *lipopolysaccharide* (LPS) memicu produksi

sitokin proinflamatori, yaitu *Tumor Necrotic Factor alpha* (TNF- α). Sitokin ini akan menyebabkan penurunan produksi dan aktivitas hormon estrogen.¹⁻⁴

LPS merupakan endotoksin yang disekresikan oleh bakteri Gram negatif, termasuk periodontal pathogen. Walaupun LPS tiap bakteri anaerob mempunyai kekuatan virulensi yang berbeda, akan tetapi respon terhadap LPS sebagai *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (PAMPs) terhadap *Pattern recognition receptor* (PRR) host adalah sama. Pg merupakan salah satu periodontal pathogen yang menjadi penyebab utama

periodontitis kronis. Pg dan produknya dapat menyebabkan kerusakan kolagen dan merusak endotelial barrier.^{5,6} Kerusakan ini diduga mengakibatkan Pg mudah penetrasi ke jaringan lain, endotoksemia, dan memicu gangguan sistemik, salah satu ke alat reproduksi wanita. Akan tetapi, pengaruh Pg terhadap perubahan hormon seksual dan disfungsi ovarium ini masih belum jelas.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa terjadinya peningkatan keparahan penyakit periodontal seiring dengan fase menopause. Defisiensi hormon estrogen pada wanita menopause diduga dapat meningkatkan resiko periodontitis. Defisiensi estrogen memicu inflamasi dan kehilangan tulang.⁷ Estrogen merupakan hormon seks steroid yang memegang peran sangat penting dalam proses remodeling tulang, mempengaruhi aktivitas sel osteoblas maupun osteoklas, termasuk menjaga keseimbangan kerja dari kedua sel tersebut melalui pengaturan produksi faktor parakrin-parakrin utamanya oleh sel osteoblas. Estrogen dapat mempengaruhi proses diferensiasi, aktivasi dan apoptosis sel tulang. Estrogen memiliki reseptor di berbagai jaringan tubuh. Salah satu reseptor dari estrogen terdapat pada jaringan periodontal dan tulang, apabila terjadi defisiensi estrogen maka proses remodeling tulang baik mandibula dan femur kemungkinan terganggu. Gangguan remodeling tulang menyebabkan perubahan mikroporositas tulang yang mempengaruhi dari sifat mekanis tulang.⁸

Penelitian ini menggunakan hewan coba yang dilakukan ovariektomi yang diinduksi oleh bakteri Pg sebagai hewan menopause yang mengalami periodontitis. Beberapa penelitian menunjukkan ovariektomi merupakan hewan menopause fisiologis, dimana perubahan hormon estrogen terutama pada minggu ke-4 post ovariektomi. Perubahan hormonal ini diikuti dengan

perubahan sitokin proinflamatori yang menyebabkan resorpsi tulang.^{8,9} Beberapa penelitian juga menyebutkan bahwa ovariektomi dapat menurunkan fraksi volume tulang tibia sebanyak 4,9% dan kepadatan tulang tibia mengalami penurunan sebanyak 82% dan menurunkan fraksi area tulang mandibula. Sampai saat ini pengaruh disfungsi ovarium akibat ovariektomi dan induksi Pg terhadap kekuatan biomekanis tulang mandibula dan femur masih belum dilakukan.^{8,10,11} Penelitian ini menggunakan tulang mandibula dan femur oleh karena kedua tulang ini mudah terjadi osteoporosis dan mengalami fraktur. Selain itu, kedua tulang ini mempunyai kekompakan yang sama, walaupun beban atau kekuatan yang mengenaik kedua tulang ini berbeda. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh disfungsi ovarium akibat infeksi Pg s terhadap kekuatan mekanis tulang mandibula dan femur. Dengan mengetahui pengaruh infeksi Pg, diharapkan terdapat upaya peningkatan kesehatan jaringan periodontal, alat reproduksi dan tulang, sehingga meningkatkan kualitas hidup wanita.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan *the post-test only control group design*. Populasi penelitian yang digunakan adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) betina yang dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yaitu tanpa perlakuan (K), ovariektomi (OVX), induksi Pg (PG) dan ovariektomi-induksi Pg (OPG). OVX merupakan kelompok hewan ovariektomi karena proses menopause fisiologis. PG merupakan kelompok hewan yang diberi perlakuan dengan induksi Pg. OPG merupakan kelompok hewan yang diberi perlakuan dengan induksi Pg dalam keadaan menopause.

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komite Penelitian dan Kesehatan Kedokteran Gigi, Universitas Gajah Mada dengan No. 001124/KKEP/FGK-UGM/EC/2017. Hewan coba ditempatkan di ruangan dengan suhu yang konstan dan kelembaban yang terjaga dalam siklus 12 jam siang dan 12 jam malam, dengan bebas akses kemakanan dan air (*diet and water ad libitum*). Hewan coba akan diadaptasikan selama satu minggu.

Persiapan Suspensi Pg

Pertama dilakukan pembuatan media kultur bakteri Pg yaitu dengan BHI-A yang diperkaya hemin dan vitamin K. Dalam pembuatan media kultur dibutuhkan hemin solution sebanyak 50 µl, vitamin K 10µl, ekstrak yeast 500 µl, dan BHI-A sebanyak 3,7gram dalam 100 ml akuades steril yang dicampur pada tabung erlemeyer kemudian dihomogenkan. Selanjutnya, tabung ditutup menggunakan kapas dan disterilkan pada autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media tersebut dibagi empat, masing-masing 25 ml lalu dimasukkan ke dalam *petridish* tidak bersekat lalu ditunggu sampai padat. Satu ose bakteri Pg jenis ATCC 33277 murni diinokulasi pada masing-masing *petridish* kemudian diinkubasi selama 2x24 jam. Sebelumnya dilakukan pembuatan media cair sebanyak 10 ml, yaitu dari 0,37 gram BHI-B, 1 µl vitamin K, 5 µl hemin serta 50 µl ekstrak yeast. Selanjutnya dilakukan pembuatan suspensi bakteri Pg. Pada media cair diberi satu ose bakteri Pg yang berasal dari pembiakan di media agar BHI-A. Suspensi bakteri Pg yang didapat lalu dimasukkan desiccator dan diinkubasi selama 2x24 jam. Setelah diinkubasi, suspensi bakteri Pg diukur konsentrasinya hingga didapatkan 12 x 10⁹ CFU/ml. Selanjutnya dibuatkan preparat dengan pengecatan gram untuk menentukan bakteri dalam keadaan baik dan tidak terkontaminasi ¹².

Prosedur Bedah (Ovariektomi)

Prosedur Bedah dilakukan di lab fisiologi, Kedokteran Gigi, Universitas Jember yang difasilitasi dengan sinar UV sebagai pencegahan penularan bakteri pada manusia. Kelompok OVX dan OPG dianastesi menggunakan ketamine/xylazine (80/10 mg/kgBB) intramuskular. Bulu pada bagian abdomen dicukur sampai bersih. Area bedah dibersihkan menggunakan ethanol. Insisi melintang dilakukan pada dorsal hewan coba (punggung) kanan dan kiri sebesar 0.4-0.6 cm dibuat menggunakan *surgical scalpel blade* no 11. Setelah kavitas terbuka, jaringan adiposa diangkat sampai tabung uterine kanan dan ovarium yang dikelilingi oleh lemak terlihat. Prosedur yang sama diulangi untuk ovarium sebelah kiri. Ovarium diangkat dari lubang insisi perlahan untuk mencegah ada agar tidak ada yang tertinggal sehingga dapat berfungsi normal lagi. ovarium dan ujung uterine berhasil teridentifikasi, dilakukan penjahitan ovarium dengan benang sutra di area sebelah distal dari ujung uterine, setelah itu dipotong. Ujung uterine dikembalikan ke kavitas setelah pengambilan ovarium. Luka ditutup pada 2 lapisan (otot dan kulit) menggunakan benang steril. Kemudian dilakukan penjahitan dan setelah itu diulas dengan providone iodine sebagai desinfektan dan diberi antibiotik.¹³

Induksi Pg dan Ovariektomi-Induksi Pg

Injeksi Pg dilakukan di laboratorium fisiologi, Kedokteran Gigi, Universitas Jember yang difasilitasi dengan sinar UV sebagai pencegahan penularan bakteri pada manusia. Prosedur ini bertujuan untuk mendapatkan infeksi Pg yang menyebabkan disfungsi ovarium. Sebelum Pg diinjeksikan, semua tikus kelompok PG dan OPG diberi antibiotik untuk menekan jumlah flora normal rongga mulut, tikus. Antibiotik yang digunakan yaitu kanamycin 20mg/hari dan ampicillin 20mg/ hari selama 4 hari. Induksi eksperimental periodontitis

dilakukan dengan menginjeksikan 0.05 ml suspensi Pg dengan konsentrasi 2×10^9 sel/ml yang dilarutkan dalam saline pada bagian distopalatal dan distobucal sulkus gingiva dari molar pertama maksila. Injeksi diulang setiap 3 hari selama 19 hari. Untuk OPG, injeksi Pg diberikan 2 minggu setelah prosedur bedah ovariektomi setiap 3 hari sekali selama 19 hari. Injeksi Pg dilakukan selama 19 hari, karena waktu tersebut sudah menunjukkan adanya tanda-tanda periodontitis baik secara klinis maupun radiografis.^{12,13}

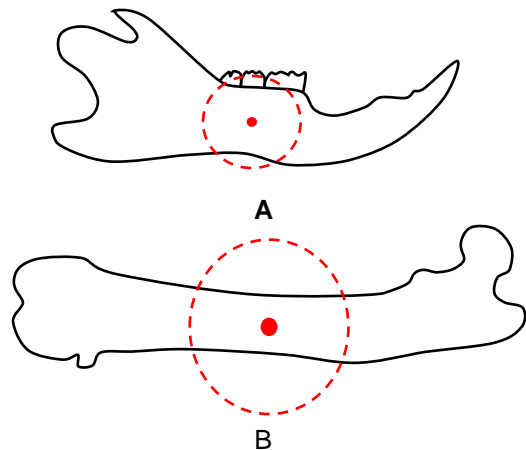
Euthanasia dan Pengambilan Sampel Mandibula dan Femur.

Euthanasia dilakukan pada hari ke-28 sejak awal penelitian dimulai kelompok kontrol; pada hari ke-28 setelah ovariektomi untuk kelompok OVX; dan 24 jam setelah induksi Pg untuk kelompok PG dan OPG. Rentang waktu 24 jam dilakukan untuk memberikan waktu efek injeksi Pg. Euthanasia dilakukan dengan cara memberikan ketamin overdose yaitu 4 kali dosis 80-100 mg/kg. Mandibula dan femur hewan coba diambil dan dicuci dengan 2M PBS. Kemudian dikeringkan dan disimpan pada buffer formalin 10% pada suhu ruang.

Pengujian Kekuatan Mekanis

Pengujian ini menggunakan tiga titik penekanan (*three-point bending*), mandibula dan femur dikenai beban pada satu titik yaitu tepat pada bagian tengah ($\frac{1}{2} L$) (gambar 1). Pada metode ini material harus tepat berada di $\frac{1}{2} L$, agar mendapatkan momen maksimum karena saat mencari σ dibutuhkan momen maksimum tersebut. Sebagaimana perilaku bahan terhadap pembebanan, semua bahan akan mengalami perubahan bentuk (deformasi) secara bertahap dari elastis menjadi plastis hingga akhirnya mengalami kerusakan (patah). Dalam proses pembebanan lengkung dimana dua gaya bekerja dengan jarak tertentu ($\frac{1}{2}L$) serta arah yang berlawanan bekerja

secara beramaan, maka momen lengkung itu akan bekerja dan ditahan oleh sumbu tulang tersebut atau sebagai momen tahanan lengkung. Pengukuran tegangan pada spesimen uji dapat dilakukan perhitungan dengan rumus.¹⁴ Hasil pengukuran kemudian dianalisis menggunakan analisis *One Way Anova* (Anova) dan dilanjutkan dengan uji *Least Significant Different* (LSD).



Gambar 1. Skema titik pembebanan pada saat uji three point bending

(A, tulang mandibula; B, tulang femur; titik merah adalah titik pembebanan)

Parameter yang diukur adalah sebagai berikut:

1. Ketebalan tulang menggunakan micrometer (mm)
2. Kekakuan tulang menggunakan rumus sebagai berikut

$$S = \frac{F}{D}$$

Keterangan :

F = Force/ gaya (N) sebesar 30-35N

S = Stiffness/ kekakuan (N/mm)

D = defleksi (mm)

3. Modulus elastisitas dengan rumus sebagai berikut:

$$E = \frac{PL^3}{4Ebh^3}$$

Keterangan:

E = Modulus elastisitas (N/m²)

P = Gaya (N) sebesar 30-35N

L = Panjang batang antara dua tumpuan (mm)
yaitu 20 mm

E = nilai defleksi (mm)

b = Lebar sampel (mcm)

h = Tebal sampel (mm)

HASIL PENELITIAN

Kekuatan mekanis tulang merupakan sifat fisik tulang dalam menahan beban yang mengenyainya. Kekuatan mekanis tulang mandibula dan femur pada penelitian menunjukkan daya lentur atau modulus elastisitas, kekakuan dan ketebalan tulang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kekuatan mekanis tulang baik pada mandibula dan femur antar kelompok mempunyai perbedaan yang signifikan ($P < 0.05$). Rata-rata kekuatan mekanis tulang mandibula pada kelompok kontrol mempunyai kekuatan mekanis tulang mandibula tertinggi dimana modulus elastisitas yaitu 82.74 MPa, kekakuan 30.18 N/mm dan ketebalan 2.95 mm. Sedangkan kelompok OPG mempunyai rata-rata kekuatan mekanis terendah yaitu modulus elastisitas sebesar 45.16 MPa, kekakuan 14.7 N/mm dan ketebalan 2.3 mm. Sedangkan kelompok OVX dan PG mempunyai nilai kekuatan mekanis yang hampir sama, walaupun kelompok OVX mempunyai kekuatan mekanis lebih tinggi dibanding kelompok PG (Tabel 1).

Rata-rata kekuatan mekanis tulang femur hampir sama dengan sifat mekanis tulang mandibula, dimana kelompok kontrol mempunyai kekuatan mekanis tertinggi, sedangkan kelompok OPG mempunyai kekuatan mekanis terendah.

Akan tetapi, kelompok OVX mempunyai nilai kekuatan mekanis lebih rendah dibanding kelompok PG (Tabel 1).

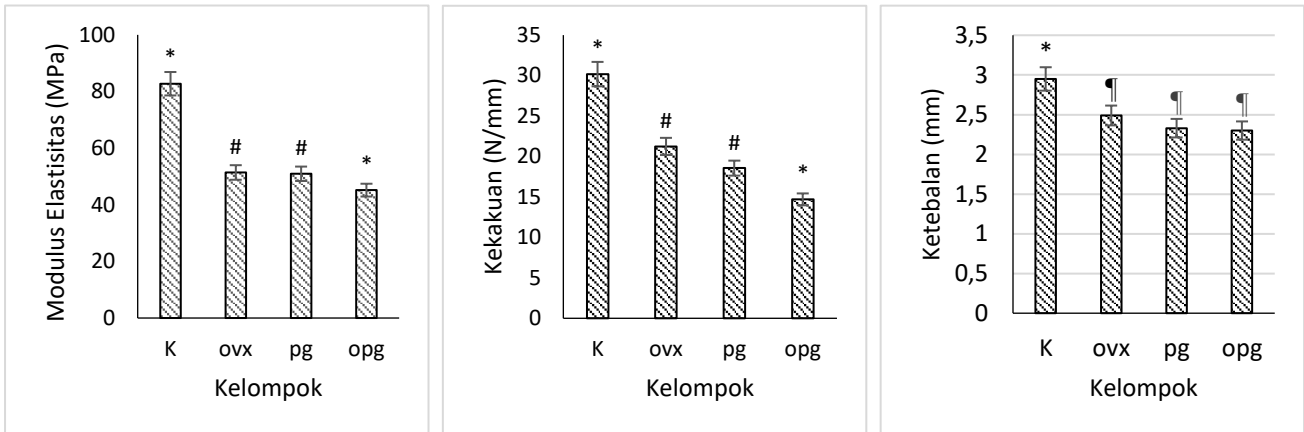
Gambar 2 menunjukkan bahwa gambaran histogram kekuatan mekanis tulang mandibula mempunyai pola kecenderungan yang sama, kecuali pada ketebalan. Pada modulus elastisitas dan kekakuan kelompok kontrol dan OPG mempunyai perbedaan rata-rata yang bermakna antar kelompok perlakuan ($p < 0.05$). Akan tetapi, pada kelompok OVX dan PG hanya mempunyai perbedaan rata-rata modulus elastisitas dan kekakuan dengan kelompok kontrol dan OPG ($p < 0.05$). Sedangkan antar kelompok OVX dan PG tidak mempunyai perbedaan rata-rata modulus elastisitas dan kekakuan yang signifikan ($p > 0.05$). Pada ketebalan tulang mandibula, hanya kelompok kontrol yang mempunyai perbedaan rata-rata dengan kelompok yang lain yaitu OVX, PG, dan OPG ($p < 0.05$), sedangkan antar kelompok OVX, PG dan OPG tidak mempunyai perbedaan rata-rata ketebalan tulang mandibula yang signifikan ($p > 0.05$).

Gambar 3 menunjukkan gambaran histogram perbedaan rata-rata kekuatan mekanis tulang femur antar kelompok perlakuan. Berbeda dengan tulang mandibula, tidak terdapat perbedaan yang bermakna kekuatan mekanis tulang femur antar kelompok kontrol dengan kelompok OPG, dan antar kelompok OVX dengan PG ($p > 0.05$). Sedangkan antar kelompok kontrol dan OPG dengan kelompok OVX dan PG terdapat perbedaan rata-rata kekuatan mekanis yang signifikan ($p < 0.05$).

Table 1. Kekuatan mekanis tulang mandibula dan femur model disfungsi ovarium akibat infeksi *Porphyromonas gingivalis*

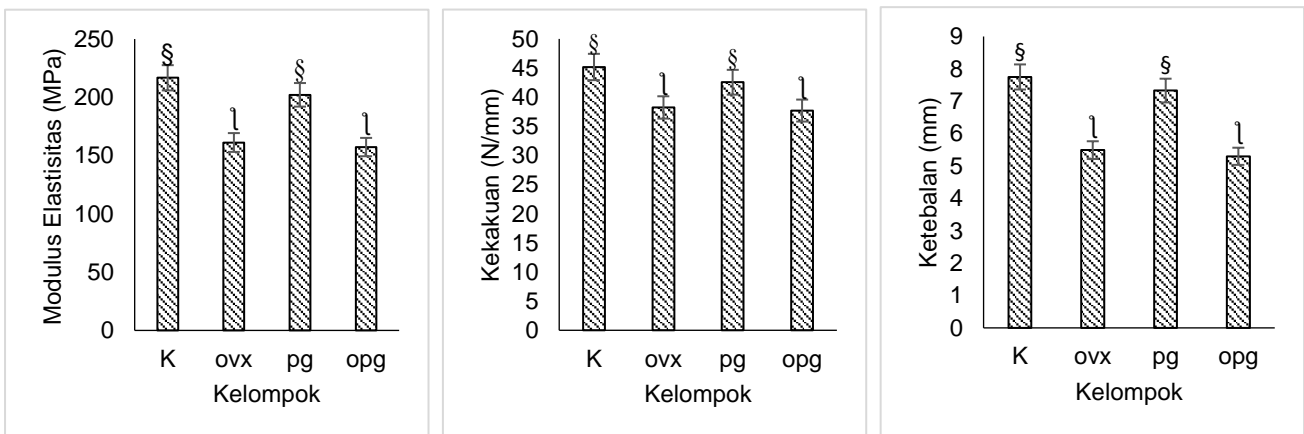
| Kekuatan Mekanis | | Kelompok | | | | Nilai p |
|------------------|---------------------------|--------------|--------------|-------------|--------------|---------|
| | | K | OVX | PG | OPG | |
| Tulang mandibula | Modulus elastisitas (MPa) | 82,74±12,93 | 51,4±1,54 | 50,93±7,12 | 45,16±2,92 | 0,009* |
| | Kekakuan (N/m) | 30,18±7,99 | 21,24±5,16 | 18,56±3,4 | 14,7±2,65 | 0,005* |
| | Ketebalan (mm) | 2,95±0,07 | 2,49±0,06 | 2,33±0,25 | 2,3±0,09 | 0,045* |
| Tulang femur | Modulus elastisitas (MPa) | 216,73±52,94 | 161,23±38,16 | 202,12±38,4 | 157,32±21,78 | 0,031* |
| | Kekakuan (N/m) | 45,18±7,99 | 38,24±3,16 | 42,56±8,4 | 37,7±2,65 | 0,041* |
| | Ketebalan (mm) | 7,75±1,07 | 5,49±0,06 | 7,33±0,85 | 5,3±0,79 | 0,039* |

Keterangan: Tabel menunjukkan nilai rata-rata dan simpangan baku yang dianalisis dengan uji Anova ($p < 0.05$); *, terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan; K, kelompok kontrol; OVX, kelompok ovariectomi; PG, kelompok induksi Pg; OPG kelompok ovariectomi dan induksi Pg



Gambar 2. Kekuatan mekanis tulang mandibula Model Disfungsi Ovarium Akibat Infeksi *Porphyromonas gingivalis*

Diagram menunjukkan nilai rata-rata dan standard error; Data dianalisis dengan menggunakan multiple comparison analysis (Least Significant Difference) ($p < 0.05$); *, terdapat perbedaan bermakna antar kelompok di semua kelompok perlakuan; #, terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol dan OPG; †, terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol; K, kelompok kontrol; OVX, kelompok ovariectomi; PG, kelompok induksi Pg; OPG kelompok ovariectomi dan induksi Pg



Gambar 3. Kekuatan Mekanis Tulang Femur Model Disfungsi Ovarium Akibat Infeksi *Porphyromonas gingivalis*

Diagram menunjukkan nilai rata-rata dan standard error; Data dianalisis dengan menggunakan multiple comparison analysis (Least Significant Difference) ($p < 0.05$); §, terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok OVX dan OPG; †, terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol dan PG; K, kelompok kontrol; OVX, kelompok ovariectomi; PG, kelompok induksi Pg; OPG kelompok ovariectomi dan induksi Pg

DISKUSI

Pengujian sifat atau kekuatan mekanis dengan uji penekanan tiga titik merupakan analisis terhadap suatu material dalam merespon beban

dari luar berupa perubahan deformitas. Hasil pengujian ini berupa nilai defleksi yang dikonversikan dengan rumus menjadi nilai modulus

elastisitas dan kekakuan. Ketebalan merupakan nilai yang harus dimasukkan dalam pengkonversian tersebut.

Secara umum, hasil penelitian ini menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata kekuatan mekanis tulang mandibula pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p < 0.05$), dimana kelompok kontrol mempunyai rata-rata kekuatan mekanis tulang mandibula lebih tinggi dibanding kelompok perlakuan. Hal ini kemungkinan disebabkan keadaan disfungsi ovarium dan induksi bakteri mempengaruhi densitas tulang. Perubahan densitas tulang akan menyebabkan perubahan porositas dan kerapatan tulang mandibula, sehingga tulang mudah mengalami deformitas pada saat menerima beban dan mudah untuk fraktur. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa disfungsi ovarium baik secara fisiologis maupun patologis menyebabkan penurunan *bone mineral density* (BMD). Penurunan BMD ini akan berdampak pada perubahan sifat biomekanis tulang dan penurunan sifat fisik tulang. Keadaan ini dihubungkan dengan adanya defisiensi estrogen. Estrogen pada tulang sangat berperan pada proses remodeling.¹⁵⁻¹⁷

Walaupun kelompok kontrol mempunyai kekuatan mekanis yang lebih tinggi dibanding kelompok yang lain baik pada tulang mandibula dan femur, pada kekuatan mekanis tulang femur kelompok kontrol tidak mempunyai perbedaan yang bermakna dengan kelompok Pg. Hal ini kemungkinan disebabkan induksi Pg selama 19 hari tidak mempengaruhi aktivitas sel-sel tulang secara sistemik. Induksi Pg dilakukan secara lokal (dengan injeksi di jaringan periodontal), sehingga lebih cepat merangsang sel-sel tulang di mandibula. Sedangkan kelompok OVX dan OPG mempunyai perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol, oleh karena kedua kelompok tersebut mengalami defisiensi estrogen akibat

pengambilan organ ovarium. Keadaan ini kemungkinan menyebabkan ketidakseimbangan proses remodeling tulang dengan menstimulasi aktivasi sel-sel tulang secara sistemik, terutama osteoklas. Selain itu, induksi Pg pada ovariektomi akan meningkatkan defisiensi estrogen. Penelitian Li dkk (2011) dan Zhang dkk (2014) menunjukkan bahwa penurunan kadar estrogen akibat ovariektomi mengaktifkan osteoklastogenesis dan menurunkan osteoblastogenesis, sehingga memicu pengeroposan tulang baik di tulang kompak maupun cancellous.^{18,19} Lee dkk (2020) juga menunjukkan bahwa induksi bakteri pada model tikus ovariektomi dan sham dapat meningkatkan progresifitas peradangan dan kemungkinan akan memperparah defisiensi estrogen yang berimbas pada penurunan densitas tulang.²⁰

Pada perhitungan modulus elastisitas, hasil penelitian menunjukkan kelompok kontrol mempunyai rata-rata yang lebih tinggi dibanding kelompok perlakuan ($p < 0.05$). Hal ini menunjukkan semakin sedikit deformasi bentuk yang dialami oleh tulang mandibula dan femur pada kelompok kontrol. Hal ini kemungkinan defisiensi estrogen pada kelompok disfungsi ovarium baik ovariektomi dan induksi Pg mempengaruhi elastisitas tulang mandibula dan femur. Semakin rendah modulus elastisitas, maka semakin besar regangan elastis. Pada saat diberi beban, benda yang mempunyai modulus elastisitas rendah akan mudah mengalami deformasi bentuk dan besar kemungkinan terjadi *microcracking* (patah). Osterhoff dkk menyatakan bahwa proses *aging* atau faktor-faktor lain yang menyebabkan defisiensi estrogen akan mempengaruhi elastisitas tulang, dimana kemampuan untuk resistensi terhadap deformasi dan mengabsorpsi energi berkurang, yang akhirnya meningkatkan fragilitas dan mudah patah.²¹

Pada perhitungan kekakuan tulang mandibula, hasil penelitian menunjukkan nilai rata-

rata kekakuan tulang mandibula yang sinergis dengan nilai rata-rata modulus elastisitas, dimana kelompok kontrol lebih kaku dibanding kelompok perlakuan ($p < 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa tulang mandibula dan femur pada kelompok kontrol lebih rigid dibanding kelompok perlakuan. Penurunan rigiditas tulang pada kelompok perlakuan kemungkinan disebabkan oleh ketidakseimbangan remodeling tulang dan gangguan mineralisasi tulang akibat defisiensi estrogen. Keseimbangan remodeling tulang dan peningkatan mineralisasi tulang akan meningkatkan rigiditas dan kekakuan tulang. Keseimbangan remodeling tulang ini dapat dipengaruhi oleh faktor sistemik, seperti perubahan hormonal estrogen.²²

Hasil penelitian juga menunjukkan tulang mandibula dan femur kelompok kontrol lebih tebal dibanding kelompok perlakuan ($p < 0.05$). Hal ini kemungkinan disfungsi ovarium menyebabkan perubahan hormonal yang berdampak pada perubahan mikrostruktur tulang. Perubahan mikrostruktur tulang ini kemungkinan berupa peningkatan porositas dan penipisan tulang kortikal. Hasil penelitian Stein dkk (2014) menunjukkan wanita menopause yang tidak mendapatkan terapi pengganti hormon mempunyai tulang kortikal yang lebih tipis dan berporus daripada wanita menopause yang mendapatkan terapi pengganti hormon.²³ Terapi pengganti hormon ini berfungsi untuk membantu regulasi hormon estrogen dalam proses remodeling tulang.^{16,23,24}

Pada kelompok OVX, kekuatan mekanis tulang mempunyai nilai yang lebih rendah dari kelompok kontrol. Tindakan ovariectomi yang dilakukan pada kelompok merupakan suatu pemodelan kondisi tubuh wanita yang mengalami defisiensi estrogen pasca menopause. Ovarium merupakan organ utama penghasil estrogen.

Proses ovariectomi dapat menurunkan kadar hormon estrogen, sehingga kadar estrogen pada tikus model ovariectomi akan menurun secara drastis²⁵.

Pada kelompok PG, kekuatan mekanis tulang mempunyai nilai yang lebih rendah dari kelompok kontrol. Hal kemungkinan induksi Pg akan meningkatkan osteoklas yang bertanggung jawab untuk proses resorpsi tulang. Penelitian Ermawati dkk (2019) menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah sel osteoklas dan menurunkan jumlah sel osteoblas pada tulang alveolar tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi LPS Pg²⁶. LPS yang dihasilkan Pg akan merangsang pembentukan osteoklas dan menyebabkan terjadinya resorpsi tulang dengan menstimulasi *Receptor Activator of Nuclear factor Kappa-B Ligand* (RANKL). Gangguan keseimbangan proses remodeling tulang tersebut dapat menyebabkan kehilangan tulang alveolar dan terjadi periodontitis²⁷. Ketidakseimbangan aktivitas osteoklas dan osteoblast ini akan mempengaruhi metabolisme tulang alveolar, yaitu menyebabkan pelepasan kalsium, yang akhirnya menurunkan kekuatan mekanis tulang. Kurniawati dkk (2015) menunjukkan kadar kalsium pada cairan krevikular gingiva penderita periodontitis kronis lebih tinggi dari penderita gingivitis. Kadar kalsium ini berhubungan dengan inflamasi jaringan periodontal dan resorpsi tulang alveolar²⁸.

Tulang mandibula dan femur merupakan salah satu tulang kortikal yang hampir setiap waktu selalu mendapatkan beban, baik secara fungsional maupun trauma patologis. Guna mempertahankan kekakuan, tingkat elastisitas dan ketahanan tulang pada saat menerima beban, tulang melakukan proses remodeling tulang. Akan tetapi, banyak faktor yang mempengaruhi proses remodeling tulang, sehingga dalam prosesnya tidak dapat berjalan secara seimbang antara proses resorpsi

dan aposisi, salah satunya adalah perubahan hormonal.^{22,29}

Perubahan hormonal ini sering terjadi pada wanita, terutama perubahan hormon pertumbuhan dan seks. Kedua hormon ini terlibat dalam proses pertumbuhan, perkembangan dan remodeling tulang mulai intra uterin sampai individu menua. Disfungsi ovarium merupakan kondisi pada wanita dimana tidak hanya terjadi penurunan fungsi ovarium, tetapi juga terjadi perubahan hormon pertumbuhan dan seks, seperti paratiroid, tiroid, hormon stimulasi folikel, estrogen dan progesteron. Apabila perubahan hormon ini terjadi secara patologis akan memicu terjadinya *early* menopause dan penuaan dini.^{16,22}

Estrogen merupakan hormon yang berperan penting dalam proses remodeling tulang. Estrogen diketahui mengendalikan diferensiasi osteoklas dengan cara menghambat interaksi antara RANK dan RANKL. Estrogen pun dapat menghambat produksi IL-6, IL-1 dan atau TNF- α , IL-11, IL-7, dan TGF- β yang juga penting dalam diferensiasi osteoklas³⁰. Pada fase menopause, penurunan jumlah estrogen akan menyebabkan peningkatan aktifitas osteoklas yang mengakibatkan terjadinya resorpsi tulang²⁵. Gangguan keseimbangan dalam resorpsi dan formasi tulang akan mempengaruhi densitas tulang dan memengaruhi kekuatan tulang.^{31,32}

Pada tulang, kondisi penurunan kadar estrogen akan menyebabkan perubahan komposisi matriks organik dan anorganik tulang. Pada matriks organik, tulang kortikal yang mengalami penuaan akan terjadi perubahan orientasi serat kolagen dan penurunan kandungan kolagen intrinsik akibat adanya denaturasi matriks kolagen tulang. Perubahan-perubahan ini akan menyebabkan penurunan kualitas, kekuatan dan kekerasan tulang.³² Sedangkan pada matrik anorganik, penuaan pada tulang kortikal dan perubahan

hormonal akan menyebabkan gangguan proses mineralisasi tulang, dimana deposisi mineral lebih banyak mineral fosfor daripada kalsium. Kondisi ini menyebabkan pengapuran, peningkatan porositas, penurunan sifat biomekanik tulang. Selain itu, perubahan hormonal juga menyebabkan aktivitas osteoklas meningkat, sehingga proses resorpsi tulang lebih tinggi dari pada aposisi. Hal ini akan mengakibatkan penurunan densitas mineral tulang dan meningkatkan porositas tulang.¹⁷

Akibat penurunan densitas mineral dan peningkatan porositas, kerapatan tulang akan berkurang. Hal ini akan mempengaruhi perilaku biomekanis tulang. Pengaruh porositas dan kerapatan terhadap perilaku biomekanis sangat tergantung pada lokasi dan besar pembebanan. Kerapatan menentukan kekuatan, kekakuan, dan ketahanan terhadap beban yang menyebabkan deformitas. Beban yang mengenai tulang awalnya akan menyebabkan deformita bentuk (bentuk melengkung), kemudian terjadi *micro-cracking*, dan akhirnya patah. *Micro-cracking* dan patah tulang terjadi oleh karena tulang sudah tidak dapat menahan beban yang mengenainya atau beban lebih besar dari kekuatan tulang tersebut.³³

KESIMPULAN

Disfungsi ovarium akibat ovariektomi infeksi *Porphyromonas gingivalis* mempengaruhi kekuatan mekanis tulang mandibula dan femur, walaupun induksi bakteri Pg bersifat memperparah kerusakan tulang secara sistemik dan tidak secara langsung mempengaruhi metabolisme tulang secara sistemik. Penelitian ini masih membutuhkan penelitian lebih lanjut mengenai hubungan kadar estrogen terhadap densitas tulang, aktivitas sel-sel tulang dan profil mikrostruktur tulang pada model disfungsi ovarium akibat infeksi Pg.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Rektor Universitas Jember dan Ketua LP2M Universitas Jember yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yoo DK, Lee S ho. Effect of Lipopolysaccharide (LPS) Exposure on the Reproductive Organs of Immature Female Rats. *Dev Reprod* [Internet]. 2016;20(2):113–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.12717/DR.2016.20.2.113>
2. Agrawal V, Jaiswal MK, Kumar Y. LPS-induced implantation failure: One of the causes of female infertility. *Med J Obs Gynecol*. 2013;1(3):1–5.
3. Magata F, Horiuchi M, Miyamoto A, Shimizu T. Lipopolysaccharide (LPS) Inhibits Steroid Production in Theca Cells of Bovine Follicles In Vitro: Distinct Effect of LPS on Theca Cell Function in Pre- and Post-selection Follicles. *J Reprod Dev* [Internet]. 2014;60(4):280–7. Available from: <http://jlc.jst.go.jp/DN/JST.JSTAGE/jrd/2013-124?lang=en&from=CrossRef&type=abstract>
4. Shimizu T, Watanabe K, Anayama N, Miyazaki K. Effect of lipopolysaccharide on circadian clock genes *Per2* and *Bmal1* in mouse ovary. *J Physiol Sci*. 2017;67(5):623–8.
5. Markou E, Boura E, Tsalikis L, Deligianidis A, Konstantinidis A. The influence of sex hormones on proinflammatory cytokines in gingiva of periodontally healthy premenopausal women. *J Periodontal Res*. 2011;46(5):528–32.
6. Kara A, Akman S, Ozkanlar S, Tozoglu U, Kalkan Y, Canakci CF, et al. Immune modulatory and antioxidant effects of melatonin in experimental periodontitis in rats. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2013;55:21–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.11.002>
7. Wulan A, Dharmayanti S, Kusumawardani B. Deoxyypyridinoline and mineral levels in gingival crevicular fluid as disorder indicators of menopausal women with periodontal disease. *Dent J (Majalah Kedokt Gigi)*. 2017;50(32):131–7.
8. Jiang X, Zhao J, Wang S, Sun X, Zhang X, Chen J, et al. Mandibular repair in rats with premineralized silk scaffolds and BMP-2-modified bMSCs. *Biomaterials* [Internet]. 2009;30(27):4522–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.05.021>
9. Yan X, Ye TW. Early molecular responses of bone to estrogen deficiency induced by ovariectomy in rats. *Int J Clin Exp Med* [Internet]. 2015;8(4):5470–5477. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4483909/>
10. Ichimaru R, Tominari T, Yoshinouchi S, Matsumoto C, Watanabe K, Hirata M, et al. Raloxifene reduces the risk of local alveolar bone destruction in a mouse model of periodontitis combined with systemic postmenopausal osteoporosis. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2018;85(September 2017):98–103. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.09.017>
11. Mizoguchi I, Toriya N, Nakao Y. Growth of the mandible and biological characteristics of the mandibular condylar cartilage. *Jpn Dent Sci Rev* [Internet]. 2013;49(4):139–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdsr.2013.07.004>
12. Kusumawardani B, Arina Y. Perkembangan Plasenta dan Pertumbuhan Janin pada Tikus Hamil yang Diinfeksi *Porphyromonas Gingivalis* Placental Development and Fetal Growth in *Porphyromonas Gingivalis*-Infected Pregnant Rats Introduction adhere and invade have been strongly of this organi. *Idj*. 2014;3(1):22–9.
13. Dharmayanti AWS, Ermawati T. Lipopolysaccharide (LPS) of *Porphyromonas gingivalis* Induces Ovarian Failure in Animal Model (In Vivo Study). 2018.
14. Rho JY, Kuhn-Spearing L, Zioupos P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Med Eng Phys*. 1998;20(2):92–102.
15. Sroga GE, Deepak Vashishth. Effects of bone matrix proteins on fracture and fragility in osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep*. 2012;10(2):141–50.
16. Papat VB, Calis KA, Kalantaridou SN, Vanderhoof VH, Koziol D, Troendle JF, et al. Bone mineral density in young women with primary ovarian insufficiency: Results of a three-year randomized controlled trial of physiological transdermal estradiol and testosterone replacement. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(9):3418–26.
17. Fonseca H, Moreira-Gonçalves D, Amado F, Esteves JL, Duarte JA. Skeletal deterioration following ovarian failure: can some features be a direct consequence of estrogen loss while others are more related to physical inactivity? *J Bone Miner Metab* [Internet]. 2015;33(6):605–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00774-014-0626-2>
18. Li JY, Tawfeek H, Bedi B, Yang X, Adams J, Gao KY, et al. Ovariectomy disregulates osteoblast and osteoclast formation through the T-cell receptor CD40 ligand. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2011;108(2):768–73. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerend er.fcgi?artid=3021053&tool=pmcentrez&rend>

- ertype=abstract
19. Zhang Y, Li Y, Gao Q, Shao B, Xiao J, Zhou H, et al. The variation of cancellous bones at lumbar vertebra, femoral neck, mandibular angle and rib in ovariectomized sheep. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2014;59(7):663–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.03.013>
 20. Lee DJ, Wu L, Shimono M, Piao Z, Green DW, Lee JM, et al. Differential mechanism of periodontitis progression in postmenopause. *Front Physiol*. 2018;9(AUG):1–9.
 21. Osterhoffa G, Morganb EF, Shefelbinec SJ, Karimd L, McNamarae LM, Augat P. Bone mechanical properties and changes with osteoporosis. *Injury*. 2016;47(suppl 2):S1–20.
 22. Stagi S, Cavalli L, Iurato C, Seminara S, Brandi ML, de Martino M. Bone metabolism in children and adolescents: main characteristics of the determinants of peak bone mass. *Clin cases Miner bone Metab* [Internet]. 2013;10(3):172–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24554926%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3917578>
 23. Emily M. Stein, Kepley A, Walker M, Nickolas TL, Nishiyama K, Zhou B, et al. Skeletal Structure in Postmenopausal Women with Osteopenia and Fractures is Characterized by Abnormal Trabecular Plates and Cortical Thinning. *J Bone Min Res*. 2014;29(5):1101–9.
 24. Koszuta P, Grafka A, Koszuta A, Łopucki M, Szymańska J. Effects of selected factors on the osseointegration of dental implants. *Prz Menopauzalny*. 2015;14(3):184–7.
 25. Al-Sabbagh JK, Razzaq MSA, Abd-Al-Rudha MM. Estrogen-degrading bacteria in women with premature ovarian failure. *J Contemp Med Sci*. 2016;2(7):77–82.
 26. Ermawati T, Gandini Abdi Nagari DFI, Praharani D, Sari DS. Effect of lipopolysaccharide induction of *Porphyromonas gingivalis* on osteoclast and osteoblast cell number of wistar rats' (*Rattus norvegicus*) alveolar bone. *Int J Appl Pharm*. 2019;11(Special Issue 4):64–7.
 27. Kukulj T, Trivanović D, Djordjević IO, Mojsilović S, Krstić J, Obradović H, et al. Lipopolysaccharide can modify differentiation and immunomodulatory potential of periodontal ligament stem cells via ERK1,2 signaling. *J Cell Physiol*. 2018;233(1):447–62.
 28. Kurniawati I, Pujiastuti P, Dharmayanti AWS. Kadar kalsium (Ca) dalam cairan krevikular gingiva pada penderita periodontitis kronis. *ODONTO Dent J*. 2015;2(2):8–13.
 29. Mercuri LG. *Temporomandibular Joint Total Joint Replacement-TMJ TJR: A comprehensive reference for researchers, materials scientist, and surgeons* [Internet]. Mercuri LG, editor. Switzerland: Springer International Publishing; 2016. 1–299 p. Available from: https://books.google.co.id/books?id=IKUvCwAAQBAJ&pg=PA14&lpg=PA14&dq=external+and+internal+force+in+jaw&source=bl&ots=6go3GL25oV&sig=ACfU3U3u302x7BYCqOGA1iD_NbApdD8FRA&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwjOyJDzubrpAhVYSX0KHdfFCA8Q6AEwEnoECAwQAQ#v=onepage&q=external
 30. Sihombing M, Tuminah S. Hubungan komponen sindrom metabolik dengan risiko diabetes melitus tipe 2 di lima kelurahan Kecamatan Bogor Tengah. *Media Litbangkes*. 2015;25(4):219–26.
 31. Yeh PS, Lee YW, Chang WH, Wang W, Wang JL, Liu SH, et al. Biomechanical and tomographic differences in the microarchitecture and strength of trabecular and cortical bone in the early stage of male osteoporosis. *PLoS One*. 2019;14(8):1–17.
 32. Cheung AM, Frame H, Ho M, Mackinnon ES, Brown JP. Bone strength and management of postmenopausal fracture risk with antiresorptive therapies: Considerations for women's health practice. *Int J Womens Health*. 2016;8:537–47.
 33. Min Wang, Laurencin C, Yu X. *Encyclopedia of Biomedical Engineering* [Internet]. Roger Narayan, editor. Amsterdam, Netherland: elvesier; 2019. 707 p. Available from: <https://books.google.co.id/books?id=ZORyDwAAQBAJ&pg=RA1-PA29&lpg=RA1-PA29&dq=cortical+bone+BMD+mechanical+collagen+orientation+anisotropic+3+point+binding+4+bending&source=bl&ots=hfOfmMgGqC&sig=ACfU3U3mrVSWjvUnLZMhRTg8Bm-vFAVjTw&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwjMja>