

Pengaruh mfp-implan terhadap *tissue pertinent changes* pada tikus putih (*rattus-rattus*) galur wistar

The influence of mfp-implant on tissue pertinent changes of wistar rattus-rattus

Widjiono

Bagian Biomaterial Kedokteran Gigi FKG-UGM

Abstrak

Penggunaan fluor untuk prevensi karies dilakukan dalam periode yang lama, sehingga merupakan rutinitas dan membosankan. Pada umumnya pemasukan fluor harian dalam tubuh tidak terkontrol dan menyebabkan fluorosis. Alternatif cara pemberian fluor terkontrol berupa implan fluor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh MFP-Implan terhadap *tissue pertinent changes* pada Tikus putih. Subjek penelitian berupa induk *Rattus-rattus* (bunting 2 hari) 20 ekor. Jalannya penelitian dari 20 ekor induk tikus putih dibagi menjadi 4 kelompok. Kandungan MFP untuk kelompok 1, 2, 3 dan 4 berturut-turut: implan kontrol (K), implan P1, implan P2 dan implan P3. Implantasi *subcutan* dilakukan pada punggung tikus. Pada minggu ke 8 dilakukan etanasia. Jaringan sekitar posisi implan di eksisi kemudian diblok dan difiksasi dalam dapar formalin. Spesimen dipotong membujur sepanjang aksis implan (5 μ m). *Pertinent changes* pada jaringan sekitar implan diperiksa menggunakan mikroskop cahaya. Data dianalisis menggunakan statistik deskripsi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa luka irisan mengalami penyembuhan pada hari ke 5 sampai 7. Pemeriksaan *tissue pertinent changes* menunjukkan adanya infiltrasi sel lemak dan penebalan relatif jaringan pada P3 dan tidak ada sel radang dan jaringan fibrosa. Kesimpulan penelitian adanya infiltrasi sel lemak pada P3 dan implan P2 memenuhi persyaratan sebagai implan.

Kata kunci : MFP-Implan, *pertinent changes*, tikus putih

Abstract

Fluoride for caries prevention if consumes for a long period, it is sometimes made bored. Normally, fluoride intake is uncontrolled and cause fluorosis. Alternatively, implant fluor becomes the controlled method. Te study was aimed to determine the influence of MFP-implant on tissue pertinent changes of Wistar *Rattus-rattus*. The research subjects were *Rattus-rattus* mother of 20 rats (2 days pregnant). Twenty rats were divided into 4 groups, namely control (K), implant P1, implant P2 and implant P3. Subcutaneous implantation was done on rat back. On the 8th day, euthanasia was done. Excision was done surround the implant tissue, then blocked and fixed by formalin buffer. The specimen was cut along the implant tissue were examined by light microscope. The data were analyzed by descriptive statistic. The result showed that the incision was cured on the 5th - 7th day. Tissue pertinent changes determination showed that there was lipid cell infiltration and relatively thicker of tissue on implant P3 and. there was not any inflammation cell infiltrated and fibrous tissue. In conclusion, the infiltration of lipid cell on implant P3. The implant P2 was fulfilled the requirement of implant devices.

Key words : MFP-implant, *pertinent changes*, rat

Pendahuluan

Senyawa fluorida untuk prevensi karies gigi dilakukan minimal sampai dewasa, sehingga membosankan. Pada umumnya pemasukan fluor dalam tubuh tidak terkontrol dan menyebabkan fluorosis. Pada populasi pemukiman dengan program fluoridasi air minum terjadi kenaikan prevalensi fluorosis sebesar 36,3 % (Szpunar dan Burt, 1990) dengan 10 kali lipat (Pendry dan Stamm, 1990). Pemberian fluor dalam kadar rendah dalam frekuensi tinggi (Wefel, 1990), dan pemberian fluor secara terkontrol (Hargreaves, 1990) menunjukkan efektivitas penurunan karies gigi dan penurunan fluorosis. Di bidang kesehatan berkembang penggunaan bahan polimer dalam pelbagai produk obat lepas lambat (Shargel dan Yu, 1985). Penggunaan jenis polimer *poly-dl-lactic acids* (PLA) dimaksudkan sebagai *vehicle* fluor dengan lepasan lambat. PLA secara *in vivo* akan terlarut sempurna dalam waktu 28 minggu sampai 60 minggu (Pitt dan Schindler, 1980). Alternatif cara pemberian fluor terkontrol berupa implan fluor.

Natrium-monofluorofosfat (MFP) merupakan senyawa fluor sebagai antikaries, toksisitasnya rendah, lebih efektif dibanding NaF dan absorpsi lebih cepat serta tidak terpengaruh adanya ion kalsium (Cremer dan Buttner, 1970, White, 1983). Gugus ion monofluorofosfat lebih mudah terikat pada apatit (Ingram, 1972).

Ion fluor akan terdistribusi pada jaringan *well-perfused* yang merupakan kompartemen sentral dan jaringan *poorly-perfused* seperti kulit, otot dan jaringan lemak merupakan kompartemen perifer (Ekstrand, 1996). Kadar fluor plasma dipengaruhi oleh hukum difusi pasif dan *sinker* kompartemen fluor. Ion monofluorofosfat dan asam laktat merupakan senyawa yang kompatibel dalam tubuh (Pearce, 1983). Ion fluor dalam kadar rendah akan mengubah hidroksi apatit menjadi fluor apatit yang lebih tahan terhadap asam (White dan Nancollas, 1990)

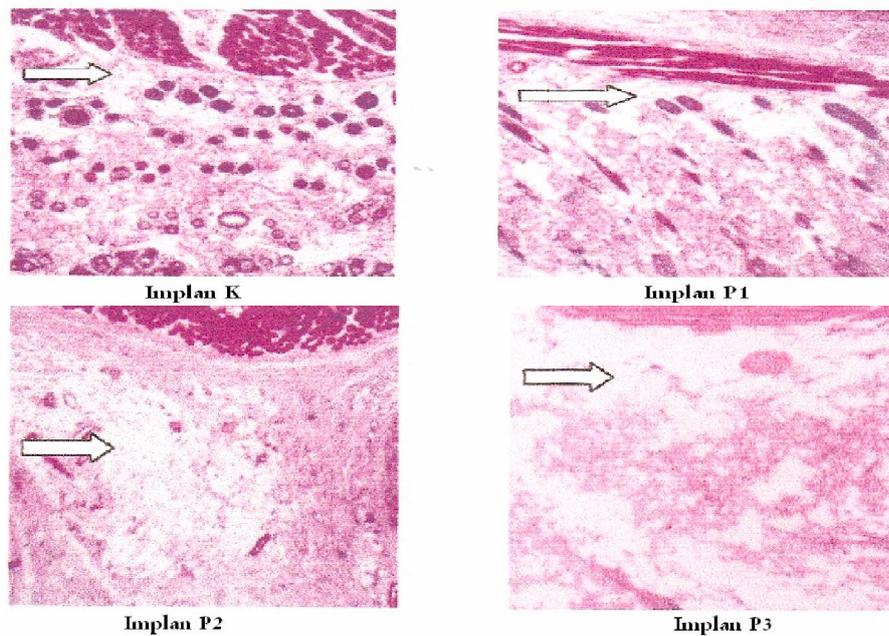
Metodologi

Alat bahan dan cara kerja

Subjek penelitian berupa induk tikus putih (*Rattus-rattus*) galur Wistar dan telah bunting 2 hari, sebanyak 20 ekor.

Bahan utama penelitian adalah natrium-monofluorofosfat (MFP) (Na@211, Australia) dan poli-dl-asam laktat (PLA) (Poly Science, USA). Alat yang digunakan pisau bedah, diseksi tumpul dan mikroskop cahaya. MFP-implan bentuk *monolith* dibuat mengikuti metode Beck *et al.* (1980). MFP-implan merupakan campuran MFP dengan PLA dengan rasio = 20 : 80 (b/b mg). Variasi kadar MFP dalam implan dengan rasio MFP : PLA berturut-turut adalah: 0:100 (K); 26,49 : 105,96 (P1) ; 52,98 : 211,92 (P2); dan 264,9 : 1059,6 (P3). Prosedur pembuatan bahan implan dengan ukuran diameter 3 mm dan panjang 10 mm Implan dibuat dari campuran larutan I (MFP dilarutkan dalam 3 mL metanol) dengan larutan II (PLA dilarutkan dalam 7 mL khloroform/metilen khlorida 1:1) diaduk sampai homogen menggunakan pengaduk magnetik. Adonan diuapkan menggunakan alat pengering pada suhu 50 °C sambil diaduk-aduk secara manual sampai konsistensi plastis. Adonan plastis dimasukkan dalam tabung ukuran diameter 3 mm dan panjang 10 mm diberi tekanan hidrolis 50 kgf/cm² selama 1 menit kemudian dikeluarkan dari tabung (Beck *et al.*, 1980). Subjek penelitian menggunakan 20 ekor induk tikus putih (bunting 2 hari) dibagi menjadi 4 kelompok (n=5). Kelompok 1 dengan perlakuan implan kontrol tanpa MFP (K), kelompok 2 dengan implan P1, kelompok 3 dengan implan P2 dan kelompok 4 dengan implan P3. Implantasi dilakukan secara *subcutan* pada punggung tikus. Tikus diberi diet normal dengan modifikasi tanpa mineral fluorida secara *ad libitum*. Pada minggu ke 8 dilakukan etanasia. Jaringan sekitar posisi implan di eksisi kemudian diblok dan difiksasi dalam dapar formalin netral. Spesimen dipotong membujur sepanjang aksis implan (5 µm).

Pertinent changes pada jaringan sekitar implan diperiksa menggunakan mikroskop cahaya. Data dianalisis menggunakan statistik deskripsi.



Gambar.1 Perubahan jaringan sekitar implan (infiltrasi sel lemak) pada minggu ke 8.

Tabel I. Penafsiran pemeriksaan histologis jaringan sekitar implan pada minggu ke 8

Indikator	K	P1	P2	P3
1. Susunan sel	sama	sama	sama	sama
2. Penebalan jaringan	-	-	+	++
3. Infiltrasi lemak	-	-	+	++
4. Sel radang	-	-	-	-
5. Jaringan fibrosa	-	-	-	-

Keterangan : K (kontrol), P1 implan dengan muatan 26,49 mg MFP, P2 implan dengan muatan 52,98 mg MFP, P3 implan dengan muatan 264,9 mg MFP; (-) tidak ada, (+) sedikit, (++) sedang, (+++) banyak

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa luka iris mengalami penyembuhan antara 5 sampai 7 hari ditengarai dengan pengeringan bekas luka dan terlepasnya dari kulit tanpa terbentuk jaringan parut. Pemeriksaan histologis jaringan sekitar implan tidak menunjukkan adanya karakteristik nekrosis, sel radang, jaringan fibrosa tetapi didapatkan perubahan jaringan sekitar implan (*pertinent change*) berupa infiltrasi sel lemak dan terjadi

perubahan ketebalan jaringan akibat infiltrasi sel lemak (Gambar 1.)

Gambaran histologis perubahan jaringan sekitar implan adalah terjadi: (a) infiltrasi sel lemak pada perlakuan P2 dan P3 dengan jumlah infiltrasi sel lemak lebih banyak pada P3 (sedang) (b) penebalan jaringan yang ditandai dengan pembentukan jaringan fibrosa disekitar posisi implan tetapi belum terbentuk *encapsulated*. Pembentukan jaringan fibrosa dan jumlah sel lemak yang terbentuk menyebabkan penambahan ketebalan jaringan.

Secara visual reaksi peradangan yang terjadi pada minggu pertama akibat luka iris termasuk dalam kriteria normal dan wajar. Pada keadaan normal luka iris akan mengalami kesembuhan mulai 3 hari dan penyembuhan sempurna setelah 7 hari. Pada pengamatan luka iris akibat implantasi mengalami penyembuhan antara 5 sampai 7 hari ditengarai dengan pengeringan bekas luka dan terlepasnya dari kulit tanpa terbentuk jaringan parut. Pemeriksaan jangka pendek tidak dilakukan dengan alasan pada minggu ke 2, luka iris pada tikus secara visual tidak memperlihatkan tanda-tanda terjadinya reaksi inflamasi lebih lanjut. Pemeriksaan histologis jaringan sekitar implan pada minggu ke 8 terjadi perubahan dalam struktur berupa kecenderungan peningkatan jumlah sel lemak pada kelompok P2 (sedikit) dan P3 (sedang).

Peningkatan infiltrasi lemak dalam jaringan sesuai dengan pendapat Adamek *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa efek fluor pada enzim berperan dalam alur metabolisme: pembentukan energi, karbohidrat, dan *turn over* lemak. Implan-MFP akan berubah dari senyawa molekuler menjadi ion-ion: Na^+ , PO_4^{3-} dan F^- . Menurut teori dua-lapis lemak Davson–Danielli (Williams dan Elliot, 1985), molekul yang bersifat elektrik difusinya akan dihambat dengan cara pembentukan lemak dan bersifat sebagai *barrier*. Bahkan fluor dengan kadar tinggi terbentuk *encapsulated* disekitar implan dan mengganggu absorpsi dan pemasukan fluor dalam jaringan (Bruck, 1983). Dengan demikian mekanisme peningkatan jumlah lemak atau infiltrasi lemak dalam jaringan tersebut merupakan upaya pembatasan jumlah fluor yang diabsorpsi jaringan. Dengan adanya peningkatan infiltrasi lemak akan memperkecil tingkat difusi fluor sehingga fluor yang diabsorpsi makin kecil. Upaya pembatas absorpsi fluor dengan proses infiltrasi lemak ini sesuai dengan sifat kompartemen perifer dan termasuk dalam jaringan dengan perfusi tidak baik (*poorly perfused*) seperti pada kulit, otot skelet dan jaringan lemak. Pada jaringan yang bersifat *poorly perfused* distribusi fluor berlangsung lebih lambat (Ekstrand, 1996).. Infiltrasi lemak kemungkinan terjadi sebagai akibat adanya ledakan pelepasan fluor yang besar (*burt explosion*) pada minggu pertama

implantasi. *The first burt explosion* fluor pada implan PLA merupakan hal yang wajar sebagai konsekuensi bentuk implan batangan bioeradibel. Hal yang serupa terjadi pada implan kontrasepsi menggunakan polimer biodegradabel dai PLA (Cowsar dan Dunn, 1984). Ledakan pelepasan fluor pada awal percobaan disebabkan adanya proses pemplastisi dari air pada polilaktat dan tidak adanya penghambatan secara kimiawi seperti yang terjadi pada pemberian lewat oral. Pada pemberian secara oral penghambatan absorpsi fluor terjadi akibat bereaksi dengan mineral valensi 2 serta adanya *barrier* biologis berupa membran. Akibat proses *plasticizer* ini menyebabkan implan mengembang dan memudahkan pelepasan fluor. Disamping itu dilihat dari pengaruh geografis implan, luas permukaan awal sebelum terjadi degradasi pelarutan lebih besar dibanding sesudah mengalami degradasi. Makin lama periode implan, maka makin kecil luas permukaan yang kontak langsung dengan air menyebabkan makin sedikit pelepasan fluor yang terjadi. Pelepasan fluor setelah 7 hari dalam jumlah kecil dan relatif stabil (Widjijono, 1999). Setelah mencapai kesetimbangan antara asupan dan kebutuhan fluor jaringan setelah terjadi infiltrasi lemak, maka pelepasan fluor terjadi dalam jumlah kecil sesuai kebutuhan dan berjalan dalam waktu yang lama. Perkiraan berakhirnya pelepasan fluor implan dengan kandungan MFP 20 % (*in vitro*) selama 3 bulan (Widjijono, 2001). Pada penelitian ini perkiraan masa habis cadangan fluor memerlukan waktu lebih lama karena terjadi proses penghambatan oleh adanya infiltrasi lemak pada awal implantasi dan adanya penebalan jaringan fibrosa. Adanya infiltrasi lemak menyebabkan jaringan relatif lebih bersifat seperti *poorly perfused* dan berperan sebagai *partial barrier* (Ekstrand, 1996). Konsekuensi terbentuknya *poorly perfused* dan *partial barrier* maka difusi fluor menjadi lebih kecil. Penebalan jaringan berupa pembentukan jaringan fibrosa (Cowsar dan Dunn, 1984) sekitar posisi implan sebenarnya merupakan proses fisiologis sebagai akibatkan pelepasan fluor yang berlebihan pada awal minggu pertama setelah implan.

Sesuai dengan ketentuan implan (Standford, 1983) bahwa bahan dapat diterima

tubuh apabila memenuhi persyaratan antara lain: (a) tidak ada reaksi atau terjadi reaksi jaringan ringan pada minggu ke 2 dan 12, (b) terjadi reaksi moderat pada minggu 2 dan hilang pada minggu ke 12. Pada penelitian ini sampai dengan minggu ke 8 tidak terjadi tingkatan reaksi moderat maupun parah. Mengingat bahwa pada minggu ke 8 telah terjadi penyembuhan luka secara normal tanpa pembentukan jaringan parut, maka diasumsikan terjadi penyembuhan sempurna.

Hasil penelitian dari anak tikus umur 35 hari dengan induk diberi implan-MFP (subkutan) P1, P2 dan P3 menunjukkan bahwa kandungan kalsium gigi pada anak tikus dengan P2 terbesar (37267,05 ppb) sedang pada implan P3 terendah (18115,50 ppb) sedangkan P1 diantara keduanya (27328,04 ppb). Penelitian ini menunjukkan pula bahwa semakin tinggi kandungan F pada implan menyebabkan semakin menurun kandungan kalsium giginya (Widjijono, 2001). Kadar

availabilitas F gigi tergantung pada kadar F plasma. Kadar F plasma yang terapetik akan menghasilkan penyerapan F yang optimum, sedangkan kadar F plasma yang lebih besar terjadi hambatan absorpsi F pada gigi dan tulang.

Kesimpulan

Dari penelitian ini disimpulkan bahwa pada implan P2 dan P3 terjadi perubahan sekitar jaringan lokasi implan (*pertinent changes*) berupa infiltrasi lemak dan relatif penebalan jaringan dan implan P2 memenuhi persyaratan sebagai implan.

Ucapan Terima Kasih

Penghargaan yang setinggi-tingginya atas arahan, bimbingan dan masukannya kepada beliau Prof. Dr. Soewaldi M, MSc, Apt, Prof. Dr. IG Ngurah Rai dan Prof. Dr. Fasich, Apt

Daftar Pustaka

- Adamek, E, Pawlowska-Goral K, and Bober K, 2005, In vitro and in vivo effect of fluoride ions on enzyme activity, *Ann Acad Med Stetin*, 51, 2, 69-85
- Bruck, S. D , 1983, *Controlled Drug Delivery*, Basic Concept vol.I, CRC Press, Boca Raton, Florida, 12.
- Cowsar, D. R., and Dunn, R. L, 1984 Biodegradable and Nonbiodegradable Fibrous Delivery Systems (in Zatuchni GI, Goldsmith A, Shelton JD, Sclarra JJ edit.: *Long-Acting Contraceptive delivery Systems*), Harper dan Row Pub., Philladelphia, 145-63
- Cremer, H. D., and Buttner, W., 1970. Absorption of Fluoride (in *Fluoride and Human Health*), Geneva, WHO,; p84-85
- Ekstrand, J., 1996, Fluoride Metabolism (in Ekstrand J, Burt BA, edit.: *Fluoride in Dentistry*), Copenhagen. Munksgaard, 112-47
- Hargreaves, J. A., 1990; Water Fluoridation and Fluoride Supplementation: Consci-deration for Future, *J Dent Res.*, 69, 775-70.
- Ingram, G. S, 1972., The Reaction of Monofluorophosphate with Apatite, *Caries Res* 6 : 1-15
- Pearce, E. I. F., 1983; Biochemistry of Monofluorophosphate, *Caries Res* 17 (Suppl 1): 21-35
- Pendrys DG, and Stamm, J. W., 1990, Relationship of Total Intake to Beneficial Effects and Enamel Fluorosis, *J Dent Res*, 68, 529-38
- Pitt, C. G, and Schindler, A., 1980; The design of controlled drud delivery system based on biodegradable polymers (in Hafez ESE, van Os WAA edit.: *Biodegradable and Delivery System for Contraception*), Boston, GK Hall Medical Pub., 27.
- Shargel, L., and Yu, A. B. C, 1985 Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan (terjemahan oleh Dr. Fasich Apt.), Edisi 2, Surabaya: Penerbit Universitas Airlangga (AUP), 454-56
- Standford, J, W., 1980, Recommended Standard Practices for Biological Evaluation of Dental Materials, *J. Int. Dent.* 30, 2, 140-47

- Szpunar, S. M., and Burt, B. A., 1990, Dental Caries, Fluorosis and Fluoride Exposure in Michigan School Children, *J. Dent. Res* 67, 5, 802-06
- Wefel, J. S., 1990, Effects Fluoride on Caries Development and Progression Using Intra-Oral Models, . *Dent. Res* 69, 626-33
- White, D. J, and Nancollas, G. H., 1990, Physical and Chemical Considerations of Role of Firmly and Loosely Bound Fluoride in Caries Prevention, *J. Dent. Res* 68, 587-94
- Widjijono, 1999, Pengaruh Polilaktat terhadap Lepas dan Homogenitas Fluor pada penggunaan Polilaktat-Phoskudent sebagai implan fluor, *Penelitian*, Yogyakarta Lembaga Penelitian UGM,
- Widjijono, 2001. Penggunaan Implan Polilaktat-natrium monofluorofosfat dengan kajian Availabilitas fluor sediaan, Biokompatilitas dan Bioavailabilitas fluor dalam darah dan gigi pada tikus putih, Disertasi. Surabaya, Program Pascasarjana Universitas Airlangga,
- Williams, R. A. D., and Elliot, J. C., 1985, *Basic and Applied Dental Biochemistry*, Churchill Livingstone, Edinburg, 115 -16

Korespondensi : Widjijono
Bagian Biomaterial Kedokteran Gigi FKG-UGM
Telepon : 0811282096