

STIMULASI EKSTRAK PROPOLIS PADA ODONTOBLAST LIKE CELLS YANG DIINDUKSI LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS INAKTIF TERHADAP EKSPRESI TLR2 DAN TNF α

Ira Widjiastuti*, Nadia Irnatari**, Mandojo Rukmo*

Keywords:

Inactive *Lactobacillus acidophilus*, odontoblast like cells, propolis extract

ABSTRACT

Background: *Lactobacillus acidophilus*, Gram-positive bacterias that enter the dentinal tissue during the carious process are suspected to influence the immune response in human dental pulp. Odontoblasts situated at the pulp dentin interface are the first cells encountered by these bacteria and have an important role in this response. Lipoteichoic acid (LTA), a wall component of Gram-positive bacteria, triggered the activation of the odontoblasts. LTA up-regulated the expression of its own receptor TLR2, as well as the production of proinflammatory cytokine TNF α . Propolis is a resinous material that holds a great potential as an antiinflammatory agent. Present studies have shown that propolis has a reduction effect towards the proinflammatory cytokines expression and favor pulp healing.

Purpose: To reveal the molecular mechanism of propolis stimulation on odontoblast like cells, induced by inactive *Lactobacillus acidophilus*.

Methods: This review was presented in odontoblasts like cells culture induced by inactive *Lactobacillus acidophilus* and exposed to propolis extract. Pulp cell culture isolated from human impacted thirds molar that has been extracted. Observation and measurement the expression of TLR2 and TNF α was processed by using immunocytochemistry (ICC) technic.

Result: Data analysis with ANOVA test, a significant difference in every group ($p < 0,05$) was present. The expression of TLR2 and TNF α were shown at low level percentation on odontoblast like cells, induced by *Lactobacillus acidophilus* and propolis extract stimulation.

Conclusion: Propolis extract stimulations lower the TLR2 and TNF α expression on odontoblast like cells, induced by inactive *Lactobacillus acidophilus*

PENDAHULUAN

Karies gigi adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri kariogenik yang berasal dari rongga mulut, khususnya bakteri yang berkoloni di permukaan gigi. Karies gigi dan penyakit periodontal adalah penyakit yang disebabkan oleh aktivitas kuman flora mulut yang tidak dapat diatasi oleh mekanisme pertahanan tubuh. *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri yang terdapat dalam biofilm kariogenik

dan sangat berperan pada proses karies. *Lactobacillus Sp* mempunyai peran sekunder dalam pembentukan karies gigi, serta memiliki sifat asidogenik dan asidurik yang berarti dapat hidup dalam suasana asam dengan mengadakan fermentasi karbohidrat.¹

Bakteri yang terdapat pada karies dentin pada umumnya adalah *Lactobacillus acidophilus*. *Lactobacillus acidophilus* termasuk bakteri Gram positif yang mengeluarkan toksin berupa Lipoteichoic acid (LTA). LTA ini terkandung dalam dinding sel

*Staff Pengajar Departemen Ilmu Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia, **Mahasiswa Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia
Korespondensi: irawidji@yahoo.com

bakteri dan merupakan salah satu komponen penting bakteri Gram positif. Bakteri gram positif masuk ke dalam jaringan dentin melalui proses karies dan merangsang respon imun di pulpa gigi manusia.² Odontoblas menanggapi bakteri karies gigi melalui reseptor TLR2 dan TLR4. LTA *Lactobacillus* menginduksi Tumor necrosis factor alpha (TNF α) melalui TLR2.³

Odontoblas merupakan sel pertama yang berkontak dengan bakteri dan memiliki peran penting dalam sistem imun awal di pulpa gigi. Odontoblas adalah sel kolumnar yang tinggi dan terletak di bagian perifer dari pulpa gigi. Sel-sel ini tersusun berupa lapisan tunggal yang mengalami polarisasi dan diferensiasi sel sepanjang permukaan antara pulpa gigi dan tubulus yang termineralisasi. Odontoblas bertanggung jawab untuk pembentukan dan pemeliharaan dentin yang merupakan suatu jaringan kolagen berbasis mineral selama perkembangan dan pertumbuhan gigi.⁴

Respon imun terjadi pada kavitas yang dalam dan respon ini tergantung dari jenis bakteri yang menginvasi. *Lactobacillus* termasuk dalam bakteri gram positif yang akan mengeluarkan toksin berupa LTA. LTA akan merangsang odontoblas, mengekspresikan TLR2, serta TNF α . TNF α merupakan salah satu sitokin yang berperan dalam inflamasi. Sitokin mengaktifkan reaksi host terhadap antigen asing atau agen penyebab cedera dengan cara mengatur pertumbuhan, mobilitas, dan diferensiasi leukosit. TNF α merupakan sitokin yang terlibat dalam inflamasi sistemik dan merupakan anggota dari kelompok sitokin yang merangsang reaksi fase akut. TNF α terutama dihasilkan oleh makrofag yang aktif, meskipun dapat diproduksi oleh jenis sel lainnya, misalnya odontoblas. TNF α merupakan stimulus yang potensial terhadap ekspresi TLR2. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian

Penelitian yang dilakukan oleh Mohsin pada tahun 2007 menunjukkan bahwa aksi autokrin atau parakrin TNF α pada tikus akibat dari stimulasi bakteri, dapat meningkatkan ekspresi TLR2. Hal ini tampak dari adanya kenaikan level ekspresi TLR2 pada microglia tikus wild-type yang diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus*.⁵

Mekanisme sinyal pada *Lactobacillus* meliputi reseptor pengenalan antara lain TLRs, nucleotide oligomerization domain-like receptors dan C-type lectin receptors.⁶ Pengaruh terbesar dari aktivasi TLR adalah terjadinya kenaikan regulasi molekul efektor imunitas innate, yaitu peptida antimikrobal, sitokin proinflamasi, serta kemokin.⁷ TLR menginduksi sinyal awal sehingga mengaktifkan NF κ B yang merupakan faktor transkripsi gen pro-inflamatori. TLR2 dan TLR4 telah banyak dipelajari, berkaitan dengan sifatnya yang dapat mengenali mikroorganisme. TLR2 dapat mengenali komponen dari bakteri gram positif dan fungi zymozan, sedangkan TLR4 mengenali komponen dari gram negatif bakteri lipopolisakarida (LPS).⁸

Berdasarkan penelitian oleh Farges tahun 2009 menyatakan bahwa TLR2 pada odontoblas merupakan komponen yang fungsional dan dapat diaktivasi oleh LTA. Aktivasi ini meningkatkan ekspresi TLR2 serta menginduksi NF κ B.⁹

Pada kondisi klinis gigi yang mengalami karies dentin dengan kavitas dalam atau karies profunda, tidak ada keluhan rasa sakit spontan dan masih vital, akan dilakukan perawatan pulp capping.¹⁰ Sampai saat ini, bahan-bahan yang digunakan pada perawatan pulp capping masih mengandung bahan kimia sehingga dapat menyebabkan efek degeneratif terhadap sel serta dapat menyebabkan nekrosis terutama pada lapisan superfisial pulpa. Oleh karena

itu diperlukan suatu bahan alternatif lain untuk pulp capping dari bahan alami yang tidak mengandung bahan kimia dan biokompatibel terhadap jaringan keras dan pulpa gigi, serta memiliki efek antibakteri. Bahan alami yang dapat digunakan sebagai bahan pulp capping salah satunya adalah propolis karena propolis selain memiliki efek antibakteri juga dapat menstimulasi dentin reparatif, collagen formation, serta dapat mengurangi inflamasi dari jaringan pulpa.¹¹

Propolis diketahui mengandung resin dan bahan-bahan bioaktif antara lain bioflavonoid, artemisinin, apigenin, Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) yang mempunyai peranan dalam penanggulangan inflamasi, antioksidan, antibakteri, dan antivirus, immunomodulator serta merangsang penyembuhan jaringan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Bankova pada tahun 2009 yang menyatakan bahwa CAPE dapat menghambat aktivasi dari NF κ B sehingga sekresi TNF α juga akan terhambat.¹² Propolis memiliki aktivitas antibakteri melawan bakteri oral patogen anaerobik tertentu, diantaranya yaitu paling efektif melawan *Peptostreptococcus anaerobius*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces naeslundii*, *Prevotella oralis*, *Prevotella melaninogenica*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* dan *Veillonella parvula*.¹³

Penelitian mengenai ekstrak propolis telah banyak dilakukan, namun mekanisme molekuler stimulasi ekstrak propolis terhadap kultur odontoblast like cells yang diinduksi oleh *Lactobacillus acidophilus* inaktif, yaitu bakteri spesifik penyebab terjadinya karies dentin masih belum jelas. Pada penelitian ini dipilih bahan alam propolis karena mempunyai sifat antiinflamasi sehingga diharapkan

dapat menyembuhkan inflamasi jaringan pulpa. Toksin dari *Lactobacillus acidophilus* yaitu LTA akan merangsang odontoblast, serta menginduksi TNF α melalui TLR2.² Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian apakah ekstrak propolis dapat mempengaruhi ekspresi TLR2 dan TNF α pada kultur odontoblast like cells yang diinduksi bakteri *Lactobacillus acidophilus* inaktif.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan jumlah sampel 30 kultur sampel yang dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu: kelompok A adalah kelompok TLR2 dan kelompok B adalah kelompok TNF α ; masing-masing terdiri dari 3 kelompok, yaitu: kelompok I sebagai kelompok kontrol negatif (kelompok odontoblast like cells), kelompok II sebagai kelompok kontrol positif (diinduksi *Lactobacillus acidophilus* inaktif), dan kelompok III (dipaparkan ekstrak propolis).

Langkah pertama dan penting adalah isolasi sel memberikan potensi untuk berdiferensiasi menjadi odontoblast-like cells. Serangkaian percobaan telah menunjukkan bahwa sel-sel pulpa gigi dapat diisolasi dari manusia (usia 14-29 tahun) diekstraksi dari molar ketiga. Permukaan gigi dibersihkan dengan menutup dengan gel klorheksidin 0,3%, diusap dengan 70% (v / v) alkohol atau dicelupkan hati-hati dalam hidrogen peroksida 30% untuk 30 sampai 120 detik. Pulpa dibuka dengan memotong sekitar persimpangan sementum enamel, untuk mendapatkan akses ke ruang pulpa, digunakan bur fisura gigi yang disterilkan sebelumnya. Setelah pemisahan jaringan

pulpa, sel dapat diisolasi dan dikultivasi dengan cara digesti.

Jaringan pulpa dilakukan digesti dalam larutankolagenasetipeI, Suspensi sel kemudian disentrifugasi dan pelet disuspensikan dalam medium Dulbecco yang dimodifikasi Eagle (DMEM). Suspensi sel tunggal dapat diperoleh dengan melewati sel melalui saringan 70 um (falcon) dan dan ditanam pada plate 6 well, pada medium DMEM dengan 10-20% FCS, 100 µM ascorbic acid 2-phosphate, 2 mM L-glutamine, 100 Units/ml penicillin and 100 µg/ml streptomycin.

Diferensiasi odontoblast like cells dilakukan suplemetasi dengan 10 nM dexamethasone, 50 µg/ml ascorbic-acid and 10 mM glycerophosphate atau dengan penambahan BMP-2 (100-200 ng/ml) pada medium prolifresi (DMEM + 10% FBS + penicillin/streptomycin).

Sebelum dipaparkan, *Lactobacillus acidophilus* dipanaskan pada 121°C selama 5 menit. Pemaparan bakteri dilakukan dengan perbandingan 1 : 25. Kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada inkubator dengan 5% CO₂ pada 37°C.¹¹

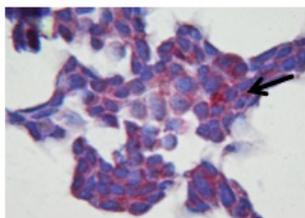
Identifikasi TLR2 dan TNFα dilakukan

dengan teknik immunositokimia (ICC), menggunakan anti TLR2 dan anti TNFα, dengan prosedur sesuai dengan petunjuk pelaksanaan dari Immunostaining Kit assay.

HASIL PENELITIAN

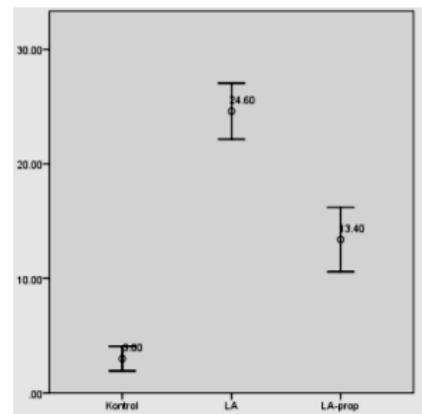
Data nilai rerata sel yang mengekspresikan TLR2 pada odontoblast dengan induksi *Lactobacillus acidophilus* inaktif dan dipapar ekstrak propolis (tabel 1 dan gambar 2) menunjukkan bahwa dengan diberikannya ekstrak propolis maka terjadi penurunan rerata sel yang mengekspresikan TLR2. Uji Anova pada seluruh kelompok menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,000$). Uji LSD dilakukan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, sehingga didapatkan hasil antara kelompok *Lactobacillus acidophilus* (1: 25) dan kelompok *Lactobacillus acidophilus* (1: 25) yang dipapar ekstrak propolis 3µg/ml terdapat perbedaan bermakna dengan $p=0,000$.

Pemeriksaan immunositokimia untuk mengetahui jumlah sel yang mengekspresikan TLR2 dilakukan dengan cara pemulasan immunostaining menggunakan anti TLR2



(a)

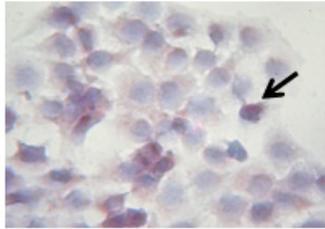
Gambar 1. Kultur Odontoblast like cells dengan pewarnaan AEC (amino ethyl carbazole) dan pembesaran 400x. Tanda panah menunjukan sel yang mengekspresikan TLR2 yang terdistribusi pada sitoplasma odontoblas (warna merah)



Gambar 2. Rerata sel yang mengekspresikan TLR2 pada kultur odontoblast like cells yang diinduksi *Lactobacillus acidophilus* inaktif

Tabel 1. Rerata dan simpang baku ekspresi TLR2 masing-masing kelompok penelitian

Kelompok	Rerata (%)	Simpang Baku
Kontrol (-)	3,00	1,22
Kontrol (+)	24,6	2,79
Propolis	13,4	3,21



(b)

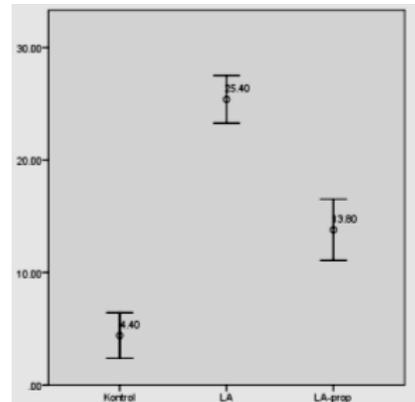
Gambar 3. Kultur odontoblast like cells dengan pewarnaan AEC dan pembesaran 400x. Tanda panah menunjukkan sel yang mengekspresikan TNF α yang terdistribusi pada sitoplasma odontoblas (warna merah)

antibodi. Tampak ekspresi TLR2 (warna merah) terdistribusi pada sitoplasma kultur odontoblast like cells seperti terlihat pada gambar 1.

Data nilai rerata sel yang mengekspresikan TNF α pada odontoblast like cells dengan induksi *Lactobacillus acidophilus* inaktif dan dipapar ekstrak propolis (tabel 2 dan gambar 4) menunjukkan bahwa dengan diberikannya ekstrak propolis maka terjadi penurunan rerata sel yang mengekspresikan TNF α . Uji Anova pada seluruh kelompok menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,000$). Uji LSD dilakukan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, sehingga didapatkan hasil antara kelompok *Lactobacillus acidophilus* inaktif (1: 25) dan kelompok *Lactobacillus acidophilus* inaktif (1: 25) yang dipapar propolis 3 μ g/ml terdapat perbedaan bermakna dengan

Tabel 2. Rerata dan simpang baku ekspresi TNF α masing-masing kelompok penelitian

Kelompok	Rerata (%)	Simpang Baku
Kontrol (-)	4,40	2,302
Kontrol (+)	27,20	3,834
Propolis	13,80	3,114

Gambar 4. Rerata sel yang mengekspresikan TNF α pada kultur odontoblast like cells yang diinduksi *Lactobacillus acidophilus* inaktif

$p=0,000$.

Pemeriksaan immunositokimia untuk mengetahui jumlah sel yang mengekspresikan TNF α dilakukan dengan cara pemulasan immunostaining menggunakan anti TNF α antibodi. Tampak ekspresi TNF α (warna merah) terdistribusi pada sitoplasma kultur odontoblast like cells seperti terlihat pada gambar 3.

DISKUSI

Karies dentin dengan kavitas dalam atau disebut karies profunda, tidak ada keluhan rasa sakit spontan dan masih vital dapat dilakukan perawatan pulp capping.¹⁰ Bahan-bahan yang digunakan pada perawatan pulp capping saat ini masih mengandung bahan kimia sehingga dapat menyebabkan efek degeneratif terhadap

sel serta dapat menyebabkan nekrosis terutama pada lapisan superfisial pulpa. Oleh karena itu, diperlukan suatu bahan alternatif dari bahan alami yang tidak mengandung bahan kimia dan biokompatibel terhadap jaringan keras dan pulpa gigi, serta memiliki efek antiinflamasi dan antibakteri. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai bahan pulp capping adalah propolis karena memiliki efek antibakteri dan dapat menstimulasi dentin reparatif, collagen formation, serta dapat mengurangi inflamasi jaringan pulpa.¹²

Pada penelitian ini dipilih bahan alam propolis karena berbagai macam kandungan bahan aktif propolis yang mempunyai sifat antiinflamasi sehingga diharapkan dapat menyembuhkan inflamasi yang terjadi pada jaringan pulpa gigi. Pemilihan model in vitro odontoblast like cells didasarkan pada kesederhanaan model dan homogenitas dari sel yang dikembangkan serta berlimpahnya sumber jaringan untuk dilakukan kultur primer. Pada penelitian in vitro, sel ini tidak mempunyai karakteristik morfologi odontoblas namun beberapa bukti menunjukkan bahwa saat terjadi induksi, odontoblas berperan dalam respon imun gigi dengan konsisten memproduksi komponen imunitas natural dan imunitas adaptif serta mengekspresikan sitokin dan kemokin.¹³

Penelitian ini menggunakan odontoblast like cells yang dipapar bakteri *Lactobacillus acidophilus* inaktif untuk menginduksi ekspresi sitokin proinflamasi. Kultur odontoblast like cells didapatkan dari jaringan pulpa gigi molar tiga rahang bawah impaksi yang telah diekstraksi dari penderita usia 14-29 tahun.¹⁴ Pemilihan tersebut berdasarkan bahwa selama proses pertumbuhan gigi hanya dibutuhkan sejumlah minimum dari sel progenitor odontoblas yang

mengalami mitosis sebelum berdiferensiasi membentuk odontoblas.

Bakteri gram positif masuk ke dalam jaringan dentin melalui proses karies dan menyebabkan respon imun di pulpa gigi. *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri gram positif yang memiliki komponen dinding membran sel yaitu LTA yang bersifat hidrofob. LTA berikatan dengan reseptor ekstraseluler kemudian mengaktifkan TLR dan menginduksi sitokin pro inflamasi.¹⁵ TLR yang aktif, akan menarik molekul adaptor di dalam sitoplasma sel sebagai upaya menyebar sinyal. Molekul adaptor tersebut adalah MyD88, TIRAP (Mal), TRIF, dan TRAM. Molekul adaptor mengaktifkan molekul lainnya di dalam sel, termasuk protein kinase (IRAK1, IRAK4, TBK, dan IKKi) yang memperkuat sinyal dan akhirnya menginduksi atau menekan gen yang mengekspresikan respon inflamasi.¹⁶

Odontoblast like cells yang diinduksi bakteri *Lactobacillus acidophilus* inaktif pada penelitian ini, dapat meningkatkan ekspresi TLR2 dan TNF α . Hal ini sesuai dengan penelitian Durand pada tahun 2006 bahwa LTA menaikkan regulasi ekspresi reseptornya sendiri yaitu TLR2 serta menaikkan produksi dari beberapa kemokin. Akira pada tahun 2000 menyatakan bahwa LTA masuk ke dalam sitoplasma kemudian berikatan dengan TLR2 pada bagian ekstraseluler. LTA yang diikat oleh TLR2 pada permukaan sel akan meneruskan sinyal transduksi intraseluler. TLR2 menginduksi molekul adaptor spesifik yaitu MyD88 dan MAL yang selanjutnya akan berikatan dengan IRAK, mengaktifkan TRAF6, dan akan mengaktifkan kompleks protein kinase, sehingga memfosforilasi IKK yang kemudian mengaktifkan NF κ B. IKK memfosforilasi I κ B sehingga terjadi pelepasan

NF κ B dan bertranslokasi dari sitoplasma ke inti sel menjadi aktivator transkripsi gen yang kemudian menghasilkan sitokin proinflamasi, yaitu TNF α .^{2,17}

NF κ B merupakan faktor transkripsi yang akan masuk ke dalam inti sel dan akan mengaktifkan transkripsi bermacam-macam gen target. Aktivasi protein NF κ B yang disebabkan oleh produk bakteri dapat mensekresi berbagai sitokin termasuk sitokin proinflamasi.¹⁸ Ekstrak propolis mengandung bahan aktif yang dapat memberikan efek antiinflamasi, yaitu dengan cara menghambat aktivasi NF κ B. Hal ini sesuai dengan penelitian Bankova pada tahun 2009 yang menyatakan bahwa CAPE yang terkandung dalam propolis memiliki efek penghambatan terhadap faktor transkripsi NF κ B, sehingga transkripsi gen juga akan terhambat.¹¹

Hasil penelitian pada seluruh kelompok dianalisa menggunakan uji Anova yang menunjukkan $p=0,000$ ($p<0,05$) menunjukkan perbedaan yang bermakna). Nilai ekspresi diperoleh dari pemeriksaan immunositokimia dengan cara pemulasan immunostaining menggunakan anti TLR2 antibodi dan anti TNF α antibodi. Penelitian ini menunjukkan bahwa data nilai rerata sel yang mengekspresikan TLR2 dan TNF α pada kultur odontoblast like cells dengan induksi *Lactobacillus acidophilus* inaktif setelah dipaparkan ekstrak propolis terjadi penurunan hasil yang signifikan.

Reseptor pada permukaan sel memiliki jumlah yang tidak konstan, hal ini menunjukkan bahwa situasi dan kondisi ikut menentukan jumlah dan fungsi reseptor. Jumlah reseptor dapat meningkat (up-regulation) atau menurun (down-regulation).¹⁶ Pada hasil penelitian ini ekspresi TLR2 dan TNF α setelah diinduksi LTA menunjukkan peningkatan nilai ekspresi, tetapi

setelah dipaparkan ekstrak propolis mengalami penurunan ekspresi secara signifikan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wang et al pada tahun 2010 yang membuktikan bahwa ekstrak propolis memiliki sifat antiinflamasi, mengandung resin dan bahan-bahan bioaktif antara lain bioflavonoid, artemisinin, apigenin, CAPE yang mempunyai peranan dalam penanggulangan inflamasi, antioksidan, antibakteri, dan antivirus, immunomodulator serta merangsang penyembuhan jaringan. Pemeriksaan histopatologi menunjukkan bahwa CAPE secara signifikan menekan peradangan. CAPE merupakan komponen aktif dalam propolis yang dapat menghambat produksi sitokin dan kemokin, proliferasi sel T, dan produksi limfokin sehingga terjadi penurunan proses inflamasi melalui jalur sinyal NF κ B.¹⁹

Ekstrak propolis menurunkan ekspresi TLR2 dan TNF α dengan menghambat ekspresi sitokin proinflamasi.²⁰ Ekstrak propolis menghambat fosforilasi I κ B sehingga NF κ B menjadi tidak aktif dan proses transkripsi gen TNF α menjadi terhambat yang ditandai dengan adanya penurunan ekspresi TNF α . Penelitian ini didukung oleh hasil penelitian Aviello et al pada tahun 2010 dan Salatino et al pada tahun 2011 yang menyatakan bahwa caffeic acid, quercetin, hesperidin, dan flavonoid dalam propolis dapat menghambat sintesis DNA dan produksi sitokin inflamasi.^{21,22}

Karies yang telah mencapai dentin, membutuhkan perawatan pulp capping dengan bahan yang memiliki efek samping minimal. Pemberian ekstrak propolis dari bahan alami bertujuan agar terjadi suatu perbaikan pada dentin, pada penelitian ini juga ditandai dengan menurunnya ekspresi TLR2. Phenolic compounds yang terkandung dalam

propolis dapat berinteraksi dengan lipid yang terdapat di dalam membran sel, berdasarkan perlekatannya secara fisik. Namun belum dapat diketahui secara pasti mekanisme propolis dalam mempengaruhi aktivitas biologi dari reseptor sel.⁸

Dentin mengandung transforming growth factor-1 (TGF β -1). TGF β -1 merupakan sitokin yang memiliki peran penting sebagai regulator potensial dalam respon inflamasi. TGF β -1 dilepaskan dari karies dentin dan memberikan aktivitas antiinflamasi dengan menghambat ekspresi TLR2 dan TLR4 serta sitokin proinflamasi.²³ Hal ini sesuai dengan Farges pada tahun 2009 yang menyatakan bahwa TGF β -1 dapat mengurangi aktivitas TLR signaling. TGF β -1 dapat menghambat ekspresi TLR2 dan TLR4 pada odontoblast like cells sehingga mengurangi efektivitas respon bakteri. Pada penelitiannya, Ansorgen pada tahun 2003) menyatakan bahwa ekstrak propolis dapat menginduksi TGF β -1 sebagai antiinflamasi sehingga TLR2 mengalami penurunan jumlah reseptor (down-regulation).^{9,24} Peristiwa tersebut diatur dalam beberapa cara, yaitu reseptor dapat diinternalisasikan oleh proses endositosis, reseptor dihancurkan atau disimpan di dalam vesikel, dan aktivitas reseptor mengalami modifikasi sehingga tidak dapat terikat pada ligan, atau terikat, tetapi membentuk kompleks ligan-reseptor yang tidak menginduksi respons selular normal.¹⁶

Ekstrak propolis menekan ekspresi sitokin proinflamasi lebih baik dibandingkan dengan quercetin, hesperidin, dan CAPE, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak propolis memiliki efek sinergis dalam menghambat sitokin proinflamasi.²⁵ Pada penelitian Farges pada tahun 2009 disebutkan bahwa odontoblast like

cells yang diinduksi LTA akan memicu ekspresi TLR2 dan mengaktifkan NF κ B sehingga masuk ke dalam inti sel yang akhirnya memproduksi kemokin dan sitokin.⁹ Semua proses ini memiliki potensi target sehingga pada akhirnya akan mengarah kepada peradangan pulpa. Beberapa peristiwa dapat dipertimbangkan untuk mencapai penyembuhan peradangan pulpa, termasuk menghambat transduksi sinyal intraselluler melalui TLR2 dan sitokin atau kemokin proinflamasi pada sel odontoblas sehingga menghasilkan pemahaman yang lebih baik mengenai mekanisme molekuler pada kultur odontoblast like cells yang dipapar bakteri sehingga akan membuka cara untuk merancang bahan terapi yang efektif memodulasi sel pulpa agar terjadi penyembuhan dan perbaikan melalui pembentukan dentin reparatif.

KESIMPULAN

Stimulasi ekstrak propolis dapat menurunkan ekspresi TLR2 dan TNF α pada kultur odontoblast like cells yang diinduksi *Lactobacillus acidophilus* inaktif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yip HK, Guo JH, Wong WH. Incipient caries lesions on cementum by mono- and co-culture oral bacteria. *J Dent.* 2007.35:377–382
2. Durand HS, Flacher V, Romeas A, Carrouel F, Colomb E, Vincnt C, Magloire H, Couble ML, Bleicher F, Staquet MJ, Lebecque S, and Farges JC. Lipotheicoic acid increases TLR and Functional Chemokine Expression while Reducing Dentin Formation in In Vitro Differentiated Human Odontoblasts. *J Immunol.* 2006. 176:2880-2887
3. Horst OV, Tompkins K.A, Coats S.R., Braham P.H Darveau, R.P and Dale, B.A. TGF-1 Inhibits TLR-mediated Odontoblast Responses to Oral Bacteria. *J DENT RES.* 2009. 88-333
4. Arana-Chavez VE and Massa LF. Odontoblasts: the cells forming and maintaining dentine. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology.* 2004.

- 36(8): 1367-1373.
5. Mohsin Md. Syed, Nirmal K. Phulwani, and Tammy Kielian. Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) regulates Toll-like receptor 2 (TLR2) expression in microglia. *J Neurochem.* 2007; 103(4): 1461–1471. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine.
 6. Egmond A. Z. Immunomodulatory mechanisms of lactobacilli. *Wells Microbial Cell Factories.* 2011. <http://www.microbialcellfactories.com/content/10/S1/S17>
 7. Bachmann MF, Kopf M, Marsland BJ. Chemokines: more than just road signs. *Nat Rev Immunol.* 2006. 6:159-164.
 8. Pagliarone. Propolis effects on pro-inflammatory cytokine production and Toll-like receptor 2 and 4 expression in stressed mice. *International Immunopharmacology.* Elsevier B.V.; 2009. Pages: 1352-1356
 9. Farges JC Understanding dental pulp innate immunity – a basis for identifying new targets for therapeutic agents that dampen inflammation. *J Appl. Oral Sci.* 2009. 17: 1-5.
 10. Barthel CR, Rosenkraz B, Leuenberg A, Roulet JF. Pulpa capping of carious exposures: Treatment outcome after 5 and 10 years: A retrospective study. *J Endod.* 2005. 26:525-528.
 11. Widjiastuti I. Mekanisme Molekuler Stimulasi Ekstrak Propolis pada Odontoblast like cells yang Dipapar Lactobacillus acidophilus Inaktif dalam Menginduksi Diferensiasi Fibroblas Pulpa. 2012. Disertasi Program Studi S3 Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
 12. Abhisek. Propolis and its potential uses in oral health. *Int Lou Med Sci* 2010. 2 (7) pp. 210.
 13. Bankova. Chemical diversity of propolis makes it a valuable source of new biologically active compounds. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science.* 2009. 1 (2): 23-28
 14. Katircioglu H & Mercan N. Antimicrobial activity and chemical compositions of Turkish propolis from different regions. *Afr J Biotec.* 2006. 5: 1151-1153
 15. Veerayutthilai O, Byers MR, Pham TT, Darveau RP, Dale BA. Differential regulation of immune responses by odontoblasts. *Oral Microbiol Immunol.* 2007. 22:5–13.
 16. Alliot LB, Hurtrel D, and Gregoire M. Characterization of a smooth muscle actin positive cells in mineralized human dental pulp cultures. *Arch Oral Biol.* 2001. 46:221-228
 17. Hahn C and Liewebr RF. Update in the Adaptive Immune Responses of the Dental Pulp. *J Endod.* 2007. 33:773-781
 18. Poli. Komunikasi Sel dalam Biologi Molekuler, Jalur Sinyal dan Implikasi Klinis. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta; 2009. Pp. 39
 19. Akira S. Toll-like receptors: lessons from knock out mice *Biochem. Soc. Trans.* 2000. 28, 551-556.
 20. Lee K.W. Chun K.S, Lee J.S Kang K.S, Surh Y.J, Lee H.J. Inhibition of cyclooxygenase 2 expression and restoration of gap junction intercellular communication in H-ras-transformed rat liver epithelial cells by caffeic acid phenethyl ester. *Ann. N.Y. Acad Sci.* 2004. 1030, 501-507
 21. Wang L., Lin Y., Liang Y., Chiang B. Caffeic acid phenethyl ester inhibits nuclear factor κ B and protein kinase B signaling pathways and induces caspase3 expression in primary human CD4+ T cels. *Clin Exp Immunol.* 2010. 160: 223-232.
 22. Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Ianaro A, Russo A, Capasso F, Ialenti A. Phytochemical compounds involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia.* 2002. 73: 53-63
 23. Aviello G, Scalisi C, Fileccia R, Capasso R, Romano G, Izzo AA, Borrelli F. Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester, a plant-derived polyphenolic compound, on rat intestinal contractility. *Eur J Pharmacol.* 2010. 640:163-167
 24. Ansoergen AR, Einhold D, Lendckel U. Propolis and some of its constituents and inflammatory cytokine production, but induce TGF- β 1 production of human immune cells, *Z Naturforsch.* 2003. 58:508-509
 25. Salatino A, Fernades-Silva CC, Righi AA, Salatino MLF. Propolis research and the chemistry of plant products. *Nat Prod Res.* 2011. 28 925-936