

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Prevalensi masalah kesehatan gigi dan mulut di Indonesia relatif tinggi, berdasarkan survei Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2018 yaitu sebesar 57,6%. Karies gigi merupakan salah satu masalah utama masyarakat Indonesia. Prevalensi inflamasi pulpa yang disebabkan karies lebih sering terjadi yaitu sebesar 73,17% dibandingkan akibat trauma yaitu sebesar 20,9%. (Shashikiran *et al.*, 2017; Kiranmayi *et al.*, 2019). Menurut *World Health Organization* (WHO) 2,3 milyar orang dewasa memiliki masalah karies gigi dan 1 milyar mengalami trauma pada gigi (Petti *et al.*, 2018). Karies gigi hingga perforasi pulpa lebih berisiko mengalami kegagalan perawatan dibandingkan inflamasi pulpa akibat trauma, sebab pada karies ditemukan bakteri dengan jumlah tinggi yang masuk ke dalam ruang pulpa melalui tubuli dentine (Hatipoğlu, 2018). Bakteri pada rongga mulut melepaskan asam secara bertahap sehingga proses demineralisasi lebih tinggi daripada remineralisasi dan menyebabkan kavitas semakin dalam (Schwendicke *et al.*, 2016). Spesies bakteri terbanyak di rongga mulut yaitu *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) dan *Lactobacillus*. Sebuah penelitian yang terdiri dari 93 sampel plak dan saliva pada pasien dengan karies ditemukan 62,5% merupakan species *Lactobacillus* dan 8,7% *S.mutans*. *Lactobacillus* banyak ditemukan pada karies dalam yang progresif dan melibatkan dentin dan pulpa, sedangkan *S.mutans* ditemukan pada pembentukan awal karies (Ahirwar *et al.*, 2019). Isolasi bakteri species *Lactobacillus* pada sampel saliva pasien dengan karies, ditemukan koloni terbanyak yaitu *Lactobacillus plantarum* (*L.plantarum*) sebesar 15,08% dan disusul

L.acidophilus sebesar 10,61% (Ahirwar *et al.*, 2017). Bakteri *L. plantarum* merupakan bakteri Gram positif, fakultatif anaerob, dan memiliki kemampuan bertahan hidup pada pH 2.2 yang sangat asam (Ahirwar *et al.*, 2019).

Bakteri Gram positif mempunyai lapisan dinding sel yaitu *lipoteichoic acid* (LTA) dan *peptidoglycan* (PGN) yang menyelubungi membran sitoplasma (Duncan *et al.*, 2017). LTA merupakan struktur glikopolimer dengan dasar glikolipid yang mengandung 2 rantai *acyl* dan dapat berikatan dengan *Toll-like receptor 2* (TLR2) sehingga mampu menyebabkan inflamasi ringan hingga sepsis (Ernst & Chandler, 2017). LTA dengan dosis rendah (0,01-0,1 µg/mL) tidak dapat memicu terjadinya respon inflamasi sehingga sitokin pro-inflamasi tidak diproduksi, sedangkan LTA dengan dosis tinggi (0,5-10 µg/mL) terbukti efektif memicu terjadinya respon inflamasi (Saito *et al.*, 2019). LTA *L.plantarum* dosis 10 µg/ml mampu meningkatkan respon inflamasi melalui peningkatan jumlah neutrofil dan ekspresi p38 setelah 24, 48 dan 72 jam paparan LTA (Pribadi *et al.*, 2021).

Inflamasi merupakan respon utama sistem kekebalan tubuh terhadap jejas berupa trauma mekanik maupun infeksi bakteri. Respon inflamasi ditandai dengan makrofag yang mampu mengenali mikroba melalui *pattern recognition receptors* (PRR's) berupa *Toll-like receptor* (TLR) (Chen *et al.*, 2018). Jejas oleh LTA bakteri *L. plantarum* merupakan sinyal *Pathogen-Associated Molecular Pattern* (PAMP) yang akan berikatan dengan reseptor TLR2 dan menghasilkan sitokin pro-inflamasi (Pai *et al.*, 2018). Aktivasi TLR2 mampu mengaktifkan transduksi sinyal *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cell* (NF-κB) melalui jalur *Myeloid Differentiation Primary-Response Protein 88* (MyD88). (Chen *et al.*,

2018). MyD88 berinteraksi dengan *interleukin 1 receptor associated kinase 4* (IRAK4) dan *TNF Receptor-Associated Factor 6* (TRAF6), selanjutnya memediasi fosforilasi I κ B sehingga NF- κ B terlepas ke inti dan terjadi peningkatan produksi sitokin pro inflamasi (TNF- α , IL-6, IL-12) yang bertujuan mengeliminasi pathogen dan menuju perbaikan jaringan (Hong & Tian, 2020). LTA juga mampu meningkatkan produksi sitokin proinflamasi melalui jalur STAT-1 yang diaktivasi oleh IFN- γ dari Th1.

Produksi sitokin pro inflamasi yang meningkat akibat respon infeksi bakteri harus segera ditekan agar tidak terjadi badai sitokin yang menyebabkan kerusakan jaringan (Srinivasan *et al.*, 2017). Keseimbangan antara produksi sitokin pro inflamasi dan sitokin anti inflamasi dikendalikan melalui mekanisme polarisasi makrofag untuk mencegah inflamasi berlebihan dan kerusakan jaringan sehingga proses penyembuhan dapat berjalan. (Chuang *et al.*, 2016). Polarisasi makrofag yaitu kemampuan makrofag berubah menjadi fenotip M1 yang bersifat pro inflamasi dan M2 yang bersifat anti inflamasi (Atri *et al.*, 2018). M1 dapat diaktivasi oleh LTA, LPS dan IFN- γ yang dihasilkan oleh Th1 bertujuan mengeliminasi pathogen, sedangkan M2 diaktivasi oleh sitokin anti-inflamasi IL-4 dan IL-13 yang dihasilkan oleh Th2 bertujuan remodelling jaringan, angiogenesis, dan penyembuhan luka (Steen *et al.*, 2020).

Polarisasi M1 dapat diidentifikasi melalui peningkatan produksi sitokin inflamasi, dan dominasi *surface marker* CD 68, sedangkan M2 ditandai dengan peningkatan produksi sitokin anti inflamasi IL-10 dan dominasi *surface marker* CD 163. (Malyshev & Malyshev, 2015). Respon makrofag terhadap infeksi bakteri secara umum diawali dengan peningkatan M1 pada fase inflamasi akut. Polarisasi

M1 yang *prolong* dan berlebih sangat mungkin terjadi pada bakteri dengan virulensi yang tinggi seperti *E.coli* yang mampu menyebabkan meningitis hingga sepsis. Namun pada beberapa bakteri seperti *Salmonella* dan *Myobacterium*, produksi M1 dapat ditekan dan meregulasi polarisasi M2. Polarisasi M2 tergantung oleh tingkat virulensi bakteri dan kualitas vaskularisasi jaringan. Pada umumnya infeksi bakteri menyebabkan polarisasi M2 tertunda bahkan tidak terjadi polarisasi sehingga inflamasi persisten dan terjadi kerusakan jaringan. (Galli & Saleh, 2021). Populasi M1 pada umumnya dimulai pada hari ke 1 dan mencapai puncaknya pada hari ke 3, sedangkan populasi M2 mulai meningkat pada hari ke 3 dan mencapai puncaknya pada hari ke 5 (Kim *et al.*, 2019)

Berdasarkan uraian latar belakang, penelitian tentang polarisasi makrofag pada respon inflamasi yang dilihat melalui ekspresi TNF- α , CD68, CD163, dan IL-10 akibat induksi LTA *L.plantarum* belum pernah dilakukan. Penelitian polarisasi makrofag akibat jejas LTA *L.plantarum* pada inflamasi pulpa secara imunohistopatologi menjadi sangat penting untuk mendukung pembuatan model inflamasi pulpa yang dapat dijadikan dasar pengembangan ilmu dan penelitian lain yang berkaitan dengan inflamasi pulpa. Maka perlu dilakukan penelitian secara *invivo* menggunakan hewan coba tikus Wistar jantan dengan sampel perlakuan pada gigi molar pertama rahang atas karena memiliki kemiripan secara anatomi, histologi, dan biologi dengan gigi molar pertama rahang atas manusia (Trongkij *et al.*, 2018). Pada penelitian ini gigi molar pertama rahang atas tikus Wistar jantan dipreparasi hingga perforasi pulpa dan diberikan jejas LTA bakteri *Lactobacillus plantarum* dengan dosis 10 $\mu\text{g/ml}$ dan dilakukan pengamatan pada hari 1, 3, dan 5

untuk melihat pola ekspresi TNF- α , CD68, CD163, dan IL-10 pada proses polarisasi makrofag inflamasi pulpa.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah penurunan ekspresi TNF- α terjadi setelah pemberian jejas LTA *L.plantarum* 10 μ g/ml pada proses polarisasi makrofag?
2. Apakah penurunan ekspresi CD 68 terjadi setelah pemberian jejas LTA *L.plantarum* 10 μ g/ml pada proses polarisasi makrofag?
3. Apakah peningkatan ekspresi IL-10 terjadi setelah pemberian jejas LTA *L.plantarum* 10 μ g/ml pada proses polarisasi makrofag?
4. Apakah penurunan ekspresi CD 163 terjadi setelah pemberian jejas LTA *L.plantarum* 10 μ g/ml pada proses polarisasi makrofag?
5. Apakah terdapat hubungan antara penurunan ekspresi TNF- α dan CD 68, peningkatan ekspresi IL-10 dan CD 163 terhadap polarisasi makrofag setelah pemberian jejas LTA *L.plantarum* 10 μ g/ml?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan dan menganalisis peran LTA *L. plantarum* 10 μ g/ml terhadap polarisasi makrofag pada inflamasi pulpa gigi tikus *Wistar* yang dilihat melalui ekspresi TNF- α , CD68, CD163, dan IL-10

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis penurunan ekspresi TNF- α setelah pemberian jejas LTA *L. plantarum* 10 μ g/ml pada proses polarisasi makrofag.
2. Menganalisis penurunan ekspresi CD68 setelah pemberian jejas LTA *L. plantarum* 10 μ g/ml pada proses polarisasi makrofag.
3. Menganalisis penurunan ekspresi CD163 setelah pemberian jejas LTA *L. plantarum* 10 μ g/ml pada proses polarisasi makrofag.
4. Menganalisis peningkatan ekspresi IL-10 setelah pemberian jejas LTA *L. plantarum* 10 μ g/ml pada proses polarisasi makrofag.
5. Menganalisis hubungan antara penurunan ekspresi TNF- α dan CD 68, peningkatan ekspresi IL-10 dan CD 163 terhadap proses polarisasi makrofag setelah pemberian jejas LTA *L. plantarum* 10 μ g/ml

1.4. Manfaat

1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan kontribusi keilmuan tentang pola respon inflamasi dan proses polarisasi makrofag melalui ekspresi TNF- α , CD 68, CD 163 dan IL-10 akibat jejas LTA *L. plantarum* 10 μ g/ml.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat mendukung pembuatan model penelitian terkait inflamasi yang terjadi pada pulpa gigi yang dapat dijadikan dasar pengembangan ilmu secara imunohistopatologi