

EFEK DOXYCYCLINE DOSIS RENDAH TERHADAP JUMLAH SERAT KOLAGEN TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI AGREGATE BACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS

by Atika Nisaa R

Submission date: 24-Mar-2018 03:15PM (UTC+0800)

Submission ID: 935440579

File name: PD-3-1-2011-01458-fp.pdf (348.18K)

Word count: 2170

Character count: 13953

EFEK DOXYCYCLINE DOSIS RENDAH TERHADAP JUMLAH SERAT KOLAGEN TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI AGREGATE BACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS

The Effect Of Low Dose Doxycycline Toward The Amount Of Wistar's Collagen Fibers induced agregatebacter actinomycetemcomitans

Atika Nisaa R.^{*}, Ernie Maduratna Setiawati^{**}, Noer Ulfah^{**}

^{*}Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia.

^{**}Departemen Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia.

ABSTRACT

Background. Periodontitis is characterized by periodontal tissue destruction such as destruction of collagen fibers, periodontal ligament and alveolar bone that cause tooth mobility. Destruction of collagen fibers is caused by increase of collagenase level. Low dose doxycycline can decrease the collagenase level by bind the active site of collagenase. **Purpose.** The aim of this study is to determine the effect of low dose doxycycline in increasing the amount of collagen fiber in wistar's periodontal ligament which is inoculated by *A.actinomycetemcomitans*. **Method.** This study was experimental laboratories. Twenty seven *Rattus norvegicus* strain wistar are being used for thirty days. Twenty seven *Rattus norvegicus* strain wistar were divided into three groups; control, *A.actinomycetemcomitans*; *A.actinomycetemcomitans*+Doxycycline. Mallory Azan stain are being used to determine the collagen fibers. Collagen fibers are evaluated histologically by electron microscop. Data were analyzed statistically using Kruskal-Walis and Mann-Whitney test. **Result.** Examination showed there were significant different in collagen fibers level between each group ($p<0.05$). **Conclusion.** Low dose doxycycline can increase the amount of collagen fibers in wistar's periodontal ligament.

Keywords: doxycycline, collagen, *A.actinomycetemcomitans*, collagenase

Korespondensi (Correspondence): Ernie Maduratna Setiawati, Departemen Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Jl. Mayjen. Prof. Moestopo no. 47 Surabaya 60132, Indonesia.

Pendahuluan

Penyakit periodontal merupakan penyakit yang sangat umum terjadi di masyarakat. Bahkan penyakit ini diderita oleh manusia hampir di seluruh dunia dan mencapai 50% dari jumlah populasi dewasa¹.

Penyakit yang paling sering mengenai jaringan periodontal adalah gingivitis dan periodontitis. Gingivitis adalah peradangan pada gusi yang bersifat reversible, disebabkan oleh plak bakteri dengan tanda klinis yaitu perubahan warna

lebih merah dari normal serta gusi bengkak dan berdarah pada tekanan ringan. Penderita biasanya tidak merasa sakit pada gusi. Periodontitis menunjukkan peradangan sudah sampai ke jaringan periodontal yang lebih dalam. Penyakit ini bersifat progresif dan irreversible. Apabila tidak dirawat dapat menyebabkan gigi goyang bahkan kehilangan gigi².

Bakteri mempengaruhi perjalanan penyakit ini dengan jalan menghasilkan berbagai bahan yang merangsang sistem imun tubuh. Bahan-bahan penting yang

dapat berperan sebagai mediator terhadap respon imun tubuh dikenal sebagai sitokin³. Pelepasan sitokin secara berlebihan akibat peradangan dapat menyebabkan kerusakan jaringan periodontal.⁴ Kerusakan jaringan periodontal meliputi kerusakan jaringan pendukung periodontal berupa kerusakan serat kolagen, ligamen periodontal dan resorpsi tulang alveolar.¹

Kerusakan jaringan disebabkan adanya ketidakseimbangan antara MMP dan TIMP dimana pada umumnya kadar MMP lebih banyak daripada TIMP.^{5,6} Produksi MMP yang berlebih tersebut menyebabkan terlalu banyaknya kerusakan dari kolagen. MMP-1, -3, -8 dan -9 adalah mediator penting dalam destruksi jaringan penyangga dalam periodontitis. MMP-8 dan MMP-9 dilepaskan dari PMN yang dipicu oleh bakteri periodontopatogenik dan faktor virulensinya.⁷

Pengobatan yang biasa dilakukan sebatas mengeliminasi bakteri penyebab penyakit periodontal khususnya periodontitis. Tetapi, diketahui bahwa cara tersebut tidak efektif, karena hanya membunuh bakteri penyebabnya sedangkan perbaikan jaringan periodontal belum sepenuhnya dilaksanakan. Sehingga penyembuhan dari kegoyangan gigi masih memerlukan waktu yang lama, dengan adanya poket periodontal, bakteri serta toksinnya dapat berpenetrasi ke jaringan yang lebih dalam.³

Doxycycline merupakan golongan tetracycline yang bersifat antimicrobial dan antiinflamasi pada dosis 100 hingga 200 mg/hari.⁸ Doxycycline digunakan juga dalam pengobatan periodontitis yaitu sebagai pengobatan tambahan pada perawatan *scaling and root planning* untuk merangsang peningkatan perlekatan periodontal dan mengurangi kedalaman poket dengan dosis 20 mg.⁹

Perbaikan jaringan periodontal salah satunya dapat dilakukan dengan meningkatkan jumlah serat kolagen pada ligamen periodontal. Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* pada hewan coba mencit untuk mengevaluasi pemberian doxycycline dosis rendah secara sistemik terhadap kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal.

Bahan dan Metode

Penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan menggunakan 27 ekor hewan coba tikus wistar (*Rattus norvegicus strain wistar*) dengan umur 2-3 bulan dan dengan berat badan 150-200 gram. Tikus dikelompokkan menjadi tiga kelompok, kelompok kontrol adalah kelompok yang tidak diberikan perlakuan hanya diberikan makan dan minuman normal, kelompok AA adalah kelompok yang diinokulasi bakteri *A.actinomyetemcomitans*, kelompok doxy adalah kelompok yang diinokulasi bakteri *A.actinomyetemcomitans* dan setelah 10

hari diberi doxycycline 2.1 mg/kg BB per oral.

Bakteri *A.actinomycetemcomitans* dibiakkan pada agar AAGM dalam suasana anaerob. Bentuk bintang (*star shape*) dari koloni bakteri tersebut diambil dan dibiakkan lagi dalam media cair. Inokulasi bakteri *A.actinomycetemcomitans* pada tikus dilakukan dengan komposisi bakteri $9 \cdot 10^8$ CFU yang didapatkan dengan menyamakan kekeruhan dengan standar McFarland3 sebanyak 0.05 ml. Prosedur ini diulang setelah hari ketiga dan kelima.

Doxycycline diberikan dengan dosis 2.1 mg/kg BB dua kali sehari. Dosis ini didapatkan dengan mengkonversikan dosis manusia (20 mg) ke dosis hewan menggunakan rumus berdasarkan luas permukaan tubuh.¹⁰ Doxycycline diberikan kepada tikus kelompok doxy setelah 10 hari dari perlakuan inokulasi pertama kali bakteri *A.actinomycetemcomitans*.

Setelah 30 hari perlakuan, semua tikus dimatikan dan diambil tulang mandibulanya, dilakukan pengecatan MA dan dilihat dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400X. Serat kolagen dihitung dengan *Software Image Tools*.

Analisis data

Data jumlah kolagen dianalisis dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis dan uji Mann-Whitney.

Hasil

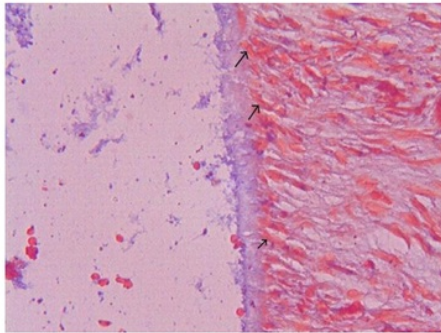
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan selama 4 minggu didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 5.1 jumlah kolagen pada kelompok kontrol dan perlakuan

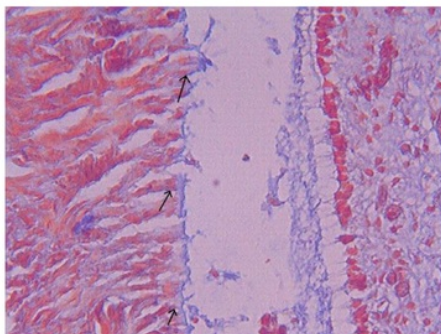
	kontrol	AA	Doxy
Mean	23.22	16.33	28.44
Std dev	1.78	1.5	4.09

Menurut data pada tabel 5.1 terlihat ada perbedaan jumlah kolagen antara tikus kelompok kontrol, kelompok AA, dan kelompok doxy. Pada kelompok kontrol terlihat jumlah kolagen lebih banyak daripada kelompok AA, dan lebih sedikit daripada kelompok doxy. Pada kelompok doxy jumlah kolagen lebih banyak daripada kelompok AA.

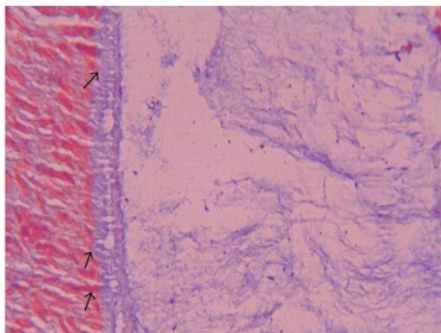
Pada analisis data dengan uji Mann-Whitney, semua kelompok menunjukkan nilai $p < 0.05$ yang berarti ada perbedaan bermakna jumlah kolagen pada perbandingan semua kelompok., yaitu ada perbedaan jumlah kolagen pada kelompok kontrol dengan kelompok AA, kelompok kontrol dengan kelompok doxy, kelompok AA dengan kelompok doxy. Gambar keadaan kolagen dalam tiap-tiap kelompok dapat dilihat pada gambar 5.1, 5.2 dan 5.3.



Gambar 5.1 serat kolagen (tanda panah) pada kelompok tikus control



Gambar 5.2 serat kolagen (tanda panah) pada kelompok tikus yang diberi *A. actinomycetemcomitans*



Gambar 5.3 serat kolagen (tanda panah) pada kelompok tikus yang diberi *A. actinomycetemcomitans* serta diberi Doxycycline

Pembahasan

Penelitian ini menggunakan pengecatan Mallory Azan yang bertujuan membedakan kolagen dengan sel lain lebih mudah. Perhitungan jumlah kolagen dilakukan dengan menghitung banyaknya serat kolagen yang melekat pada lapisan sementum. Hal ini dilakukan untuk mengurangi kesalahan perhitungan karena letak serat kolagen tidak beraturan dan saling tumpang tindih, sehingga diambil bagian yang seragam dan dapat mengurangi perhitungan ganda pada serat kolagen.¹¹

Pada penelitian ini didapatkan adanya perbedaan jumlah kolagen yang bermakna pada tiap kelompok kontrol, kelompok yang diinokulasi bakteri *A. actinomycetemcomitans*, dan kelompok yang diinokulasi dengan bakteri *A. actinomycetemcomitans* lalu diberi Doxycycline ($p < 0.05$).

Pada tabel 5.1 terlihat jumlah rata-rata kolagen kelompok kontrol lebih banyak daripada kelompok AA. Hal ini menunjukkan bahwa kolagen pada kelompok AA mengalami kerusakan sehingga jumlahnya berkurang. Kerusakan kolagen disebabkan oleh adanya kadar kolagenase yang lebih banyak daripada normal, sehingga kadar kolagenase yang merupakan anggota MMP lebih banyak dibanding TIMP. Kadar kolagenase meningkat seiring dengan adanya sel PMN

dan makrofag yang bersifat aktif di jaringan serta adanya bakteri *A.actinomyetemcomitans* yang bersifat patogen. Sel-sel pertahanan tubuh tersebut dapat merusak kolagen dengan cara mengaktifkan MMP-8 yang berada dalam jaringan, hal ini sebenarnya merupakan suatu bagian dari respon inflamasi host. Bila PMN teraktivasi akan mengeluarkan granul zimogen yang dapat merangsang sintesis MMP-8.¹²

Bakteri *A.actinomyetemcomitans* yang bersifat patogen akan menginvasi sel jaringan host secara langsung dan akan mengeluarkan berbagai macam faktor virulensi yang merupakan pertahanan dirinya sendiri. Berbagai macam faktor virulensi bakteri ini akan menyebabkan kerusakan kolagen, yaitu kolagenase, leukotoksin dan protease. Sesuai dengan pernyataan Newman et al yaitu bakteri *A.actinomyetemcomitans* memiliki banyak faktor virulensi yang ada hubungan dengan patogenesis dengan penyakit periodontal, seperti leukotoksin, kolagenase yang merusak jaringan kolagen, endotoksin yang berupa lipopolysaccharide, dan protease yang mampu membelah IgG.¹³

Kolagenase merupakan enzim yang berperan langsung dalam degradasi kolagen. Sedangkan leukotoksin berperan secara tidak langsung dalam degradasi kolagen, yaitu dengan menghambat produksi limfosit sehingga pertahanan

tubuh di daerah inflamasi rendah, sehingga sel yang bertindak sebagai sel proinflammatory akan terus dihasilkan dan diaktifkan terutama sel PMN dan makrofag. Pada saat sel proinflammatory aktif maka enzim MMP-8 juga aktif . Pada tabel 5.1 terlihat perbedaan antara kelompok AA dengan kelompok doxy. Kelompok AA memiliki jumlah rata-rata kolagen lebih sedikit daripada jumlah rata-rata kolagen kelompok doxy. Hal ini disebabkan kelompok AA terjadi degradasi kolagen karena adanya bakteri *A.actinomyetemcomitans*, sedangkan kelompok doxy walaupun sama-sama adanya bakteri *A.actinomyetemcomitans*, pada kelompok ini diberi larutan Doxycycline terlihat jumlah kolagen yang lebih banyak dibandingkan dengan kelompok AA. Pemberian Doxycycline dengan dosis 0.3 mg diberikan dua kali dalam sehari. Dosis perlakuan ini didapatkan dengan mengkonversikan dosis manusia ke dalam dosis mencit dimana dosis yang dipakai adalah dosis rendah yaitu 20 mg. Doxycycline dengan dosis rendah yaitu 20 mg tidak memiliki efek antimikroba namun obat ini dapat menghambat aktivitas kolagenase mamalia dalam jaringan ginggiva dan *gingival crevicular fluid (GCF)*.¹⁴

Tingginya jumlah kolagen pada kelompok doxy menunjukkan adanya peningkatan sintesis kolagen. Peningkatan

sintesis kolagen disebabkan tingginya jumlah penghambat kolagenase (TIMP) daripada kolagenase (MMP). Doxycycline dengan dosis yang rendah dapat menghambat pembentukan kolagenase aktif, karena Doxycycline akan berikatan dengan kolagenase yang menyebabkan enzim tersebut menjadi inaktif. Sesuai dengan pendapat Catterall and Cawston, doxycycline dapat mengikat ion kalsium dan ion Zn^{2+} yang terletak di sisi aktif dari enzim kolagenase. Cara kerja MMP inhibitor yaitu dengan berikatan erat dengan sisi aktif sehingga memblok akitifitas enzim. Inhibitor efektif menirukan rangkaian peptida sekitar *cleavage site* dalam substrat, dan ikatan *chelating*, seperti *hydroxamate*, akan berikatan pada sisi aktif Zn^{2+} .¹⁵

Jika Doxycycline dalam jumlah banyak berikatan dengan kolagenase, maka banyak pula kolagenase yang menjadi inaktif. Jumlah MMP akan lebih sedikit dibanding TIMP sehingga dapat menghambat degradasi kolagen dan terjadi pertumbuhan kolagen. Sesuai pendapat Garlet GP et al, TIMP adalah inhibitor fisiologis yang mengatur aktivitas MMP. Kerusakan jaringan disebabkan adanya ketidakseimbangan antara MMP dan TIMP dimana pada umumnya kadar MMP lebih banyak daripada TIMP.⁵

Pada tabel 5.1 terlihat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol

dengan kelompok doxy. Kelompok kontrol memiliki jumlah rata-rata kolagen lebih rendah daripada kelompok doxy. Hal ini dikarenakan pada kelompok kontrol memiliki keadaan jaringan yang normal, tidak ada rangsangan patologis sehingga kadar TIMP dan MMP dalam jaringan seimbang sehingga tidak terjadi degradasi kolagen maupun pertumbuhan kolagen yang bermakna. Sesuai dengan pendapat Alif Sabilal, bahwa dalam keadaan normal terdapat kesetimbangan antara banyaknya jaringan yang dibentuk dengan banyaknya jaringan ikat yang dihilangkan dari jaringan.¹¹

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa doksisisiklin dosis rendah dapat meningkatkan jumlah serat kolagen pada ligament periodontal tikus wistar yang di induksi *aggregatebacter actinomycetemcomitans*.

Daftar Pustaka

1. Wahyukundari MA. 2009. Perbedaan Kadar Matrix metalloproteinase-8 setelah Scaling dan pemberian tetrasiklin pada penderita periodontitis kronis. Surabaya: JURNAL PDGI, Vol 58 No. 1, Januari-April 2009 . pp: 1-6.
2. Situmorang N. 2004. Profil Penyakit Periodontal Penduduk di Dua Kecamatan Kota Medan Tahun 2004 Dibandingkan dengan Kesehatan Mulut Tahun 2010 (WHO). Sumatera Utara: Dentika Dental Jurnal Vol 9. pp: 71-7
3. Kristanti RA. 2006. Inhibitor Matrix Metalloproteinase Sintetik sebagai Terapi Tambahan Periodontitis (Studi Pustaka).

- Skripsi. Universitas Airlangga, Surabaya. pp: 15-6, 22-4, 34-6.
4. Kresno SB. 2000. Imunologi: Diagnosis dan prosedur Laboratorium. Jakarta, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. pp: 30.
 5. Garlet GP, et al. 2006. Cytokine Pattern Determines the Progression of Experimental Periodontal Disease Induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Through the Modulation of MMPs, RANKL, and Their Physiological Inhibitors. Brazil: Oral microbiology immunology 21. pp: 12-20.
 6. Dormán G, et al. 2007. MMP Inhibitors in Cardiac Diseases: An Update. Hungary: [Recent Patents Cardiovasc Drug Discov.](#) 2007 Nov;2(3). Pp: 186-94.
 7. Beklen A, et al. 2007. MMPs, IL-1, and TNF are Regulated by IL-17 in Periodontitis. Finland: *J Dent Res* 86(4). pp: 347-51.
 8. Sweetman SC. 2007. Martindale The Complete Drug Reference Thirty-Fifth Edition. London: Pharmaceutical Press. pp: 238-9.
 9. Tatro DS. 2003. A to Z drug Facts. San Fransisco: Facts and Comparisons.
 10. Reagan-Shaw et al, 2007. Dose translation from animal to human studies revisited. Amerika: *The FASEB Journal*, Vo. 22 March 2007. pp: 659-61.
 11. Alif, Sabila. 2008. Pengaruh Iskemia terhadap Peningkatan Kolagen pada Korpus Kaverosum. Surabaya: JURI Vol. 15 No.1, Januari 2008. pp: 11-4.
 12. P. Herman et al. 2001. Expression of Neutrophil Collagenase (Matrix Metalloproteinase-8) in Human Atheroma A Novel Collagenolytic Pathway Suggested by Transcriptional Profiling. Boston: *Circulation* 2001;104. pp: 1899-1904.s
 13. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. 2006. *Clinical periodontology* 10th ed. Philadelphia: WB Saunders. pp: 103, 106, 229, 241.
 14. Emingil G, et al. 2006. Adjunctive low-dose doxycycline therapy effect in clinical parameters and gingival crevicular fluid tissue plasminogen activator levels in chronic periodontitis. Turkey: *Inflammation Research* Vol. 55. pp: 550-8.
 15. Catterall and Cawston. 2003. Review Drugs in development: bisphosphonates and metalloproteinase inhibitors. Inggris: *Arthritis Research and Therapy* Vol 5 No 1. pp: 12-24.

EFEK DOXYCYCLINE DOSIS RENDAH TERHADAP JUMLAH SERAT KOLAGEN TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI AGREGATE BACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS

GRADEMARK REPORT

FINAL GRADE

/100

GENERAL COMMENTS

Instructor

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6

PAGE 7

EFEK DOXYCYCLINE DOSIS RENDAH TERHADAP JUMLAH SERAT KOLAGEN TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI AGREGATE BACTER ACTINOMYCETEM COMITANS

ORIGINALITY REPORT

15%

SIMILARITY INDEX

14%

INTERNET SOURCES

7%

PUBLICATIONS

7%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Maurice Dahan. "Expression of matrix metalloproteinases in healthy and diseased human gingiva", Journal Of Clinical Periodontology, 2/2001 Publication	1%
2	Submitted to University of Greenwich Student Paper	1%
3	scholarcommons.usf.edu Internet Source	1%
4	e-journal.unair.ac.id Internet Source	1%
5	Molecular Medicine, 2012. Publication	1%
6	journal.unnes.ac.id Internet Source	1%
7	gabylovesud.blogspot.com Internet Source	1%

8	dent.unhas.ac.id Internet Source	1%
9	Chiara Marchesi. "Matrix Metalloproteinases and their Inhibitors in Hypertensive Cardiac Remodelling :", High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention, 12/2010 Publication	1%
10	repository.its.ac.id Internet Source	1%
11	thesis.binus.ac.id Internet Source	1%
12	Ruan, Hong, Youcheng Yu, Yun Liu, Xiaojun Ding, Xuehua Guo, and Qian Jiang. "Preparation and characteristics of thermoresponsive gel of minocycline hydrochloride and evaluation of its effect on experimental periodontitis models", Drug Delivery, 2016. Publication	1%
13	weareanalyst.blogspot.com Internet Source	1%
14	f.123dok.com Internet Source	1%
15	Submitted to Udayana University Student Paper	1%

16	hiniz.blogspot.com Internet Source	1%
17	Submitted to Universitas Indonesia Student Paper	1%
18	www.slideshare.net Internet Source	<1%
19	jurnal.farmasi.ui.ac.id Internet Source	<1%
20	juri.urologi.or.id Internet Source	<1%
21	core.ac.uk Internet Source	<1%
22	orca.cf.ac.uk Internet Source	<1%

Exclude quotes On
Exclude bibliography Off

Exclude matches < 5 words