

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

Penyakit periodontal menduduki urutan pertama pada buku catatan rekor dunia tahun 2001 sebagai penyakit yang sering diderita manusia. Menurut data *Global Burden of Disease* dari tahun 1990-2010 membuktikan bahwa penyakit periodontitis berat (*severe periodontitis*) merupakan penyakit dengan prevalensi tertinggi ke-6 (11,2%) dan penderita mencapai sekitar 743 juta jiwa di dunia. Peningkatan prevalensi periodontitis mencapai 57.3% dalam waktu 10 tahun dan secara global, kerugian akibat berkurangnya produktivitas karena periodontitis berat di perkirakan mencapai 53,99 juta Dolar Amerika per tahunnya. Data yang diperoleh RISKESDAS 2018 menunjukkan persentase kasus periodontitis di Indonesia sebesar 74,1% (Wijaksana, 2019).

*Porphyromonas gingivalis* adalah mikroorganisme sistemik yang menyebabkan penyakit periodontitis yang terjadi pada jaringan periodontal (Ramadhani *et al.*, 2014). Penyakit periodontal ditandai dengan adanya inflamasi gingiva pada jaringan gigi. Faktor yang risiko terjadinya inflamasi gingiva yaitu stres, merokok, dan menggunakan alkohol sehingga terjadi pembentukan plak dan mengakumulasi kalkus. Kebiasaan merokok menyebabkan perubahan vaskularisasi dan sekresi saliva akibat panas yang dihasilkan oleh asap rokok (Ramadhani *et al.*, 2014). Rokok mengandung gabungan bahan kimia, serta terdapat tiga bahan kimia paling berbahaya yang terdapat dalam rokok yaitu, nikotin, tar, karbondioksida dan logam-logam berat (Putri Kusuma, 2011).

Nikotin terbukti dapat meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang merupakan radikal bebas pada tubuh. Ketidakseimbangan radikal bebas dan antioksidan dapat mengakibatkan terjadinya stress oksidatif (Bangsa *et al.*, 2019). Radikal bebas yang dipaparkan oleh asap rokok dapat meningkatkan stres

oksidatif, respon inflamasi, pelepasan sitokin pada fibroblas ligamen periodontal, dan kerusakan DNA yang dapat menyebabkan perbaikan tidak teratur serta penyembuhan luka sehingga dapat berpengaruh pada proliferasi siklus sel. Mayoritas kerusakan jaringan periodontal disebabkan oleh respon imun, dengan melibatkan leukosit, komplemen dan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Periodontitis menjadi penyakit periodontal utama pada rongga mulut yang di sebabkan oleh nikotin. (Javed *et al.*, 2016).

Interleukin-6 (IL-6) adalah sitokin pleiotropik yang memiliki berbagai fungsi, yaitu proinflamasi, antiinflamasi, dan aktivasi sistem imun lainnya. Berbagai macam jenis sel, termasuk sel dendritik, makrofag, limfosit, fibroblas, dan sel epitel menghasilkan IL-6. Peningkatan IL-6 adalah proinflamasi karena dominasi imunologi *T-helper* 1 (Th1) melawan *T-helper* 2 (Th2). Keadaan proinflamasi dapat mengakibatkan penurunan resistensi sel menjadi rentan terhadap apoptosis (Haryanti & Gondo, 2018). Respon inflamasi yang disebabkan oleh paparan asap rokok akan menyebabkan iritasi sehingga mempromosikan produksi sitokin inflamasi dan menginduksi perubahan siklus sel (Alamri *et al.*, 2015), sehingga secara spontan mengeluarkan banyak sitokin dan matriks *metalloproteinase* (MMP) antara lain interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), MMP-1, dan MMP-3. Selain itu dapat memicu aktivasi *nuclear factor kappa- light chain enhancer of activated b cells* (NF- $\kappa$ B) dan dapat menyebabkan pelepasan IL-8 (Shailasree *et al.*, 2012; Suryadinata, 2018).

*Cyclooxygenases* (COXs), disebut sebagai sintase endoperoksida prostaglandin, terlibat dalam sintesis prostaglandin dari asam arakidonat. COX-2 adalah enzim yang berperan penting dalam inflamasi. COX-2 adalah gen respons perantara yang mengkodekan protein sitoplasma yang diregulasi di tempat inflamasi. COX-2 diekspresikan secara konstitutif di otak, ginjal, dan testis; namun, di sebagian besar jaringan lain ekspresinya diinduksi oleh agen proinflamasi atau mitogenik, termasuk sitokin, promotor tumor, endotoksin, dan mitogen (Huang *et al.*, 2008).

Penelitian sebelumnya gingiva manusia fibroblas, sebelumnya telah ditunjukkan bahwa ekspresi mRNA COX-2 dan protein dirangsang oleh

nikotin. (Zdanov *et al.*, 2007). Aktivasi COX-2 akan menstimulus prostaglandin G2 menjadi prostaglandin H2 yang dapat meningkatkan inflamasi dalam sel. COX-1 berfungsi sebagai biosintesis prostanoid basal dan diperlukan untuk pemeliharaan fungsi fisiologis. Sedangkan, COX-2, meningkatkan membentuk tromboksan, melalui pengaktifan NF- $\kappa$ B, dan mitogen activated protein kinase (MAPKs) dan pembentukan platelet-derived growth factor (PDGF) (Nakao *et al.*, 2009; Hashemi *et al.*, 2019).

Sel fibroblas gingiva adalah salah satu tipe sel utama ditemukan di jaringan ikat gingiva dan bertanggung jawab untuk pemeliharaan dan perbaikan jaringan gingiva. Pada sel yang mengalami kerusakan akibat stres oksidatif atau peningkatan ROS. Peningkatan ROS terbukti memiliki sifat anti proliferasi dan mempengaruhi fibroblas secara *in-vitro*, yang dapat mengganggu diferensiasi jaringan *myofibroblast*, meningkatkan sitokin inflamasi dan radikal bebas pada kultur sel. Sedangkan, pada siklus sel akan ditangkap oleh fase G1 atau G2, dan proses perbaikan kemudian dimulai (Takeuchi *et al.*, 2014; Aved *et al.*, 2016). Proliferasi fibroblas diatur oleh siklus sel. Perubahan siklus sel terjadi karena adanya kerusakan jaringan atau respon inflamasi akan mengakibatkan proliferasi atau pertumbuhan yang terhambat, apoptosis, dan ekspresi gen spesifik pada sel *Human Gingiva Fibroblast* (HGF) (Alamri *et al.*, 2015).

Inflamasi dapat menyebabkan penuaan pada sel dan dapat mempengaruhi histologis, pertumbuhan berlebih gingiva ditandai oleh proliferasi fibroblas dan meningkat pembentukan kolagen pada gingiva. Pada sel-sel yang rusak yang terpapar stres oksidatif, siklus sel ditangkap pada fase G1 atau G2, dan kemudian proses perbaikan dimulai (Páez *et al.*, 2020).

Siklus sel adalah proses yang mendasari duplikasi sel. Transisi siklus sel dari G1 ke S dan G2 ke mitosis diatur oleh aktivasi berurutan dan inaktivasi keluarga protein CDK, keluarga protein kinase serin/treonin. *Cyclin* adalah subunit pengatur CDK dan terdegradasi atau disintesis selama sel siklus. Dari sekian banyak (lebih dari 21) CDK yang teridentifikasi sejauh ini, hanya CDK1, CDK2, CDK4 dan CDK6 diperlukan untuk regulasi siklus sel

Siklus sel yang terlibat di dalam protein dan aktif setelah berikatan dengan *cyclin* disebut *Cyclin dependen kinase* (CDK). *Cyclin* D dan CDK4 diketahui berperan pada fase G1, *cyclin* E dan A serta CDK2 pada fase S, serta *cyclin* B dan A dan CDK1 pada fase M. Ikatan CDK-*cyclin* dapat diinaktivasi oleh CDK inhibitor (CDKI). Peran CDKI adalah sebagai tumor supresor, sebagai contoh protein p21 merupakan penghambat *cyclin* D, target transkripsi penting dari p53, serta memediasi penghentian siklus sel pada fase G1 dan G2 yang dipicu kerusakan DNA (Septania, 2018).

Penelitian (Hashemi *et al.*, 2019) peningkatan level ekspresi mRNA protein p21, menekan aktivasi CDK4- dan CDK6, dianggap terinduksi dengan peningkatan protein p53 terfosforilasi, menghasilkan penurunan jumlah sel. Protein p21 adalah protein asam amino 165 yang memediasi penghentian fase G1 yang bergantung pada p53 dan p21 adanya aktifitas biologis terutama dalam menghambat siklin kinase dependen, khususnya CDK4 dan CDK6 sehingga dapat tercegahnya proliferasi protein retinol blastoma yang akan menekan ekspresi gen (Páez *et al.*, 2020).

Saga (*Abrus precatorius L.*) merupakan tanaman yang banyak digunakan secara tradisional sebagai obat di banyak negara. Tanaman ini dilaporkan memiliki efek terapeutik, seperti anti-jamur, anti-inflmasi, anti-bakteri anti-tumor, anti-diabetik, anti-proliratif termasuk anti peradangan, bisul, luka dan goresan (Amanisha, 2013). Menurut penelitian Pertiwi *et al* (2016) hasil pengamatan Organoleptis Ekstrak daun Saga mengandung flavonoid dan saponin yang berperan antioksidan dan antibakteri (Pertiwi *et al.*, 2016). Flavonoid dan fenolik berperan sebagai antioksidan dengan menghasilkan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, biasanya dalam bentuk glukosida atau dalam bentuk aglikon (Gul *et al.*, 2013).

Nikotin dapat menyebabkan sitotoksis terhadap gingiva, menurunkan protein fibroblas, serta merusak sel membran, serta sel fibroblas ligamen periodontal *in-vitro* pada uji viabilitas sel, proliferasi sel dan produksi mediator inflamasi. Nikotin dalam asap rokok akan menghasilkan gas yang berpotensi untuk menimbulkan radikal bebas. Radikal bebas (OH) akan merusak molekul

dari sel tubuh yaitu lipid, protein dan DNA. Apabila, kelebihan produksi radikal bebas atau oksigen yang aktif (ROS) akan menimbulkan kerusakan komponen sel-sel terpenting untuk mempertahankan integritas sel. Daun saga (*Abrus precatorius L.*) dianggap memiliki aktivitas anti inflamasi dan antioksidan yang kuat dan membantu melindungi sel terhadap kerusakan oksidatif. Penelitian ini akan menganalisis efek ekstrak daun saga (*Abrus precatorius L.*) terhadap pengaruh kadar IL-6, ekspresi mRNA COX-2 dan protein p21 pada sel fibroblas gingiva yang dipapar nikotin.

## 1.2 Rumusan Masalah

Nikotin dapat mengakibatkan produksi ROS meningkat sehingga menimbulkan stres oksidatif, kelebihan ROS akan menimbulkan kerusakan komponen sel, sehingga menimbulkan inflamasi yang dapat meningkatkan IL-6, ekspresi mRNA COX-2 dan protein p21 pada sel fibroblas gingiva. Daun saga (*Abrus precatorius Linn.*) dianggap mampu melindungi sel terhadap kerusakan oksidatif karena memiliki antioksidan yang tinggi.

Berdasarkan permasalahan yang dijabarkan di atas peneliti di rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh ekstrak etanol daun saga (*Abrus precatorius L.*) terhadap kadar interleukin-6 (IL-6) pada sel fibroblas gingiva yang dipaparkan nikotin?
2. Bagaimana pengaruh ekstrak etanol daun saga (*Abrus precatorius L.*) terhadap ekspresi mRNA *Cyclooxygenase-2* (COX-2) pada sel fibroblas gingiva yang dipaparkan nikotin?
3. Bagaimana pengaruh ekstrak etanol daun saga (*Abrus precatorius L.*) terhadap ekspresi mRNA protein p21 pada sel fibroblas gingiva yang dipaparkan nikotin?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Menganalisis pengaruh efek ekstrak etanol daun saga (*Abrus precatorius L.*) terhadap kadar IL-6, ekspresi mRNA COX-2 dan protein p21 pada sel fibroblas gingiva yang dipaparkan nikotin.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Menganalisis ekstrak etanol daun saga (*Abrus precatorius L.*) terhadap kadar interleukin-6 (IL-6) pada sel fibroblas gingiva yang dipaparkan nikotin.
2. Menganalisis ekstrak etanol daun saga (*Abrus precatorius L.*) terhadap ekspresi mRNA *Cyclooxygenase-2* (COX-2) pada sel fibroblas gingiva yang dipaparkan nikotin.
3. Menganalisis ekstrak etanol daun saga (*Abrus precatorius L.*) terhadap ekspresi mRNA protein p21 pada sel fibroblas gingiva yang dipaparkan nikotin.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1 Manfaat teori**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai data ilmiah tentang pengaruh efek ekstrak etanol daun saga (*Abrus precatorius L.*) terhadap pengaruh kadar interleukin-6 (IL-6), ekspresi mRNA *Cyclooxygenase-2* (COX-2) dan protein p21 pada sel fibroblas gingiva yang dipaparkan nikotin.

#### **1.4.2 Manfaat Klinis**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai landasan informasi ilmiah untuk memahami potensi risiko dan keamanan ekstrak herbal daun saga (*Abrus precatorius L.*) sebagai calon terapeutik antiinflamasi terhadap pengaruh

kadar interleukin-6 (IL-6), tingkat ekspresi mRNA *Cyclooxygenase-2* (COX-2) dan protein p21 pada sel fibroblas gingiva yang dipaparkan nikotin.

### 1.5 Batasan Penelitian

Pada penelitian ini peneliti memiliki batasan yaitu:

1. Adanya variabel bebas yaitu efek ekstrak etanol daun saga (*Abrus precatorius Linn.*), sedangkan variabel terikat adalah kadar interleukin-6 (IL-6), ekspresi mRNA *Cyclooxygenase-2* (COX-2) dan protein p21 pada sel fibroblas gingiva yang dipaparkan nikotin.
2. Sampel yang digunakan berupa sel fibroblas gingiva di peroleh dari Lembaga Penelitian [Laboratorium Sel Punca Universitas YARSI.
3. Penelitian akan dilakukan secara *invitro*. Sel fibroblas gingiva akan dipaparkan nikotin dan diberikan perlakuan berupa ekstrak etanol daun saga (*Abrus precatorius Linn.*) dengan parameter inflamasi dibatasi kadar interleukin-6 (IL-6), ekspresi mRNA *Cyclooxygenase-2* (COX-2) dan protein p21.