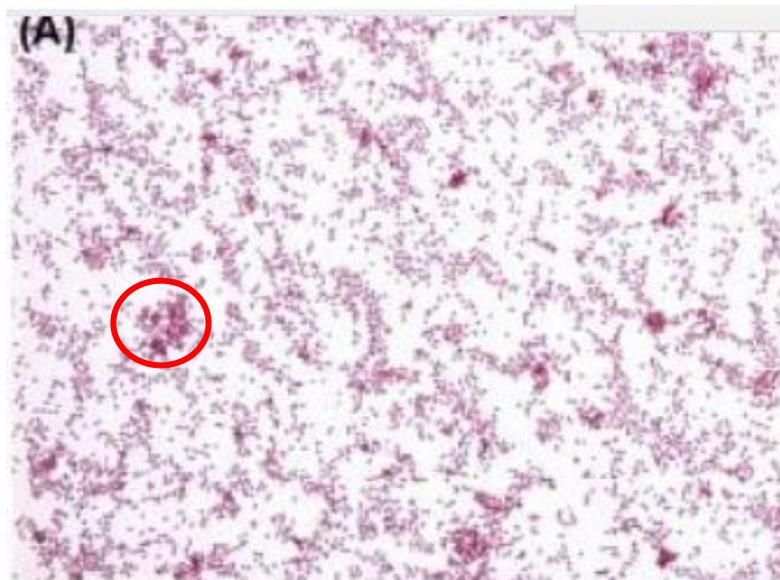


BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Porphyromonas gingivalis*

Etiologi utama dari proses perkembangan penyakit periodontal adalah *dental plaque* atau *oral biofilm* yang berkaitan dengan bakteri anaerob. Pada penderita periodontitis, komposisi bakteri plak gigi akan semakin kompleks, dan didominasi oleh Gram negatif anaerob mutlak. *P. gingivalis* muncul sebagai salah satu patogen utama dalam perkembangan penyakit periodontal (Mysak, 2013).



Gambar 2.1 Bakteri *P.gingivalis* dengan perbesaran 1000x berupa kokobasil gram negatif berwarna merah pada pewarnaan gram (Zhou, 2015).

2.1.1 Taksonomi *P. gingivalis*

Taksonomi dari *P.gingivalis* adalah: (UniProt, 2015)

Kingdom : Bacteria

Divisi : Bacteroidetes

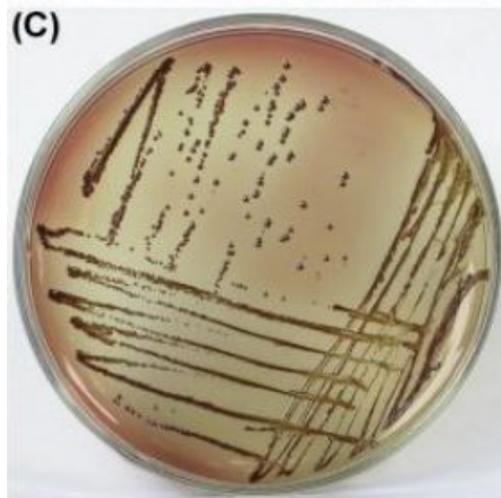
Kelas	: Bacteroidia
Ordo	: Bacteroidales
Famili	: Porphyromonadaceae
Genus	: Porphyromonas
Spesies	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>

2.1.2 Morfologi *P. gingivalis*

P.gingivalis merupakan bakteri Gram negatif pada rongga mulut yang terlibat dalam patogenesis periodontitis. Termasuk dalam “red complex”, suatu kompleks bakteri dalam rongga mulut yang terdiri dari *P. gingivalis*, *Treponema denticola* dan *Tannerella forsythia* yang terlibat secara kuat dalam progresi suatu penyakit periodontal (Mysak, 2013).

P.gingivalis merupakan bakteri anaerob obligat yang tumbuh secara optimal pada temperature 37°. Pada *blood agar plates*, bakteri ini dapat membentuk koloni dengan diameter 1-3 mm berbentuk kokobasil dengan karakteristik bakteri yang menggelembung dan mengkilap dengan permukaan yang tampak halus.

Bakteri *P.gingivalis* diidentifikasi dengan karakteristiknya yang tidak membentuk spora dan memproduksi melanin. Bakteri ini menghasilkan indol, tidak mampu mengubah nitrat menjadi nitrit dan tidak bisa berperan dalam hidrolisis *esculin* dan *starch* (Zhou, 2015).



Gambar 2.2 Koloni *P. gingivalis* pada BHI-blood agar (Zhou, 2015).

2.1.3 Peran *P. gingivalis* terhadap perkembangan periodontitis kronis

Di antara berbagai spesies bakteri yang terlibat dalam perkembangan penyakit periodontal, *P. gingivalis* muncul sebagai salah satu bakteri penting penyebab periodontitis kronis. *P. gingivalis* terlibat dalam kecepatan inflamasi dan destruksi jaringan dalam penyakit periodontal. Bakteri ini dapat ditemukan dalam jumlah yang kecil pada individu yang sehat. Keadaan patologis terjadi apabila bakteri ini menumpuk dan terakumulasi di permukaan gigi yang mengarah kepada terbentuknya *mixed biofilm*, ekspansi bakteri ke dalam sulkus gingival dan pembentukan poket periodontal. Di dalam poket periodontal terdapat *gingival crevicular fluid* (GCF) yang terdapat pada jumlah kecil pada individu sehat dan meningkat secara drastis selama inflamasi jaringan. GCF ini merupakan sumber nutrisi yang esensial bagi pertumbuhan bakteri *P. gingivalis* (Hussain *et al*, 2015). Kemampuan *P. gingivalis* untuk menyebabkan terjadinya periodontitis kronis disebabkan oleh faktor virulensi yang dihasilkan oleh bakteri ini.

P. gingivalis memproduksi banyak faktor virulensi, termasuk di dalamnya *outer membrane vesicles*, *adhesions*, *lipopolysaccharides (LPS)*, *hemolysins*, *proteinases*, *Arg-* dan *Lys-gingipain cysteine*. *Gingipain* berperan dalam destruksi jaringan secara langsung dengan *degrading host tissue proteins* dan secara tidak langsung dengan mengaktifkan *latent matrix metalloproteinases (MMP)* dan menonaktifkan inhibitor dari *metalloproteinases*. Sedangkan LPS sebagai salah satu dari faktor virulen bakteri ini terbukti terlibat dalam respon inflamasi (Grenier, 2010).

Pada bakteri gram negatif, dinding luar bakteri diperkirakan terlibat pada berkembangnya imunitas, yaitu LPS, membrane proteoglikan dan OMP. OMP (Outer membrane protein) atau *afibrial adhesion* adalah protein permukaan, melekat pada hospes lebih kuat dibandingkan dengan pili (Kisra, 1995).

OMP pada *P. gingivalis* berperan sangat penting dalam virulensi melalui proses adhesi dengan sel hospesnya serta merupakan antigen untuk mendeteksi adanya serum antibodi pada penderita. Sebuah penelitian menyatakan bahwa antigen protein adhesi OMP *P. gingivalis* bersifat imunogenik sehingga pada penelitian selanjutnya dapat menjadi landasan teori untuk menjadikan imunisasi dengan protein adhesi OMP *P. gingivalis* sebagai target terapeutik untuk mencegah infeksi *P.gingivails* (Mubarokah, 2009).

2.2 Periodontitis Kronis

2.2.1 Definisi

Periodontitis kronis merupakan salah satu klasifikasi dari periodontitis. *AAP International Workshop for Classification of Periodontal Diseases 1999* mengklasifikasikan periodontitis menjadi periodontitis kronis, periodontitis agresif dan periodontitis manifestasi penyakit sistemik (Carranza *et al.*, 2011). Periodontitis adalah suatu penyakit infeksi yang menyebabkan inflamasi pada

jaringan lunak dari gigi, kehilangan perlekatan dan tulang alveolar (Gafan *et al*, 2004).

Periodontitis kronis berbeda dengan periodontitis agresif pada usia serangan, kecepatan progresi penyakit, sifat dan komposisi mikroflora subgingiva yang menyertai, perubahan dalam respon imun host serta agregasi familial penderita (Widyastuti, 2009). Periodontitis kronis termasuk *slowly progressing disease*. Kecepatan progresi penyakit ini dipengaruhi oleh faktor lokal, faktor sistemik ataupun lingkungan seperti diabetes, kebiasaan merokok dan stress yang dapat mempercepat progresi dari penyakit ini.

Gambaran klinis dari periodontitis kronis adalah adanya akumulasi plak subgingival dan supragingival yang diikuti dengan pembentukan kalkulus, inflamasi gingival, pembentukan poket, kehilangan perlekatan jaringan periodontal dan kehilangan tulang alveolar yang terkadang diikuti dengan terbentuknya supurasi. Resesi gingival juga menyertai klinis dari penyakit ini yang dapat mengakibatkan kehilangan perlekatan dan tulang alveolar.

Terdapat dua bentuk dari periodontitis kronis yaitu, periodontitis kronis lokalisata yang melibatkan kurang dari 30% jaringan periodontal dan periodontitis kronis generalisata (menyeluruh) yang melibatkan lebih dari 30% jaringan periodontal di rongga mulut (Carranza *et al.*, 2011).

2.2.2 Patogenesis Periodontitis

Proses utama yang menyebabkan hilangnya perlekatan dan pembentukan poket (Winn,2006):

- 1) Plak subgingiva yang meluas ke arah apikal yang menyebabkan *junctional epithelium* terpisah dari permukaan gigi.
- 2) Respon jaringan inflamasi epitelium poket berakibat pada destruksi dari jaringan ikat gingival, membran periodontal dan tulang alveolar.

- 3) Proliferasi di apikal dari *junctional epithelium* menyebabkan migrasi dari perlekatan epitelium.
- 4) Tingkat kerusakan jaringan tidak bersifat konstan, tetapi episodik, sejumlah tipe penyakit dapat terjadi, mulai dari kerusakan *slowly progressive* hingga aktivitas episodik yang berkembang cepat.

2.3 Immunoglobulin Y (IgY)

Telur ayam dapat dimanfaatkan sebagai pabrik biologis untuk sarana pembuatan antibodi spesifik terhadap berbagai jenis antigen. Antibodi spesifik yang berada di dalam darah berperan sebagai respon vaksinasi yang kemudian ditransfer secara efektif ke dalam kuning telur yang disiapkan untuk pertahanan tubuh embrio dan janin hingga 7-10 hari setelah menetas (Wibawan, 2008). Zat kebal yang diperoleh dari anak ayam ini disebut antibodi maternal (Wibawan *et al*, 2009). Sedangkan immunoglobulin ayam yang terbentuk dalam darah sebagai akibat paparan antigen kemudian ditransfer ke dalam kuning telur, dikenal dengan nama IgY atau *yolk immunoglobulin* (Poetri, 2006).

Penggunaan IgY dari kuning telur ayam yang telah diimunisasi dengan antigen tertentu, telah menjadi salah satu objek penelitian di bidang *immunotherapy* dan *immunodiagnosis*, disebabkan karena antibodi IgY merupakan immunoglobulin predominan pada burung, reptill dan hewan amfibi yang ditransfer dari induk betina kepada kuning telur untuk menghasilkan *passive immunity* pada embrio dan janin (Sudjarwo *et al*, 2014).

Banyak ilmuwan dan komunitas diagnostik yang berusaha mencari alternatif dan prosedur baru untuk memproduksi *cost-effective antibodies*. Penggunaan ayam untuk menghasilkan suatu antibodi menjadi suatu alternative dibandingkan menggunakan mamalia lain seperti kelinci. Selama dua dekade terakhir, antibodi dari kuning telur merupakan alternatif baru yang lebih baik secara ekonomi

maupun etik. Karena dibandingkan pengambilan serum dari mamalia, antibodi IgY lebih mudah diambil secara non invasif dari kuning telur ayam (Sudjarwo *et al*, 2014).

IgY memiliki beberapa karakteristik khusus yang tidak dimiliki oleh antibodi mamalia lain, yaitu IgY lebih resisten terhadap pengaruh suhu dan pH (Szabo *et al*, 1998), IgY tidak berikatan dengan protein A dan G (Akerstom *et al*. 1985), IgY tidak berikatan dengan faktor rheumatoid dalam darah, tidak mengaktifkan faktor komplemen mamalia (Larrson *et al*, 1993) dan kemampuan mengikat antibodi sekunder tiga hingga lima kali lebih kuat (Horton *et al*, 1984). Selain itu, ayam memiliki kemampuan untuk menghasilkan respon yang lebih baik terhadap antigen mamalia dikarenakan terdapat *phylogenetic distance* antara mamalia dan spesies burung. Adanya *phylogenetic distance* antara mamalia dan spesies burung menyebabkan protein mamalia bersifat lebih immunogenik pada spesies burung dibandingkan pada mamalia lain dan dapat menstimulasi sintesis antibodi pada ayam (Sudjarwo *et al*, 2014).

Biaya produksi immunoglobulin pada telur ayam sangat murah (Warr *et al*, 1995). Jumlah antibodi yang dihasilkan oleh seekor ayam setara dengan jumlah antibodi yang dihasilkan mamalia besar seperti domba atau kambing. Dimana biaya pemeliharaan ayam jauh lebih murah dibandingkan biaya pemeliharaan hewan mamalia berukuran besar (Sudjarwo *et al*, 2014).

Tabel 2.1 Pebandingan antibodi mamalia (IgG) dengan antibodi ayam (IgY)

Animals	Rabbit (IgG)	Chicken (IgY)
Source of Antibody	Blood Serum	Egg Yolk
Kind of Antibody	Polyclonal	Polyclonal
Antibody Sampling	Bleeding	Collecting Eggs
Antibody Amount	200 mg/bleed (40 ml blood)	100 ± 150 mg/egg
Quantity of antibody (per year)	1400 mg	40.000 mg
Amount of Spesific Antibody	5%	2 ± 10%
Protein A/G Binding	Yes	No
Interaction with Mammalian IgG	Yes	No
Interaction with Rheumatoid Factor	Yes	No
Activation of Mammalian Complement	Yes	No

(Michael, 2010 hal. 469)

Camenisch dalam penelitiannya menyimpulkan beberapa keuntungan penggunaan IgY sebagai antibodi dibandingkan produksi antibodi konvensional yang menggunakan kelinci ataupun mamalia lain, diantaranya: (Camenisch *et al.*, 1999)

- 1) Pemeliharaan ayam tidaklah mahal dan lebih mudah dibandingkan pemeliharaan mamalia lain
- 2) Metode pengoleksian telur non invasif
- 3) Isolasi IgY cepat dan mudah
- 4) Dibutuhkan antigen dalam jumlah yang sangat sedikit untuk mendapatkan IgY dalam jumlah yang besar dan tahan lama

Produksi antibodi spesifik di dalam telur dapat dilakukan dengan menyuntik ayam menggunakan antigen tertentu yang dikehendaki (bakteri, toksoid atau bahan biologis lain). Cara penyuntikan dapat dilakukan secara intravena, intramuscular atau subkutan tergantung dari preparasi antigen yang dikehendaki (Wibawan, 2008).

Antibodi spesifik dalam kuning telur berupa IgY dapat dimurnikan dari kuning telur menggunakan metode yang sederhana. Ayam biasanya bertelur lima sampai enam butir per minggu. Sebutir kuning telur mempunyai volume sebanyak 15 ml dan rata-rata mengandung 50-100 mg IgY, dengan kandungan antibodi spesifik 2% sampai 10%. IgY murni tersebut dapat diaplikasikan secara parenteral (suntikan) dalam pencegahan atau pengobatan melalui pengebalan pasif (Schade *et al*, 1996)

2. 4 Prinsip Vaksin

Vaksin adalah sediaan yang mengandung zat antigenik yang mampu menimbulkan kekebalan aktif dan khas pada manusia. Vaksin dapat dibuat dari bakteri, riketsia atau virus dan dapat berupa suspensi organisme hidup atau inaktif atau fraksi-fraksinya atau toksoid (Farmakope Indonesia, 1995). Jenis-jenis vaksin (menurut FI IV) adalah sebagai berikut:

a. Vaksin Bakteri

Dibuat dari biakan galur bakteri yang sesuai dalam media cair atau padat yang sesuai dan mengandung bakteri hidup atau inaktif atau komponen imunogeniknya.

b. Toksoid Bakteri

Diperoleh dari toksin yang telah dikurangi atau dihilangkan sifat toksisitasnya hingga mencapai tingkat tidak terdeteksi, tanpa mengurangi sifat imunogenisitas.

c. Vaksin Virus dan Riketsia

Adalah suspensi virus atau riketsia yang ditumbuhkan dalam telur berembrio, dalam biakan sel atau dalam jaringan yang sesuai. Mengandung virus atau riketsia hidup atau inaktif atau komponen imunogeniknya. Vaksin virus hidup umumnya dibuat dari virus galur khas yang virulensinya telah dilemahkan.

Vaksinasi adalah teknik memasukkan antigen yang telah dilemahkan virulensinya untuk mengenali invasi awal tanpa menimbulkan penyakit namun diharapkan dapat merangsang kekebalan tubuh. Mekanisme kerja vaksin adalah dengan mempengaruhi respon imun (kebal), yaitu sel-sel memori yang bersifat melindungi dan telah terbentuk pada waktu sebelumnya. Antibodi akan terbentuk setelah dilakukan vaksinasi yang dapat melawan suatu penyakit. Antibodi juga akan terbentuk apabila sel penghasil antibodi, yaitu sel limfosit (sel-b) telah berfungsi dengan baik. Selanjutnya antibodi yang spesifik akan terbentuk jika ada rangsangan antigen spesifik (penginfeksi) yang masuk ke dalam tubuh yang berfungsi merangsang makrofag untuk memfagosit (memakan) patogen tersebut (Setiawan, 2012).

Menurut Ellis, pada umumnya vaksin terdiri dari 2 tipe yaitu vaksin mati (inaktif) dan vaksin hidup (aktif). Vaksin mati diberikan dari patogen yang diinaktifasi dengan cara pemanasan pada suhu 100° C (*heat killed*), dengan menggunakan formalin (*formaline killed*) dan diinaktifasi dengan sonikator

(*sonicated killed*). Sedangkan vaksin yang hidup berupa organisme patogen yang dilemahkan virulensinya (Ellis, 1988).