

EKSPRESI TGF- β DAN MMP-1 PADA PERIODONTITIS APIKALIS KRONIS AKIBAT INDUKSI BAKTERI *ENTEROCOCCUS FAECALIS* TIKUS WISTAR (Penelitian Eksperimental Laboratoris)

(TGF- β AND MMP-1 EXPRESSION IN CHRONIC APICAL PERIODONTITIS DUE TO ENTEROCOCCUS FAECALIS INDUCTION ON WISTAR RATS)

Tamara Yuanita¹, Hadriany Hotmaria², Ruslan Effendy¹, Ketut Suardita¹,
¹ Staf Pengajar Departemen Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia
² Mahasiswa Spesialis Departemen Konservasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

ABSTRACT

Background. The main etiology of endodontic treatment failure is caused by bacteria that stay in the root canal. *E.faecalis* is a bacterium that is found as an etiology of endodontic treatment failure. Cell wall of this bacterium contains Lipoteichoic acid (LTA). LTA can penetrate into the periradicular tissue, act as endotoxin in host and cause periradicular inflammation and destruction. It occurs due to the capability of TGF- β to enhance the proliferation of collagen and MMP-1 to stop the collagen formation. The ability of enterococcus faecalis in enhancing inflammation process cause host can not reach the homeostasis phase and performing an even bigger tissue damage. **Purpose.** The aim of this study is to know about the expression of TGF- β and MMP-1 during the periapical tissue damage due to induction of *E.faecalis*. **Method.** This study used laboratory experimental with the post test only control group design. A total of 27 male rats were randomly divided into 3 main groups. Group A (negative control) : every tooth was not induced by anything. Group B (positive control): every tooth was induced only by sterile BHIb and closed by GIC Fuji II as the final restoration. Group C (: every tooth was induced by 10 μ l BHI-b *E.faecalis* ATCC212(10⁶ CFU), and closed by GIC Fuji II as the final restoration. The animals were sacrificed after 21 days and prepared for histological examination of tissue damage, then we did the immunohistochemistry followed by calculation on the light microscope. **Result.** The analysis revealed that the expression of MMP-1 increased significantly in group C when *E.faecalis* was induced. When expression of TGF- β decreased significantly in group C rather than group B. **Conclusion.** From this study we know that the expression of TGF- β and MMP-1 are make opposite pathway due to chronic apical periodontitis that induced by *E.faecalis*.

Keywords : TGF- β , MMP-1, *E.faecalis*, chronic apical periodontitis

ABSTRAK

Latar belakang. Penyebab utama kegagalan perawatan saluran akar oleh karena adanya bakteri yang menetap dalam saluran akar. *E faecalis* adalah bakteri bakteri yang ditemukan dalam saluran akar sebagai penyebab kegagalan perawatan saluran akar. Dinding sel bakteri ini terdiri dari Lipoteichoic acid (LTA). LTA ini dapat berpenetrasi ke dalam jaringan periradikular sebagai endotoxin bagi host dan menyebabkan inflamasi serta kerusakan periradikular. Hal ini menyebabkan kemampuan TGF- β untuk memproliferasi kolagen meningkat serta kemampuan MMP-1 untuk menghentikan pembentukan kolagen. Bakteri *E faecalis* meningkatkan proses inflamasi yang menyebabkan host tidak dapat mencapai fase homeostasi dan pembentukan bahkan semakin banyak jaringan yang rusak. **Tujuan.** Tujuan dari studi ini adalah untuk mengetahui tentang ekspresi TGF- β dan MMP-1 selama proses kerusakan jaringan periapikal oleh karena induksi *E.faecalis*. **Metoda.** Studi ini menggunakan eksperimen laboratorium *post only control group design*. Sebanyak 27 tikus Wistar jantan yang secara acak dipilih menjadi 3 kelompok. Kelompok kontrol negatif : setiap gigi tikus tidak mendapatkan perlakuan. Kelompok kontrol positif : setiap gigi tikus dibur sampai perforasi dan diinduksi dengan pelarut BHI-b kemudian ditutup GIC. Kelompok perlakuan : setiap gigi tikus dibur sampai perforasi dan diinduksi 10 μ l BHI-b *E.faecalis* ATCC212(10⁶ CFU) kemudian ditutup GIC. Setelah 21 hari tikus dikorbankan

untuk pembuatan sediaan penelitian histologi kerusakan jaringan. Kemudian dilakukan imunohistologi kimia yang selanjutnya dilakukan perhitungan dengan mikroskop cahaya. **Hasil.** Analisa penelitian ini menyatakan bahwa ekspresi MMP-1 meningkat signifikan pada kelompok perlakuan dan ekspresi TGF- β mengalami penurunan pada kelompok perlakuan dibanding dengan kelompok kontrol positif. **Kesimpulan.** Dari studi ini kita dapat mengetahui bahwa ekspresi TGF- β dan MMP-1 mempunyai jalur yang berlawanan pada infeksi periodontitis apikalis kronis oleh karena induksi bakteri *E. faecalis*.

Kata kunci: TGF- β , MMP-1, *E. faecalis*, Periodontitis apikalis kronis.

Korespondensi (*correspondence*): Tamara Yuanita, Dosen di dEaprtemen Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jl. Prof. Moestopo 48, Surabaya. E-mail: tamara-y@fkg.unair.ac.id.

PENDAHULUAN

Dalam bidang kedokteran gigi, perawatan endodontik memegang peranan penting untuk menanggulangi jumlah penyakit pulpa dan penyakit periapikal yang semakin meningkat. Periodontitis apikalis merupakan lanjutan dari infeksi saluran akar, berasal dari infeksi saluran akar yang terus berlanjut sehingga mencapai daerah periapikal, merupakan kemampuan respon pertahanan tubuh terhadap mikroba yang berasal dari saluran akar¹.

Penelitian menunjukkan bahwa dari 100 pengisian saluran akar yang gagal disertai periodontitis apikalis, terdapat bakteri fakultatif sebanyak 69% dan 50% di antaranya merupakan *enterococcus*.² *Enterococcus faecalis* teridentifikasi sebagai spesies yang mampu bertahan hidup saat perawatan saluran akar dan menjadi persisten sebagai pathogen pada tubuli dentin karena mempunyai spectrum yang luas pada polimorfism genetik serta dapat mengadakan ikatan pada dentin karena memiliki sirine protease, galatinase dan kolagen binding protein.³

Sejauh ini mekanisme imunopatologi pada periodontitis apikalis kronis akibat infeksi bakteri *E. faecalis* masih terus diteliti. Jumlah dan interaksi dari berbagai macam molekul peradangan dan anti-keradangan bisa mempengaruhi status dan progresi dari periodontitis apikalis, sehingga respon peradangan periapikal dapat dijadikan contoh untuk banyak aspek patogenesis, biokompatibilitas material terhadap

jaringan periapikal, dan pengembangan metode pengobatan, berdasarkan cara kerja sitokin.

Ada dugaan bahwa progres dari suatu penyakit tergantung dari beberapa faktor termasuk kehadiran bakteri, level sitokin proinflamatori yang tinggi, matrix metalloproteinase (MMPs), prostaglandin E2 (PGE-2), level Interleukin-10 (IL-10) yang rendah, transforming growth factor beta (TGF-beta) dan *tissue inhibitors of metalloproteinase* (TIMPs). Hal ini menjelaskan bahwa keseimbangan sitokin menentukan kerusakan suatu jaringan atau homeostasisnya.⁴

Pada penelitian ini membahas molekul peradangan dan anti peradangan yaitu matrix metalloproteinase -1 (MMP-1) dan TGF- β yang muncul sebagai respon dari host pada infeksi periodontitis apikalis kronis akibat induksi bakteri *E. faecalis*. TGF-beta berperan sangat penting dalam melawan efek merugikan akibat respon inflamasi host. TGF-beta disintesis oleh berbagai sel normal dan platelet serta berpengaruh terhadap aktivasi makrofag, proliferasi fibroblast, sintesis serat jaringan ikat dan matriksnya, lokal angiogenesis, penyembuhan juga regulasi limfosit T.

MMPs dalam hal ini berperan dalam kerusakan ligament periodontal diawali dengan adanya degradasi oleh matriks ekstraseluler. Enzim ekstraseluler yang berperan yakni MMPs dan serine protease (neutrophil dan katepsin G).¹ MMP-1 memiliki kemampuan mendegradasi *extra cellular matrix*

(ECM) non-mineralisasi dan menstimulasi osteoklastogenesis dengan membuat fragmen-fragmen kolagen. Telah diketahui bahwa peradangan pada jaringan periodontal akan menyebabkan suatu lesi periradikuler yang nantinya akan menyebabkan resorpsi tulang. Sampai sejauh ini mekanisme immunopatologi resorpsi tulang periapikal gigi pada periodontitis apikalis kronis akibat infeksi bakteri *E. faecalis* masih belum terungkap secara jelas. Oleh karena itu penelitian ekspresi TGF- β dan MMP-1 pada periodontitis apikalis kronis akibat induksi *E. faecalis* ini perlu dilakukan sehingga dapat memberikan informasi yang dapat melengkapi mekanisme immunopatologi resorpsi tulang pada periodontitis apikalis kronis.

MATERI DAN METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium. Sampel penelitian menggunakan tikus jantan yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dewasa, jantan, umur 11 minggu, berat badan antara 130 - 150 gram, dengan alasan perubahan berat badan selama penelitian relatif kecil, gigi molar sudah tumbuh sempurna, kondisi fisik sehat. Besar sampel yang digunakan tiap-tiap kelompok adalah sebanyak 9 ekor tikus Wistar sehingga total sampel yang digunakan sebesar 27 ekor tikus Wistar.

Tindakan awal yaitu tikus difiksasi pada papan retraksi rahang dan semua alat sudah disterilkan, kemudian dilakukan tindakan perforasi atap pulpa molar atas dengan menggunakan mata bur no ¼. Tikus yang telah memenuhi persyaratan dilakukan anestesi via intra peritoneal dengan injeksi ketamin 80 mg/kg dan xylazine 10 mg/kg berat badan. Setelah itu penutupan kavitas menggunakan resin GIC pasca penetrasi *E. faecalis* ATCC212 sebanyak 10^6 CFU.

Ada tiga kelompok penelitian yaitu Dua kelompok kontrol (kontrol negatif dan kontrol pelarut) dan 1 kelompok perlakuan *E. faecalis* dengan dosis *E. faecalis* 10^6 CFU.⁶ Pada

terdegradasi pada permukaan tulang. MMP-1 diekspresikan oleh sel yang diduga makrofag.⁵

kelompok kontrol negatif gigi tikus tidak diberi perlakuan apapun, kelompok kontrol positif (pelarut) gigi tikus dibur sampai perforasi kemudian diinduksi pelarut bakteri yaitu BHI-b sebanyak 10 μ l kemudian ditumpat GIC, sedangkan pada kelompok perlakuan, gigi tikus dibur sampai perforasi kemudian diinduksi *E. faecalis* menggunakan dosis 10^6 CFU dalam BHI-b 10 μ l dengan mikropipet kemudian ditumpat GIC. Setelah 21 hari tiap – tiap kelompok tersebut diamati.

Tahap selanjutnya yaitu pemotongan jaringan dengan langkah-langkah sebagai berikut, euthanasia pada tikus dilakukan dengan dislokasi servikal, lalu tikus difiksasi pada meja kerja lalu dilakukan dekaputasi serta pemisahan cranium dengan mandibula. Masing-masing potongan rahang difiksasi pada 10% buffer formalin netral selama 24 jam dan didekalsifikasikan pada EDTA 4% selama 30 hari kemudian dilakukan pembuatan sediaan blok parafin. Kemudian dilakukan pembuatan sediaan HPA (preparat) sehingga dapat dilihat adanya kerusakan tulang periapikal.

Setelah dipastikan telah terjadi kerusakan maka selanjutnya dilakukan pengecatan imunohistokimia menggunakan antibodi monoklonal anti rat TGF- β dan MMP-1 agar dapat dilihat dengan perbesaran 1000x pada 20 lapang pandang dalam mikroskop cahaya untuk selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah sel limfosit yang mengekspresikan TGF- β dan MMP-1 di periapikal. Untuk kebutuhan inferensial, maka data yang diperoleh dari hasil penelitian ini dianalisa dengan uji statistik, yaitu: Uji normalitas untuk melihat apakah data mempunyai distribusi yang normal dilakukan dengan uji Kolmogorov-Smirnov Test, Uji homogenitas untuk melihat homogenitas variant berdasarkan populasi berat badannya dengan uji Levene Test, dan Uji ANOVA satu arah untuk mengetahui apakah ada perbedaan pada seluruh kelompok, kemudian

dilakukan Uji Tukey HSD untuk mengetahui apakah antar kelompok ada perbedaan yang bermakna. Data

HASIL PENELITIAN

Hasil gambaran secara histopatologis pada semua kelompok penelitian tampak sel-sel limfosit yang mengekspresikan TGF-β dan MMP-1 pada daerah periapikal. Data hasil perhitungan ekspresi TGF-β dan MMP-1 diperoleh dari pengamatan terhadap jumlah sel limfosit pada daerah periapikal yang memberikan reaksi positif terhadap antibodi monoklonal anti TGF-β dan anti MMP-1 dengan metode imunohistokimia yang ditandai dengan warna coklat pada sitoplasmanya pada keseluruhan kelompok (kontrol dan perlakuan) dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Rerata dan Standar Deviasi Ekspresi TGF-β

Kelompok	N	\bar{X}	SD
Kontrol Negatif	9	7,22	1,302
Kontrol Positif	9	14,00	2,000
Perlakuan	9	9,89	1,537

Tabel 2. Rerata dan Standar Deviasi Ekspresi MMP-1

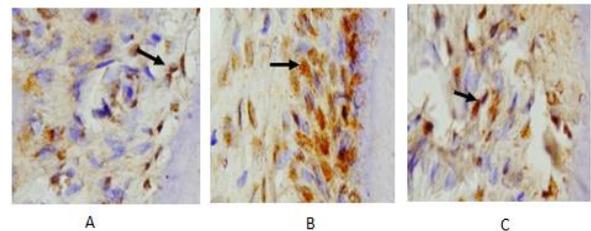
Kelompok	N	\bar{X}	SD
Kontrol Negatif	9	4,56	1,810
Kontrol Positif	9	9,56	1,424
Perlakuan	9	18,00	2,000

Berdasarkan tabel di atas didapatkan bahwa Rerata dan Standar Deviasi pada kelompok perlakuan ekspresi TGF-β lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, sedangkan pada kelompok perlakuan ekspresi MMP-1 didapatkan Rerata dan Standar Deviasi pada

dikatakan tidak ada beda bila $p > 0,05$ dan ada beda bila $p < 0,05$.

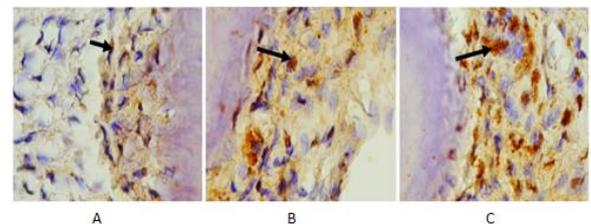
kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol positif.

Gambaran perbedaan jumlah ekspresi TGF-β dan MMP-1 ini dapat dilihat pada preparat Imunohistokimia di bawah ini. (Gb.1 dan Gb.2)



Gambar 1. Gambaran Ekspresi TGF-β (warna coklat) pada Preparat Imunohistokimia
Keterangan: (A) Kontrol negatif, (B) Kontrol positif, (C) Perlakuan Perbesaran 400x

Pada gambar diatas terlihat bahwa pada kelompok kontrol negatif menunjukkan ada ekspresi TGF-β dalam jumlah yang sedikit, dan pada kelompok kontrol positif tampak ekspresi mengalami peningkatan, tetapi pada kelompok perlakuan mengalami penurunan.



Gambar 2. Gambaran Ekspresi MMP-1 (Warna Coklat) pada Preparat Imunohistokimia
Keterangan: A. Kontrol negatif ; B. Kontrol positif; C. Perlakuan (Perbesaran 400x)

Analisa Data dan Hasil Penelitian

A. Analisa data Ekspresi TGF-β

A.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

Untuk mengetahui apakah populasi data tiap kelompok sampel berdistribusi normal maka dilakukan uji normalitas Kolmogorov Smirnov dengan hasil $p = 0,753$ ($p > 0,05$) maka seluruh kelompok ekspresi TGF-β berdistribusi

normal, kemudian untuk mengetahui data kelompok ini homogen atau tidak, dilakukan uji homogenitas Levene Test dengan hasil $p = 0,557$ ($p > 0,05$) maka data pada kelompok ini homogen.

A.2 Uji ANOVA

Untuk mengetahui perbedaan pada seluruh kelompok dilakukan uji ANOVA satu arah dan didapatkan seluruh kelompok ekspresi TGF- β menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Hal ini dapat dikatakan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada kelompok kontrol negative, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan induksi *E Faecalis*. Kemudian untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar kelompok, maka dilakukan uji Tukey HSD.

A.3 Uji Tukey HSD

Uji perbedaan antar kelompok dengan Uji Tukey HSD melalui tabulasi silang dapat dilihat pada tabel. 3

Tabel 3. Tabulasi silang uji Tukey HSD perbedaan antar kelompok penelitian ekspresi TGF- β

Kelompok	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Perlakuan
Kontrol Negatif	-	0,000*	0,006*
Kontrol positif	0,000*	-	0,000*
Perlakuan	0,006*	0,000*	-

Keterangan: * ada perbedaan yang bermakna

Hasil uji beda antar kelompok menggunakan Tukey HSD melalui tabulasi silang sebagai berikut:

1. Ada perbedaan bermakna peningkatan jumlah ekspresi TGF- β antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif dengan $p = 0,000$ ($p \leq 0,05$)
2. Ada perbedaan bermakna peningkatan jumlah ekspresi TGF- β antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dengan $p = 0,006$ ($p \leq 0,05$)
3. Ada perbedaan bermakna peningkatan jumlah ekspresi TGF- β kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan dengan $p = 0,000$ ($p \leq 0,05$).

B. Analisa data Ekspresi TGF- β

B.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

Untuk mengetahui apakah populasi data tiap kelompok sampel berdistribusi normal maka dilakukan uji normalitas Kolmogorov Smirnov dengan hasil $p = 0,728$ ($p > 0,05$) maka seluruh kelompok ekspresi MMP-1 berdistribusi normal, kemudian untuk mengetahui data kelompok ini homogen atau tidak, dilakukan uji homogenitas Levene Test dengan hasil $p = 0,592$ ($p > 0,05$) maka data pada kelompok ini homogen.

B.2 Uji ANOVA

Untuk mengetahui perbedaan pada seluruh kelompok dilakukan uji ANOVA satu arah dan didapatkan seluruh kelompok ekspresi MMP-1 menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Hal ini dapat dikatakan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada kelompok kontrol negative, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan induksi *E Faecalis*. Kemudian untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar kelompok, maka dilakukan uji Tukey HSD.

B.3 Uji Tukey HSD

Uji perbedaan antar kelompok dengan Uji Tukey HSD melalui tabulasi silang dapat dilihat pada tabel 4 .

Tabel 4. Tabulasi silang uji Tukey HSD perbedaan antar kelompok penelitian ekspresi MMP-1

Kelompok	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Perlakuan

Kontrol Negatif	-	0,000*	0,000*
Kontrol Positif	0,000*	-	0,000*
Perlakuan	0,00*	0,000*	-

Keterangan: * ada perbedaan yang bermakna

Hasil uji beda antar kelompok menggunakan Tukey HSD melalui tabulasi silang sebagai berikut:

1. Ada perbedaan bermakna peningkatan jumlah ekspresi MMP-1 antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif dengan $p = 0,000$ ($p \leq 0,05$)
2. Ada perbedaan bermakna peningkatan jumlah ekspresi MMP-1 antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dengan $p = 0,000$ ($p \leq 0,05$)
3. Ada perbedaan bermakna peningkatan jumlah ekspresi MMP-1 kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan dengan $p = 0,000$ ($p \leq 0,05$)

DISKUSI

Infeksi pulpa dapat menyebabkan perkembangan inflamasi yang seringkali diikuti oleh nekrosis jaringan pulpa, yang dapat menyebabkan infeksi kronis, penyebaran inflamasi ke apikal gigi, dan pembentukan lesi yang disertai resorpsi tulang periapikal.⁷ Kerusakan periapikal memegang peranan terhadap kegagalan perawatan saluran akar gigi. Kegagalan perawatan saluran akar ditandai dengan berlanjutnya resorpsi jaringan periapikal. Resorpsi yang berlebihan akan mengganggu keseimbangan proses remodeling tulang. Namun mekanisme kerusakan periapikal gigi masih menjadi perdebatan sampai sekarang.⁸

Pada sebagian besar bentuk inflamasi akut (simptomatik), polimorphonuclear (PMN) akan mendominasi infiltrat inflamasi selama 6 sampai 24 jam

pertama, kemudian digantikan oleh makrofag sebagai sel yang dominan dalam inflamasi kronis dalam 24 sampai 48 jam. Hal ini berkaitan dengan usia PMN/ makrofag yang singkat setelah masuk jaringan, sel-sel ini mengalami apoptosis dan lenyap setelah 24-48 jam, sedangkan limfosit bertahan lebih lama. Limfosit merupakan respon imun adaptif dalam pembentukan sitokin proinflamatory. Sitokin yang dihasilkan oleh limfosit pada proses kerusakan tulang diantaranya adalah interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) dan tumor nekrosis factor (TNF). Oleh karena itu pola inflamasi periapikal dapat diamati melalui keberadaan limfosit setelah 21 hari gigi tikus Wistar jantan diperforasi.⁹ Penelitian lain yang juga melibatkan induksi bakteri *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. viscosus*, dan *F. nucleatum* pada gigi tikus setelah 21 hari sehingga mengakibatkan terbentuknya lesi kronik periapikal.⁶

Gigi yang digunakan dalam penelitian ini adalah gigi molar pertama kanan rahang atas tikus dengan pertimbangan gigi molar tikus memiliki kemiripan dengan gigi molar manusia secara anatomi, histologi, biologi dan fisiologi, serta kecepatan atrisi akibat mastikasi pada permukaan oklusal gigi molar tikus lebih lambat dibandingkan dengan permukaan insisal gigi insisivus tikus.¹⁰ 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.¹¹ Selain itu, pemilihan gigi molar pertama kanan rahang atas dapat memudahkan proses pemberian perlakuan setelah hewan coba difiksasi. Jenis kelamin tikus haruslah jantan untuk menghindari pengaruh dari faktor hormonal dalam penelitian, dan usia 12 minggu adalah usia dimana tikus termasuk dalam tahapan dewasa dan sistem imunnya telah matang.

Keradangan periapikal yang terjadi pada penelitian ini diakibatkan oleh paparan *Lipotheroic acid* (LTA) bakteri *E. faecalis*. *Lipotheroic acid* (LTA) merupakan bagian dari dinding sel

bakteri gram positif yang berfungsi sebagai perlekatan bakteri terhadap sel host.¹² Pada inflamasi asimtomatis apikal periodontitis setelah 21 hari akibat induksi *E.faecalis* terjadi respon imun adaptif yang dimediasi oleh sel T (CD4). LTA dianggap sebagai suatu antigen oleh sel T sehingga mengakibatkan terjadinya suatu interaksi yang dapat menimbulkan ekspresi sitokin-sitokin¹³

Pengeburan yang dilakukan pada gigi tikus akan memberikan dampak teraktivasi TLR oleh *pathogen-associated molecular pattern* (PAMPs) selain itu dapat juga diaktivasi melalui *damage associated molecular pattern* (DAMP) seperti HSP70. Ketika bakteri *E.faecalis* diinduksikan beserta larutan BHI-b maka LTA akan berikatan dengan TLR yang nantinya akan dapat menginduksi produksi sitokin.¹⁴

Produksi sitokin yang merupakan respon dari imun dari host pada penelitian ini adalah terekspresinya TGF- β dan MMP-1 pada hari ke-21, dimana proses perjalanan inflamasi pada hari ke -21 masuk pada fase yang merupakan fase perbaikan.¹⁵ Pada penelitian ini membuktikan terjadi peningkatan jumlah sel pengeksresi TGF- β secara bermakna pada jaringan periapikal yang mengalami inflamasi yaitu pada kelompok kontrol positif akibat induksi BHI-b dibandingkan dengan jaringan periapikal akibat induksi bakteri *E.faecalis* dan kelompok kontrol negatif. Hal ini disebabkan karena salah satu fungsi TGF beta adalah menghambat degradasi matriks protease dan meningkatkan produksi penghambat protease. Dengan terhambatnya protease menyebabkan jalan pemecahan matriks ekstraselular tidak terjadi.

Selain itu terjadi hambatan pada aktivasi latent autokrin atau parakrin TGF beta sehingga jumlahnya akan menurun dan TIMP juga akan menurun sedangkan MMP akan meningkat. Hal ini yang membuktikan bahwa bakteri *E. faecalis* dapat menyebabkan inflamasi yang lebih parah pada jaringan periapikal dibanding dengan tindakan perforasi pulpa oleh bur pada kelompok kontrol positif, karena jumlah TGF beta tersupresi untuk

melawan invasi dari bakteri *E. faecalis* . Adanya hambatan yang meningkatkan jumlah TGF beta pada saat *remodelling* , juga tergantung dari respon host itu sendiri.

Salah satu perubahan histologi awal yang terjadi pada peridontitis apikalis dan marginal adalah degradasi matriks ekstraseluler. MMP-1 mendegradasi ekstraseluler matriks non mineralisasi dan menstimuli osteoklastogenesis dengan membuat fragmen fragmen kolagen terdegradasi pada permukaan tulang. Meningkatnya ekspresi MMP-1 pada penelitian ini yaitu pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan membuktikan pola peradangan pada umumnya terjadi pada penelitian ini, dimana neutrofil dan sel-sel lain seperti monosit, limfosit, basofil, dan eosinofil pada daerah yang terinflamasi teraktivasi. Maka dapat dikatakan bahwa pada penelitian ini terekspresinya MMP-1 yang dilihat dari Limfosit terbukti meningkat.

Pada kelompok perlakuan ekspresi MMP-1 terus meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa peradangan terus berlanjut oleh karena adanya bakteri *enterococcus faecalis*, dan peradangan ini akan terus berlanjut selama sumber penyebab tidak dihilangkan. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya dimana ekspresi MMP-1 akan terus meningkat pada saat terjadi peradangan dan pada saat tidak terjadi peradangan rendah. Hasil ekspresi MMP-1 yang lebih rendah pada kelompok kontrol positif karena sesuai dengan pola peradangan yang menunjukkan bahwa di hari 14-30 adalah *effector phase and homeostasis*, sel-sel yang berperan pada fase efektor mulai menurun diikuti oleh kenaikan fase homeostasis. Pada proses ini terjadi suatu apoptosis dimana banyak sel limfosit yang mati.¹⁵ (Abbas and Litchman, 2010).Sedangkan pada kelompok kontrol negatif, karena tidak adanya jejas dan sumber iritan yang mengakibatkan tidak teraktivasi MMP-1 menyebabkan terekspresinya MMP-1 rendah.

Aktifitas dari MMP-1 dikontrol oleh TIMPs (Tissue inhibitors off metallo

proteinnases). TGF- β meningkatkan produksi TIMP-s yang menetralkan aktifitas degradatif dari MMPs. Dengan cara ini, TGF- β menggeser keseimbangan tujuannya adalah pembentukan jaringan parut dan pemulihan integritas jaringan.¹⁶

Penjelasan diatas menguraikan bagaimana keterkaitan antara TGF- β , MMP-1 dan TIMP dalam mekanisme proses penyembuhan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penurunan ekspresi TGF- β dan meningkatnya ekspresi MMP-1 pada perlakuan *E. faecalis* membuktikan, fungsi TGF- β pada fase pembentukan dan perbaikan jaringan terhambat karena adanya LTA dari bakteri *E. Faecalis* yang direspon oleh host, menyebabkan terjadinya hambatan laten terhadap TGF- β yang menyebabkan menurunnya jumlah TGF- β diikuti menurunnya produksi TIMP yang memiliki fungsi menghambat kemampuan kolagenase/degradasi kolagen juga menurun. Dalam penelitian ini terlihat adanya ketidak seimbangan antara MMPs dengan TIMP sehingga destruksi matriks selluler terus berlanjut.

KESIMPULAN

Dengan demikian, dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terjadi penurunan Ekspresi TGF- β pada kerusakan jaringan periapikal akibat induksi bakteri *Enterococcus faecalis*, dan terjadi peningkatan Ekspresi MMP-1 pada kerusakan jaringan periapikal akibat induksi bakteri *Enterococcus faecalis*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nair. PNR. 2004. Pathogenesis of Apical Periodontitis and The Cause of Endodontic Failures, *Criit Rev Oral Bio Med* 15 : 348-51.
2. Bodromlu E, and Semis M. 2006. Antibacterial Activity of A New Endodontic Sealer Against *Enterococcus faecalis*. *J. Can Dent Assoc.* 72(7):637a-c.

matriks mengubah kofaktor untuk deposisi matriks bukan destruksi matriks. Secara kumulatif, fungsi TGF- β untuk

3. Stuart CH, Schawrtz SA, Beeson TJ and Owatz CB. 2006. *Enterococcus faecalis* :Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Re-Treatment. *J.Endod.* 32 (2) : 93-8.
4. Gemmell E, Carter C, Hart D, Drysdale K, and Seymour G. 2002. Antigen-presenting cells in human periodontal disease tissues. *Oral Microbiology and Immunol*, 17(6), pp.388-93.
5. Lin SK, Kok SH, Kuo MY, Wang TJ, Wang JT, Yeh FT, Hsiao M, Lan WH, and Hong CY. 2002. Sequential expressions of MMP-1, TIMP-1, IL-6, and COX-genes in induced periapical lesions in rats. *J.Eur Oral Sci.* ;110(3):246-53.
6. Fukada SY, Silva TA, Saconato IF, Garlet GP, Avila-Campos MJ, Silva JS, and Cunha FQ. 2008. iNOS-derived Nitric Oxide Modulates Infection-stimulated Bone Loss. *J Dent Res.* 87(12): 1155-9.
7. Abbot PV, 2004. Classification, diagnosis, and clinical manifestation of apical periodontitis. 2nd edition, *Endodontic topics*. Copyright Blackwell Munksgaard. pp. 36-54.
8. Cohen S, and Hargreaves KM. 2011. Cohen'S Pathways of The pulp. 10th ed, St. Louis Missouri. Mosby Inc. pp. 529-58. Abbas AK, Lichtman AH and Pillai S. 2010. *Cellular and Molecular Immunology* 6th ed Update edition. WB Saunders company USA. pp.281-2
10. Sabir, A. 2005. Respons Inflamasi Pada Pulpa Gigi Tikus Setelah

Aplikasi Ekstrak Etanol Propolis (EEP). *Majalah Kedokteran Gigi. (Dent.J.)* 38 (2):77-83

11. 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):814-9.
12. Baik JE, Han JY and Kum KY. 2008. Lipoteichoic Acid Partially Contributes to The Inflammatory Responses to *Enterococcus faecalis*. *J.Endod.* 34(8) : 975-82.
13. Pasare C and Medzhhirof R.2004. Toll-like Receptors : linking Innate and Adaptive Immunity. *Microbes Infect* 6 : 1382-7.
14. Thurlow LR, Chittezham T, Fleming S, dan Hancock L. 2009. *Enterococcus faecalis* Capsular Polysaccharide Serotypes C and D and their Contribution to Host Innate Immune Evasion. *J Infection and Immunity* 77(12): 5551-7.
15. Abbas AK, Lichtman AH and Pillai S.2010. Cellular and Molecular Immunology 6th ed Update edition. WB Saunders company USA.pp 281-2.
16. Sharon M. Wahl,1999.Wound Repair: Transforming growth Factor- β (TGF- β) in the Resolution and Repair of Inflammation : Basic Principles and Clinical Correlation.3rd ed.Philadelphia: Gallin G I and Snyderman R, pp 865-7