

EFEK PEMBERIAN SPILANTHES ACMELLA DAN LATIHAN FISIK TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOBLAS FEMUR MENCIT YANG DIINDUKSI DEKSAMETASON

EFFECT OF SPILANTHES ACMELLA AND EXERCISE ON OSTEOLAST CELLS FEMUR IN MICE DEXAMETHASONE INDUCED

Hening Laswati^{1*}, Mangestuti Agil², Retno Widyowati²

¹Departemen Ilmu Kedokteran Fisik dan Rehabilitasi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, RSUD Dr Soetomo

²Departemen Farmakognosi dan Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga

*Korespondensi Penulis:

Submitted: 25-03-2015, Revised: 11-02-2015, Accepted: 03-03-2015

Abstrak

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui uji aktivitas anti-osteoporosis secara *in vivo* dari tanaman *Spilanthes acmella* terhadap sel osteoblas tulang trabekula proksimal femur mencit jantan model osteoporosis induksi deksametason. Penelitian ini dilakukan dengan rancangan penelitian *posttest only control group*, 60 ekor mencit jantan sehat (usia >5 bulan) dikelompokkan secara random menjadi 10 kelompok yaitu kelompok sehat tanpa induksi deksametason dan kelompok osteoporosis induksi deksametason. Kontrol positif mendapat suspensi alendronat dan kelompok latihan fisik menggunakan treadmill mencit berjalan 10m/menit bertahap selama 5 -12 menit, 3 kali dalam satu minggu, kelompok kombinasi ekstrak etanol 70% dan latihan fisik serta kelompok uji fraksi butanol, heksan, etil asetat dan air. Penelitian ini dilakukan selama 4 minggu. Osteoporosis akibat pemakaian glukokortikoid menjadi penyebab osteoporosis sekunder yang meningkatkan risiko fraktur. Telah banyak bukti klinik tentang peran fitoestrogen dalam pengobatan osteoporosis pada pascamenopause. *Spilanthes acmella*, atau yang dikenal masyarakat dengan sebutan Legetan, termasuk famili Asteracea merupakan satu tanaman obat di Indonesia yang mempunyai kandungan senyawa polifenol dan flavonoid. Dari hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa baik fraksi butanol dan air dari tanaman tersebut mampu meningkatkan aktivitas enzim alkalin fosfatase yang merupakan marker pembentukan tulang. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% *Spilanthes acmella* dikombinasikan dengan latihan fisik meningkatkan jumlah sel osteoblas secara bermakna bila dibandingkan dengan hanya ekstrak etanol atau latihan fisik. Ini membuktikan bahwa ekstrak etanol 70% *Spilanthes acmella* mempunyai efek additive terhadap efek latihan pembebanan aksial pada kondisi osteoporosis. Fraksi heksana, etil asetat dan air juga meningkatkan secara bermakna jumlah sel osteoblas. Fraksi non polar merupakan fraksi yang lebih potensial untuk pembentukan tulang karena fraksi tersebut banyak mengandung senyawa turunan amida dan sesquiterpena. Kesimpulan penelitian ini menunjukkan adanya efek additive ekstrak etanol 70% dari *Spilanthes Acmella* pada latihan fisik dengan meningkatkan jumlah sel osteoblas.

Kata kunci: *Spilanthes acmella*, osteoporosis sekunder, osteoblas

Abstract

Study was conducted to analyse the anti-osteoporosis effect of *Spilanthes acmella* plant *in vivo* on osteoblast cell trabecular bone of femur male mice with dexamethasone-induced osteoporosis. This study using a *post test control group design*, 60 male healthy mice (>5 months old) were randomly divided into 10 groups, there are healthy control group (without induction dexamethaxone), and osteoporosis groups (induction with dexamethaxone). The positive control receive suspension alendronat suspension and the exercise group walking using mice treadmill 10m/minute, 5-12 minutes 3 times a week, the combination group of 70% extract ethanol and exercise, the butanol, hexane, etil asetat and water fraction group. The study conducted for 4 weeks. Glucocorticoid-induced osteoporosis is leading cause of secondary osteoporosis and an increase in fracture risk. There were clinical evidence suggest a role for phytoestrogen in the treatment of post-menopausal osteoporosis. *Spilanthes acmella*, or already

known by public society as Legetan, include in Asteracea family, is one of Indonesia medicinal plants that contain of polyphenol and flavonoids. Previously in vitro study showed that buthanol and water fraction from this plant have increased alkaline phosphatase that known as marker of bone formation. The results showed that 70% ethanol extract of *Spilanthes acmella* that combined by physical exercise increasing osteoblast cells significantly than only 70% ethanol extract or physical exercise. Additionally hexane, ethyl acetate and water fractions from *Spilanthes acmella* also increasing osteoblast cells significantly. Non-polar fraction is a potential fraction of bone formation because it contains many non-polar compounds such as amides derivatives and sesquiterpene. The study concluded that 70% ethanol extract of *Spilanthes acmella* have an additive effect to weight bearing exercise in osteoporotic condition.

Keywords : *Spilanthes acmella*, secondary osteoporosis, osteoblast

Pendahuluan

Osteoporosis akhir-akhir ini menjadi perhatian masyarakat luas dan terutama ditujukan pada kaum perempuan, padahal osteoporosis juga bisa terjadi pada laki-laki. Satu dari delapan laki-laki usia lebih dari 50 tahun mempunyai risiko fraktur akibat osteoporosis. Laki-laki dengan fraktur proksimal femur memiliki angka morbiditas dan mortalitas 2 kali lebih tinggi daripada perempuan.¹ Hasil penelitian dari Puslitbang Gizi DepKes RI pada tahun 2005 di 16 wilayah di Indonesia menunjukkan angka prevalensi osteopenia 41,7%, sedangkan osteoporosis 10,3% dan prevalensi osteopenia dan osteoporosis yang berusia kurang dari 55 tahun, laki-laki cenderung lebih tinggi daripada perempuan.² Pada laki-laki 40% kasus osteoporosis adalah osteoporosis sekunder. Tiga penyebab terbanyak adalah akibat pemakaian glukokortikoid jangka panjang, hipogonadisme dan asupan alkohol yang berlebihan.^{1,3} Faktor risiko lain osteoporosis sekunder adalah merokok, keganasan, penyakit kronik (rematoid arthritis, gagal ginjal kronik, systemic lupus erythematosus), malabsorpsi, idiopatik dan faktor genetik.¹ Menurut *World Health Organization* (WHO) osteoporosis merupakan kelainan metabolik tulang yang terbanyak ditandai dengan massa tulang yang rendah oleh karena ketidak seimbangan resorpsi dan formasi tulang atau ketidak seimbangan remodeling tulang.⁴ Baik pada perempuan dan laki-laki hormon seks steroid berperan untuk pertumbuhan dan mempertahankan densitas tulang. Terdapat hubungan yang bermakna antara *Bone Mineral Density* (BMD) dan kadar estrogen pada laki-laki.¹ Morfologi tulang pada laki-laki usia lanjut menunjukkan penipisan dan penurunan jumlah trabekular. Pemakaian glukokortikoid jangka

panjang menyebabkan hiperparatiroid sekunder, penurunan osteoblastogenesis, apoptosis osteosit dan osteoblas, dan peningkatan rentan hidup osteoklas sehingga terjadi ketidak seimbangan remodeling tulang.^{5,6}

Rekomendasi penanganan osteoporosis sekunder akibat pemberian glukokortikoid jangka panjang meliputi modifikasi faktor risiko, pencegahan kejadian jatuh, latihan fisik teratur, suplemen vitamin D, penggantian steroid gonadal, terapi bisfosfonat atau *calcitonin*, PTH 1-34 dan pemeriksaan ulang *Bone Mineral Density* (BMD).⁷ Penanganan ini sering menemui banyak kendala mengingat mahal biaya deteksi dini, biaya pemeriksaan dan mahal harga obat untuk osteoporosis, disamping masalah efikasi dan efek samping yang ditimbulkan obat-obat tersebut. Di negara Amerika Serikat, biaya pengobatan osteoporosis mencapai lebih dari 10 miliar dolar Amerika dalam setahunnya.⁸

Telah banyak dilaporkan uji anti-osteoporosis in vivo menggunakan fitoestrogen sebagai bahan uji pada hewan coba betina yang dilakukan ovariectomi, tetapi sangat jarang dilaporkan uji pada hewan coba jantan. Senyawa fitoestrogen mirip estradiol sudah banyak ditemukan pada beberapa tanaman, dan dilaporkan dapat memberikan efek anabolik pada tulang.⁹⁻¹¹ Belum pernah dilaporkan efek anabolik pada tulang dari *Spilanthes acmella* pada hewan coba jantan.

Spilanthes acmella atau dikenal dengan nama Legetan, termasuk dalam famili *Asteraceae*, diketahui mengandung senyawa kimiawi seperti polifenol dan flavonoid.¹² Bagian dari tumbuhan ini yaitu akar, batang, daun dan bunganya digunakan oleh sebagian masyarakat sebagai obat tradisional. Fraksi butanol dan air tanaman ini menunjukkan potensi meningkatkan aktivitas

alkalin fosfatase pada studi in vitro.¹³ Alkalin fosfatase berperan mengkatalisis ester monofosfat yang berada di dalam membran plasma menjadi *phosphatidyl-glycolipid anchor* dalam proses pembentukan tulang.¹⁴ Sejauh ini belum pernah dilaporkan uji aktivitas anti-osteoporosis in vivo dari fraksi dan ekstrak dari senyawa *Spilanthos acmella*, demikian pula senyawa aktifnya yang berperan sebagai anti-osteoporosis belum banyak dilaporkan, sehingga penelitian ini penting untuk dikembangkan. Penemuan efek anti-osteoporosis dari tanaman ini diharapkan akan membantu masyarakat dalam pencegahan dan penanganan osteoporosis

Metode

Tanaman *Spilanthos acmella* diperoleh dari Kebun Raya Purwodadi. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini berderajat pro-analisis. Hewan coba yang digunakan adalah 60 ekor mencit jantan sehat *Mus musculus (breeding)* usia lebih dari 5 bulan dari Laboratorium Hewan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Mencit dipelihara dalam kandang dan diberi minum dan pakan dengan persyaratan yang sesuai dengan penelitian eksperimental. Pemeriksaan untuk histomorfologi dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Sejumlah 10kg serbuk kering dari seluruh bagian tanaman *Spilanthos acmella* maserasi menggunakan etanol 70% sebanyak 15 l selama 3 kali, dan diperoleh hasil ekstrak etanol 70% sebanyak 1,5 kg. Ekstrak kering, ditimbang dan disimpan dalam eksikator. Pembuatan fraksi non polar, semi polar dan polar. Pembuatan bahan uji dilakukan di Departemen Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Ekstrak etanol 70% dilarutkan dengan air sampai larut sempurna dan dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut heksan, etil asetat, air dan n-butanol. Masing-masing fraksi dilakukan uji aktivitas anti-osteoporosis

Kelompok mencit dibuat osteoporosis dengan diinduksi deksametason 0,2 ml/20 g BB mencit/hari secara oral selama 30 hari (setiap 0,2 ml suspensi mengandung 0,0029 mg deksametason). Mencit yang telah mengalami osteoporosis terlihat bagian punggung tampak membungkuk (berdasarkan penelitian pendahuluan).

Rancangan penelitian menggunakan *posttest only control* group, dalam 10 kelompok masing-masing kelompok sebanyak 6 ekor yaitu kelompok sehat tanpa perlakuan; kelompok kontrol (-): diberi suspensi CMC-Na 0,5% 0,2ml/20g BB/hari; kelompok kontrol (+): diberi suspensi Alendronat 0,026mg/20gBB/hari; kelompok uji I diberi suspensi ekstrak etanol 70% 4,14 mg/20gBB mencit/ hari; kelompok uji II diberi: ekstrak etanol 70% dan latihan fisik; kelompok uji III: diberi suspensi fraksi hexana 0,187mg/20g BB/hari; kelompok uji IV: diberi suspensi fraksi asetil asetat 0,641mg/20gBB/hari; kelompok uji V diberi suspensi fraksi butanol,¹ 132mg/20gBB/hari; kelompok uji VI diberi suspensi fraksi air 1,782mg/20gBB/hari; kelompok uji VII diberi latihan fisik berjalan menggunakan *treadmill* 10m/menit selama 5-12 menit, 3 kali dalam satu minggu. Uji dilakukan selama 4 minggu, dan pemberian bahan uji, pembandingan dan kontrol secara oral.

Setelah proses pembedahan dan pengambilan tulang femur, dilakukan proses dekalsifikasi, dilanjutkan dengan pembuatan preparat tulang dengan pewarnaan HE dan pembacaan preparat tulang. Pembacaan hasil dilakukan dengan pemeriksaan histopatologis. Jumlah osteoblas dinyatakan dalam total sel osteoblas dalam 5 lapangan pandang tulang trabekula proksimal femur. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan mikroskop yang telah terkalibrasi pada pembesaran 2000 kali. Analisis hasil menggunakan SPSS 20. Perbedaan rerata jumlah sel osteoblas tulang trabekula femur mencit dari setiap kelompok dianalisis menggunakan ANOVA satu arah. Jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji *post hoc* dengan uji beda nyata terkecil/LSD untuk menguji perbedaan dan rerata perlakuan dengan nilai signifikan 0,05.

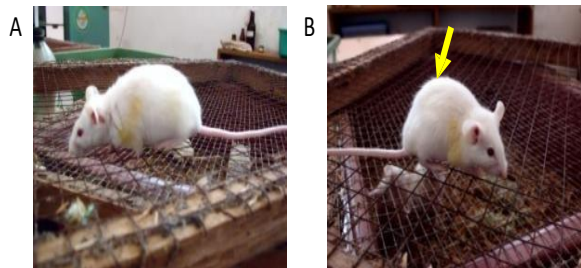
Hasil

Fraksinasi pada ekstrak etanol 70% sebanyak 1,5 kg berdasarkan tingkat polaritasnya menunjukkan hasil seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil fraksinasi dari ekstrak etanol 70 % *Spilanthos acmella*

Fraksi	Banyak pelarut	Berat Fraksi
(gram)	900 ml	67,5
Etil asetat	900 ml	285
Butanol	900 ml	405
Air	100 ml	647

Mencit yang sudah osteoporosis dapat dibedakan dari mencit sehat terlihat punggungnya yang bungkuk (Gb.1). Kondisi ini diduga bahwa mencit telah mengalami pengeroposan tulang (osteoporosis). Tabel 2 menunjukkan berat badan kelompok mencit setelah induksi deksametason selama 30 hari dan perlakuan selama 4 minggu.



Gambar 1. Mencit normal (A) dan mencit osteoporosis (B) yang ditandai dengan pembungkukan pada tulang belakang

Tabel 2. Data berat badan mencit (gram) sesudah diinduksi deksametason dan perlakuan

Kelompok	n	Rerata (gram)	Min (gram)	Max (gram)
Kontrol (-) sehat	5	22,20±0,66	20	24
Kontrol sakit (-) (osteoporosis)	5	19,40±0,51	18	21
Kontrol (+) (alendronat)	5	27,00±2,39	18	31,5
Ekstrak Etanol	5	26,50±2,18	19	32
Fraksi Heksan	4	24,25±2,78	18,5	29,5
Fraksi Butanol	4	21,37±1,37	19	25
Fraksi Etil asetat	5	28,20±2,40	19,5	33,5
Fraksi Air	5	15,40±1,21	12	19
Kombinasi Eks Etanol+Latihan	4	23,38±0,94	21,5	25
Latihan	4	24,10±1,48	18,5	24

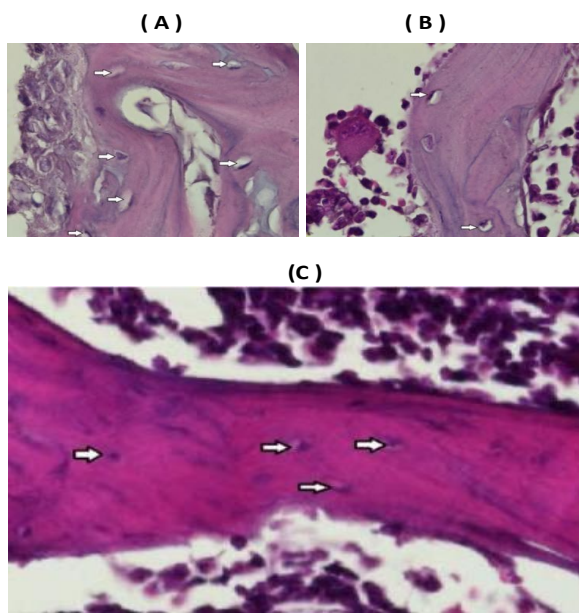
Uji homogenitas rerata berat badan mencit $p>0,05$, ini menunjukkan bahwa data rerata berat badan kelompok perlakuan ini mempunyai keseragaman varian (homogen).

Hasil pembacaan preparat tulang femur pada masing-masing kelompok uji dapat dilihat pada Tabel 3.

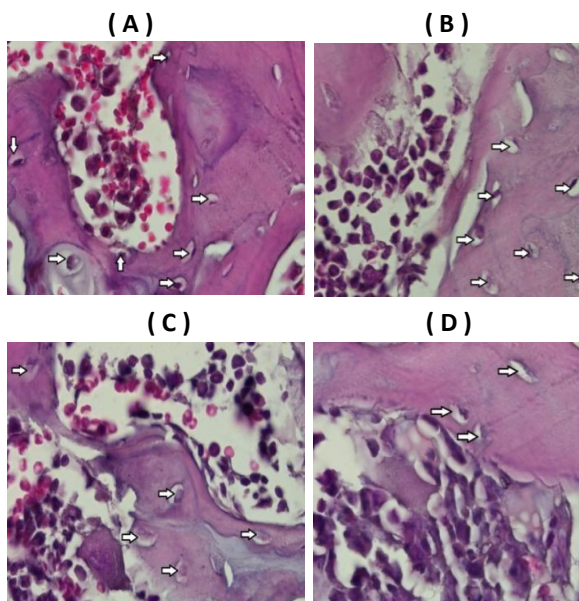
Tabel 3. Nilai rerata jumlah sel osteoblas tulang trabekular femur mencit (/5 lapangan pandang)

Kelompok	n	Rerata jumlah Sel osteoblas Tulang trabekula (/5 lapangan pandang)	Min	Max
Kontrol (sehat)	5	93,60 ±14,43	79,00	116,00
Kontrol (-), Osteoporosis	5	37,80 ± 6,98	31,00	47,00
Kontrol (+), Alendronat	5	63,20 ±16,53	35,00	77,00
Ekstrak Etanol 70%	5	43,80 ± 6,50	38,00	54,00
Ekstrak Etanol70% +Latihan Fisik	4	63,50 ± 6,45	57,00	70,00
Fraksi Heksana	4	58,00 ± 3,16	55,00	62,00
Fraksi Etil Asetat	5	58,80 ± 8,53	50,00	72,00
Fraksi Butanol	4	38,25 ± 5,91	31,00	44,00
Fraksi Air	5	52,80 ± 13,52	36,00	71,00
Latihan Fisik	5	43,00 ± 6,04	35,00	51,00

Uji normalitas data rerata jumlah osteoblas masing masing kelompok $p>0,05$ menunjukkan bahwa data tersebut berdistribusi normal, sehingga memenuhi persyaratan uji statistik parametrik. Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa terdapat penurunan jumlah sel osteoblas dari kelompok kontrol negatif (*osteoporosis*) dibandingkan dengan kelompok mencit yang sehat tidak osteoporosis (kelompok kontrol sehat). Pemberian deksametason mengakibatkan penurunan jumlah osteoblas tulang trabekular. Selain itu terdapat peningkatan sel osteoblas trabekula femur mencit kelompok kontrol positif (*alendronat*), kelompok uji dan latihan fisik dibandingkan terhadap kelompok mencit yang telah mengalami osteoporosis. Hasil penelitian menunjukkan kecenderungan peningkatan aktifitas pembentukan sel osteoblas atau efek anabolik dari semua perlakuan. Tabel 3 menunjukkan bahwa kelompok kombinasi ekstrak etanol 70% disertai latihan fisik memberikan nilai rerata jumlah sel osteoblas yang lebih besar dibandingkan tanpa latihan fisik.



Gambar 2. Sayatan jaringan metafisis proksimal femur proksimal mencit model osteoporosis dengan pewarnaan HE dan diamati dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 2000x, menunjukkan (A): osteoblas pada kelompok kontrol (-) sehat; (B): osteoblas pada kelompok kontrol (-) osteoporosis; (C): osteoblas pada kelompok kontrol (+) alendronat



Gambar 4. Sayatan jaringan metafisis proksimal femur proksimal model osteoporosis dengan pewarnaan HE dan diamati dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 2000x, menunjukkan (A): Osteoblas pada kelompok ekstrak etanol 70%; (B): osteoblas pada kelompok kombinasi ekstrak etanol 70% dan latihan fisik; (C): osteoblas pada kelompok fraksi heksana; (D) osteoblas pada kelompok fraksi etil asetat

Hasil analisis dengan ANOVA satu arah menunjukkan level signifikan $p=0,000$, bahwa terdapat perbedaan jumlah sel osteoblas minimal pada satu pasang kelompok perlakuan, sehingga untuk mengetahui adanya perbedaan dalam kelompok perlakuan dilanjutkan pengolahan data dengan menggunakan uji LSD. Dari hasil analisis ini terlihat bahwa semua sampel uji berbeda secara bermakna ($p<0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok osteoporosis kecuali pada kelompok ekstrak etanol 70% ($p=0,350$), fraksi butanol ($p=0,947$) dan latihan fisik ($p=0,417$).

Pembahasan

Di dalam sel tulang terdapat ekspresi reseptor androgen (AR), reseptor estrogen alpha dan beta ($ER\alpha$ dan $ER\beta$). Sinnesael dan kawan kawan (2011) melaporkan dalam penelitiannya pada hewan coba jantan bahwa terdapat peran AR dan $ER\alpha$ untuk pertumbuhan tulang dan mempertahankan densitas tulang.¹⁵ Testosteron berperan melalui reaksi langsung pada AR atau secara tidak langsung pada $ER\alpha$ melalui aromatisasi. Pada laki-laki yang menderita hipogonadal, pemberian testosteron dapat menghambat resorpsi tulang dan mempertahankan massa tulang. Dilaporkan dalam studi *cross sectional* bahwa terapi sulih hormon testosteron pada 15 laki-laki asma yang mendapat terapi glukokortikoid efektif meningkatkan masa tulang (BMD) vertebra lumbal setelah 12 bulan terapi.⁷

Pada hewan jantan seperti halnya pada manusia androgen dalam sirkulasi yang terbanyak adalah testosteron. Baik testosteron gonadal maupun testosteron adrenal akan dikonversi menjadi estrogen (C18 steroid) oleh P 450 aromatase yang terdapat pada jaringan tulang. Telah banyak dilaporkan peran aktivasi $ER\alpha$ dalam mempertahankan densitas tulang pada hewan coba jantan melalui aromatisasi. Dilaporkan pula bahwa pada hewan coba jantan osteoblas merupakan target dari AR dalam mempertahankan volume tulang trabekula dan sintesis matriks tulang dan mineralisasi tulang.¹⁵ Suthikrai dkk (2010) melaporkan bahwa *Spilanthes acmella* (Linn.) mengandung fito testosteron 0,59-1,39 ng/g berat kering.¹⁶ Pada penelitian ini belum dilakukan penentuan

kadar fitotestosteron maupun fitoestrogen dari *Spilanthes acmella*. Pemberian glukokortikoid jangka panjang mengakibatkan hipogonadisme, kadar serum testosteron menjadi rendah. Dapat diasumsikan bahwa pemberian *Spilanthes acmella* dalam penelitian ini meningkatkan jumlah rerata sel osteoblas tulang trabekula pada mencit jantan model osteoporosis akibat efek dari fitotestosteron yang terkandung dalam tanaman tersebut, dimana kandungan fitotestosteron dari tanaman tersebut perlu pembuktian lebih lanjut.

Hasil penelitian in vivo ini berbeda dengan uji pendahuluan in vitro sebelumnya, dimana fraksi polar (butanol dan air) mampu meningkatkan jumlah enzim alkalin fosfatase lebih besar dibandingkan fraksi non polar (heksana dan etil asetat).¹³ Telah banyak dilaporkan peran enzim alkalin fosfatase sebagai marker diferensiasi sel dan peran pada mineralisasi tulang.¹⁷ Bitto dan kawan-kawan melaporkan bahwa pemberian *genistein aglycone* selama 60 hari pada hewan coba tikus model osteoporosis dapat meningkatkan alkalin fosfatase dan menurunkan marker resorpsi tulang *carboxy-terminal collagen cross link* secara bermakna.¹⁸ Senyawa dalam fraksi nonpolar (fraksi heksana) seperti *sesquiterpen* dan turunan amida lebih meningkatkan jumlah sel osteoblas, sedangkan senyawa polar (flavonoid atau senyawa yang mengandung glikosida) yang ada dalam fraksi butanol dan air in vivo tidak bermakna dalam meningkatkan sel osteoblas. Perbedaan hasil uji aktivitas anti-osteoporosis in vitro dan in vivo dari fraksi tersebut dimungkinkan karena pemberian ekstrak dan fraksi dalam bentuk suspensi secara oral akan mengalami metabolisme oleh bakteri dalam saluran cerna serta transportasi ke peredaran darah yang selanjutnya mengalami proses degradasi di hati. Senyawa yang terkandung dari *Spilanthes acmella* akan mengalami perubahan biokimiawi yang berpengaruh terhadap potensi anti-osteoporosis. Perubahan ini memerlukan perhitungan dalam menentukan dosis uji aktivitas in vivo dengan melakukan uji dari beberapa dosis.

Dibandingkan dengan pemberian ekstrak etanol saja, kombinasi ekstrak etanol dengan latihan fisik menunjukkan hasil yang berbeda secara bermakna dengan signifikansi $p =$

0,000. Latihan fisik adalah pergerakan tubuh yang terprogram dan terstruktur dilakukan untuk memperbaiki satu atau lebih komponen kebugaran fisik. Latihan fisik merupakan stresor fisik yang dapat menginduksi respon hormonal dan imunologi, meningkatkan kadar *growth hormone* (GH), hormon tiroid, glukagon, katekolamin, adrenokortikotropin (ACTH), glukokortikoid (kortisol), testosteron, estrogen dan progesteron.¹⁹ Pembebanan mekanik pada tulang (*skeletal load*) menimbulkan stres mekanik dan *strain* atau *resultant tissue deformation* yang menimbulkan efek pembentukan tulang dan menurunkan *bone turn over* yang mengurangi resorpsi tulang. Dengan demikian pembebanan mekanik dapat memperbaiki densitas jaringan tulang dan arsitektur tulang.²⁰ Penelitian pada tikus OVX yang mendapat kombinasi pemberian bisfosfonat (*etidronat*) dan latihan fisik lari diatas *treadmill* menunjukkan *efek additive* dalam meningkatkan masa tulang dengan menurunkan jumlah sel osteoklas sebagai efek etidronat dan meningkatkan jumlah osteoblas (sebagai efek dari latihan fisik).²¹ Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% *Spilanthes Acmella* memberikan peran yang besar pada proses peningkatan jumlah sel osteoblas. Fraksi etil asetat dan heksana (non polar) mampu meningkatkan jumlah sel osteoblas yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol 70%, fraksi butanol, dan latihan saja.

Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya *efek additive* ekstrak etanol 70% dari *Spilanthes acmella* pada latihan fisik dengan meningkatkan secara bermakna jumlah sel osteoblas tulang trabekula proksimal femur pada mencit jantan model osteoporosis induksi deksametason. Fraksi nonpolar lebih potensial dalam meningkatkan jumlah sel osteoblas.

Saran

Perlu pembuktian senyawa fitoestrogen dan fitotestosteron yang terkandung dalam tanaman *Spilanthes acmella* yang diuji dalam penelitian ini dengan ELISA atau RIA. Perlu dilakukan penelitian lanjutan uji ekstrak etanol 70% dan

fraksi butanol dengan beberapa dosis untuk menentukan dosis efektif untuk meningkatkan jumlah sel osteoblas. Perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh *Spilanthes acmella* dalam menghambat ketidak seimbangan proses remodeling tulang dengan pemeriksaan biomarker pembentukan dan resorpsi tulang secara in vivo. Juga penelitian lanjutan untuk isolasi zat aktif dari ekstrak etanol 70% *Spilanthes acmella* dan menguji efek osteogenik hasil isolasi tersebut baik in vitro dan in vivo.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih ditujukan kepada DP2M Dikti atas bantuan dana penelitian, Ketua LPPM Universitas Airlangga dan Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Daftar Pustaka

1. Audran M. Bone health is also for men. *Medicographia* 2010; 32(4): 417-21.
2. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Pedoman Pengendalian Osteoporosis. 2008. Tersedia pada : URL: <http://www.depkes.go.id/downloads/Kepmenkes/fil-osteoporosis.pdf>. Diunduh tgl 22 November 2013.
3. Ebling PR. Osteoporosis in Men. *N Engl J Med*. 2008;358: 1474-82.
4. Lajeunesse D, Pelletier JP, Martel-Pelletier J. Osteoporosis and Osteoarthritis: Bone is the common battleground. *Medicographia*, 2010; 32(4):391-5.
5. Walsh S, Jordan GR, Jefferiss C, Stewart K, Beresford JN. High Concentration of Dexamethason Suppress the Proliferation but not the Differentiation or Further Maturation of Human Osteoblast Precursors In Vitro: Relevance to Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. *Rheumatology*. 2001; 40: 74-81.
6. Weinstein RS. Glucocorticoid-Induced Bone Disease. *N Engl J Med*. 2011;365:62-70.
7. American College of Rheumatology. Recommendations for the Prevention and Treatment of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. *Arthritis & Rheumatism*. 2001;44: 1496-503.
8. Caulfield MP, Reitz RE. Biochemical Marker of Bone Turnover and Their Utility in Osteoporosis. *Montvale: Medical Laboratory Observer*. 2004; 36: 34-8.
9. Uesugi T, Fukui Y, Yamori Y. Beneficial Effects of Soybean Isoflavon Supplementation on Bone Metabolism and Serum Lipids in Postmenopausal Japanese Women. A Four Week Study. *Journal of The American College of Nutrition*. 2002; 21: 97-102.
10. Fitzpatrick LA. Phytoestrogens Mechanism of Action and Effect on Bone Markers and Bone Mineral Density. *Endocrinol Metab Clin N Am*. 2003; 32: 233-52.
11. Atkinson C, Compston JE, Day NE, Dowsett M and Bingham SA. The Effects of Phytoestrogen Isoflavones on Bone Density in Women: a Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Trial. *Am L Clin Nutr*. 2004; 79: 326-33.
12. Sabitha A and Suryanarayana U. Antifungal potential of flower head extract of *Spilanthes acmella* Linn. *African Journal of Biomedical Research*. 2006; 9: 67-9.
13. Retno W. Alkaline Phosphatase Activity of *Graptophyllum pictum* and *Spilanthes acmella* Fractions against MC3T3-E1 Cells as Marker of Osteoblast Differentiation Cells. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2011; 3(supp.1): 34-7.
14. Franceschi RT, Young J. Regulation of Alkaline Phosphatase by 1,25 dihydroxyvitamin D3 and Ascorbic acid in Bone-derived Cells. *J Bone Miner Res*. 1990; 5:1157-67.
15. Sinnesael M, Boonen S, Claessens F, Gielen E and Vanderschueren D. Testosterone and the Male Skeleton: A Dual Mode of Action. *Journal of Osteoporosis*. 2011; 1-7.
16. Suthikrai W, Jintana R, Sophon S, Usawang S and Hengtakulsin R. The study on testosterone progesterone and oestradiol 17- β levels in weeds from pasture. *Thai J Toxicol* 2010; 25(2):183.
17. Golub EE and Boesze-Battaglia. The role of alkaline phosphatase in mineralization. *Current Opinion in Orthopaedics*. 2007; 18: 444-8.
18. Bitto A, Burnett BP, Polito F, Levy RM, Marini H, Di Stefano V, Irrera N, Armbruster MA, Minutoli L, Altavilla D and Squadrito F. Genistein aglycone reserves glucocorticoid-induced osteoporosis and increases bone breaking strength in rats: a comparative study with alendronate. *British Journal of Pharmacology*. 2009; 156: 1287-95.
19. Holly RG and Shaffrath JD. Cardio Respiratory Endurance. In (Roitman JL Ed). *ACSM's Resource Manual for Guidelines for Exercise Test-*

- ing and Prescription. 4th ed. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins. 2001: pp 203–4.
20. Bemben DA and Fetters NL. The Independent and Additive Effects Exercise Training and Estrogen on Bone Metabolism. *Journal of Strength and Conditioning Research* 2000; 14 (1): 114–20.
21. Chilibeck. Exercise and Estrogen or Estrogen Alternatives (Phytoestrogens, Bisphosphonates) for Preservation of Bones Mineral in Postmenopausal Women. *Can. J. Appl. Physiol* 2004; 29 (1): 59–75