

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang masalah

Periodontitis adalah penyakit inflamasi jaringan periodontal yang disebabkan oleh periodontopatogen (Ramesh *et al.*, 2016; Newman, 2018; Patricia *et al.*, 2019). Periodontitis menyerang 5-20% populasi di seluruh dunia, sehingga menjadi masalah kesehatan global (Patricia *et al.*, 2019). Menurut Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Republik Indonesia tahun 2018, prevalensi periodontitis di Indonesia sebesar 74,1% (Kemenkes, 2018). Proses inflamasi periodontitis mendestruksi fibroblas pada jaringan periodontal, sehingga mengakibatkan *attachment loss* hingga resorpsi tulang alveolar. Secara klinis, terlihat pembentukan poket periodontal dengan/tanpa resesi gingiva, serta perubahan kepadatan dan tinggi tulang alveolar pada sisi inflamasi (Newman, 2018), yang pada akhirnya dapat menyebabkan kehilangan gigi (Ramesh *et al.*, 2016; Patricia *et al.*, 2019), dan meningkatkan risiko penyakit sistemik lain (Patricia *et al.*, 2019).

Salah satu faktor risiko utama periodontitis adalah merokok (Chahal *et al.*, 2017; Newman, 2018; Stratton, Kwan and Eaton, 2018). Prevalensi merokok di Indonesia adalah salah satu dari yang tertinggi di dunia, lebih dari 25% penduduk Indonesia adalah perokok (Amalia *et al.*, 2019; Efendi *et al.*, 2019). Merokok memengaruhi prevalensi, perluasan dan keparahan periodontitis (Newman, 2018). Perokok memiliki poket periodontal lebih dalam dan kehilangan perlekatan klinis lebih besar dibandingkan dengan bukan perokok, dengan proporsi sisi yang terlibat lebih banyak. Perokok merespon perawatan periodontal lebih buruk daripada perokok (Chahal *et al.*, 2017). Merokok juga dapat memengaruhi respon *host* dengan mengubah respon imun terhadap periodontopatogen di jaringan lokal menghasilkan kerusakan periodontal yang lebih agresif, begitu juga dengan rokok elektrik yang selama 6 tahun terakhir telah didistribusikan dan digunakan secara luas di Indonesia (Chahal *et al.*, 2017; Alanazi *et al.*, 2018; Lestari, Humairo and Agustina, 2018). Status merokok

adalah informasi minimal yang harus dicatat pada semua pasien gigi (Newman, 2018). Selain efek buruk merokok terhadap kesehatan, khususnya kesehatan rongga mulut, keputusan Ijtima' Ulama Komite Fatwa Majelis Ulama Indonesia (MUI) III tahun 2009 telah menyepakati perbedaan pandangan tentang hukum merokok, yaitu antara makruh dan haram (Musari, 2018).

Nikotin adalah salah satu kandungan utama rokok yang ditemukan memiliki efek buruk pada sel periodontal, termasuk fibroblas gingiva manusia (*human gingival fibroblast* (HGF)) (Chahal *et al.*, 2017). HGF adalah salah satu sel yang berperan utama dalam pertahanan imunitas terhadap beberapa patogen, dan berperan penting dalam mempertahankan struktur dan fungsi jaringan (Kim *et al.*, 2016). Selain pada rokok tembakau, nikotin juga ditemukan dalam cairan rokok elektronik, yang sedang menjadi tren saat ini sebagai pengganti rokok tembakau (Stratton, Kwan and Eaton, 2018).

Nikotin bersifat toksik untuk fibroblas melalui penghambatan viabilitas sel, perlekatan serta proliferasi (Kang *et al.*, 2011). Sitotoksitas adalah indikator terpenting untuk evaluasi biologi dalam penelitian *in vitro*, sedangkan tingkat viabilitas sel merupakan indikator kesehatan sel (Aslantürk, 2018). Salah satu uji konvensional yang biasanya digunakan untuk evaluasi sitotoksitas selular *in vitro* karena pengoperasiannya yang mudah dan pembacaan standar adalah metode optik yang mengukur absorbansi pewarna yang peka terhadap viabilitas sel dalam larutan yang diuji dengan uji kolorimetrik (Cai *et al.*, 2019). *Cell counting kit-8* (CCK-8) adalah salah satu uji kolorimetrik yang sangat mudah yang dapat menentukan jumlah sel viabel (Dojindo, 2013; Aslantürk, 2018).

Rokok dikenal sebagai eksaserbator patologi terkait usia, salah satunya *cellular senescence* (penuaan seluler) (Centner, Bhide and Salazar, 2020). Proses *cellular senescence* ditandai dengan sel-sel somatik berhenti membelah dan berproliferasi, hingga menjadi tidak berfungsi yang tidak dapat diubah kembali (Centner, Bhide and Salazar, 2020; Furukawa and Wang, 2020). Sehingga penting untuk mengetahui berapa banyak sel hidup yang tersisa di akhir percobaan (Aslantürk, 2018). *Cellular senescence* di jaringan organ tidak hanya memengaruhi penuaan individu tetapi juga dapat terlibat dalam perkembangan

berbagai penyakit yang berkaitan dengan usia. *Senescence* pada jaringan periodontal mungkin terlibat dalam patogenesis periodontitis. Beberapa karakteristik umum sel *senescence* yaitu siklus sel yang konstan, pembesaran dan pelemahan sel, serta aktivasi *senescence-associated  $\beta$  - galactosidase* (SA- $\beta$ -gal) (Furukawa and Wang, 2020). Namun, peran nikotin terhadap *cellular senescence* HGF pada jaringan periodontal masih harus dijelaskan (Centner, Bhide and Salazar, 2020).

Efek rokok pada viabilitas sel juga dapat dinilai melalui derajat homeostasis sel dengan memeriksa level autofagi (Kim *et al.*, 2016). Autofagi adalah proses katabolik intraseluler yang dikonservasi secara evolusioner, yang digunakan oleh semua sel untuk mendegradasi komponen sitoplasma yang tidak berfungsi atau tidak diperlukan melalui pengiriman ke kompartemen lisosom (Sancilio *et al.*, 2017), sebagai upaya seluler untuk bertahan hidup dengan mengeliminasi organel yang rusak. Autofagi dapat diinduksi sebagai respon terhadap berbagai rangsangan stres termasuk stres oksidatif, yang diketahui terjadi sebagai respons terhadap paparan rokok (Kim *et al.*, 2016). Pengukuran level autofagi yang secara umum dapat dilihat dari tingkat ekspresi salah satu protein penanda autofagi, yaitu LC3II. Paparan rokok yang dapat memicu peningkatan potensi stress oksidatif pada sel fibroblas gingiva dapat dinilai dengan melihat peningkatan ekspresi LC3 sebagai penanda autofagi (Kim *et al.*, 2016; Sancilio *et al.*, 2017).

Penelitian mengenai efek nikotin pada HGF masih terbatas, terutama di Indonesia. Efek nikotin sebagai komponen utama dalam rokok dan produk *e-cigarette* pada viabilitas HGF mungkin melalui mekanisme *cellular senescence* dan autofagi. Penelitian yang secara langsung menghubungkan viabilitas, *cellular senescence*, dan level autofagi HGF terhadap paparan nikotin masih terbatas. Selain itu, Allah Swt. telah menegaskan mengenai pentingnya melakukan penelitian untuk membawa manusia keluar dari ketidaktahuan, yang tertuang dalam Al-Quran. Dengan demikian, dibutuhkan penelitian lebih jauh untuk menginvestigasi respon biologi seluler tersebut.

Penelitian ini akan menganalisis efek nikotin terhadap viabilitas, *cellular senescence* dan level autofagi fibroblas gingiva manusia. Selanjutnya, menganalisis korelasi antara *cellular senescence* dan level autofagi dengan viabilitas fibroblas gingiva manusia yang diberi paparan nikotin.

## 1.2 Rumusan masalah dan pertanyaan penelitian

Merokok adalah salah satu faktor risiko utama periodontitis. Nikotin dalam rokok diketahui memiliki efek buruk pada sel-sel periodontal, termasuk fibroblas gingiva manusia (*human gingival fibroblast* (HGF)), yang sangat berperan penting dalam mempertahankan struktur dan fungsi jaringan periodontal. Pada konsentrasi dan durasi tertentu, nikotin berpotensi meningkatkan stress oksidatif, sehingga bersifat toksik untuk fibroblas melalui penghambatan viabilitas sel yang dapat dinilai dengan uji kolorimetrik. Efek nikotin pada viabilitas HGF mungkin melalui mekanisme *cellular senescence* dan autofagi. Rokok merupakan eksaserbator *cellular senescence* yang ditandai dengan sel-sel somatik berhenti berproliferasi, hingga menjadi tidak berfungsi yang *irreversible*. Selain itu, efek rokok pada viabilitas HGF dapat dinilai melalui derajat homeostasis HGF dengan memeriksa level autofagi melalui protein penanda autofagi LC3II. Penurunan viabilitas HGF melalui mekanisme *cellular senescence* dan autofagi akibat paparan nikotin mungkin berperan atau terlibat dalam patogenesis periodontitis.

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, maka pada penelitian ini diajukan beberapa pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimana efek paparan nikotin terhadap penurunan viabilitas fibroblas gingiva manusia?
2. Bagaimana efek paparan nikotin terhadap peningkatan *cellular senescence* fibroblas gingiva manusia?
3. Bagaimana efek paparan nikotin terhadap peningkatan level autofagi fibroblas gingiva manusia?
4. Bagaimana korelasi antara *cellular senescence* fibroblas gingiva manusia dengan viabilitas fibroblas gingiva manusia yang diberi paparan nikotin?

5. Bagaimana korelasi antara level autofagi fibroblas gingiva manusia dengan viabilitas fibroblas gingiva manusia yang diberi paparan nikotin?

### **1.3 Tujuan penelitian**

Sehubungan dengan pertanyaan penelitian di atas, tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Menganalisis efek paparan nikotin terhadap penurunan viabilitas fibroblas gingiva manusia.
2. Menganalisis efek paparan nikotin terhadap peningkatan *cellular senescence* fibroblas gingiva manusia.
3. Menganalisis efek paparan nikotin terhadap peningkatan level autofagi fibroblas gingiva manusia.
4. Menganalisis korelasi antara *cellular senescence* fibroblas gingiva manusia dengan viabilitas fibroblas gingiva manusia yang diberi paparan nikotin.
5. Menganalisis korelasi antara level autofagi fibroblas gingiva manusia dengan viabilitas fibroblas gingiva manusia yang diberi paparan nikotin.

### **1.4 Batasan penelitian**

Penelitian ini terbatas hanya berkonsentrasi pada tiga domain, yaitu sitotoksitas untuk menilai viabilitas, *senescence associated- $\beta$ -galaktosidase* untuk menilai *cellular senescence*, serta rasio protein LC3II/LC3I sebagai pananda autofagi untuk menilai level autofagi pada fibroblas gingiva manusia yang diberi paparan nikotin dengan berbagai konsentrasi.

### **1.5 Manfaat penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan dapat menjadi landasan penelitian selanjutnya dalam rangka memahami viabilitas, *cellular senescence* dan mekanisme autofagi fibroblas gingiva manusia yang diberi paparan nikotin. Selanjutnya dapat dikembangkan dalam rangka pengambilan kebijakan dalam menurunkan angka perokok

Indonesia, serta menjadi modalitas pendekatan perawatan periodontitis baru untuk mendukung keberhasilan perawatan periodontal pada pasien periodontitis yang masih merokok.