

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Sampai saat ini, karies gigi masih menjadi masalah utama dalam kesehatan masyarakat secara global dan penyakit yang tidak menular/*non communicable disease* (NCD). Menurut WHO tahun 2017, prevalensi karies pada tahun 2015 dari *Global Burden of Disease Study* pada gigi permanen sekitar 2,3 miliar orang. Berdasarkan data Riskesdas Kementerian Kesehatan pada tahun 2013 menyatakan bahwa prevalensi masalah kesehatan gigi mulut adalah 25,9%, dengan prevalensi karies aktif sebesar 53,7 dengan rincian angka kejadian karies pada penduduk indonesia usia 18 tahun mencapai 51,1% dan usia 35-44 tahun mencapai 80,1% (Kemenkes, 2016). Hal ini terus menjadi perhatian dalam ilmu kedokteran gigi karena gigi yang karies yang tidak dirawat lambat laun akan mencapai pulpa dan mengakibatkan peradangan pulpa sehingga menjadi nekrosis pulpa dan harus dilakukan perawatan saluran akar atau endodontik (Grossman, 2013).

Keberhasilan atau kegagalan dari perawatan ini dievaluasi dengan tanda klinis dan gejala berupa ada atau tidaknya rasa nyeri atau inflamasi dan fistula. Namun, faktor yang sering berhubungan dengan kegagalan perawatan endodontik adalah adanya persistensi dari bakteri (intra atau ekstra radikular) seperti bakteri *Enterococcus faecalis* (Prada *et al*, 2019 ; Paz *et al*, 2015). Setelah perawatan saluran akar juga ditemukan bahwa terdapat keluhan sakit namun tidak ditemukan tanda-tanda inflamasi seperti tumor, rubor, dolor,

kalor dan fungsiolesa. Seringkali gigi molar pertama merupakan gigi yang paling sering direstorasi dan mendapat perawatan saluran akar karena gigi tersebut merupakan gigi permanen yang pertama erupsi di rongga mulut, yaitu pada usia 6-7 tahun (Gomes and Herrera, 2018).

Bakteri *E. faecalis* merupakan bakteri gram positif fakultatif anaerob dengan prevalensi sekitar 24% hingga 77% dan pada studi molekuler bakteri ini ada saat terjadi nekrosis pulpa. Prevalensi adanya bakteri *E. faecalis* sekitar 4 hingga 40% dari infeksi primer endodontik (Neelakantan *et al*, 2017; Paz *et al*, 2015). Bakteri *E. faecalis* ada pada jaringan pulpa yang akan membentuk *biofilm* sebagai bentuk perlindungan diri dari kerusakan dan membuat bakteri 1000 kali lebih resisten terhadap proses fagositosis (Sava *et al*, 2010). Bakteri ini juga mempunyai faktor virulensi untuk mempertahankan diri didalam saluran akar berupa *aggregation substance* (AS), *cytolysin* (Cyl), *enterococcal surface protein* (Esp), *enterococcal polysaccharide capsule*, *pili*, *gelatinase* dan *serine protease*, *lipoteichoic acid* (LTA) (Mousavi and Rostami, 2018; Johnson, 2018). Hal inilah yang menyebabkan bakteri *E. faecalis* memiliki kemampuan untuk membentuk kolonisasi pada host, memiliki sifat resisten terhadap mekanisme hospes, dapat bersaing dengan bakteri yang lain, menghasilkan perubahan bakteri patogen sehingga menyebabkan respon inflamasi yang menghasilkan sitokin-pro inflamasi seperti TNF- dan IL-6 (Dunny *et al*, 2014).

*Biofilm* adalah kumpulan dari beberapa mikroba multiseluler akan membentuk koloni, melekat pada permukaan lembab yang ditangkap dalam *extracellular polimerik substance* (EPS) dan melekat pada permukaan dinding

saluran akar yang menyediakan *niche* untuk bakteri (Paz *et al*, 2015; Yoo *et al*, 2019). Pembentukan *biofilm* di saluran akar diawali setelah terjadi invasi dari ruang pulpa oleh mikroorganisme planktonik dalam rongga mulut setelah kerusakan jaringan (Jhahharia *et al*, 2015). Perkembangan *biofilm* dalam saluran akar akan memicu mekanisme pertahanan tubuh hospes terutama sistem imun *innate* tergantung banyaknya jumlah *biofilm* yang terbentuk (Chugal *et al*, 2017).

*Biofilm E.faecalis* yang mengalami maturasi akan membentuk *quorum sensing*. *Quorum sensing* merupakan mekanisme regulator dependen pada terjadinya komunikasi bakteri melalui molekul sinyal yang disebut autoinducer (Ali *et al*, 2017). Komponen *biofilm* yang matang mengandung polisakarida, *gelatinase* (*gelE*), *serine protease* (*sprE*) dan ekstraseluler DNA (*eDNA*) dan *autolysin* (*Atla*). Ekstraseluler DNA (*eDNA*) merupakan tanda awal pembentukan *biofilm* (Montanaro *et al*, 2011; Jakubovics and Burgess, 2015). *eDNA* ini akan terdeteksi setelah pembentukan *biofilm* pada saliva (Rostami *et al*, 2016). *eDNA* yang terbentuk akan memicu respon imun *innate* yang akan dikenali oleh *Pattern Recognition Receptor* (PRR) sebagai PAMPs sehingga akan ditangkap oleh *Toll-like Receptor-9* (TLR-9) (Gomes and Herrera, 2018 ; Takeuchi and Akira, 2010) dan jalur komplemen alternatif (Paz *et al*, 2015 ; Lamont *et al*, 2014; Janeway, 2018 ; Rich, 2019).

Pada penelitian *ex-vivo* pada gigi dengan bakteri *E.faecalis* dan *Streptococcus anginosus* dapat menimbulkan abses yang dapat meningkatkan TNF- dan IL-1 $\beta$  secara signifikan, namun ekspresi IL-1 $\beta$  dari *E.faecalis* lebih tinggi daripada TNF- (Ayre *et al*, 2018; Zou and Zhankar, 2016). Bakteri

yang menyebabkan infeksi pulpa seperti *E. faecalis*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* dan maturasi *biofilm* terjadi selama 30 hari setelah inkubasi dalam keadaan CO<sub>2</sub> yang berlebihan (Toral *et al*, 2017; Chen *et al*, 2016). Secara *in-vitro*, diketahui bahwa *biofilm E.faecalis* berkolonisasi dalam tubulus dentin mulai dari hari ke-3 setelah infeksi dan semakin meningkat jumlah ketebalan mikro-koloni bakteri hingga 30 hari (Saber and Hady, 2012). Secara *in-vitro*, diketahui bahwa dalam pembentukan plak gigi terjadi pembentukan *biofilm E.faecalis*. Pada saliva ditemukan eDNA dengan metode *immunofluorescent* (Rostami *et al*, 2016). Deteksi eDNA pada *biofilm E.faecalis* digunakan sebagai deteksi awal adanya pembentukan *biofilm E.faecalis* terhadap infeksi pulpa. Hal ini perlu dilakukan untuk mencegah terjadinya infeksi agar tidak mencapai saluran akar dan tidak terjadi *recurrent* perawatan endodontik. Mekanisme imunitas terhadap terbentuknya *biofilm E.faecalis* diperankan oleh TNF- yang merupakan sitokin yang paling sering ditemukan dalam gigi dan murni berasal dari sistem imun *innate* atau ada keterlibatan dari sistem imun adaptif.

Berdasarkan penjelasan diatas, perlu dilakukan penelitian mengenai deteksi eDNA dan ekspresi TNF- pasca pembentukan *biofilm E. faecalis* pada gigi molar *Rattus novergicus* galur Sprague dawley menggunakan *Confocal Laser Scanning Microscopy* (CLSM) dan metode imunohistokimia (IHK) pada 24 jam, 72 jam dan 120 jam.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat penurunan jumlah eDNA pasca pembentukan *biofilm E.faecalis* pada gigi molar tikus?

2. Apakah terdapat peningkatan ekspresi TNF- $\alpha$  pasca pembentukan *biofilm E. faecalis* pada gigi molar tikus?

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan umum

Membuktikan adanya eDNA dan ekspresi TNF- $\alpha$  pasca pembentukan *biofilm E. faecalis* pada gigi molar tikus.

#### 1.3.2 Tujuan khusus

1. Menganalisis jumlah eDNA secara mikroskopis pada *biofilm E. faecalis* gigi molar tikus pada 24 jam, 72 jam dan 120 jam setelah infeksi.
2. Menganalisis peningkatan TNF- $\alpha$  gigi molar tikus pada 24 jam, 72 jam dan 120 jam setelah infeksi.
3. Menganalisis pembentukan *biofilm* dengan menggunakan SEM pada 72 jam.

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Manfaat teoritis

Memberikan kontribusi kepada ilmuwan dalam mengungkap keterlibatan eDNA dan ekspresi TNF- $\alpha$  pasca pembentukan *biofilm*.

#### 1.4.2 Manfaat praktis

Memberikan referensi penatalaksanaan dalam kedokteran gigi untuk menghambat pembentukan *biofilm E. faecalis* sehingga sebagai klinisi dapat mencegah terjadinya *recurrent* perawatan endodontik dan memperkecil kasus pencabutan gigi akibat perawatan endodontik.