

Perubahan rasio ekspresi mRNA MMP-8/TIMP-1 setelah aplikasi gel ekstrak bunga rosella 10% pada pasien dengan gingivitis setelah pemasangan mahkota tiruan akrilik

Lenni Indriani

Departmen Material Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

Mohammad Dharmautama

Departmen Prostodontik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

Edy Machmud

Departmen Prostodontik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

Muhammad Natsir Djide

Departmen Mikrobiologi dan Biotechnologi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

Mochammad Hatta

Laboratorium Biologi Molekular dan Imunologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

Abstrak

Mahkota tiruan akrilik masih digunakan sebagai salah satu pilihan dalam pembuatan mahkota tiruan sebab kemudahan dalam pembuatannya. Namun demikian adanya akumulasi plak pada daerah sekitar servikal dari mahkota tiruan akrilik dapat menyebabkan terjadinya gingivitis. Beberapa penelitian mengemukakan bahwa pada degradasi ECM dilakukan oleh MMP-8 dan TIMP-1 sebagai inhibitor selama gingivitis. Bunga Rosella merupakan tanaman herbal untuk pengobatan semakin meningkat. Bunga Rosella kaya akan kandungan fitokimia yang telah terbukti dapat mengurangi inflamasi. Penelitian ini menguji efektifitas gel ekstrak bunga Rosella 10% dalam mengurangi gingivitis dan dihubungkan dengan perubahan ratio mRNA MMP-8 dan TIMP-1. Subjek penelitian sebanyak 9 orang yang mengalami gingivitis setelah pemasangan mahkota tiruan akrilik dibagi dalam tiga kelompok yaitu kelompok yang diterapi dengan gel ekstrak bunga Rosella 10 %, kelompok kontrol negatif (gel base) dan kelompok kontrol positif (povidon Iodine). Sampel GCF yang diambil di daerah servikal mahkota tiruan akrilik dengan menggunakan paper strip sebelum dan 7 hari setelah aplikasi gel ekstrak bunga Rosella 10% dan

Korespondensi:

Lenni Indriani

Departmen Material Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin
Email: lenni_601@yahoo.co.id

diperiksa dengan menggunakan Real-Time Polymerase Chain Reaction. Paired-T test menunjukkan pada kelompok kontrol negatif $p=0,301$, ($p<0,05$) tidak menunjukkan perubahan ratio mRNA MMP-8/TIMP-1. Pada kelompok kontrol positif terjadi perubahan tetapi kurang signifikan ($p=0,060$). Pada kelompok terapi menunjukkan adanya perubahan yang signifikan pada ratio ekspresi gen mRNA MMP-8/TIMP-1 ($p=0,018$). Disimpulkan Gel ekstrak bunga Rosella 10% dapat menurunkan gingivitis dan memberikan perubahan rasio mRNA MMP-8/TIMP-1

Kata kunci: bunga rosella, mahkota tiruan akrilik, mRNA MMP-8/TIMP-1

Changes of ratio MMP-8/TIMP-1 mRNA expression after application of extract Roselle gel 10% in patients with gingivitis post acrylic – resin crown insertion

Abstract

The acrylic-resin crown is still used as a choice in the manufacture of artificial crown because it is easy in the procedure. However accumulation plaque around cervical of the acrylic-resin crown can lead to the occurrence of gingivitis. Some research found that degradation of ECM by MMP-8 and TIMP-1 as a inhibitor during gingivitis. Roselle as a herbal plant in the treatment began to increase. Roselle is rich in Phytochemical compound which has been shown to reduce inflammation. This research determined effectiveness of roselle extract gel 10% in reducing gingivitis in patients using acrylic-resin crown and related to changes in mRNA MMP-8/TIMP-1 gene expression ratio. The subjects were 9 patients who has gingivitis post resin-acrylic crown insertion and divided in to three groups treatment with roselle extract gel 10%, negative control (base gel), and positive control (Povidon iodine). GCF samples were taken in cervical area of acrylic-resin crown with paper strips before and seven days after application of roselle extract gel 10%. The change of ratio MMP-8 and TIMP-1 mRNA gene expression is tested using Real Time-Polymerase Chain Reaction. Paired-T test shows on negative control group ($p=0,301$, $p<0,05$) does not show any change ratio of mRNA MMP- 8/TIMP-1, on positive control, there is changing ratio but not significant($p =0,060$). The treatment group shows significant change in ratio of mRNA MMP-8 /TIMP-1 gene expression($p=0,018$) Conclusion, Extract Roselle gel 10% can reduce the gingivitis and change the ratio of MMP-8 / TIMP 1 mRNA

Keywords: roselle, acrylic resin crown, MMP-8/TIMP-1 mRNA

Pendahuluan

Pembuatan mahkota tiruan dari akrilik masih dijadikan salah satu restorasi alternatif dalam perawatan karies selain bahan dari porselen (*all porcelain*) atau kombinasi antara logam-porselen (*porcelain Fused to Metal*) dengan alasan secara biaya mahkota akrilik lebih murah serta pembuatannya lebih mudah dan cepat dibandingkan dengan bahan mahkota tiruan lainnya. Distribusi dan frekuensi perawatan mahkota tiruan berdasarkan rentang usia adalah 20-29 tahun dibuat pada gigi vital sebanyak 24,7% dan 45,2% pada gigi non vital.¹

Sifat dari bahan restorasi seperti kekasaran permukaan, dapat mempengaruhi perlekatan lapisan bakteri yang disebabkan oleh tersedianya permukaan untuk perlekatan bakteri dan melindungi kolonisasi bakteri.^{2,3} Akumulasi plak pada daerah servikal mahkota tiruan dapat menyebabkan terjadinya gingivitis pada daerah tersebut. Pada beberapa penelitian ditemukan bahwa inflamasi gingiva ditandai oleh adanya peningkatan Matrix Metalloproteinase.⁴ Kemudian penelitian lebih lanjut yang dilakukan oleh Sorsa et al dengan menggunakan teknik *immunofluorescent assay* dan *dentoanalyzer* dideteksi adanya MMP- 8 pada sampel GCF (*Gingival Crevicular Fluid*).⁵

Telah banyak dilakukan pengobatan gingivitis diantaranya dengan pemberian obat kumur yang mengandung klorheksidine, povidone iodine, maupun lainnya. Pada penelitian ini pengobatan gingivitis dilakukan dengan menggunakan ekstrak bunga rosella yang mengandung pitokimia yang berkhasiat dalam pengobatan, yaitu dengan cara mengoleskan ekstrak bunga rosella yang dibuat dalam bentuk gel ke daerah servikal mahkota tiruan akrilik yang mengalami gingivitis.

Tujuan penelitian ini bukan hanya melihat penyembuhan gingivitis tetapi lebih dalam yaitu mengetahui secara molekuler perubahan yang terjadi pada gen MMP-8 dan penghambat dari MMP-8 yaitu TIMP-1.

Metode Penelitian

Kriteria pasien adalah pasien yang mengalami gingivitis setelah pemasangan mahkota tiruan akrilik, berusia antara 20-25 tahun, berjumlah 9 orang, terdiri dari wanita sebanyak 6 orang dan 3 orang pria. Pasien ini kemudian dibagi kedalam tiga kelompok : Kelompok kontrol negatif (base gel), kelompok perlakuan (gel ekstrak bunga Rosella), dan kelompok kontrol positif (Povidon Iodine)

Bahan yang digunakan dalam pembuatan gel pada penelitian ini adalah bunga Rosella yang telah dikeringkan (*simplisia*) kemudian diekstrak dengan metode maserasi yaitu merendam bunga rosella kering pada ethanol 70% selama tiga hari untuk mendapatkan ekstrak yang kental kemudian dibuat dalam sediaan gel.

Sebelum pengaplikasian gel ekstrak bunga rosella pada pasien, pada penelitian ini, diawali dengan uji pendahuluan (uji daya hambat) antimikroba untuk menentukan konsentrasi dari ekstrak bunga rosella yang akan digunakan. kemudian dilakukan uji daya hambat dengan menggunakan konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5% dan 10% terhadap bakteri *S.Sanguis* dan *P. Gingivalis*. Hasil dari uji daya hambat ini didapatkan ekstrak bunga Rosella pada konsentrasi 10% efektif menghambat pertumbuhan ke dua bakteri tersebut.

Pengambilan sampel, Sebelum pengambilan sampel, pasien yang masuk dalam kriteria inklusif terlebih dahulu diminta kesediaan mengikuti prosedur penelitian dengan mengisi *informed consent*. Sampel yang diambil adalah GCF dengan menggunakan *paper strip* yang diletakkan pada daerah gingivitis setelah pemasangan mahkota tiruan akrilik dan dibiarkan sekitar 10 menit agar GCF dapat terserap maksimal. Pengambilan GCF ini dilakukan sebelum dan 6 hari setelah aplikasi gel ekstrak bunga rosella. *Paper strip* yang mengandung GCF tersebut kemudian dimasukkan ke dalam larutan L6 yang selanjutnya dilakukan prosedur *Real Time PCR*.

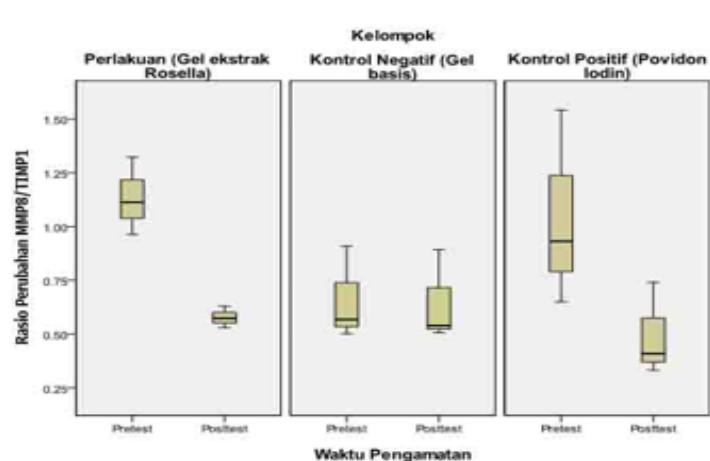
Lenni Indriani: Perubahan rasio ekspresi mRNA MMP-8/TIMP-1

Untuk menilai pengaruh aplikasi gel ekstrak bunga Rosella 10% terhadap rasio perubahan ekspresi mRNA MMP-8/TIMP-1 sebagai pengobatan standar gingivitis post insersi mahkota tiruan, dilakukan analisis dengan *paired t test* pada masing-masing kelompok.

Hasil Penelitian

Gambar 1 dapat dilihat bahwa grafik rasio kadar MMP-8/TIMP-1 pretest ke posttest pada kelompok perlakuan menunjukkan

penurunan, begitu pula pada kelompok kontrol positif; tetapi pada kelompok kontrol negatif tidak menunjukkan perubahan. Pada kelompok kontrol negatif (Gel basis) tidak terjadi perubahan rasio ekspresi mRNA MMP-8/TIMP-1 yang bermakna $p=0,301$ ($p>0,05$); tetapi pada kelompok perlakuan (ekstrak bunga Rosella) terjadi penurunan yang bermakna $p=0,018$ ($p<0,05$); sedangkan pada kelompok kontrol positif (Povidon iodine) terjadi penurunan tetapi sedikit bermakna yaitu $p=0,060$ ($p<0,05$).



Gambar 1. Grafik box plot rasio perubahan ekspresi mRNA MMP-8/TIMP-1 GCF pretest dan posttest pada ketiga kelompok

Pembahasan

Penggunaan berbagai bahan kedokteran gigi dapat menyebabkan respon pada jaringan mukosa mulut. Respon tersebut dikategorikan ringan, sedang dan berat. Bakteri pada plak memegang peranan penting dalam menyebabkan inflamasi pada jaringan gingiva. Bunga Rosella mengandung polifenol yang menurut beberapa penelitian memiliki aktivitas antibakteri dengan cara menghambat perkembangan bakteri *Streptococcus sanguis* yang menjadi pemicu terbentuknya plak gigi dan *pencetus gingivitis*.⁶ Pada penelitian awal, hasil uji daya hambat ekstrak bunga Rosella yang dilakukan terhadap *S. Sanguis* dan *P.gingivalis* ditemukan bahwa zona daya hambat terbesar didapatkan pada konsentrasi 10% untuk bakteri *P.gingivalis* sedang untuk *S. Sanguis* pada konsentrasi 7,5%.⁷

Kemudian faktor kedua adalah kekasaran permukaan pada bahan restorasi, adanya open atau overhanging pada bagian pinggir, dan *overcontouring* atau *undercontouring* restorasi.⁸

Peningkatan MMP-8 terjadi sebagai adanya kerusakan jaringan pada ikatan kolagen. Pada gingivitis, kerusakan matriks disebabkan aktivitas MMP yang dihasilkan oleh leukosit PMN. Diduga, produk bakteri seperti LPS akan mengaktifkan sel fagosit untuk memproduksi mediator seperti IL-1. Mediator ini kemudian akan mengaktifkan sel makrofag dan fibroblast gingiva untuk memproduksi MMP dan regulatornya yaitu TIMP.

Mantyla et al melakukan penelitian tentang mengidentifikasi dan memonitor MMP-8 pada GCF pada subjek penelitian periodontitis sebelum dan setelah perawatan. dengan cara *a rapid chair-side*

dan hasilnya menunjukkan adanya aktifitas kolagenase MMP-8 yang tinggi pada gingiva yang mengalami peradangan dan menurun seiring dilakukan perawatan yang baik pada gingival.⁹ Pada penelitian ini, terlihat adanya penurunan MMP-8 pada kelompok aplikasi gel ekstrak bunga rosella. Penurunan inflamasi serta penekanan kenaikan MMP-8 karena adanya efek farmakologi yang dimiliki oleh bunga Rosella seperti anti inflamasi, antifiral, antimikroba dan sifat antioksidannya, di mana pada semua bagian dari *H. sabdariffa* atau Rosella ditemukan adanya flavonoid¹⁰. Tannin yang ditemukan pada tanaman ini dapat menurunkan proliferasi bakteri dengan memblok enzim pada metabolisme microbial dan Fenol yang terkandung dalam Rosella memiliki sifat farmakologis khususnya sebagai anti inflamasi, antiviral dan sitotoksik.¹¹

Pada penelitian ini digunakan pula povidon iodine (kontrol positif) sebagai bahan yang sering digunakan dalam pengobatan gingivitis. Povidon iodine adalah suatu bahan yang dapat larut dalam air dingin, ethyl alcohol, isopropyl alcohol, polyethylene glycol, dan glycerol, merupakan iodine kompleks yang berfungsi sebagai antiseptik, mampu membunuh mikroorganisme seperti bakteri, jamur, virus, protozoa, dan spora bakteri.) Aktivitas antimikroba povidon iodine didapatkan dari kemampuan oksidasi kuat *iodine* bebas terhadap asam amino, nukleotida dan ikatan ganda, dan juga lemak bebas tidak jenuh. Hal ini menyebabkan povidon iodine mampu merusak protein dan DNA mikroba.¹² Pada hasil penelitian ini pemberian povidon iodine memberikan hasil walaupun sedikit bermakna yaitu terjadi perubahan rasio MMP-8/TIMP-1 dari *base line* karena sifat antiseptik yang dimilikinya, namun penelitian yang dilakukan oleh Goldenheim, povidon iodine tidak memiliki efek penyembuhan luka.¹³

Simpulan

Ketidakseimbangan rasio mRNA MMP-8/TIMP-1 pada pemeriksaan awal gingivitis dapat terlihat meningkatnya MMP-8 dan level

TIMP-1 yang rendah. Dengan pemberian gel ekstrak bunga Rosella 10% pada daerah servikal mahkota tiruan akrilik yang mengalami gingivitis, pemeriksaan mRNA MMP-8 dan TIMP-1 dengan metode RT-PCR menunjukkan adanya perbaikan inflamasi yang ditandai dengan adanya penurunan level MMP-8 dan peningkatan level TIMP-1, sehingga rasio MMP-8/TIMP-1 juga berubah secara signifikan dari *base line*.

Daftar Pustaka

1. Oginni, A.O., Olusile, A.O., Udoe, C.I.,. Distribution and Types of Artificial crowns and Bridges prescribes at a Nigerian Teaching Hospital. Nigerian Journal of Clinical Practice. 2004;7(1): 24-27.
2. Ausschill, TM., Arweiler NB., Breex M., Reich E., Sculean A., Netuschil L. The effect of dental restorative materials on dental biofilm. Eur J Oral Sci. 2002;110:48-53.
3. El Mowaf, O. Gingiva response to crown: 3 year report. JCDA.2007; 73(10)
4. Sorsa, T., Tjaderhane, L., Konttinen, Y.T., Laihio, A., Salo, T., Lee, H.M, Golub, L.M., Brown, D.L., Mantyla, P. Matrix metalloproteinases: Contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. Ann Med; 2006;38(5): 306-321.
5. Sorsa, T., Hernandez, M., Leppilahti, Netuschii, L., Mantyla, P. Detection of gingiva crevicular fluid MMP-8 levels with different laboratory and chair-shide method. Oral Dis. 2010;Jan:16(1): 39-45.
6. Suwandi, T. Pengembangan potensi antibakteri kelopak bunga Hibiscus sabdarifa L(Rosella) terhadap Streptococcus sanguis penginduksi gingivitis menuju obat herbal standar. Disertasi. FKG UI.2012
7. Lenni Indriani, Mochamad Dharmautama, Antimicrobial test of *H. sabdariffa* L (Hibiscas sabdariffa I.) ethanol extract againts Porphyromonas gingivalis and Streptococcus sanguis using agar method (In vitro study). Journal of

- dentomaillofacial Science. 2016
8. McCabe, J.F., Walls, A.W.G. Applied dental Material. edisi 9. Blackwell Publishing.2008;30
 9. Mantyla, P., Stenman ,M., Kinane, D.F., Tikanoja, S,. Louto, H., Solo, T., et al. Gingiva Clrevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontits.J. Periodontal research. 2003; 38: 436-439.
 10. Mungole, A., Chaturvedi, A,. Hibiscus Sabdariffa L A Rich Source Of Secondary Metabolites. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 2011; Volume 6, Issue 1, January – February ; Article-018
 11. Meraiyebu, A.B., Olaniyan, O.T., Eneze, C., Anjorin, Y.D., Dare, J.B. Anti-inflammatory Activity of Methanolic Extract of Hibiscus sabdariffa on Carrageenan Induced Inflammation in Wistar Rat. International Journal of Pharmaceutical Science Invention ISSN (Online):2319 – 6718, ISSN (Print):2319 – 670X www.ijpsi.org.2013;2(3) :22-24
 12. Niedner, R. Cytotoxicity and sensitization of povidone iodine and other frequently used anti infective agents. Dermatology (Serial on Internet) (cited 2010 Dec 27); 1997;195(2):89–92
 13. Goldenheim, P.D. An appraisal of povidone-iodine and wound healing. Postgrad Med J. 1993; 69 Suppl 3:S97-105.