

Respon Limfosit T Sitotoksik Pada Gingivitis Setelah Pemberian Kurkumin (*Cytotoxic T Lymphocytes Response in Gingivitis After Curcumin Given*)

Ni Putu Meilisa Nitawati, Dwi Merry Christmarini Robin, Mei Syafrjadi
Jurusan Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember (UNEJ)
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
E-mail: merrychristmarini@ymail.com

Abstract

Gingivitis is a form of periodontal disease most common in the community. Gingivitis is caused by bacteria in subgingival plaque, one of them is Porphyromonas gingivalis. Curcumin is a phenolic yellow pigment obtained from the powdered rhizome of Curcuma sp. which has anti-inflammatory effects. Curcumin can reduce the number and responses of cytotoxic T lymphocyte by signing on IL-1, IL-2, IL-12, and TNF. Variables observed in this study is the number and response of cytotoxic T lymphocyte in male Wistar rats gingiva. 16 male Wistar rats were divided into two groups: control and treatment groups. To cause gingivitis rats were injected with bacteria P. gingivalis 3x10⁸ CFU concentrations as much as 0.02 ml of the gingival sulcus maxillary left for 2 days. The control group was given PBS and treatment group was given curcumin dose of 0.03 mg / g BW in intragastric starting from day 2 after induction of P. gingivalis. Rats sacrificed on day 3 (72 hours after the induction of P. gingivalis) and day 5, followed by extraction, fixation, tissue processing to be preparations with HE staining and IHC. Observation of the results carried out using a light microscope. Results showed that there was no cytotoxic T lymphocytes in the control and treatment groups, but in HE staining found existence of lymphocytes guess is that memory T lymphocytes (CD45). The conclusion of this study is in IHC staining method there is no difference in the number of cytotoxic T lymphocytes in the control group and the treatment, but in HE staining found existence of lymphocytes guess is that memory T lymphocytes, and the clinical features are redness and swelling until day 3 which the gingival more redness in the control group compared to the treatment group and healing has occurred on day 4 to day 5 in the control and treatment groups.

Keywords: *Cytotoxic T lymphocytes, Curcumin, Gingivitis, Immunohistochemica*

Abstrak

Gingivitis adalah bentuk penyakit periodontal yang paling umum dijumpai di masyarakat. Gingivitis disebabkan oleh bakteri plak pada subgingiva yang salah satunya adalah bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Kurkumin mampu menekan jumlah dan respon limfosit T sitotoksik melalui penekanan pada IL-1, IL-2, IL-12, dan TNF. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah jumlah dan respon limfosit T sitotoksik pada gingiva tikus wistar jantan. 16 ekor tikus Wistar jantan dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan perlakuan. Untuk menyebabkan gingivitis kelompok kontrol dan perlakuan diinjeksi dengan bakteri *P. gingivalis* dengan konsentrasi 3x10⁸ CFU sebanyak 0,02 ml pada sulkus gingiva rahang atas kiri selama 2 hari. Kelompok kontrol diberi PBS dan kelompok perlakuan di beri kurkumin dengan dosis 0,03 mg/g BB secara *intra*gastric yang dimulai dari hari ke-2 setelah induksi *P. gingivalis*. Dekaputasi dilakukan pada hari ke-3 (72 jam pasca induksi *P. gingivalis*) dan hari ke-5, dilanjutkan dengan pengambilan, fiksasi, pemrosesan jaringan sampai menjadi preparat dengan pewarnaan HE dan IHC. Hasil menunjukkan bahwa tidak terdapat limfosit T sitotoksik pada kelompok kontrol dan perlakuan, tetapi ditemukan adanya limfosit pada pewarnaan HE yang di duga adalah limfosit T *memory* (CD45). Kesimpulan dari penelitian ini adalah dengan metode pewarnaan IHC tidak terdapat perbedaan jumlah limfosit T sitotoksik pada kelompok kontrol dan perlakuan tetapi ditemukan adanya limfosit pada pewarnaan HE yang diduga limfosit T *memory* serta terdapat gambaran klinis kemerahan dan pembengkakan sampai hari ke-3 dimana gingiva pada kelompok kontrol lebih kemerahan dibandingkan dengan kelompok perlakuan dan telah terjadi penyembuhan pada hari ke-4 sampai hari ke-5 pada kelompok kontrol maupun perlakuan.

Kata Kunci: Gingivitis, Imunohistokimia, Kurkumin, Limfosit T Sitotoksik

Pendahuluan

Gingivitis adalah bentuk penyakit periodontal yang paling umum dijumpai di masyarakat. Secara klinis gingivitis ditandai dengan peradangan pada daerah gingiva marginal tanpa adanya kehilangan tulang atau perlekatan jaringan ikat. Pada gingiva marginal tampak merah (eritema), bengkak (edema) dan akan mudah berdarah saat probing [1]. Penyebab utama gingivitis adalah bakteri plak pada subgingiva yang meliputi bakteri anaerob gram negatif seperti *Porphyromonas gingivalis* [2].

Porphyromonas gingivalis (*P. gingivalis*) merupakan bakteri anaerob gram negatif yang mengekspresikan berbagai faktor virulensi antara lain: *fimbriae*, *lektin-like adhesin*, kapsul polisakarida, lipopolisakarida, hemaglutinin, hemolisis, membran vesikel dan berbagi enzim proteolitik yang menyebabkan peradangan kronis pada gingiva, kerusakan jaringan dan kehilangan gigi [3].

Penelitian [4] menunjukkan bahwa *fimbriae* memediasi adesi *P. gingivalis* pada epitel. *P. gingivalis* mampu menghambat produksi IL-8 oleh sel epitel yang banyak memberikan keuntungan bagi mikroorganisme dalam menghindari fagositosis oleh sel PMN [5].

Bagian penting lainnya dari bakteri *P. gingivalis* adalah lipopolisakarida (LPS). LPS ini direspon oleh sel-sel inflamator sehingga mengakibatkan inflamasi dengan melepaskan senyawa mediator inflamasi [6]. LPS dapat memicu sintesis asam arakidonat oleh fosfolipase [7]. Asam arakidonat dimetabolisme melalui dua jalur berbeda yaitu siklooksigenase yang menghasilkan prostaglandin dan tromboksan serta jalur lipoksigenase yang menghasilkan leukotrin dan lipoksin [7].

Respon peradangan juga melibatkan sistem imun tubuh. Salah satu sel radang yang terlibat dalam respon peradangan adalah limfosit T. Abbas et al dalam [8] menyatakan respon imun awal limfosit T melalui fase pengenalan antigen, APC akan mengaktifasi limfosit T *naïve*, yaitu proliferasi limfosit T yang spesifik terhadap antigen tersebut. Dan diferensiasi menjadi sel memori dan sel efektor. Limfosit T pada mulanya teraktivasi oleh interaksi dengan makrofag (salah satu APC) yang menyajikan fragmen-fragmen antigen yang telah terproses pada permukaan selnya [9]. Sel T mempunyai beberapa tipe salah satu diantaranya adalah sel T sitotoksik. Sel T sitotoksik merupakan sel penyerang langsung yang mampu membunuh mikroorganisme dan pada suatu saat bahkan membunuh sel-sel tubuh sendiri [10].

Tanaman rimpang mengandung zat aktif yang disebut kurkumin. Kurkumin adalah pigmen fenolik berwarna kuning, diperoleh dari bubuk rimpang *Curcuma sp.* Ekstensif penelitian ilmiah pada kurkumin telah menunjukkan spektrum yang luas dari efek terapi seperti antiinflamasi, antibakteri, antivirus, antijamur, antitumor, antispasmodic dan hepatoprotektif [11].

Mekanisme kurkumin sebagai antiinflamasi adalah dengan menghambat produksi prostaglandin yang dapat diperantarai melalui penghambatan aktivitas enzim siklooksigenase [7]. [12] menyebutkan penghambatan siklooksigenase akan mencegah produksi prostanoide dan akan mengurangi efek inflamasi dan juga menghambat pembentukan senyawa leukotrin melalui penggabungan aktivitas enzim lipoksigenase [11].

Kurkumin juga merupakan inhibitor sitokin pro-inflamasi (IL dan TNF). Tumor nekrosis faktor-alfa (TNF) menginduksi produksi IL-1, berperan penting dalam banyak penyakit inflamasi akut dan kronis. Kurkumin menghambat produksi sitokin pro-inflamasi (TNF- α , IL-1 β , dan IL-8) oleh sel inflamasi paru-paru yang dibuktikan dalam banyak percobaan. Ini juga menunjukkan bahwa kurkumin menghambat *encephalomyelitis* dengan memblokir IL-12 [11]. Goel et al dalam [13] juga menyebutkan bahwa kurkumin menghambat produksi sitokin inflamasi TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, dan IL-12, *monocyte chemoattractant protein* (MCP), dan menghambat migrasi protein, dan menurunkan aktivasi regulasi mitogen.

Berdasarkan penjelasan diatas, peran kurkumin sebagai inhibitor sitokin pro-inflamasi yaitu IL-1, IL-2, IL-12, dan TNF kemungkinan juga akan menyebabkan penurunan jumlah limfosit T sitotoksik pada respon radang tersebut, hal itulah yang mendasari peneliti dalam melakukan penelitian ini.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Sampel yang digunakan sebanyak 16 ekor tikus Wistar jantan dengan berat badan 250-300gr, berusia 3-4 bulan dan dalam keadaan sehat. Sampel dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P). Sebelum dilakukan penelitian, sampel penelitian diadaptasikan selama 7 hari.

Pembuatan kultur bakteri *P. gingivalis* menggunakan media BHI-A dan BHI-B. Pembuatan BHI-A dengan cara 3,7 gram BHI-A dicampur dengan 100 ml aquades steril dalam tabung erlenmeyer, selanjutnya dipanaskan dengan kompor listrik sampai homogen. Setelah itu ditutup kapas dan disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian ditambah 50µl hemin, 10µl vitamin K dan 500µl yeast extract lalu dihomogenkan. Untuk mengetahui media BHI-A steril dilakukan uji sterilisasi dengan cara dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam.

Pembuatan media BHI-B dilakukan dalam tabung erlenmeyer dengan cara 3,7 gram BHI-B ditambah 10 ml aquadest steril. Kemudian dipanaskan dengan kompor listrik sampai homogen. Setelah itu ditutup kapas dan disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan 5µl hemin, 1µl vitamin K dan 50µl yeast extract. Kemudian dilakukan uji sterilisasi dengan memasukkan media BHI-B ke dalam inkubator selama 24 jam.

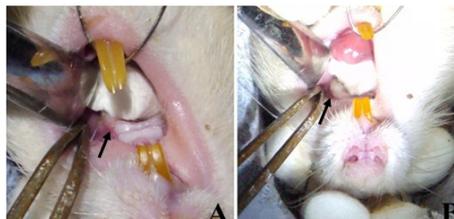
Pembuatan suspensi *P. gingivalis* dilakukan dalam tabung reaksi dengan cara 2 ml media BHI-B ditambahkan 1 ose bakteri *P. gingivalis*. Suspensi *P. gingivalis* tersebut dimasukkan kedalam *decycator* untuk mendapat suasana anaerob, kemudian dimasukkan ke dalam inkubator selama 2x24 jam.

Sampel diinduksi bakteri *P. gingivalis* pada sulkus gingiva rahang atas kiri dengan konsentrasi 3×10^8 CFU sebanyak 0,02 ml selama 2 hari. Pada hari ke-2 setelah induksi *P. gingivalis*, dilakukan pemberian PBS pada kelompok kontrol dan pemberian kurkumin 0,03 mg/g BB secara intragastric. Tikus dikorbankan pada hari ke-3 dan hari ke-5 dengan inhalasi ether dilanjutkan pengambilan jaringan rahang atas kemudian difiksasi menggunakan larutan formalin 10%. Selanjutnya dilakukan prosesing jaringan dengan pewarnaan HE dan IHC.

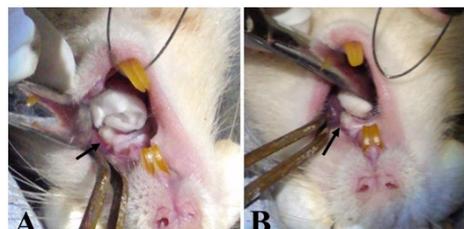
Pengamatan hasil dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dimulai dari pojok kiri bawah, ke kanan, keatas sampai semua lapang pandang terlihat.

Hasil

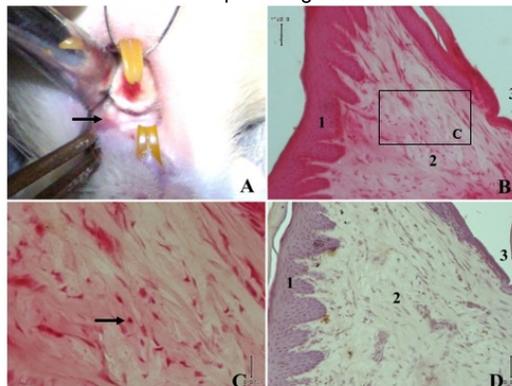
Sampel diinduksi dengan *Porphyromonas gingivalis* secara intrasulkuler (pada sulkus gingiva) dengan konsentrasi 3×10^8 CFU sebanyak 0,02 ml pada regio molar satu rahang atas kiri. Gambaran klinis dan histologis pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan sebagai berikut :



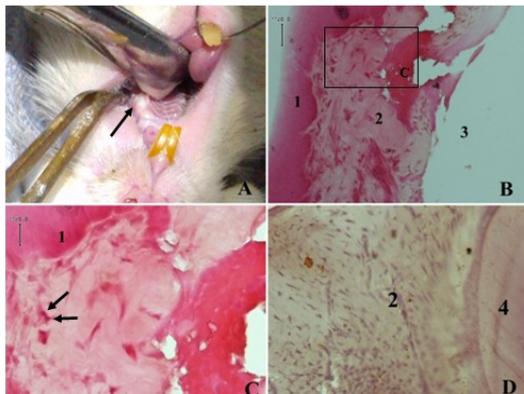
Gambar 1. (A) Gambaran klinis hari ke-1 pada kelompok kontrol. (B) Gambaran klinis hari ke-1 pada kelompok perlakuan, dimana gambaran tersebut setelah 24 jam induksi *P. gingivalis*, terlihat gambaran kemerahan dan pembengkakan pada daerah gingiva (tanda panah).



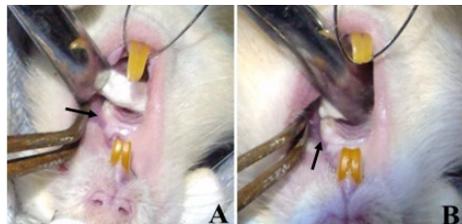
Gambar 2. Gambaran klinis hari ke-2 setelah 48 jam induksi *P. gingivalis* (tanda panah). (A) Kelompok kontrol dengan pemberian PBS 0,5 ml terlihat gambaran kemerahan, pembengkakan dan sedikit *bleeding*. (B) Kelompok perlakuan dengan pemberian kurkumin 0,03 mg/g BB hanya terlihat gambaran kemerahan dan pembengkakan.



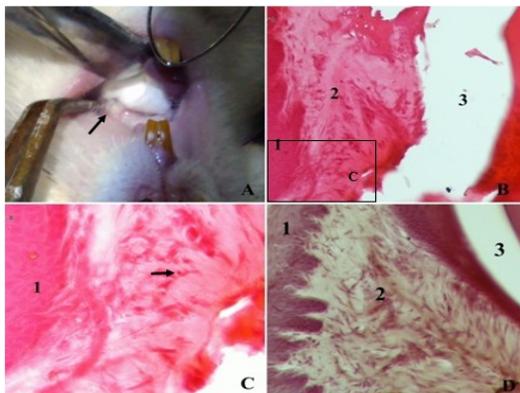
Gambar 3. (A) Gambaran klinis gingivitis hari ke-3 pada kelompok kontrol dengan pemberian 0,5 ml PBS terdapat kemerahan (tanda panah). (B) Gambaran histologis gingivitis menggunakan HE (perbesaran 400x). (C) Gambaran histologis gingivitis hari ke-3 menggunakan pewarnaan HE (perbesaran 1000x) tanda panah menunjukkan adanya limfosit. (D) Gambaran histologis gingivitis hari ke-3 menggunakan pewarnaan imunohistokimia (perbesaran 400x) tidak terdapat adanya limfosit T sitotoksik. (1) Epitel. (2) Jaringan ikat. (3) Sulkus gingiva. (4) Gigi



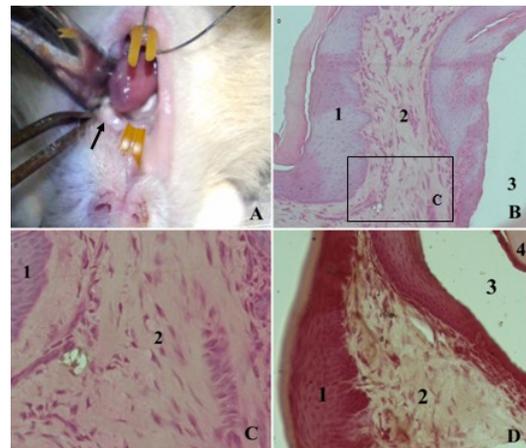
Gambar 4. (A) Gambaran klinis gingivitis hari ke-3 pada kelompok perlakuan dengan pemberian kurkumin 0,03 mg/g BB terdapat kemerahan yang menurun, kemungkinan mulai terjadi proses penyembuhan (tanda panah). (B) Gambaran histologis gingivitis menggunakan pewarnaan HE dengan perbersaran 400x. (C) Gambaran histologis gingivitis hari ke-3 menggunakan pewarnaan HE (perbersaran 1000x) tanda panah menunjukkan adanya limfosit. (D) Gambaran histologis gingivitis hari ke-3 menggunakan pewarnaan imunohistokimia (perbesaran 400x) tidak terdapat adanya limfosit T sitotoksik. (1) Epitel. (2) Jaringan ikat. (3) Sulkus gingiva. (4) Gigi.



Gambar 5. Gambaran klinis hari ke-4 setelah 96 jam induksi *P. gingivalis* tidak terlihat warna kemerahan maupun pembengkakan (tanda panah). (A) Kelompok kontrol dengan pemberian 0,5 ml PBS. (B) Kelompok perlakuan dengan pemberian 0,03 mg/g BB kurkumin.



Gambar 6. (A) Gambaran klinis gingivitis hari ke-5 pada kelompok kontrol dengan pemberian 0,5 ml PBS tidak terdapat warna kemerahan pada gingiva (tanda panah). (B) Gambaran histologis gingivitis menggunakan HE dengan perbersaran 400x. (C) Gambaran histologis gingivitis hari ke-5 menggunakan pewarnaan HE (perbersaran 1000x) tanda panah menunjukkan adanya limfosit. (D) Gambaran histologis gingivitis hari ke-5 menggunakan pewarnaan imunohistokimia (perbesaran 400x) tidak terdapat adanya limfosit T sitotoksik. (1) Epitel. (2) Jaringan ikat. (3) Sulkus gingiva.



Gambar 7. (A) Gambaran klinis gingivitis hari ke-5 pada kelompok perlakuan dengan pemberian kurkumin 0,03 mg/g BB tidak terdapat warna kemerahan pada gingiva (tanda panah). (B) Gambaran histologis gingivitis menggunakan HE dengan perbersaran 400x. (C) Gambaran histologis gingivitis hari ke-5 menggunakan pewarnaan HE (perbersaran 1000x) tidak ditemukan adanya limfosit. (D) Gambaran histologis gingivitis hari ke-5 menggunakan pewarnaan imunohistokimia (perbesaran 400x) tidak terdapat adanya limfosit T sitotoksik. (1) Epitel. (2) Jaringan ikat. (3) Sulkus gingiva. (4) Gigi.

Berdasarkan gambaran klinis pada tikus diatas didapatkan bahwa pada hari ke-1 terlihat warna kemerahan dan pembengkakan pada margin gingiva, hari ke-2 terlihat gambaran kemerahan, pembengkakan dan sedikit *bleeding* pada kelompok kontrol, hari ke-3 terlihat gambaran klinis kemerahan yang telah menurun dibandingkan hari ke-2, hari ke-4 tidak terlihat warna kemerahan maupun pembengkakan kemungkinan telah terjadi proses penyembuhan, dan hari ke-5 pada kelompok kontrol maupun perlakuan tidak terlihat gambaran kemerahan maupun pembengkakan sama halnya pada hari ke-4.

Hasil pengamatan limfosit T sitotoksik dengan menggunakan pemeriksaan imunohistokimia disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil penghitungan jumlah limfosit T sitotoksik

Kelompok	n	\bar{x}
K	K1	4
	K2	4
P	P1	4
	P2	4

Keterangan : K : kelompok kontrol

K1 : kontrol dekaputasi hari ke-3

K2 : kontrol dekaputasi hari ke-5

P : kelompok perlakuan

P1 : perlakuan dekaputasi hari ke-3

P2 : perlakuan dekaputasi hari ke-5

n : sampel

\bar{x} : rata-rata

Tabel dan gambaran histologis di atas menunjukkan bahwa pada pewarnaan imunohistokimia tidak ditemukan adanya limfosit T sitotoksik baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan.

Penelitian ini juga menggunakan pewarnaan *Hematoksilin Eosin* (HE) sebagai pembanding dan pada pewarnaan tersebut diamati sel limfosit. Hasil pewarnaan HE disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata jumlah limfosit

Kelompok	n	\bar{x}
K	K1	4
	K2	4
P	P1	4
	P2	4

Keterangan : K : kelompok kontrol

K1 : kontrol dekaputasi hari ke-3

K2 : kontrol dekaputasi hari ke-5

P : kelompok perlakuan

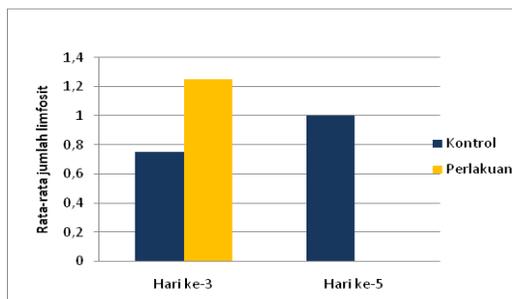
P1 : perlakuan dekaputasi hari ke-3

P2 : perlakuan dekaputasi hari ke-5

n : sampel

\bar{x} : rata-rata

Pada tabel 2 terlihat rata-rata jumlah limfosit pada kelompok kontrol lebih besar dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Hasil pada tabel tersebut menunjukkan bahwa kurkumin dapat menurunkan jumlah limfosit.



Gambar 8. Grafik rata-rata jumlah limfosit.

Pembahasan

Bakteri *P. gingivalis* merupakan bakteri anaerob gram negatif yang memiliki berbagai faktor virulensi antara lain *fimbriae*, *lektin like adesin*, kapsul polisakarida, lipopolisakarida, hemaglutinin, hemolisis, membran vesikel, dan berbagai enzim proteolitik [3]. *P. gingivalis* melekat pada epitel gingiva dimediasi oleh adanya *fimbriae*. Bakteri ini mampu menghambat produksi IL-8 oleh epitel yang memberikan keuntungan dalam menghindari pembunuhan oleh sel PMN [5]. Enzim proteolitik yang dihasilkan oleh bakteri ini juga berperan pada

keradangan kronis dan kerusakan jaringan [3]. Lipopolisakarida *P. gingivalis* berfungsi sebagai modulator peradangan dan perangsang produksi sitokin proinflamasi [15].

Inflamasi gingiva atau gingivitis dibagi menjadi beberapa stage yaitu *stage I initial lesion* secara klinis, respon awal gingiva terhadap bakteri plak tidak terlihat jelas; *stage II early lesion* secara klinis, *early lesion* muncul sebagai gingivitis dini dan berkembang dari lesi awal tanpa ada batas yang jelas, tanda klinis seperti eritema mungkin muncul terutama karena proliferasi kapiler; *stage III established lesion* terjadi *anoxemia* gingiva yang terlokalisasi, menimbulkan rona kebiruan pada gingiva yang memerah, dan *stage IV advanced lesion* perluasan lesi ke tulang alveolar. Infiltrasi limfosit terdapat pada *stage II* yang sebagian besar merupakan limfosit T tetapi juga terdapat neutrofil, makrofag, plasma sel, dan sel mast [5].

Gambaran klinis pada tikus pada hari ke-1 terlihat warna kemerahan dan pembengkakan pada margin gingiva, hari ke-2 terlihat gambaran kemerahan, pembengkakan dan sedikit *bleeding*, hari ke-3 terlihat gambaran klinis kemerahan yang telah menurun dibandingkan hari ke-2, hari ke-4 tidak terlihat warna kemerahan maupun pembengkakan kemungkinan telah terjadi proses penyembuhan, dan hari ke-5 tidak terlihat gambaran kemerahan maupun pembengkakan sama halnya pada hari ke-4.

Salah satu kemungkinan penyebab kegagalan penelitian tidak sesuai dengan yang diharapkan adalah induksi *P. gingivalis* yang kurang efektif yaitu pemberian yang kurang lama ataupun virulensi dari bakteri tersebut sehingga pemberian sebanyak 0,02 ml per hari kemungkinan masih dalam kondisi inflamasi akut dan belum mampu menyebabkan inflamasi kronis.

Inflamasi kronis berlangsung lebih lama (berhari-hari sampai bertahun-tahun) dan ditandai khas dengan influks limfosit dan makrofag disertai dengan proliferasi pembuluh darah. Limfosit T memiliki hubungan timbal balik dengan makrofag pada inflamasi kronis [9].

Respon peradangan pada jaringan gingiva terjadi dalam dua proses. Pertama, terjadinya sintesis asam arakidonat oleh fosfolipase yang dimetabolisme melalui dua jalur yaitu siklooksigenase dan lipoksigenase, dan kedua, respon radang oleh sel-sel radang yang salah satunya adalah limfosit. Limfosit dibagi menjadi dua jenis yaitu limfosit T dan limfosit B. Limfosit T berperan penting dalam sistem imun seluler atau adaptif. Limfosit T memiliki beberapa subset yang salah satunya adalah limfosit T

sitotoksik yang berperan dalam membunuh sel yang mengandung antigen.

Limfosit T terutama T helper diaktifkan oleh IL-1 yang dihasilkan oleh beberapa sel antara lain makrofag dan fibroblas. Limfosit T helper ini memproduksi IL-2 yang memiliki efek perangsang yang sangat kuat untuk pertumbuhan dan proliferasi limfosit T sitotoksik [10]. Selain IL-2, IL-12 juga merupakan faktor penting dalam meningkatkan fungsi sitolitik Limfosit T sitotoksik [16].

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan, bahwa pada kelompok kontrol dan perlakuan tidak ditemukan adanya limfosit T sitotoksik. Tetapi pada pewarnaan HE rata-rata jumlah limfosit pada kelompok kontrol lebih besar dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa kurkumin mempunyai efek menurunkan jumlah limfosit yang sesuai dengan penelitian [18] bahwa kurkumin mampu menghambat proliferasi pada sel limfosit. Efek kurkumin dalam menekan jumlah limfosit ini kemungkinan juga memiliki pengaruh dalam menurunkan jumlah limfosit T sitotoksik.

Beberapa kemungkinan faktor penyebab tidak ditemukannya limfosit T sitotoksik pada pewarnaan IHC antara lain, pertama, kemungkinan faktor imunitas lokal rongga mulut sudah mampu mengatasi infeksi *P. gingivalis* pada sulkus gingiva sehingga limfosit tidak banyak direkrut dalam peradangan ini. Pada penelitian [19] menyebutkan bahwa IgG mampu melindungi host dari infeksi *P. gingivalis*. Selain itu pengaruh kurkumin terhadap IgG juga didukung oleh pernyataan [17] dalam penelitiannya pada tikus dengan *splenic lymphocytes* menunjukkan terapi kurkumin meningkatkan produksi IgG dan juga mungkin dari faktor virulensi dari bakteri *P. gingivalis* dengan jumlah pemberian 0,02 ml selama 2 hari belum mampu menstimulasi respon inflamasi, sehingga belum mampu menimbulkan inflamasi kronis pada hewan coba.

Kedua, makrofag merupakan salah satu sel radang yang teribat pada respon inflamasi. Pada penelitian [17] menyebutkan bahwa kemampuan kurkumin untuk memodulasi aktivitas makrofag. Kurkumin mampu meningkatkan fagositosis makrofag. Hal ini kemungkinan juga telah mampu mengatasi infeksi dari bakteri *P. gingivalis* dan juga kurkumin memiliki efek antiinflamasi sehingga dapat menekan produksi sitokin proinflamasi. Pada penelitian [11] dan [13] menyebutkan bahwa kurkumin mempunyai potensi sebagai inhibitor produksi prostaglandin dan leukotrin dengan menghambat

siklooksigenase (COX) dan lipoksigenase (LOX) dan juga sebagai inhibitor produksi sitokin proinflamasi.

Kurkumin juga menghambat ekspresi dari beberapa interleukin diantaranya IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 dan IL-12 [14]-[17]. Penghambatan pada interleukin ini dapat menyebabkan penurunan jumlah dan respon limfosit T sitotoksik.

Selain itu prosedur pewarnaan imunohistokimia mungkin juga berpengaruh terhadap pewarnaan sel limfosit T sitotoksik dimana pada saat melakukan pembukaan reseptor pada permukaan sel kurang maksimal sehingga antibodi primer tidak dapat berikatan dengan reseptor tersebut. Antibodi yang digunakan untuk pewarnaan jaringan juga sangat berpengaruh, apabila antibodi ini tidak dapat bereaksi dengan reseptor yang terdapat pada permukaan sel maka sel target tidak akan terwarnai dengan baik. Pada penelitian ini digunakan *rat monoclonal* anti CD8 yang kemungkinan tidak dapat bereaksi dengan reseptor sel target. Hal ini disebabkan karena antibodi diisolasi dari spesies yang sama dengan sampel penelitian yaitu tikus (*rat*).

Pada gingivitis juga terjadi proses kerusakan jaringan ikat pada daerah di bawah epitel. Kelompok molekul yang penting dalam kerusakan jaringan adalah berbagai enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme periodontal. Khususnya berbagai enzim proteolitik telah diidentifikasi dari *P. gingivalis* termasuk *trypsin like enzyme* yang mendegradasi kolagen, fibrinogen, dan imunoglobulin. Enzim bakteri dapat memfasilitasi kerusakan jaringan dan invasi bakteri ke jaringan host [5].

IL-1, IL-6, dan TNF juga memiliki peran sentral dalam kerusakan jaringan periodontal. Baik IL-1 dan TNF- α menginduksi produksi proteinase dalam sel *mesenchymal*, termasuk MMPs yang dapat berkontribusi untuk merusak jaringan ikat. LPS merupakan aktivator potensial dari produksi IL-1 oleh makrofag, sedangkan TNF- α dan IL-1 sendiri juga mampu mengaktifkan produksi IL-1 makrofag. Efek proinflamator IL-1 dan TNF- α meliputi; 1) menstimuli sel endotelial untuk mengekspresikan selektin yang memfasilitasi rekrutmen leukosit, 2) mengaktifasi produksi IL-1 oleh makrofag, 3) menginduksi PGE₂ oleh makrofag dan fibroblas gingiva. Sifat ini yang berhubungan dengan destruksi jaringan termasuk stimulasi resorpsi tulang dan menginduksi perusakan jaringan oleh proteinase [5].

Pada proses penyembuhan postinflamasi, penghentian proses inflamasi dan inisiasi penyembuhan postinflamasi disusun oleh leukosit. Beberapa sinyal antiinflamasi penting

yang dihasilkan leukosit mencakup IL-1 *receptor antagonist* (IL-1ra) dan *transforming growth factor beta* (TGF- β). Sitokin lain yang menekan respon inflamasi meliputi IL-4, IL-10 dan IL-11. Pada jaringan periodontal yang terinflamasi, makrofag menghasilkan IL-1ra, sel mast dan limfosit memproduksi TGF- β [5].

Simpulan dan Saran.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :Metode pewarnaan IHC menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan jumlah limfosit T sitotoksik pada gingivitis pada kelompok yang diberikan kurkumin dengan yang tidak diberikan kurkumin. Gambaran klinis ditemukan adanya kemerahan dan pembengkakan sampai hari ke-3 dimana gingiva pada kelompok kontrol lebih kemerahan dibandingkan kelompok perlakuan dan telah terjadi penyembuhan pada hari ke-4 sampai ke-5 pada kelompok kontrol maupun perlakuan. Pada pewarnaan HE didapatkan adanya limfosit yang diduga limfosit T *memory* (CD45) dimana rata-rata pada kelompok kontrol lebih besar dibandingkan kelompok perlakuan.

Saran: perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan variasi dosis dan lama pemberian bakteri *Porphyromonas gingivalis* untuk mengetahui fase inflamasi akut dan inflamasi kronis pada tikus, perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan metode dan antibodi lain untuk pewarnaan imunohistokimia.

Daftar Pustaka

- [1] Júnior, A.B.V., Souza, S. L., Taba, M.
- [2] Grisi, M. F., Suzigan, L. C., Tunes, R. S. "Control of Gingival Inflammation in a Teenager Population Using Ultrasonic Prophylaxis". *Braz Dent*. ISSN 0103-6440. Vol. 15(1) (2004) 41-45
- [3] Suwandi, T. "Perawatan Awal Penutupan Diastema Gigi Goyang Pada Penderita Periodontitis Kronis Dewasa". *Jurnal PDGI*. ISSN: 0024-9548. Vol. 59(3) (2010) 105-109
- [4] Tenorio, E.L., Klein, B.A., Cheung, W.S., Hu, L.T. "Identification of Interspecies Interactions Affecting *Porphyromonas gingivalis* Virulence Phenotypes". *Journal of Oral Microbiology*. ISSN 2000-2297. Vol. 3 (2011)
- [5] Yilmaz, O., Young, P. A., Lamont, R. I., Kenny, G. E. "Gingival Epithelial Cell Signaling and Cytoskeletal Responses to *Porphyromonas gingivalis* Invasion". *Microbiology*. Vol. 149 (2003) 2417-2426
- [6] Newman, M. G., Takei, H. H., Klokkevold, P. R., Carranza, F. A. *Carranza's Clinical Periodontology 10th edition*. St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier Inc (2006)
- [7] Amin, M. H. F., Marhendra, A. P. W., Aulanni'am. "Pengaruh Paparan Lipopolisakarida pada Rongga Mulut dan Assisted Drainage Therapy (ADT) Terhadap Kadar S-IGE dan Profil Radikal Bebas pada Tikus Asma". Seminar Nasional Biologi XX dan Kongres PBI XIV UIN Maliki Malang. ISBN 978-602-95471-0-8 (2009)
- [8] Rustam, E., Atmasari, I., Yanwirasti. "Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar". *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. ISSN 1410-0177. Vol. 12(2) (2007) 112-115
- [9] Wahyuniari, I., Soesatyo, Marsetyawan H. N. E., Ghufron, M., Yustina, Sumiwi, A. A., Wiryawan, S. "Minyak Buah Merah Meningkatkan Aktivitas Proliferasi Limfosit Limpa Mencit Setelah Infeksi *Listeria Monocytogene*". *Jurnal Veteriner*. ISSN : 1411-8327. Vol. 10 No. 3 (2009) 143-149
- [10] Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L. *Buku Ajar Patologi Robbins Edisi 7*. Alih Bahasa oleh Awal Prasetyo, Brahm U dan Toni Priliono. Jakarta: EGC (2007)
- [11] Guyton, A.C. & Hall, J.E. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi. 11*. Jakarta: EGC (2007)
- [12] Kohli, K., Ali, J., Ansari, M. J., and Raheman, Z. "Curcumin: A Natural Antiinflammatory Agent". *Indian J Pharmacol*. Vol. 37(3) (2005) 141-147
- [13] Purwaningsih, E. "Efek Kurkumin dan Pentagamavunon- 0 Terhadap Viabilitas Kultur Sel Luteal". *Jurnal Kedokteran YARSI*. Vol. 17(1) (2009) 045-053
- [14] Jurenka, J. S. "Anti-inflammatori Properties of Curcumin, a Major Constituent of *Curcuma Longa* : A Review of Preclinical and Clinical Research". *Alternative Medicine Review*. Vol. 14(2) (2009) 141-153

- [15] Hasturk, H., Jones, V. L., Andry, C., Kantarci, A. "1-Tetradecanol Complex Reduces Progression of *Porphyromonas gingivalis*-Induced Experimental Periodontitis in Rabbits". *Journal Periodontal*. Vol. 78 (5) (2007)
- [16] Ouhara, K., Kawai T., Silvia M.J.B., Fujita T., Hayashida, K., Karimbux, N.Y., Kajiya, M., Shiba, H., Kawaguchi, H., Kurihara, H. "Expression Level of Novel Cytokine IL-32 in Periodontitis and its Role in the Suppression of IL-8 Production by Human Gingival Fibroblast Stimulated with *Porphyromonas gingivalis*". *Journal of Oral Microbiologi*. ISSN 2000-2297. Vol. 4 (2012)
- [17] Bratawidjaja, K.G., Rengganis, I. *Imunologi Dasar Edisi 8*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI (2009)
- [18] Jagetia, G. C., Aggarwal, B. B., "Spicing Up of the Immune System by Curcumin". *Journal of Clinical Immunology*. Vol. 27 (1) (2007)19-35
- [19] Khairial. *Efek Kurkumin Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Dari Limpa Mencit C3H Bertumor Payudara Secara In Vitro*. Thesis. Tidak dipublikasikan. Universitas Indonesia (2012)
- [20] Guzman, M. Y. M., Ramirez, M. A., Mendoza, A. Y. A., Taraco, A.G. R. "Detection of IgG, IgA, and IgM Antibodies Against *Porphyromonas gingivalis* in Gingival Crevicular Fluid and Saliva in Patiens with Chronic Periodontitis". *Journal of Infectious Diseases and Immunity*. Vol. 4(1) (2012) 10-15 UNEJ