

**KADAR MATRIX METALLOPROTEINASE 3 (MMP-3) DAN BONE
MORPHOGENETIC PROTEIN 2 (BMP-2) SETELAH APLIKASI
PULP OUT PADA KAVITAS PULPA GIGI KELINCI**

Tesis



NI PUTU SARTIKA SUKMA PUTRI

J025202001

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2023

TESIS

**KADAR MATRIX METALLOPROTEINASE 3 (MMP-3) DAN BONE
MORPHOGENETIC PROTEIN 2 (BMP-2) SETELAH APLIKASI
PULP OUT PADA KAVITAS PULPA GIGI KELINCI**

NI PUTU SARTIKA SUKMA PUTRI

J025202001



**Tesis Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk
Memperoleh Gelar Spesialis Konservasi Gigi**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

**KADAR MATRIX METALLOPROTEINASE 3 (MMP-3) DAN BONE
MORPHOGENETIC PROTEIN 2 (BMP-2) SETELAH APLIKASI
PULP OUT PADA KAVITAS PULPA GIGI KELINCI**

TESIS

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memenuhi Gelar Profesi
Spesialis Bidang Konservasi Gigi**

Disusun dan Diajukan Oleh:

NI PUTU SARTIKA SUKMA PUTRI

J025202001

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

PENGESAHAN TESIS

**KADAR MATRIX METALLOPROTEINASE 3 (MMP-3) DAN BONE
MORPHOGENETIC PROTEIN 2 (BMP-2) SETELAH APLIKASI
PULP OUT PADA KAVITAS PULPA GIGI KELINCI**

Diajukan Oleh:

**NI PUTU SARTIKA SUKMA PUTRI
J025 202 001**

Telah disetujui

Makassar, 16 Agustus 2023

Pembimbing I



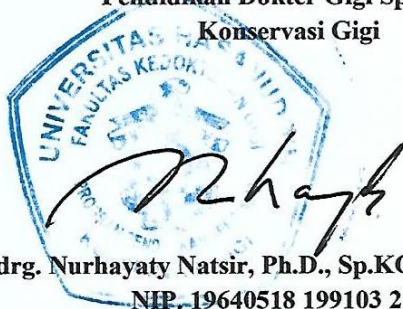
**drg. Maria Tanumihardja, MDSc
NIP. 19610216 198702 2 001**

Pembimbing II



**drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D., Sp.KG Subsp KR(K)
NIP. 19640518 199103 2 0001**

**Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Konservasi Gigi**



**drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D., Sp.KG Subsp KR(K)
NIP. 19640518 199103 2 001**

**Dekan
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin**



**drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed, Ph.D
NIP. 19810215 200801 1 009**

TELAH DIUJI OLEH PANITIA TESIS

PADA TANGGAL 27 Juni 2023

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. drg. Maria Tanumihardja, MDSc


Anggota : drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D., Sp.KG Subsp KR(K)

: Dr. drg. Hafsa Katu, M.Kes


: drg. Wahyuni Suci Dwiandhany, Ph.D., Sp.KG Subsp KR(K)

: Prof. Dr. drg. Rasmidar Samad, MS

Mengetahui
**Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi**



drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D., Sp.KG, Subsp.KR(K)
NIP. 19640518 199103 2 001



PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ni Putu Sartika Sukma Putri

Nomor Mahasiswa : J025 202 001

Program Studi : Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Bidang Studi Konservasi Gigi

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 16 Agustus 2023

Yang Menyatakan



Ni Putu Sartika Sukma Putri

KATA PENGANTAR

Puji syukur dihadapan Tuhan Yang Maha Esa atas segala nikmat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan judul “**Kadar *Matrix Metalloproteinase 3 (MMP-3)* dan *Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP-2)* Setelah Aplikasi *Pulp Out* Pada Kavitas Pulpa Gigi Kelinci**”.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. **drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed, Ph.D** sebagai dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin beserta seluruh pimpinan fakultas atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin Makassar.
2. **drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, Sp.KG (K)** sebagai Ketua Program Studi Konservasi Gigi sekaligus pembimbing II yang telah meluangkan waktu membimbing, mengarahkan, mengayomi dan memberi nasehat dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian dan menyusun tesis ini.
3. **Dr. drg. Maria Tanumihardja, MDSc** sebagai pembimbing I yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan untuk menyelesaikan penelitian ini.
4. **drg. Wahyuni Suci Dwiandhany, Ph.D, Sp.KG Subsp KR(K)**, sebagai dosen dan penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
5. **drg. Hafsah Katu, M.Kes**, sebagai dosen dan penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
6. **Prof. Dr.drg. Rasmidar Samad, MS** sebagai penguji eksternal yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
7. Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG Subsp KE(K), Dr. drg. Aries Chandra Trilaksana, Sp.KG, Subsp.KE(K), drg. Christine Anastasia Rovani, Sp.KG

Subsp KR(K), drg. Noor Hikmah, Sp.KG Subsp KE(K), Dr. drg. Andi Sumidarti Anas, MS, Dr. drg. Indrya Kirana Mattulada, M.Kes, dan Prof. Dr. drg. Ardo Sabir, M.Kes sebagai dosen yang telah meluangkan waktu untuk berbagi pengalaman.

8. Seluruh staf Klinik Hewan Pendidikan Fakultas kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu dalam pemeliharaan hewan coba.
9. Seluruh staf Laboratorium Patologi Anatomi RS Universitas Hasanuddin, yang telah banyak membantu dalam proses pembuatan preparat.
10. Seluruh Staf Laboratorium STIFA Makassar yang telah banyak membantu proses pembuatan bahan uji dan pemeriksaan preparat.
11. Teman penelitian yaitu Sakiya Mustainah, Sari Arianti Ali serta senior Mustakim Mustafa, Esfandiary yang bersedia meluangkan waktunya untuk mendampingi saat penelitian.
12. Sejawat junior Konservasi Gigi semua angkatan tanpa terkecuali, sejawat senior angkatan kandung kami yaitu **Lestari Hardianti Sugiaman, Imara Binti Qaf, Nurlaelah Tahir, dan Dewi Krisyanti**, terima kasih atas kebersamaannya dan bantuannya serta senior **Alief Fadli (Alm)** dan **Linda Dian Aksari (Almh)** semoga Tuhan memberikan tempat yang terbaik.
13. Spesial teman angkatan yaitu **Sakiya Mustainah, Risnawati, Aryuni Abd. Gaffar, Sari Arianti Ali, dan Febrianti Alexes Siampa** terimakasih atas kebersamaan yang indah selama menempuh pendidikan. Semoga kebersamaan ini tetap terjaga selamanya.
14. Terkhusus kepada yang telah memberikan dukungan doa, moril maupun materil selama penulis menjalani proses pendidikan:
 - 1) Mama tercinta, terima kasih yang tak terhingga atas doa-doa dan seluruh dukungannya selama ini.
 - 2) Suami, yang selalu mendoakan, memberikan semangat dan mendukung segala sesuatu yang saya lakukan.
 - 3) Adik yang selalu memberikan semangat
 - 4) Seluruh keluarga dan teman-teman yang telah mendukung dan mendokan selama ini

Akhir kata, dengan penuh kesadaran dan kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu, semoga Ida Sang Hyang Widi Wasa, Tuhan YME selalu melimpahkan rahmat serta karunia-Nya kepada kita semua dan berkenan menjadikan tesis ini bermanfaat.

Makassar, 16 Agustus 2023



Ni Putu Sartika Sukma Putri

ABSTRAK

NI PUTU SARTIKA SUKMA PUTRI: **Kadar *Matrix Metalloproteinase 3* (MMP-3) dan *Bone Morphogenetic Protein* (BMP-2) Setelah Aplikasi *Pulp Out* Pada Kavitas Pulpa Gigi Kelinci**

(Dibimbing oleh: Maria Tanumihardja, Nurhayaty Natsir)

Latar Belakang: *Pulp out* merupakan bahan yang memiliki potensi dikembangkan sebagai alternatif bahan devitalisasi yang terdiri dari kombinasi bahan alami yaitu getah tanaman jarak (*J. curcas*), akar sidaguri (*S. rhombifia*) dan melittin. Nekrosis pulpa akibat aplikasi *pulp out* menyebabkan inflamasi yang melibatkan berbagai mediator inflamasi, protease dan *growth factors*. **Tujuan:** Mengevaluasi kadar MMP-3 dan *Bone BMP-2* pada pulpa gigi kelinci setelah aplikasi *pulp out*. **Metode:** Penelitian eksperimental laboratoris *in vivo* dengan hewan coba dan desain penelitian *post-test only control group design*. Dua belas gigi kelinci galur *New Zealand* dibagi 4 kelompok (kelompok normal, kontrol, dosis 25% dan 50%). Kecuali kelompok normal, semua sampel dipreparasi hingga perforasi, kemudian pada kelompok perlakuan diaplikasikan *pulp out*, direstorasi dengan RMGIC. Pada hari ke 8 dilakukan eutanasia dan gigi diekstraksi, kemudian dilakukan pemeriksaan ELISA. Data di analisis dengan uji *One way ANOVA*. **Hasil:** Nilai rerata kadar MMP-3 tertinggi pada kelompok *pulp out* dosis 50% (0.99 ng/mL \pm 0.85), kelompok *pulp out* dosis 25% (0.91 ng/mL \pm 0.85), kelompok kontrol negatif (0.50 ng/mL \pm 0.11), dan terendah pada kelompok normal (0.10 ng/mL \pm 0.55). Kadar BMP-2 tertinggi pada kelompok *pulp out* dosis 50% (138.56 pg/mL \pm 0.17), kelompok *pulp out* dosis 25% (123.25 pg/mL \pm 12.11), kelompok negatif (92.63 pg/mL \pm 14.35), dan kadar BMP-2 terendah pada kelompok normal (65.83 pg/mL \pm 7.04). Terdapat perbedaan signifikan kadar MMP-3 dan kadar BMP-2 antar kelompok ($p=0.000$). **Kesimpulan:** MMP-3 dan BMP-2 turut berperan pada fase inflamasi pulpa akibat kematian sel.

Kata Kunci: kadar MMP-3, kadar BMP-2, *pulp out*

ABSTRACT

NI PUTU SARTIKA SUKMA PUTRI: Matrix Metalloproteinase 3 (MMP-3) and Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP-2) Levels After Pulp Out Application in the Dental Pulp Cavity of Rabbits

(Supervised by: Maria Tanumihardja, Nurhayaty Natsir)

Introduction: Pulp out is a material that has the potential to be developed as an alternative devitalization agent consisting of a combination of natural ingredients, namely jatropa (*J. curcas*), sidaguri root (*S. rhombifia*) and melittin. Pulp necrosis due to pulp out application causes inflammation that involves various inflammatory mediators, proteases and growth factors. **Objective:** To analyze the levels of MMP-3 and BMP-2 in the rabbits' dental pulp following pulp out application. **Material and Methods:** This is an in vivo laboratory experimental study with post-test only control group design. Twelve New Zealand rabbit teeth were allocated into 4 groups (normal, and control groups, treated groups of pulp out, dosage of 25% and 50%). Unless normal group, all samples were prepared until perforation, then the treatment groups were applied with pulp out of each dose, restored with RMGIC. On day 8, extermination was performed and teeth were extracted, then ELISA examination was performed. Data was analyzed with One way ANOVA. **Results:** The highest level of MMP-3 was found in the pulp out group of doses 50% (0.99 ng/mL \pm 0.85), pulp out group of doses 25% (0.91 ng/mL \pm 0.85), negatif group (0.50 ng/mL \pm 0.11), and the lowest level of MMP-3 was in the normal group (0.10 ng/mL \pm 0.55). The highest level of BMP-2 was found in the pulp out group of doses 50% (138.56 pg/mL \pm 0.17), pulp out group of doses 25% (123.25 pg/mL \pm 12.11), negatif group (92.63 pg/mL \pm 14.35), and the lowest level of BMP-2 was in the normal group (65.83 pg/mL \pm 7.04). Both level of MMP-3 and level of BMP-2 increased significantly among group ($p = 0.000$). **Conclusion:** MMP-3 and BMP-2 play a role in the pulp inflammation phase due to cell death.

Key word: Level of MMP-3, level of BMP-2, pulp out

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
PENGESAHAN UJIAN TESIS.....	iii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTAK.....	ix
<i>ABSTRACT</i>	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat IPTEK	4
1.4.2 Manfaat Klinis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Jaringan Pulpa..	5
2.1.1 Klasifikasi Inflamasi Pulpa	5

2.1.2 Proses Inflamasi Pulpa	7
2.2 <i>Matrix Metalloproteinase 3 (MMP-3)</i>	8
2.3 <i>Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP-2)</i>	11
2.4 Devitalisasi Pulpa.....	12
2.5 <i>Pulp Out</i>	13
BAB III KERANGKA TEORI DAN KONSEP	17
3.1 Kerangka Teori.....	17
3.2 Kerangka Konsep	18
3.3 Hipotesis.....	18
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	19
4.1 Jenis Penelitian	19
4.2 Waktu Penelitian	19
4.3 Lokasi Penelitian	19
4.4 Sampel Penelitian	19
4.4.1 Kriteria Inklusi	19
4.4.2 Kriteria Eksklusi.....	20
4.5 Perhitungan Besar Sampel	20
4.6 Variabel Penelitian	21
4.7 Defenisi Operasional Variabel Penelitian	21
4.8 Alat dan Bahan Penelitian	22
4.8.1 Alat.....	22
4.8.2 Bahan.....	22
4.9 Data Penelitian	22
4.10 Prosedur Penelitian.....	22
4.10.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	22

4.10.2 Pembuatan Ekstrak Bahan Uji	22
4.10.3 Prosedur Klinis Aplikasi Bahan Uji.....	24
4.10.4 Prosedur Pemeriksaan ELISA Pulpa Gigi Kelinci.....	25
4.10.5 Alur Penelitian	27
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	28
5.1 Hasil	28
5.2 Pembahasan.	32
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
6.1 Kesimpulan	36
6.2 Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN.....	41

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1.	Rerata dan simpang baku kadar MMP-3 antar kelompok.....	28
Tabel 5.2.	Analisis <i>post hoc</i> perbandingan rerata kadar MMP-3 pada setiap kelompok.....	30
Tabel 5.3.	Rerata dan simpang baku kadar BMP-2 antar kelompok.....	31
Tabel 5.4.	Analisis <i>post hoc</i> perbandingan rerata kadar BMP-2 pada setiap kelompok.....	33

DAFTAR GAMBAR

Gambar 5.1.	Grafik perbandingan kadar MMP-3 antar kelompok perlakuan...	29
Gambar 5.2.	Grafik <i>post hoc</i> perbandingan rerata kadar MMP-3 pada setiap kelompok.....	31
Gambar 5.3.	Grafik perbandingan kadar BMP-2 antar kelompok perlakuan.....	32
Gambar 5.4.	Grafik <i>post hoc</i> perbandingan rerata kadar BMP-2 pada setiap kelompok.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Rekomendasi Persetujuan Etik Penelitian.....	43
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian.....	44
Lampiran 3. Perhitungan Pemeriksaan ELISA.....	45
Lampiran 4. Uji Statistik dengan SPSS 26.0.....	47

DAFTAR ARTI SINGKATAN

Singkatan	Arti dan Keterangan
ADM	Adrenomedullin
ALP	<i>Alkaline phosphatase</i>
ANOVA	<i>Analysis of variance</i>
BMP	<i>Bone morphogenic protein</i>
BMP-2	<i>Bone morphogenic protein-2</i>
CAECs	<i>Coronary artery endothelial cells</i>
cc	<i>Cubic centimeter</i>
CLSM	<i>Confocal laser scanning microscopy</i>
DAMP	<i>Debris associated molecular patterns</i>
DEJ	<i>Dentino enamel junction</i>
DPSC	<i>Dental Pulp Stem Cells</i>
ECM	<i>Extracellular matrix</i>
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
gr	Gram
HDP	<i>Human dental papilla</i>
HUVECs	<i>Human Umbilical Vein Endothelial Cells</i>
IL-1	Interleukin-1
mg/kg BB	Milligram per kilogram berat badan
ml	Mililiter
mm	Milimeter
MMP	<i>Matrix metalloproteinase</i>
MMP-3	<i>Matrix metalloproteinase-3</i>
mRNA	<i>Messenger ribonucleic acid</i>
N	Jumlah sampel
ng/ml	Nanogram per mililiter
Nilai p	Nilai probabilitas atau signifikansi
OD	<i>Optical density</i>
PDGF	<i>Platelet-derived growth factor</i>
PG	Proteoglikan
PGE2	Prostaglandin E
PgLPS	<i>Pathogen lipopolysaccharide</i>
pg/ml	Pikogram per mililiter
pH	<i>Potential of hydrogen</i>
RANK	<i>Activator of Nuclear Factor - $\kappa\beta$</i>
RANKL	<i>Receptor Activator of Nuclear Factor - $\kappa\beta$ Ligand</i>
RPM	<i>Revolution per minute</i>
SCAP	<i>Stem cells apical papilla</i>
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor Beta</i>
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor alfa</i>
TIMP	Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase

°C
μL
%

Celsius
Mikroliter
Persen

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Pulp out merupakan suatu bahan berbasis herbal yang dikembangkan sebagai alternatif bahan devitalisasi, terdiri dari kombinasi bahan alami yaitu getah tanaman jarak (*J. curcas*), ekstrak akar sidaguri (*S. rhombifia*) dan melittin. Kombinasi bahan alami ini dilakukan dengan merujuk pada penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya terhadap masing- masing ekstrak tersebut. Getah tanaman jarak dilaporkan dapat menyebabkan nekrosis koagulasi pada pulpa gigi geraham *Macaca nemestrina* 24 jam setelah pengaplikasiannya (Mattulada 2008; Siregar dan Damayanti, 2000). Akar sidaguri adalah bahan alam lain yang telah diteliti memiliki potensi sebagai pereda nyeri dengan menghambat enzim siklooksigenase yang berperan terhadap pembentukan mediator nyeri PGE2 (Tanumihardja *et al*, 2019a). Melittin adalah konstituen utama dari racun lebah (*Apis mellifera*), terhitung sekitar 50% dari berat racun lebah yang kering (Lee and Bae, 2016). Melittin diketahui memiliki efek antiinflamasi, antibakteri dalam sel dan antikanker (Jeong *et al*, 2017) juga memiliki potensi untuk digunakan dalam imunoterapi (Alqarni *et al*, 2018). Kombinasi ketiga bahan ini bersinergi menyebabkan kematian sel pulpa yang bergantung pada dosis *pulp out* melalui jalur kematian sel Caspase-3 yang sama dengan bahan devitalisasi komersial. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Tanumihardja *et al* (2019a) dilakukan pengatan kerusakan sel secara histopatologi pada hari ke 7 yang tergantung dari

dosis yang diberikan, semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin banyak sel yang mengalami inflamasi. Penelitian yang dilakukan oleh Tanumihardja, *et al* (2021a) di peroleh diameter pembuluh darah lebih kecil pada aplikasi *pulp out* dosis 50% dibandingkan *pulp out* dosis 25%.

Kematian sel menyebabkan pelepasan DAMP (*Debris Associated Molecular Patterns*) yang memicu peristiwa inflamasi dan melibatkan interaksi berbagai faktor seperti sel radang, sitokin, protease, dan *growth factors* atau faktor pertumbuhan. Disamping itu sitokin antiinflamatori juga dilepaskan untuk mencegah dampak berlebihan yang ditimbulkan oleh mediator proinflamatori (Rock dan Kono, 2008).

Matrix Metalloproteinases (MMP) merupakan sekumpulan protease, ditemukan sebagai enzim dengan fungsi mendegradasi matriks (Wan *et al*, 2021). Salah satu MMP yang sering muncul pada jaringan gigi adalah *Matrix Metalloproteinase 3* (MMP-3) (Boelen *et al*, 2019). MMP-3 juga dikenal sebagai *stromelysin-1*, yang dapat mencerna berbagai komponen matriks ekstraseluler (ECM) termasuk protein matriks, *growth factor*, protease, reseptor permukaan, dan molekul adhesi (Wan *et al*, 2021). MMP-3 juga merupakan salah satu enzim kolagenase yang memiliki peran dalam patogenesis inflamasi dengan menstimulasi fungsi imun alami dan atau adaptif (Octiara, 2016). Ekspresi MMP-3 meningkat secara signifikan pada peradangan pulpa dalam waktu 24 jam setelah pulpa mengalami kerusakan (Zheng *et al*, 2009).

Bone *et al* menyatakan bahwa setiap cedera pada tubuh menimbulkan respons berupa komponen proinflamasi dan antiinflamasi yang menentukan

keparahannya (Jeffer, 2010). BMP-2 adalah *superfamily* dari *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β) yang berperan dalam pembentukan vaskularisasi dan dilaporkan meningkat pada proses penyembuhan pulpa (Okabe *et al*, 2006), namun peningkatan BMP-2 dilaporkan pada kondisi terinflamasi, turut meningkatkan permeabilitas vaskuler sehingga dapat memicu kematian sel. Peningkatan BMP-2 ini terjadi akibat peningkatan mediator proinflamasi seperti TNF- α dan IL-1 (Hu *et al*, 2020).

Penelitian terhadap mediator proinflamatori setelah aplikasi *pulp out* telah banyak dilakukan (Tanumihardja *et al*, 2019b; Tanumihardja *et al*, 2021; Tanumihardja *et al*, 2022a) akan tetapi penelitian tentang protease dan *growth factor* masih sangat terbatas sehingga peneliti tertarik untuk mengetahui gambaran kadar MMP-3 dan BMP-2 setelah aplikasi *pulp out*, yang diharapkan dapat melengkapi pemahaman peran dari protease dan *growth factors* dalam hubungannya dengan kematian sel.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian maka dapat dirumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut:

“Apakah terjadi peningkatan kadar MMP-3 dan BMP-2 pada pulpa gigi kelinci setelah aplikasi *pulp out* sebagai alternatif bahan devitalisasi.

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

1. Mengevaluasi kadar MMP-3 dan BMP-2 setelah aplikasi *pulp out* pada kavitas pulpa gigi kelinci.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengevaluasi kadar MMP-3 pada pulpa gigi kelinci setelah aplikasi *pulp out* sebagai alternatif bahan devitalisasi.
2. Mengevaluasi kadar BMP-2 pada pulpa gigi kelinci setelah aplikasi *pulp out* sebagai alternatif bahan devitalisasi.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat IPTEK

1. Memberikan informasi baru mengenai pengaruh aplikasi *pulp out* terhadap kadar MMP-3 pada pulpa gigi kelinci sebagai alternatif bahan devitalisasi pulpa.
2. Memberikan informasi baru mengenai pengaruh aplikasi *pulp out* terhadap kadar BMP-2 pada pulpa gigi kelinci sebagai alternatif bahan devitalisasi pulpa.

1.4.2 Manfaat Klinis

1. Dapat dijadikan alternatif bahan devitalisasi pulpa gigi.
2. Mengembangkan ilmu pengetahuan dalam bidang endodontik dengan menggunakan bahan-bahan yang tersedia di alam.

BAB II

LANDASAN TEORI

2.1 Jaringan Pulpa

2.1.1 Klasifikasi Inflamasi Pulpa

Inflamasi pulpa adalah reaksi fisiologis lokal jaringan pulpa terhadap rangsangan atau iritasi yang berbahaya. Faktor utama yang menyebabkan inflamasi pada pulpa gigi adalah masuknya mikroorganisme melalui karies gigi atau celah pada gigi yang disebabkan oleh fraktur iatrogenik, menimbulkan reaksi fisiologis dan morfologis dasar dalam jaringan vaskular, limfatik, dan jaringan ikat. Faktor resistensi *host*, intensitas, durasi, dan virulensi iritan memodifikasi ciri, luas, dan keparahan perubahan jaringan pulpa dan manifestasi klinisnya (Gopikrishna dan Chandra, 2014).

Pulpa gigi sensitif terhadap berbagai rangsangan yang berasal dari faktor eksternal seperti infeksi mikroba dan/atau iritasi mekanis atau kimia. Meskipun demikian, penutup jaringan pulpa dalam dentin menciptakan lingkungan yang memungkinkan hanya sejumlah kecil akomodasi antar sel eksudat selama reaksi inflamasi. Hal ini disebabkan oleh karena adanya jaringan neurovaskular yang mengatur berbagai mediator inflamasi (Park *et al*, 2015).

Klasifikasi penyakit pulpa digolongkan menjadi pulpitis reversibel, pulpitis ireversibel dan nekrosis. Pulpitis reversibel adalah inflamasi pulpa yang jika penyebabnya dihilangkan, inflamasi akan menghilang dan pulpa akan kembali normal (Torabinejad dan Walton, 2015).

Kondisi inflamasi pulpa dapat berubah hingga menjadi pulpitis ireversibel dengan semakin berkembangnya penyakit, Pada tahap ini, perawatan untuk menghilangkan penyakit pulpa adalah hal yang penting. Kondisi ini dapat dibagi menjadi subkategori pulpitis ireversibel simtomatik dan asimtomatik (Torabinejad dan Walton, 2015).

A. Pulpitis Ireversibel Simtomatik

Pulpitis ini merupakan diagnosis klinis yang didasarkan pada temuan subjektif dan objektif yang mengindikasikan bahwa pulpa vital yang terinflamasi tidak dapat mengalami penyembuhan. Gigi yang diklasifikasikan sebagai pulpitis ireversibel simtomatik menunjukkan nyeri yang spontan dan intermiten. Paparan yang cepat terhadap perubahan suhu (terutama stimulus dingin) akan memperpanjang episode nyeri bahkan setelah stimulus termal telah dihilangkan. Nyeri pada kondisi ini dapat berupa nyeri tajam atau tumpul, terlokalisir, menyebar, atau teralihkan. Umumnya, terdapat sedikit atau tidak ada perubahan pada tampilan radiograf dari tulang periradikular.

B. Pulpitis Ireversibel Asimtomatik

Pulpitis ini merupakan diagnosis klinis yang didasarkan pada temuan subjektif dan objektif yang mengindikasikan bahwa pulpa vital yang terinflamasi tidak dapat mengalami penyembuhan. Pasien tidak mengeluhkan gejala apapun. Pada kondisi ini, karies yang dalam tidak akan memberikan gejala apapun, meskipun secara klinis atau radiografis, karies sudah meluas ke dalam pulpa.

2.1.2 Proses Inflamasi Pulpa

Proses inflamasi terdiri dari pengerahan sel dan kebocoran protein plasma melalui pembuluh darah serta aktivasi sel dan protein tersebut pada jaringan ekstrasvaskuler. Pelepasan awal histamin, TNF- α , prostaglandin, dan mediator lainnya oleh sel *mast* dan makrofag menyebabkan peningkatan aliran darah lokal dan eksudasi protein plasma. Perubahan tersebut menyebabkan kemerahan, hangat, dan pembengkakan yang merupakan gambaran khas inflamasi. Hal ini sering disertai dengan akumulasi lokal sel fagosit jaringan, makrofag, sebagai respon terhadap sitokin. Fagosit yang teraktivasi menelan mikroba dan material nekrotik dan menghancurkan substansi yang dapat membahayakannya. (Abbas *et al*, 2020)

Neutrofil dan monosit bermigrasi ke lokasi infeksi ekstrasvaskuler dengan berikatan pada molekul adhesi endotel venul. Migrasi leukosit dari sirkulasi darah ke jaringan dimediasi oleh kemoatraktan dan melalui proses beberapa tahap yang terdiri dari penempelan awal yang lemah leukosit pada sel endotel, diikuti dengan adhesi kuat dan transmigrasi melalui endotelium. Jika mikroba yang menginfeksi melewati epitel dan masuk ke jaringan subepitel, sel dendritik setempat, makrofag dan sel lain mengenali mikroba dan merespon dengan memproduksi sitokin. Dua dari sitokin tersebut, TNF- α dan IL-1 bekerja pada endotel venul pada lokasi infeksi dan mengawali proses migrasi leukosit menuju jaringan. Fagosit bekerjasama dengan protein plasma yang masuk ke lokasi inflamasi seperti protein komplemen untuk menghancurkan penyebab infeksi. (Abbas *et al*, 2020)

Cedera pada gigi dapat disebabkan karies gigi, prosedur restoratif (iatrogenik), fraktur gigi atau atrisi. Faktor eksternal seperti infeksi mikroba akibat

karies dan/atau iritasi mekanis/kimiawi selama prosedur perawatan pada bidang kedokteran gigi menyebabkan pulpa gigi menjadi terinflamasi (Fouad, 2014; Park *et al*,2015).

Inflamasi pulpa adalah reaksi fisiologis lokal jaringan pulpa terhadap rangsangan atau iritasi yang berbahaya (Park *et al*, 2015). Respon inflamasi terhadap cedera pulpa gigi bermakna secara klinis. Inflamasi pulpa membawa sel-sel fagosit untuk mencerna bakteri atau debris seluler; antibodi untuk mengenali, menyerang, dan menghancurkan benda asing; untuk melarutkan dan menetralkan toksin, dan fibrin untuk membatasi penyebaran inflamasi. (Gopikrishna *et al*, 2014). Agen yang cedera dapat menyebabkan perubahan jaringan yang reversibel atau ireversibel. Kerusakan ireversibel menyebabkan nekrosis jaringan, sedangkan kerusakan reversibel menyebabkan perbaikan jaringan. Pada kondisi kerusakan reversibel, inflamasi pulpa dapat terlibat dalam produksi jembatan dentin reparatif yang menutupi perforasi pulpa. (Park *et al*, 2015).

2.2 *Matrix Metalloproteinase 3 (MMP-3)*

Matriks metalloproteinase (MMP) terdiri dari 28 *family* yang disekresikan atau merupakan enzim *transmembrane* yang secara kolektif mampu memproses dan mendegradasi berbagai protein matriks ekstraseluler (ECM) dan komponen membran dasar. Dari jumlah ini terdapat 22 MMP yang ditemukan diekspresikan dalam jaringan manusia. MMP diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok, yaitu: kolagenase intertisiel, gelatinase, tipe membran MMP, *stromelysin*, *matrilysin* dan MMP lainnya. Pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa MMP mungkin ada

di kompleks dentin-pulpa dan beberapa MMP tertentu berpartisipasi dalam regulasi mineralisasi matriks dentin (Andonovska *et al.*, 2012).

Peranan MMP pada odontoblast *mature* sebagai berikut:

- a) Fungsi MMP pada gigi sehat dalam hal pembentukan dentin sekunder fisiologis dan mineralisasi,
- b) Partisipasi MMP pada degradasi matrix selama cedera gigi,
- c) Peranan MMP dalam dentinogenesis tersier,
- d) Peranan MMP dalam inflamasi pulpa

Matrix Metalloproteinase 3 (MMP-3) merupakan salah satu enzim kolagenase yang memiliki peran dalam proses angiogenesis dan penyembuhan pulpa (Jain *et al*, 2015), (Elgezawi M *et al*, 2022). Protein MMP *family* juga berperan dalam patogenesis inflamasi, dengan menstimulasi fungsi imun *innate* dan atau adaptif (Octiara, 2016). Antigen bakteri dan lipopolisakarida (LPS) pada pulpa yang terinfeksi meningkatkan kadar immunoglobulin, prostaglandin dan mediator inflamasi lainnya seperti TNF - α dan IL-1, menyebabkan peningkatan MMP-3 dan penghambatan inhibitorynya (TIMP) (Jain *et al*, 2015; Tsuda *et al*, 2020). Kadar MMP-3 secara signifikan lebih tinggi pada kondisi peradangan pulpa (Jain *et al*, 2015; Elgezawi *et al*, 2022). Kadar MMP-3 meningkat sembilan kali lipat dalam waktu 24 jam dan menurun pada 48 jam setelah pulpa mengalami kerusakan (Zheng *et al*, 2009).

MMP-3 berfungsi sebagai proteoglikan sedangkan inhibitor MMP-3 berfungsi untuk mengurangi degradasi proteoglikan (PG). Beberapa penelitian yang dilakukan pada tulang (gigi) dan tulang rawan, menunjukkan degradasi

dan/atau kehilangan PG merupakan prasyarat pembentukan hidroksiapatit. PG dalam larutan bertindak sebagai penghambat mineralisasi, namun ketika PG dalam keadaan dorman di permukaan, dapat menginduksi pembentukan mineral. Dalam jaringan gigi, ada dua PG utama. Yang pertama dikaitkan dengan predentin dan disekresikan bersama dengan kolagen, serta dikatakan bertindak sebagai penghambat mineralisasi. Jenis kedua disekresikan saat mineralisasi di dalam dentin dan diduga bertindak sebagai promotor mineralisasi (Boelen *et al*, 2019; Elgezawi *et al*, 2022).

MMP-3 secara langsung atau tidak langsung terikat pada fibril kolagen dari jaringan kolagen intertubular (Elgezawl *et al.*, 2022). MMP-3 merupakan salah satu MMP yang paling sering muncul sebagai MMP di jaringan gigi (*dentin-pulp complex*). Mayoritas MMP ini ditemukan di DEJ dan di predentin. Pada tingkat pH rendah, aktivitas MMP rendah dan meningkat ketika keasaman berkurang menjadi netral (pH 7), misalnya dengan netralisasi oleh kapasitas buffer cairan dentin (Boelen *et al*, 2019).

Inflamasi jaringan pulpa pada prinsipnya bersifat reversibel, sedangkan inflamasi pulpa ireversibel sebagian besar disebabkan oleh ketidakseimbangan antara MMP dan inhibitor jaringan MMP. Pada pulpa yang meradang, konsentrasi MMP-3 (*stromelysin-1*) lebih tinggi secara signifikan terhadap pulpa yang normal. Oleh karena itu, MMP-3 dikatakan bertanggung jawab pada degradasi jaringan pulpa. MMP-3 dapat mengaktifkan MMP lain seperti pro-MMP-1 (*pro-collagenase-1*), pro-MMP-7 (*pro-matrilysin-1*), dan pro-MMP-9 (*pro-gelatinase B*) sehingga MMP-3 dikatakan sebagai enzim penting dalam proses patologis.

Pergeseran menuju pulpitis ireversibel menyebabkan sekresi MMP-3 ke dalam jaringan pulpa akan meningkatkan degradasi kolagen dari ECM di sekitarnya dan akan meningkatkan angiogenesis (Boelen *et al*, 2019).

2.3 Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP-2)

Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP-2) adalah *superfamily* dari *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β), yang berperan dalam pembentukan vaskularisasi bersama dengan *angiogenic growth factor* (Okabe *et al*, 2006; Marotomi *et al*, 2018). Aktivitas BMP-2 juga diatur oleh keberadaan situs pengikatan heparin di dalam protein BMP-2. Ketika BMP-2 berdifusi melalui *extra cellular matrix* (ECM), pengikatan heparinnya berinteraksi dengan protein ECM, seperti fibronektin dan tenascin C. Hal ini mengakibatkan keterbatasan difusi BMP-2, mengurangi bioavailabilitas dan aktivitasnya di seluruh jaringan. BMP-2 juga dipengaruhi oleh lokalisasi reseptornya dalam domain membran tertentu yang menentukan endositosis dan jalur pensinyalan mana yang diaktifkan (Corraini D, 2022).

Pada dentinogenesis tersier melibatkan lebih banyak kelas molekul bioaktif yang bekerja secara individual atau sinergis. Faktor pertumbuhan untuk menginduksi proses ini adalah *transforming growth factor-1* (TGF- β 1), *bone morphogenetic protein-2* (BMP-2), *bone morphogenetic protein-4* (BMP-4), *bone morphogenetic protein-7* (BMP-7), *fibroblast growth factor-2* (FGF-2), *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), dan *insulin-like growth factor-2* (IGF-2). Aktivitas faktor pertumbuhan utama seperti TGF- β 1, BMP-2 dan FGF-2 pada gilirannya diatur secara langsung atau tidak langsung oleh protein matriks ekstraseluler yang

dilepaskan di ligamen periodontal. Sebelum inisiasi, sekresi dentin tersier harus diperoleh, yang berarti penggantian odontoblas primer yang rusak selama perkembangan karies dengan sel sekretori baru, *odontoblast like cell*. Oleh karena itu, proliferasi dan diferensiasi sel punca dari pulpa gigi (DPSC), atau papila apikal (SCAP) menjadi *odontoblast like cell* sangat penting. Di antara faktor pertumbuhan yang bertanggung jawab atas tujuan ini adalah BMP-2, BMP-4, BMP-7, adrenomedullin (ADM), TGF- β 3, dan faktor pertumbuhan yang diturunkan dari trombosit (PDGF) (Perlea, 2019).

Menurut Rasyid dkk. ion kalsium ekstraseluler memodulasi kadar BMP-2 dalam sel pulpa, dan berspekulasi bahwa peningkatan pH dalam cairan ekstraseluler tanpa kematian sel dapat mempengaruhi kemampuan kalsifikasi dalam sel pulpa sehingga dapat dikatakan bahwa pH basa meningkatkan kadar mRNA BMP-2 dan aktivitas ALP dalam sel *Human Dental Papila* (HDP) (Okabe *et al*, 2006). Peran BMP-2 pada proses inflamasi pulpa belum banyak diketahui.

2.4 Devitalisasi Pulpa

Perawatan yang dapat dilakukan pada kondisi inflamasi pulpa adalah perawatan saluran akar yang merupakan salah satu jenis perawatan untuk mempertahankan gigi agar tetap dapat serta mengeliminasi bakteri dan mencegah reinfeksi (Apriyono, 2010). Perawatan ini dapat dilakukan pada gigi vital dengan cara anastesi dan dengan obat devitalisasi atau gigi yang nekrosis.

Berdasarkan sejarah, bahan devitalisasi pulpa umum digunakan dalam praktik endodontik, bahan ini beraksi cepat dan mendevitalisasi pulpa dalam beberapa hari. Bahan devitalisasi pulpa diaplikasikan pada pulpa yang meradang

dan nyeri terutama pada kasus di mana anestesi lokal sebagian besar tidak efektif (Bansal dan Mahajan, 2019). Bahan devitalisasi pulpa diaplikasikan berkontak dekat dengan pulpa yang terbuka atau hampir terbuka, dan ditutup dengan seng oksida eugenol atau semen sementara lainnya (Srivastava *et al*, 2011).

Bahan devitalisasi mampu mematikan saraf sehingga rasa nyeri dapat dihilangkan (*painless*) secara permanen (Tanumihadja *et al*, 2019a). Bahan devitalisasi pulpa umumnya mengandung paraformaldehid. Dalam rongga mulut, paraformaldehid digunakan sebagai bahan devitalisasi pulpa yang meradang ketika anestesi lokal tidak efektif (Ozgoz *et al*, 2018). Paraformaldehid mengalami depolimerisasi lambat di kavitas gigi. Akibatnya, molekul formaldehida secara bertahap menembus ke dalam pulpa, menyebabkan nekrosis lengkap setelah 6-8 hari (Antoniak *et al*, 2017). Paraformaldehid ketika bekerja pada pulpa dapat menyebabkan kelumpuhan dinding pembuluh darah dan perdarahan pembuluh darah untuk membentuk trombosis, mengakibatkan gangguan sirkulasi darah sehingga pulpa secara bertahap mengalami anhidrasi dan nekrosis (Zhu Zhen-ya, 2013). Paraformaldehid bekerja tidak terbatas pada pulpa, tetapi menembus melalui dentin dan secara bertahap dilepaskan sebagai formaldehida (Ozgoz *et al*, 2018).

2.5 Pulp Out

Banyak penelitian yang telah dilakukan untuk mencari alternatif lain bahan devitalisasi, salah satunya yang berbasis bahan herbal. *Pulp out* merupakan kombinasi dari ekstrak herbal getah jarak (*Jatropha curcas L.*, *Euphorbiaceae*), akar sidaguri (*Sida rhombifolia L.*) dan melittin, yang dianggap memiliki kemampuan untuk mematikan saraf (Indang, 2020).

Pulp out berpotensi digunakan sebagai bahan devitalisasi pulpa. Penelitian yang dilakukan pada hewan coba kelinci menunjukkan *pulp out* dapat digunakan sebagai bahan devitalisasi. Kematian sel tersebut ditandai dengan adanya perubahan diameter pembuluh darah pada aplikasi *pulp out dosis 50* dan *pulp out dosis 25%*. Semakin tinggi dosis yang diberikan semakin banyak lisis yang diamati (Tanumihardja, 2019a).

Penelitian selanjutnya dilakukan pada tahun 2021 untuk mengetahui bagaimana mekanisme lisis sel pulpa setelah aplikasi *pulp out* pada dasar kavitas yang belum mencapai pulpa. Dengan menggunakan CLSM, tampak terjadi sumur-sumur pada dasar kavitas yang diasumsikan sebagai erosi. *Pulp out* dapat menyebabkan terjadinya kelarutan mineral, berpenetrasi melalui rongga yang terbentuk dan kemudian melisiskan sel yang ada di dalam pulpa. Ini menunjukkan *pulp out* mampu berpenetrasi ke dalam pulpa gigi sehingga berpotensi digunakan sebagai bahan devitalisasi pulpa. (Tanumihardja, 2021b).

A. Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)

Jatropha adalah tanaman dari famili *Euphorbiaceae*. *Jatropha* yang memiliki arti tanaman penyembuh atau tanaman obat dan merupakan tanaman yang mudah ditemui. Salah satu *Jatropha* yang banyak terdapat di Indonesia adalah *Jatropha curcas linn*. *Jatropha* memiliki banyak kandungan fitokimia yaitu flavonoid, saponin, tannin, alkaloid dan *protease curcain* yang lebih banyak dan memiliki sifat antiinflamasi, antibakteri, antikanker, antifungi, antinyeri, dan antiseptik (Tanumihardja *et al.*, 2019a; Tanumihardja, 2019b).

Selain itu, getah *jatropha* dapat juga digunakan untuk menghentikan pendarahan pada kulit dan mempunyai sifat antimikroba melawan bakteri *Staphylococcus*, *Streptococcus*, dan *Escherichia coli*. Air getah dan daun *jatropha* yang digiling dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus*, *Bacillus*, dan *Micrococcus* (Jasmadi *et al*,2016). Dari hasil penelitian yang dilakukan Mattulada (2008), diketahui bahwa ternyata dengan pemberian getah *Jatropha curcas*, nyeri pulpa dapat dikurangi (Mattulada, 2008).

B. Akar Sidaguri (*Sida Rhombifolia*)

Sidaguri (*Sida rhombifolia*), genus tumbuhan berbunga dari keluarga *mallow*, *Malvaceae*. Sidaguri merupakan tumbuhan yang memiliki potensi cukup besar disetiap bagiannya, salah satunya adalah akar tanaman sidaguri karena mengandung steroid dan alkaloid yang dapat dijadikan sebagai antibakteri dan antiinflamasi (Pratiwi dan Zulkarnain, 2020).

Penelitian *in vitro* *Sida rhombifolia* terbukti memiliki efek analgetik dan antiinflamasi sebagai obat penurun asam urat. Akar sidaguri digunakan untuk mengobati rematik, asma, influenza, sakit gigi dan mengurangi rasa nyeri pada pembengkakan akibat sakit gigi. Tumbuhan ini digunakan dengan cara menggigitkannya pada bagian gigi yang sakit atau berkumur dengan air rebusan akar sidaguri (Tanumihardja *et al*, 2013; Natsir *et al*, 2014).

C. Melittin (*Apen mellifera*)

Melittin adalah konstituen utama dari racun lebah (*Apis mellifera*), terhitung sekitar 50% dari berat racun lebah yang kering (Lee dan Bee, 2016).

Berdasarkan sifat anti inflamasinya, kombinasi getah jarak, akar sidaguri dan melittin yang disebut *pulp out* menunjukkan jalur kematian sel yang sama dengan bahan devitalisasi komersil sehingga kombinasi ini dapat dipertimbangkan sebagai alternatif bahan devitalisasi berbasis herbal, akan tetapi kajian terhadap dampak sistemik yang ditimbulkan masih sangat terbatas (Chen J *et al*, 2016; Tanumihardja M *et al*, 2021).

Melittin bersifat sitotoksik dan memiliki aksi potensial dalam lisis sel, sebagaimana dibuktikan untuk lisis eritrosit manusia serta peptida lainnya. Lebih lanjut, melittin bekerja langsung pada membran sel. Beberapa aktivitas biologis telah dikaitkan dengan melittin, termasuk tindakan antibakteri, antivirus, dan anti inflamasi, penghambatan pertumbuhan sel, dan apoptosis dari berbagai lini sel kanker (Pandey *et al*. 2010; Chen J *et al*, 2016).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa melittin terbukti aktif melawan bakteri yang ada di rongga mulut (Leandro *et al.*, 2015). Menurut Woon,dkk., melittin melemahkan respon inflamasi yang diinduksi PgLPS dan oleh karena itu dapat diterapkan dalam pengobatan periodontitis untuk efek anti inflamasi (Kim W, *et al.*, 2018). Choe dan Kim (2017) juga melaporkan bahwa melittin mampu menghambat pembentukan osteoklas melalui *down* regulasi jalur pensinyalan RANKL-RANK dan penghambatan interleukin-1 β (Choe dan Kim, 2017).