

EKSPRESI TNF- α DAN CALCINEURIN PADA ASIMTOMATIS APIKAL PERIODONTITIS AKIBAT INDUKSI *Enterococcus faecalis* (Penelitian Eksperimental Pada Tikus Wistar)

Randy Carlos Sietho*, **Mandojo Rukmo****, **Edhie Arif Prasetyo****, **Tamara Yuanita****

* PPDGS Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga

** Staf Pengajar Dep. Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga

Abstrak

Latar belakang: Kelompok bakteri gram positif merupakan penyebab utama kegagalan endodontik berupa asimtomatis apikal periodontitis. Salah satu kelompok yang paling utama dari bakteri tersebut adalah *Enterococcus faecalis* (*E.faecalis*) yang tetap masih ada meskipun telah dilakukan perawatan saluran akar. Bakteri ini memiliki *lipoteichoic acid* pada membrannya yang dapat menyebabkan induksi ekspresi stikon-sitokin di antaranya adalah *Tumor Necrosing Factor- α* (TNF- α) dan Calcineurin. **Tujuan:** Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan asimtomatis apikal periodontitis yang diinduksi *E.faecalis* menghasilkan peningkatan jumlah sel pengeksresi TNF- α dan Calcineurin pada jaringan periapikal gigi tikus wistar. **Metode:** Gigi molar pertama rahang atas kanan tikus wistar dibur sampai perforasi kemudian diinduksi BHIB 10 μ l (kelompok kontrol positif), *E. faecalis* 10⁶ CFU dalam BHIB 10 μ l (kelompok perlakuan) dan tanpa pengeburan (kelompok kontrol negatif), lalu diobservasi sampai hari ke 21 dan dilakukan penghitungan jumlah sel pengeksresi TNF- α dan Calcineurin. **Hasil:** Hasil penelitian ini menunjukkan Asimtomatis Apikal Periodontitis yang diinduksi *E.faecalis* menghasilkan peningkatan jumlah sel pengeksresi TNF- α dan Calcineurin pada jaringan periapikal gigi tikus wistar.

Kata kunci : Asimtomatis apikal periodontitis, *E.faecalis*, *Lipoteichoic acid*, TNF- α , Calcineurin

Background. Gram positive bacteria strain are the major cause of endodontic failure as asymptomatic apical periodontitis. One of the dominant group of bacteria is *Enterococcus faecalis* that still persistent in root canal system post endodontic therapy procedures. This bacteria has lipoteichoic acid on its membrane that can cause induction of cytokines expression such as *Tumor Necrosing Factor- α* (TNF- α) and Calcineurin **Purpose.** This experiment to demonstrated asymptomatic apical periodontitis that induced with *Enterococcus faecalis* produce raising amount of TNF- α and Calcineurin expression cells in pericapical tissue of wistar rat. **Method.** The upper right molar teeth of the rat was drilled until perforation then exposed by BHIB 10 μ l (control positive group), *E.faecalis* 10⁶ CFU in BHIB 10 μ l (experimental group) and without drilling (control negative group) then observed until 21th days and counting the amount of TNF- α and Calcineurin expression cells. **Conclusion.** The results show that

asymptomatic apical periodontitis that was induced E.faecalis produce increasing amount of TNF- α and Calcineurin expression cells in periapical tissue wistar rat.

Keyword :Asymptomatic apical periodontitis, *E. faecalis*, Lipoteichoic acid, TNF- α , Calcineurin

Korespondensi: Randy Carlos Sietho, c/o Departemen Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya. Email : randycarlos87@gmail.com

LATAR BELAKANG

Menurut Riskesdas yang dilakukan oleh Kemenkes tahun 2013 Penyakit pulpa dan periodontal peringkat 7 dari 10 pasien terbanyak di rumah sakit di Indonesia sehingga diperlukan suatu perawatan untuk menjaga atau mengobati masalah tersebut.¹ Salah satu tindakan untuk mengatasi masalah tersebut adalah perawatan saluran akar. Perawatan saluran akar merupakan suatu rangkaian tindakan perawatan pada pulpa yang terinfeksi dari suatu gigi dengan tujuan untuk mengeliminasi infeksi dan melindungi gigi dari dekontaminasi invasi mikroba selanjutnya,² tetapi masih memiliki kemungkinan terjadi kegagalan perawatan setelah obturasi berupa adanya infeksi persisten berupa lesi periapikal.³ Adanya infeksi persisten berupa periodontitis apikal kronis asimtomatis setelah perawatan

saluran akar merupakan salah satu penyebab kegagalan perawatan saluran akar. Infeksi persisten yang terjadi paling sering disebabkan oleh keberadaan bakteri patogen endodontik. Pada evaluasi gigi-gigi yang mengalami kegagalan setelah dilakukan perawatan saluran akar, ternyata didapatkan 80% adalah bakteri gram positif dan 58% penyebab lainnya adalah mikroorganisme fakultatif anaerob antara lain *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus* dan *Actinomyces*. *E.faecalis* merupakan bakteri yang yang paling sering ditemukan dan sebagai penyebab 85-90% infeksi *Enterococcus*. *E.faecalis* merupakan bakteri yang yang paling sering ditemukan dan sebagai penyebab 85-90% infeksi *Enterococcus*.⁴ Bakteri *E.faecalis* merupakan bakteri yang dapat bertahan hidup dalam saluran akar meskipun sudah mengalami perawatan

saluran akar sehingga dapat menyebabkan infeksi persisten berupa gejala periodontitis apikalis kronis.

Adanya iritasi komponen bakteri sebagai antigen dapat memicu respon imun pada daerah periapikal gigi. Salah satu faktor virulensi *E.faecalis* yang dapat memicu terjadinya reaksi imun adalah *lipoteichoic acid* (LTA). Saat terjadi interaksi antigen dengan sel imun maka terjadi reaksi imunologis yang sangat kompleks dengan di dalam sel, namun mekanisme yang terjadi belum sepenuhnya diungkap secara jelas.

BAHAN DAN METODE

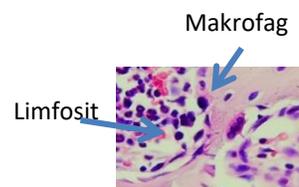
Penelitian ini menggunakan 33 (termasuk 2 ekor untuk kriteria putus uji) gigi molar pertama tikus wistar jantan usia 11 minggu dengan berat badan 130-150 gram, gigi molar sudah tumbuh sempurna dan kondisi fisik sehat.

Besar sampel untuk setiap kelompok perlakuan adalah 11 sampel, ditentukan menurut rumus Federer. Pada kelompok perlakuan, gigi dibur hingga perforasi, diberi 10^6 CFU bakteri *E.faecalis* dalam 10 μ l BHIB kemudian di tumpat dengan GIC sedangkan pada kelompok kontrol positif, gigi tikus

dibur hingga perforasi diberikan 10 μ l BHIB kemudian ditumpat dengan GIC, sementara kelompok kontrol negatif tidak dilakukan pengeburan. Semua kelompok diperiksa pada hari ke 21.⁵ Untuk melihat ekspresi TNF- α dan Calcineurin digunakan pewarna imunohistokimia anti TNF- α antibodi dan anti Calcineurin antibodi.

HASIL

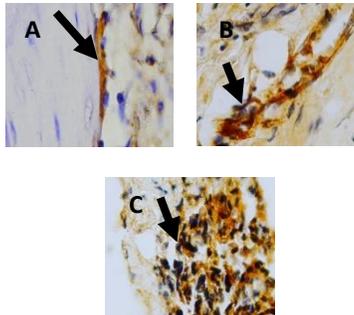
Setelah proses pembuatan sediaan dan pewarnaan selesai dilakukan, maka dilakukan pembacaan sediaan dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Didapatkan pada jaringan periapikal sudah terjadi asimtomatis apikal periodontitis (Gambar 1):



Gambar 1 Gambaran Jaringan Periapikal Gigi Molar Rahang Atas Kanan Tikus Setelah Perlakuan.

Setelah 21 hari, dilakukan pemeriksaan HPA dengan pengecatan HE untuk memastikan terjadinya asimtomatis apikal periodontitis pada jaringan periapikal gigi tikus, kemudian

dilakukan pemeriksaan sel pengeksresi TNF- α dan Calcineurin melalui teknik imunohistokimia. Gambaran imunohistokimia sel pengeksresi TNF- α dapat dilihat pada gambar 2



Gambar 2 Keterangan:Gambaran Sel Pengeksresi TNF- α dengan perbesaran 400x (A). Kelompok kontrol negatif; (B). Kelompok kontrol positif; (C). Kelompok perlakuan.

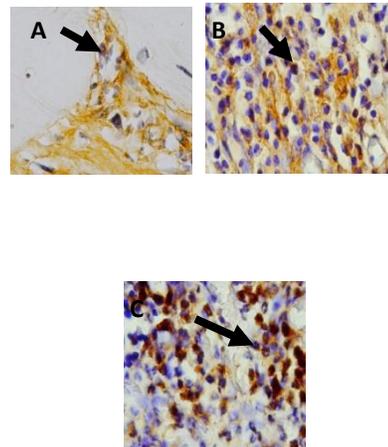
Hasil untuk menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan kelompok sel pengeksresi TNF- α , dapat dilihat di tabel 1.

Tabel 1. Tabulasi Silang Taraf Kemaknaan Perbedaan Nilai Rerata Antar Kelompok Penelitian Ekspresi TNF- α

Kelompok	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Perlakuan
Kontrol Negatif	-	0,001*	0,000*
Kontrol Positif	0,001*	-	0,000*
Perlakuan	0,000*	0,000*	-

Keterangan: Taraf Kemaknaan Bermakna ($p \leq 0,05$) Ditunjukkan Tanda *.

Gambaran imunohistokimia sel pengeksresi TNF- α dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3 Keterangan:Gambaran Sel Pengeksresi Calcineurin dengan perbesaran 400x (A). Kelompok kontrol negatif; (B). Kelompok kontrol positif; (C). Kelompok perlakuan.

Hasil untuk menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan kelompok sel pengeksresi TNF- α , dapat dilihat di tabel 2.

Tabel 2. Tabulasi Silang Taraf Kemaknaan Perbedaan Nilai Rerata Antar Kelompok Penelitian Ekspres Calcineurin

Kelompok	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Perlakuan
Kontrol Negatif	-	0,000*	0,000*
Kontrol Positif	0,000*	-	0,000*
Perlakuan	0,000*	0,000*	-

Keterangan: Taraf Kemaknaan Bermakna ($p \leq 0,05$) Ditunjukkan Tanda *.

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ekspresi TNF- α dan calcineurin pada jaringan periapikal hewan coba tikus wistar jantan, usia 11

minggu dengan berat badan 130-150 gram, gigi molar sudah tumbuh dengan sempurna dan kondisi fisik yang sehat. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus wistar jantan dengan pertimbangan mempunyai komposisi dan struktur gigi yang menyerupai mamalia dan mudah untuk dipelihara.⁶ Gigi tikus terdiri dari 2 gigi insisif dan 3 gigi molar. Gigi yang akan digunakan dalam penelitian ini merupakan gigi molar pertama rahang atas dari tikus. Pemilihan gigi molar pertama pada rahang atas tikus didasarkan atas pertimbangan bahwa struktur dan bentuk anatomi gigi tikus tersebut mirip dengan gigi molar manusia, juga kecepatan atrisi akibat mastikasi pada permukaan oklusal gigi molar tikus lebih lambat dibandingkan dengan permukaan insisal gigi insisivus tikus.⁷ Gigi molar tikus memiliki kemiripan dengan gigi molar manusia secara anatomi, histologi, biologi dan fisiologi. Selain itu perkembangan gigi molar tikus Wistar bisa dikatakan analog dengan gigi molar manusia. Gigi molar tikus Wistar memiliki struktur ruang pulpa, saluran akar, jaringan pulpa dan foramen apikal yang sama dengan gigi molar manusia sehingga dapat digunakan

pada penelitian.⁸ Dari hasil penelitian, didapatkan gambaran HPA gigi molar rahang atas tikus yang menyerupai anatomi gigi manusia. Selain itu, pemilihan gigi molar pertama rahang atas dikarenakan keterbatasan pembukaan mulut dari tikus dan instrumentasi yang digunakan pada saat penelitian.

Kavitas dari gigi tikus yang telah diperforasi nantinya akan ditumpat dengan bahan *Glass Ionomer Cement*, yang biasa disingkat dengan GIC. GIC merupakan salah satu bahan restorasi yang banyak digunakan oleh dokter gigi, terdiri dari 2 macam bahan yaitu liquid (cairan) dan bubuk.⁹ Keuntungan penggunaan GIC sebagai bahan tumpatan adalah ikatan yang baik antara semen ionomer kaca dengan email dan dentin melalui ikatan ionik sehingga preparasi kavitas dapat minimal. Tumpatan ini bertindak sebagai reservoir fluor dalam jangka waktu antara 5-8 tahun, bersifat radiopak pada pemeriksaan rontgen dan biokompatibilitas terhadap pulpa baik. GIC mempunyai beberapa tipe varian namun yang digunakan dalam penelitian ini adalah GIC Fuji II *Light Cure* (LC). GIC ini dipilih karena GIC Fuji II LC mempunyai efek toksisitas yang lebih

rendah pada pulpa gigi yang terbuka.¹⁰ Didukung oleh penelitian secara *in vivo* pada pulpa oleh Rendjova dan Gjorgoski, didapatkan bahwa sel pulpa gigi yang terpapar oleh GIC Fuji II LC tampak normal dengan hanya tampak sedikit perubahan pada permukaan sel odontoblasnya.¹¹ Hal ini jauh lebih baik dibanding dengan GIC tipe lainnya, karena tidak terjadi peradangan yang berarti. Keuntungan lain yang dirasakan dengan pemakaian GIC tipe ini adalah waktu *setting* yang lebih pendek dengan pemakaian LC, sehingga waktu kontak antara pulpa dengan udara luar dapat dikurangi. Pada penelitian ini pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan sama-sama menggunakan GIC LC sehingga kontaminasi eksternal yang dapat mempengaruhi hasil penelitian dapat dikurangi, selain itu adanya respons peradangan yang diakibatkan dari efek penggunaan GIC juga bisa diabaikan.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *E. faecalis*. Bakteri ini digunakan dalam penelitian karena merupakan penyebab utama kegagalan perawatan saluran akar dengan gejala asimtomatis apikal periodontitis.^{12,13} *E. faecalis* sebenarnya

merupakan suatu flora normal rongga mulut dan mempunyai sifat gram positif, tunggal, berpasangan atau dalam ikatan rantai pendek dan bersifat fakultatif anaerob, namun dapat masuk ke dalam saluran akar melalui karies yang dalam atau saat pengambilan tumpatan sementara antar kunjungan. Selain itu, *E. faecalis* juga dapat masuk ke dalam saluran akar saat perawatan saluran akar yang tidak aseptis dan selanjutnya dapat bersifat patogen¹⁴. Setelah perawatan saluran akar, *E. faecalis* masih persisten karena beberapa alasan antara lain: dapat berpenetrasi dan menginvasi ke dalam tubuli dentin dan kemudian diikuti oleh kolonisasi dalam saluran akar;¹⁵ dapat mengadakan ikatan pada dentin oleh karena terdapat *serine protease*, *gelatinase* dan *gelatin binding protein*; dapat beradhesi dengan baik pada dinding saluran akar karena mempunyai *ace*, yaitu suatu protein yang mampu berikatan dengan kolagen tipe 1 yang merupakan komponen utama dentin yang terdiri dari 90% organik;¹⁶ mempunyai kemampuan menembus 400 μm dalam waktu 2 minggu sedangkan kemampuan penetrasi larutan irigasi maksimal hanya sekitar 10 μm ¹⁷; bersifat alkali dan

resisten pada pH 9,0-10,0 karena mempunyai kemampuan meningkatkan ion kalsium (Ca^{2+})/*proton pump* pada struktur biofilmnya dalam lingkungan yang anaerob dan terbatas nutrisinya sehingga masih tetap dapat bertahan hidup meskipun diberikan medikamen kalsium hidroksida;¹⁸ dapat bertahan hidup pada saluran akar yang telah diobturasi selama 12 bulan kemungkinan karena kemampuan *E.faecalis* untuk membentuk biofilm pada apikal yang tahan terhadap medikamen saluran akar yang diberikan;⁴ adanya *Specific cell surface protein (Esp)* merupakan komponen penting pada pembentukan biofilm pada *E.faecalis*;¹⁹ adanya kapsul polisakarida serotipe C dan D dapat mengakibatkan tidak terdeteksinya bakteri ini oleh sistem imun host.²⁰

Keradangan periapikal yang terjadi pada penelitian ini diakibatkan oleh paparan *Lipothecoic acid (LTA)* bakteri *E. faecalis*. *Lipothecoic acid (LTA)* merupakan bagian dari dinding sel bakteri gram positif yang berfungsi sebagai perlekatan bakteri terhadap sel host.²¹ Dosis bakteri *Enterococcus faecalis* yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 10^6 CFU dalam BHIB 10 μ l.

Penentuan dosis ini berdasarkan penelitian oleh Fukada., *et al.*⁵ LTA merupakan suatu antigen yang dapat dikenali oleh permukaan sel host oleh reseptor-reseptor sel imun. Pada inflamasi asimtomatis apikal periodontitis setelah 21 hari akibat induksi *E.faecalis* terjadi respon imun adaptif yang dimediasi oleh sel T (CD4). Pada sel T terdapat reseptor yang dapat mengenali antigen, yaitu sel T reseptor. LTA dianggap sebagai suatu antigen oleh sel T sehingga mengakibatkan terjadinya suatu interaksi yang dapat menimbulkan ekspresi sitokin-sitokin.²² Interaksi ini mengakibatkan aktifnya PLC- γ dan PLC- β . Aktivasi PLC- γ akan meningkatkan IP3 yang akan berikatan dengan reseptornya yaitu IP3R pada *reticulum endoplasmic (RE)*. Ikatan antara IP3 dan IP3R pada RE akan mengakibatkan penurunan penyimpanan ion kalsium Ca^{2+} , yang akan memicu timbulnya reaksi “*store-operated*” ion kalsium Ca^{2+} melalui CRAC yang mengakibatkan ion kalsium dari ekstraseluler masuk ke dalam sel sebagai kompensasi kekurangan ion Ca^{2+} yang terjadi dalam sel. Calmodulin akan meningkat akibat ion-ion Ca^{2+} terakumulasi mengaktifkan

enzim CaMII dan CaMIV. Calmodulin akan berikatan dengan *serine/threonine fosfatase* sehingga mengaktifkan calcineurin. Calcineurin yang aktif akan mengakibatkan defosforilasi NFATC1 yang selanjutnya akan meningkatkan aktivasi NFATC.²³ Fungsi calcineurin pada jalur ini dengan melakukan defosforilasi secara langsung pada subunit NFATC1 sehingga terjadi translokasi nukleus. Calcineurin berikatan secara langsung pada bagian N terminus. Calcineurin mendefosforilasi serine pada daerah yang kaya serine pada NFATC1. Saat terjadi defosforilasi, terjadi residu pada nukleus yang masih belum jelas mekanismenya. Hal ini kemungkinan terjadi untuk membentuk jembatan garam (*salt bridges*) antara sekuens lokalisasi nukleus dan *acidic phosphorines* NFATC1. Saat terjadi defosforilasi oleh calcineurin, NFATC1 bergerak ke dalam nukleus yang selanjutnya akan tetap bertahan karena peningkatan kadar Ca^{2+} intraselular dan aktivitas calcineurin yang berkelanjutan. Aktivitas calcineurin yang persisten dibutuhkan karena protein NFAT secara cepat dikirim menuju nukleus. Aktivitas persisten dari calcineurin penting untuk

menjaga kadar NFAT dalam nukleus juga didukung oleh adanya CRAC yang diketahui menyebabkan level yang tinggi dari Ca^{2+} secara berkala dan bertahap (*sustained*).²⁴

NFATC1 yang bertranslokasi menuju ke inti sel, mengaktifkan aktivitas transkripsi NFATN1. NFATN1 yang berhubungan dengan TNF- α promoter memberikan respon terhadap stimulus dan secara sinergis yang diaktivasi oleh aktivitas *protein promoter* ATF2/Fos dan c-Jun. Transkripsi yang dimediasi oleh calcineurin-NFATN1 memerlukan jalur MAPK. Jalur MAPK ini sebelumnya telah teraktivasi oleh adanya peningkatan PTK oleh karena aktifnya PLC- β . TNF- α secara selektif diregulasi oleh NFAT dan ATF2/Fos dan c-Jun bZIP heterodimer pada sel T. Pada sel T, ATF2/Fos dan c-Jun berikatan pada *cyclic AMP* sebagai respon dari *TNF- α gene promoter* dan bekerjasama secara sinergi dengan NFATC1 termasuk elemen $\kappa 3$ di sekitarnya untuk meregulasi aktivitas transkripsi. MAPK bersinergi untuk mengaktifasi bZIP yang menghasilkan aktivasi *protein promoter* ATF2/Fos dan c-Jun, yang bekerjasama dengan NFATN1 untuk meregulasi aktivitas

protein promoter sehingga terjadi peningkatan ekspresi TNF- α .²⁵

Reactive oxygen species (ROS) akibat LTA juga dianggap sebagai molekul yang dapat memberikan sinyal akibat respons dari stimulus proinflamatori. ROS terdiri dari *superoxide anion*, *hydrogen peroxide*, *hydroxyl radical* yang dianggap sebagai molekul yang dapat menstimulus pengeluaran sinyal sitokin.²⁶

LTA dari bakteri *E.faecalis* juga dapat mengakibatkan aktivasi dan transkripsi faktor NF- κ B melalui TLR-2. Sel tubuh memiliki PRR, yaitu suatu reseptor untuk mengenali pathogen. PRR yang terdapat pada sel odontoblast pulpa adalah berupa TLR-2.²⁷ PRR adalah reseptor berupa protein yang ada pada sel imunitas alami, didesain untuk mengenali struktur molekuler khusus yang dipunyai oleh mikroba yang disebut PAMP. PAMP diantaranya adalah LTA dari bakteri gram positif.²⁸ Terjadinya ikatan antara TLR2 dengan PAMP menghasilkan suatu *signaling* untuk aktivasi dari respons imun natural melalui aktivasi dan transkripsi NF- κ B yang merupakan *regulator* utama dari respons inflamasi. NF- κ B memiliki peran

yang beragam dalam inflamasi. Beberapa gen proinflamasi diatur oleh NF- κ B antara lain NOS₂, TNF- α , IL-1, COX-2. Transkripsi faktor NF- κ B akan diikuti pelepasan sitokin-sitokin proinflamasi.²⁹

Peningkatan jumlah sel yang mengekspresikan TNF- α dan calcineurin tidak hanya terjadi pada kelompok perlakuan yang *E.faecalis*, tetapi juga pada kelompok kontrol positif yang tidak dilakukan induksi bakteri namun hanya dilakukan perforasi. Hal ini disebabkan karena aktifnya molekul tubuh yang dikeluarkan dari jaringan yang rusak, yaitu *damage-associated molecular pattern* (DAMP) salah satunya yaitu *heat shock protein* (HSP70).³⁰ Pada keadaan normal HSP70 ada dalam konsentrasi yang kecil, dengan adanya rangsangan lingkungan (radiasi ultraviolet, panas, logam berat, dan asam amino), rangsangan patologis (virus, bakteri, infeksi parasit atau demam, peradangan, keganasan) atau rangsangan fisiologis (*growth factor*, diferensiasi sel, stimulasi hormon, atau perkembangan jaringan) mempengaruhi peningkatan sintesis HSP70.³¹ Pada kelompok kontrol positif, tindakan perforasi gigi

merupakan salah satu rangsangan pembentukan HSP70.

Pada kelompok kontrol negatif, masih terdapat ekspresi TNF- α dan calcineurin meskipun dalam jumlah yang relatif sedikit. Hal ini disebabkan karena TNF- α dan calcineurin merupakan sitokin yang bersifat konstitutif. Berdasarkan mekanisme pengeluarannya, sitokin dibagi menjadi dua jenis yaitu sitokin konstitutif (*constitutive cytokines*) dan sitokin inducibel (*inducible cytokines*). Sitokin konstitutif merupakan sitokin yang tetap dikeluarkan dalam jumlah yang relatif sedikit dalam keadaan normal (fisiologis), tetapi akan meningkat jika terjadi jejas berupa kerusakan sel akibat bakteri, inflamasi dan lain sebagainya. Hal inilah yang mengakibatkan terdapat ekspresi TNF- α dan calcineurin. Sedangkan sitokin inducibel merupakan sitokin yang dalam keadaan normal tidak dikeluarkan sama sekali oleh sel, tetapi akan meningkat jika terjadi jejas pada sel tersebut.³²

Diagnostic marker atau *biomarker* merupakan parameter atau indikator biologi yang dapat digunakan untuk mengetahui tingkat keparahan atau menegakkan diagnosis suatu penyakit

tertentu. Secara spesifik, biomarker mengindikasikan perubahan ekspresi atau tingkatan protein spesifik yang berkorelasi dengan resiko atau progresif suatu penyakit tertentu. *Biomarker* dapat dikatakan sebagai protein atau molekul spesifik yang memiliki karakteristik dapat dideteksi dan diukur di dalam tubuh, misalnya: darah atau jaringan. Terdapat beberapa *biomarker* yang telah diidentifikasi untuk penyakit tertentu seperti serum *Low Density Lipoprotein* (LDL) untuk kolesterol serta tekanan darah, gen p53 dan Matrix Metalloproteinase (MMP) sebagai tumor *marker* untuk penyakit kanker.³³ Adanya ekspresi-ekspresi sitokin dalam penelitian ini merupakan suatu protein spesifik yang timbul karena adanya asimtomatis apikal periodontitis.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan: asimtomatis apikal periodontitis yang diinduksi *E.faecalis* menghasilkan peningkatan jumlah sel pengkespresi TNF- α dan calcineurin pada jaringan periapikal gigi tikus wistar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Arif, AM. 2013. Identifikasi Bakteri Anaerob Pada Saluran Akar Gigi Dengan Periodontitis Apikalis Kronis. Universitas Hassanudin: Makasar. Hal: 13-14
2. Cohen, Stephen .2006. *Pathways of the Pulp*. Mosby
3. Rotstein I dan Salehrabi R. 2004. *Endodontic Treatment Outcomes in A Large Patient Population in The USA: An Epidemiological Study*. Journal of Endodontics 12 (30): 846-850.
4. Sedgley C, Buck G dan Appelbe O. 2006. *Prevalence of Enterococcus faecalis at Multiple Oral Sites in Endodontic Patients Using Culture and PCR*. Journal Of Endodontic 32(3):104-109.
5. Fukada SY, Silva TA, Saconato LF, Garlet GP, Campos MJA, Silva JS dan Cunha FQ. 2009. *iNOS-Derived Nitric Oxide Modulates Infection-Stimulated Bone Loss*. JDR 87(12):1155-1160.
6. Crossley D. 2005. Clinical Aspect of Rodent Dental Anatomy. Journal of Veterinary Dentistry, 12: 131-135
7. Dammasckhe T, Stratmann U, Wolff P, Sagheri D dan Schafer E. 2010. *Direct Pulp Capping with Mineral Trioxide Aggregate: An Immunohistologic Comparison with Calcium Hydroxide in Rodents*. Journal of Endodontics 36(5):814-819.
8. Sabir, A. 2005. *Respons Inflamasi Pada Pulpa Gigi Tikus Setelah Aplikasi Ekstrak Etanol Propolis (EEP)*. Majalah Kedokteran Gigi. (Dent.J.) 38 (2):77-83
9. Hatric, Eakle dan Bird. 2003. *Dental Materials, Clinical Application For Dental Assistants and Dental Hygienist*. WB Saunders. Philadelphia. Pp: 33-34
10. Tatjana, K dan Matija, M. 2011. *Fluoride Release from Glass Ionomer Cements Correlates with the Necrotic Death of Human Dental Pulp Stem Cells*. Serbia Journal of Experimental and Clinical Research, 12: 67-70
11. Rendjova, V dan Gjorgoski. 2012. *In Vivo Study of Pulp Reaction to Glass Ionomer Cements and Dentin Adhesives*. Journal of Contributions, Sec. Biol. Med. Science : 265-277
12. Kayaoglu G dan Orstavik D. 2005. *Virulence Factors of Enterococcus faecalis: Relationship to Endodontic Disease*. Critical Review Oral Biology Medicine 15(5): 308-320
13. Kowalski WJ, Kasper EL dan Halton JF. 2006. *Enterococcus faecalis, Adhesin Ace, Mediates Attachment to Particulate Dentin*. Journal of Endodontic. 32(7): 634-637.
14. Gomes V, Filho G, Gomes B, Ferraz C, Zaia A dan Filho S. 2005. *Recovery of Enterococcus faecalis After Single or Multiple Visit Root Canal Treatments Carried Out in Infected Teeth In Vivo*. International Endodontic Journal 38(10) :348-453
15. Rocas IN, Sequira JF dan Santos KR. 2004. *Association of Enterococcus faecalis with Different Forms of Periradicular Diseases*. Journal of Endodontics. May;30(5):315-320.
16. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ dan Owatz CB. 2006. *Enterococcus faecalis: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment*. Journal of Endodontics 32:93-98.
17. Zmener O, Saber SEM, Soha AEH. 2007. *Development of an intracanal mature Enterococcus faecalis biofilm and its susceptibility to some antimicrobial intracanal medications; an in vitro study*. Eur J Dent. 2007. Jan; 6(1): 43-50.
18. George S, Kishen A dan Strong KP. 2005. *The Role of Environmental Changes On Monospecies Biofilm Formation In Root Canal Wall By Enterococcus faecalis*. Journal Of Endodontic 31(12):867-872.
19. Kristich JC, Li YH, Cvitkovitch DG dan Dunny GM. 2004. *Esp-Independent Biofilm Formation by*

- Enterococcus faecalis*. Journal Of Bacteriology 186(1): 154–163.
20. Thurlow LR, Chittezhm T, Fleming S, dan Hancock L. 2009. *Enterococcus faecalis Capsular Polysaccharide Serotypes C and D and Their Contributions to Host Innate Immune Evasion*. Journal Infection and Immunity 77(12):5551-5557.
 21. Baik JE, Han JY, dan Kum KY. 2008. *Lipoteichoic Acid Partially Contributes To The Inflammatory Responses to Enterococcus faecalis*. Journal of Endodontic 34(8):975-982.
 22. Pasare C dan Medzhifro R. 2004. *Toll Like Receptors : Linking Innate and Adaptive Immunity*. Journal of Microbes Infection 6:1382-1387.
 23. Hogan P, Chen L, Nardone J dan Rao A. 2003. *Transcriptional Regulation by Calcium, Calcineurin, and NFAT (Review)*. Journal Genes and Development 17:2205–2232.
 24. Crabtree, G. 2001. *Calcium, Calcineurin and the Control of Transcription*. Journal of Biological Chemistry 276 (4): 2313-2316.
 25. Lawrence MC, Naziruddin B, Levy MF, Jackson A dan McGlynn K. 2010. *Calcineurin/NFAT and MAP Kinase Signaling Induce TNF- α Gene Expression in Pancreatic Islet Endocrine Cells*. JBC Papers in Press. Published on November 8, 2010.
 26. Forman HJ, Torres M, Fukuto J. 2002. *Redox Signaling*. Mol Cell Biochem:49–62
 27. Durand, SH, Flacher V, Romeas A, Carrouel F, Colomb E, Vincent C, Magloire H, Couble M, Bleicher F, Staquet M, Lebecque S dan Farges J. 2006. *Lipoteichoic Acid Increases TLR and Functional Chemokine Expression while Reducing Dentin Formation in In Vitro Differentiated Human Odontoblasts*. The Journal of Immunology 176 : 54-60
 28. Ma'at, S 2009, *Toll-Like receptor (TLR)*, Airlangga University Press, Surabaya.
 29. Greene CM, McElvaney NG, O'Neil SJ dan Taggart CC. 2004. *Secretory Leucoprotease Inhibitor Impairs Toll-Like Receptor 2- and 4-Mediated Responses in Monocytic Cells*. Infection and Immunity Journals 72(6):3684-3687.
 30. Luong M., Zhang Y., Chamberlain T., Zhou T., Wright JF., Dower K, Hall JP. 2012. *Stimulation of TLR4 by Recombinant HSP70 Requires Structural Integrity of The HSP70 Protein Itself*. Journal of inflammation 9:11.
 31. Asea A, Rehli M, Kabingu E, Boch JA, Bare O, Auron PE, Stevenson MA dan Calderwood SK. 2002. *Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: role of toll-like receptor (TLR)2 dan TLR4*. Journal Biology Chemistry, 227:15028-15034.
 32. Mahony DS, Pham U, Iyer R, Hawn TR dan Liles C. 2008. *Differential Constitutive and Cytokine-Modulated Expression of Human Toll-like Receptors in Primary Neutrophils, Monocytes, and Macrophages*. International Journal Medical 5(1):1-8
 33. Loukopoulos P, Mungall BA, Straw RC, Thornton JR, Robinson WF. 2003. *Matrix Metalloproteinase -2 and -9 Involvement in Canine Tumors*". Journal Vetenitary Pathology. 40 (4): 382–294