

ANTIBAKTERI HUMAN BETA-DEFENSIN-3 DALAM TERAPI PERIODONTITIS

Ika Andriani*, Edy Meiyanto**, Suryono***, Ika Dewi Ana****

*Graduate program, Faculty of Dentistry, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta,

** Cancer Chemoprevention Research Center, Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada

*** Department of Periodontia, School of Dentistry, Faculty of Medical and Health Sciences,

Universitas Muhammadiyah Yogyakarta,

**** Department of Periodontia, Faculty of Dentistry, Universitas Gadjah Mada

e-mail: ikaandriani@yahoo.com

KATA KUNCI

Antibakteri, *Human beta-defensin-3*, periodontitis

ABSTRAK

Pendahuluan: Resistensi antimikroba konvensional pada bakteri patogen merupakan masalah kesehatan dan ekonomi masyarakat, maka perlu adanya alternatif antimikroba dalam menangani infeksi. Antimikroba peptida kationik *Human beta-defensin-3* ($H\beta D-3$) yang dihasilkan epitel gingiva, secara alamiah ditemukan dalam sistem imun tubuh manusia yang merupakan antibakteri spektrum luas dan jarang menimbulkan resistensi bakteri serta alergi. Aktivitas antibakteri $H\beta D-3$ berpotensi sebagai bakteriosid periodontopathogen. Tujuan dari penulisan studi pustaka ini menggali potensi antibakteri peptida $H\beta D-3$ sebagai alternatif antibakteri untuk perawatan periodontitis. **Tinjauan:** Periodontitis merupakan peradangan jaringan periodontal oleh bakteri polimikrobia yang menyebabkan kerusakan jaringan pendukung gigi. Adanya keterlibatan bakteri penyebab kerusakan jaringan periodontal, maka perawatan periodontitis memerlukan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak teratur menyebabkan resistensi bakteri, sehingga diperlukan antibakteri yang jarang menimbulkan resistensi. Hasil penelitian sebelumnya *Human beta-defensin* merupakan antibakteri yang jarang menimbulkan resistensi. **Pembahasan:** *Human beta-defensin-3* ($H\beta D-3$) merupakan antibakteri peptida yang menghambat bakteri secara luas baik bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Beberapa mekanisme $H\beta D-3$ dalam membunuh bakteri antara lain memodulasi respon imun dan membunuh sel target spesifik tanpa mempengaruhi sel inang sehingga jarang menimbulkan resistensi obat. Selain sebagai antibakteri, $H\beta D-3$ berperan sebagai *innate immune* dan *adaptive immune*, immunomodulator, penyembuhan luka, regenerasi epitel gingiva dan periodontal, remodeling tulang alveolar serta memicu perbaikan tulang pada pasien dengan periodontitis, sehingga tidaklah berlebihan apabila $H\beta D-3$ merupakan alternatif utama antibakteri dalam perawatan periodontitis. **Simpulan:** *Human beta-defensin-3* ($H\beta D-3$) berpotensi diterapkan dalam pengobatan periodontitis.

KEYWORDS

Antibacterial, *Human beta-defensin-3*, Periodontitis

ABSTRACT

Introduction: Conventional antimicrobial resistance to pathogenic bacteria is a public health and economic problem and this certainly needs alternative antimicrobials in handling the infections. Cationic peptide antimicrobial *Human beta-defensin-3* ($H\beta D-3$) produced by the gingival epithelium, naturally found in the immune system of the human body, is a broad-spectrum antibacterial and rarely causes bacterial resistance and allergies. The activity of antibacterial $H\beta D-3$ is potential as a periodontopathogenic bacteriocidal. This literature study research aims to explore the antibacterial potential of *Human beta-defensin-3*.

(H β D-3) peptide as an antibacterial alternative for treatment of periodontitis. **Overview:** Periodontitis is a periodontal tissue inflammation caused by polymicrobial bacteria, causing damage in the tooth-supporting tissue. Periodontitis treatment requires antibiotics considering the involvement of bacteria causing the periodontal tissue damage. The irregular use of antibiotics causes bacterial resistance; hence, there is a need for anti-bacterial that rarely causing resistance. The results of previous studies showed that human beta-defensin is antibacterial that rarely causing resistance **Discussion:** Several mechanisms of H β D-3 in killing bacteria include modulating the immune response and killing the specific target cells without affecting the host cell so that it rarely causes the drug resistance. Apart from being antibacterial, H β D-3 acts as innate immune and adaptive immune, immunomodulator, wound healing, regeneration of gingival and periodontal epithelium, alveolar bone remodeling and triggers bone repair in patients with periodontitis. For this, it can be stated if H β D-3 is the main alternative for antibacterial in periodontitis treatment. **Conclusion:** Human beta-defensin-3 (H β D-3) is potential to be applied in periodontitis therapy

PENDAHULUAN

Periodontitis merupakan suatu proses inflamasi disebabkan bakteri polimikrobia, mengakibatkan kerusakan jaringan pendukung gigi. Periodontitis memicu respon imun alami, inflamasi, dan imun adaptif. Proses ini menghasilkan kerusakan jaringan pendukung gigi termasuk tulang alveolar dan apabila tidak dirawat maka gigi akan tanggal¹ serta meningkatkan risiko penyakit sistemik, seperti aterosklerosis, diabetes mellitus, pneumonia, dan rheumatoid arthritis. Kondisi ini telah menjadi masalah kesehatan masyarakat yang utama, perawatan penyakit ini memerlukan biaya yang tidak sedikit sehingga menimbulkan dampak ekonomi. Pengembangan terapi yang efektif untuk mengobati periodontitis dan meregenerasi jaringan periodontal telah menjadi tujuan penting dari pengobatan saat ini.² Tujuan akhir terapi periodontal adalah terjadinya regenerasi lengkap jaringan yang

mempunyai struktur dan fungsi yang sama seperti sebelum kerusakan dan kehilangan jaringan periodontal karena inflamasi.³ Inflamasi yang terjadi pada periodontitis karena adanya bakteri periodontopatogen sehingga terapi periodontitis biasanya menggunakan antibiotik sistemik ataupun topikal untuk eliminasi bakteri, tetapi antibiotik konvensional ini menyebabkan resistensi bakteri terhadap terapi.⁴ Bakteri yang resisten terhadap antibiotik merupakan ancaman berat bagi kesehatan masyarakat. Pengobatan dengan antibakteri konvensional menjadi tidak efektif dan memerlukan biaya yang besar sebagai akibat dari resistensi bakteri terhadap obat, dan hal tersebut sangat penting untuk menemukan antibakteri baru. Antimikroba peptida merupakan salah satu alternatif dalam mengendalikan infeksi periodontal, antimikroba ini dapat memodulasi respon imun dan membunuh sel target spesifik tanpa

mempengaruhi sel inang.⁵ Studi awal memperkenalkan bermacam-macam antimikroba peptida yaitu defensin, histatin, adrenomedullin, cathelicidin, statherin, dan neuropeptida dengan struktur dan profil bioaktivitas yang sangat berbeda.⁶

Defensin adalah antimikroba peptida pertama yang dijelaskan dalam mamalia, defensin mamalia bersifat kationik, relatif kaya argininpeptida nonglikosilasi dengan massa molekul 3,5-4,5 kDa.⁷ Antimikroba ini merupakan antimikroba protein yang membantu sistem kekebalan tubuh mamalia untuk menghindari patogen dan menjaga integritas tubuh. Secara umum defensin mamalia ditemukan secara luas dalam tubuh hewan dan manusia, bertindak sebagai agen antibakteri, antijamur dan antivirus. Berdasarkan ikatan disulfida, defensin mamalia diklasifikasikan menjadi tiga yaitu: defensin alfa (α), beta (β) dan theta (θ), sekitar 29-45 asam amino yang diekspresikan pada manusia.⁸ Defensin alfa hadir dalam sel-sel darah, sedangkan defensin beta dapat ditemukan di jaringan epitel, cairan sulkus gingiva dan saliva.⁹

Diantara antimikroba peptida, yang paling menjanjikan adalah *Human beta-defensin* (*H β D*), defensin ini mempunyai aktivitas antimikroba yang kuat, karena tidak hanya melawan bakteri Gram positif dan Gram-negatif, tetapi juga pada jamur, virus, dan parasit.¹⁰ Aktivitas antibakteri *H β D* berefek pada permeabilisasi struktur membran sel mikroorganisme, dan menghambat sintesis

DNA serta merusak regulasi metabolisme sel bakteri.⁸

Di rongga mulut, hanya *H β D*-1, *H β D*-2 dan *H β D*-3 yang diekspresikan dan terdeteksi di epitel gingiva, dalam lapisan suprabasal gingiva normal, *H β D*-1 dan *H β D*-2 terlokalisasi, dan di dalam lapisan basal dalam sel epitel yang tidak berdiferensiasi, peptida *H β D*-3 diekspresikan.¹¹ Berdasarkan struktur dan fungsinya, *H β D*-3 cukup meyakinkan untuk dikembangkan dan diaplikasikan dalam farmasi. Studi lebih lanjut menunjukkan *H β D*-3 sebagai antibakteri yang poten dibandingkan *H β D*-1 dan *H β D*-2, serta sebagai imunomodulator,⁸ sehingga *H β D*-3 merupakan antibakteri alternatif dalam perawatan periodontitis.¹²

Tujuan penulisan telaah pustaka ini adalah untuk menggali potensi antibakteri peptida *Human beta-defensin* khususnya *Human beta-defensin-3* (*H β D*-3) dalam terapi periodontitis.

TINJAUAN

Periodontitis merupakan peradangan jaringan periodontal disebabkan bakteri polimikrobial, menyebabkan kerusakan jaringan pendukung gigi. Keterlibatan bakteri pada periodontitis, maka perawatan periodontitis memerlukan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak teratur menyebabkan resistensi bakteri, sehingga diperlukan antibakteri yang jarang menimbulkan resistensi. Hasil penelitian sebelumnya menyatakan bahwa *Human beta-*

defensin merupakan antibakteri yang jarang menimbulkan resistensi.

Human beta-defensin

Human beta-defensin terekspresi di gingiva, lidah, glandula salivary dan mukosa mulut. Epitelium gingiva memproduksi *HβD* secara konstitutif dan terekspresi pada respon terhadap produk mikroba atau sitokin proinflamatori.¹³ Selain berkontribusi sebagai pertahanan alami melawan bakteri yang selalu ada dalam rongga mulut, *HβD* juga berperan dalam menginisiasi dan progresi kerusakan jaringan periodontal, kemotaksis dan agen anti-inflamasi.

Human beta-defensin-1 (HβD-1) merupakan defensin yang terekspresi secara konstitusi, sedangkan *HβD-2*, *HβD-3*, dan *HβD-4* merupakan respon proinflamatori. *Human beta-defensin-2 (HβD-2)* dan sekresi *HβD-3* hampir tidak terlihat pada kondisi normal sedangkan sekresi mereka jelas meningkat setelah terinfeksi.⁸ Hasil penelitian *in vivo*, menunjukkan bahwa terjadi akumulasi defensin yang secara signifikan lebih tinggi di lesi yang terinfeksi bakteri dan *C. albicans* dibandingkan dengan yang tidak terinfeksi.¹¹ Aktivitas antibakteri *HβD* dipengaruhi adanya garam, kationik *divalent* dan protein. Struktur *HβD-3* memiliki residu tambahan pada *N terminus* dan *C terminus*. *N terminus* adalah residu hidropobik dengan dua *isoleucine* dan satu leucine pada rangkain setelah sistein pertama, sedangkan *C terminus* adalah residu kationik dengan dua

arginin dan dua lysin pada akhir sistein. Struktur *HβD-3* dengan tambahan residu hidropobik, menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih kuat, tetapi penambahan muatan positif pada *HβD-3* (+11) menunjukkan potensi antibakteri yang lebih kuat dari pada penambahan residu hidropobik¹⁴. Efek antibakteri *HβD* sangat tergantung pada garam, *HβD* menunjukkan aktivitas tertinggi dalam kondisi konsentrasi ion rendah, dan aktivitas antibakteri *HβD* secara signifikan terganggu dengan adanya ion, seperti Na^+ , Mg^{2+} , dan Ca^{2+} . Diantara tiga *HβD* dalam gingiva, *HβD-3* mempunyai spektrum aktivitas mikroba yang luas dengan sensitivitas garam relatif rendah dan mempunyai muatan positif kationik yang sangat tinggi (+11) sedangkan *HβD-1* dan *HβD-2* memiliki sensitivitas garam yang tinggi dengan muatan positif (+7), artinya antibakteri *HβD* terganggu dengan adanya garam, tetapi *HβD-3* tahan terhadap garam dan membunuh mikroba pada konsentrasi garam fisiologis.¹⁵ Peningkatan aktivitas antibakteri dengan uji NMR menunjukkan bahwa *HβD-3* adalah dimer, sedangkan *HβD-1* dan *HβD-2* adalah monomer¹⁶ bentuk dimer menunjukkan peningkatan pembunuhan bakteri dibandingkan dengan bentuk monomer.¹⁷

PEMBAHASAN

Mekanisme aktivitas antimikroba *HβD-3*

Antimikroba peptida menunjukkan aktivitas sinergis dengan molekul pertahanan tuan

rumah seperti lisozim dan laktoferin. Defensin mempunyai permukaan kationik dan struktur hidrofobik, merupakan hal yang penting untuk mengganggu membran bakteri. Aktivitas mikrobakteriosid defensin berasal dari permeabilisasi anionik *bilayers* lipid dan merusak elektroda membran potensial yaitu: 1) interaksi antara kationik peptida dan anionik membran sel mikroba melibatkan daya tarik elektrostatik, yang dihambat oleh konsentrasi garam yang tinggi dalam larutan. 2) Permeabilisasi membran. Satu mekanisme permeabilisasi diduga melibatkan pembentukan pori-pori ion. Pembentukan pori pada membran merangsang kebocoran sel bakteri sehingga terjadi ketidakseimbangan dalam sitoplasma, akhirnya menyebabkan kematian bakteri. Karakteristik gangguan membran ini tidak universal, tetapi bervariasi tergantung pada jenis defensin dan spesies bakteri.¹⁰ Hal ini sejalan dengan Bedran dkk, (2014) yang menyatakan bahwa mekanisme antibakteri *beta-defensin* mungkin disebabkan oleh molekul peptida dengan muatan kationik yang bisa dikombinasikan pada membran plasma bakteri dengan muatan kationik, kemudian segmen hidrofobik dan α -heliks *amphipathic* dalam molekul akan dimasukkan ke dalam membran plasma, akhirnya saluran ion bisa dibentuk oleh perpindahan molekul-molekul, dengan demikian mengakibatkan kerusakan struktural membran bakteri dan menyebabkan kematian bakteri.⁵ Hal ini

diperkuat oleh penelitian Anderson (2014) yang menyatakan efek bakterisidal antimikrobia peptida berasal dari pembentukan pori-pori oleh penumpukan peptida pada membran sitoplasma bakteri sehingga menyebabkan ion mengalir keluar dari membran dan terjadi kematian sel.¹⁸ Mekanisme untuk membentuk pori-pori yang menyebabkan kebocoran ion pada membran sel bakteri, yaitu: 1) Mekanisme *Barrel-stave* menunjukkan bahwa peptida masuk ke dalam lapisan *bilayer* secara perpendikuler hingga membentuk pori, kemudian di dalam pori peptida membentuk ikatan dengan bagian hidrofobik yang menghadap ke inti lipid dan bagian hidrofilik yang menghadap bagian dalam pori mengakibatkan sel lisis. 2) Mekanisme pori toroidal, menyebabkan insersi peptida sehingga memaksa fosfolipid untuk melipat terus menerus dari satu lapisan ke lapisan berikutnya hingga terbentuk pori terdiri dari kedua peptida dan bagian kepala kelompok fosfolipid, kemudian terjadi depolarisasi membran menyebabkan sel bakteri mati. 3) Mekanisme karpet, akumulasi peptida pada permukaan membran menutup membran seperti karpet, menyebabkan tegangan pada lapisan lipid bakteri yang kemudian menyebabkan permeabilitas dan disintegrasi membran, sehingga sel lisis.¹⁹ Permeabilitas membran pada bakteri oleh antimikroba peptida dipercaya dapat menimbulkan kebocoran ion dan metabolit sel, tidak seimbang regulasi osmotik, dan menghambat respirasi sel, serta

perobekan membran dan kematian secara cepat pada sel mikroba.²⁰ Membran bakteri, komposisi asam amino, dan desain antimikroba peptida kationik merupakan determinan utama pembunuhan bakteri oleh *H β D*.²¹

Mekanisme aktivasi antibakteri pada Gram negatif, sifat polikasional *H β D-3*, secara efektif dapat berinteraksi dengan muatan anionik pada molekul LPS kemudian mengikat dan menetralkan aktivitas LPS. Hal ini menunjukkan *H β D-3* mempunyai sifat anti-endotoksin.¹⁰ *Human beta-defensin* merupakan peptida *amphiphilic* yang mengikat permukaan bakteri dengan interaksi elektrostatis dan hidrofobik, tetapi gangguan terhadap membran bakteri bervariasi tergantung pada tipe defensin dan spesies bakteri. Muatan positif dan rasio tinggi asam amino hidrofobik membuat *H β D-3* dapat secara selektif berikatan dengan dinding bakteri yang bermuatan negatif karena membran sitoplasma bakteri baik Gram positif dan negatif banyak mengandung fosfolipid fosfatidilgliserol, kardiopipin, dan fosfatidilserin yang termasuk dalam kumpulan muatan negatif yang mudah terikat dengan muatan positif *H β D-3*.²² Interaksi elektrostatis dan adhesi *H β D-3* pada membran bakteri Gram positif lebih kuat dan lebih cepat stabil dari pada membran Gram negatif.²³

Mekanisme antibakteri *beta-defensin* merupakan efek fisik, maka ia sangat berbeda dari mekanisme antibiotik

konvensional, dan mekanisme aktivitas permeabilisasi membran relatif tidak spesifik serta hanya menarget membran bakteri bukan sel inangnya. Oleh karena itu sulit bagi mikroorganisme untuk menghasilkan mutasi resistensi terhadapnya, ini adalah alasan bahwa *beta-defensin* merupakan pilihan sebagai alternatif antibakteri.⁵

***Human beta-defensin (H β D-3)* dan penyakit periodontitis**

Sel epitelial mensekresikan *H β D-3* ketika terjadi paparan bakteri, tetapi *H β D* rentan terhadap degradasi dan inaktivasi oleh protease inang dan bakteri sehingga pada jaringan gingiva yang meradang, level ekspresi mRNA lebih rendah dari pada jaringan sehat. Uji ELISA menyatakan level *H β D-3* berkorelasi terbalik dengan tingkat keparahan penyakit dan tingkat kolonisasi kombinasi spesies bakteri yang memiliki potensi periodonto patogenik yang meningkat. Berdasarkan informasi ini, masuk akal untuk berhipotesis bahwa peradangan dan kerusakan jaringan terjadi ketika *H β D-3* peptida tidak dapat menangkalkan aktivitas antimikroba.¹⁰

H β D 1-3 mampu menghambat aktivitas LPS dengan mempengaruhi pengikatan LPS ke monosit.²⁴ Produksi dan penyimpanan *H β D-3* terjadi pada sel-sel epitel gingiva, dan *H β D-3* mampu bermigrasi ke sekresi dari jaringan oral seperti air liur, cairan sulkus gingiva, dan sekresi hidung.²⁵ Jaringan *epitel junctional* terdiri dari epitel skuamosa non-

keratin merupakan reservoir utama untuk neutrofil terkait aktivitas antimikroba peptida yang berkontribusi untuk menjadi homeostasis sel inang.²⁶

Peran *HβD-3* yang lain yaitu regenerasi periodontal dengan menginduksi perlekatan dan proliferasi fibroblas pada permukaan akar yang terinflamasi.²⁷ Pernyataan dikuatkan oleh penelitian Cui dkk. (2017) yang menyebutkan bahwa *HβD-3* memiliki efek menguntungkan pada penyembuhan luka melalui makrofag, *HβD-3* berpartisipasi dalam respon imun yang sangat penting dalam sistem pertahanan bawaan selama terjadinya periodontitis dan sangat penting untuk peradangan dan perbaikan jaringan serta merupakan mediasi dalam remodeling jaringan dengan menginduksi matriks metaloproteinase (MMP) dan mengurangi penghambatan MMP-1/MMP-2.¹²

Substitusi *HβD-3* dalam berbagai penelitian *in-vivo* menunjukkan bahwa *HβD-3* menekan peradangan periodontal dan menghambat proses kehilangan tulang alveolar¹², sehingga tidak berlebihan untuk mempertimbangkan *HβD* dalam kaitannya dengan peran utamanya terhadap fungsi epitel dan homeostasis,⁸ memperlambat resorpsi tulang yang disebabkan oleh peradangan, dan pendekatan ini dapat menawarkan metode baru dan aman untuk meningkatkan regenerasi periodontal selama proses remodeling tulang.²⁸

Penyakit periodontal, inisiasi dan perkembangannya dikaitkan dengan

kolonisasi mikroorganisme spesifik. Organisme yang terlibat disebut bakteri periodonto pathogenic (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* dan *Tannerella forsythia*, termasuk *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*).²⁹ Sebuah studi *in vitro* yang dilakukan oleh Lee et al (2009) menunjukkan bahwa periodonto pathogen, *P. intermedia* dan *T. forsythia*, memiliki kerentanan yang berbeda terhadap *HβD-3*. Respon inang yang efektif terhadap bakteri terutama dimediasi oleh neutrofil dan masuknya neutrofil ke dalam sulkus gingiva, diikuti oleh ekspresi dan pelepasan defensin α - dan β -.²⁸ Liposakarida (LPS) *Porphyromonas gingivalis* memicu respons inflamasi yang kuat dalam sel inang dengan menginduksi produksi kemokin dan sitokin, seperti *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), *interleukin-6* (IL-6), *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α), dan IL-10. Sitokin ini diproduksi oleh banyak sel imun dan sel non-imun, termasuk makrofag, sel B, dan ligamen periodontal. Produksi sitokin yang tinggi pada jaringan periodontal dapat menginduksi ekspresi berbagai matriks metalloproteinase (MMP), termasuk MMP-9.¹² Hal ini menyebabkan degradasi komponen matriks ekstraseluler, kerusakan jaringan periodontal dan resorpsi tulang alveolar. Hasil penelitian pada tikus yang diinduksi dengan LPS dan kemudian diinjeksikan *HβD-3*, secara signifikan menekan produksi TNF- α yang bertanggung jawab pada peradangan.³⁰

Human beta-defensin (H β D) adalah antimikroba peptida yang berasal dari epitel yang berkontribusi pada respon imun bawaan dari eukariota, mikrobisida, merupakan mediator multifungsi peradangan yang memiliki efek pada proliferasi sel, produksi sitokin/ kemokin dan chemotaksis di sel epitel dan inflamasi.³¹ Pola ekspresi *H β D-1*, *H β D-2*, dan *H β D-3* memberikan bukti hambatan antimikroba epitel gingiva, hal ini konsisten dengan hasil penelitian mengenai frekuensi ekspresi *H β D-1* dan *H β D-3*. Khususnya, frekuensi ekspresi dari dua defensin akan meningkat setelah terapi periodontal. Pengamatan ini dapat menunjukkan bahwa ekspresi defensin ini diperlukan untuk fungsi antimikroba tetapi terhambat karena adanya peradangan dengan menggunakan terapi periodontal dan mengurangi bakteri, frekuensi ekspresi kedua defensin ini dapat ditingkatkan.³² Ekspresi *H β D* diatur oleh beberapa mediator inflamasi yang terutama berhubungan dengan peradangan. Sitokin proinflamasi, terbukti memiliki efek yang bervariasi pada ekspresi *H β D*, sebagai contoh, IL-6, IL-8, dan IFN- γ meningkatkan ekspresi *H β D-3*, tetapi IL-1 β hanya menginduksi peningkatan regulasi ekspresi *H β D-2*³³. Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa peradangan agresif dan kerusakan jaringan terjadi ketika *H β D-3* tidak dapat melawan aktivitas antimikroba. Namun, ekspresi yang tepat dari *H β D* dalam keadaan inflamasi dan non inflamasi dapat berkontribusi pada pemeliharaan homeostasis

periodontal, hal ini merupakan potensi antimikroba dari *H β D-3* dan juga promosi respon imun adaptif.³⁴

Secara *in vivo* pada tikus dengan periodontitis, *H β D-3* menghambat kadar TNF- α , IL-6, dan MMP-9 dalam periodonsium yang terpapar *Porphyromonas gingivalis*; mengurangi pembentukan osteoklas dan kehilangan tulang alveolar yang lebih rendah. Secara *in vitro*, *H β D-3* secara khusus menekan produksi TNF- α dan interleukin-6 dalam sel RAW 264,7 yang distimulasi oleh LPS dari *Porphyromonas gingivalis*. Selain itu, *H β D-3* melemahkan polarisasi sel RAW 264,7 ke dalam fenotipe Makrofag1 (M1), dengan mengurangi aktivasi transduksi sinyal nuclear factor- κ B (NF- κ B). Sebagai kesimpulan, *H β D-3* menunjukkan sifat anti-periodontitis yang kuat baik *in vitro* dan *in vivo*, dan efek ini mungkin berkorelasi dengan penghambatan jalur NF- κ B dan polarisasi makrofag.¹²

Makrofag, sebagai komponen integral dari sistem pertahanan tuan rumah, memainkan peran penting dalam patogenesis periodontitis: 1) mediasi respon imun bawaan; 2) mengatur perbaikan dan penghancuran jaringan; 3) mengaktifkan kekebalan adaptif; dan 4) mediasi kehilangan tulang alveolar. *H β D* menekan produksi sitokin proinflamasi sebagai respon terhadap antigen mikroba spesifik, mengaktifkan dan mendegradasi sel mast, mengatur sistem komplemen, menghambat produksi

glukokortikoid, dan meningkatkan respon imun spesifik antigen.²⁷

Beberapa penelitian menunjukkan *HβD-3* memiliki aktivitas antibakteri yang penting dan memiliki peran dalam menginduksi proliferasi fibroblast dan mempromosikan regenerasi periodontal. Dengan demikian, masuk akal untuk berhipotesis bahwa peningkatan ekspresi *HβD-3* dalam jaringan periodontal dapat berkontribusi pada regenerasi periodontal.³⁵

HβD-3 dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengatur peradangan dan respon kekebalan tubuh pada bakteri yang resisten terhadap obat yang diinduksi Methicillin Resistance Staphylococcus Aureus (MRSA), infeksi biofilm efek bakteriostatik dari *HBD-3* mungkin terkait dengan peningkatan ekspresi NF-κB dan TLR-4.³⁶

Potensi *HβD-3* dalam Periodontitis

Terapi antimikroba berguna untuk melindungi jaringan/ organ yang sedang beregenerasi dari infeksi, dan mengurangi kebutuhan akan antibiotik konvensional yang menginduksi resistensi obat. Pemberian *HβD-3* ditunjukkan untuk melindungi terhadap invasi bakteri. Periodontitis merupakan peradangan periodonsium yang menyebabkan kerusakan tulang alveolar karena ketidakseimbangan dalam remodeling tulang alveolar. Tulang alveolar mempunyai kemampuan regenerasi jaringan tulang yang baru pada kondisi kerusakan tulang yang

tidak besar, tetapi kerusakan tulang yang besar memerlukan penanganan dengan pembedahan dan atau cangkok tulang (*bone graft*).

Berbagai pendekatan telah diterapkan untuk meregenerasi jaringan periodontal, termasuk penggunaan cangkok jaringan atau tulang dengan biomaterial. Terapi periodontitis dengan penambahan obat sering dilakukan untuk penggunaan klinis, terapi antimikroba lokal memiliki potensi untuk menyediakan produksi protein yang lebih berkelanjutan, memberikan protein secara fisiologis dan memungkinkan pengembangan sarana pengiriman biologis seluler yang dapat meningkatkan perbaikan tulang.³³

Pemberian monoterapi *HβD-3* pada periodontitis yang dilakukan Wang dkk (2011) menyatakan bahwa *HβD-3* mampu menyembuhkan luka dan regenerasi epitel gingiva yang rusak, serta regenerasi periodontal dengan menginduksi perlekatan dan proliferasi fibroblas pada permukaan akar.²⁷ Hal ini diperkuat oleh Warnke dkk., 2013 pemberian monoterapi *HβD-3* akan menginduksi remodeling tulang alveolar,³⁷ dan penetralan racun dari bakteri, serta induksi osteogenesis melalui efek anti-inflamasi dalam lingkungan mikro inflamasi.³² Aplikasi antimikroba *HβD-3* secara lokal berguna untuk perlindungan jaringan yang diregenerasi dari invasi bakteri, mengurangi kebutuhan antibiotik konvensional yang menginduksi resistensi

obat,¹² dan meningkatkan perbaikan tulang.^{37,38}

Selain monoterapi untuk periodontitis, juga dikembangkan kombinasi rekayasa jaringan dan terapi antimikroba yang berpotensi bekerja bersama-sama untuk membuat perbaikan jaringan berhasil lebih baik karena infeksi selalu menjadi faktor risiko utama selama restorasi jaringan.³⁹ Berbagai pendekatan telah diterapkan untuk meregenerasi jaringan periodontal, termasuk penggunaan cangkok jaringan atau tulang dengan biomaterial, *guide bone regeneration* dan *guide tissue regeneration*⁴⁰.

Sel ligamen periodontal manusia (HPDLC/PDLC), sel-sel stroma sumsum tulang manusia (*Human Bone Marrow-derived mesenchymal Stem Cells/* HBMSC) dikombinasikan dengan *HβD-3* berpotensi diterapkan dalam pengobatan penyakit infeksi mulut, termasuk periodontitis. Penelitian dengan ligamen periodontal manusia (*Human Periodontal Ligament Cells/* HPDLC) dan HBMSC dengan modifikasi *HβD3* menyimpulkan bahwa penelitian ini mengembangkan pengobatan baru yang sesuai untuk peradangan periodontal dalam mempromosikan regenerasi jaringan periodontal.⁴⁰

Remodeling tulang adalah proses kompleks yang melibatkan pembentukan tulang dan resorpsi tulang. Lembaran PDLC dengan gen yang mengkodekan *HβD-3* dapat memperlambat resorpsi tulang yang disebabkan oleh peradangan, dan pendekatan

ini dapat menawarkan metode baru dan aman untuk meningkatkan regenerasi periodontal selama proses remodeling tulang.

Cangkok tulang karbonat hidroksiapatit (CHA) yang mempunyai sifat osteokonduksi dikombinasikan dengan antibakteri *HβD-3* mampu meningkatkan kepadatan kolagen saat terjadi regenerasi jaringan pada tikus periodontitis dibandingkan membran cangkok tulang CHA saja.⁴¹

Hal ini dapat disimpulkan bahwa *HβD-3* dapat berfungsi sebagai promotor osteogenik melalui efek anti-inflamasi dalam lingkungan mikro inflamasi.⁴¹ Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Li dkk., 2020 penelitian *in vivo*, sel ligamen periodontal tikus dimodifikasi dengan *HβD-3* yang ditransplantasikan pada tikus periodontitis menunjukkan terlibatnya jalur protein kinase (MAPK) mitogen yang diaktifkan sehingga *HβD-3* mempercepat osteogenesis dan perbaikan tulang pada pasien dengan periodontitis.⁴²

SIMPULAN

Human beta-defensin (HβD-3) menyediakan produksi protein yang lebih berkelanjutan, memberikan protein secara fisiologis yang dapat meningkatkan perbaikan tulang. Kombinasi rekayasa jaringan dan terapi antimikroba berpotensi bekerja bersama-sama untuk membuat perbaikan jaringan lebih berhasil karena infeksi selalu menjadi faktor risiko utama selama restorasi jaringan. Potensi antimikroba *HβD-3* tidak hanya

berfungsi sebagai antibakteri (antibiotik), tetapi juga sebagai modulator peradangan atau obat anti-LPS. Selain itu *HβD-3* menekan produksi TNF α , IL-6, IL-1 β yang merupakan mediator peradangan dan sebagai promotor osteogenik. Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa *HβD-3* berpotensi diterapkan dalam pengobatan periodontitis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Silva, N., Abusleme, L., Bravo, D., Dutzan, N., Garcia-Sesnich, J., Vernal, R., Hernández, M., Gamonal. 'Host response mechanisms in periodontal diseases', *J.Appl Oral Sci*, 2015; 23(3), 329– 355.
2. Costalonga M and Herzberg MC: The Oral Microbiome and the Immunobiology of Periodontal Diseases and Caries. *Immunol Lett*.2014, 162: 22-38
3. Sculean A, Chapple IL, Giannobile WV., Wound models for periodontal and bone regeneration: the role of biologic research., *Periodontol* 2000. 2015; 68(1):7-20
4. Sabir S., Anjum A.A, Ijaz T, Ali M.A, Rehman M.U, Nawaz M., Isolation, and Antibiotic Susceptibility of E. Coli from Urinary Tract Infections in a Tertiary Care Hospital. *Pak J Med Sci*. 2014; 30: 389-92.
5. Bedran TB, Mayer MP, Spolidorio DP, and Grenier D: Synergistic anti-inflammatory activity of the antimicrobial peptides *Human beta-defensin-3 (HBD-3)* and cathelicidin (LL-37) in a three-dimensional co-culture model of gingival epithelial cells and fibroblasts. *PLoS One* 2014: 106766
6. Gupta S, Bhatia G, Sharma A, Saxena S Host defense peptides: An insight into the antimicrobial world *J Oral Maxillofac Pathol*. 2018; 22(2): 239–244.
7. Kohlgraf KG, Pingel LC, Dietrich DE, Brogden KA. Defensins as anti-inflammatory compounds and mucosal adjuvants. *Fut Microbiol*. 2010; 5: 99–113.
8. Olli S., Nagaraj R., Motukupally S.R., A Hybrid Cationic Peptide Composed of Human β -Defensin-1 and Humanized θ -Defensin Sequences Exhibits Salt-Resistant Antimicrobial Activity, *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(1):217-25.
9. Gursoy, U. K., & Könönen, E. Understanding the roles of gingival beta-defensins. *Journal of Oral Microbiology*, 2012; 4: 1–10.
10. Brandenburg, L. O., Merres, J., Albrecht, L. J., Varoga, D., Pufe, T. 'Antimicrobial peptides: Multifunctional drugs for different applications', *Polymers*, ISSN 2073-4360, 2012; 4(1), 539–560.
11. Cui, D., Lyu, J., Li, H., Lei, L., Bian, T., Li, L., Yan, F. 'Human β -defensin 3 inhibits periodontitis development by suppressing inflammatory responses in macrophages, *Mol Immunol*, 2017; 91, 65– 74.
12. Brancatisano FL, Maisetta G, Barsotti F, Esin S, Miceli M, Gabriele M, Giuca MR, Campa M, Batoni G. Reduced *Human beta-defensin 3* in individuals with periodontal disease. *J Dent Res*. 2011; 90: 241–245.
13. Ebrahim MA: Expression of *Human beta-defensins (HBDs)* 1, 2, and 3 in gingival crevicular fluid of patients affected by localized aggressive periodontitis. *Saudi Dent J*.2015; 25: 75-82, 2013.
14. Fine, Norman B. "Activity of Epithelial Defensin *HBD-3* Against a Periodontal Pathogen" Theses and Dissertations (ETD). 2011 Paper 81
15. Scudiero O, Galdiero S, Cantisani M, Noto RD, Vitiello M, Galdiero M, Naclerio G, Cassiman JJ, Carlo Pedone, Castaldo G, Salvatore F, Novel Synthetic, Salt-Resistant Analogs of *Human beta-defensins* 1 and 3 Endowed with Enhanced Antimicrobial Activity, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2010, 2312–2322
16. Zhu C, Bao NR, Chen S and Zhao JN. The mechanism of human β -defensin 3 in MRSA-induced infection of implant drug-resistant bacteria biofilm in the mouse tibial bone marrow, *Experimental, and Therapeutic Medicine*2017; 13: 1347-1352,
17. Zhou L, Liu SP, Chen LY, Li J, Ong LB, Guo L, WohlandT, Tang CC, Lakshminarayanan R, Mavinahalli J, Verma C, Beuerman RW The Structural Parameters for Antimicrobial Activity, Human Epithelial Cell Cytotoxicity and Killing Mechanism of Synthetic Monomer and Dimer Analogues Derived From *HBD3* C-terminal Region, *Amino Acids*, 2011;40(1):123-33.
18. Andersson, D. I., Hughes, D., Kubicek-Sutherland, J. Z. Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Drug Resist. Update*. 2016;26, 43–57
19. Mahlapuu M, Håkansson J, Ringstad, Björn C, Antimicrobial Peptides: An Emerging

- Category of Therapeutic Agents, *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2016;1-8
20. Eckert, R. Road to clinical efficacy: challenges and novel strategies for antimicrobial peptide development. *Fut. Microbiol.* 2011. 6, 635–651
 21. Schmidt, N.W., Mishra, A., Lai, G.H., Davis, M., Sanders, L.K., Tran, D., Garcia, A., Tai, K.P., McCray, P.B., Ouellette, A.J., Selsted, M.E., Wong, G.C.L. (2011). Criterion for amino acid composition of defensins and antimicrobial peptides based on geometry of membrane destabilization. *J. Am. Chem. Soc.* 133, 6720–6727.
 22. Ebenham, T., Gheysens, O., Kruger, H.G., Zeevaart, J.R., Satheke, M.M., Antimicrobial Peptides: Their Role as Infection-Selective Tracers for Molecular Imaging. *BioMed Res. Int.* 2014, 867381.
 23. Lee J, Jung SW, Art E, Cho AE, Molecular Insights Into the Adsorption Mechanism of Human β -Defensin-3 on Bacterial Membranes *Langmuir*, 2016. 23;32(7):1782-90.
 24. Lee, S.-H., Jun, H.-K., Lee, H.-R., Chung, C.-P., Choi, B.-K., Antibacterial and lipopolysaccharide (LPS)-neutralizing activity of human cationic antimicrobial peptides against periodontopathogens. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2010; 35, 138–145.
 25. Yoo, Y. J., Perinpanayagam, H., Lee, J. Y., Oh, S., Gu, Y., Kim, A. R., Chang, S. W., Baek, S. H., & Kum, K. Y. Synthetic Human β Defensin-3-C15 Peptide in Endodontics: Potential Therapeutic Agent in Streptococcus gordonii Lipoprotein-Stimulated Human Dental Pulp-Derived Cells. *Int J Mol Sci.* 2019; 20;21(1):71
 26. Greer, A., Zenobia, C., Darveau, R.P. Defensins and LL-37: a review of function in the gingival epithelium. *Periodontol.* 2000;2013; 63, 67–79.
 27. Wang H, Watanabe H, Ogita M, Ichinose S, Izumi Y. Effect of *Human beta-defensin-3* on the proliferation of fibroblasts on periodontally involved root surfaces. *Peptides.* 2011; 32: 888–894.
 28. Zhu, C., Bao N, Chen S, Zhao JN ‘The mechanism of human β -defensin 3 in MRSA-induced infection of implant drug-resistant bacteria biofilm in the mouse tibial bone marrow’, *Exp Ther Med.* 2017; 13(4): 1347–1352.
 29. Kothari P, Pestana R, Mesraoua R, Elchaki R, Khan KM, Dannenberg AJ, Falcone DJ, IL-6-mediated induction of matrix metalloproteinase-9 is modulated by JAK-dependent IL-10 expression in macrophages, *J Immunol.* 2014. 1;192(1):349-57.
 30. Liu WH, Qian NS, Li R, Dou KF. Replacing Hoechst33342 with Rhodamine123 in isolation of cancer stem-like cells from the MHCC97 cell line. *Toxicol In Vitro.* 2010; 24: 538–545.
 31. Greer A, Zenobia C, Darveau RP. Defensins and LL-37: a review of function in the gingival epithelium, *Periodontol* 2000. 2013 ;63(1):67-79
 32. Zhu M, Miao B, Zhu J, Wang H, Zhou Z, Expression and antimicrobial character of cells transfected with human β -defensin-3 against periodontitis-associated microbiota in vitro. *Mol Med Rep.* 2017;16(3):2455-2460
 33. Sima C, Glogauer M., Macrophage subsets and osteoimmunology: tuning of the immunological recognition and effector systems that maintain alveolar bone, *Periodontol* 2000, 2013, 63 (1), 80-101
 34. Diamond G, Ryan L. Beta-defensins: what are they really doing in the oral cavity? *Oral Dis.* 2011; 17: 628–635
 35. Kiatsurayanon C, Niyonsaba F, Smithrithee R, Akiyama T, Ushio H, Hara M, Okumura K, Ikeda S, Ogawa H: Host defense (antimicrobial) peptide, *Human beta-defensin-3*, improves the function of the epithelial tight-junction barrier in human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2014; 134: 2163-2173
 36. Ning R, Zhang X, Guo X, and Li Q: Staphylococcus aureus regulates the secretion of interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 through activation of nuclear factor kappaB signaling pathway in human osteoblasts. *Braz J Infect Dis.* 2011; 15: 189-194,
 37. Warnke PH, Voss E, Russo PAJ, Stephens S, Kleine M, Terheyden H, Liu Q, Antimicrobial Peptide Coating of Dental Implants: Biocompatibility Assessment of Recombinant *Human beta-defensin-2* for Human Cells, *Int. J Oral Maxillofac Implants*, 2013; 67-75
 38. Zhu L, Chuanchang D, Wei L, Yilin C, Jiasheng D Enhanced healing of goat femur-defect using BMP7 gene-modified BMSCs and load-bearing tissue-engineered bone. *J Orthop Res.* 2010; 28: 412–18.
 39. Zhou J, Zhang Y, Li L., Fu H, Yang W, Yan F. Human β -defensin 3-combined gold nanoparticles for enhancement of osteogenic differentiation of human periodontal ligament cells in inflammatory, *microenvironments.* 2018;13:555-567
 40. Lu, H., Liu, Y., Guo, J., Wu, H., Wang, J., Wu, G. ‘Biomaterials with antibacterial and osteoinductive properties to repair infected bone defects’, *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17, 334:1-18

41. Zhu M, Miao B, Zhu J, Wang H, Zhou Z. Transplantation of periodontal ligament cell sheets expressing human β defensin 3 promotes anti-inflammation in a canine model of periodontitis, *Mol Med Rep.* 2017;16(5):7459-7467.
42. Li L, Jiang H, Chen R, Zhou J, Xiao Y, Zhang Y, Yan F, Human β -defensin 3 gene modification promotes the osteogenic differentiation of human periodontal ligament cells and bone repair in periodontitis *Inter J Oral Sci.* 2020 12:13, 1-10
43. Andriani I, Meiyanto E, Suryono, Ana ID, The combination of carbonate hydroxyapatite and human β -defensin 3 to enhance collagen fiber density in periodontitis Sprague Dawley rats, *Dent. J.* 2020; 53(2): 76–80