

KADAR RelA/p65 PADA JUNCTIONAL EPITHELIUM GINGIVA TIKUS YANG DIINDUKSI DENGAN PORPHYROMONAS GINGIVALIS (ATCC 33277)

by Agung Krismariono

Submission date: 05-Nov-2019 04:22PM (UTC+0800)

Submission ID: 1207435818

File name: S_YANG_DIINDUKSI_DENGAN_PORPHYROMONAS_GINGIVALIS_ATCC_33277.pdf (297.66K)

Word count: 2141

Character count: 13548

KADAR RelA/p65 PADA JUNCTIONAL EPITHELIUM GINGIVA TIKUS YANG DIINDUKSI DENGAN PORPHYROMONAS GINGIVALIS (ATCC 33277)

(Level of RelA/p65 in the rat gingival junctional epithelium that exposed to Porphyromonas gingivalis (ATCC 33277))

Agung Krismariono

Departemen Periodonsia

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

Surabaya - Indonesia

ABSTRACT

Periodontal disease might occur as a result of complex interplay between etiology factors and host immune response. Periodontal disease etiology is multi-factorial. The main cause of periodontal disease is microorganisms, one of them is *Porphyromonas gingivalis*. An invasion of *Porphyromonas gingivalis* to periodontal tissue can induced periodontal extracellular matrix degradation. This mechanism involves host immune response activity of intracellular protein, RelA/p65. The purposed of this study was to observe level of RelA/p65 in the rat gingival junctional epithelium that exposed to *Porphyromonas gingivalis*. Eighteen Wistar rats were divided into 2 groups at random. Group 1 (treatment): 9 rats were given with bacteria. Group 2 (control): 9 rats were given with aquadest. GCF sample was collected from gingival sulcus. Then the samples were analyzed with ELISA. Data were analyzed statistically by using independent t-test ($\alpha=0,05$). Examination for RelA/p65 level showed there was significant difference between treatment group and control group ($p<0.05$). Level of RelA/p65 in treatment group was significantly higher than control group. This study show that *Porphyromonas gingivalis* induction to junctional epithelium gingival cause increase RelA/p65 level.

Key words: RelA/p65, *Porphyromonas gingivalis*, junctional epithelium

ABSTRAK

Penyakit periodontal merupakan hasil interaksi antara faktor etiologi dengan respons imun *host*. Etiologi penyakit periodontal bersifat multifaktorial. Faktor lokal utama penyebab penyakit periodontal adalah mikroorganisme, salah satunya adalah bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Invasi bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada jaringan periodontal menyebabkan kerusakan matriks ekstraseluler pada jaringan periodontal. Kerusakan jaringan periodontal ini melibatkan serangkaian mekanisme respons imun *host* yang salah satunya diperankan oleh protein dalam sel yaitu RelA/p65. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati kadar RelA/p65 pada junctional epithelium gingiva tikus yang diinduksi dengan *Porphyromonas gingivalis*. Sebanyak 18 tikus galur Wistar dibagi dalam 2 kelompok. Kelompok 1 (perlakuan) : diinduksi dengan bakteri *Porphyromonas gingivalis*, sedangkan kelompok 2 (kontrol) : diinduksi dengan aquades. Induksi dilakukan pada sulkus gingiva interdental insisif rahang bawah. Sampel diperoleh dari sulkus gingiva melalui GCF. Selanjutnya sampel dianalisa menggunakan ELISA. Data dianalisa secara statistik menggunakan *t-test* tidak berpasangan ($\alpha=0,05$). Hasil pemeriksaan kadar RelA/p65 menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p<0.05$). Kadar RelA/p65 pada kelompok perlakuan secara signifikan lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Penelitian ini membuktikan bahwa induksi dengan *Porphyromonas gingivalis* pada junctional epithelium gingiva mengakibatkan peningkatan kadar RelA/p65.

Kata kunci : RelA/p65, *Porphyromonas gingivalis*, junctional epithelium

Korespondensi: Agung Krismariono, Departemen Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga. Jl. Mayjen Prof Dr. Moestopo 47, Surabaya 60132, Indonesia

PENDAHULUAN

Perlekatan gingiva ke permukaan gigi diperantarai oleh *junctional epithelium*. *Junctional epithelium* merupakan pertahanan lini depan jaringan periodontal. Struktur anatomi *junctional epithelium* pada

permukaan gigi sangat berperan dalam menjaga homeostasis maupun pengaruh negatif dari luar akibat serangan bakteri beserta produknya. Kondisi rongga mulut yang selalu basah dan kaya nutrisi akan menguntungkan bakteri berkembang biak,

terutama pada sulkus gingiva. Sehingga area ini diyakini sebagai tempat awal dan rawan terjadinya kerusakan.^{1,2}

Sel pada *junctional epithelium* berperan aktif dalam sistem pertahanan tubuh terhadap jejas. Sel tersebut antara lain: sel epitel, neutrofil maupun makrofag.¹ Sel-sel tersebut mensekresikan berbagai protein maupun enzim yang terlibat dalam sistem pertahanan melawan faktor virulensi bakteri. Sekresi berbagai protein maupun enzim tersebut melibatkan faktor transkripsi yang salah satunya adalah RelA/p65 (NFκB).³

RelA/p65 adalah suatu protein kompleks pada sel eukariota yang umumnya berperan sebagai faktor transkripsi inducibel, namun demikian pada kondisi normal faktor transkripsi ini bersifat konstitutif. RelA/p65 menentukan ekspresi gen yang menyandi sitokin, kemokin, faktor pertumbuhan, molekul adhesi sel, serta beberapa fase protein akut, antara lain iNOS dan COX2 maupun reseptor pada membran sel yaitu TLR.^{4,5} RelA/p65 diaktifkan oleh berbagai macam pemicu, antara lain faktor virulensi dari bakteri dan virus, sitokin, radikal bebas maupun lingkungan yang toksik. Aktivasi RelA/p65 diperlukan dalam mekanisme pertahanan tubuh melawan jejas yang dapat merusak jaringan. Dalam jumlah optimal berfungsi untuk menetralkan antigen. Namun jika produksinya berlebihan, akan bersifat merusak matriks ekstraseluler pada jaringan periodontal.⁶

Salah satu bakteri yang menyebabkan kerusakan pada *junctional epithelium* gingiva adalah *Porphyromonas gingivalis*. Bakteri ini dapat menembus pertahanan *junctional epithelium*, mengakibatkan *junctional epithelium* kehilangan perlekatan terhadap permukaan gigi, sehingga dapat menyebabkan kerusakan jaringan periodontal yang lebih dalam. Kondisi ini mengarah pada terbentuknya poket dan *loss of attachment*.⁷

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati perubahan kadar RelA/p65 pada

junctional epithelium gingiva akibat induksi dengan *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini bersifat eksperimental *in vivo* dengan menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar, berumur 4-5 bulan, dengan berat badan 200-250 gram. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Brawijaya.

Sampel dipilih secara random dengan besar sampel yang ditentukan melalui *trial*. Berdasarkan rumus besar sampel menurut Higgins and Kleinbaum⁸, maka diperoleh jumlah sampel sebesar 9. Sampel dibagi dalam 2 kelompok, yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Masing-masing kelompok sampel terdiri dari 9 tikus.

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) dikultur pada *tryptic soy agar* yang mengandung 10% darah domba, 0,4 µl/ml vitamin K₁ dan 5 µl/ml hemin, kemudian ditumbuhkan selama 14 hari pada suhu 37°C dalam inkubator anaerobic yang mengandung 80% N₂, 10% H₂ dan 10% CO₂. Kemudian bakteri disubkultur dan diinkubasi selama 3 hari. Selanjutnya dipanen dan dilarutkan dalam larutan salin. Konsentrasi bakteri *Porphyromonas gingivalis* untuk keperluan induksi ditentukan sebesar 2x10⁹ CFU/ml.⁹

Kelompok perlakuan diinduksi dengan bakteri *Porphyromonas gingivalis* sebanyak 0.03ml, sedangkan kelompok kontrol diinduksi dengan aquades dengan jumlah yang sama, setiap 3 hari sekali selama 2 minggu. Induksi dilakukan pada sulkus gingiva interdental gigi insisif rahang bawah. Pemeriksaan kadar RelA/p65 dilakukan dengan bantuan periopaper yang dimasukkan dalam sulkus gingiva selama 30 detik untuk mendapatkan *Gingival Crevicular Fluid* (GCF).¹⁰ Pemeriksaan dilakukan setelah 2 minggu perlakuan. Selanjutnya hasil yang

didapat dilakukan pemeriksaan dengan metode ELISA.

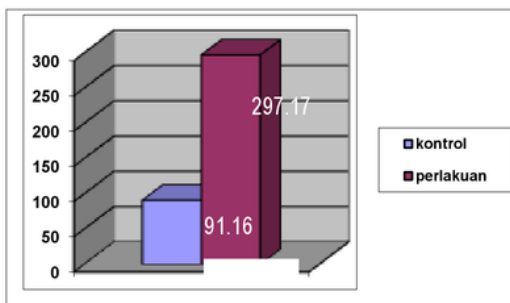
HASIL

Tabel 1 dan gambar 1 menunjukkan kadar RelA/p65 pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Pengujian dengan *Kolmogorov-Smirnov Goodness of Fit Test* menunjukkan nilai p lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$) maka dapat disimpulkan bahwa data hasil penelitian berdistribusi normal.

Tabel 1. Rerata dan standar deviasi kadar RelA/p65

RelA/p65	Perlakuan $X \pm SD$	Kontrol $X \pm SD$
	297.17 \pm 8.993 pg/ml	91.16 \pm 7.736 pg/ml

Setelah dilakukan analisa dengan *independent t-test* antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol diperoleh hasil $p = 0.000$ ($p < 0,05$), yang artinya ada perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Kadar RelA/p65 pada kelompok perlakuan lebih tinggi daripada kelompok kontrol.



Gambar 1. Kadar RelA/p65 pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengamati perubahan yang terjadi pada *junctional*

epithelium gingiva tikus akibat induksi dengan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Fokus kajian adalah protein yang terdapat dalam sel epitel *junctional epithelium* yang berperan sebagai faktor transkripsi gen di dalam inti sel pada sebagian besar proses inflamasi, yaitu RelA/p65 (NF κ B). Dasar pemikiran dari penelitian ini adalah bahwa *junctional epithelium* merupakan pintu masuk utama mikroorganisme ke dalam jaringan periodontal, oleh karena itu sel pada *junctional epithelium* yang terlibat dalam respons pertahanan *host* memegang peranan penting.

Data klinis empirik menunjukkan bahwa *oral hygiene* yang jelek merupakan penyebab utama akumulasi bakteri. Akumulasi bakteri ini akan mengakibatkan kerusakan jaringan periodontal yang ditandai dengan timbulnya poket dan *loss of attachment*. Oleh karena itu, kajian terhadap respons imun *host* pada area *junctional epithelium* menjadi sangat penting.

Patogen yang masuk ke dalam jaringan akan direspons oleh mekanisme pertahanan *host* melalui *innate immunity* maupun *adaptive immunity*.¹¹ *Porphyromonas gingivalis* merupakan salah satu periodontal patogen yang mampu memicu respons imun dan menyebabkan kerusakan jaringan periodontal. Kerusakan jaringan yang timbul, lebih diakibatkan oleh pengaruh respons inflamasi yang diperankan oleh mediator inflamasi.^{12,13}

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi perbedaan signifikan kadar RelA/p65 pada kelompok perlakuan yang diinduksi dengan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kadar RelA/p65 pada kelompok perlakuan lebih tinggi daripada kadar RelA/p65 pada kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar RelA/p65 pada kelompok perlakuan. Peningkatan kadar RelA/p65 ini dapat terjadi akibat induksi *Porphyromonas gingivalis* yang menyebabkan *patern recognition receptor*

(PRR) yang terdapat pada membran sel epitel pada *junctional epithelium* teraktivasi.¹⁴ Selanjutnya PRR meneruskan sinyal ke dalam sitoplasma dengan target menuju molekul RelA/p65. Aktivasi RelA/p65 selanjutnya menyebabkan translokasi RelA/p65 menuju inti sel sehingga terjadi proses transkripsi dan translasi gen.^{15,16}

Selain akibat sinyal yang berasal dari PRR, peningkatan kadar RelA/p65 pada kelompok perlakuan dalam penelitian ini kemungkinan diakibatkan adanya sinyal intraseluler yang berasal dari faktor virulensi struktural bakteri *Porphyromonas gingivalis*, yaitu peptidoglikan. Ketika proses fagositosis, makrofag mengeluarkan enzim hidrolase yang menyebabkan peptidoglikan terdegradasi menghasilkan muramil dipeptida. Hal ini berdasarkan pada pendapat Zhelka, yang menyebutkan bahwa *muramyl dipeptide MurNAc-L-ala-D-isoGLN* (MDP) yang merupakan fragmen dari peptidoglikan dapat mengaktifkan reseptor intraseluler yaitu *nucleotida origomerization domain-2* (NOD2). NOD2 yang aktif akan mengikat *receptor interacting protein-2* (RIP2), yang selanjutnya kedua molekul ini akan berikatan dengan NEMO (*NFκB essential modulator*). Kompleks NOD2-RIP2-NEMO akan mengikat *ubiquitin-protein ligase* (E3) menyebabkan poliubiquitinasi *inhibitor of the nuclear factor-κB kinase alpha* (IKKα) yang selanjutnya akan mengaktifkan RelA/p65.¹⁷ Dalam penelitian ini terlihat sebagai peningkatan kadar RelA/p65 pada *junctional epithelium*. Peningkatan kadar RelA/p65 akan menyebabkan ekspresi gen yang terlibat dalam respons imun pada jaringan periodontal, antara lain *interleukin-1β* (IL-1β), *tumor necrosis factor-α* (TNF-α), *interleukin-6* (IL-6), *interleukin-8* (IL-8) serta matriks metaloproteinase (MMP).¹⁶

Peningkatan aktivitas RelA/p65 pada *junctional epithelium* menyebabkan peningkatan ekspresi dan sekresi mediator inflamasi di jaringan periodontal sehingga mengakibatkan kerusakan jaringan

periodontal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Silverman dan Maniatis yang menyebutkan bahwa peningkatan faktor transkripsi RelA/p65 (NFκB) dikaitkan dengan proses inflamasi, seperti periodontitis, arthritis, atherosclerosis maupun pada penyakit degeneratif.³ Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* menyebabkan peningkatan kadar RelA/p65 yang terdeteksi pada *junctional epithelium* gingiva. Peningkatan ini menyebabkan kerusakan pada jaringan periodontal akibat aktivitas respons imun *host*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bosshardt DD and Lang NP. 2005. The junctional epithelium: from health to disease. *J Dent Res*. 84: 9-16
2. Shimono M, Ishikawa T, Enokiya Y, Muramatsu T, Matsuzaka K, Inoue T, Abiko Y, Yamaza T, Kido MA, Tanaka T and Hashimoto S. 2003. Biological characteristics of the junctional epithelium. *Journal of Electron Microscopy*. 52 (6): 627-639
3. Silverman N and Maniatis T. 2001. NFκB signaling pathways in mammalian and insect innate immunity. *Genes Dev*. 15: 2321-2342
4. Chen F, Castranova V and Shi X. 2001. New insights into the role of nuclear factor-κB in cell growth regulation. *American Journal of Pathology*. 159 (2): 387-394
5. Tak PP and Firestein GS. 2001. NF-κB: A key role in inflammatory diseases. *The Journal of Clinical Investigation*. 107 (1): 7-11
6. Feng Z & Weinberg A. 2006. Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues. *Periodontology 2000*, Vol. 40, 2006, 50–76
7. Pollanen MT, Salonen JI and Uitto VJ. 2003. Structure and function of the tooth-

epithelial interface in health and disease.
Periodontology 2000. 31: 12-31

8. Higgins JE, Kleibaum AP. 1985. Introduction to randomized clinical trial. North California. USA. Family Health International. Research Triangle Park. p 31
9. Polak D, Wilensky A, Shapira L, Halabi A, Goldstein D, Weiss EI, Haddad YH. 2009. Mouse model of experimental periodontitis induced by *Porphyromonas gingivalis* / *Fusobacteriumnucleatum* infection: bone loss and host response. *J Clin Periodontol.* 36: 406–410
10. Kaya FA, Arslan SG, Kaya CA, Arslan H, Hamam O. 2011. The gingival crevicular fluid levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in late adult rats. *Int Dent Res* 1:7-12
11. Shpacovitch V, Feld M, Hollenberg MD, Luger TA and Steinhoff M. 2008. Role of protease-activated receptors in inflammatory responses, innate and adaptive immunity. *J Leukoc Biol.* 83: 1309-1322
12. Zhou Q, Desta T, Fenton M, Graves DT and Amar S. 2005. Cytokine profiling of macrophages exposed to *Porphyromonas gingivalis*, its lipopolysaccharide, or its FimA protein. *Infect Immun.* 73(2): 935-43
13. Andrian E, Grenier D, Rouabhia M. 2006. *Porphyromonas gingivalis*-Epithelial Cell Interactions in Periodontitis. *J Dent Res* 85(5):392-403
14. Ambili R, Santhi WS, Prasanthila J, Nandakumar K, Pilla R. 2005. Expression of activated transcription factor nuclear factor- κ B in periodontally diseased tissues. *Journal of Periodontology.* 76 (7): 1148-1153
15. Kawai T and Akira S. 2010. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on toll-like receptors. *Nature Immunology.* 11 (5): 374-382
16. Davey M, Liu X, Ukai T, Jain V, Gudino C, Gibson FC, Golenbock D, Visintin A and Genco CA. 2008. Bacterial fimbriae stimulate proinflammatory activation in the endothelium through distinct TLRs. *J Immunol.* 180: 2187-2195
17. Zelkha SA, Freilich RW and Amar S. 2010. Periodontal innate immune mechanisms relevant to atherosclerosis and obesity. *Periodontology* 2000, Vol. 54: 207-221

KADAR ReIA/p65 PADA JUNCTIONAL EPITHELIUM GINGIVA TIKUS YANG DIINDUKSI DENGAN PORPHYROMONAS GINGIVALIS (ATCC 33277)

ORIGINALITY REPORT

21 %

SIMILARITY INDEX

19 %

INTERNET SOURCES

17 %

PUBLICATIONS

%

STUDENT PAPERS

MATCH ALL SOURCES (ONLY SELECTED SOURCE PRINTED)

1%

★ "Het Tandheelkundig Jaar 2011", Springer Nature,
2011

Publication

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography On

KADAR ReIA/p65 PADA JUNCTIONAL EPITHELIUM GINGIVA TIKUS YANG DIINDUKSI DENGAN PORPHYROMONAS GINGIVALIS (ATCC 33277)

GRADEMARK REPORT

FINAL GRADE

/0

GENERAL COMMENTS

Instructor

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5
