

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Peridontitis

Penyakit periodontitis merupakan masalah kesehatan baik di negara maju maupun di negara berkembang. Data yang ada pada *World Health Organization* (WHO) di 35 negara memperlihatkan prevalensi yang cukup tinggi yaitu lebih dari 75% pada orang yang berumur 35-44 tahun, yang terdiri dari 40-47% di 7 negara, 40% di 15 negara dan di 13 negara prevalensinya sedang. Secara umum kerugian akibat berkurangnya produktivitas karena periodontitis berat diperkirakan mencapai 53,99 juta Dolar Amerika per tahunnya (Tonetti *et al.*, 2017). Menurut Tampubolon (2006), di Indonesia prevalensi penyakit periodontal cukup tinggi di masyarakat yaitu 96,58% pada semua kelompok umur. Individu yang mempunyai risiko tinggi terkena periodontitis adalah individu dengan usia 35-55 tahun. Risiko kehilangan gigi pada penyakit periodontitis masih tinggi, karena banyaknya kasus gingivitis yang berlanjut menjadi periodontitis. (Niels-Gehrig dan Willmann, 2011).

Insiden penyakit periodontitis mengalami peningkatan seiring bertambahnya usia, karena faktor usia merupakan salah satu faktor risiko kejadian periodontitis. Hal tersebut terjadi karena faktor usia berkaitan dengan perubahan jaringan periodontal, salah satunya berkurangnya kepadatan tulang, sehingga kemampuan penyembuhan akan mengalami penurunan (Bergström, *et al.*, 2006). Menurut Taize dan Maria (2004) yang meneliti tentang faktor yang berhubungan dengan periodontitis pada populasi di pedesaan melaporkan bahwa prevalensi periodontitis meningkat seiring bertambahnya usia, yaitu 12,4% untuk kelompok usia 20-30 tahun, 46,9% untuk kelompok usia 41-50 tahun, dan 31,3% untuk kelompok usia 51-69 tahun. Diperkirakan prevalensinya 3 kali lebih tinggi pada individu berusia 30 tahun atau lebih. Studi epidemiologis menunjukkan bahwa antara 44-57% orang dewasa menderita periodontitis ringan, sedangkan 10% dari orang dewasa di negara maju menderita periodontitis berat. Pasien dengan periodontitis awal sering tidak menyadari, karena pada stadium awal infeksi tersebut tidak menunjukkan gejala

klinis yang signifikan. Pasien baru mengetahui menderita penyakit periodontitis setelah berkunjung ke dokter gigi untuk pemeriksaan rutin atau ada gigi yang bermasalah ataupun saat terjadinya abses peridonontal pertama kali. Sehingga kemungkinan besar terjadi infeksi kronis yang dapat berkembang tanpa gejala selama bertahun-tahun lamanya. Periodontitis yang tidak terdiagnosis sejak awal, karena tidak adanya gejala klinis, akibatnya tidak akan mendapatkan pengobatan secepatnya. Keadaan tersebut dapat membahayakan karena infeksi bakterial kronik jaringan periodontal dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis (Abuhussein *et al.*, 2013).

Periodontitis dapat diklasifikasikan menjadi periodontitis kronis dan periodontitis agresif. Periodontitis kronis adalah peradangan yang terjadi pada jaringan periodontal yang ditandai dengan migrasi epitel jungsional ke apikal, kehilangan perlekatan dan puncak tulang alveolar. Pada pemeriksaan klinis dengan menggunakan probe didapatkan kedalaman poket yang meningkat, dan terjadi perdarahan ketika probing, serta warna kemerahan (Fedi *et al.*, 2004).

Periodontitis kronis merupakan jenis periodontitis yang biasanya berjalan lambat, terjadi sekitar usia 35 tahun ke atas. Tulang alveolar akan mengalami resorpsi secara lambat, sebagian besar berbentuk horisontal. Periodontitis kronis terjadi setelah infeksi bakteri dan resorpsi tulang alveolar (Tachi *et al.*, 2003). Akumulasi plak dan kalkulus yang terjadi secara lambat dihubungkan dengan kejadian periodontitis kronis. Namun periode destruksi tulang akan berjalan dengan cepat. Perkembangan penyakit periodontitis yang dihubungkan dengan akumulasi plak dipengaruhi oleh faktor lokal, sistemik dan lingkungan. Faktor sistemik, misalnya penyakit *diabetes mellitus* (DM) dan *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) yang dapat mempengaruhi pertahanan *host*. Faktor lingkungan juga dapat mempengaruhi perkembangan penyakit periodontal, misalnya kebiasaan merokok dan stress yang akan memperburuk keadaan periodontitis. Pada kejadian periodontitis kronis lebih sering terjadi pada orang dewasa, walaupun bisa juga terjadi pada anak, kerusakan yang terjadi sejalan dengan faktor lokal, berhubungan dengan pola mikrobial, terdapat adanya kalkulus subgingiva. Tingkat perkembangan penyakit periodontitis kronis pada awalnya lambat hingga sedang,

namun pada perkembangan selanjutnya dapat berjalan cepat. Periodontitis kronis disubklasifikasikan menjadi bentuk lokal dan general. Dikatakan lokal jika area yang mengalami kerusakan kurang dari 30%, dan general jika area yang mengalami kerusakan lebih dari 30%. Periodontitis kronis berdasarkan tingkat keparahannya dibagi menjadi: ringan, sedang dan berat. Dikatakan ringan jika *clinical attachment loss* (CAL): 1-2mm; sedang jika CAL: 3-4mm dan berat jika CAL: lebih atau sama dengan 5mm (Caranza, 2016). Periodontitis kronis secara klinis ditandai adanya: a) Inflamasi gingiva dan pendarahan. Status kebersihan mulut berpengaruh besar terhadap keparahan inflamasi gingiva; b) Poket periodontal: pada periodontitis tahap awal terdapat poket sedalam 4mm; c) Resesi gingiva; d) Mobilitas gigi, derajat mobilitas gigi dapat dikelompokkan sebagai berikut: derajat 1 bila mobilitas gigi hanya dirasakan, derajat 2 bila mobilitas gigi mudah dirasakan, pergeseran labiolingual 1 mm, derajat 3 bila mobilitas dari gigi ke atas dan ke bawah pada arah aksial, pergeseran labiolingual lebih 1 mm; e) Migrasi gigi, posisi gigi pada keadaan sehat dapat dipertahankan oleh keseimbangan lidah, bibir dan tekanan oklusal. Apabila jaringan periodontal mengalami kerusakan, maka faktor tekanan akan menentukan pola migrasi gigi; f) Nyeri, pada periodontitis kronis, tidak ada rasa nyeri, kecuali bila didahului dengan peradangan. Apabila gigi diperkusi dan terasa nyeri, maka menandakan adanya inflamasi akut pada jaringan periodontal atau adanya pembentukan abses, sehingga gigi akan sensitif terhadap sentuhan; g) Resorpsi tulang alveolar, pada hasil radiografik terlihat ada kerusakan jaringan periodontal yaitu hilangnya densitas tepi alveolar; h) Halitosis dan rasa tidak enak, serta bau yang mengganggu sering menyertai penyakit periodontal terutama bila kebersihan mulut buruk. Inflamasi akut, dengan produksi nanah yang keluar dari poket bila poket ditekan juga menyebabkan halitosis. Dari tanda-tanda ini, poket dan kerusakan tulang alveolar adalah tanda yang penting dari periodontitis kronis (Eley *et al.*, 2010).

Periodontitis agresif mempunyai karakteristik sebagai berikut : (1) Pasien sehat secara klinis; (2) *Clinical attachment loss* yang cepat dan destruksi tulang; (3) Besarnya deposit mikrobial inkonsisten/tidak sesuai dengan keparahan penyakit. Karakteristik berikut umum tetapi tidak bersifat universal: (a) Infeksi oleh

bakteri *A. actinomycetemcomitans*; (b) Abnormalitas fungsi fagosit; (c) Makrofag hiper responsif terjadi peningkatan produksi prostaglandin E2 (PGE2) dan IL-1 β . Periodontitis agresif dapat diklasifikasikan menjadi lokal dan general berdasarkan penampakan umum dan penampakan spesifik yaitu sebagai berikut:

Periodontitis agresif lokal:

- (1) Onset penyakit terjadi pada saat usia pubertas
- (2) Pada molar pertama atau insisivus dengan *proximal attachment loss* pada setidaknya dua gigi permanen yang salah satunya adalah molar pertama.
- (3) Respons serum antibodi yang kuat pada agen penginfeksi.

Periodontitis agresif general:

- (1) Biasanya pada individu berusia dibawah 30 tahun (namun dapat juga lebih dari 30 tahun)
- (2) *Proximal attachment loss* tergeneralisir setidaknya pada tiga gigi selain molar pertama dan insisivus
- (3) Destruksi periodontal episodik
- (4) Respons serum antibodi yang buruk pada agen penginfeksi

a. Etiologi periodontitis

Periodontitis adalah suatu bentuk peradangan pada jaringan periodontal akibat masuknya bakteri, sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan secara cepat pada ligamen periodontal dan tulang alveolar (Lamont dan Jenkinson, 2010). Penyakit periodontitis disebabkan karena bakteri gram negatif anaerob terutama bakteri *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* dan *P. intermedia* sebagai faktor utama. Bakteri anaerob yang berkembang secara berlebihan akan memicu terjadinya penyakit periodontitis (Nield-Gehrig dan Wilman, 2011). Bakteri *A. actinomycetemcomitans* merupakan bakteri gram negatif, nonmotil, anaerob fakultatif, pendek (0,4-1 μ m), berbentuk batang dengan ujung membulat. Faktor sekunder terjadinya penyakit periodontal, antara lain adalah bentuk anatomi gigi, iatrogenik, kalkulus, trauma, cedera kimiawi dan daya kunyah yang berlebihan (Eley *et al.*, 2010). Penyakit periodontal juga dipengaruhi oleh faktor lokal dan faktor sistemik. Faktor lokal meliputi faktor iritasi dan faktor fungsional. Iritasi

yang terjadi di rongga mulut dapat menyebabkan peradangan di jaringan periodontal, yang diawali dengan gingivitis, kemudian inflamasi akan berlanjut ke jaringan pendukung gigi sehingga dapat terjadi kegoyahan gigi. Faktor fungsional meliputi kontak prematur, hambatan oklusi, kebiasaan buruk akan menyebabkan trauma oklusi dan selanjutnya dapat mengakibatkan gigi goyang. (Carranza, 2006; 2012).

Infeksi bakteri merupakan penyebab utama terjadinya penyakit periodontitis, dengan tanda klinis mulai dengan gingivitis hingga kerusakan tulang alveolar. Penyakit periodontal dimulai dengan adanya inflamasi di gingiva sehingga terjadi gingivitis. Keadaan tersebut dapat berlanjut ke arah terjadinya kerusakan ligamen periodontal, poket periodontal, kehilangan tingkat perlekatan klinis hingga kerusakan tulang alveolar. Bakteri plak yang menumpuk di permukaan gigi menyebabkan terjadinya penyakit periodontal (Lumentut *et al.*, 2013). Bakteri penyebab penyakit periodontitis adalah bakteri gram positif dan gram negatif. Namun bakteri gram positif biasanya hanya mendorong terbentuknya kemokin dengan tingkat rendah, sedangkan bakteri gram negatif memiliki *lipopolysacharide* yang menyebabkan terjadinya reaksi inflamasi karena potensinya dalam mengaktifkan sel inflamasi yang berperan dalam respons imun.

Bakteri *A. actinomycetemcomitans* sebelumnya dikenal dengan nama *Actinobacillus actinomycetemcomitans* merupakan kelompok bakteri dari famili *Pasteurellaceae*, termasuk bakteri coccobacilli anaerob fakultatif gram negatif (Nørskov-Lauritsen dan Kilian, 2006). Bakteri *A. actinomycetemcomitans* akan berinvasi ke sel *host* dan mengeluarkan *leukotoxin* sehingga proses pembekuan darah dihambat. Kemudian akan merusak jaringan pendukung gigi dengan menggunakan *cytotoxine* yang mempunyai kemampuan untuk meresorpsi tulang alveolar. Bakteri *A. actinomycetemcomitans* menyebabkan terjadinya penyakit periodontal yang bersifat merusak seperti *rapidly progressive periodontitis* dan *juvenile (aggressive) periodontitis* (Eley *et al.*, 2010). Bakteri tersebut juga menyebabkan beberapa penyakit infeksi lain seperti endokarditis, abses otak, dan infeksi saluran urin (Nørskov-Lauritsen dan Kilian, 2006).

b. Patogenesis periodontitis

Periodontitis disebabkan oleh multifaktor, yaitu interaksi antara jaringan periodontal, plak dan saliva. Interaksi antar faktor tersebut menimbulkan berbagai proses imunologi baik proteksi maupun kerusakan jaringan. Periodontitis menyebabkan kerusakan jaringan periodontal akibat toksin yang diproduksi bakteri pada plak, namun yang utama adalah kerusakan tersebut disebabkan karena respons inflamasi lokal dan aktivitas mediator inflamasi (Pendyala *et al.*, 2008). Penyebab penyakit periodontal disebabkan karena beberapa faktor, yaitu karena adanya ketidakseimbangan antara bakteri dengan pertahanan *host*. Namun penyebab utama penyakit periodontal adalah akumulasi bakteri plak pada permukaan gigi. Keadaan yang dapat memperburuk penyakit periodontal adalah beberapa kelainan sistemik misalnya faktor genetik, gizi, hormonal dan hematologi, akan tetapi faktor sistemik saja tanpa adanya plak bakteri tidak dapat menjadi pencetus terjadinya periodontitis. Namun menurut beberapa penelitian disebutkan bahwa faktor sistemik dapat mempengaruhi respons *host* terhadap iritasi bakteri dan mempengaruhi perkembangan serta keparahan penyakit periodontal dan responsnya terhadap perawatan (Fedi *et al.*, 2004).

Banyak penelitian yang membuktikan adanya korelasi antara penyakit periodontitis kronik dengan beberapa penyakit sistemik. Periodontitis dapat menjadi fokal infeksi dan faktor risiko terjadinya penyakit sistemik, antara lain penyakit serebrovaskular, kardiovaskular, pernapasan, bayi lahir dengan berat badan rendah, dan arteri perifer. Periodontitis juga disebutkan sebagai faktor risiko untuk peningkatan morbiditas dan mortalitas pada penyakit osteoporosis, *rheumatoid arthritis*, resistensi insulin, obesitas, komplikasi kehamilan, dan DM. Pada tahap awal penyakit periodontitis ditemukan adanya bakteri gram positif aerobik yang lebih banyak. Setelah itu terdapat peningkatan bakteri anaerobik gram negatif. Poket periodontal dan peningkatan inflamasi subgingiva terlihat pada pemeriksaan klinis penyakit periodontitis (Pöllänen *et al.*, 2011).

Penyakit periodontal merupakan peradangan pada jaringan pendukung gigi, yang dapat dibedakan menjadi gingivitis dan periodontitis. Gingivitis yang telah ada, biasanya akan berkembang menjadi periodontitis, namun tidak setiap gingivitis

akan berkembang ke arah periodontitis. Gingivitis tanpa perawatan dengan baik, dapat berkembang menjadi periodontitis. Kehilangan gigi akibat penyakit periodontitis berperan terhadap morbiditas penduduk karena akan menyebabkan berkurangnya fungsi oral. Koloni dari beberapa bakteri dapat menyebabkan periodontitis, seperti *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus*, *A. actinomyetemcomitans*, dan kuman-kuman Gram-positif, misalnya *Peptostreptococcus micros* (*P. micros*) dan *Streptococcus intermedius* (*S. intermedius*) (Caranza, 2012).

Bakteri *A. actinomyetemcomitans* adalah bakteri gram negatif yang mampu berkoloni dan bersifat adhesif maupun invasif. Perbaikan jaringan periodontal dapat dihambat oleh bakteri *A. actinomyetemcomitans* karena proliferasi fibroblas dan pembentukan tulang akan dihambat (Alexandrina dan Junya, 2010). Pada saat bakteri masuk ke jaringan periodontal, maka bakteri akan mengeluarkan LPS, selanjutnya LPS akan berikatan dengan reseptor pada makrofag, yaitu *toll like receptor 4* (TLR4). Setelah adanya ikatan tersebut maka akan memicu *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF- κ B). Keadaan ini akan memicu makrofag untuk mengeluarkan sitokin pro-inflamasi, antara lain IL-1 dan TNF- α . *Interleukin-1* dan TNF- α akan memicu vasodilatasi sehingga akan terjadi permeabilitas pembuluh darah yang meningkat. Kemudian IL-1 dan TNF- α akan menginduksi ekspresi *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) dan *intercellular adhesion molecules 1* (ICAM-1) di dalam pembuluh darah. Reseptor yang berada pada permukaan leukosit, yaitu integrin $\alpha 4\beta 1$ (VLA4) akan berikatan dengan VCAM-1, sedangkan *lymphocyte function-associated antigen 1* (LFA-1) dan MAC-1 akan berikatan dengan ICAM-1. *Vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) dan ICAM-1 berfungsi dalam proses adhesi leukosit di dalam pembuluh darah, yang kemudian akan menembus keluar dari pori-pori membran kapiler untuk menuju ke jaringan. Leukosit yang pertama berdiapedesis ke jaringan adalah neutrofil, yang bertugas untuk memfagositosis bakteri beserta produknya. Peradangan yang terjadi pada saat neutrofil bermigrasi ke jaringan adalah peradangan akut. Peradangan akut tersebut tidak berlangsung lama karena waktu hidup neutrofil di jaringan singkat (*short life*), sehingga apabila peradangan masih

berlanjut, maka perannya akan digantikan oleh monosit, yang akan menjadi makrofag untuk fungsi fagositosis (Pasaribu *et al.*, 2012). Lepasnya fosfolipid dari membran sel epitel gingiva, fibroblas, sel mast, neutrofil disebabkan oleh keluarnya IL-1 dan TNF- α dari makrofag sehingga menyebabkan metabolisme asam arakhidonat oleh kerja enzim fosfolipase A2 (Porth dan Maftin, 2009). Ekspresi COX-2 yang meningkat melalui siklus *cyclooxygenase* akan menyebabkan sintesis PGE2 naik. Sintesis PGE2 yang meningkat akan menyebabkan vasodilatasi dan permeabilitas endothelium yang meningkat pula sehingga menyebabkan peningkatan yang berakibat infiltrasi sel inflamasi (Caranza, 2012).

c. Hubungan penyakit periodontitis dengan ROS

Infeksi periodontal terjadi ketika mikroorganisme biofilm memulai respons imun *host* dan menghasilkan tanda-tanda periodontitis, termasuk hilangnya perlekatan jaringan ikat dan resorpsi tulang alveolar. Pada patogenesis penyakit periodontal terdapat suatu keadaan stres oksidatif. Peningkatan PMN pada penderita periodontitis akan menyebabkan produksi ROS yang berlebihan, sehingga akan terjadi kerusakan jaringan gingiva, ligamen periodontal dan tulang alveolar melalui berbagai cara termasuk merusak *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) dan memicu terbentuknya sitokin pro-inflamasi. Perubahan keadaan gingiva dapat menyebabkan kematian sel dan pelepasan ROS dengan fagosit akan menurunkan *catalase* (CAT) dan *superoksida dismutase* (SOD). Aktivasi sinyal inflamasi menyebabkan peningkatan ROS dan stres oksidatif, sehingga endotel yang teraktivasi menarik sel proinflamasi, sedangkan apabila tingkat stres oksidatif menurun maka dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan (Pendyala *et al.*, 2008). Faktor risiko seperti merokok, stress, dan penyakit sistemik memperburuk perkembangan penyakit ini. Periodontitis dialami oleh banyak orang di seluruh dunia, namun mekanisme molekuler yang dipicu oleh bakteri patogen dan faktor risiko yang merusak periodontium tidak jelas. Bakteri periodontopatik dalam jaringan gingivomukosal dapat secara fungsional mengaktifkan PMNL yang mengarah pada peningkatan produksi ROS. Peradangan kronis menyebabkan sel-sel di dekatnya mengalami peningkatan kadar ROS karena pelepasan ekstraseluler

dari sel fagositik. Antioksidan menghambat proses oksidasi dengan menetralkan radikal bebas. Dengan demikian, antioksidan itu sendiri teroksidasi, oleh karena itu ada kebutuhan konstan untuk mengisi kembali sumber antioksidan dalam tubuh (Singh *et al.*, 2013).

Penyakit periodontal merupakan kondisi inflamasi akut atau kronik yang menyebabkan destruksi jaringan pendukung gigi dan mobilisasi serta hilangnya gigi-geligi. Peningkatan *caspase-3*, *Fas*, *Fas ligand* (*FasL*), *p53*, dan kondensasi kromatin ditemukan pada pasien dengan inflamasi periodontitis. Monosit merupakan leukosit yang paling sensitif dan mudah lisis oleh *leukotoxin* bakteri *A. actinomyetemcomitans* dan tergantung pada aktivasi *caspase-1*. *Porphyromonas gingivalis* dapat menginduksi apoptosis yang signifikan dalam sel epitel primer gingiva manusia. Peningkatan proliferasi fibroblas dan penurunan secara terus menerus dari apoptosis berkontribusi dalam pertumbuhan gingiva yang berlebihan (Nambiar dan Hegde, 2016). Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas di dalam tubuh dan kapasitas tubuh untuk menetralkannya. Stres oksidatif merupakan molekul pemberi sinyal penting dalam pengaturan beberapa proses seluler, dan akan muncul ketika terdapat ketidakseimbangan antara tingkat ROS dan pertahanan antioksidan *host*. Stres oksidatif akan berakibat adaptasi, kerusakan atau kematian sel melalui berbagai mekanisme, seperti DNA, lipid, dan kerusakan protein (Bhusari *et al.*, 2014).

Bakteri yang menyebabkan penyakit periodontitis mempunyai dua pengaruh pada kerusakan jaringan periodontal, yaitu pengaruh langsung dan pengaruh tidak langsung. Produksi enzim antara lain fosfolipase, kolagenase, protease, fibrinolisin yang dihasilkan dari bakteri *P. intermedia*, *A. actinomyetemcomitans*, *P. gingivalis* yang dapat menyebabkan degradasi lapisan superfisial pada jaringan periodontal merupakan pengaruh langsung. Sedangkan pengaruh tidak langsung adalah mekanisme pertahanan jaringan periodontal terhadap adanya jejas, yang ditimbulkan dari LPS (Sala, 2000). *Lipopolysacharide* bakteri menyebabkan terjadinya reaksi inflamasi karena potensinya dalam mengaktifkan sel inflamasi yang berperan dalam respons imun. Makrofag merupakan sel yang pertama kali memberikan respons terhadap LPS dengan mengaktifkan jalur interseluler dengan

memproduksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 dan TNF- α , yang selanjutnya akan menginduksi terjadinya migrasi netrofil dari endotel ke jaringan (Robbin dan Kumar, 2006). Terapi untuk periodontitis biasanya memakai kombinasi antara golongan antibiotik dan metronidazole. Tetapi pemberian antibiotik dengan dosis dan waktu pemakaian yang tidak tepat dapat menimbulkan terjadinya resistensi (Seymour, 2006).

2. Antioksidan

Antioksidan merupakan molekul yang bertindak sebagai pertahanan terhadap kerusakan oksidatif (Masaki, 2010). Berdasarkan mekanisme pertahanannya, maka antioksidan dapat dibagi menjadi tiga yaitu: antioksidan primer, sekunder dan tersier. Antioksidan primer menetralkan dengan mendonasikan satu elektronnya, sehingga kehilangan satu elektron dan menjadi radikal bebas baru, namun sifatnya relatif stabil dan akan dinetralkan oleh antioksidan lainnya misalnya vitamin E, vitamin C, asam α lipoat, CoQ10, dan flavonoid. Antioksidan sekunder bekerja dengan mengikat logam, menyingkirkan berbagai logam transisi pemicu ROS dan menyingkirkan ROS, misalnya transferin, albumin, dan laktoferin. Antioksidan tersier bekerja mencegah penumpukan molekul yang telah rusak, sehingga tidak menimbulkan kerusakan lebih lanjut misalnya enzim metionin sulfaoksida reduktase memperbaiki kerusakan DNA, enzim proteolitik memproses protein yang teroksidasi.

Mekanisme enzimatik adalah proses untuk menetralkan ROS langsung, mekanisme ini didasari oleh enzim utama yang terlibat dalam organisme perlindungan manusia untuk mempertahankan tingkat ROS secara normal. Contoh dari enzim-enzim ini adalah SOD, CAT dan *glutathione peroxidase* (GPx). *Superoksida dismutase* adalah salah satu enzim antioksidan yang paling banyak dalam tubuh manusia. Salah satu mekanisme kerjanya adalah konversi anion superoksida menjadi *hidrogen peroksida* (H_2O_2), yang beroperasi sebagai pencegahan antioksidan karena menghindari pembentukan hidroksil radikal. Tingkat SOD pasien periodontitis kronik berkurang bila dibandingkan pasien dengan periodontal sehat, dan hal itu menunjukkan bahwa setelah *scalling* dan *root*

planning, maka kadar serum dan saliva meningkat secara signifikan (Muniz *et al.*, 2015). *Catalase* terutama terletak di organel seluler yang disebut peroksisom dan mampu menghilangkan H_2O_2 intraseluler dan radikal superoksida dengan efikasi yang besar. Kadar CAT berkurang pada pasien periodontitis kronik bila dibandingkan dengan periodontal yang sehat. *Glutathione peroxidase* adalah peroksidase yang mengandung selenium yang bertanggung jawab untuk perlindungan sel mamalia terhadap kerusakan oksidatif dengan mereduksi berbagai hidroperoksida, seperti *organic peroxides* (ROOH) dan H_2O_2 secara ekstrasel dan mitokondria (Halliwell dan Gutteridge, 2007)

Antioksidan non enzimatik memiliki mekanisme sekunder untuk menetralkan ROS. Tipe antioksidan ini diperoleh secara eksogen, terutama melalui diet seimbang, yang termasuk berbagai buah dan sayuran, seperti buah beri, stroberi, anggur, buah alpukat, tomat, bayam, dan wortel. Antioksidan non-enzimatis dapat diperoleh dari vitamin yang larut dalam lemak (vitamin A, vitamin E-tokoferol dan β -karoten), vitamin yang larut dalam air (vitamin C dan vitamin B kompleks), elemen seng dan magnesium, dan bioflavonoid (Kara *et al.*, 2013). Penelitian telah menunjukkan bahwa pada pasien dengan periodontitis, tingkat oksidatif meningkat bila dibandingkan dengan pasien dengan periodontal yang sehat. Namun level antioksidan pada pasien periodontitis kronik secara signifikan lebih rendah bila dibandingkan individu dengan periodontal sehat (Halliwell dan Whiteman, 2004).

Proses oksidasi dapat terjadi dimana saja, termasuk di dalam tubuh karena merupakan suatu peristiwa yang alami, namun proses tersebut dapat ditekan oleh antioksidan. Apabila terjadi reaksi oksidasi, maka akan menghasilkan *hydroxyl radicals* (OH^\bullet) sebagai hasil sampingannya.

a. Klasifikasi antioksidan

Berdasarkan bentuknya

(1) Asam askorbat (vitamin C), yang berfungsi

- (a) Memecah radikal peroksil yang larut dalam air;
- (b) *Scavenging* superoksida dan perhydroxyl radikal;
- (c) Pencegahan kerusakan yang dimediasi oleh radikal hidroksil pada asam urat;

- (d) *Scavenger of hypochlorous acid*;
 - (e) Mengurangi kerusakan heme dan pelepasan zat besi sehingga mencegah reaksi Fenton;
 - (f) Pengikat oksigen singlet dan radikal hidroksil;
 - (g) Reformasi α - tokoferol dari radikal;
 - (h) Melindungi terhadap ROS-*release* dari asap rokok;
 - (i) Kemampuan untuk mengurangi ekspresi molekul adhesi monoksi C-reaktif-protein-dimediati dan kemampuan untuk menurunkan ekspresi gen pro-inflamasi melalui efek pada faktor transkripsi faktor κ B;
 - (j) Untuk mencegah pengaktifan kolagenase neutrofil.
- (2) Vitamin E, yang berfungsi:
- (a) Umumnya dianggap sebagai antioksidan lipida terlarut yang paling penting dan efektif secara *in vivo*, penting untuk menjaga integritas membran sel terhadap peroksidasi oleh radikal bebas;
 - (b) Perilaku antioksidannya adalah hasil kelompok OH fenolik tunggal, yang bila dioksidasi menimbulkan radikal vitamin E (*tocopheryl*);
 - (c) Memiliki sifat anti-inflamasi dan antioksidan;
 - (d) Penghambatan protein kinase C dan agregasi platelet;
 - (e) Penghambatan produksi oksida nitrat oleh endotelium vaskular;
- (3) Karotenoid terutama diproduksi dalam fitoplankton, alga dan tumbuhan, dan pigmen ini bertanggung jawab untuk berbagai warna yang terlihat di alam. Pigmen karotenoid, yaitu Astaxanthin, ditemukan dalam salmon, *trout*, dan hewan akuatik lainnya (Lorenz dan Cysewski, 2000).
- (4) β -karoten efisien dalam mengambil *superoxide anion* (O_2^-) dan aktivitas antioksidan karotenoid lainnya termasuk mengikat radikal peroksil. Vitamin A kontroversial sebagai antioksidan karena perilakunya bergantung pada ketegangan oksigen di lingkungan sekitar. Pada tekanan oksigen parsial rendah yang ditemukan di kebanyakan jaringan β -karoten bertindak sebagai antioksidan namun aktivitas awal ini diikuti oleh perilaku pro-oksidan pada tekanan oksigen yang lebih tinggi, yang terkait dengan efek merugikan substansial pada jaringan sekitarnya. Co-Enzyme Q10 ada dalam bentuk

teroksidasi (ubiquinon atau CoQ) dan bentuk tereduksi (ubiquinol atau CoQH), keduanya memiliki aktivitas anti-oksidan Co Q10 juga dianggap sebagai molekul pro-oksidan dalam menanggapi berbagai kejadian patofisiologis.

- (5) Anti oksidan lainnya adalah (a) Lycopene; (b) α -karoten; (c) Lutein; (d) Cryptoxanthine; (e) Retinol (vitamin A); (f) Dehydroretinol (vitamin A)

Berdasarkan sumbernya

- (1) Antioksidan endogen dapat dibagi menjadi enzimatis (misalnya SOD, G6PD, dan sitokrom oksidase serta peroksidase) dan non enzimatis (misalnya glutathione, bilirubin, plasmin, transferin dan lain-lain).
- (2) Antioksidan eksogen misalnya vitamin C, vitamin E, zinc, selenium, dan *lipoic acid*.

Berdasarkan interaksinya

- (1) Antioksidan enzimatis bekerja dengan cara mengkatalisasi pemusnahan radikal bebas
- (2) Antioksidan pencegah bekerja mengikat ion logam transisi.
- (3) Antioksidan pemutus reaksi rantai bekerja sebagai donor elektron yang kuat dan bereaksi dengan radikal bebas sebelum merusak molekul sasaran.

Berdasarkan kelarutannya

- (1) Berdasarkan kelarutannya terdiri dari antioksidan larut dalam lemak (vitamin A, vitamin E dan CoQ10),
- (2) Antioksidan yang larut dalam air (vitamin C dan *glutathione*), antioksidan yang larut dalam lemak dan air (*alpha lipoic acid*) (Krutmann dan Humbert, 2011).

b. Mekanisme Kerja Antioksidan

Antioksidan dapat dibagi menjadi dua golongan berdasarkan mekanisme pencegahan dampak negatif oksidan antara lain sebagai berikut (Murray, 2003).

1) Antioksidan Pencegah

Merupakan antioksidan yang dapat mencegah terbentuknya radikal yang paling berbahaya bagi tubuh yaitu radikal hidroksil. Yang termasuk dalam golongan ini adalah:

- a) *Super Oxide Dismutase* beradadi dalam mitokondria (Mn SOD) dan dalam sitoplasma (Cu Zn SOD).
- b) *Catalase* dalam sitoplasma, dimana catalase ini mampu mengkatalisir H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Komplemen CAT adalah Fe.
- c) *Gluthation peroxidase* yang merupakan salah satu golongan enzim peroksidase dimana enzim ini dapat meredam H_2O_2 menjadi H_2O melalui siklus redoks glutathion.
- d) Senyawa yang mengandung gugus sulfhidril seperti glutathion, sistein, kaptopril yang dapat mencegah timbunan radikal hidroksil dengan mengkatalisir menjadi H_2O

2) Antioksidan Pemutus Rantai (*Chain Breaking*)

Merupakan zat yang dapat memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas asam lemak pada membran sel dan mencegah peroksidasi lemak sehingga tidak terjadi kerusakan sel. Antioksidan pemutus rantai ini dapat digolongkan menjadi antioksidan endogen yaitu glutathion, sistein dan eksogen yaitu vitamin C, vitamin E serta beta karoten.

3. Astaxanthin

Astaxanthin adalah jenis karotenoid yang ditemukan di lingkungan alam. Karotenoid adalah pigmen yang sering dikaitkan dengan sayuran. Jenis yang paling umum adalah beta-karoten yang dapat ditemukan dalam wortel dan lycopene di dalam tomat, dan telah terbukti mengandung antioksidan. Astaxanthin merupakan pigmen merah, yang mempunyai kemampuan alami untuk menangkal efek negatif akibat radikal bebas atau oksigen aktif. Pigmen merah ini juga dapat dijumpai dalam berbagai jenis makhluk hidup di laut, termasuk ikan salmon, ikan *sea bream*, telur salmon, udang dan rumput laut merah. Astaxanthin selain terbukti mempunyai

kemampuan antioksidan yang kuat dan aman karena tanpa pro-oksidan atau pemicu oksidator baru, juga mempunyai efek anti inflamasi dan analgesik yang alami. Kemampuan antiinflamasi yang dimiliki oleh Astaxanthin digunakan sebagai penanganan untuk berbagai penyakit kronis. Kemampuan analgesik alami pada Astaxanthin tidak menimbulkan ketergantungan (Tan, 2012; Biswal, 2014). Astaxanthin merupakan antioksidan yang bersifat melapisi seluruh sel, karena mampu masuk memenuhi setiap sel di tubuh. Secara molekular, antioksidan ini bersifat lipofilik dan hidrofilik, sehingga memungkinkan untuk menjangkau seluruh bagian sel di tubuh. Astaxanthin adalah salah satu dari antioksidan yang paling kuat yang pernah ditemukan (Zhang dan Wang, 2015). Pada penelitian Naguib (2000); Paniagua dan Lifran (2000) ditunjukkan bahwa Astaxanthin juga terdapat pada ekstrak lobster *Homarus asfacus*. Kesimpulan dari penelitian tersebut adalah keberadaan Astaxanthin berlimpah di alam ini, tetapi hampir semuanya terdapat dalam konsentrasi yang rendah. Sumber Astaxanthin paling banyak ditemukan pada alga hijau *Haematococcus pluvialis*. Selain mengandung Astaxanthin, alga hijau *Haematococcus pluvialis* juga mengandung jenis senyawa karoten lainnya berupa lutein, likopen dan B-karoten. Astaxanthin ditemukan di berbagai makanan laut seperti sockeye salmon, trout, sea bream, kepiting dan udang. Manusia dapat memasukkan Astaxanthin dalam makanan dan mengonsumsi Astaxanthin yang mengandung makanan laut atau suplemen makanan, baik yang sintesis atau diekstrak dari *Haematococcus pluvialis* (Tan, 2012; Biswal, 2014; Zhang *et al.*, 2017; Ambati *et al.*, 2014; Bhattacharjee, 2014).

Astaxanthin memiliki struktur yang unik karena adanya keto dan hidroksil pada setiap ujung molekul yang berkontribusi terhadap peningkatan properti antioksidan. Astaxanthin mempunyai aktivitas radikal bebas yang kuat dan melindungi terhadap peroksidasi lipid serta kerusakan oksidatif LDL-kolesterol, membran sel, sel, dan jaringan. Astaxanthin jika dibandingkan dengan vitamin E, lebih kuat 550 kali dan jika dibandingkan dengan vitamin C, lebih kuat 6.000 kali. Penelitian mengatakan bahwa subjek manusia yang mengonsumsi Astaxanthin akan meningkatkan respons imun dan menurunkan kerusakan DNA (Fassett dan Coombes, 2011; Terazawa *et al.*, 2012). Astaxanthin larut dalam lemak sehingga

meningkatkan rentang membran sel, melindungi sel dan membran mitokondria dan jaringan okular terhadap kerusakan oksidatif, memiliki kapasitas ikatan dengan jaringan otot dan merupakan penyerap kuat dari sinar UVB dan bertindak sebagai tabir surya alami. Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Karppi *et al.* (2007) pada subjek pria sehat, menunjukkan bahwa konsumsi harian 4 mg Astaxanthin selama 3 bulan menurunkan kadar plasma lipid peroksidasi, termasuk 12 dan 15-hidroksi asam lemak. Hal tersebut menunjukkan bahwa Astaxanthin menghambat peroksidasi lipid. Astaxanthin menekan sintesis mediator inflamasi seperti TNF α , PG, leukotriens dan interleukin, oksida nitrat, enzim COX-1 dan COX-2 dan IL1 β . Oleh karena itu, dapat membantu dalam pencegahan dan pengobatan kondisi peradangan seperti *rheumatoid arthritis*, *tennis elbow*, *carpal tunnel syndrome* dan cedera stres berulang lainnya (Kim *et al.*, 2011; Bhattacharjee, 2014). Astaxanthin memiliki berbagai aktivitas biologis seperti efek antioksidan yang kuat baik secara *in vitro* dan *in vivo* (Kurashige *et al.*, 1990), efek protektif pada asma (Hwang *et al.*, 2017), efek terapeutik pada cedera iskemia-reperfusi (Li *et al.*, 2017), efek perlindungan terhadap kerusakan hati (Zhang *et al.*, 2017), efek penghambatan pada proliferasi sel kanker paru-paru A549 (Wu *et al.*, 2016), dan efek supresi pada *neuroinflammation* (Wen *et al.*, 2017). Penelitian menggunakan tikus model periodontitis yang diberi Astaxanthin oral dapat mengurangi jumlah osteoklas dan meningkatkan jumlah osteoblas di mandibula kanan (Yuce *et al.*, 2018). Astaxanthin merupakan salah satu pigmen xanthophyl karotenoid utama yang masing-masing memiliki aktivitas antioksidan radikal bebas vitamin E dan β -karoten yang kuat, masing-masing 500 kali lipat dan 38 kali lebih kuat (Sarada *et al.*, 2006). Astaxanthin sebagai antioksidan yang kuat, berperan penting dalam perlindungan terhadap inflamasi, *photooxidation* sinar ultraviolet, penuaan dan degenerasi makula terkait usia, kanker dan dalam peningkatan respons imun, fungsi hati, kesehatan jantung, dan sebagainya (Guerin, *et al.*, 2003).

4. Reactive Oxygen Species (ROS)

Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif dan tidak stabil yang diproduksi di dalam tubuh secara alami sebagai produk sampingan dari

metabolisme (oksidasi), atau karena paparan racun di lingkungan seperti asap tembakau dan sinar ultraviolet. Radikal bebas memiliki umur hanya sepersekian detik, tetapi selama waktu itu dapat merusak DNA dan juga dapat mengakibatkan mutasi yang dapat menyebabkan kanker. Antioksidan dapat menetralkan molekul yang tidak stabil dan mengurangi risiko kerusakan. Radikal bebas adalah atom yang mengandung elektron tidak berpasangan. Untuk menstabilkan diri, radikal bebas terus-menerus mencari elektron lain untuk diikat, sehingga proses tersebut dapat menyebabkan kerusakan pada DNA dan bagian lain dari sel. Kerusakan ini dapat berperan dalam perkembangan kanker dan penyakit lainnya dan mempercepat proses penuaan. Setelah radikal bebas dihasilkan, baik melalui paparan karsinogen atau melakukan proses normal metabolisme tubuh, maka akan menimbulkan kerusakan. Ketersediaan radikal bebas menciptakan apa yang dikenal sebagai stres oksidatif dalam tubuh. Ketika satu radikal bebas mengikat elektron dari suatu molekul, maka molekul tersebut akan kehilangan elektron dan menjadi radikal bebas, dan begitu seterusnya. Radikal bebas dapat merusak DNA (asam nukleat), protein, lipid, membran sel, dan banyak lagi di dalam tubuh. Kerusakan protein dan komponen tubuh lainnya dapat menyebabkan penyakit secara langsung (Patel *et al.*, 2017).

Radikal bebas sangat reaktif dan beragam, yang mampu mengekstrak elektron. Keadaan tersebut mengakibatkan radikal bebas mengoksidasi berbagai biomolekul yang penting untuk fungsi sel dan jaringan, yang tidak hanya mencakup oksigen radikal bebas, tapi juga senyawa nitrogen dan klorin. *Reactive oxygen species* mencakup senyawa reaktif lain yang bukan radikal sejati, namun mampu membentuk radikal di lingkungan intra dan ekstraselular. Keseimbangan yang terganggu antara radikal bebas dan antioksidan menimbulkan stres oksidatif. Kondisi tersebut disebabkan karena kurangnya antioksidan dan produksi radikal bebas yang berlebihan. Ketika ROS atau radikal bebas seperti O_2 dan H_2O_2 dilepaskan dari PMN selama fagositosis dapat menghilangkan patogen, dapat juga merusak *host*. Produksi ROS dengan segera menyebabkan kerusakan jaringan, penyakit dan kematian sel (Halliwell dan Whitmen, 2004).

a. Jenis –jenis Radikal bebas

Ada banyak jenis radikal bebas, namun yang paling banyak adalah radikal yang berasal dari oksigen dan dikenal sebagai ROS. Istilah ROS meliputi H_2O_2 , *hypochlorous acid* (HOCl), $\cdot\text{O}_2^-$, *singlet oxygen* ($^1\text{O}_2$) dan OH^\cdot , yang merupakan radikal bebas berbahaya dan akan menjadi sangat berbahaya dengan adanya dukungan dari faktor lingkungan sekitar. Bukti peran ROS dalam kerusakan jaringan periodontal dikaitkan dengan patogenesis berbagai penyakit inflamasi dan mempunyai peran secara langsung maupun tidak langsung dalam kerusakan jaringan yang telah menjadi penelitian utama selama dekade terakhir. Menurut Halliwell dan Gutteridge (2007) ada empat kriteria untuk menggambarkan hubungan kausal antara *host* dan penyakit yang disebabkan ROS, yaitu: (a) *Reactive Oxygen Species* harus ada di lokasi cedera jaringan; (b) Waktu pembentukan ROS harus terjadi sebelum atau bersamaan dengan cedera jaringan; (c) Kerusakan pada jaringan harus relevan dengan pemeriksaan konsentrasi ROS secara *in vivo*; (d) Penghambatan ROS untuk mengurangi kerusakan cedera jaringan menggunakan antioksidan harus relevan dengan pemeriksaan *in vivo*.

Kerusakan jaringan dapat diakibatkan karena produksi ROS yang terdiri dari superoksida anion, hidroksil radikal, nitro oksidan dan hidrogen peroksida oleh bakteri dan *host*. Karena adanya ROS, maka dapat terjadi inflamasi dan kerusakan jaringan. Namun *host* memiliki kemampuan untuk menghasilkan antioksidan di dalam jaringan, sehingga ROS dapat dihambat, dan inflamasi serta kerusakan jaringan yang terjadi dapat dihambat pula. Periodontitis maupun berbagai penyakit lain diduga disebabkan oleh kerusakan sel akibat ROS. Jika bakteri patogen masuk ke dalam *host*, maka akan terjadi reaksi *host* atau respon *host* untuk melawan bakteri tersebut, yaitu dengan keluarnya PMN yang merupakan sistem imun tubuh dari bakteri rongga mulut untuk menghancurkan bakteri. Di dalam jaringan periodontal, peningkatan jumlah PMN dan aktifitas oksidatif terjadi akibat diproduksinya O_2^- oleh PMN melalui melalui proses oksidatif. Antioksidan di dalam tubuh, yaitu SOD akan dipicu supaya kerusakan oksidatif dari produksi O_2^-

tersebut dapat dihindari dengan cara O_2^- dikonversikan dengan H_2O_2 . Peran SOD adalah sebagai katalis, maka O_2^- ditukarkan dengan H_2O_2 (Russo, 2009).

Enzim CAT bertugas menghilangkan H_2O_2 yang lebih banyak terdapat di dalam sel intraselular dibandingkan sel ekstraselular. *Catalase* ini mempunyai peran untuk menghancurkan H_2O_2 dan O_2^- . Mekanisme untuk mencegah OH^- yang akan merusak sel adalah dengan cara radikal bebas diikat oleh antioksidan dalam bentuk logam seperti lactoferrin, transferrin, haptoglobin dan albumin. Penghancuran OH^- juga dilakukan oleh vitamin C, *uric acid* dan *reduce glutathione* (GSH) yang banyak terdapat di dalam *gingival crevicular fluid* (GCF).

Reactive Oxygen Species adalah racun dalam sel pada tingkat tertentu, karena stres oksidatif yang diberikan oleh reaksi ROS dengan protein, lipid, dan asam nukleat. Respons seluler terhadap produksi ROS sangat penting untuk mencegah kerusakan oksidatif lebih lanjut, dan untuk mempertahankan kelangsungan hidup sel. Namun ketika terlalu banyak kerusakan sel yang telah terjadi, maka akan menguntungkan organisme multiseluler yang mengangkat sel untuk kepentingan sel-sel di sekitarnya. *Reactive Oxygen Species* dapat memicu kematian sel apoptosis dan nekrosis tergantung pada keparahan stres oksidatif (Saito *et al.*, 2006; Takeda *et al.*, 1999; Teramoto *et al.*, 1999).

b. Sistem Pertahanan Antioksidan dan Stres Oksidatif

Radikal bebas dan ROS yang diproduksi dalam jumlah yang wajar sangat berguna untuk fungsi biologis, seperti H_2O_2 yang berfungsi untuk menghancurkan beberapa jenis bakteri dan jamur, serta mengatur pertumbuhan sel, yang dihasilkan sel darah putih. Namun demikian radikal bebas tidak menyerang sasaran secara spesifik, sehingga juga akan menyerang asam lemak tidak jenuh ganda dari membran sel, organel sel, atau DNA, yang selanjutnya dapat menimbulkan kerusakan struktur dan fungsi sel (Winarsi *et al.*, 2012). Untuk mengatasi hal tersebut, tubuh mempunyai sistem pertahanan untuk melawan serangan radikal bebas atau oksidan sehingga kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas tersebut dapat dibatasi. Sistem pertahanan antioksidan berasal dari dalam tubuh dan juga dari makanan yang dikonsumsi. Antioksidan dalam tubuh yaitu berupa enzim

antara lain adalah enzim SOD yang terdapat di mitokondria dan sitosol, GPx, *Glutathione reductase*, dan CAT (Singh *et al.*, 2013). Antioksidan yang berasal dari luar atau dari makanan yang dikonsumsi berupa mikronutrien yaitu β -karoten, vitamin C dan vitamin E (Hariyatmi, 2004). Sistem pertahanan ini bekerja dengan beberapa cara antara lain berinteraksi langsung dengan radikal bebas, oksidan, atau oksigen tunggal, mencegah pembentukan senyawa oksigen reaktif, atau mengubah senyawa reaktif menjadi kurang reaktif (Winarsi *et al.*, 2012). Namun pada kondisi tertentu, radikal bebas atau ROS yang diproduksi dapat melebihi sistem pertahanan tubuh. Keadaan yang demikian dikenal dengan sebutan stres oksidatif (Agarwal *et al.*, 2006).

Stres oksidatif merupakan kondisi dimana keseimbangan antara radikal bebas atau ROS yang diproduksi dengan kemampuan antioksidan alami tubuh untuk mengeliminasi ROS tersebut tidak seimbang, sehingga akan mengakibatkan gangguan, selanjutnya akan menggoyahkan rantai reduksi-oksidasi normal, dan akan menimbulkan kerusakan oksidatif jaringan. Faktor-faktor yang mempengaruhi kerusakan jaringan ini antara lain: target molekuler, tingkat stres yang terjadi, mekanisme yang terlibat, serta waktu dan sifat alami dari sistem yang diserang (Winarsi *et al.*, 2012). Radikal bebas yang diproduksi terlalu berlebihan yang melebihi jumlah antioksidan, maka akan menyebabkan stres oksidatif. Jumlah radikal bebas yang melebihi keseimbangan normal tersebut, selanjutnya akan bereaksi dengan lemak, protein, asam nukleat seluler, sehingga terjadi kerusakan lokal dan disfungsi organ tertentu. Jadi, stres oksidatif merupakan gangguan keseimbangan antara produksi oksidan dan pertahanan antioksidan atau destruksi oleh ROS seperti O_2^- , OH^\cdot , H_2O_2 , radikal nitrit oksida (NO^\cdot) dan peroksinitrit ($ONOO^-$). Salah satu efek lanjutan dari stres oksidatif adalah memicu terjadinya kanker. Saat ini konsep stres oksidatif juga harus mencakup perubahan stres *nitrosative* menjadi stres metabolik yang berperan dalam peristiwa seluler dan ekstraseluler.

Pada keadaan fisiologis *Reactive Oxygen Intermediate* (ROI) dan *Reactive Nitrogen Intermediate* (RNI) secara konstan diproduksi. *Reactive Oxygen Intermediate* dan RNI dapat bereaksi dengan protein, karbohidrat dan lemak yang

mengakibatkan perubahan homeostasis intraseluler dan interseluler yang akan memicu kematian sel dan regenerasi. Sistem pertahanan antioksidan mungkin saja mengalami ketidakmampuan oleh berbagai faktor patologi atau lingkungan, sehingga sebagian kecil ROS dapat bertahan dan membentuk radikal hidroksil yang lebih reaktif. Peningkatan ROS menimbulkan kerusakan pada DNA dan biomolekul lainnya, sehingga dapat merusak fungsi normal sel dan menyebabkan penuaan serta berbagai penyakit (Raman dan Mohamad, 2012).

c. Mekanisme Kerja Radikal Bebas

Gangguan metabolik dapat disebabkan oleh ketidakseimbangan antara radikal bebas yang dihasilkan di dalam sel dan mekanisme pertahanan normal. Perubahan kimia serta kerusakan pada protein, lemak, karbohidrat, dan nukleotida dapat terjadi akibat produksi radikal bebas yang berlebihan. Perubahan struktur DNA akan terjadi apabila pembentukan radikal bebas dekat dengan DNA sehingga menimbulkan mutasi atau sitotoksitas. Perubahan pada komponen biologi sel terjadi apabila radikal bebas bereaksi dengan nukleotida. Perubahan aktivitas enzim terjadi apabila radikal bebas merusak grup thiol. Rusaknya membran sel merupakan tanda kerusakan sel yang diakibatkan oleh radikal bebas.

d. Sifat Radikal Bebas

Radikal bebas mempunyai sifat reaktivitas yang tinggi, karena mempunyai kecenderungan menarik elektron dan dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal. Sifat radikal bebas adalah menerima elektron, karena bersifat menarik elektron dan sifat tersebut hampir sama dengan oksidan. Tetapi tidak semua oksidan adalah radikal bebas. Reaksi rantai (*chain reaction*) terbentuk karena kedua sifat radikal bebas di atas yang apabila menjumpai molekul lain akan membentuk radikal baru lagi. Radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling berbahaya karena memiliki reaktivitas yang sangat tinggi. Awal dari kerusakan sel terjadi apabila radikal bebas bertemu dengan enzim atau asam lemak tak jenuh yang disertai dengan penurunan mekanisme pertahanan tubuh. Kerusakan tersebut dapat berupa

kerusakan DNA pada inti sel, kerusakan membran sel, kerusakan protein, kerusakan lipid peroksida, dan proses penuaan (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

Reactive Oxygen Species pada kadar rendah sampai sedang, memegang peranan penting untuk regulasi fungsi fisiologis normal, seperti dalam perkembangan dan proliferasi siklus sel, diferensiasi, migrasi dan kematian sel. *Reactive Oxygen Species* juga mempunyai peran penting dalam sistem imunitas tubuh dan dalam menjaga keseimbangan redoks (Zhang, *et al.*, 2017). *Reactive Oxygen Species* dapat menjadi kekuatan dalam terjadinya piroptosis, apoptosis, dan nekroptosis (Harijith *et al.*, 2014; Abais *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2016). Stres oksidatif yang dihasilkan dari interaksi antara mikroba dan *host* akan memicu kerusakan jaringan periodontal. Stres oksidatif tersebut dapat sebagai akibat langsung dari kelebihan aktivitas ROS atau defisiensi antioksidan maupun secara tidak langsung sebagai akibat dari aktivasi faktor transkripsi sehingga memicu keadaan pro-inflamasi. Beberapa penelitian menunjukkan terdapat hubungan yang signifikan antara status oksidan dan status periodontal. Disebutkan bahwa stress oksidatif berperan penting kejadian penyakit periodontitis. Tetapi masih belum diketahui dengan pasti apakah keadaan tersebut merupakan penyebab atau akibat dari periodontitis. Pada penelitian Dahiya *et al.* (2013) menyimpulkan bahwa: (1) Merokok, infeksi, sinar UV, dan suhu tinggi, berperan penting dalam menghasilkan radikal bebas, jadi orang harus menghindari paparan agen ini; (2) Konsumsi nutrisi dengan kemampuan anti-oksidan seperti Vitamin-C dan E, β -karoten, selenium, dan mangan harus didorong, karena membantu masuknya oksidatif ke jaringan periodontal; (3) Penggunaan tambahan anti-oksidan dengan terapi tradisional harus dipertimbangkan untuk meningkatkan hasil perawatan dari berbagai terapi periodontal bedah dan non-bedah.

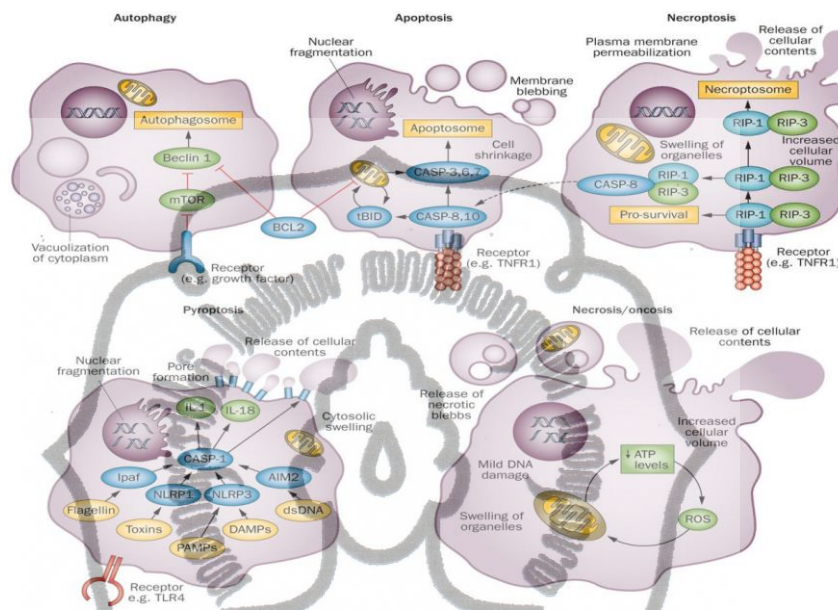
5. Kematian Sel

Kematian sel adalah peristiwa sel biologis berhenti untuk menjalankan fungsinya. Keadaan tersebut merupakan hasil dari proses alami sel tua yang sekarat dan digantikan oleh yang baru, atau mungkin hasil dari faktor lain seperti penyakit, cedera yang terlokalisasi, atau kematian organisme di mana sel-

sel itu menjadi bagiannya. Apoptosis atau kematian sel tipe I, dan kematian sel tipe II (*autophagy*) atau keduanya adalah bentuk dari kematian sel yang terprogram, sedangkan nekrosis adalah proses non-fisiologis yang terjadi sebagai akibat dari infeksi atau cedera (Kierszenbaum dan Abraham, 2012). Sebagai respons terhadap infeksi bakteri, kematian sel terprogram, seperti apoptosis diinduksi sebagai respons imun bawaan. Kematian sel ini memainkan dua peran defensif dalam infeksi. Salah satunya adalah menghilangkan patogen di awal tahap infeksi tanpa memancarkan sinyal alarm dan yang kedua adalah untuk menginduksi sel dendritik untuk menelan tubuh apoptosis yang mengandung mikroba yang terinfeksi, yang memungkinkan antigen ekstraseluler untuk mengakses molekul *Major Histocompatibility Complex I* (MHC I) dan selanjutnya menginduksi respons imun protektif (Elliott dan Ravichandran, 2010). Kematian sel juga dapat menguntungkan bakteri patogen karena salah satu strategi utama dari banyak bakteri patogen yang menyebabkan kematian sel *host* yang terinfeksi, akan memungkinkan bakteri untuk secara efisien keluar dari sel *host*, menyebar ke sel tetangga, menghindari sel imun, dan atau mendapatkan nutrisi. Sementara itu banyak bakteri patogen, terutama yang mampu menyerang dan berkembang biak di dalam sel *host*, menggunakan beberapa mekanisme untuk memanipulasi kematian sel *host* dan jalur bertahan hidup untuk mempertahankan replikasinya (Kim *et al.*, 2010; Lamkanfi dan Dixit, 2010).

Kematian sel terprogram adalah kematian sel aktif yang dimediasi oleh setiap proses yang terjadi dalam sejumlah tahapan kejadian ekspresi gen dan terutama dapat diklasifikasikan menjadi apoptosis, *autophagy*, nekroptosis, dan piroptosis. Meskipun kematian sel terprogram terlibat dalam banyak penyakit inflamasi, korelasinya dengan periodontitis tidak jelas. Pada beberapa artikel disebutkan bahwa apoptosis dilaporkan berperan dalam periodontitis. Namun, peran *autophagy* dalam periodontitis perlu verifikasi lebih lanjut. Selain itu, implikasi nekroptosis atau piroptosis pada periodontitis masih belum diketahui. Oleh karena itu, direkomendasikan penelitian di masa depan yang akan mengungkap peran penting *programmed cell death* dalam periodontitis, yang memungkinkan untuk mencegah,

mendiagnosis, dan mengobati penyakit, serta memprediksi hasilnya (Song, *et al.*, 2017).



Gambar 2.1 Jenis-jenis kematian sel (Wree *et al.*, 2013)

Keterangan:

Jenis kematian sel terprogram, seperti *autophagy*, apoptosis, nekroptosis, dan piroptosis, memiliki jalur *signaling* khusus dan pencetus yang spesifik. Hasil akhir dari proses tersebut dapat berupa *lytic* (nekroptosis, piroptosis dan nekrosis), diikuti dengan *cellular swelling* dan pelepasan *proinflammatory cellular contents*, atau *nonlytic* (*autophagy* dan apoptosis), yang berkaitan dengan kerusakan komponen seluler dan membran plasma tetap intak. Namun terkadang terjadi overlap antara masing-masing jenis dari kematian sel. Pembentukan *autophagosome* tergantung oleh pembentukan kompleks bersama Beclin 1, dan diregulasi oleh *mammalian target of rapamycin* (mTOR) dan protein anti-apoptosis *B-cell lymphoma 2* (BCL2). *B-cell lymphoma 2* menghubungkan regulasi dari *autophagy* dan apoptosis, yang dapat diinisiasi melalui *intrinsic* atau *extrinsic pathway*. *Extrinsic pathway* terjadi akibat aktivasi reseptor kematian sel yang memicu pembentukan *death complex*, aktivasi inisiasi caspase diikuti *effector caspase* dan protein proapoptotic *BH3 interacting-domain death agonist* (BID). Protein proapoptotic BID meningkatkan sinyal *apoptotic* terutama dalam bentuk apoptosom (Wree, 2013).

Tabel 2.1 Perbedaan antara nekrosis, piroptosis dan apoptosis berdasarkan morfologi, mekanisme dan outcome (Duprez *et al.*, 2009; Susan *et al.*, 2005)

	Karakteristik	Apoptosis	Piroptosis	Nekrosis
Morfologi	Lisis sel	-	v	v
	Pembengkakan sel	-	v	v
	Pembentukan pori	-	v	v
	Blebbing membran	v	-	-
	Fragmentasi DNA	v	v	v
Mekanisme	Caspase-1	-	v	-
	Caspase-3	v	-	-
	Rilis sitokom-c	v	-	-
Outcome	Peradangan	- (anti)	v	v
	Kematian sel terprogram	v	v	-

Keterangan : - : tidak ada
v : ada

6. *Inflammasome*

Inflamasi atau peradangan adalah respons tubuh yang merupakan bagian dari sistem imun bawaan non spesifik (*innate immunity*) sebagai perlawanan terhadap stimulus berbahaya seperti infeksi patogen, goresan luka, iritasi oleh bahan kimia, atau temperatur yang ekstrim. Inflamasi distimulasi oleh faktor kimia yang dilepaskan oleh sel yang terluka untuk menghalangi penyebaran infeksi dan memulai penyembuhan dari setiap jaringan yang rusak. Inflamasi diregulasi secara ketat oleh tubuh karena proses inflamasi yang tidak mencukupi dapat menyebabkan kerusakan atau infeksi persisten, sementara inflamasi yang berlebihan dapat menyebabkan penyakit inflamatorik kronik atau sistemik. *Inflammasome* adalah kompleks protein multimerik bagian dari sistem imun *innate* yang meregulasi aktivasi dari *Caspase-1* dan menginduksi inflamasi sebagai respons dari infeksi patogen atau iritan yang dapat merusak sel. *Inflammasome* adalah kelompok protein kompleks multimerik yang terdiri dari molekul sensor yaitu protein adaptor apoptosis-associated speck like-like protein containing a caspase activation and recruiting domain (ASC), Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-Like Receptor (NLR) dan pro-caspase-1. *Inflammasome* berfungsi mematangkan protein

yang berperan dalam inflamasi. *Inflammasome* merupakan sinyal yang mendeteksi mikroorganisme patogen dan mengaktifkan sitokin pro-inflamasi yaitu IL-1 β dan IL-18. Pembentukan *inflammasome* dipicu oleh berbagai zat yang muncul selama infeksi, kerusakan jaringan atau ketidakseimbangan metabolik. Setelah kompleks protein terbentuk, maka *inflammasome* mengaktifkan *Caspase-1* yang bersifat proteolitik dan mengaktifkan sitokin pro-inflamasi, seperti IL-1 β dan IL-18. Beberapa famili *pattern recognition receptors* (PRRs) yang berada di sitoplasma adalah komponen penting pada kompleks *inflammasome* termasuk NLRs. Setelah stimulasi, maka NLR akan membentuk suatu struktur yang disebut sebagai *inflammasome* dengan bantuan ASC, yang kemudian menyusun suatu kompleksmultimolekuler melalui proses oligomerasi yang disebut sebagai *Inflammasome*. Aktivasi *inflammasome* diketahui menjadi salah satu bagian penting dari proses inflamasi dimana *inflammasome* meregulasi aktivasi dari *caspase-1*. *Caspase-1* berfungsi untuk memecah sitokin IL-1 menjadi bentuk aktif yaitu IL-1 β dan IL-18 dan menyebabkan piroptosis. *Interleukin-1 β* berkontribusi terhadap terjadinya demam dan mengaktifasi limfosit dengan menyebabkan infiltrasi leukosit di daerah infeksi atau perlukaan, sedangkan IL-18 menginduksi produksi *Interferon- γ* (IFN- γ) dan berkontribusi terhadap polarisasi sel *T-helper 1* (Th1) (Hornung *et al.*, 2008).

Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-Like Reseptor berdasarkan letaknya yang berada di sitoplasma sel, bertugas untuk mengenali materi *Patogen Associated Molecular Pattern* (PAMPs) atau *Danger Associated Molecular Pattern* (DAMPs) yang masuk ke dalam sel. *Pathogen Associated Molecular Pattern* akan dikenali oleh TLR yang ada pada makrofag, monosit dan Sel Dendrit. *Patogen Associated Molecular Pattern* berperan pada rekognisi imunitas alami. Contoh PAMPs adalah : 1) Karbohidrat bakteri: Lipopolisakarida, Mannose; 2) *Nucleic Acid* : DNA/RNA bakteri/virus; 3) Peptida Bakteri: Flagellin, A α 21; 4) Peptidoglycans, Lipotechoid Acid: Bakteri Gram(+); 5) N-Formylmethionine; 6) Lipoprotein.

Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-Like Reseptor dibagi menjadi dua golongan besar berdasarkan susunan N-terminalnya yaitu: *Nucleotide-Binding*

Oligomerization Domain-Like Reseptor - and pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3) dan *Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-Like Reseptor family domain caspase activation and recruitment domain* (NLRC). *Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-Like Reseptor* merupakan kelompok NLRs yang mempunyai domain *pyrin N-terminal* (PYD) dan NLRC yang mengandung domain *caspase activation and recruitment domain* (CARD). Dari kedua golongan besar tersebut, telah diidentifikasi beberapa NLRs antara lain NLRP-1, NLRP-3, NLRP-6, NLRP-12 dan NLRC-4. Masing-masing NLRs tersebut berbeda dalam hal jenis komponen DAMPs dan PAMPs yang dapat diidentifikasi dan jenis protein adaptornya. Akan tetapi semua NLRs dalam kompleks *inflammasome* pada dasarnya akan mengaktifkan protein pro-*Caspase 1* yang bertugas merubah bentuk inaktif pro IL-1 β dan pro IL-18 menjadi bentuk aktif IL-1 β dan IL-18. Sebagai respons dari patogen atau iritan yang merusak sel, maka PRRs sistosolik seperti NLRP1, NLRP3, NLRP5 (tidak ditampilkan), *NOD*-, *LRR-and* (CARD)-containing 4 (NLRC4) dan *absent in melanoma 2* (AIM2) teraktivasi untuk membentuk *inflammasome* yang memediasi signal 1: *priming stimulus*, melalui jalur NF- κ B, yang akan meregulasi ekspresi pro IL-1 β dan PRRs sistosolik. Selanjutnya signal 2: melalui sensitasi ligan atau aktivasi enzim di sitosol, maka PRRs sistosolik mengalami oligomerisasi untuk membentuk kompleks *inflammasome*. Melalui aktivitas protease, maka *Caspase 1* meregulasi pematangan dan pelepasan IL-1 β and IL-18 serta memicu terjadinya piroptosis. *Inflammasome* diketahui juga berkaitan terhadap terjadinya inflamasi pada periodontitis. Aktivasi IL-1 β dan IL-18 pada periodontitis diketahui diregulasi oleh kompleks NLRP3-*inflammasome* (Bostanci dan Belibasakis, 2012).

Pathogen Associated Molecular Pattern akan diikat oleh TLR, kemudian akan memicu signal transduksi sel imun untuk menghasilkan produk gen untuk membunuh patogen tersebut. Setiap patogen mempunyai molekul tertentu (hanya ada pada patogen dan tidak dimiliki oleh sel *host*) yang berbeda dengan *host*, sehingga dapat dikenali oleh sistem imun melalui PRR. *Inflammasome* dapat secara langsung mengenali patogen atau teraktivasi akibat dari perubahan intraseluler yang diakibatkan oleh patogen atau PRR lain. *Inflammasome* yang mengaktivasi

caspase-1 juga turut berperan dalam kematian sel. Proses kematian sel yang diinduksi oleh *inflammasome* disebut piroptosis (Lamkanfi *et al.*, 2010). Berbeda dengan apoptosis yang tidak mengeluarkan sitokin inflamasi, maka piroptosis adalah proses kematian sel yang diaktivasi juga oleh *caspase-1* yang prosesnya tergantung atau melibatkan sitokin pro-inflamasi. Pada piroptosis ketika sel lisis, maka terlepas pula sitokin pro-inflamasi dari dalam sel seperti IL-1 β , IL-18, IL-6, TNF- α , dan *high mobility group box 1* (HMGB-1). Sitokin-sitokin tersebut kemudian berperan menjadi DAMP yang akan mengaktivasi sel-sel lain. Beberapa bukti menunjukkan bahwa ROS hanya memberikan sinyal awal untuk *inflammasome* NLRP3 dan tidak kritis untuk aktivasinya (Bauernfeind *et al.*, 2011; Won *et al.*, 2015). Namun mekanisme terperinci peran ROS yang memediasi aktivasi *inflammasome* dan piroptosis pada sumbu NLRP3-Caspase-1-Gasdermin (GSDM D) belum sepenuhnya diketahui.

7. Piroptosis

Piroptosis adalah kematian sel terprogram yang paling sering terjadi pada infeksi dengan patogen intraseluler seperti pada bentuk respons antimikroba dan menimbulkan inflamasi (Fink dan Cookson, 2005). Dalam proses ini, sel imun mengenali sinyal bahaya asing dan melepaskan sitokin proinflamasi dari dalam sel itu sendiri, sehingga membengkak dan meledak akhirnya mati. Sitokin yang dikeluarkan akan menarik sel imun lainnya untuk melawan infeksi dan berkontribusi pada peradangan di jaringan (Baroja-Mazo *et al.*, 2014). Piroptosis mempromosikan pembersihan yang cepat dari berbagai infeksi bakteri dan virus dengan menghapus relung replikasi intraseluler dan meningkatkan respons defensif *host*. Namun pada penyakit kronis patogen, respons inflamasi tidak membasmi stimulus primer, seperti biasanya akan terjadi pada sebagian besar kasus infeksi atau cedera, dan dengan demikian pada peradangan kronis pada akhirnya akan memberikan kontribusi untuk kerusakan jaringan. Berbeda dengan apoptosis, piroptosis membutuhkan fungsi enzim *Caspase-1* (Fink dan Cookson, 2006). *Caspase-1* diaktifkan selama piroptosis oleh kompleks supramolekular besar disebut *inflammasome* (Fernandez-Alnemri *et al.*, 2007).

a. Morfologi piroptosis

Piroptosis berasal dari kata “*pyro*” bermakna api karena berkaitan dengan proses inflamasi, serta kata “*ptosis*” yang berarti jatuh atau mati yang berhubungan dengan kematian sel. Proses piroptosis ditandai dengan hilangnya integritas membran plasma dan keluarnya isi dari sitoplasma ke ekstraseluler. Membran plasma nampak ruptur, kemudian *reseal* dan membengkak, lalu membentuk vesikel *balloon-shaped* mengelilingi nukleus. Selama piroptosis ukuran sel akan membesar. Seiring dengan membran membengkak, nukleus akan membulat dan mengalami kondensasi. Sel piroptotik mengalami fragmentasi DNA seperti sel apoptotik. Piroptosis memiliki beberapa karakteristik yaitu: (a) Prosesnya dipengaruhi oleh *inflammatory caspase*; (b) *Inflammatory caspase* menyebabkan munculnya lubang pada membran plasma dan menjadi permeabel terhadap berat molekul kecil, *membrane-impermeable dyes*. Berbeda dengan apoptosis yang tetap intak dan berubah menjadi fragmen *apoptotic bodies*; (c) Sel *pyroptotic* menunjukkan kerusakan DNA dan memberikan hasil positif pada *TUNEL assay* (Jorgensen dan Miao, 2015).

b. Mekanisme piroptosis

Piroptosis sangat dipengaruhi oleh *Caspase-1*. Penelitian pertama tentang *Caspase-1-dependent cell death* berasal dari makrofag tikus yang terinfeksi oleh *Shigella*. *Shigella* menyebabkan kematian sel yang pada awalnya dideskripsikan sebagai apoptosis karena karakteristiknya berupa DNA fragmentasi, kondensasi nuklear, dan *caspase dependence*. Penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa mekanisme kematian sel tersebut independen terhadap *caspase-3*, tetapi berpengaruh terhadap aktivitas dari *Caspase-1*. Penemuan pada makrofag terinfeksi *Shigella* semakin dikuatkan dengan penelitian *Caspase-1-dependent cell death* yang terinduksi oleh *Salmonella typhimurium*. Pada penelitian selanjutnya didapatkan *Caspase-3*, 6 dan 7 inaktif pada sel tersebut. Hasil tersebut menunjukkan adanya *caspase-1-mediated cell death pathway* yang berbeda dengan apoptosis (Jorgensen dan Miao, 2015).

Mekanisme piroptosis yang selama ini diketahui yaitu melalui aktivasi *Caspase-1* oleh *inflammasome*, yang tersusun atas *multi-protein signaling complexe* setelah mendeteksi adanya infeksi mikrobial. Pada beberapa penelitian ditemukan bahwa proses piroptosis tidak hanya diperantarai oleh *Caspase-1*, didapatkan pula proses piroptosis yang diperantarai *Caspase-11*. Seperti *Caspase-1* penelitian mengenai fungsi *Caspase-11* juga berfokus pada makrofag. Piroptosis yang diinduksi oleh *Caspase-11* dikaitkan dengan proses pembersihan patogen bakteri sitosolik secara *in vivo*. Ketika makrofag diinduksi dengan LPS atau IFN- γ , maka secara cepat akan terjadi *Caspase-11 dependent piroptosis* pada infeksi oleh *flagellin deficient mutant of L. pneumophila*. *Caspase-11* berperan sebagai reseptor LPS *cytosolic* dan bekerja sama dengan NLRP3, ASC, dan *caspase-1* untuk menginduksi sekresi IL-1 β dan membentuk pori pada membran sel. *Caspase-11* yang juga homolog dengan *Caspase-4* dan *Caspase-5* ini biasa disebut dengan *inflammasome non canonical* sementara *Caspase-1* disebut sebagai *inflammasome canonical* (Jorgensen dan Miao, 2015).

Ada dua jenis reseptor yang berbeda dari PRRS dalam piroptosis yang dapat untuk merasakan sinyal 'bahaya' intraseluler dan ekstraseluler. Reseptor ini adalah NLRs dan TLR (Karina dan Medzhitov, 2010). Sinyal 'bahaya' ini dapat dilepaskan oleh patogen invasif, atau luka, yang semuanya dapat dikenali oleh reseptor *host* (Matzinger, 2002). Keadaan tersebut akan menimbulkan mekanisme yang akan menginduksi baik produksi sel sitokin maupun sel mati terprogram. Sitokin yang umum ditemukan yaitu TNF, IL-6, IL-8, tipe 1 IFN dan faktor regulasi *Interferon* (IRF) (Sarkar *et al.*, 2006). Rute aktivasi *Caspase-1* adalah bervariasi, maka dalam hal kematian sel sinyal jalur hilir akan berkumpul dan mengakibatkan kematian sel piroptotik. Sel lisis terjadi pada pembentukan pori-pori, dari diameter diperkirakan 1,1 nm sampai 2,4 nm dalam membran sel, yang mengganggu gradien ionik selular. Hasil peningkatan tekanan osmotik menyebabkan masuknya air diikuti dengan pembengkakan sel dan meledak. Pada saat yang sama, isi sitosolik melepaskan melalui saluran pori-pori (Susan *et al.*, 2006). Proses ini seperti tusukan di balon air, yang selanjutnya sitokin pro-inflamasi aktif dipecah oleh *Caspase-1* dan menjadi aktif (Ayala *et al.*, 1994).

Nekroptosis dan piroptosis adalah dua bentuk kematian sel terprogram dengan fitur umum dari ruptur membran plasma. Morfologi dan mekanisme piroptosis berbeda dengan nekroptosis yaitu jika piroptosis mengalami *blebbing membran* (membran yang melepuh) dan menghasilkan apoptosis tubuh seperti tonjolan sel (disebut tubuh piroptotik) sebelum pecahnya membran plasma. Pada nekroptosis pecahnya membran plasma adalah seperti ledakan, sedangkan pada piroptosis mengarah ke sel yang rata. Kejadian nekroptosis dimediasi oleh *Mixed lineage kinase domain-like protein* (MLKL) oligomer dalam membran plasma, sedangkan pada piroptosis dimediasi oleh Gasdermin D (GSDMD) setelah pembelahan oleh *Caspase-1* atau *Caspase-11*. Fragmen N-terminal GSDMD (GSDMD-N) yang dihasilkan pada pembelahan oleh *caspase* juga membentuk oligomer dan bermigrasi ke membran plasma untuk membunuh sel-sel. *Mixed lineage kinase domain-like protein* dan GSDMD-N yang lipofilik dan urutan N-terminal dari kedua protein yang penting bagi oligomerisasi dan plasma translokasi membran mereka. Berbeda dengan MLKL yang membentuk saluran pada membran plasma dan menginduksi masuknya ion pilihan yang osmotik, kemudian membengkak dan sel meledak, maka GSDMD-N membentuk pori-pori non-selektif dan tidak bergantung pada peningkatan osmolaritas untuk mengganggu sel. Aktivitas bentuk pori GSDMD dan aktivitas bentuk saluran MLKL menentukan cara yang berbeda pada pecahnya membran plasma pada piroptosis dan nekroptosis (Thornberry *et al.*, 1996)

Caspases inflamasi membelah protein GSDMD untuk memicu piroptosis, yang merupakan bentuk kematian sel yang penting bagi pertahanan kekebalan tubuh dan penyakit. Mekanisme fungsional aksi protein gasdermin tidak diketahui. Gasdermin-N domain dari protein gasdermin GSDMD, GSDMA3 dan GSDMA dapat mengikat lipid membran, phosphoinositide dan cardiolipin. Gasdermin-N bergerak ke membran plasma selama piroptosis. Gasdermin-N yang dimurnikan efisien menghambat phosphoinositide/liposom cardiolipin dan membentuk pori-pori pada membran yang terbuat dari campuran fosfolipid buatan atau alami. Kebanyakan pori-pori gasdermin memiliki diameter dalam 10-14 nm dan berisi 16 protomers simetris. Struktur kristal GSDMA3 menunjukkan arsitektur dua domain

autoinhibited yang kekal dalam keluarga gasdermin. Piroptosis didorong oleh pori non selektif gasdermin-D dan morfologi tersebut berbeda dengan saluran MLKL pada nekroptosis (Mariathasan *et al.*, 2004). Meskipun terdapat penelitian intensif tentang *inflammasome*, namun mekanisme produksi IL-1 β / IL-18 dan piroptosis setelah aktivasi *Caspase-1* atau *Caspase-11* tidak diketahui. Gasdermin D sebagai komponen baru *inflammasome* yang diperlukan untuk piroptosis dan sekresi IL-1 β , tetapi tidak memainkan peranan dalam pengolahan IL-1 β . Gasdermin D direkrut untuk pembentukan NLRP3 *inflammasome* dengan kinetika mirip dengan *caspase-1* setelah adanya stimulasi LPS. Gasdermin D dibelah oleh pro-*caspase-1* dan kemungkinan besar juga oleh *Caspase-1* di *inflammasomes*, dan pembelahan proteolitik GSDMD dirilis N-terminal fragmen untuk memediasi piroptosis dan sekresi IL-1 β (Cerretti *et al.*, 1992). *Caspase-1 / Interleukin-1 converting enzyme* (ICE) adalah enzim evolusioner proteolitik yang memotong protein lain, seperti prekursor dari sitokin inflamasi IL-1 β dan IL-18 menjadi peptida dewasa yang aktif serta menginduksi GSDMD pada piroptosis (Thornberry *et al.*, 1996; Cerretti *et al.*, 1992; Mariathasan *et al.*, 2004).

c. Peran Gasdermin D

Golongan gasdermin merupakan suatu kelompok gen golongan gasdermin (GSDMA, GSDMB, GSDMC dan GSDMD pada manusia) dan *Gasdermin-related genes* (DFNA5 and DFNB59 pada manusia). Gasdermin A menunjukkan ekspresi pada lapisan differensiasi dari epitel *esophageal* dan pada regio pit dari epitel gaster, ini menunjukkan bahwa GDSMA memiliki kemampuan khusus pada sel epitelial matur. Gasdermin B sering terekspresi pada *esophagus*, yang merupakan keberadaan *stem cell*, dan di *isthmus/neck region* gaster, dimana terdapat aktivitas amplifikasi prekursor sel pit superfisial. Gasdermin D terekspresi di *differentiating cells* dan GSDMC biasanya terekspresi pada dan *differentiated cells* pada *esophagus*. Suatu pola khusus GSDMC dan GSDMD ditemukan pada usus halus dan usus besar tikus (Saeki dan Sasaki, 2012).

Beberapa penelitian terakhir mengidentifikasi GSDMD, yaitu anggota dari kelompok protein gasdermin, sebagai suatu mediator yang esensial pada manusia

dan sel tikus. Gasdermin D diperlukan untuk menginduksi piroptosis setelah aktivasi *inflammasome canonical* maupun *non canonical* dan diproses oleh *caspase-1*, *caspase-11*, *caspase-4*, dan *caspase-5*, tetapi tidak diproses oleh *caspase apoptotic*. Ekspresi dari *N-terminal fragment GSDMD* akan menginduksi kematian sel yang secara morfologis sesuai dengan karakteristik piroptosis. Sementara overekspresi dari C-terminal domain GSDMD dapat menghambat GSDMD *Nterm -dependent cell death*. Sborgi *et al.* (2016) melakukan penelitian tentang peran GSDMD dalam proses piroptosis. Penelitian dilakukan dengan memberikan terapi doxycycline yang menyebabkan munculnya ekspresi *N-terminal fragment GSDMD* menciit pada sel *Human embryonic kidney 293 cells* (HEK293T). Kemudian dilakukan pengukuran kadar *lactate dehydrogenase* (LDH) yang mengindikasikan ekspresi *N-terminal fragment GSDMD induced death* melalui lisis sel. Peningkatan *N-terminal fragment GSDMD* menyebabkan meningkatnya LDH. Secara mikroskopis GSDMD *Nterm -induced death* memiliki gambaran layaknya piroptosis, yaitu sel bengkak dan kondensasi nukleus. Untuk mengukur ukuran *N-terminal fragment GSDMD induced plasma membrane pore*, dilakukan *osmoprotection assay* melalui penambahan *polyethylene glycols* (PEGs) untuk menambah berat molekul. Penambahan berat molekul akan mencegah *influx* cairan melalui lubang (*pore*) dan menyebabkan sel bengkak. Selain itu dilakukan pengecatan dengan propidium iodide untuk melihat formasi lubang membran plasma. Hasilnya didapatkan *N-terminal fragment GSDMD* menarget membran setelah terjadi *Caspase-1-mediated cleavage*.

Pada penelitian secara *in vitro*, *N-terminal fragment of caspase-1-cleaved recombinant GSDMD* berikatan kuat dengan liposomes artifisial dan membentuk lubang membran permeabilitas. Dalam penelitian Zhuang *et al.* (2019) ditemukan bahwa gasdermin diaktifkan oleh peregangan siklik, dan pengaktifannya mempengaruhi laju piroptotik pada HPDLC, yang mengarah pada pematangan dan sekresi IL-1 β dan IL-18. Selain itu ditemukan bahwa gasdermin diatur oleh *Caspase-1* secara langsung. Namun demikian, hubungan yang tepat antara *inflammasome* dan gasdermin dalam respons inflamasi masih perlu dijelaskan lebih lanjut (Zhuang *et al.*, 2019).

8. Apoptosis

Apoptosis (dari bahasa Yunani *apo* artinya "dari" dan *ptosis* artinya "jatuh") adalah mekanisme biologi yang merupakan salah satu jenis kematian sel terprogram. Apoptosis digunakan oleh organisme multisel untuk membuang sel yang sudah tidak diperlukan oleh tubuh (Elmore, 2007). Apoptosis berbeda dengan nekrosis dan piroptosis. Apoptosis pada umumnya berlangsung seumur hidup dan bersifat menguntungkan bagi tubuh, sedangkan nekrosis adalah kematian sel yang disebabkan oleh kerusakan sel secara akut. Fungsi utama dari apoptosis adalah menyingkirkan sel yang tidak berguna atau berbahaya bagi organisme multiseluler termasuk pada karsinoma sel skuamosa. Resistensi terhadap apoptosis merupakan ciri dari sel-sel ganas, untuk bertahan hidup, meskipun adanya sinyal induksi untuk apoptosis (Bruce *et al.*, 2008). Jika sel kehilangan kemampuan untuk melakukan apoptosis, maka sel akan membelah secara tak terbatas, dan akhirnya menyebabkan terjadinya kanker. Apoptosis merupakan suatu program kematian sel intrinsik yang menjamin perkembangan yang tepat dengan mempertahankan homeostasis jaringan dan menjaga organisme dengan menyingkirkan kerusakan atau sel yang terinfeksi yang dapat mengganggu fungsi normal. Mekanisme apoptosis: a) Adanya signal kematian (penginduksi apoptosis); b) Tahap integrasi atau pengaturan (transduksi signal, induksi gen apoptosis yang berhubungan, dll); c) Tahap pelaksanaan apoptosis (degradasi DNA, pembongkaran sel, dll); d) Fagositosis. Ciri-ciri apoptosis: a) Sel menjadi bulat (sirkuler), hal tersebut terjadi karena struktur protein yang menyusun sitoskeleton dicerna oleh enzim peptidase spesifik yang disebut caspase yang telah diaktifkan di dalam sel; b) Kromatin (DNA dan protein-protein yang terbungkus di dalam inti sel) mulai mengalami degradasi dan kondensasi; c) Kromatin mengalami kondensasi lebih lanjut, menjadi semakin memadat. Pada tahap ini, membran yang mengelilingi inti sel masih tampak utuh, walaupun caspase tertentu telah melakukan degradasi protein pori inti sel dan mulai mendegradasi lamin yang terletak dalam lingkungan inti sel; d) Lingkungan dalam inti sel tampak terputus dan DNA di dalamnya terfragmentasi (proses ini dikenal dengan karyorrhexis). Inti sel pecah melepaskan berbagai bentuk kromatin atau unit nukleosom karena disebabkan degradasi DNA; e) Plasma membran mengalami

blebbing; f) Sel tersebut kemudian difagosit atau pecah menjadi gelembung-gelembung yang disebut *apoptotic bodies* dan kemudian difagosit.

Proses apoptosis ditandai oleh karakteristik morfologi yang berbeda dan mekanisme biokimia yang bergantung pada energi. Proses apoptosis merupakan komponen penting dari berbagai proses termasuk pergantian sel normal, atrofi yang tergantung oleh hormon, pengembangan dan fungsi sistem kekebalan tubuh yang tepat, kematian sel yang diinduksi secara kimia dan perkembangan embrio. Disregulasi sinyal apoptosis dan apoptosis yang tidak tepat (terlalu sedikit atau terlalu banyak) merupakan salah faktor pada beberapa penyakit termasuk penyakit neurodegeneratif, kelainan autoimun dan beberapa tipe kanker (Anita *et al.*, 2014). Apoptosis adalah suatu bentuk program kematian sel secara genetik yang sangat diperlukan dalam perkembangan dan homeostasis organisme multiseluler. Walaupun apoptosis memainkan peran penting dalam mempertahankan keadaan fisiologis yang normal, apoptosis juga bertanggung jawab untuk keadaan sakit pada tubuh. Disfungsi sistem apoptosis dapat menyebabkan kematian yang berlebihan atau kehidupan sel yang berkepanjangan, dengan demikian proses apoptosis yang tidak teratur akan berimplikasi dalam patogenesis berbagai macam penyakit termasuk penyakit rongga mulut (Jain *et al.*, 2013).

Membran plasma yang melepuh, sel yang mengkerut, kondensasi kromatin dan fragmentasi DNA merupakan ciri morfologis yang spesifik dari apoptosis (Vermeulen *et al.*, 2005) dan dimulai dengan pembentukan apoptosom, yaitu kompleks aktivasi protease multi sub-unit, yang terbentuk dari enzim kaspase dari kelompok sisteina protease. Setelah permeabilitas membran mitokondria sisi luar meningkat, dan sitokrom-c dilepaskan ke dalam sitoplasma, maka apoptosom mulai disintesis di dalam sitoplasma (Hill *et al.*, 2003), setelah terjadi interaksi antara membran ganda kardiolipin mitokondria dengan fosfolipid anionik yang memicu aktivitas peroksidase (Basova *et al.*, 2007). Apoptosom merupakan kompleks protein yang terdiri dari sitokrom-c, *apoptotic protease activating factor-1* (Apaf-1), dan pro *Caspase-9* (Crompton dan Gillick, 2008). Mitokondria melepaskan sitokrom-c dan protein apoptotik lain seperti *Apoptosis Inducing Factor* (AIF), *endonuclease G* (Endo G), *Omi*, dan *Smac/Diablo*. Interaksi yang terjadi dalam

apoptosom akan mengaktifkan enzim proteolitik *caspase-9*, kemudian berlanjut akan mengaktifkan *Caspase-3*. *Caspase-3* akan berikatan dengan DNA *endonuclease* yang akan berpindah menuju inti dan memulai memecah DNA. *Caspase-3* juga memecah gelsolin yaitu protein yang mempertahankan morfologi sel. Gelsolin akan memecah aktin filamen di dalam sel, sehingga terjadi pengkerutan sel (Adams, 2003).

Mitokondria berperan penting dalam pengaturan apoptosis, karena perannya dalam hal perubahan transport elektron, hilangnya potensial membran, pelepasan sitokrom-c dan ekspresi protein kelompok *B-cell lymphoma 2* (Bcl-2). *Mitochondrial permeability transition pore* (MPTP) dan protein proapoptotik *bcl-2-like protein 4* (Bax) merupakan dua komponen yang menyebabkan terlepasnya sitokrom-c. Akumulasi kalsium, oksidan dan potensial transmembran mitokondria yang rendah mempengaruhi pembukaan MPTP. Sitokrom-c, AIF, Endo-G, *Smac/Diablo* merupakan faktor-faktor penentu apoptosis, dan akan terlepas dengan mudah dari mitokondria karena adanya pembentukan pori pada membran luar mitokondria yang terjadi karena penggabungan Bax dengan MPTP. Selanjutnya sitokrom-c, AIF, Endo-G, *Smac/Diablo* akan translokasi dalam inti dan menyebabkan DNA fragmentasi dan kondensasi kromatin (Marzuki *et al.*, 2004).

Ada dua jalur apoptosis yang keduanya mengaktifkan *Caspases 3, 6, dan 7*. Jalur pertama adalah intrinsik lewat mitokondria, karena mitokondria mengontrol inisiasi apoptosis. Jalur kedua dikenal sebagai jalur ekstrinsik, yang dimediasi oleh berbagai reseptor kematian pada permukaan sel. Reseptor ini diaktifkan oleh ligan tertentu. Sel apoptosis dikenali oleh fagosit dan dikemas sebelum mengeluarkan konten intraseluler ke ekstraseluler, sehingga meminimalisasi gangguan terhadap sel sekitarnya. Selain dapat merusak sel-sel disekitarnya, konten tersebut dapat memicu inflamasi melalui pelepasan molekul yang dapat mengaktifasi imun. Reaksi biokimia yang terlibat adalah konsekuensi dari aktivasi *caspase family* dari protease (*Caspases 3, 6, 7*). Dapat disimpulkan apoptosis adalah bentuk kematian sel yang dimediasi oleh *caspase* dengan morfologi khas (terbungkus) dan *outcome* antiinflamasi (Tonetti *et al.*, 2017; Jarnbring *et al.*, 2002). Dalam mekanisme ini, ROS dan stres oksidatif yang dihasilkan juga berperan penting dalam kematian sel

apoptosis. Proses apoptosis dapat terganggu dan terhambat pada peradangan kronis penyakit periodontal. Penghambatan apoptosis dipengaruhi oleh regenerasi jaringan dan penyembuhan penyakit inflamasi kronis, seperti periodontitis. Terdapat empat faktor utama yang berperan dalam memicu dan mempengaruhi proses apoptosis. Faktor-faktor tersebut antara lain adalah *caspase*, protein Bcl-2, reseptor TNF, dan protein adaptor. Apoptosis dipicu oleh jalur multi-sinyal dan diatur dengan ligan intrinsik dan ekstrinsik yang kompleks. Proses apoptosis diatur dengan keragaman jalur sinyal sel dan terlibat dalam regulasi kematian atau kehidupan sel. Terdapat 2 jalur besar terjadinya apoptosis yang dapat dibedakan berdasarkan keterlibatan *caspase* (Hongmei, 2012).

Pertahanan awal pada progresivitas penyakit periodontal adalah epitel gingiva. Jika kejadian apoptosis pada epitel dasar poket dibiarkan berlanjut maka akan menyebabkan apoptosis yang berkelanjutan pada jaringan di bawahnya yaitu sel fibroblas, sel limfosit dan osteoblas, sehingga mengakibatkan progresivitas penyakit yang cepat pada jaringan periodontal (Bosshardt dan Lang, 2005; Bartold *et al.*, 2016). Kerusakan jaringan yang disebabkan oleh meningkatnya jumlah apoptosis pada sel *host* dipicu dari faktor virulensi bakteri tertentu untuk dapat memulai perkembangan penyakit lebih lanjut. Perlindungan sel epitel gigit dari peningkatan jumlah apoptosis, akan menghambat progresivitas penyakit pada jaringan periodontal.

9. Nekrosis

Nekrosis adalah kematian sel di mana sel telah rusak parah melalui kekuatan eksternal seperti trauma atau infeksi dan terjadi dalam beberapa bentuk yang berbeda. Pada nekrosis, suatu sel mengalami pembengkakan, diikuti oleh pecahnya membran sel yang tidak terkontrol dengan isi sel dikeluarkan. Isi sel ini sering menyebabkan peradangan pada sel di dekatnya. Suatu bentuk nekrosis terprogram, yang disebut nekroptosis telah diakui sebagai bentuk alternatif dari kematian sel yang terprogram. Dihipotesiskan bahwa nekroptosis dapat berfungsi sebagai cadangan kematian-sel untuk apoptosis ketika pensinyalan apoptosis dihalangi oleh

faktor endogen atau eksogen seperti virus atau mutasi. Jalur nekroptotik dikaitkan dengan reseptor kematian seperti reseptor TNF 1 (D'Arcy, 2019).

Salah satu bentuk kematian sel yang menyebabkan disfungsi berat adalah nekrosis. Keadaan tersebut terjadi setelah tidak adanya suplai darah atau setelah adanya paparan toksin yang ditandai dengan pembengkakan sel, denaturasi protein dan kerusakan organel. Nekrosis ditandai dengan kematian sel dan kematian jaringan pada organisme yang hidup. Pada keadaan nekrosis akan terjadi perubahan tertentu baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Perubahan secara makroskopis akan terlihat jaringan nekrotik tampak keruh (*opaque*), tidak cerah lagi, berwarna putih keabu-abuan. Secara mikroskopis seluruh jaringan nekrotik akan berwarna kemerahan, tidak dapat diwarnai dengan pemberian zat warna hematoxilin dan sering terlihat pucat. Kerusakan dinding pembuluh darah dan thrombosis dapat disebabkan oleh toksin yang umumnya dihasilkan dari bakteri yang mempunyai tingkat virulensi tinggi, baik eksogen maupun endogen (Pringgoutomo *et al.*, 2002).

Nekrosis terjadi karena adanya cedera dan bersifat tidak bisa kembali lagi (*irreversible*). Pada saat sel mengalami suatu gangguan, maka sel akan berusaha mempertahankan keseimbangan tubuh dengan cara hipertrofi, hiperplasia, atrofi, dan metaplasia. Jika sel tidak mampu untuk beradaptasi, maka sel tersebut akan mengalami cedera. Jika penyebab cedera itu dapat dihilangkan, maka sel akan kembali normal (*reversible*). Namun jika cedera tersebut terjadi terus-menerus maka sel tidak bisa kembali normal dan akhirnya mengalami kematian sel. Mekanisme nekrosis: a) Pembengkakan sel; b) Digesti kromatin; c) Rusaknya membran (plasma dan organel); d) Hidrolisis DNA; e) Vakuolasi oleh Retikulum Endoplasma; f) Penghancuran organel; g) Lisis sel. Gambaran morfologik nekrosis merupakan hasil dari digesti enzimatik dan denaturasi protein yang terjadi secara bersamaan. Digesti enzimatik oleh enzim 3-hidrolitik dapat berasal dari sel itu sendiri (autolisis) dan dapat berasal dari lisosom sel radang penginvasi (heterolisis) (Kumar *et al.*, 2007).

10. Kolagen

Kolagen adalah protein yang tersusun dari asam amino yang berbeda-beda, dan yang paling penting adalah glisin, prolin, hidroksilsin dan hidroksiprolin. Sejumlah kolagen dalam jaringan dapat ditentukan oleh kandungan hidroksiprolin. Biosintesis kolagen terjadi di dalam fibroblas untuk membentuk molekul tropokolagen, bersama-sama masuk mikrofibril yang bergabung bersama untuk membentuk fibril. Fibril kolagen mempunyai striasi melintang dengan karakteristik *periodicity* 64 nm, striasi ini disebabkan oleh penyusunan yang *overlapping* dari molekul tropokolagen. Sebagian besar serabut dasar tersusun dari kolagen tipe I. Komponen utama jaringan penghubung gingiva adalah serat kolagen (sekitar 60% dari volume total), fibroblas (5%), pembuluh darah, saraf dan matriks (sekitar 35 %). Jaringan penghubung gingiva dikenal sebagai lamina propria, yang terdiri dari 2 lapis yaitu lapisan papilari di dekat epitelium dan lapisan retikuler yang berdekatan dengan periosteum tulang alveolar. Jaringan penghubung gingiva mengandung bagian seluler dan ekstraseluler yang terpisah dan terdiri dari serat dan substansi dasar. Jaringan penghubung sebagian besar merupakan jaringan penghubung fibros yang memiliki elemen-elemen yang berasal dari jaringan penghubung mukosa oral atau rongga mulut. Serabut jaringan penghubung ada tiga tipe yaitu kolagen, retikuler dan elastik. Kolagen tipe I membentuk ketebalan lamina propria dan memberikan kekuatan tarikan-regangan pada jaringan gingiva, sedangkan kolagen tipe IV (serat *argyrophilic reticulum*) bercabang di antara ikatan kolagen tipe I dan dilanjutkan dengan serat-serat pada dasar membran dan dinding pembuluh darah. Jaringan penghubung gingiva adalah kolagen padat, mengandung ikatan serat kolagen yang jelas terlihat disebut serabut gingiva. Fungsi dari serabut gingiva adalah melekatkan tepi gingiva dengan kuat pada permukaan gigi, menyediakan kekenyalan yang penting untuk mempertahankan posisinya terhadap tekanan penguyahan tanpa tergeser dari permukaan gigi dan untuk menyatukan tepi gingiva dengan sementum pada akar gigi dan gingiva cekat di dekatnya (Fiorellini *et al.*, 2012).

Gingiva secara mikroskopis, terbagi menjadi jaringan epitel gingiva dan jaringan ikat gingiva. Jaringan ikat gingiva disebut juga lamina propia. Terlihat

retepegs/epithelial ridge. Mempunyai 4 komponen, yaitu a) Selular : fibroblas, sel inflamasi, b) Ekstraselular : proteoglikan, dan glikoprotein, c) Fibers/serat : kolagen, d) Komponen pembuluh darah. Sel epitel gingiva bersifat aktif secara metabolik dan dapat bereaksi terhadap rangsangan eksternal dengan mensintesis sejumlah sitokin, molekul adhesi, faktor pertumbuhan, dan enzim. Jaringan epitel terdiri dari oral / *outer* epitelium (*keratinized*) puncak alveolar sampai dengan *attached* gingiva, oral sulcular epitelium (*parakeratinized*) dinding sulkus gingiva, *junctional* epitelium (*non keratinized*) dasar sulkus gingiva. Sel epitel bereaksi terhadap infeksi bakteri dengan cara meningkatkan proliferasi, perubahan signal sel, perubahan dalam diferensiasi, dan kematian sel yang akan mengganggu homeostasis jaringan. Epitel gingiva mempunyai kemampuan untuk mempertahankan integritas fungsional jaringan gingiva dari infeksi bakteri, dengan cara keratinisasi, yaitu dengan meningkatkan kecepatan pembelahan sel nya atau menebal. Keratinisasi adalah diferensiasi keratinosit dalam stratum granulosum menjadi sel permukaan atau skuam non vital untuk membentuk stratum korneum. Sel-sel berdiferensiasi saat bermigrasi ke permukaan dari stratum basalis di mana sel-sel progenitor berada di permukaan yang dangkal. Tidak seperti epitel keratin, epitel non-keratin biasanya tidak memiliki lapisan permukaan yang menunjukkan keratinisasi. Namun, epitel non-keratin dapat dengan mudah berubah menjadi tipe keratin sebagai respons terhadap trauma gesekan atau kimia, yang dalam hal ini mengalami hiperkeratinisasi. Perubahan pada hiperkeratinisasi ini biasanya terjadi pada mukosa bukal yang biasanya tidak mengalami keratin ketika linea alba terbentuk, jaringan berwarna putih yang memanjang secara horizontal dimana terjadi trauma gesekan pada saat gigi rahang atas dan rahang bawah beroklusi. Secara histologis, jumlah keratin yang berlebih ditemukan pada permukaan jaringan, dan jaringan tersebut memiliki semua lapisan jaringan ortokeratin dengan lapisan granular dan keratin. Lamina propria adalah lapisan jaringan ikat fibrosa yang terdiri dari jaringan kolagen tipe I dan III dan serat elastin di beberapa daerah. Sel-sel utama lamina propria adalah fibroblas, yang bertanggung jawab untuk produksi serat serta matriks ekstraseluler. Lamina propria, seperti semua bentuk jaringan ikat yang tepat, memiliki dua lapisan: papiler dan padat. Lapisan papiler

adalah lapisan yang lebih dangkal dari lamina propria yang terdiri dari jaringan ikat longgar di dalam papila jaringan ikat, bersama dengan pembuluh darah dan jaringan saraf. Jaringan memiliki jumlah serat, sel, dan zat antar sel yang sama. Lapisan padat adalah lapisan yang lebih dalam dari lamina propria yang terdiri dari jaringan ikat padat dengan sejumlah besar serat. Antara lapisan papiler dan lapisan yang lebih dalam dari lamina propria adalah pleksus kapiler, yang menyediakan nutrisi untuk semua lapisan mukosa dan mengirimkan kapiler ke dalam papila jaringan ikat (Nanci, 2005).

Epitel gingival berfungsi untuk melindungi struktur yang berada dibawahnya, serta memungkinkan terjadinya perubahan selektif dengan lingkungan oral, karena terjadinya proses proliferasi dan diferensiasi yang dimungkinkan berubah. Lamina basal menyatukan epitel gingiva ke jaringan ikat. Lamina basal terdiri atas lamina lusida dan lamina densa. Lamina lusida diikat oleh hemidesmosom dari sel-sel epitel basal. Komposisi utama dari lamina lusida adalah laminin glikoprotein, sedangkan lamina densa adalah berupa kolagen tipe IV. Fibril-fibril penjangkar (*anchoring fibrils*) membantu lamina basal terhubung dengan fibril jaringan ikat (Carranza, 2006).

Epitel mukosa oral berfungsi sebagai penghalang yang memisahkan jaringan di bawahnya dari lingkungannya. Epitel mukosa oral terdiri dari dua lapisan yaitu epitel stratum skuamosa di permukaan dan lamina propria berada di bawahnya. Pada mukosa oral yang berkeratin, epitel terdiri dari stratum basale empat lapisan yaitu stratum spinosum, stratum granulosum, dan stratum korneum. Pada epitel non-keratin, stratum basalis diikuti oleh stratum filamentosum dan stratum distendum. Mukosa oral dibedakan menjadi mukosa lapisan, mukosa pengunyahan, dan mukosa khusus. Mukosa lapisan terlokalisasi pada struktur bergerak seperti langit-langit lunak, pipi, bibir, mukosa alveolar, *fornix vestibular* serta dasar mulut yang dapat diperluas dan secara longgar terikat pada struktur yang berdekatan dengan jaringan ikat yang kaya elastin dan memiliki epitel skuamosa non-keratinisasi. Mukosa pengunyahan di gingiva dan langit-langit keras, terikat erat oleh jaringan ikat padat ke tulang di bawahnya. Epitel ini berkeratin. Mukosa

husus terletak di dorsum lidah, menunjukkan epitel keratin dan termasuk papila lingual dan perasa sebagai struktur khusus (Nanci, 2005).

Pada dasarnya penyembuhan luka dibagi menjadi 3 tahap yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodeling. Proses penyembuhan luka dapat dibantu dengan obat untuk mempercepat penyembuhan. Fase-fase dari penyembuhan luka sebagai berikut:

1) Fase Inflamasi

Pada fase inflamasi, yang melibatkan aktivasi sistem imun bawaan, neutrofil dan monosit dengan cepat bermigrasi ke daerah yang terluka. Fase ini sebenarnya bersamaan dengan hemostasis, dan digambarkan sebagai tahap awal penyembuhan luka (Eming *et al.*, 2014). Sebagai konsekuensi akibat cedera, sel-sel yang menetap, misalnya, keratinosit, makrofag, sel dendritik dan sel mast akan terpapar dengan DAMP dan PAMP. Setelah terjadinya cedera, maka sinyal DAMP dan PAMP tersebut akan dikenali TLR, selanjutnya stimulasi TLR menginduksi aktivasi jalur pensinyalan intraseluler, termasuk NF- κ B dan jalur MAPK, yang mengarah pada ekspresi sejumlah besar gen, termasuk sitokin, kemokin, dan peptida antimikroba, untuk memulai respons inflamasi. Fase inflamasi sangat penting untuk menjaga hemostasis dan rekrutmen sistem kekebalan tubuh bawaan, yang melindungi dari serangan patogen yang menyerang dan membantu mengangkat jaringan mati (Reinke dan Sorg, 2012). Namun, peradangan yang berkepanjangan akan merusak dan dapat menyebabkan diferensiasi deregulasi dan aktivasi keratinosit sehingga akan menghambat tahap penyembuhan luka (Mustoe *et al.*, 2006). Peradangan parah juga telah dikaitkan dengan jaringan parut yang berlebihan. Peran makrofag dalam penyembuhan luka pada fase awal adalah perbaikan luka, setelah terpapar sitokin proinflamasi, IFN- γ , PAMP atau DAMP, maka akan terjadi infiltrasi monosit dan makrofag segera diaktifkan. Makrofag melakukan fagositosis mikroba, membersihkan sisa-sisa sel dan menghasilkan mediator proinflamasi. Makrofag juga mengeluarkan neutrofil selama terjadi cedera yang berfungsi untuk fagositosis. Makrofag dan *angiogenic growth factors* (AGF) akan mempercepat proses penyembuhan luka. (Landén *et al.*, 2016).

Dalam proses penyembuhan, peradangan biasanya berlangsung selama 2-5 hari dan berhenti setelah pemicu peradangan dihilangkan meskipun respon imun berlanjut melalui seluruh prosedur penyembuhan luka (Strbo *et al.*, 2014). Sistem kekebalan adaptif memberikan respons yang lebih lama namun spesifik yang dilakukan oleh sel B dan T. Sel B tidak hanya berfungsi sebagai antibodi, tetapi juga memengaruhi respons imun dengan memproduksi berbagai sitokin dan faktor pertumbuhan, presentasi antigen, regulasi aktivasi dan diferensiasi sel T, dan regulasi organisasi limfoid (Lipsky, 2001). Sel B telah terbukti memainkan peran penting dalam penyembuhan (Iwata *et al.*, 2009). Dalam perbaikan luka, limfosit T berfungsi sebagai sel penghasil faktor pertumbuhan serta sel efektor imunologis (Gillitzer dan Goebeler, 2001). Sistem kekebalan memainkan peran aktif tidak hanya dalam fase inflamasi, tetapi juga di seluruh proses penyembuhan luka. Dibandingkan dengan imunitas bawaan, peran imunitas adaptif dalam penyembuhan luka jarang dibahas. *Interleukin-1* dan $\text{TNF-}\alpha$ akan dilepaskan akan memicu membran fosfolipid jalur *cyclooxygenase* yaitu peningkatan ekspresi COX-2. Pada proses penyembuhan akan ditandai dengan berkurangnya rasa nyeri, edema dan vasodilatasi pembuluh darah dikarenakan produksi prostaglandin dan leukotrin yang menurun (Robbin dan Kumar, 2006; Anindjayati *et al.*, 2013). Migrasi sel leukosit dan trombosit juga dipicu oleh aktivasi *associated kinase membrane* yang meningkatkan permeabilitas membran sel terhadap ion Ca^{2+} dan mengaktifkan kolagenase dan elastase, yang juga merangsang migrasi sel tersebut ke matriks provisional yang telah terbentuk. Setelah sampai di matriks provisional, sel trombosit mengalami degranulasi, mengeluarkan sitokin dan mengaktifkan jalur intrinsik dan ekstrinsik yang menstimulasi sel netrofil, bermigrasi ke matriks provisional dan memulai fase inflamasi (Landén *et al.*, 2016). Makrofag akan melepaskan faktor pertumbuhan, seperti *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF) dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), yang diperlukan untuk memicu dan memperbanyak jaringan baru di daerah yang mengalami lesi. Makrofag melakukan fungsi fagositosis dan pelepasan sitokin dan faktor pro-angiogenik, inflamasi, dan fibrogenik, serta radikal bebas (Tidball, 2005). Setelah makrofag

mensekresi faktor-faktor kemotaksis, maka makrofag akan menarik sel-sel inflamasi lain ke area lesi. Makrofag juga memproduksi prostaglandin, yang berfungsi sebagai vasodilator kuat, yang mempengaruhi permeabilitas pembuluh darah mikro. Bersama-sama, faktor-faktor tersebut menyebabkan aktivasi sel endotel (Li *et al.*, 2007). Sel-sel ini juga menghasilkan PDGF, *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β), *Epidermal Growth Factor* (EGF), dan VEGF, yang menonjol sebagai sitokin utama yang mampu merangsang pembentukan jaringan granulasi (Mendonça dan Coutinho Netto, 2009).

2) Fase Proliferasi.

Fase proliferasi adalah fase dimana terdapat proliferasi sel fibroblas yang selanjutnya akan membentuk serabut kolagen jaringan ikat (Anindjayati *et al.*, 2013). Fase kedua ini akan berlangsung mulai hari ke-5 sampai hari ke-21 setelah ada cedera atau luka. Fibroblas akan berpindah ke daerah luka setelah terjadi 24 jam munculnya cedera atau luka. Fibroblas akan mensintesis kolagen dan substansi dasar kira kira 5 hari setelah terjadi cedera. Kolagen merupakan substansi protein yang akan mempertautkan permukaan luka. Kolagen yang semakin meningkat akan memperkecil adanya luka yang terbuka. Fibroblas akan berpindah ke jaringan luka dengan membawa benang fibrin dan jaringan granulasi yang lunak serta mudah pecah. Luka diperbaiki kembali dengan jaringan baru yang terdiri dari kolagen dan matriks ekstraseluler. Selain itu, jaringan pembuluh darah baru harus dibentuk agar jaringan granulasi menjadi sehat dan menerima oksigen serta nutrisi yang cukup. Myofibroblas menyebabkan luka berkontraksi dengan mencengkeram tepi luka dan menariknya bersama-sama menggunakan mekanisme yang mirip dengan sel otot polos. Pada tahap penyembuhan luka yang baik, jaringan granulasi berwarna merah muda atau merah dan teksturnya tidak merata. Selain itu, jaringan granulasi yang sehat tidak mudah berdarah. Jaringan granulasi gelap dapat menjadi tanda infeksi, iskemia, atau perfusi yang buruk. Pada fase terakhir dari tahap proliferasi penyembuhan luka, sel-sel epitel muncul kembali ke

permukaan luka. Pada fase ini diharapkan adanya jaringan parut dan regenerasi jaringan yang seimbang (Landén *et al.*, 2016; Gutner, 2007).

Terdapat tiga proses utama dalam fase proliferasi, yaitu :

(a) Neoangiogenesis

Angiogenesis adalah proses fisiologis dimana pembuluh darah baru terbentuk dari pembuluh yang sudah ada sebelumnya, (Birbrair *et al.*, 2014) dan terbentuk pada tahap awal vaskulogenesis. Keadaan tersebut terjadi sepanjang hidup baik dalam keadaan sehat maupun sakit, dimulai sejak dari rahim dan hingga usia lanjut. Pembuluh darah diperlukan di semua jaringan untuk pertukaran difusi nutrisi dan metabolit. Perubahan aktivitas metabolisme menyebabkan perubahan proporsional dalam angiogenesis dan berakibat terjadinya perubahan proporsional dalam kapilaritas. Oksigen memainkan peran penting dalam peraturan ini. Faktor hemodinamik sangat penting untuk kelangsungan hidup jaringan pembuluh darah dan untuk adaptasi struktural dinding pembuluh. Angiogenesis melanjutkan pertumbuhan pembuluh darah dengan proses tumbuh dan membelah. Vasculogenesis adalah pembentukan embrionik sel endotel dari prekursor sel mesoderm, dan dari neovaskularisasi. Pembuluh darah pertama dalam embrio yang berkembang terbentuk melalui vasculogenesis, setelah itu angiogenesis bertanggung jawab atas pertumbuhan pembuluh darah selama perkembangan dan pada penyakit. Ketika terjadi kerusakan jaringan, maka proses angiogenesis mempunyai peranan untuk mempertahankan kelangsungan fungsi berbagai jaringan dan organ yang terkena. Prosesnya yaitu pembentukan pembuluh darah baru untuk mengganti pembuluh darah yang lama (Frisca *et al.*, 2009). Molekul angiogenik ada yang bersifat mendorong terjadinya proses pembentukan pembuluh darah baru dan ada yang menghambat proses tersebut. Namun fungsi yang bertolak belakang tersebut, membuat keseimbangan dalam mempertahankan suatu sistem pembuluh darah kecil yang seimbang (Kalangi, 2011).

(b) Fibroblas

Fibroblas bertanggung jawab untuk mempertahankan matriks ekstraseluler. Selama stres, fibroblas beradaptasi dengan lingkungannya dan memiliki kemampuan untuk merespons dan mengirim sinyal lokal. Pada saat cedera, fibroblas dapat mensintesis komponen matriks yang diperlukan untuk mengganti jaringan yang terluka. Selama keadaan patologis, matriks ekstraseluler dihasilkan dalam jumlah yang banyak dan kolagen diendapkan dengan cara yang tidak teratur yang sering menyebabkan disfungsi organ yang ireversibel atau penampilan yang rusak. Fibroblas adalah jenis sel yang terdapat dalam jaringan ikat. Sel-sel ini menghasilkan beragam kelompok produk termasuk kolagen tipe I, III, dan IV, proteoglikan, fibronectin, laminin, glikosaminoglikan, metalloproteinase, dan bahkan prostaglandin. (Darby dan Hewitson, 2007; desJardins-Park, *et al.*, 2018). Reorganisasi matriks terjadi melalui proses degradasi dan ikatan silang, yang diproduksi oleh fibroblas, yang diaktifkan dan diatur oleh sitokin proinflamasi dan faktor pertumbuhan. Faktor pertumbuhan TGF- α , TGF- β , PDGF, GM-CSF, EGF, dan TNF memiliki implikasi dalam regulasi fibroblas (Tripoli *et al.*, 2016). Salah satu transformasi fibroblas yang digambarkan dengan baik ini adalah transformasi fibroblas menjadi myofibroblas (Alkasalias *et al.*, 2018). Myofibroblas ada di jaringan sehat dan patologis dan mengandung fibroblas dan sel otot polos (Darby dan Hewitson, 2007). Sel-sel ini bekerja bersama dengan sel-sel endotel vaskular untuk membentuk jaringan granulasi selama masa penyembuhan luka. Produk peradangan lainnya akan menyebabkan kemotaksis netrofil menuju jaringan yang cedera yaitu :

(1) *Transforming Growth Factor- β*

Transforming Growth Factor- β dapat diproduksi oleh semua sel, tetapi tiga sel yang paling berperan adalah sel monosit, fibroblas dan platelet, dan berperan penting dalam proses penyembuhan luka. Adapun pengaruh TGF- β pada proses penyembuhan luka antara lain (Hariani, 2017): 1) *Transforming Growth Factor- β* mempengaruhi kerja sel monosit dalam menghambat menghasilkan enzim proteolitik; 2) Sebagai faktor

pertumbuhan TGF- β akan merangsang terjadinya kemotaksis sel-sel fibroblas sekaligus proses proliferasi fibroblas pada fase proliferasi, sehingga akan dimulai pembentukan jaringan granulasi dan luka akan tampak berwarna kemerahan; 3) *Transforming Growth Factor- β* mengendalikan perubahan fibroblas menjadi miofibroblas, yang nantinya berakibat luka akan tampak berkontraksi secara makro visual; 4) *Transforming Growth Factor- β* merangsang produksi matriks ekstraseluler pada fase proliferasi dan maturasi untuk membentuk kolagen dan fibronectin; 5) *Transforming Growth Factor- β* juga merangsang sel-sel endotel untuk membentuk gelung-gelung kapiler, yang biasa disebut dengan proses angiogenesis; 6) *Transforming Growth Factor- β* mempengaruhi terjadinya epitelisasi.

(2) *Matrix Metalloproteinase 1* (MMP)

Matrix Metalloproteinase 1 yang disebut juga dengan matrixins adalah enzim utama yang terlibat dalam proses *turn over* matriks ekstra seluler dan telah diidentifikasi sebagai prosesor utama komponen matriks ekstraseluler. Adapun matriks ekstra seluler itu adalah bahan yang diproduksi oleh sel dan dikeluarkan ke ruang ekstra seluler dalam jaringan, yang berfungsi sebagai penyangga untuk menahan jaringan. Matriks ekstra seluler pada kulit memiliki peran struktural untuk mengatur transportasi nutrisi, faktor pertumbuhan, molekul sinyal sel lainnya, zat kimia syaraf dan produk sisa seluler pada kulit, yaitu membran basalis. Produksi MMP distimulasi oleh sel inflamasi aktif seperti netrofil dan makrofag, serta sel epitel, fibroblas dan sel endotel vaskuler. Aktivasi dilakukan oleh IL-1, tripsin, plasmin dan stabilisasinya dilakukan oleh kalsium. *Matrix Metalloproteinase 1* juga diregulasi secara ketat oleh *Tissue Inhibitor of Metallo Proteinase* (TIMP). Pada epidermis kulit manusia, MMP-1 bekerja untuk *remodelling* kolagen tipe-3 secara bertahap, yang diganti menjadi kolagen tipe-1. Menurut Hariani (2017) MMP-1 memainkan peranan penting dalam 6 proses pada fase penyembuhan luka, yaitu: 1)

Membunuh bakteri; 2) Melisiskan matriks ekstraseluler yang rusak; 3) Membantu proses angiogenesis; 4) Membantu migrasi sel epidermis; 5) Kontraksi matriks ekstraseluler bekas luka; 6) Remodelling matriks ekstraseluler bekas luka.

(3) *Vascular Endothelial Growth Factor*

Vascular Endothelial Growth Factor diproduksi oleh banyak jenis sel, seperti: sel endotel, fibroblas, platelet, netrofil, dan makrofag yang berhubungan dengan proses penyembuhan luka. Sitokin diinduksi di dalam keratinosit dan makrofag tepi luka, dan diregulasi oleh sel endotel pada lokasi trauma. Peningkatan kadar VEGF selama proses penyembuhan luka yang normal akan menstimulasi pembentukan neoangiogenesis dan secara langsung akan meningkatkan sekresi MMP-1, TIMP dan MMP-2 dari sel endotel dan sekresi MMP-1, MMP-2, MMP-9 dari otot halus pembuluh darah. Angiogenesis pada penyembuhan luka termasuk terjadinya vasodilatasi, degradasi membran basalis, migrasi sel endotel, dan proliferasi sel endotel. Bersamaan dengan proses tersebut, akan terbentuk pembuluh darah baru diikuti dengan proses anastomosis. Penyembuhan luka normal sangat dipengaruhi oleh pertumbuhan kapiler baru atau neoangiogenesis, karena hal ini akan memberi nutrisi dan mediator untuk proses penyembuhan luka. Hal ini ditandai dengan adanya pembentukan jaringan granulasi seperti jaringan fibrovaskular yang terdiri dari fibroblas, kolagen dan pembuluh darah (Hariani, 2017).

(4) *Epidermal Growth Factor* (EGF)

Epithelial Growth Factor berperan dalam hantaran sinyal antar sel, dengan mengatur perkembangan dan pertumbuhan yang normal, dengan meregulasi proses proliferasi, diferensiasi, migrasi dan adhesi sel (Dinh *et al.*, 2015). Sitokin ini juga merupakan polipeptida yang bersifat mitogenik terhadap sejumlah epitel yang terlibat dalam proses maturasi epitel. *Epithelial Growth Factor* bekerja dengan cara mengikat reseptor EGF yaitu EGRF pada permukaan membran sel dan merangsang

aktivitas pada reseptor intrinsik protein tirosin kinase, yang dimulai dengan kaskade transduksi sinyal yang menghasilkan berbagai perubahan biokimia sel dimana terjadi kenaikan kadar kalsium intraseluler, peningkatan glikolisis, sintesa protein dan peningkatan sintesa DNA dan ekspresi gen tertentu serta proliferasi sel (Hariani, 2017)

(c) Re-epitelisasi

Re-epitelisasi luka merupakan kunci dalam tujuan penutupan luka. Re-epitelisasi adalah proses sistemik multifaktorial terkoordinasi untuk pembentukan epitel baru. Proses re-epitelisasi dapat terhenti oleh sejumlah faktor, yaitu kelebihan metaloprotease matriks, ketidakstabilan matriks ekstraseluler, pensinyalan fibroblas yang terganggu, migrasi keratinosit terhenti dan jika hal tersebut terjadi maka akan mengganggu proses penyembuhan luka. Ketika proses re-epitelisasi gagal, akan ada hasil negatif pada luka, seperti perkembangan bekas luka hipertrofik. Luka dengan gangguan re-epitelisasi dapat disebabkan oleh banyak faktor, seperti yang tercantum di atas, dan oleh faktor-faktor lain, seperti diabetes, trauma, luka bakar, infeksi bakteri, hipoksia jaringan, iskemia lokal, eksudat, dan kadar sitokin inflamasi yang berlebihan akan menyebabkan terjadinya keadaan peradangan yang terus-menerus. Keadaan peradangan yang terus-menerus dapat menyebabkan sel mengalami peningkatan penuaan seluler dan penurunan respons seluler terhadap faktor pertumbuhan (Velnar *et al.*, 2009).

3) Fase Pematangan atau Remodelling

Fase pematangan akan terjadi pada hari ke 21 sampai dengan 1-2 tahun. Kolagen akan selalu disintesis oleh fibroblas sehingga kolagen akan semakin banyak dan kuat, selanjutnya luka akan mengecil, ditandai dengan adanya garis putih dan tingkat elastisitas yang menurun. Faktor umum yang menghalangi penyembuhan luka diantaranya adalah : nutrisi, seng, steroid, sepsis, dan obat sitotoksik. Tahap ini ditandai dengan pematangan elemen dengan perubahan

yang dalam pada matriks ekstraseluler dan resolusi peradangan awal. Segera setelah permukaan lesi ditutupi oleh lapisan tunggal keratinosit, migrasi epidermal berhenti dan epidermis bertingkat baru dengan lamina basal bawah yang berdekatan dibangun kembali dari perbatasan luka ke bagian dalam (Nayak *et al.*, 2009). Pada tahap ini, ada pengendapan matriks dan selanjutnya ada perubahan dalam komposisinya (Li, *et al.*, 2009). Dengan penutupan luka, kolagen tipe III mengalami degradasi, dan sintesis kolagen tipe I meningkat dengan bantuan MMP yang disekresi oleh fibroblas, makrofag & sel endotel (Gurtner, 2007; Velnar *et al.*, 2009). Sepanjang remodeling, terjadi pengurangan asam hialuronat dan fibronektin, yang terdegradasi oleh sel-sel dan metaloproteinase plasmatik, dan ekspresi kolagen tipe I yang berkembang di atas diproses secara bersamaan.

Setelah dilakukan perawatan pada penyakit periodontal maka akan terjadi proses penyembuhan yaitu :

(1) Regenerasi.

Regenerasi adalah proses pertumbuhan struktur jaringan yang baru melalui pertumbuhan serta differensiasi dari sel baru dan substansi interseluler. Regenerasi akan menghasilkan tipe jaringan yang sama dengan jaringan sebelumnya yang telah rusak. Pada jaringan periodontal, epitel pada gingiva digantikan oleh epitel, sedangkan jaringan ikat dan ligamen periodontal digantikan oleh jaringan ikat yang merupakan prekursor terhadap keduanya. Sel jaringan ikat yang belum berdifferensi akan berkembang menjadi osteoblas dan sementoblas, yang kemudian akan membentuk tulang dan sementum (Caranza, 2012). Penyembuhan regenerasi ini yang diharapkan terbentuk setelah terapi periodontal, karena secara histologis jaringan yang terbentuk adalah jaringan yang fungsional. Regenerasi pada jaringan periodontal merupakan proses fisiologis yang berjalan terus menerus. Pada kondisi yang normal, sel baru dan jaringan secara konstan terbentuk untuk menggantikan sel dan jaringan yang telah mati, ini yang disebut dengan terminologi *wear and tear repair*. Hal tersebut terjadi melalui proses aktivitas mitotik pada epitel gingiva dan jaringan

ikat dari ligamen periodontal, pembentukan tulang baru, dan deposisi sementum yang terus menerus terjadi. Regenerasi juga terjadi selama proses destruktif akibat penyakit periodontal. Penyakit gingival dan periodontal merupakan proses inflamasi kronis, demikian juga lesi penyembuhan yang terjadi. Menurut Langer dan Vacanti, (1993) regenerasi jaringan periodontal yang terlibat dalam konsep tissue engineering memiliki tiga komponen utama yaitu sinyal molekuler yang sesuai, regenerasi sel, dan *scaffold*. Sinyal molekuler (salah satunya berupa faktor pertumbuhan) berperan untuk memodulasi aktivitas seluler serta merangsang sel-sel untuk berdiferensiasi dan memproduksi matriks untuk perkembangan jaringan. Vaskularisasi jaringan yang baru membentuk sinyal angiogenik sebagai pemasok nutrisi untuk pertumbuhan jaringan serta mempertahankan keadaan homeostasis dalam jaringan. *Scaffold* atau membran yang merupakan biomaterial atau matriks berperan sebagai kerangka untuk membentuk struktur guna memfasilitasi proses regenerasi jaringan. Regenerasi sel atau stem sel, yang merupakan prekursor sel. Komplikasi utama dan faktor yang membatasi regenerasi jaringan periodontal adalah mikroba patogen yang melekat pada permukaan gigi dan mengkontaminasi jejas periodontal. Kontrol infeksi harus dilakukan agar proses regenerasi optimal (Tabata et al., 2005).

(2) Repair

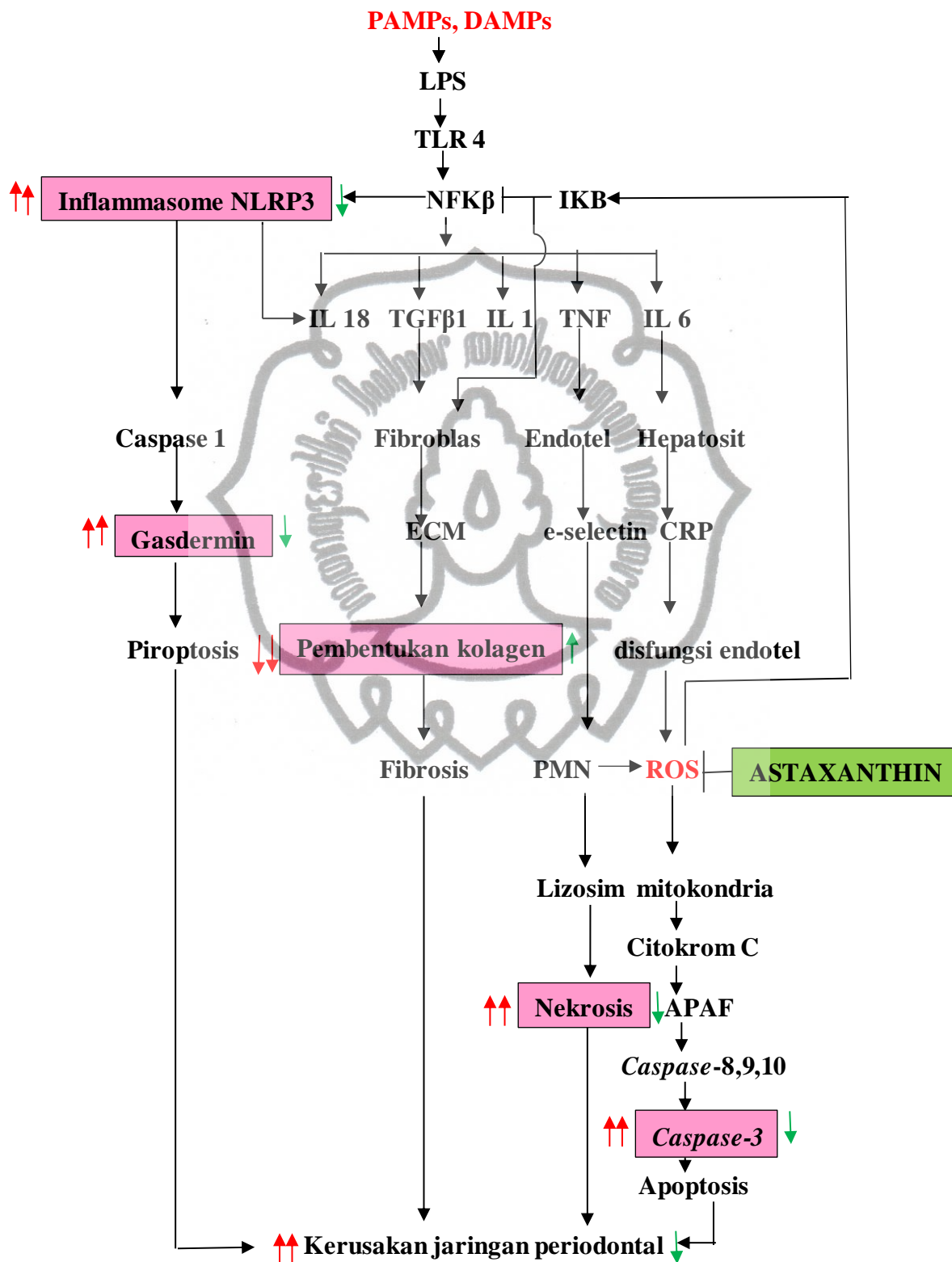
Tujuan proses *repair* adalah perbaikan kontinuitas dari margin gingiva dan membuat kembali sulkus gingiva yang normal setelah terkena penyakit periodontal. Proses tersebut dikenal dengan penyembuhan dengan jaringan parut, yang berarti bahwa proses kerusakan tulang berhenti tetapi perlekatan gingiva dan ketinggian tulang tidak dapat kembali normal. Supaya perlekatan gingiva dan permukaan akar dapat kembali normal, maka pada pemberian terapi diperlukan tindakan dengan bahan material tertentu. Hanya akan terjadi proses *repair* pada jaringan, jika tidak dilakukan tindakan tersebut atau jika tindakan tersebut gagal (Newman et al., 2006). Penyembuhan dengan *repair*, secara histologi akan membentuk *long junctional epithelium*, adesi jaringan ikat baru, dan ankilosis (Kao, 2004).

(3) *New Attachment* / Perlekatan Baru

New attachment adalah perlekatan serat ligamen periodontal pada permukaan akar yang tidak memiliki perlekatan jaringan ikat karena perkembangan penyakit periodontitis. Perlekatan kembali (*reattachment*) terjadi setelah dilakukan perawatan (Newman *et al.*, 2006).







Menurut penelitian Zulfa dan Mustaqimah (2011) pada pasien periodontitis kronis perawatan konvensional berupa irigasi supragingiva dan subgingiva memberikan hasil yang baik terhadap penurunan kedalaman poket dan peningkatan perlekatan klinis. Penggunaan obat-obatan yang diberikan secara lokal dapat meningkatkan hasil perawatan, dan penggunaan antibiotik hanya diberikan pada pasien yang tidak merespons baik terhadap perawatan konvensional. Selain itu, *host modulating agent* juga dapat memberikan keuntungan pada pasien walaupun sebelum penggunaannya sebaiknya jumlah bakteri terlebih dahulu dikurangi

B. Kerangka Teori



Bagan 2.1 Kerangka Teori

Keterangan:

-  : mengaktifkan/ meningkatkan
 : menghambat
 : efek menurunkan dari Astaxanthin
 : efek meningkatkan dari bakteri
 : variabel tergantung
 : variabel bebas

Penjelasan Kerangka Teori

Setelah bakteri *A. actinomycetemcomitans* menginduksi sel *host*, maka sinyal DAMP dan PAMP tersebut akan dikenali TLR, selanjutnya stimulasi TLR menginduksi aktivasi jalur pensinyalan intraseluler, termasuk NF- κ B dan jalur MAPK, yang mengarah pada ekspresi sejumlah besar gen, termasuk sitokin, kemokin, dan peptida antimikroba, untuk memulai respons inflamasi. Keadaan ini akan memicu makrofag untuk mengeluarkan sitokin proinflamasi, antara lain IL-1 dan TNF- α . *Interleukin-1* dan TNF- α akan memicu vasodilatasi sehingga akan terjadi permeabilitas pembuluh darah yang meningkat. Kemudian IL-1 dan TNF- α akan menginduksi ekspresi VCAM-1 dan ICAM-1 di dalam pembuluh darah. Reseptor yang berada pada permukaan leukosit, yaitu VLA4 akan berikatan dengan VCAM-1, sedangkan LFA-1 dan MAC-1 akan berikatan dengan ICAM-1. *Vascular cell adhesion molecule-1* dan ICAM-1 berfungsi dalam proses adhesi leukosit di dalam pembuluh darah, yang kemudian akan menembus keluar dari pori-pori membran kapiler untuk menuju ke jaringan. Leukosit yang pertama berdiapedesis ke jaringan adalah neutrofil, yang bertugas untuk memfagositosis bakteri beserta produknya. Peradangan yang terjadi pada saat neutrofil bermigrasi ke jaringan adalah peradangan akut. Peradangan akut tersebut tidak berlangsung lama karena waktu hidup neutrofil di jaringan singkat (*short life*), sehingga apabila peradangan masih berlanjut, maka perannya akan digantikan oleh monosit, yang

akan menjadi makrofag untuk fungsi fagositosis (Pasaribu *et al.*, 2012). Lepasnya fosfolipid dari membran sel epitel gingiva, fibroblas, sel mast, neutrofil disebabkan oleh keluarnya IL-1 dan TNF- α dari makrofag sehingga menyebabkan metabolisme asam arakhidonat oleh kerja enzim fosfolipase A2 (Porth dan Maftin, 2009). Migrasi sel leukosit dan trombosit juga dipicu oleh aktivasi *associated kinase membrane* yang meningkatkan permeabilitas membran sel terhadap ion Ca^{2+} dan mengaktivasi kolagenase dan elastase, yang juga merangsang migrasi sel tersebut ke matriks provisional yang telah terbentuk. Setelah sampai di matriks provisional, sel trombosit mengalami degranulasi, mengeluarkan sitokin dan mengaktifkan jalur intrinsik dan ekstrinsik yang menstimulasi sel netrofil, bermigrasi ke matriks provisional dan memulai fase inflamasi (Landén *et al.*, 2016). Makrofag akan melepaskan faktor pertumbuhan, seperti PDGF dan VEGF, yang diperlukan untuk memicu dan memperbanyak jaringan baru di daerah yang mengalami lesi. Makrofag melakukan fungsi fagositosis dan pelepasan sitokin dan faktor pro-angiogenik, inflamasi, dan fibrogenik, serta radikal bebas (Tidball, 2005). Radikal bebas akan mengganggu fungsi IKB, sehingga aktivitas NF- κB akan meningkat, dan menyebabkan makrofag faktor-faktor kemotaksis, menarik sel-sel inflamasi lain ke area lesi. Makrofag juga memproduksi prostaglandin, yang berfungsi sebagai vasodilator kuat, yang mempengaruhi permeabilitas pembuluh darah mikro. Bersama-sama, faktor-faktor tersebut menyebabkan aktivasi sel endotel (Li *et al.*, 2007). Sel-sel ini juga menghasilkan PDGF, TGF- β , EGF, dan VEGF, yang menonjol sebagai sitokin utama yang mampu merangsang pembentukan jaringan granulasi (Mendonça dan Coutinho Netto, 2009). Sitokin yang di sekresi sel trombosit juga berfungsi untuk mensekresi faktor-faktor inflamasi dan melepaskan berbagai faktor pertumbuhan yang potensial seperti TGF- β , PDGF, IL-1, IGF-1, EGF, dan VEGF, sitokin dan kemokin. Mediator ini sangat dibutuhkan pada penyembuhan luka untuk memicu penyembuhan sel, diferensiasi dan mengawali pemulihan jaringan yang rusak (Werner, 2003). Ketika ROS atau radikal bebas seperti O_2 dan H_2O_2 dilepaskan dari PMN selama fagositosis, maka dapat menghilangkan patogen, dan dapat juga merusak *host*. Produksi ROS dengan segera

akan menyebabkan kerusakan jaringan, penyakit dan kematian sel (Halliwell dan Whiteman, 2004).

Infeksi patogen akan mengaktifkan *Inflammasome* NLRP3 yang selanjutnya mengaktifkan pro *caspase*-1 menjadi *Caspase*-1 yang bertugas mengaktivasi sitokin inflamasi pro IL-1 β dan pro IL-18, yang kemudian menjadi bentuk aktif IL-1 β dan IL-18 (Wen *et al.*, 2013; Bauernfeind *et al.*, 2011). Sitokin pro-inflamasi IL-1 β dan IL-18 diekspresikan sebagai pro IL-1 β dan pro IL-18 oleh nukleus dari jalur aktivasi NF- κ B akibat stimulasi TLR di membran sel. Dalam bentuk pro, sitokin-sitokin tersebut tidak aktif dan tidak dapat keluar dari sel. Hanya setelah diaktivasi oleh protein *Caspase*-1, maka sitokin-sitokin tersebut menjadi aktif dan dapat dikeluarkan oleh sel yang kemudian menjadi bentuk aktif (Hornung *et al.*, 2008). *Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-Like Receptor - and pyrin domain-containing protein 3* juga dapat menginduksi piroptosis yang akan menyebabkan kematian sel dan terlepasnya berbagai mediator inflamasi (Wen *et al.*, 2013; Fink dan Cookson, 2005). *Inflammasome* NLRP3 dapat terbentuk akibat dari berbagai macam stimulasi, seperti efluks kalium, ATP ekstraseluler, atau ROS. *Inflammasome* yang mengaktivasi *caspase*-1, juga turut berperan dalam piroptosis (Lamkanfi dan Dixit, 2014; Lu *et al.*, 2012). Gasdermin D sebagai komponen baru *inflammasome* yang diperlukan untuk piroptosis dan sekresi IL-1 β tetapi tidak memainkan peranan dalam pengolahan IL-1 β . Gasdermin D direkrut untuk pembentukan NLRP3 *inflammasome* dengan kinetika mirip dengan *Caspase*-1 setelah adanya stimulasi LPS. Gasdermin D dibelah oleh pro-*Caspase*-1 dan kemungkinan besar juga oleh *Caspase*-1 di *inflammasomes*, dan pembelahan proteolitik GSDMD dirilis N-terminal fragmen untuk memediasi piroptosis dan sekresi IL-1 β . (Cerretti *et al.*, 1992).

Astaxanthin menekan sintesis mediator inflamasi seperti TNF- α , prostaglandin, leukotriens, interleukin, oksida nitrat, enzim COX-1, enzim COX-2 dan IL-1 β (Kim *et al.*, 2011; Bhattacharjee, 2014). Keberadaan Astaxanthin sebagai antioksidan dan antiinflamasi, akan mengakibatkan ROS dihambat. Pengambatan ROS ini akan mengakibatkan IKB terkontrol, sehingga aktivitas

NF- κ B akan menurun. Jika aktivitas NF- κ B menurun, maka proses inflamasi akan menurun, sehingga akan terjadi perbaikan pada jaringan periodontal tikus Wistar jantan model periodontitis.

