

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nekrosis pulpa merupakan suatu keadaan kematian pulpa yang terjadi akibat inflamasi pulpa yang tidak dilakukan perawatan. Nekrosis pulpa dapat terjadi pada sebagian maupun seluruh jaringan pulpa. Nekrosis pulpa dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adalah mikroorganisme, trauma, maupun iritasi kimiawi (Garg *et al.*, 2015). Mikroorganisme merupakan penyebab terjadinya nekrosis pulpa dengan persentase kasus 98,5% sedangkan 1,5% disebabkan oleh karena trauma dan iritasi kimiawi (Larasati *et al.*, 2014).

Perawatan yang diindikasikan untuk kasus nekrosis pulpa adalah perawatan endodontik (Garg *et al.*, 2015). Suatu perawatan tidak lepas dari kemungkinan adanya suatu kegagalan, termasuk dalam perawatan endodontik ini. Mikroorganisme pada saluran akar dapat menyebabkan infeksi endodontik (Martinho *et al.*, 2016). Secara umum, berbagai jenis bakteri anaerob mendominasi pada infeksi endodontik. Lee *et al* (2017) telah menemukan bahwa sekitar 70,3% bakteri di saluran akar adalah bakteri anaerob dan 29,7% adalah bakteri aerob. Jenis bakteri anaerob yang ditemukan pada infeksi endodontik adalah bakteri gram negatif termasuk bakteri *Fusobacterium nucleatum* (Lee *et al.*, 2017).

Fusobacterium nucleatum merupakan bakteri anaerob berbentuk non-spore dan merupakan bakteri gram negatif. Bakteri ini juga termasuk mikroba yang paling sering diisolasi dari saluran akar gigi yang tidak dirawat (Lindawati *et*

al., 2018). Bakteri ini bersifat patogen dalam bentuk tunggal maupun dalam biofilm dan berperan dalam interaksi nutrisi interbakterial. Bakteri di dalam saluran akar tidak berkembang secara tunggal melainkan dalam bentuk biofilm (Siqueira dan Rocas, 2011). Biofilm adalah kumpulan koloni mikroorganisme dalam matriks *extracellular polymeric substance* (EPS). Biofilm tumbuh di atas permukaan yang padat dan mengandung bakteri yang melekat satu sama lain serta melekat pada permukaan statis (hidup atau tidak hidup) serta memiliki pori-pori yang berfungsi sebagai jalan masuk nutrisi dan ekskresi. Kemampuan bakteri dalam bentuk biofilm dapat dikatakan sebagai faktor virulensi (Edward dan Novianti, 2015).

Penelitian terdahulu membuktikan bahwa *Fusobacterium nucleatum* merupakan satu dari beberapa bakteri yang resisten dalam saluran akar serta dapat menginvasi tubulus dentin sehingga sulit untuk dihilangkan dari saluran akar (Quah *et al.*, 2014). *Fusobacterium nucleatum* mengadakan perlekatan melalui interaksi spesifik antara lipopolisakarida yang dihasilkan yang mampu larut dalam saliva. Lipopolisakarida memiliki kemampuan untuk mengadakan perlekatan pada struktur hidroksiapatit, serum, dan sementum. Hal ini menunjukkan bahwa lipopolisakarida dari *Fusobacterium nucleatum* memegang peranan penting dalam proses perlekatannya, bukan hanya pada epitel, tetapi juga pada struktur gigi (Siqueira dan Rocas, 2011).

Faktor lain yang mempengaruhi interaksi *Fusobacterium nucleatum* dengan sel host adalah hidrofobisitas pada awal perlekatan. Hidrofobisitas umumnya dipahami sebagai kecenderungan molekul non-polar membentuk agregat untuk mengurangi kontak dengan molekul polar seperti air. Interaksi

hidrofobisitas merupakan interaksi yang penting, karena sebagai salah satu pendorong utama beberapa fenomena seperti pada pembentukan ikatan protein-protein atau protein- ligan (Sarkar *et al.*, 2010). Kemampuan aktifitas hidrofobisitas merupakan faktor virulensi pada patogenesis infeksi. *Fusobacterium nucleatum* memiliki kemampuan membentuk aktifitas hidrofobisitas pada permukaan sel untuk melekat. Aktifitas hidrofobisitas *Fusobacterium nucleatum* mempengaruhi aktifitas hidrofobisitas dengan pelepasan vesikel membrane luar terutama pada bakteri Gram negative termasuk *Fusobacterium nucleatum* yang menyebabkan peningkatan hidrofobik permukaan sel secara signifikan, dan kecenderungan dalam meningkatkan pembentukan biofilm (Baumgarten *et al.*, 2012).

Pereira *et al* melakukan penelitian menggunakan *real-time polymerase chain reaction* (PCR) pada gigi dengan lesi periapikal yang disebabkan oleh kegagalan endodontik. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa persentase bakteri *Fusobacterium nucleatum* di daerah sekitar ujung akar dan jaringan periapikal dengan lesi kronis memiliki persentase tertinggi (71,3%) dan diikuti dengan bakteri *Diaster pneumosintes* (58,3%) dan *Tannerella forsythia* (48,3%) (Pereira *et al.*, 2017). *Fusobacterium nucleatum* ditemukan pada infeksi rongga mulut seperti infeksi pasca perawatan endodontik, abses akut, *flare-up* endodontik, dan infeksi periodontal (Pereira *et al.*, 2017 dan Han, 2015).

Cleaning and shaping merupakan salah satu kunci keberhasilan dalam perawatan endodontik. *Cleaning* pada saluran akar bertujuan menghilangkan jaringan nekrotik, membasahi dinding saluran akar gigi, dan membuang serpihan dentin sisa preparasi dan *smear layer* serta pemberian medikasi intrakanal untuk

menghilangkan bakteri yang ada di dalam saluran akar. Kebersihan dinding dentin saluran akar dipengaruhi oleh efektifitas larutan irigasi yang memiliki kemampuan melarutkan komponen organik dan anorganik sehingga mempengaruhi struktur dentin, seperti: kekerasan mikro, permeabilitas dan solubilitas (Aslantas *et al.*, 2014).

Torabinejad dan Walton menguraikan sifat-sifat ideal dari larutan irigasi endodontik, yaitu: pelarut jaringan organik dan anorganik, aksi antimikroba, non-toksitas terhadap jaringan periapikal, tegangan permukaan rendah, dan bersifat sebagai pelumas (Torabinejad dan Walton, 2015). Salah satu bahan irigasi saluran akar yang paling umum dan sering digunakan hingga saat ini adalah sodium hipoklorit (NaOCl) 2,5%. Larutan ini relatif murah, mudah didapat, bersifat bakterisidal, virusidal, mampu melarutkan jaringan nekrotik dan komponen organik dentin dan biofilm, serta viskositas rendah (Ebtissam *et al.*, 2019).

NaOCl berperan sebagai lubrikan dengan cara terjadinya reaksi saponifikasi, yaitu degradasi lemak menjadi gliserol (alkohol) dan sabun (garam asam lemak) (Al-Zahrani *et al.*, 2016). Pembentukan sabun ini selain mengurangi gaya gesek dari instrumen karena membuat permukaan dentin menjadi licin, juga mengurangi tegangan permukaan dari larutan serta dapat menguraikan jaringan organik (Kutty *et al.*, 2017).

Konsentrasi larutan NaOCl yang digunakan bervariasi, mulai dari 0,5% hingga 5,25%. Meningkatkan konsentrasi larutan NaOCl akan meningkatkan kemampuannya dalam menguraikan jaringan dan daya antibakteri, tetapi juga akan meningkatkan sifat toksisitasnya (Torabinejad *et al.*, 2015). Konsentrasi NaOCl 0,5% memiliki toksisitas yang rendah, tetapi membutuhkan waktu yang

lebih lama dalam melarutkan jaringan organik. Konsentrasi NaOCl 5,25% memiliki kemampuan melarutkan jaringan yang lebih baik, tetapi sifat toksiknya juga lebih tinggi (Ebtissam *et al.*, 2019). Oleh karena itu, NaOCl 2,5% dianggap sebagai konsentrasi yang baik dan paling seimbang (Marion *et al.*, 2012).

Menurut Paque menyatakan bahwa irigasi menggunakan NaOCl dengan *syringe* yang kemudian dikultur masih terdapat bakteri sebanyak 40-60% pada saluran akar (Paque, 2009). Beberapa faktor penyulit yaitu anatomi saluran akar, invasi bakteri yang dalam pada dentin tubuli, pembentukan lapisan biofilm pada permukaan saluran akar yang mengakibatkan larutan NaOCl kurang mencapai pembersihan saluran akar. Bakteri dapat berpenetrasi pada tubuli dentin akar hingga kedalaman 1000 μm , sedangkan bahan desinfeksi irigasi hanya mencapai kedalaman 100 μm . Hal ini memungkinkan terjadinya infeksi kembali dan menyebabkan perawatan saluran akar gagal (Xhevdet *et al.*, 2014; Lins *et al.*, 2015). Oleh karena itu dibutuhkan metode baru dalam perawatan endodontik untuk mengeliminasi bakteri patogen untuk mencapai keberhasilan perawatan saluran akar (Maisch *et al.*, 2009; Arneiro *et al.*, 2004; Paque *et al.*, 2009).

Photodynamic therapy (PDT) dapat digunakan sebagai strategi antimikroba yang menggunakan energi laser berkekuatan rendah untuk mengaktifkan suatu *photosensitizer* non toksik sehingga menghasilkan oksigen singlet dengan kemampuan membunuh mikroorganisme di saluran akar gigi (Plotino *et al.*, 2019). PDT menggunakan suatu *photoactive dye* tidak toksik yang disebut *photosensitizer* yang diaktivasi dengan cahaya tampak (*visible light*) pada intensitas rendah dengan kombinasi keberadaan oksigen, akan menghasilkan spesies oksigen sitotoksik yang dapat menyebabkan kematian bakteri (Plotino *et*

al., 2019). Pada penelitian yang dilakukan oleh Bibova dkk menunjukkan bahwa desinfeksi dengan PDT pada bakteri *Enterococcus faecalis* berkurang menjadi 99,9%. *Methylene blue* (MB), *toluidine blue* (TBO) dan *acridine orange* merupakan jenis-jenis *photosensitizer* yang biasanya digunakan pada sistem desinfeksi ini.

Keefektifan dari alat PDT tergantung pada tingkat kekuatan, durasi, penyerapan dari sinar pada jaringan, geometri dari saluran akar dan jarak ujung alat ke sel target. Fenomena penyerapan sinar oleh *photosensitizer* tersebut merupakan proses fotofisika untuk menghasilkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan singlet oksigen. Proses ini berlangsung saat molekul *photosensitizer* yang memiliki konfigurasi elektron pada keadaan stabil (*ground state*) menyerap cahaya foton. Setelah menyerap cahaya, konfigurasi elektron berubah menjadi tidak stabil (*excited state*). Dari *excited state photosensitizer* dapat kembali menjadi *ground state* apabila kehilangan energi atau menjadi *triplet state* apabila terus mendapatkan energi yang cukup. Pada *triplet state* ini merupakan keadaan yang reaktif, namun dalam keadaan ini terjadi interaksi secara kimiawi antara elektron dari molekul dengan oksigen yang memiliki konfigurasi elektron pada keadaan stabil. Karena adanya interaksi tersebut menyebabkan konfigurasi elektron dari molekul oksigen berada pada keadaan tereksitasi (tidak stabil). Oksigen tereksitasi cenderung akan berusaha ke kondisi elektron yang stabil, sehingga oksigen ini akan melakukan interaksi dengan sistem biologi disekitarnya. Interaksi yang terjadi antara oksigen tereksitasi dan sistem biologi seperti sel bakteri akan merusak sistem dan struktur sel tersebut. Hal tersebut menunjukkan pentingnya lama penyinaran untuk menghasilkan oksigen reaktif

sehingga dapat menurunkan jumlah bakteri (Lestari, 2017 ; Kishen dan Shrestha, 2015; Dai *et al.*, 2012).

Photosensitizer yang berada pada *triplet state* tersebut akan melepas energi melalui dua jalur yang spesifik. Jalur pertama melibatkan produksi ion – ion radikal dari oksigen akibat transfer electron dari *photosensitizer triplet* yang tereksitasi ke substrat. Ion – ion radikal tersebut berupa superoksida, hidroksil, dan turunan ion lipid yang bersifat sitotoksik. Sedangkan jalur kedua melibatkan produksi *singlet oksigen* yang tereksitasi akibat transfer energi dari *photosensitizer triplet* yang tereksitasi ke substrat yang menyebabkan oksidasi sel yang lebih kecil (Xhevdet *et al.*, 2014 ; Dai *et al.*, 2012 ; Kishen dan Shrestha, 2015).

Efek antibakteri dari PDT merupakan mekanisme jalur kedua yaitu memproduksi singlet oksigen. Singlet oksigen merupakan agen oksidasi yang kuat dan sangat reaktif. Singlet oksigen dapat hidup pada lingkungan biologis. Reaksi dari singlet oksigen dengan target seluler dapat menyebabkan kematian dari sel tersebut. Kematian sel tersebut dapat terjadi akibat dari dua mekanisme yaitu kerusakan DNA dan kerusakan membran sitoplasma. PDT dapat mengeliminasi bakteri dengan menghilangkan faktor virulensinya yaitu endotoksin dan enzim proteolitik. Penyinaran PDT memiliki target beberapa sel pada bakteri, sehingga kemungkinan resisten dari bakteri kecil (Arneiro *et al.*, 2014; Kishen dan Shrestha, 2015).

Fotosan merupakan salah satu alat PDT yang menggunakan sinar merah LED (*Light Emitting Diode*) dengan panjang gelombang 630 nm serta cairan *photosensitizer* TBO. Beberapa penelitian sebelumnya telah dilakukan

photosensitizer dari bahan lain seperti klorofil dan psoralen serta mengenai waktu penyinaran yang efektif untuk membunuh bakteri saluran akar telah banyak diteliti. Namun, hal ini belum mencapai 99,9% sehingga dipakai kombinasi PDT dan NaOCl 2,5% untuk meningkatkan jumlah kematian bakteri *Fusobacterium nucleatum*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Maria *et al*, PDT merupakan suatu teknik penunjang untuk meningkatkan desinfeksi saluran akar setelah preparasi biomekanikal dari perawatan endodontik (Maria *et al.*, 2021). Penelitian yang dilakukan oleh Neves *et al* menyebutkan bahwa kombinasi PDT dengan bahan irigasi lebih efektif dalam membunuh bakteri dibandingkan NaOCl tunggal dan PDT tunggal (Neves *et al.*, 2020). PDT memiliki efektivitas yang signifikan dalam eliminasi biofilm bakteri ketika dikombinasikan dengan bahan desinfeksi. PDT dapat membantu mencapai daerah saluran akar gigi yang tidak tersentuh oleh preparasi mekanik instrumen endodontik dan larutan irigasi NaOCl pada prosedur preparasi saluran akar gigi standar secara konvensional (Corina *et al.*, 2020; Bumb *et al.*, 2014).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian kali ini akan dilakukan pengujian untuk menjelaskan peningkatan degradasi biofilm dan kuantitas ROS pada biofilm *Fusobacterium nucleatum* akibat kombinasi penyinaran *Photodynamic therapy* (PDT) dengan irigasi NaOCl 2,5% dibandingkan NaOCl 2,5% tunggal dan *Photodynamic therapy* (PDT) tunggal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan suatu rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah terdapat peningkatan degradasi biofilm *Fusobacterium nucleatum* akibat kombinasi penyinaran *Photodynamic therapy* (PDT) dengan NaOCl 2,5% dibandingkan NaOCl 2,5% tunggal dan *Photodynamic therapy* (PDT) tunggal?
2. Apakah terdapat peningkatan kuantitas ROS pada biofilm *Fusobacterium nucleatum* akibat kombinasi penyinaran *Photodynamic therapy* (PDT) dengan irigasi NaOCl 2,5% dibandingkan NaOCl 2,5% tunggal dan *Photodynamic therapy* (PDT) tunggal?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menjelaskan adanya peningkatan degradasi biofilm dan kuantitas ROS pada biofilm *Fusobacterium nucleatum* akibat kombinasi penyinaran *Photodynamic therapy* (PDT) dengan irigasi NaOCl 2,5% dibandingkan NaOCl 2,5% tunggal dan *Photodynamic therapy* (PDT) tunggal.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menjelaskan peningkatan degradasi biofilm *Fusobacterium nucleatum* akibat kombinasi penyinaran *Photodynamic therapy* (PDT) dengan NaOCl 2,5% dibandingkan NaOCl 2,5% tunggal dan *Photodynamic therapy* (PDT) tunggal.
2. Menjelaskan peningkatan kuantitas ROS pada biofilm *Fusobacterium nucleatum* akibat kombinasi penyinaran *Photodynamic therapy*

(PDT) dengan NaOCl 2,5% dibandingkan NaOCl 2,5% tunggal dan *Photodynamic therapy* (PDT) tunggal.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan kontribusi keilmuan mengenai *Photodynamic therapy* (PDT) yang digunakan sebagai protokol yang efektif untuk eliminasi bakteri *Fusobacterium nucleatum* di dalam saluran akar.

1.4.2 Manfaat Praktis

Pengembangan *Photodynamic therapy* (PDT) sebagai alat untuk membantu bahan desinfektan dalam perawatan endodontik sehingga didapatkan hasil perawatan saluran akar yang optimal.