



PRATIWI SOESILAWATI

Imunogenetik Karies Gigi

Imunogenetik Karies Gigi

Pasal 113 Undang-undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta:

- (1) Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
- (2) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).
- (3) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah).
- (4) Setiap Orang yang memenuhi unsur sebagaimana dimaksud pada ayat (3) yang dilakukan dalam bentuk pembajakan, dipidana dengan pidana penjara paling lama 10 (sepuluh) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah).

Imunogenetik Karies Gigi

PRATIWI SOESILAWATI



Airlangga
University
Press

■ Pusat Penerbitan dan Percetakan
Universitas Airlangga

IMUNOGENETIK KARIES GIGI

Pratiwi Soesilawati

ISBN 978-602-473-590-6
e-ISBN 978-602-473-591-3

© 2020 Penerbit **Airlangga University Press**

Anggota IKAPI dan APPTI Jawa Timur
Kampus C Unair, Mulyorejo Surabaya 60115
Telp. (031) 5992246, 5992247 Fax. (031) 5992248
E-mail: adm@aup.unair.ac.id

Layout (Djaiful)

Cover (Erie Febrianto)

Digitalisasi (Tim Ebook AUP)

Dicetak oleh:

Pusat Penerbitan dan Percetakan UNAIR
AUP 968/08.20 - RK155/06.20

Hak Cipta dilindungi oleh undang-undang.
Dilarang mengutip dan/atau memperbanyak tanpa izin tertulis
dari Penerbit sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apa pun.

Prakata

Bismilahirrohmannirrohim, alhamdulillah rabbil alamin, tiada kata lain selain berucap syukur kepada Allah Subhanahu Wata'ala atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan buku ini.

Buku dengan judul “Imunogenetik Karies Gigi” ini hadir untuk memperkaya bahasan diskusi mengenai faktor penyebab karies gigi, khususnya pada anak Indonesia.

Pemahaman karies gigi dari sudut genetika molekuler ini diharapkan mampu berkontribusi pada gerakan Indonesia Bebas Karies 2030 dan *Global Goals for Oral Health 2020*.

Buku ini saya persembahkan untuk orang-orang tercinta: bapak (almarhum) dan Ibu, anak, suami, serta kakak-adik yang memungkinkan saya mampu berbagi ilmu dan semua pihak yang telah membantu untuk merealisasikan hingga buku ini terwujud.

Surabaya, 22 November 2018

Pratiwi Soesilawati

Daftar Isi

Prakata_ v

B A B 1 **Pendahuluan_ 1**

B A B 2 **Karies Gigi_ 9**

B A B 3 ***Streptococcus Mutans* sebagai Agensia pada Patogenesis
Karies Gigi_ 15**

B A B 4 **Sistem Imunitas Alami dan Adaptif_ 17**

B A B 5 **Sistem Imunitas Mukosa_ 23**
Peran Antibodi Siga dalam Jalur Imunogenetik Karies
Gigi_ 25

B A B 6 ***Major Histocompatibility Complex (MHC)*_ 29**

- B A B **7** **Lokus HLA-DRB1_ 33**
Signalling Intraseluler pada Pengenalan Protein Antigen_ 33
Morfologi HLA-DRB1_ 34
Polimorfisme HLA-DRB1_ 35
- B A B **8** **Hubungan Polimorfisme HLA dan Risiko Karies_ 37**
- B A B **9** **Transduksi Sinyal pada Presentasi Peptida Antigen_ 41**
- B A B **10** **Peran TGF- β 1 pada *Switching Isotype sIgA_ 45***
- B A B **11** **Struktur DNA_ 49**
- B A B **12** **Mutasi pada *Coding Area_ 53***
- B A B **13** **Metode Laboratorium pada Analisis Varian HLA-DRB1_ 59**
ELISA *Indirect* pada pemeriksaan antibodi sIgA_ 59
Metoda PCR-RFLP _ 60
Isolasi DNA_ 61
Amplifikasi DNA _ 61
Elektroforesis_ 62
Analisis restriction fragment length polymorphism (RFLP)_ 62
Flowcytometry_ 63
Imunohistokimia_ 64
Analisis Bioinformatika _ 64
- B A B **14** **Jalur Imunogenetik Karies Gigi_ 67**

BAB 15 Kesimpulan_ 77

Hubungan Polimorfisme pada HLA-DRB1 dan Risiko Karies
Gigi_ 79

Hubungan Varian HLA-DRB1 dan Jumlah CD4_ 81

Hubungan Varian HLA-DRB1 dan TGF- β _ 84

Pengaruh CD4 terhadap Sekresi sIgA_ 85

Pengaruh Ekspresi TGF- β 1 terhadap Kadar sIgA_ 86

Hubungan Kadar sIgA dengan Risiko Karies_ 87

Pustaka_ 91

Biografi_ 99

Daftar Gambar

- Gambar 2.1** Karies gigi_10
- Gambar 3.1** Streptococcus Mutans_16
- Gambar 4.1** Presentasi peptida antigen oleh MHC kepada reseptor sel T_18
- Gambar 4.2** Pengenalan MHC klas I oleh CD8 dan MHC klas II oleh CD4_19
- Gambar 4.3** Diferensiasi sel T *helper* menjadi Th1 dan Th2_20
- Gambar 5.1** Jalur pengenalan antigen pada sekresi sIgA_25
- Gambar 5.2** Struktur antibodi_26
- Gambar 6.1** Struktur MHC klas I dan MHC klas II_30
- Gambar 6.2** *Peptida-binding cleft* pada MHC klas II_32
- Gambar 7.1** Lokus HLA-DRB dari MHC klas II pada kromosom 6 manusia_34
- Gambar 8.1** Jalur intraseluler pada pengenalan protein antigen_38
- Gambar 9.1** Pengenalan antigen dan signal transduksi selama aktivasi sel T_42
- Gambar 10.1** Mekanisme *switching isotype* IgA_47
- Gambar 11.1** Struktur molekul DNA_50
- Gambar 11.2** Ikatan hidrogen_51
- Gambar 12.1** Struktur dan ekspresi gen_54
- Gambar 12.2** *Single nucleotide polymorphisms* (SNP)_55
- Gambar 12.3** Mutasi berdasarkan kesalahan susunan dalam sintesis asam amino_57
- Gambar 12.4** Contoh terjadinya delesi dan insersi_57
- Gambar 12.5** Mutasi berbentuk insersi menyebabkan terjadi *frame shift*_57
- Gambar 14.1** Jalur imunogenetik karies gigi_68

Pendahuluan

Karies gigi merupakan penyakit infeksi yang menimbulkan masalah kesehatan di beberapa negara maju dan berkembang. Penyakit ini merupakan penyebab utama gigi tanggal pada anak-anak maupun dewasa. Prevalensi karies gigi di negara berkembang seperti Indonesia dan Thailand menunjukkan peningkatan yang tajam dalam 20 tahun terakhir. Karies gigi telah merambah ke seluruh pelosok dunia, bahkan negara-negara maju, seperti Amerika dan sebagian Eropa. WHO *Oral Health Database* menyatakan indeks *decay, missing, filling teeth* (DMFT) pada anak-anak usia 12 tahun pada 188 negara di dunia masih tinggi (Brathal, 2004; Bagramian *et al.*, 2009).

Epidemiologi karies gigi di berbagai negara berkembang benua Asia seperti Indonesia, Thailand, Filipina, China, Taiwan, dan benua Afrika di Zambia, Sudan, Nigeria serta benua Amerika Selatan di Brazil menunjukkan peningkatan prevalensi karies gigi dalam 10 tahun terakhir (Yabao *et al.*, 2005; Tsai *et al.*, 2006; Bajali *et al.*, 2007; Du *et al.*, 2007; Ferreira *et al.*, 2007).

Karies gigi adalah demineralisasi jaringan gigi yang bersifat kronis, disebabkan oleh produksi asam hasil fermentasi karbohidrat oleh bakteri kariogenik yang berpotensi menurunkan pH saliva. Diet tinggi karbohidrat terutama sukrosa berpotensi menurunkan pH *biofilm* di permukaan gigi hingga mencapai pH optimum pertumbuhan mikroorganisme *Streptococcus Mutans* (*S. Mutan*). Metabolisme karbohidrat oleh bakteri kariogenik menyebabkan kolonisasi bakteri pada permukaan gigi. Produksi asam hasil fermentasi karbohidrat oleh kolonisasi bakteri menyebabkan kerusakan kristal hidroksi apatit sehingga komponen enamel dan dentin pada jaringan keras gigi mengalami demineralisasi (Marcotte dan Lavoie, 1998; Balakrishnan *et al.*, 2000; Burt & Pai, 2001; Gao *et al.*, 2009).

Risiko karies gigi salah satunya dikendalikan oleh saliva karena keberadaan *Secretory Immunoglobulin A* (sIgA) sebagai substansi antibakteri. Faktor yang berperan pada perkembangan karies gigi adalah respons inang, bakteri dalam plak sebagai antigen, kualitas dan kuantitas diet, serta waktu. Faktor genetik dan lingkungan diduga berperan pada peningkatan risiko karies gigi. Penelitian sebelumnya membuktikan terdapat hubungan antara aspek genetik dan respons imunitas terhadap karies gigi. Faktor genetik inang berpengaruh terhadap pengenalan antigen, respons imunitas, dan pola diet. Penelitian pada manusia dan hewan membuktikan perbedaan genetik menyebabkan penyimpangan imunomodulator terhadap antigen yang berperan pada karies gigi (Acton *et al.*, 1999; Pinkham, 2005; Burgner *et al.*, 2006; Kindt *et al.*, 2006; Selwitz *et al.*, 2007; Barros & Offenbacher, 2009; Harris *et al.*, 2009; Robinette *et al.*, 2009).

Eliminasi antigen kariogenik melibatkan respons imun alami dan respons imun adaptif. *Major Histocompatibility Complex* (MHC) berperan dalam imunitas seluler untuk merangsang sistem imunitas melalui presentasi antigen kepada reseptor sel T. MHC pada manusia dikenal dengan *Human Leucocyte Antigen* (HLA). HLA kelas II adalah rangkaian lokus genetik yang terdiri dari 3 lokus polipeptida yaitu DP, DQ, dan DR. Lokus DR terdiri dari satu rantai alfa dan dua rantai beta. Lokus HLA-

DRB1 menyandi rantai beta fungsional dan bersifat sangat polimorfik (Kindt *et al.*, 2006; Murphy *et al.*, 2008; Abbas *et al.*, 2010).

HLA klas II adalah lokus dengan polimorfisme tinggi pada berbagai mamalia. Polimorfisme ini menyebabkan perbedaan ikatan peptida sehingga memengaruhi progresi dan kerentanan suatu penyakit secara fungsional. HLA-DRB1 mempresentasikan antigen dari *Antigen Presenting Cell* (APC) kepada CD4+ sel T. Jumlah CD4 adalah indikator klinis utama dari kompetensi kekebalan tubuh serta berperan dalam penentuan diagnosis dan terapi. CD4+sel T menghasilkan sitokin yaitu *interleukin-2* (IL-2) untuk aktivasi dan diferensiasi sel T *helper* menjadi subset sel efektor yaitu sel Th 1 dan sel Th2. IL-4 dari Th2 berperan pada stimulasi produksi antibodi oleh sel B. Th2 mengaktivasi proliferasi sel B, menyebabkan sel membelah menjadi sel B memori dan sel B efektor yang disebut sel plasma. Antibodi yang disekresi oleh plasma sel adalah molekul efektor mayor dari imunitas humoral. TGF- β 1, IL-6 dan IL-5 mengaktivasi sel B melalui sistem MALT (*Mucosa-associated Lymphoid Tissue*) untuk melakukan *switching isotype* pada *membran-bound antibody* dari *Imunoglobulin M* (IgM) menjadi *Imunoglobulin A* (IgA). Transport IgA menembus epitel mukosa terjadi melalui ikatan reseptor poli-Ig dan IgA. Reseptor ini mengikat IgA, melakukan endositosis, dan menyalurkan ke permukaan lumen. Reseptor tersebut dipecah oleh protease dan sIgA dilepaskan ke dalam lumen dengan tetap membawa reseptor poli-Ig (Shuler, 2001; Wright & Hart, 2002; Senpuku & Yumiko, 2004; Kindt *et al.*, 2006; Manasa *et al.*, 2007; Murphy *et al.*, 2008; Abbas *et al.*, 2010).

Identifikasi genomik yang berkaitan dengan risiko karies gigi telah diteliti pada hewan uji dan manusia. Penelitian tentang hubungan polimorfisme HLA-DRB1 dan karies gigi pada populasi anak-anak di Jepang mengidentifikasi varian genotipe DRB*0403, DRB*0405, DRB*1501, DRB*0410, DRB*1602, dan DRB*1405 pada subjek bebas karies menunjukkan hubungan dengan kadar sIgA tinggi pada saliva serta varian genotipe DRB1*0101, DRB*1502, dan DRB*0803 pada subjek penderita karies menunjukkan hubungan dengan sIgA rendah (Cole *et al.*, 1992; Nariyama *et al.*, 2004; Senpuku & Yumiko, 2004; Shuler, 2006).

Penelitian korelasi polimorfisme gen dengan suatu penyakit telah membuktikan bahwa polimorfisme gen berpengaruh terhadap produk gen. Perubahan produk gen yang mengalami polimorfisme merupakan bagian dari etiologi penyakit tersebut. Penelitian polimorfisme genetik dipengaruhi oleh berbagai faktor pengganggu diantaranya ras dan jenis kelamin (Slayton *et al.*, 2005).

Polimorfisme HLA pada suatu populasi terjadi melalui seleksi keseimbangan, terutama seleksi pola patogenitas. Tiap populasi cenderung memiliki frekuensi distribusi lokus pada tiap kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa penyakit yang berhubungan dengan HLA berbeda pula pada tiap kelompok etnik (Kinane & Hart, 2003).

Penyakit yang berhubungan dengan genetik umumnya disebabkan oleh mutasi sehingga menimbulkan modifikasi atau inaktivasi produk gen. Metode deteksi mutasi ini penting dilakukan dalam pencegahan suatu penyakit. Identifikasi gen yang bertanggung jawab terhadap perkembangan suatu penyakit pada suatu populasi akan mendasari penelitian berbagai variasi gen pada individu yang berbeda untuk mengetahui mutasi atau akibat mutasi terhadap tingkat keparahan suatu penyakit. Pengetahuan tentang mutasi gen penyebab penyakit berguna untuk mengembangkan berbagai metode deteksi pada identifikasi individu yang mengalami mutasi dan memiliki risiko penyakit atau risiko menurunkan penyakit kepada generasi berikutnya (Brown, 2007).

Imunitas rongga mulut dikendalikan oleh sIgA, *immunoglobulin G* (IgG) dan *immunoglobulin A* (IgA). Mukosa rongga mulut bersifat lebih resistan terhadap iritasi dan tidak mudah tersensitisasi. sIgA pada saliva memiliki peran yang sama seperti sIgA pada sistem imun mukosa. Peran sIgA meliputi netralisasi virus, netralisasi toksin, serta hambatan pertumbuhan dan kolonisasi mikroorganisme di epitel atau permukaan gigi (Mestecky *et al.*, 2005; Kindt *et al.*, 2006; Abbas & Lichtman, 2007).

Antibodi pada kapiler darah disekresi melalui *junctional epithelium* menuju *gingival crevicular fluid* (GCF). Antibodi saliva berperan terhadap sistem imunitas pada periodonsium dan permukaan gigi. Penelitian membuktikan komponen pertahanan humoral dan seluler dari darah

mampu mencapai permukaan gigi melalui GCF. Komponen imunitas dalam GCF analog dengan komponen imunitas dalam serum darah (Senpuku, 2001; Mestecky *et al.*, 2005).

Variasi genotipe HLA-DRB1 disebabkan oleh mutasi pada ekson 2. Mutasi adalah perubahan sekuen nukleotida dari suatu gen. Sebagian besar mutasi berupa mutasi titik yaitu substitusi satu nukleotida dengan nukleotida lain atau delesi satu nukleotida. Mutasi ini disebut *single nucleotide polymorphism* (SNP). Penggantian ini menyebabkan perubahan susunan pasangan basa sehingga menimbulkan perubahan susunan asam amino (Trejaut *et al.*, 2001; Brown, 2007; Klug, 2007).

Mutasi regio ekson 2 lokus HLA-DRB1 berkaitan dengan patogenesis karies gigi, karena perubahan susunan asam amino pada regio ekson 2 lokus HLA-DRB1 menyebabkan perubahan presentasi peptida antigen kepada reseptor sel T. Terdapat hubungan polimorfisme lokus HLA dengan jumlah CD4 sebagai indikator infeksi dan pertahanan humoral. Mutasi pada HLA-DRB1 adalah salah satu faktor genomik dari karies gigi yang memiliki peran penting dalam jalur imunogenetik pada patogenesis karies gigi (Senpuku & Yumiko, 2004; Ndung'u *et al.*, 2005; Abbas & Lichtman, 2007; Van Wallace, 2010).

Penetapan profil risiko karies pada anak-anak diharapkan mampu memperkirakan risiko seorang anak terhadap karies. Identifikasi faktor risiko genetik adalah langkah potensial untuk pengembangan peranti pemeriksaan yang sensitif. Pemahaman tentang genetika kerentanan atau ketahanan seseorang terhadap karies akan mengembangkan pandangan baru tentang proses karies secara individual dan mendasari pengembangan strategi pencegahan karies. Identifikasi faktor risiko karies gigi secara genetik selanjutnya digunakan untuk pengembangan alat deteksi risiko karies dengan sensitivitas tinggi (Balakrishnan *et al.*, 2000; van Ginkel *et al.*, 2000; Leone & Oppenheim, 2001; Li & Wang, 2002; Wright & Hart, 2002; Senpuku & Yumiko, 2004; Harris *et al.*, 2009).

Pemahaman terhadap jalur imunogenetik yang terlibat dalam proses karies gigi bermanfaat untuk menemukan paradigma baru pada deteksi dan diagnosa karies gigi. Diagnosis dini layak diterapkan untuk

pendekatan metode terapi dan pengembangan berbagai lokus gen yang terlibat dalam patogenesis suatu penyakit infeksi. Penggunaan *biomarker* untuk menegakkan diagnosa penderita dengan risiko karies atau resistan karies adalah salah satu contoh penerapan jalur imunogenetik dalam diagnosis dini karies gigi. Biomarker ini berguna sebagai pemeriksaan awal untuk merancang perawatan preventif terhadap karies yang sesuai untuk tiap individu (Fontana & Zero, 2006; Zhernakova *et al.*, 2009).

Indonesia menunjukkan tingkat prevalensi karies gigi tinggi dengan pertumbuhan cenderung meningkat. Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2018 menunjukkan indeks *def-t* pada anak Indonesia usia 6–9 tahun sebesar 92,794. Pemahaman peran genetik dalam etiologi risiko karies pada anak-anak mengembangkan strategi baru dalam diagnosis, tata laksana, penentuan risiko, dan pencegahan karies di masa yang akan datang. Pencegahan karies gigi memerlukan alat deteksi risiko karies yang dirancang melalui evaluasi lokus HLA-DRB1 pada kelompok sIgA tinggi dan kelompok sIgA rendah melalui pemahaman imunogenetik. Apakah terdapat perbedaan varian HLA-DRB1 berdasar lokasi mutasi nukleotida pada lokus HLA-DRB1 pada anak penderita karies gigi? Buku ini mengupas prediksi respons imunitas mukosa terhadap bakteri kariogenik melalui penelusuran perbedaan kekuatan presentasi peptida antigen tiap varian HLA-DRB1 kepada reseptor sel T dan regulasi TGF- β 1 terhadap sel B dalam proses *switching isotype* sekresi sIgA di lumen rongga mulut, khususnya pada populasi Jawa di Surabaya. Beberapa jalur imunogenetik akan dibahas melalui pengaruh polimorfisme HLA-DRB1 berpengaruh terhadap kekuatan presentasi antigen kepada ko-reseptor CD4, pengaruh polimorfisme HLA-DRB1 terhadap ekspresi TGF- β 1 sebagai regulator *switching isotype* sIgA, dan pengaruh jumlah CD4 dan ekspresi TGF- β 1 terhadap kadar sIgA (Riskesdas, 2018).

Diharapkan bahasan ini akan bermanfaat untuk diagnosis molekuler varian genotipe lokus HLA-DRB1 ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar metode penentuan risiko karies gigi secara dini untuk para klinisi sebelum melakukan perawatan pencegahan karies gigi. Selain itu, penulis berharap mampu memberi informasi kepada keluarga penderita karies

gigi untuk memprediksi risiko karies gigi pada generasi berikutnya sehingga perawatan pencegahan karies gigi dapat dilakukan sejak dini. Varian genotipe paling dominan pada lokus HLA-DRB1 ini selanjutnya dapat digunakan sebagai penanda genetik untuk pelacak DNA berupa suatu *kit* diagnostik untuk mendeteksi kerentanan seseorang terhadap karies gigi (Pratiwi, 2011).

Karies Gigi

Karies gigi adalah penyakit multifaktorial dan infeksius dengan etiologi berbagai faktor dari inang dan lingkungan yang erat berhubungan dengan genetika. Faktor multipel yang berpengaruh dalam risiko karies adalah faktor lingkungan, faktor inang, faktor koloni kuman dan waktu. Faktor lingkungan dipengaruhi oleh diet, *oral hygiene*, dan fluoridasi. Kolonisasi bakteri penyebab karies adalah *S. mutans* serta faktor inang dipengaruhi oleh aliran saliva, kapasitas bufer saliva, posisi gigi geligi, karakteristik permukaan enamel, dan kedalaman fisur pada gigi posterior. Faktor individual yang menentukan kerentanan dan ketahanan individu terhadap karies setelah terpapar faktor lingkungan adalah faktor genetik (Lehner, 1996; Gronroos, 2000; Slayton *et al.*, 2005).

Beberapa peneliti melaporkan terdapat empat faktor yang berhubungan secara langsung dengan perkembangan karies gigi yaitu inang, bakteri di dalam *biofilm* rongga mulut, diet, dan waktu. Empat faktor tersebut dipengaruhi oleh saliva sebagai sistem pertahanan mukosa. Genetika inang mengendalikan imunitas mukosa dan anatomi serta morfologi gigi seperti mineralisasi dentin dan enamel (Townsend *et al.*,

2003; Pinkham, 2005; Stephanopoulos *et al.*, 2005; Selwitz *et al.*, 2007; Harris *et al.*, 2009; Haruyama *et al.*, 2009).

Karies gigi adalah penyakit rongga mulut yang umum terjadi pada masa anak-anak. Di Amerika Serikat karies gigi menempati urutan atas dari rata-rata prevalensi penyakit. Di Indonesia 52,3% penderita karies gigi berusia diatas 10 tahun dan belum ditangani. Data Survei Kesehatan Nasional (Surkenas) 1998 menunjukkan penyakit gigi mengganggu produktivitas 62,4% penduduk Indonesia selama 3,86 hari dalam setahun. Profil risiko karies pada anak-anak dapat digunakan untuk memprediksi apakah seorang anak akan mengalami kerusakan gigi berat di masa dewasa (Lehner, 1996; Slayton *et al.*, 2005).



Gambar 2.1 Karies gigi (Dorozhkin, 2019)

Gigi yang telah erupsi dilapisi oleh lapisan glikoprotein, terikat *irreversible* pada permukaan gigi, dan disebut pelikel permukaan (*acquired pellicle*). Materi ini berperan sebagai reseptor kolonisasi mikroorganisme rongga mulut. Mikroorganisme yang melekat pada permukaan pelikel membentuk plak gigi. Bakteria rongga mulut terutama spesies *Streptococcus*

dan *Actinomyces* berada dalam pelikel dan membentuk plak. *S. Mutans* mensintesa enzim *glikosiltransferase* (GTF) membentuk polisakarida ekstraseluler atau glukon dari sukrosa.

Koloni mikroorganisme dalam rongga mulut yang dilapisi glukon dapat menurunkan peran saliva sebagai pelindung dan antibakteri pada plak. Plak menghambat difusi asam dalam saliva, sehingga terjadi lokalisasi produk asam konsentrasi tinggi pada permukaan enamel. Asam bereaksi dengan kristal apatit dan menghancurkan membran enamel dan menyebabkan dekalsifikasi dentin yang disebut karies gigi. Dekalsifikasi mengakibatkan kerusakan jaringan keras gigi dan membentuk rongga tempat tumbuh mikroorganisme sehingga produksi asam meningkatkan dan demineralisasi berlangsung terus menerus (Indrawati, 2006; Marraffini *et al.*, 2006).

Rongga mulut dilapisi oleh epitel yang berfungsi sebagai barier fisik terhadap infeksi. Antigen kariogenik dalam rongga mulut dikenali oleh sel dendritik yaitu sel Langerhans yang berperan sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC). Sel dendritik ditemukan pula di area organ limfoid perifer. Sel dendritik pada epitel ini belum mampu menstimulasi limfosit T. Sel dendrit ini memiliki membran reseptor tempat ikatan mikroba. Membran reseptor berfungsi untuk menangkap antigen dalam stimulasi reaksi imun alami melalui ikatan *Toll-like reseptor* (TLR) pada sel dendrit, sel epitel dan makrofag dalam jaringan. Proses ini diinduksi oleh *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) dan *interleukin-1* (IL-1). Kombinasi sitokin dan *signalling* TLR mengaktivasi sel dendrit, menghasilkan berbagai perubahan fenotipe, dan fungsi respons imunitas (Horst *et al.*, 2009; Abbas *et al.*, 2010).

S. Mutans dalam rongga mulut mengaktivasi sel fagosit untuk memfagosit mikroorganisme. Reseptor sel T mengenali peptida antigen dari *S. Mutans* yang dipresentasikan oleh molekul HLA-DRB-1 ke sel T-CD4⁺. Sekresi sitokin mengaktivasi sel B pada respons imun humoral berinteraksi dengan antigen, berdiferensiasi menjadi sel plasma untuk mensekresi antibodi yaitu sIg A dan Ig G (Abbas *et al.*, 2010; Larson *et al.*, 2010).

Temperatur dalam rongga mulut relatif konstan yaitu 34–36°C dan pH rongga mulut dipertahankan mendekati harga normal sekitar 6,76–7,25 oleh saliva. pH tersebut merupakan pH optimum untuk pertumbuhan mikroorganisme. Produk asam dinetralisir melalui pertahanan saliva melalui aktivitas kapasitas bufer saliva. Penurunan pH saliva memperkuat interaksi antigen dari *S. mutans* dengan reseptor pelikel permukaan gigi dan mendukung pertumbuhan berbagai varietas mikroorganisme (Marcotte & Lavoie, 1998)

Plak gigi dibentuk oleh aliran saliva dan kapasitas bufer saliva, dan merupakan media kolonisasi dan agregasi bakteri kariogenik. Plak terbentuk dari 70–80% mikroorganisme dan 20-30% matriks plak. Matriks plak merupakan glukosa, suatu polisakarida ekstraseluler yang terbentuk dari aktivitas gen *gtf* yang mensintesis enzim GTF. Glukosa berperan dalam perlekatan *S. mutans* melalui jalur *sucrosa dependent* yang bersifat *irreversible*. Komponen plak gigi terdiri dari mikroorganisme kariogenik, periodontopatogen dan bahan immunosupresi yang mampu meningkatkan respons imun inang selama proses karies. sIgA berperan sebagai penghambat kolonisasi *S. mutans* secara *in vitro*. Hal ini diduga karena sIgA menghambat kerja GTF sehingga glukosa tidak terbentuk, dan mengakibatkan hambatan perlekatan kuman pada mekanisme pembentukan plak gigi. sIgA dalam saliva sebaliknya tidak menyebabkan kematian *S. mutans* (Jaspersgaard *et al.*, 2002; Nobbs *et al.*, 2009).

Penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa kadar sIgA pada kelompok individu resistan karies lebih tinggi daripada kelompok individu rentan karies. Analisis penelitian ini menunjukkan kemampuan respons imun sIgA bersifat protektif pada saat terjadi kolonisasi *S. mutans* (Bratthall, 1996; Lehner, 1996).

Komponen imunitas saliva terhadap *S. mutans* menunjukkan karakteristik yang individual pada anak-anak. Respons anak terhadap infeksi merupakan korelasi dari keparahan infeksi dan usia saat terjadi infeksi. Keparahan infeksi berhubungan dengan dosis antigen dan usia anak berhubungan dengan kematangan respons imun. Saudara kandung mungkin memiliki spesifisitas antibodi IgA yang berbeda. Variasi ini

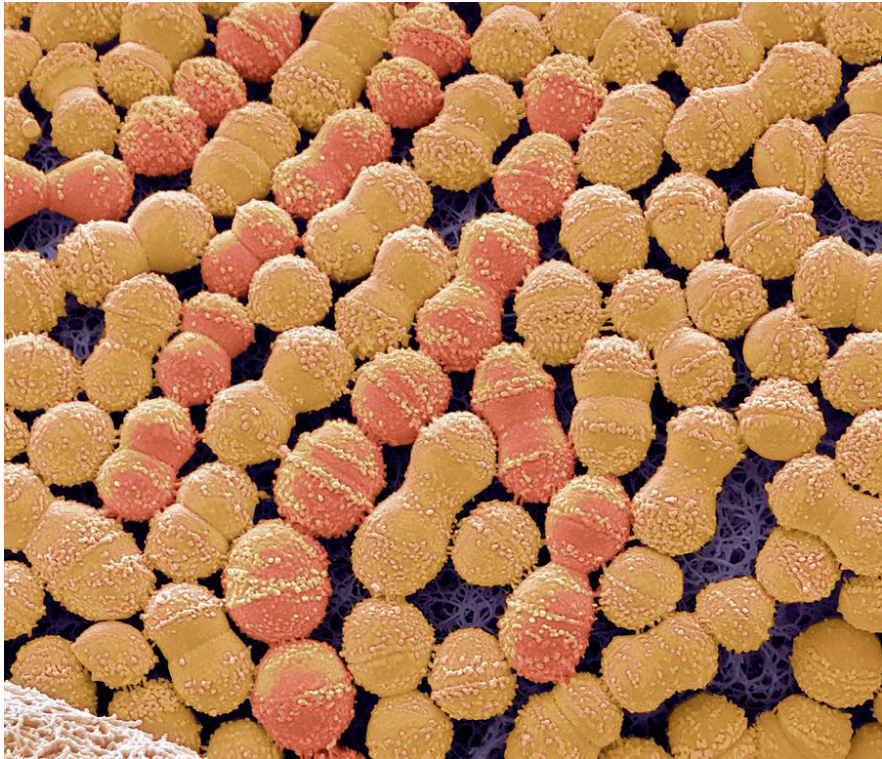
diduga disebabkan oleh kemampuan respons yang berbeda pada tiap anak atau karakteristik genetik yang berbeda dari tiap strain *S. mutans*. Spesifisitas dan kemampuan respons imun mukosa terhadap organisme berperan pada keberhasilan atau kegagalan kolonisasi kuman. Respons sIgA terhadap mikrobiota komensal oral mengindikasikan bahwa sistem imun mukosa anak-anak yang telah terinfeksi *S. mutans* berkembang sempurna pada awal masa kanak-kanak. Distribusi dan spesifisitas respons anak-anak terhadap *S. mutans* tidak identik namun antibodi terhadap beberapa antigen mayor bersifat predominan (Slayton *et al.*, 2005; Abbas *et al.*, 2010).

Streptococcus Mutans sebagai Agenia pada Patogenesis Karies Gigi

S. Mutans secara umum telah disepakati sebagai salah satu dari agenia penyebab utama karies. Biofilm dental mengandung komunitas bakteri kompleks dan kemampuan *S. mutans* lebih esensial dibanding *strain* lain dalam membentuk kolonisasi, karena *Strain S. mutans* mampu berkolonisasi dengan inang serta menyebabkan karies gigi lebih kuat dari *strain* lain. *S. mutans* memiliki epitop antigen PaC pada dinding selnya. PaC merupakan hasil karakteristik molekul antigen permukaan *S. mutans* serotipe C yang terlibat dalam proses karies gigi. PaC bertindak sebagai molekul adesin dan telah diidentifikasi sebagai substansi pada permukaan sel yang berhubungan dengan inisiasi adhesi *S. mutans* pada permukaan gigi (Senpuku *et al.*, 2001; Van Wallace, 2010).

S. mutans memiliki tiga protein mayor pada permukaan yaitu glukosiltransferase (GTF), *glucan-binding proteins* (GBPs), dan PaC. *Glucan-binding proteins* adalah protein adhesi permukaan yang berperan besar pada pembentukan biofilm, GTF adalah enzim yang disekresi oleh *S.*

mutans, dan PaC adalah epitop dari permukaan dinding sel yang berperan pada proses adesi (Van Wallace, 2010).



Gambar 3.1 Streptococcus Mutans (<https://fineartamerica.com/featured/streptococcus-mutans-steve-gschmeissnerscience-photo-library.html>)

Penelitian pada kolonisasi awal mikrobiota oral mampu menjelaskan hubungan antara antibodi, komponen saliva, dan reseptor bakteri (*adhesins*) yang terlibat dalam kolonisasi dan pembentukan plak gigi. Jalur ini pada akhirnya membuka jalan untuk memprediksi dan memodifikasi interaksi inang dan mikrobiota oral untuk peningkatan pertahanan inang (Smith & Taubman, 1992).

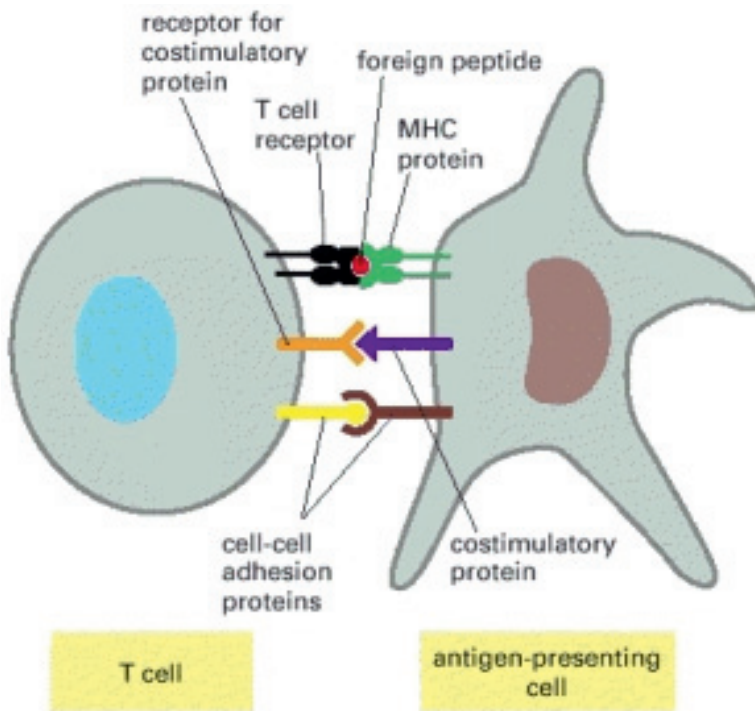
Sistem Imunitas Alami dan Adaptif

Kekebalan alami adalah bentuk pertahanan inang yang muncul di awal evolusi organisme multiseluler. Perbedaan pengenalan yang sangat beragam terhadap reseptor antigen memungkinkan sistem kekebalan tubuh adaptif mengenali antigen apapun. Keragaman ini menyebabkan ketidakmampuan untuk membedakan antigen asing dan antigen *self*. Sistem kekebalan tubuh alami menginduksi sejumlah reseptor dengan kekhususan untuk berbagai struktur mikroba. Pengenalan struktur ini menyebabkan sistem kekebalan tubuh alami menginduksi ko-stimulator, sitokin, dan kemokin untuk merekrut dan mengaktifkan limfosit pada respons imun adaptif (Medzhitov & Janeway, 2000).

Respons imun melibatkan dua bagian utama dari sel yaitu T limfosit dan *antigen presenting cell* (APC). Limfosit adalah salah satu tipe sel darah putih yang diproduksi di sumsum tulang melalui proses hematopoiesis. Limfosit meninggalkan tulang belakang untuk bersirkulasi ke dalam darah dan sistem limfatik, serta berada di berbagai organ limfoid. Limfosit memproduksi dan mengedarkan *antigen binding cell-surface receptor*, sehingga limfosit memediasi spesifisitas, diversitas, memori, dan pengenalan *self/non-self*. Dua populasi utama limfosit adalah *B lymphocyte* (sel B) dan *T*

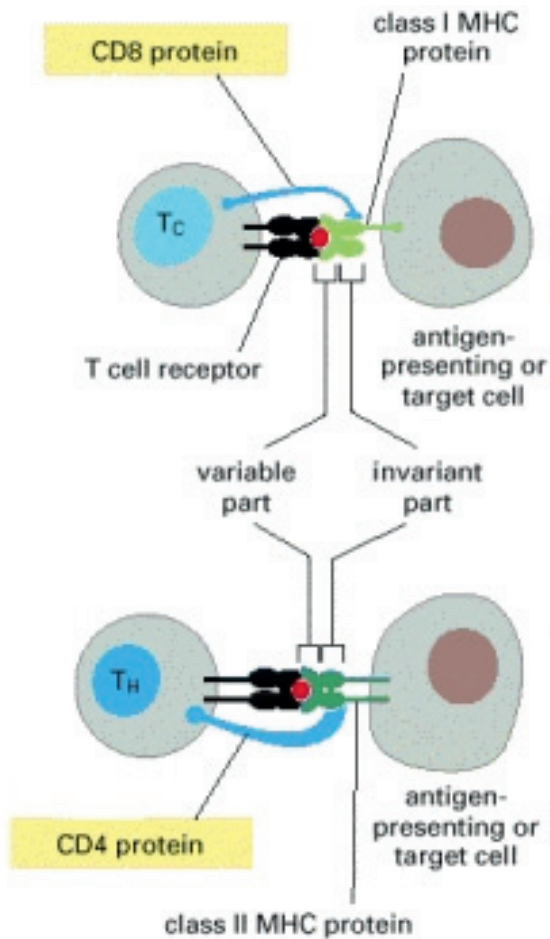
lymphocytes (sel T). Spesifitas CD4 untuk MHC klas II menyebabkan ikatan peptida- klas II dikenali oleh CD4+T limfosit, yang berfungsi sebagai sel T *helper*. Sel T *helper* ini membantu sel B limfosit memproduksi antibodi untuk membantu fagositosis mikroba (Horwitz *et al.*, 2003; Abbas *et al.*, 2010).

Presentasi MHC dan proses pengenalan peptida antigen adalah jalur penting dalam menstimulasi respons imun. Dasar imunitas yang dimediasi oleh sel T sangat berhubungan dengan fungsi penyajian peptida oleh molekul MHC. Mikroba ekstraseluler yang ditangkap oleh APC dipresentasikan oleh molekul MHC klas II dan diekspresikan pada membran APC.



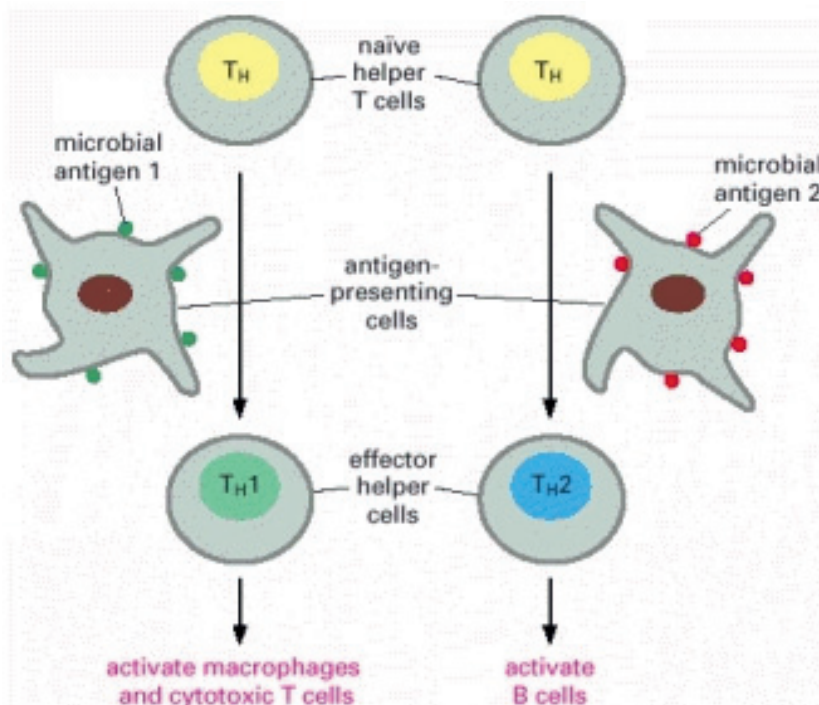
Gambar 4.1 Presentasi peptida antigen oleh MHC kepada reseptor sel T (Alberts *et al.*, 2002)

Sel T mengekspresikan CD4+ dan CD8+ dan sel NK untuk pengenalan antigen. CD4+ dan NK *cells* berfungsi sebagai imunitas humoral sedangkan CD 8 + berfungsi sebagai imunitas seluler. Reseptor sel T terikat pada lengan variabel atau polimorfik dari MHC membentuk cekungan ikatan peptida antigen. Sel T sitotoksik yang telah mengenali antigen berdeferensiasi menjadi sel T *helper* 0 (Tho).



Gambar 4.2 Pengenalan MHC klas I oleh CD8 dan MHC klas II oleh CD4 (Alberts *et al.*, 2002).

Sel Tho berdiferensiasi menjadi T *helper*-1 (Th1) dan T *helper*2 (Th2). Th1 dan Th2 masing-masing melepaskan sitokin. Sitokin yang dihasilkan sel Th1 antara lain IFN- γ dan IL-2 yang berfungsi pada proliferasi sel T. Th2 memproduksi IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, dan IL-13 untuk merangsang proliferasi dan diferensiasi sel B dalam sintesis antibodi (Medzhitov & Janeway 2000; Medzhitov, 2007).



Gambar 4.3 Diferensiasi sel T *helper* menjadi Th1 dan Th2 (Alberts *et al.*, 2002)

Limfosit B mengalami maturasi di sumsum tulang dan mengekspresikan *antigen-binding receptor* atau *B-cell receptor* yang merupakan molekul antibodi. Antibodi yang diproduksi oleh sel B adalah suatu glikoprotein yang terdiri dari dua rantai polipeptida H (*heavy*) dan dua rantai polipeptida L (*light*) yang identik. Rantai H berikatan dengan rantai L melalui ikatan disulfida. *Amino-terminal end* dari pasangan rantai

H dan L membentuk cekungan tempat ikatan antigen. Sel B menangkap antigen yang sesuai dengan antibodi dan ikatan antigen-antibodi ini menyebabkan sel B membelah dengan cepat menjadi sel B memori dan sel B efektor yang disebut sel plasma. Sel B memori memiliki masa hidup yang panjang daripada sel naif dan memiliki *membran-bound antibody* (Murphy *et al.*, 2008; Abbas *et al.*, 2010).

Tiap bagian dari antibodi memiliki fungsi masing-masing. Lengan Y berfungsi mengikat antigen dan mengenali benda asing tertentu. Bagian ini disebut sebagai *Fab (fragmen antigen binding)*. Bagian ini terdiri dari satu domain konstan dan satu domain variabel dari setiap rantai H dan L dari antibodi. Domain variabel ini dikenal sebagai daerah FV dan merupakan daerah untuk mengikat antigen. Wilayah variabel antibodi ini dikenal sebagai regio V dan bagian konstan disebut regio C (Murphy *et al.*, 2008)

Plasma sel melepaskan antibodi dalam bentuk yang dapat disekresi dengan atau tanpa *membran-bound antibody*. Masa hidup plasma sel hanya beberapa hari, tetapi mensekresi banyak antibodi. Diperkirakan satu plasma sel mampu mensekresi lebih dari 200 molekul antibodi per detik. Antibodi yang disekresi adalah molekul efektor mayor dari imunitas humoral (Abbas *et al.*, 2010).

Limfosit T mengalami maturasi di timus dan memunculkan *antigen-binding molecule* yang disebut reseptor sel T (*T-cell receptor*) pada membran sel. Jika *Membran-bound Antibodi* sel B mampu mengenali antigen secara kimiawi berbentuk protein, lipid, karbohidrat, dan asam nukleat, sebaliknya reseptor sel T hanya mampu mengenali antigen yang terikat pada protein membran sel yang disebut molekul *major histocompatibility complex* (MHC). Molekul MHC adalah kompleks genetik yang besar dan terdiri dari beberapa lokus, sehingga tiap molekul MHC mampu berikatan dengan peptida antigen yang terderivasi dari degradasi molekul antigen intraseluler (Abbas *et al.*, 2010).

Kekebalan tubuh inang tidak mengenali setiap antigen, tetapi hanya beberapa struktur mikroorganisme yang umum saja. Struktur ini disebut sebagai *pathogen-associated molecular patterns* (PAMP) dan reseptor sistem imun inang berevolusi untuk mengenali PAMP melalui *pattern-recognition*

receptors (PRR). Struktur PAMP yang banyak dikenal adalah bakteri lipopolisakarida, peptidoglikan, DNA bakteri, RNA untai ganda, dan glukon. Struktur tersebut secara kimiawi berbeda tetapi molekul PAMP mampu mengenali sebagai antigen (Medzhitov & Janeway, 2000).

Molekul PAMP dibentuk oleh mikroba patogen dan tidak dibentuk oleh inang. Jalur pengenalan inang terhadap PAMP dapat dijelaskan sebagai berikut. Pada jalur pertama lipopolisakarida disintesis oleh bakteri. Selanjutnya PRR mengenali lipopolisakarida dan memberi sinyal kepada inang tentang keberadaan organisme penyebab infeksi. Kedua, struktur ini dikenali oleh sistem kekebalan tubuh inang untuk pengenalan patogenisitas mikroorganisme. Ketiga, PAMP membentuk struktur yang sesuai dengan patogen. Sebagai contoh, semua bakteri gram negatif memiliki lipopolisakarida. Oleh karena itu PRR pada inang mengenali lipopolisakarida untuk mendeteksi keberadaan hampir semua infeksi bakteri gram-negatif (Fred dan Mackay, 2000).

Sistem Imunitas Mukosa

Sistem imunitas mukosa didominasi oleh satu *isotype* immunoglobulin yaitu sekretori IgA (sIgA) yang berperan besar pada imunitas adaptif dan imunitas alami. Sejumlah 70–75% dari seluruh immunoglobulin yang diproduksi oleh mamalia adalah IgA (Macpherson *et al.*, 2000; Macpherson & Uhr, 2004).

Rasio IgA dan IgG dari sekresi glandula parotis ke dalam kavitas oral 500 kali lebih besar dibandingkan sekresi di dalam serum. Densitas IgA plasma sel di glandula parotis 2–3 kali lebih tinggi dibanding densitas IgA di glandula labial dan submandibula sehingga tampak jelas bahwa IgA berperan penting pada mikrobiologi oral (Brandtzaeg, 2007).

Immunoglobulin A (IgA) adalah antibodi yang diproduksi di jaringan limfoid mukosa, disalurkan secara aktif melalui epitel, dan berikatan dengan mikroba untuk menetralkan mikroba yang menyerang organisme melalui organ mukosa. Antibodi yang disekresi di epitel berikatan dengan mikroba untuk mencegah pembentukan kolonisasi mikroba pada inang dan tipe imunitas ini disebut imunitas mukosa atau *secretory immunity* (Kindt *et al.*, 2006).

Sel dendritik akan mengekspresikan reseptor permukaan yang spesifik berbentuk kemokin (*cytokine chemoattracting*) pada nodus limfatik apabila sel dendritik pada epitel yang teraktifasi oleh antigen tidak mampu mengikat antigen di epitel. Kemokin ini mengarahkan sel dendritik pada epitel untuk bermigrasi melalui pembuluh limfatik ke nodus limfatik untuk melindungi epitelium (Kolls *et al.*, 2008).

Sel dendritik yang telah dewasa didesain untuk mampu menangkap antigen ke dalam APC dalam stimulasi sel T selama proses migrasi. Kematangan ini ditandai dengan peningkatan sintesa dan ekspresi molekul MHC yang stabil sehingga mampu mempresentasikan peptida antigen ke sel T dan molekul lain yang disebut ko-stimulator untuk meningkatkan respons sel T (Mestecky *et al.*, 2005).

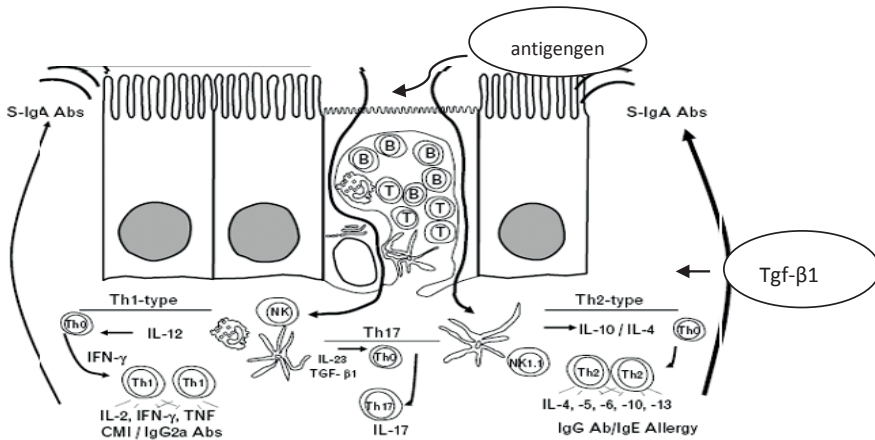
Antigen yang melekat pada epitel dan memasuki jaringan ikat atau organ parenkim selanjutnya ditangkap oleh sel dendritik yang berada di jaringan dan dibawa ke nodus limfatik. APC mempresentasikan peptida antigen ke CD4⁺ T helper dan berperan pada awal respons CD8⁺ sel T terhadap antigen dari intraseluler (Abbas *et al.*, 2010).

Paparan antigen pada mukosa mengaktifkan sel T dan sel B untuk menghantarkan induksi aktivasi efektor mukosa. Sistem imun mukosa mengaktifkan antigen-spesifik pada efektor mukosa di lokasi paparan awal antigen. Jalur ini disebut jalur respons antibodi sIgA di mukosa yang dimediasi oleh sel B dan sel T (Ogra *et al.*, 1999).

Sel T dalam keadaan normal bermigrasi ke kompartemen sistemik. Pengenalan antigen-spesifik di sel T pada kompartemen sistemik akan mempercepat respons proteksi mukosa (Ksander & Streilein, 1990; van Ginkel *et al.*, 2000).

Imunitas rongga mulut berkembang cepat pada awal kehidupan. Antibodi sIgA tidak tampak pada bayi saat lahir, tetapi satu bulan kemudian sIgA menjadi imunoglobulin saliva utama yang disekresi dalam rongga mulut. Pada awal kelahiran bayi, saliva bayi mengandung IgM dan IgA1. Enam hingga sembilan bulan kemudian, pada sebagian besar anak-anak menunjukkan distribusi subklas IgA1 dan IgA2 seperti orang dewasa. Hal ini menunjukkan bahwa maturasi respons imun mukosa

terjadi pada akhir tahun pertama usia seorang anak (Smith & Taubman, 1992).



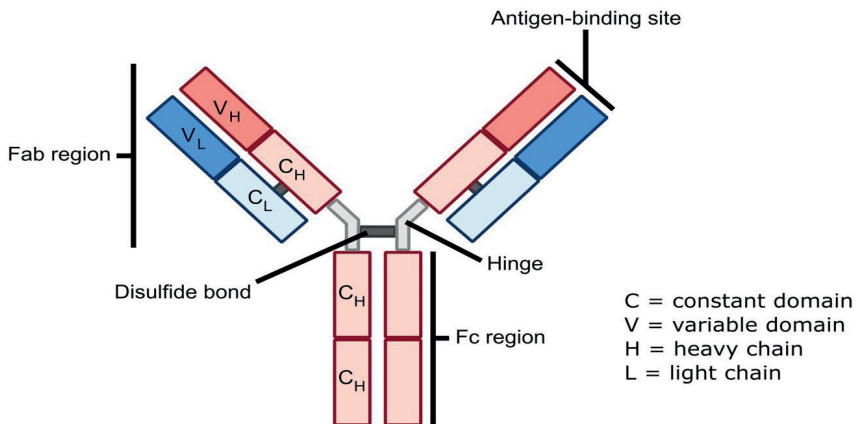
Gambar 5.1 Jalur pengenalan antigen pada sekresi sIgA (Williams & Wilkins, 2006).

PERAN ANTIBODI SIGA DALAM JALUR IMUNOGENETIK KARIES GIGI

Molekul antibodi terdiri dari empat rantai polipeptida, yaitu dua rantai berat [*Heavy (H) chains*] dan rantai ringan [*light (L) chains*], dengan masing-masing rantai terdiri dari satu regio variabel (*variabel region*) dan satu regio konstan (*constant regions*). Keempat rantai tersusun membentuk molekul berbentuk Y. Tiap satu rantai ringan terikat pada satu rantai berat, tiap dua rantai berat saling terikat oleh ikatan disulfida. Sebuah rantai ringan tersusun oleh satu domain V dan satu domain C. Sebuah rantai berat memiliki satu domain V dan tiga atau empat domain C. Tiap domain terlipat membentuk karakteristik tiga dimensi yang disebut domain Immunoglobulin (Ig). Domain Ig muncul sebagai protein di dalam dan di luar sistem imun. Sebagian besar protein ini terlibat pada pengenalan sinyal dari lingkungan atau dari sel lain. Semua protein ini disebut anggota superfamili Ig dan berbagai protein ini berasal dari gen yang diturunkan. Struktur antibodi berbentuk huruf Y yang terdiri dari dua rantai polipeptida H (*heavy*) dan dua rantai polipeptida L (*light*)

yang identik dan berikatan melalui ikatan disulfida. Fab (*fragmen antigen binding*) terdiri dari satu domain konstan dan satu domain variabel dari setiap rantai H dan L dari antibodi (Mestecky *et al.*, 2005; Murphy *et al.*, 2008; Abbas *et al.*, 2010).

Antibody



Gambar 5.2 Struktur antibodi (<https://step1.medbullets.com/immunology/105060/antibodies>)

Antibodi disekresi dalam darah dan mukosa, berfungsi untuk menetralkan dan mengeliminasi mikroba atau toksin. Antibodi dikenal sebagai Immunoglobulin (Ig) berdasar protein pembentuk imunitas dengan karakteristik mobilitas elektroporetik dari plasma globulin. Antibodi yang disekresi oleh inang mampu mengenali antigen melalui domain variabel yaitu ikatan membran (*membran-bound*) reseptor antigen dari limfosit B. Regio konstan dari antibodi memiliki kemampuan untuk mengikat molekul reseptor fagosit dan protein dari sistem komplemen. Molekul tersebut terlibat pada eliminasi antigen sehingga antibodi memiliki dua fungsi pada imunitas humoral. Antibodi dari ikatan membran sel B mengenali antigen untuk inisiasi respons imun humoral dan selanjutnya sekresi antibodi akan mengeliminasi antigen pada fase efektor dari proses

respons. Pada imunitas seluler, fungsi efektor pada eliminasi antigen diperankan oleh limfosit T (Kindt *et al.*, 2006).

Membran mukosa melapisi sistem pencernaan, respirasi dan urogenital merupakan pintu masuk sebagian besar patogen. Pertahanan permukaan mukosa berasal dari *mucosal-associated lymphoid tissue* (MALT). *Secretory IgA* berasal dari IgA berbentuk dimer atau tetramer, polipeptida rantai J, dan rantai polipeptida yang disebut komponen sekretori (*secretory component*). Komponen sekretori terdiri dari reseptor yang mampu menghantar polimer IgA menuju membran sel. Polipeptida rantai J pada IgA identik dengan IgM pentamer dan berfungsi untuk memfasilitasi polimerisasi IgA dan sIgA. Komponen sekretori berbentuk polipeptida dan diproduksi oleh sel epitel membran mukosa. Antibodi yang disekresi di dalam lumen disebut imunitas mukosa atau imunitas sekretori (Abbas *et al.*, 2010).

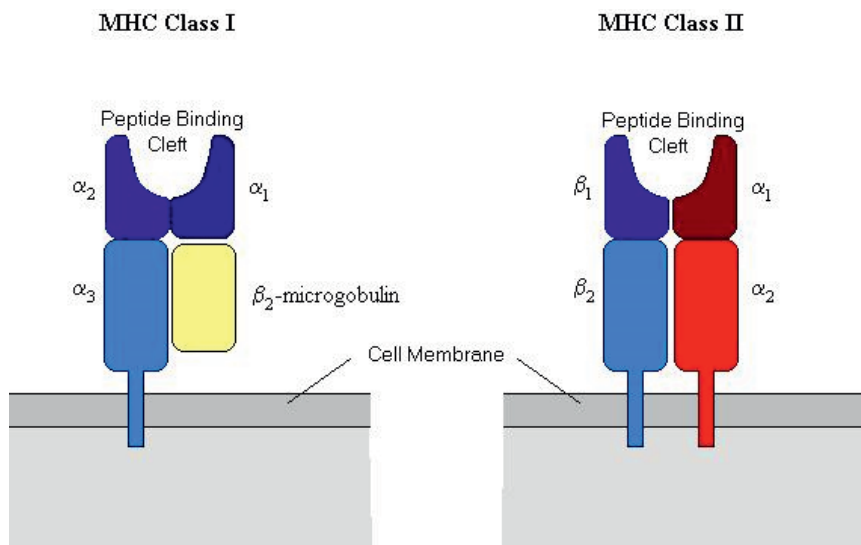
Major Histocompatibility Complex (MHC)

Molekul MHC adalah protein membran pada APC yang menyajikan peptida antigen untuk dikenali oleh sel limfosit T. Molekul MHC merupakan lokus genetik yang berperan besar pada cangkok jaringan antarindividu. Individu dengan lokus MHC identik akan mampu menerima cangkok jaringan dari individu lain, dan sebaliknya. Fungsi fisiologis molekul MHC adalah menyajikan peptida yang berasal dari APC. Protein MHC manusia dikenal dengan *Human leukocyte antigens* (HLA) dan terdapat lokus HLA di dalam gen yang mengkode molekul ini.

Molekul MHC terdiri dari dua set gen yang sangat polimorfik pada semua spesies. Gen ini mengkode molekul MHC klas I dan klas II yang berperan pada penyajian peptida antigen ke sel T dan bersifat polimorfik. Gen polimorfik ini mengkode protein yang terlibat pada presentasi antigen. Komposisi sub unit molekul klas I dan klas II berbeda, tetapi keseluruhan struktur keduanya sangat similar.

Molekul MHC klas I terdiri dari rantai $\beta 2$ dan dua domain *peptida-binding cleft* yaitu $\alpha 1$ dan $\alpha 2$. Molekul MHC klas II terdiri dari rantai α

dan β membentuk empat domain *peptida-binding cleft* (Gambar 2.6). Regio amino-terminal pada kedua rantai molekul MHC klas II disebut domain α_1 dan β_1 , mengandung residu asam amino polimorfik dan membentuk cekungan yang cukup untuk mengakomodasi 10–30 residu. Domain β_2 pada molekul MHC klas II bersifat polimorfik dan memiliki *binding site* untuk ko-reseptor sel T yaitu CD4. Ko-reseptor CD4 terikat pada molekul MHC klas II, maka sel CD4+T hanya mampu merespons peptida yang dipresentasikan oleh molekul MHC klas II (Becker *et al.*, 2006).



Gambar 6.1 Struktur MHC klas I dan MHC klas II (Klein & Sato, 2000)

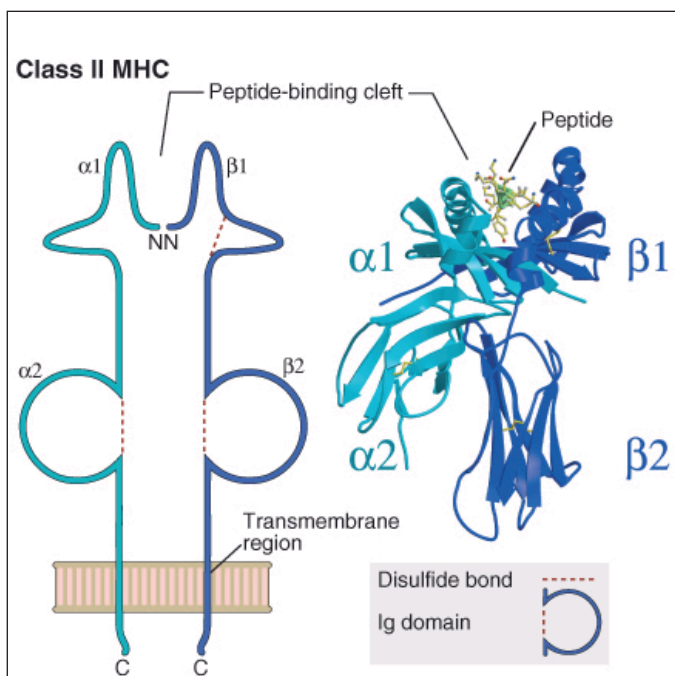
Gen MHC diekspresikan secara ko-dominan, artinya lokus-lokus MHC diturunkan dari kedua orang tua dan diekspresikan seimbang. Terdapat tiga gen polimorfik MHC klas I pada manusia yaitu HLA-A, HLA-B dan HLA-C sedangkan pada MHC klas II terdapat HLA-DR, HLA-DQ, dan HLA-DP. Lengan α pada satu lokus memiliki kemungkinan untuk berasosiasi dengan lengan β pada lokus yang berbeda. Campuran ini memunculkan kemungkinan terjadi molekul klas II "hibrid" sehingga

lebih dari 10-20 molekul HLA klas II yang berbeda dapat diekspresikan oleh gen ini (Brown, 2007; Becker *et al.*, 2006).

Molekul MHC klas II diekspresikan pada membran APC yaitu sel dendritik, makrofag, dan limfosit B. Pada sebagian besar molekul MHC terdapat saku pada bagian bawah *peptida-binding cleft*. Molekul MHC mengikat rantai asam amino dari peptida antigen yang sesuai dengan MHC dalam *cleft* melalui rantai yang disebut *anchor residu*, mengandung beberapa residu yang sesuai dan dikenali oleh reseptor antigen sel T (Abbas & Lightman, 2007).

Tiap molekul MHC hanya dapat mempresentasikan satu peptida pada satu waktu karena hanya memiliki satu *cleft*, tetapi tiap molekul MHC mampu mempresentasikan peptida yang berbeda. Selama saku molekul MHC dapat mengakomodasi ikatan residu peptida, maka peptida tersebut dapat disajikan oleh molekul MHC. Hanya satu atau dua residu dalam suatu peptida memiliki kesesuaian dengan *cleft* molekul MHC, maka molekul MHC dikatakan memiliki spesifitas khusus untuk mengikat satu peptida (Abbas & Lightman, 2007; Abbas *et al.*, 2010).

Molekul MHC hanya berikatan dengan peptida antigen dan tidak berikatan dengan antigen bentuk lain. Ikatan MHC-CD4+sel T dan ikatan MHC-CD8+sel T hanya dapat dikenali dan direspons sebagai protein antigen yang merupakan bahan dasar dari peptida. Peptida yang berikatan dengan molekul MHC dan disajikan pada permukaan sel akan tetap terikat dalam jangka panjang hingga beberapa hari.



Gambar 6.2 Peptida-binding cleft pada MHC klas II (Abbas *et al.*, 2010)

Gen MHC bersifat sangat polimorfik, artinya terdapat berbagai lokus yang berbeda di antara individu satu dan lainnya dalam satu populasi. Evolusi pada polimorfisme MHC membuat suatu populasi akan mampu beradaptasi dengan diversitas mikroba dan mampu mengadaptasi mutasi mikroba karena beberapa individu akan memberikan respons imun terhadap peptida antigen dari suatu mikroba. Residu polimorfik menentukan macam peptida yang dipresentasikan oleh suatu molekul MHC maka akan selalu ada individu dalam satu populasi yang mampu mempresentasikan protein antigen dari suatu mikroba. Molekul MHC dikode oleh sekuen *deoksiribonukleotide* (DNA) yang diturunkan dan variasi polimorfisme tidak diinduksi oleh rekombinasi gen pada reseptor antigen (Abbas *et al.*, 2010).

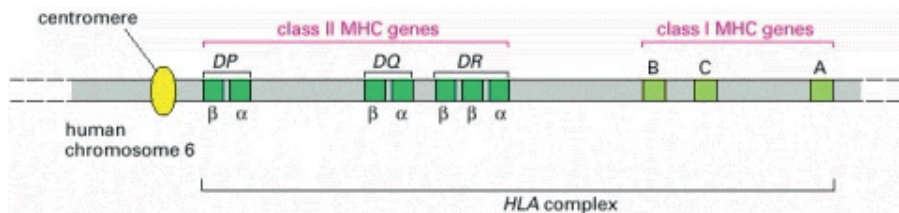
Lokus HLA-DRB1

SIGNALLING INTRASELULER PADA PENGENALAN PROTEIN ANTIGEN

Protein ekstraseluler dikenali oleh APC, selanjutnya diproses dan disajikan oleh molekul MHC klas II. Molekul APC mengenali mikroba ekstraseluler atau protein mikroba melalui berbagai mekanisme yaitu fagositosis mikroba atau pinositosis protein. Setelah pengenalan APC dengan berbagai jalur di atas, protein mikroba memasuki vesikel intraseluler yang disebut endosom atau fagosom untuk dilebur bersama Molekul HLA adalah nama untuk MHC pada manusia. *Superlocus* ini mengandung sejumlah besar gen yang berhubungan dengan fungsi sistem imun pada manusia. Kelompok gen ini terdapat di kromosom 6. Lokus HLA-DRB1 sebesar 266 bp terletak pada nukleotida 136-402 pada gen HLA (*gene bank reference sequence: NM_002124.2*). Molekul MHC diketahui merupakan lokus genetik yang berperan besar pada cangkok jaringan antarindividu. Individu yang identik pada lokus MHC akan mampu menerima cangkok jaringan dari individu lain dan sebaliknya (Hornick & Rose, 2006).

Pada semua spesies, lokus MHC terdiri dari dua set gen yang sangat polimorfik. Gen ini mengkode molekul MHC klas I dan klas II yang berperan pada penyajian peptida antigen ke sel T. Komposisi sub unit

molekul klas I dan klas II berbeda, tetapi keseluruhan struktur keduanya sangat similar (Kindt *et al.*, 2006).



Gambar 7.1 Lokus HLA-DRB dari MHC klas II pada kromosom 6 manusia (Alberts *et al.*, 2002).

Diversitas pada molekul MHC terjadi antarspesies dan antarindividu. Variabilitas ini menyebabkan diversitas antibodi dan sel T reseptor, tetapi pemicu diversitas pada molekul MHC tidak selalu sama. Antibodi dan reseptor sel T dikendalikan oleh berbagai proses somatik. Pembentukan reseptor sel T dan sel B bersifat dinamis dan berubah tiap waktu pada tiap individu. Ekspresi molekul MHC yang diekspresi secara individual bersifat tetap di dalam gen dan tidak berubah seiring waktu. Diversitas MHC pada suatu spesies menyebabkan polimorfisme sehingga terdapat lokus ganda pada suatu lokus genetik. Diversitas MHC pada suatu individu bukan hanya disebabkan oleh perubahan lokus pada suatu gen tetapi juga disebabkan oleh duplikasi gen (Boehm, 2006).

MORFOLOGI HLA-DRB1

Molekul HLA memiliki perbedaan lokus yang besar pada tiap lokus dan diketahui sebagai gen paling polimorfik pada vertebrata bahkan 350 lokus dari lokus DRB1 telah ditemukan. Gen kelas II bergabung membentuk reseptor protein heterodimer ($\alpha\beta$) yang diekspresikan di permukaan *antigen presenting cells* (APC). Molekul MHC kelas II mayor terdiri dari HLA-DP, HLA-DQ dan HLA-DR. HLA-DP terdiri dari rantai- α yang disandi oleh lokus HLA-DPA1 dan rantai β yang disandi oleh lokus HLA-DPB1. HLA-DQ terdiri dari rantai- α yang disandi oleh lokus HLA-DQA1 dan rantai β

yang disandi oleh lokus HLA-DQB1. HLA-DR terdiri dari rantai- α yang disandi oleh lokus HLA-DRA dan 4 rantai β , disandi oleh lokus-lokus HLA-DRB1, DRB3, DRB4, DRB5. Cara penamaan (*nomenclature*) lokus HLA diawali dengan HLA; kedua, nama lokus, misal lokus DRB1, DRB2, DRB3, DRB4; ketiga, bintang (*), keempat, kombinasi beberapa angka yang menspesifikasi lokus, terdiri dari dua angka pertama menspesifikasi grup lokus. Angka ketiga dan keempat menspesifikasi sinonim lokus (Kindt *et al.*, 2006).

POLIMORFISME HLA-DRB1

Diversitas lokus pada MHC klas I dan II sangat ekstensif dengan ribuan lokus yang telah ditemukan. Polimorfisme HLA-DRB1 terjadi pada suatu populasi melalui seleksi keseimbangan, terutama seleksi pola patogenitas pada perkembangan heterozigot. Hal ini menunjukkan bahwa penyakit yang berhubungan dengan HLA berbeda pula pada tiap kelompok etnik. Penelitian pada beberapa kelompok etnik yang berbeda menyimpulkan bahwa lokus HLA-DRB1 yang menjadi petanda kerentanan suatu penyakit pada suatu kelompok etnik dengan kelompok etnik lain (Wright & Hart, 2002).

Hubungan Polimorfisme HLA dan Risiko Karies

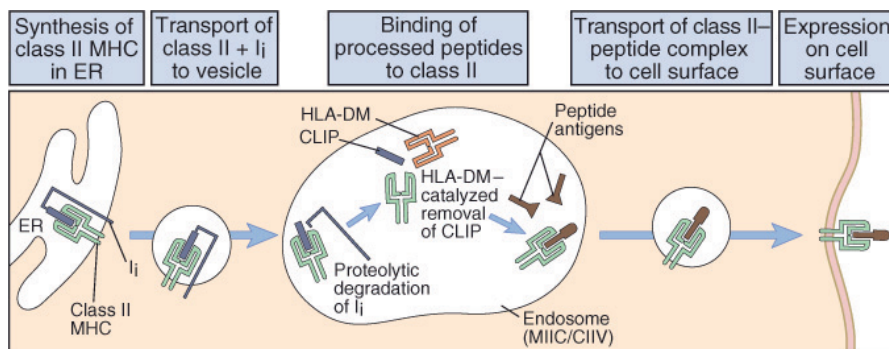
Antibodi berperan dalam imunitas dan berhubungan dengan HLA. Penelitian Brandtzaeg (2007) membuktikan bahwa kadar tinggi sIgA berhubungan dengan penurunan karies gigi. Kadar antibodi tinggi pada sIgA ini berhubungan dengan penurunan koloni *S. mutans* pada saat awal kolonisasi (Nogueira *et al.*, 2005).

Hipotesis ini berdasar pada interaksi sIgA dengan epitop adesi dari bakteri kariogenik misalnya PaC, GTF, atau GBP. Fungsi sIgA adalah menghambat adhesi, opsonisasi, fagositosis, dan penghancuran oleh neutrofil sehingga antigen *S. mutans* tidak mampu merusak permukaan gigi dan membentuk karies gigi. Imunitas tubuh melawan karies gigi harus mampu menghambat adhesi bakteri kariogenik atau mampu melakukan agregasi terhadap *S. mutans* sehingga pembentukan lesi karies dapat dicegah (Fontana *et al.*, 2000).

Enzim lisosomal. Dalam vesikel ini protein dipecah oleh enzim proteolitik menjadi beberapa peptida dengan panjang dan sekuen yang berbeda. Molekul APC secara konstan mensintesa molekul MHC dalam endoplasmik retikulum (Mestecky *et al.*, 2005; Abbas & Lightman, 2007).

Molekul MHC klas II yang telah disintesis dibawa oleh protein pengikat yang disebut *Class II Invariant Chain Peptida* (CLIP) yang terikat kuat pada *peptida-binding cleft* pada molekul MHC klas II. Selanjutnya, terbentuk *cleft* pada molekul klas II. Molekul klas II yang masih mampu mengikat antigen ini mulai bergerak ke permukaan sel dalam vesikel eksositik, kemudian melebur dengan vesikel endosomal yang mengandung peptida yang telah terpotong yang berasal dari protein ekstraseluler (Abbas *et al.*, 2010).

Vesikel endosom mengandung protein mirip klas II yang disebut HLA-DM, berfungsi untuk melepaskan CLIP dari molekul MHC klas II. Setelah CLIP terlepas, maka *cleft* pada molekul klas II mampu menerima peptida. Apabila molekul MHC klas II mampu mengikat satu peptida yang berasal dari protein yang tertangkap, maka ikatan kompleks ini menjadi stabil dan dibawa ke permukaan sel. Apabila molekul MHC tidak mendapatkan peptida untuk diikat, molekul ini menjadi tidak stabil dan didegradasi oleh protease di dalam endosom. Setiap protein antigen dapat dipecah menjadi berbagai peptida, tetapi hanya beberapa peptida dapat berikatan dengan molekul MHC pada satu individu. Maka hanya peptida dari antigen ini yang mampu menstimulasi respons imun pada individu tersebut sehingga peptida ini disebut epitop imunodominan dari suatu antigen (Abbas *et al.*, 2010).



Gambar 8.1 Jalur intraseluler pada pengenalan protein antigen (Abbas *et al.*, 2010)

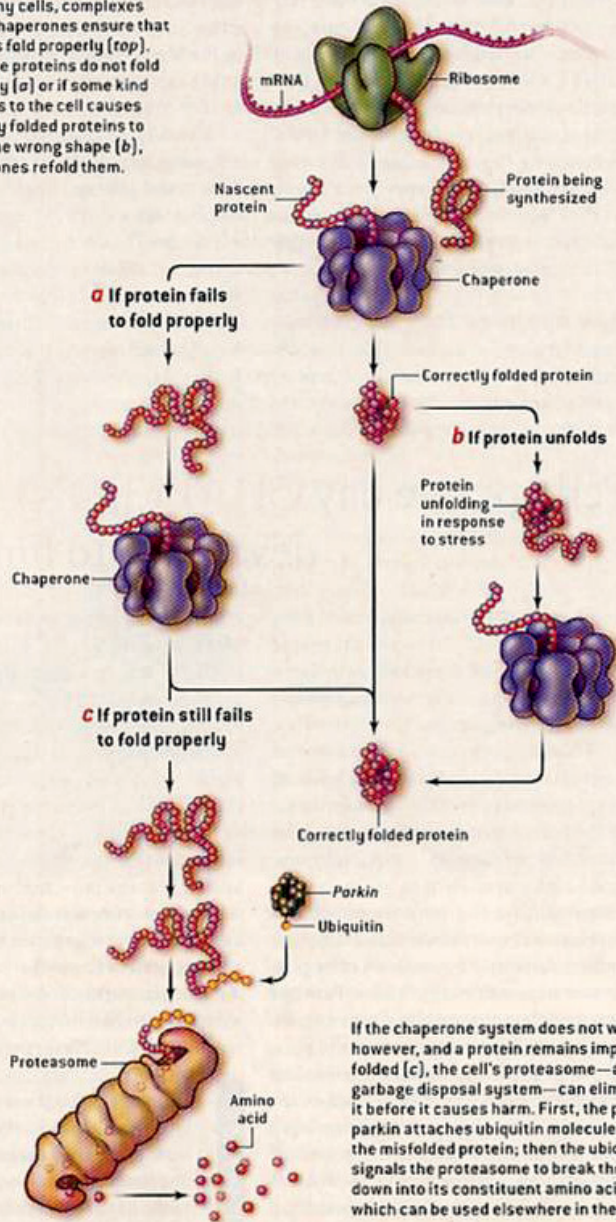
Presentasi dan pemrosesan protein antigen adalah jalur penting dalam menstimulasi respons imun. Dasar imunitas yang dimediasi oleh sel T sangat berhubungan dengan fungsi penyajian peptida oleh molekul MHC. Mikroba ekstraseluler yang ditangkap oleh APC, limfosit B, dan makrofag dipresentasikan oleh molekul kelas II dan diekspresikan pada membran APC. Berdasarkan spesifitas CD4 untuk kelas II, ikatan peptida- kelas II telah dikenali oleh CD4+T limfosit yang berfungsi sebagai sel *helper*. Sel T *helper* ini membantu sel B limfosit memproduksi antibodi untuk fagositosis mikroba (Murphy *et al.*, 2008).

Multiplicity loci pada rantai berat (α) dan rantai ringan (β) terhadap pengenalan antigen menyebabkan tingginya diversitas kombinasi molekul HLA kelas II pada manusia. Peningkatan kerentanan beberapa penyakit diantaranya berhubungan dengan lokus HLA ini (Kindt *et al.*, 2006).

Molekul MHC yang tidak mendapatkan peptida untuk diikat menyebabkan molekul ini menjadi tidak stabil dan didegradasi oleh protease di dalam endosom. Mekanisme ini disebut pendekatan konformasi protein. Polipeptida yang lebih pendek menyebabkan struktur tiga dimensi protein tersebut abnormal dari segi kualitas. Struktur protein ini memicu *chaperon* untuk melakukan *refolding* (pelipatan ulang). Apabila *refolding* polipeptida gagal dilakukan maka dilanjutkan dengan meningkatkan hidrolisis atau destruksi polipeptida melalui sistem *ubiquitin* proteasom. Hal ini akan memengaruhi sinyal presentasi peptida antigen kepada reseptor sel T (Lodish *et al.*, 2000; Tropp, 2008).

PROTEIN FOLDING IN NORMAL CELLS

In healthy cells, complexes called chaperones ensure that proteins fold properly (top). When the proteins do not fold correctly (a) or if some kind of stress to the cell causes normally folded proteins to adopt the wrong shape (b), chaperones refold them.



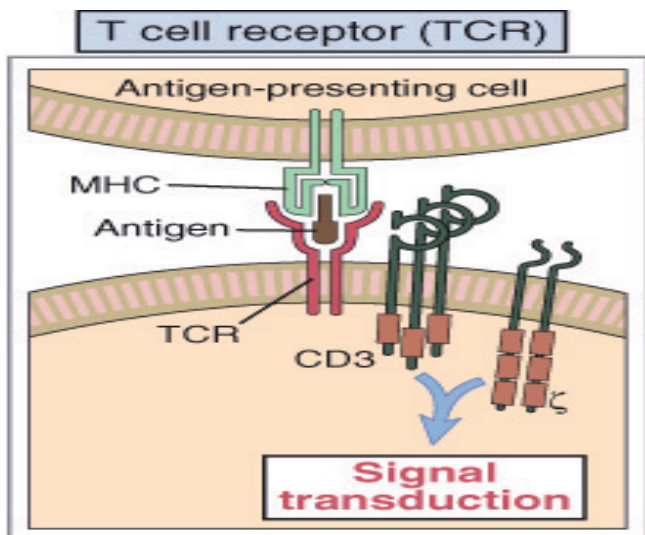
Gambar 8.2 Jalur protein folding (Tropp, 2008)

Transduksi Sinyal pada Presentasi Peptida Antigen

Transduksi sinyal merupakan proses penyampaian pesan dari satu sel ke sel yang lain. Transduksi sinyal adalah bagian sebuah sistem komunikasi yang sangat kompleks pada tingkat seluler yang mengatur aktivitas dan koordinasi antar sel. Dalam kasus karies gigi, bila *S. mutans* masuk ke permukaan mukosa dan diterima oleh *Antigen Presenting Cells*, maka antigen tersebut akan dipecah oleh *Antigen Presenting Cells* menjadi peptide antigen. Peptida antigen berupa protein pendek tersebut selanjutnya akan diinformasikan oleh *Antigen Presenting Cells* sebagai pesan yang disampaikan ke sel T untuk mengaktifasi suatu sistem imunologi yang lebih kompleks. Molekul peptida antigen tersebut merupakan isyarat ekstraseluler fungsional pada jarak dekat maupun jarak jauh, dengan reseptor yang spesifik. Pesan berupa protein pendek ini akan bertemu reseptor yang sesuai dengan peptide antigen tersebut di dinding sel lawan. Pertemuan ini akan menyebabkan membran sel mengaktifasi reseptornya dan mengakibatkan ada suatu tanggapan dari sel T. Selanjutnya tanggapan sel T akan berpengaruh terhadap sel B untuk aktifasi immunoglobulin.

Antigen reseptor dari limfosit B dan limfosit T memiliki beberapa bentuk yang berfungsi penting pada imunitas adaptif. Reseptor antigen limfosit B dan limfosit T mengenali struktur antigen secara kimiawi. Limfosit B mampu mengenali bentuk atau konformasi makromolekul seperti protein, lipid, karbohidrat, dan asam nukleat sebagai grup kimiawi kecil atau bagian dari makromolekul. Sebaliknya, sel T hanya mengenali peptida yang disajikan oleh APC dan terikat pada membran protein yang dikode oleh lokus genetik MHC (Kindt *et al.*, 2006; Abbas *et al.*, 2010).

Reseptor Antigen terikat secara kovalen terhadap berbagai molekul yang berfungsi menghantarkan aktivasi sinyal ke dalam sel T dan dipicu oleh pengenalan antigen (*antigen recognition*). Reseptor limfosit T untuk antigen memiliki dua fungsi yaitu pengenalan antigen spesifik (*specific antigen recognition*) dan signal transduksi dengan mediator polipeptida. Kompleks reseptor antigen dan molekul *signalling* pada limfosit B disebut *B Cell Receptor (BCR) complex* dan pada limfosit T disebut *T Cell Receptor (TCR) complex* (Abbas *et al.*, 2010).



Gambar 9.1 Pengenalan antigen dan signal transduksi selama aktivasi sel T (Abbas *et al.*, 2010).

Pada umumnya transduksi sinyal melibatkan tiga jalur utama. Jalur yang pertama adalah transduksi yang mampu menimbulkan perubahan reseptor yang menyebabkan interaksi antara reseptor dengan molekul intraseluler. Transduksi sinyal menyebabkan perubahan konformasi protein yang berpengaruh terhadap mekanisme dan peran suatu protein dalam suatu sistem. Mekanisme ini melibatkan unsur ligan dan reseptor yang bekerja secara berpasangan. Jalur yang terakhir adalah respons seluler. Respons ini berupa aktivitas seluler, atau aktivitas gen yang bersifat spesifik.

Pada eukariota, transduksi ekstraseluler terjadi oleh sekresi molekul tertentu yang diklasifikasikan menjadi tiga bagian endokrin, parakrin, dan otokrin berdasarkan jarak tempuh isyarat.

Sinyal endokrin secara khusus disebut hormon, mempunyai jarak tempuh yang sangat jauh dari organ endokrin tempat sintesis molekul dengan sel target. Pada hewan, hormon biasanya diusung oleh darah mengarungi jarak tempuh yang jauh tersebut.

Sinyal parakrin dilepaskan oleh sebuah sel hanya berpengaruh terhadap sel target yang berada di sekitarnya. Salah satu contoh isyarat parakrin adalah pulsa elektrik yang dilepaskan oleh neuron ke sel saraf yang lain, dan dari neuron ke sel otot. Saat teraktivasi oleh isyarat parakrin dari sel saraf lain, neuron mengirimkan impuls elektrik secara cepat di sepanjang akson; ketika impuls mencapai ujung akson, ujung saraf akan mensekresikan isyarat kimiawi yang disebut neurotransmitter.

Sinyal otokrin merupakan isyarat yang direspons oleh sel-sel sejenis dengan sel yang melepaskan molekul isyarat. Salah satu contoh adalah *Growth Factor* yang merupakan stimulator bagi sel-sel sejenis untuk tumbuh berkembang dan melakukan proliferasi.

Peran TGF- β 1 pada *Switching Isotype* sIgA

Sel dendritik mengenali epitop antigen dari *S. mutans* dan mempresentasikannya ke sel T. Hal ini menghasilkan sinyal sitokin yang dikeluarkan di sinaps Th2- sel B menyebabkan migrasi sel B ke *Germinal center* dari folikel untuk berproliferasi hingga terjadi hipermutasi somatik dan *switching isotype* atau *class switch recombination* (CSR). Induksi ini terjadi karena pengenalan kompleks sel T-HLA kelas II-epitop antigen. Mutasi terjadi pada rantai H dan L dari segmen variabel (V) pada gen Ig dalam *germinal center* menyebabkan peningkatan ikatan afinitas antibodi. Gen regio konstan (C) terus berubah dan respons imun adaptif terhadap antigen PaC I/II mengalami maturasi. Regio ini berperan penting dalam merekrut sitokin dari sel lain dan menghasilkan sifat *isotype* fungsional yang berbeda. Bagian dari regio *isotype* C dikenali oleh sel efektor imunitas tertentu. Regio C juga membantu mengangkut antibodi dan melibatkan transpor aktif, seperti sIgA. Selama proliferasi sel B dalam *germinal Center*, regio C antibodi mengalami modifikasi menjadi CSR. CSR terbentuk untuk merespons sitokin yang diproduksi Th untuk perubahan CSR menjadi IgA.

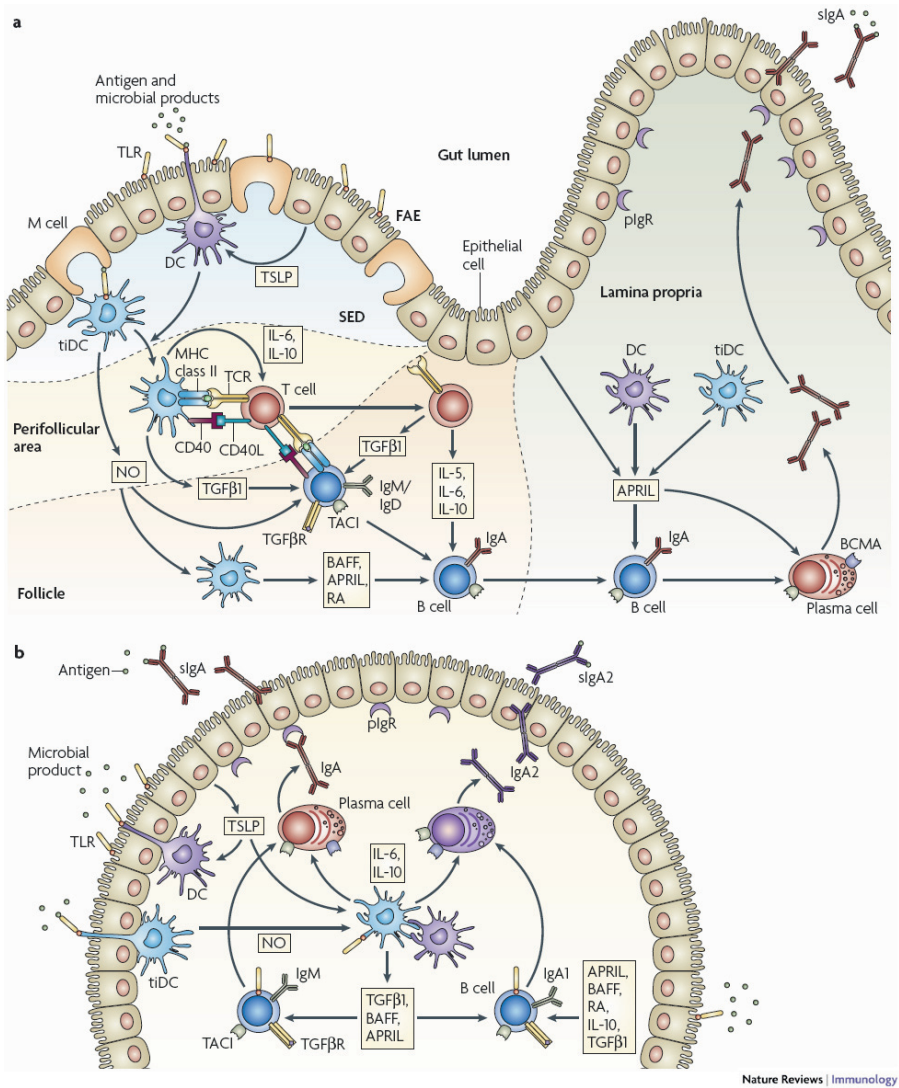
Perubahan ini membutuhkan sitokin TGF- β 1 dengan kontribusi dari IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, dan IL-10 yang telah diinduksi oleh interaksi antara HLA kelas II, antigen, sel Th2, dan sel B (Rodriguez, 2005; Van Wallace, 2010).

Antibodi yang disekresi adalah molekul efektor mayor dari imunitas humoral. Kecenderungan jaringan limfoid mukosa memproduksi IgA karena sitokin utama yang menginduksi *switching isotype* ini yaitu TGF- β 1 diproduksi dalam jumlah besar pada jaringan limfoid mukosa. Produksi TGF- β 1 terkait dengan hambatan produksi IL-4 oleh sel Th2 untuk menghambat produksi IgE. IgA yang telah diproduksi lamina propria dari organ mukosa secara aktif disalurkan oleh reseptor khusus yaitu *Fc receptor* melalui epitel ke dalam lumen. Aktivasi S-IgA membutuhkan TGF- β 1 untuk mengaktifkan sel B menghasilkan IgA (Lebman *et al.*, 1990; Borish & Steinke, 2003).

Dalam beberapa tahun terakhir, penelitian pada tikus *knockout* telah memberi kontribusi pemahaman yang lebih baik tentang peran sel-sel tertentu, sitokin, dan molekul yang terlibat dalam *isotype switching* IgA. Diperkirakan *isotype switching* terjadi di lokasi mukosa induktif, sedangkan produksi IgA oleh sel plasma terjadi pada mukosa efektor, memisahkan *switching* IgM dan IgA yang disekresi oleh sel B menjadi kompartemen imunitas yang berbeda. Masing-masing tahapan memerlukan sinyal spesifik, seperti molekul *costimulatory*, sitokin, dan sel *T-helper*, yang mampu meningkatkan antigen spesifik S-IgA di bagian efektor mukosa. Baik Th1-Th2 maupun sitokin memberi kontribusi signifikan terhadap *switching* IgA di permukaan membran sel B (Lebman *et al.*, 1990).

Proses *switching* ini memerlukan transformasi TGF- β 1 yang mampu mengaktifkan *switching* sel B ke *isotype* IgA. Penelitian pada kultur aktif sel B membuktikan bahwa TGF- β 1 menginduksi sebagian kecil (< 2%) sel B untuk *switching* ke *isotype* IgA. TGF- β 1 yang digunakan dalam kombinasi sinyal, terbukti bahwa TGF- β 1 meningkatkan *switching* sel B menjadi IgA sebesar 10% sampai 20% di *Peyer's Patch*. Dengan demikian, beberapa aktivasi sinyal berkontribusi terhadap *switching isotype* IgA, yaitu B-sel. Aktivasi silang reseptor antigen sel B saling berinteraksi untuk

meningkatkan *switching*. TGF- β 1 mengarahkan *switching* ke isotype IgA dan sitokin Th2 meningkatkan *switch* IgA di B sel (Lebman *et al.*, 1990).



Gambar 10.1 Mekanisme *switching* isotype IgA (Macpherson *et al.*, 2008)

Sel B memproduksi IgA dari T sel dan sel dendritik yang berasal dari limpa. Hal ini menunjukkan bahwa induksi pada mukosa memicu aktivitas sel T atau sel dendritik yang berpengaruh terhadap sel B untuk berdiferensiasi dalam produksi IgA. Sel T *helper* memainkan peran penting dalam mengenali antigen untuk menghasilkan imunitas humoral spesifik pada mukosa. Diferensiasi sel THo menjadi Th1 atau Th2 didorong oleh sitokin seperti *interleukin 12* (IL-12), IL-4, dan *Interferon α* (IFN- α). Patogen intraseluler, seperti virus dan bakteri intraseluler menginduksi produksi IL-12 atau IL-18 oleh aktivasi makrofag (van Ginkel *et al.*, 2000).

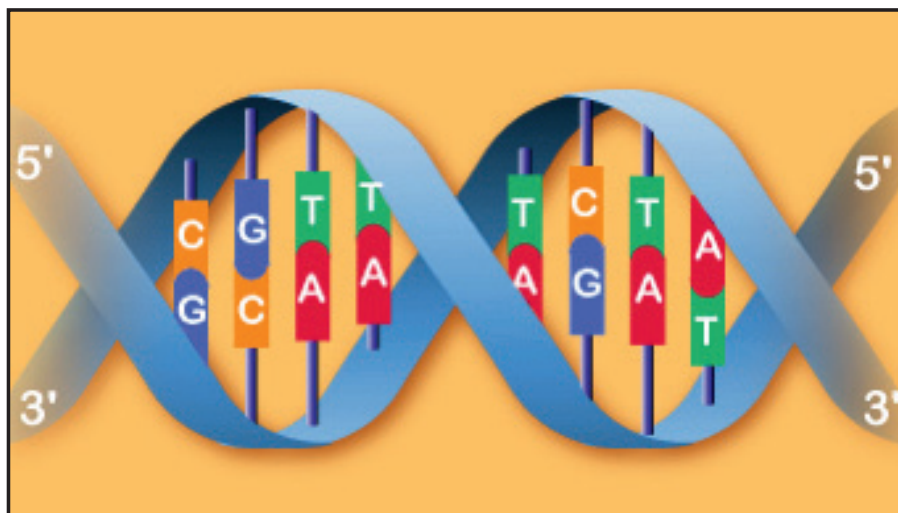
Struktur DNA

DNA merupakan makromolekul yang terbentuk dari DNA, yang tersusun dari satu basa, satu gula, dan satu gugus fosfat. Basa pada molekul DNA berperan sebagai pembawa informasi genetik (Becker *et al.*, 2006; Weaver, 2008).

DNA terdiri dari 4 jenis basa yang berikatan dengan gula dan fosfat sebagai tulang punggung (*back bone*). Basa nitrogen DNA merupakan derivat purin atau pirimidin. Basa purin dan pirimidin berikatan secara non kovalen satu sama lain. Oleh karena itu, suatu polinukleotida tersusun atas kerangka gula-fosfat yang berselang-seling dan mempunyai ujung 5'-P dan 3'-OH. DNA berbentuk "*double helix*" dan bentuk ini hanya dapat stabil apabila basa Adenin berpasangan dengan basa Timin, Sitosin berpasangan dengan Guanin. Purin terdiri dari susunan basa Adenin (A) dan Guanin (G), sedangkan pirimidin terdiri dari basa Timin (T) dan Sitosin (C) (Brown, 2007; Weaver, 2008).

Pasangan Adenin dengan Timin dihubungkan melalui 2 ikatan hidrogen, sedangkan pasangan Sitosin dengan Guanin oleh 3 ikatan hidrogen. Dengan demikian, satu anggota pasangan basa dalam suatu heliks DNA harus selalu berupa purin dan yang lain berupa pirimidin dan

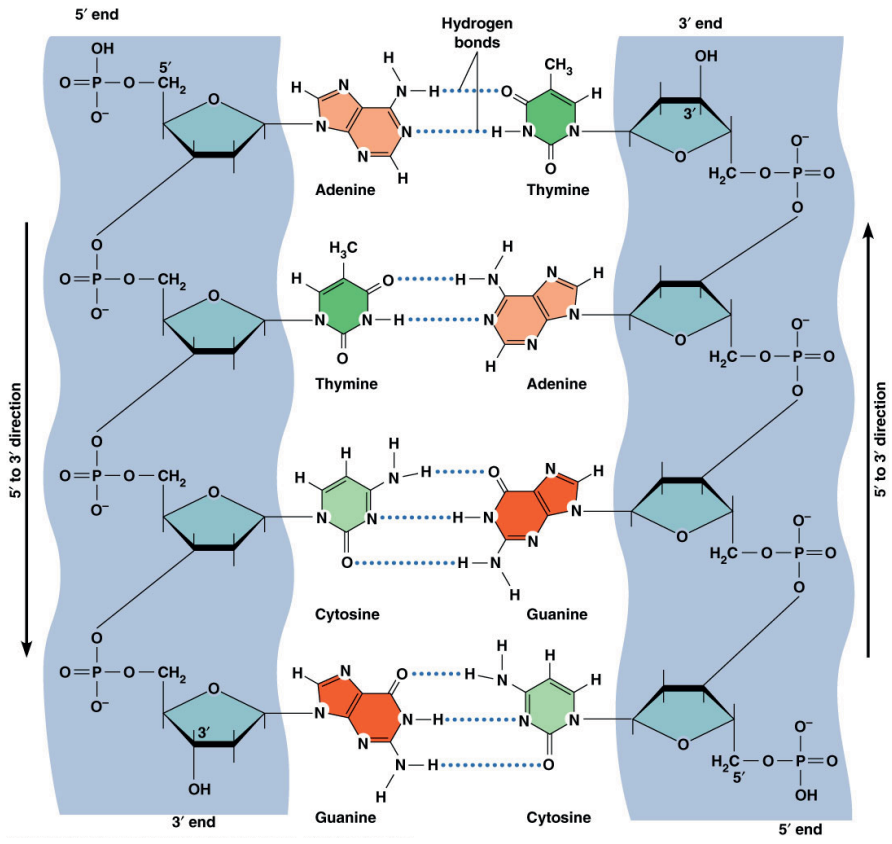
pasangan basanya terikat melalui ikatan hidrogen. Atom-atom hidrogen dalam basa purin dan pirimidin mempunyai letak yang sudah ditentukan (Weaver, 2008).



Gambar 11.1 Struktur molekul DNA (Weaver, 2008)

Adenin tidak dapat berpasangan dengan Sitosin karena hanya terdapat dua hidrogen, demikian pula Guanin tidak dapat berpasangan dengan Timin. Dari susunan molekul dan ikatan basa di dalam molekul DNA maka DNA berbentuk *double helix* seperti yang dikemukakan oleh Watson dan Crick (Brown, 2007).

Interaksi biomolekuler molekul-molekul dalam DNA diperantarai oleh 3 macam ikatan nonkovalen. Tiga ikatan nonkovalen dasar itu adalah ikatan elektrostatik, ikatan hidrogen, dan ikatan *van der waals*. Ketiganya berbeda dalam geometri, kekuatan, dan spesifitas. Kekuatan ikatan masing-masing tersebut berbeda karena pengaruh air. Ikatan nonkovalen tidak sekuat ikatan kovalen, tetapi mempunyai peran penting dalam membantu menstabilkan struktur makromolekul dalam sel (Weaver, 2008).

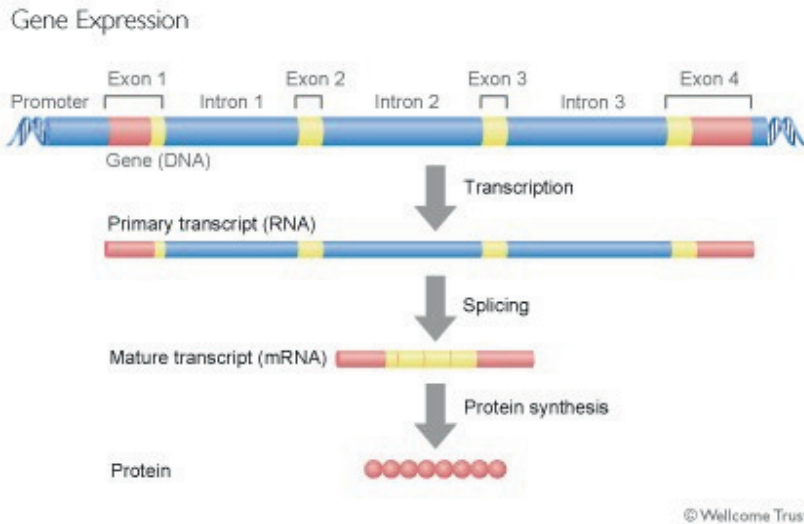


Gambar 11.2 Ikatan hidrogen (Brown, 2007)

Suatu basa yang terikat pada satu gugus gula disebut nukleida, sedangkan nukleotida adalah satu nukleosida yang berikatan dengan gugus fosfat. Di dalam molekul DNA atau RNA, nukleotida dengan nukleotida yang lain berikatan melalui ikatan fosfodiester (Becker *et al.*, 2006).

Mutasi pada *Coding Area*

DNA yang terdapat pada gen berfungsi sebagai penyandi genetik dalam proses pembentukan sel maupun sintesis protein. Dalam menjalankan fungsinya, DNA dibagi 2, yaitu regio *coding* berfungsi menentukan bentuk protein yang dihasilkan dan *non-coding* mengatur jumlah protein yang dibentuk. *Regio non-coding* terdiri atas promoter, *enhancer*, dan *silencer* di mana bagian ini tidak ikut dalam proses menyandi genetik (Goodrich & Tjian, 2006).



Gambar 12.1 Struktur dan ekspresi gen (Twyman, 2003)

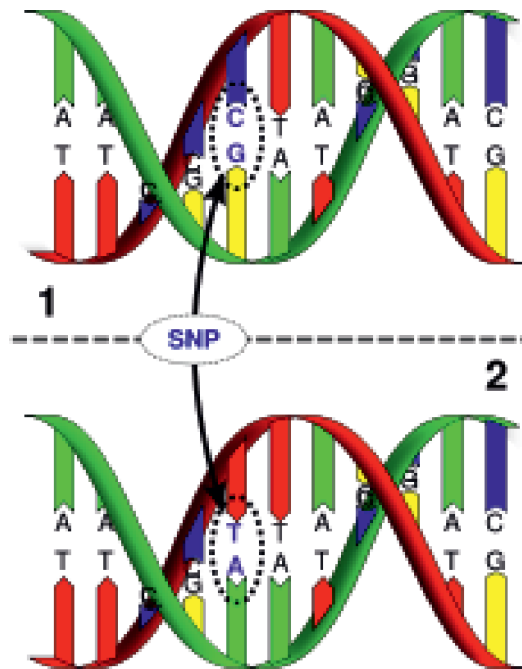
Mutasi adalah perubahan urutan basa pada DNA maupun RNA, baik pada taraf urutan gen (disebut mutasi) maupun pada taraf kromosom. Mutasi pada tingkat kromosom biasanya disebut aberasi. Mutasi pada gen dapat mengarah pada munculnya lokus baru (Klug, 2007).

Perbaikan kerusakan DNA terjadi oleh karena informasi genetik disimpan pada kedua rantai heliks ganda sehingga informasi yang hilang pada satu rantai dapat diperoleh kembali dari rantai yang lainnya. Bila kerusakan DNA tidak diperbaiki maka akan terjadi mutasi. Aktivitas eksonuklease 3' ke 5' pada DNA polimerase sangat diperlukan untuk mengurangi mutasi spontan (Klug, 2007; Weaver, 2008).

Mutasi di alam terjadi akibat bahan mutagen, termasuk karsinogen, radiasi surya maupun radioaktif, serta loncatan energi listrik. Bahan mutagen atau radiasi ultraviolet mengubah urutan basa DNA saat terjadi replikasi, jika proses ini tidak dikoreksi akan mengakibatkan kerusakan susunan basa DNA yang menetap sehingga individu memperlihatkan perubahan sifat (fenotipe) (Klug, 2007).

Terdapat dua tipe mutasi yaitu mutasi pada satu pasangan basa atau beberapa urutan pasangan basa. Beberapa proses mutasi, antara lain

substitusi yaitu proses penggantian satu pasang basa diganti oleh pasang basa yang lain; delesi adalah pembuangan satu atau lebih pasangan basa; dan insersi adalah penambahan satu atau lebih pasangan basa.



Gambar 12.2 *Single nucleotide polymorphisms (SNP)* (Alan & Francis, 2002)

Mutasi menyebabkan terjadinya polimorfisme. Terdapat dua tipe polimorfisme yaitu *Small-scale multi-base deletions or insertions* atau *deletion insertion polymorphisms (DIPs)* dan *Microsatellite repeats variations*. Berdasarkan panjang urutan basanya polimorfisme *Microsatellite* ini dibagi menjadi *microsatellites*, *minisatellites*, dan *single nucleotide polymorphisms*. *Microsatellites* atau *short tandem repeat (STR)*, yaitu terjadi pengulangan 1–6 basa. *Minisatellites* atau *variable number of tandem repeats (VNTR)*, yaitu terjadi pengulangan 14–100 basa. *Single nucleotide polymorphisms (SNP)* adalah satu pasangan basa diganti satu pasangan basa oleh nukleotida yang lain contohnya AAGGCTAA diganti ATGGCTAA.

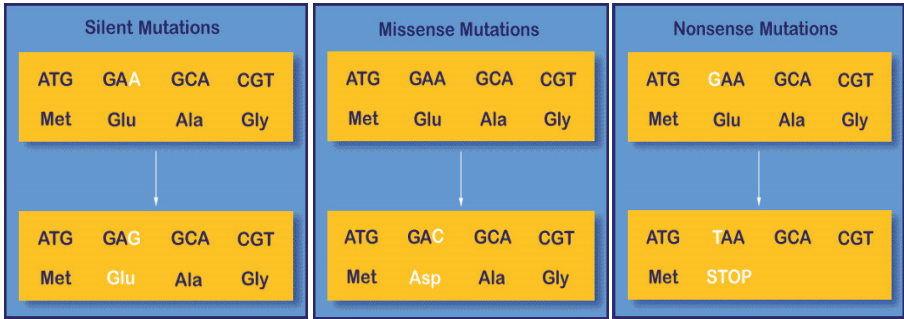
SNP umumnya terjadi dengan melibatkan 2 lokus (*Biallelic*). Mekanisme polimorfisme terjadi secara substitusi atau delesi. SNP merupakan bentuk mutasi yang paling sering dijumpai dan memengaruhi ekspresi fenotipe penyakit (Klug, 2007).

Single nucleotide polymorphisms (SNP) dapat terjadi pada *coding* atau *non-coding region*. Polimorfisme pada *non coding region* biasanya terjadi pada *promoter, enhancer* atau *silencer*, mutasi pada daerah ini hanya berpengaruh terhadap peningkatan atau penurunan proses transkripsi. Polimorfisme pada *coding region* akan menghasilkan struktur protein yang berbeda (Alan & Francis, 2002).

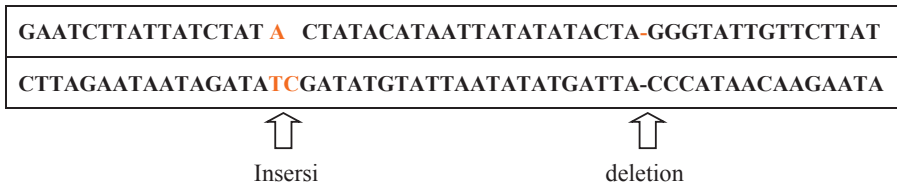
Mutasi adalah perubahan sekuen nukleotida dari suatu gen. Mutasi pada *coding region* diklasifikasikan menjadi 3 jenis mutasi berdasarkan kesalahan susunan dalam sintesis asam amino (Becker *et al.*, 2006). *Silent mutation* adalah perubahan satu basa dalam kodon menyebabkan asam amino yang dihasilkan sama dengan asam amino aslinya. *Missense mutation* adalah perubahan satu basa dalam kodon menyebabkan perbedaan asam amino. *Nonsense mutation* perubahan satu basa dalam kodon menyebabkan perubahan asam amino menjadi *stop codon* sehingga menghentikan translasi.

Single nucleotide polymorphisms (SNP) pada area *non-coding* tidak menimbulkan kelainan fenotipe, sedangkan pada area *coding* dapat menyebabkan terjadi *silent mutation* atau *missense mutation*. Penelitian membuktikan bahwa 50% *missense mutation* yang disebabkan SNP menimbulkan penyakit genetik (Alan & Francis, 2002).

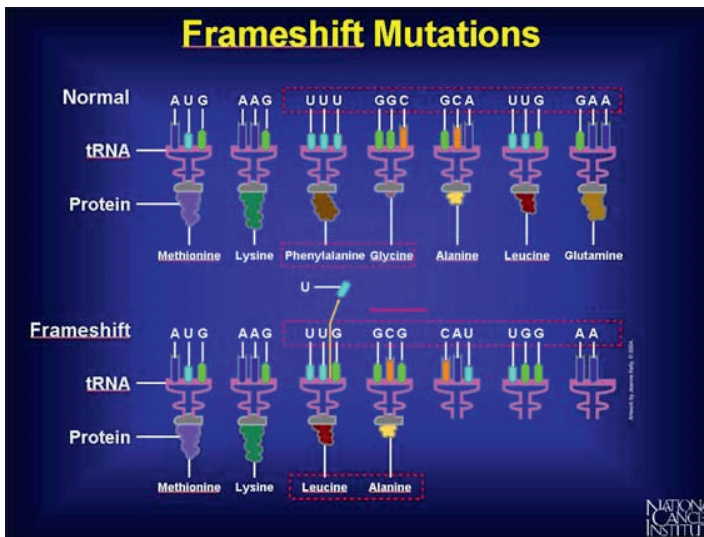
Mutasi pada satu atau beberapa pasang basa mampu menyebabkan perubahan DNA. Umumnya mutasi ini disebabkan oleh insersi atau delesi. Insersi yaitu terjadi penambahan ekstra nukleotida pada DNA biasanya terjadi kesalahan dalam proses replikasi atau fase transportasi protein, bila insersi terjadi pada area *coding* maka akan terjadi mutasi jenis gangguan *reading frame (frame shift)*. Kondisi ini akan menimbulkan kesalahan protein yang diproduksi. Delesi adalah penghilangan satu atau lebih nukleotida pada DNA. Pada umumnya proses delesi bersifat *irreversible*.



Gambar 12.3 Mutasi berdasarkan kesalahan susunan dalam sintesis asam amino (Brown, 2007)



Gambar 12.4 Contoh terjadinya delesi dan insersi (Alan & Francis, 2002)



Gambar 12.5 Mutasi berbentuk insersi menyebabkan terjadi *frame shift* (National Cancer Institute, 2000)

Metode Laboratorium pada Analisis Varian HLA-DRB1

ELISA INDIRECT PADA PEMERIKSAAN ANTIBODI sIgA

Antibodi dapat dideteksi secara kuantitatif melalui indirect ELISA. Reagen yang digunakan adalah " *Salivary secretory IgA KIT* " (Salimetrics LLC - USA). Digunakan konjugat SigA *goat-anti human* dalam kuantitas konstan dan *horse radish peroxidase* (HRP). Antibodi dari saliva ditambahkan ke dalam susiaan. Tiap sampel yang mengandung antibodi ditempatkan pada susiaan mikrotiter berlapis antigen dan direaksikan dengan antigen yang terikat di susiaan. Setelah antibodi pertama (Ab1) dicuci, ikatan antibodi-antigen dideteksi melalui penambahan konjugat enzim antibodi anti-isotip kedua (Ab2) yang berikatan dengan antibodi primer. Ab2 dicuci dan ditambahkan substrat enzim. Produk reaksi enzimatik berwarna biru berubah menjadi kuning, diukur menggunakan spektrofotometer *plate reader* pada panjang gelombang 450 nm dan 650 nm. Dihitung nilai rerata, selanjutnya diperoleh kurva standar dari enam nilai kontrol dan standar. Berdasar rerata yang diperoleh pada kurva standar maka konsentrasi sIgA dapat diketahui dalam satuan ng/ml.

METODA PCR-RFLP

Analisis *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) adalah salah satu teknik pertama yang secara luas digunakan untuk mendeteksi variasi pada tingkat sekuen DNA. Deteksi RFLP dilakukan berdasar pada adanya kemungkinan untuk membandingkan profil pita-pita yang dihasilkan setelah dilakukan pemotongan dengan enzim restriksi terhadap DNA target dari individu yang berbeda. Berbagai mutasi yang terjadi pada suatu organisme memengaruhi molekul DNA dengan berbagai cara dan menghasilkan fragmen-fragmen dengan panjang yang berbeda. Aplikasi teknik RFLP biasa digunakan untuk mendeteksi diversitas genetik, hubungan kekerabatan, sejarah domestikasi, asal dan evolusi suatu spesies, *genetic drift* dan seleksi, pemetaan keseluruhan genom, tagging gen, mengisolasi gen-gen yang berguna dari spesies liar, dan mengkonstruksi perpustakaan DNA. RFLP merupakan metode dengan akurasi tinggi dengan teknik sederhana. Kekurangan RFLP adalah dibutuhkan DNA dengan kemurnian tinggi dan dalam jumlah banyak dan membutuhkan banyak waktu (Fatchiyah *et al.*, 2009).

Reaksi berantai PCR (*polymerase chain reaction*) adalah suatu metode enzimatik untuk melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuen nukleotida tertentu secara *in vitro*. Metode ini pertama kali dikembangkan oleh Kary B. Mullis. Metode ini mampu melipatgandakan suatu fragmen DNA secara cepat. Kelebihan metode ini adalah reaksi dapat dilakukan menggunakan sampel dalam jumlah sedikit dan hasil PCR dapat dilaporkan dalam waktu 24–48 jam. Primer yang digunakan dalam PCR adalah oligonukleotida yang mempunyai sekuen identik dengan salah satu rantai DNA *template* pada ujung 5'-fosfat dan oligonukleotida yang identik dengan sekuen pada ujung 3'-OH (Yuwono, 2006).

Siklus reaksi yang dimulai dari denaturasi pada suhu 95–98°C, diharapkan terjadi pemisahan rantai ganda DNA target menjadi rantai tunggal sebagai *template*. *Annealing* pada suhu 50–60°C menyebabkan pengikatan primer pada rantai tunggal DNA *template* yang komplementer. Pemanjangan rantai primer sesuai dengan DNA *template* terjadi pada tahap *elongasi* pada suhu 72°C. Siklus terjadi berulang kali sehingga amplifikasi

DNA target secara eksponensial menghasilkan *copy* DNA spesifik target 2^n atau lebih pada siklus 35X (30–40X) dalam waktu beberapa jam. Hasil amplifikasi DNA dapat divisualisasi dengan pewarnaan *ethidium bromide* dan dilihat dengan menggunakan sinar ultraviolet.

ISOLASI DNA

Leukosit darah tepi merupakan pilihan sampel yang utama untuk ekstraksi DNA karena mudah dan relatif kurang invasif dibanding dengan sel jaringan lain pada tubuh manusia. Pelaksana ekstraksi DNA diawali dengan melakukan lisis membran sitoplasma dan membran nucleus berturut-turut dengan *Buffer Lysis Membran Sitoplasma* (CMLB) dan *Buffer Lysis Membran Nucleus* (NMLB), kemudian pada DNA yang terdapat pada supernatant diekstraksi, dipresipitasi, dan purifikasi DNA dengan *etanol absolute* dingin dan etanol 70%. Kemudian dilakukan uji kemurnian DNA dengan spektrofotometer dengan menentukan rasio antara nilai OD₂₆₀ dan OD₂₈₀ pada sampel DNA. Untuk mengetahui konsentrasi DNA dapat dibaca dengan *Spectrophotometer* pada OD 260. Metode ekstraksi DNA melalui NMLB dan CMLB merupakan metode isolasi DNA yang mudah dan cepat karena membutuhkan kurang dari waktu 1 jam (Notopuro H, 2010).

AMPLIFIKASI DNA

Untuk memperoleh sejumlah DNA yang banyak dan spesifik, diperlukan prosedur pemeriksaan PCR (*polymerase chain reaction*) untuk memproduksi sejumlah besar target urutan DNA. PCR dapat memproduksi berjuta-juta *copy* urutan target dari DNA. Komponen penting dari reaksi adalah sepasang primer oligonukleotida sebesar 10–20 basa yang komplementer.

Primer sebelum daerah target disebut *primer forward* dan setelah daerah target disebut *primer reverse*. Enzim yang digunakan sebagai pencetak rangkaian molekul DNA baru dikenal sebagai *enzyme polymerase*

dari bakteri *Thermus aquaticus* (*Taq polymerase*). Untuk dapat mencetak rangkaian tersebut dalam teknik PCR, diperlukan dNTPs yang terdiri dari dATP (*Adenine*), dCTP (*Cytosine*), dGTP (*Guanine*), dan dTTP (*Tymine*).

Amplifikasi DNA target terjadi di dalam tiga langkah siklus berulang yaitu denaturasi, *annealing*, dan ekstensi. Satu molekul DNA akan berlipat ganda jumlahnya menjadi dua molekul DNA. Proses denaturasi-penempelan-ekstensi disebut satu siklus. Setelah itu proses diulang lagi sampai 35–40 siklus. (Yuwono, 2006).

ELEKTROFORESIS

Elektroforesis digunakan untuk memisahkan potongan DNA tergantung ukuran fragmen. DNA dan disaring melalui agar tipis berbentuk “gel”. Gel terbuat dari *agarose* atau *acrylamide* yang berbeda konsistensinya sesuai dengan ukuran fragmen DNA yang akan dipisahkan. Gel dituang ke dalam cetakan dengan sisir pembuat sumuran, setelah mengeras tampak seusia untuk sampel DNA. Waktu yang diperlukan untuk menjalankan *elektroforesis* tergantung besar ukuran fragmen DNA. DNA yang telah terbagi dalam beberapa fragmen dalam gel berupa pita yang menurun. Pita DNA yang telah terpisah ini dapat digunakan untuk berbagai aplikasi antara lain misalnya *cloning* dan *DNA sequencing* (Yuwono, 2006).

ANALISIS RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM (RFLP)

Analisis RFLP digunakan untuk mendeteksi mutasi di dalam urutan DNA yang dikenali oleh enzim restriksi spesifik. Urutan basa DNA dapat dipotong oleh enzim restriksi di sepanjang urutan genom dengan membandingkan jumlah dan tempat lokasi yang dipotong. RFLP merupakan metode efektif untuk menyaring perbedaan DNA dari individu berbeda. (Fatchiyah *et al.*, 2009).

Analisis varian HLA-DRB1 pada penelitian ini menggunakan enzim restirksi BseRI, BsaJI, RsaI, dan Sau961 sesuai penelitian penelusuran polimorfisme lokus HLA-DRB1 pada penelitian sebelumnya. BseR1 adalah

enzim restriksi yang akan memotong amplicon hasil PCR pada basa ke-106 dengan urutan pengenal GTAC. BsaJI adalah enzim restriksi yang akan memotong amplicon hasil PCR pada basa ke-206 dengan urutan pengenal C'CnnG_G. RsaI adalah enzim restriksi yang akan memotong amplicon hasil PCR pada basa ke-163 dengan urutan pengenal GTAC. Sau961 adalah enzim restriksi yang akan memotong amplicon hasil PCR pada basa ke-201 dengan urutan pengenal G'GnC_C. Keempat enzim restriksi ini masing-masing akan memotong amplicon hasil PCR menjadi 2 *band* (Trejaut *et al.*, 2000; Senpuku & Yumiko, 2004).

FLOWCYTOMETRY

Tes untuk mengetahui jumlah CD4 umumnya dilakukan di laboratorium klinis menggunakan *flowcytometry*. *Flowciytometry* adalah teknik standar yang digunakan di hampir setiap rumah sakit dan laboratorium penelitian di seluruh dunia. Teknik *flowcytometry* adalah cara yang mudah dan sederhana, terutama bila diterapkan pada praktik klinis. Teknologi ini digunakan untuk pengukuran, menganalisis data, dan pelaporan. Biaya tes ini relatif tinggi tetapi hemat waktu untuk pemeriksaan jumlah CD4. Proses *flowcytometry* dilakukan pada sebuah tabung kecil sel darah, diperlakukan dengan reagen yang spesifik terhadap limfosit CD4. Reagen yang digunakan untuk identifikasi adalah monoklonal antibodi (MABs). Antibodi akan melekat pada sel T CD4. molekul *fluorochromes* melekat pada antibodi untuk membantu dalam proses identifikasi (Manasa *et al*, 2007).

Sinar laser ditembakkan pada sel-sel sehingga sel dengan molekul *fluorochromes* memancarkan sinyal untuk mengidentifikasi diri. Sinyal ini disebut fluoresensi dan dapat diukur dengan detektor sensitif. Jika ratusan atau ribuan sel melewati laser sangat cepat, penghitungan yang akurat dapat diperoleh dari semua sel yang tampak. CD adalah singkatan dari "*cluster diferensiasi*" yang berarti bahwa molekul ini dapat digolongkan ke dalam kelompok yang didefinisikan oleh sel (Ndung'u, 2005).

IMUNOHISTOKIMIA

Imunohistokimia (IHC) adalah proses mendeteksi antigen (misalnya, protein) dalam sel-sel atau jaringan dengan memanfaatkan prinsip ikatan antibodi spesifik terhadap antigen dalam jaringan biologis. IHC mengambil nama dari “immuno”, mengacu pada antibodi yang digunakan dalam prosedur, dan “histo” yang berarti jaringan.

Imunohistokimia banyak digunakan dalam diagnosis sel abnormal seperti yang ditemukan pada tumor, kanker, dan lainnya. Karakteristik molekuler peristiwa seluler tertentu seperti proliferasi atau kematian sel (apoptosis). IHC juga banyak digunakan dalam penelitian dasar untuk memahami distribusi dan lokalisasi biomarker dan diferensiasi protein pada berbagai bagian jaringan biologis. Visualisasi interaksi antibodi-antigen yang dapat dicapai dalam beberapa cara yang paling umum, antibodi dikonjugasi dalam enzim, seperti peroksidase, yang dapat mengkatalisis reaksi perubahan warna (pada pengecatan *immunoperoxidase*). Atau antibodi juga dapat ditandai dengan *fluorophore*, seperti *fluorescein* atau *rhodamine* pada *immunofluorescence* (Lebman *et al.*, 1990).

ANALISIS BIOINFORMATIKA

Bio-informatika adalah aplikasi statistik dan ilmu komputer dengan bidang biologi molekuler. Istilah bio-informatika diciptakan oleh Paulien Hogeweg dan Ben Hesper pada tahun 1978 untuk studi proses Informatika dalam sistem biota. Pada akhir 1980-an, penggunaan bio-informatika berkembang untuk genomik dan genetika, khususnya di bidang genomik melibatkan *sequencing* DNA.

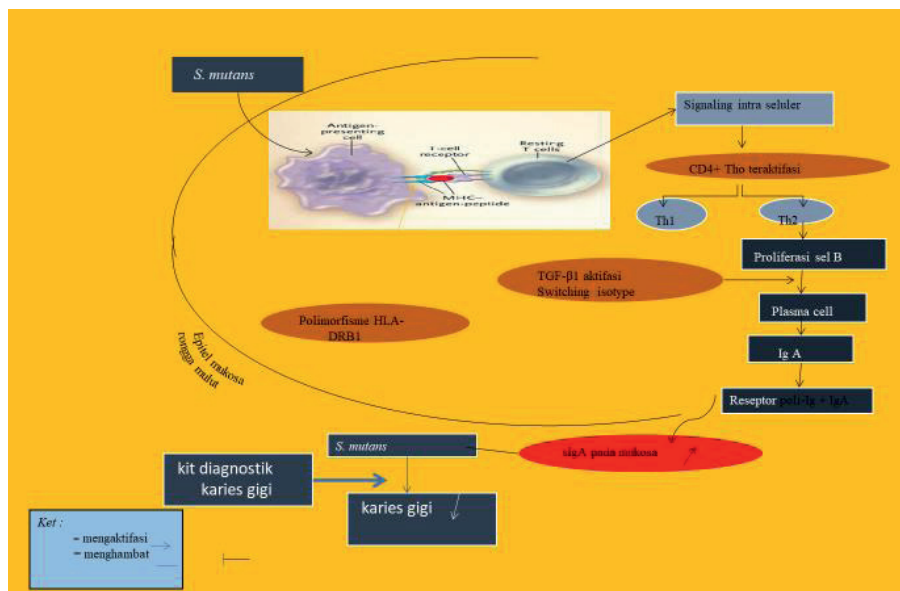
Selama beberapa dekade terakhir terjadi perkembangan pesat dalam genomik dan teknologi lainnya sehingga penelitian molekuler dan perkembangan teknologi informasi telah bergabung untuk menghasilkan informasi yang berhubungan dengan biologi molekuler. Bio-informatika memudahkan pemetaan dan analisis urutan DNA dan protein, menyelaraskan DNA, dan urutan protein untuk menciptakan model 3-D

dari struktur protein. Tujuan utama dari bio-informatika adalah untuk meningkatkan pemahaman proses biologis

Jalur Immunogenetik Karies Gigi

Melalui studi pustaka, dapat penulis simpulkan bahwa *S. mutans* berada dalam rongga mulut yang dilapisi epitel dan dikenali oleh sel *Langerhans* sebagai antigen. Protein antigen ini ditangkap oleh APC, ditampung dalam organ limfoid perifer dan respons imun mulai teraktivasi. Antigen menstimulasi reaksi imun alami melalui ikatan *Toll-like reseptor* (TLR) pada sel dendritik, sel epitel, dan makrofag dalam jaringan, di mana proses ini diaktivasi oleh TNF- α dan IL-1. Sel dendritik yang telah teraktivasi pada fase ini menangkap antigen ke dalam APC untuk menstimulasi limfosit T. MHC pada membran permukaan APC menyajikan peptida antigen ke CD4+ T *helper*. Sinyal biokimia untuk aktivasi sel T dipicu oleh satu set protein yang berikatan dengan TCR untuk membentuk kompleks TCR dengan koreseptor CD4. Sitokin yang pertama dihasilkan oleh CD4+Tcell dalam 1-2 jam setelah aktivasi adalah *interleukin-2* (IL-2). CD4+sel T *helper* berdiferensiasi menjadi subset sel efektor yang menghasilkan berbagai sitokin dengan fungsi yang berbeda. Th 1 dan sel Th2 adalah bagian terpenting pada subset ini. Sitokin utama yang diproduksi oleh sel Th2 adalah IL-4, IL-10, IL-6, dan *interferon* γ (IFN γ). IL-4 berperan pada stimulasi produksi antibodi oleh sel B, IL-10 berperan untuk menghambat

aktivasi makrofag, sedangkan IL-6 berfungsi untuk merangsang proliferasi sel B dan sintesis antibodi. IFN γ menstimuli produksi *isotype* antibodi yang mendukung fagositosis mikroba karena antibodi ini terikat secara langsung pada reseptor Fc dan mengaktivasi komplemen. IFN γ juga menstimuli ekspresi molekul MHC kelas II dan kostimulator B7 pada APC terutama makrofag. Sitokin yang dihasilkan sel Th1 antara lain IFN- γ dan IL-2 yang berfungsi pada proliferasi sel T. Th2 mengaktivasi proliferasi sel B yang menyebabkan sel membelah dengan cepat menjadi sel B memori dan sel B efektor yang disebut sel plasma. Sel B memori memiliki masa hidup yang panjang daripada sel naif dan memiliki *membran-bound* antibodi (Abbas *et al.*, 2010; Murphy *et al.*, 2008).



Gambar 14.1 Jalur imunogenetik karies gigi (Pratiwi, 2011)

Plasma sel menghasilkan antibodi dalam bentuk yang dapat disekresi dengan atau tanpa antibodi *membran-bound*. Antibodi yang disekresi adalah molekul efektor mayor dari imunitas humoral. Antibodi yang diproduksi oleh sel B adalah suatu glikoprotein yang terdiri dari dua rantai polipeptida H dan dua rantai polipeptida L yang identik. Rantai

H berikatan dengan rantai L melalui ikatan disulfida. *Amino-terminal end* dari pasangan rantai H dan L membentuk cekungan tempat ikatan antigen (Abbas *et al.*, 2010). Golongan utama antibodi di jaringan mukosa adalah IgA. Kecenderungan jaringan limfoid mukosa memproduksi IgA karena sitokin utama yang menginduksi *switching isotype* yaitu TGF- β 1 diproduksi dalam jumlah besar pada jaringan ini. TGF- β 1 menginduksi sel B melalui sistem MALT untuk *switching isotype membran bound antibody* IgM pada sel B menjadi *membran bound antibody* IgA. IgA juga diproduksi oleh subset sel B yang disebut sel B-1, yang bermigrasi ke jaringan mukosa dan mensekresi IgA sebagai respons terhadap antigen non-protein tanpa bantuan sel T.

IgA diproduksi di jaringan limfoid mukosa dan disalurkan dari lamina propria ke lumen. Transport melalui epitel diperankan oleh reseptor khusus yang disebut reseptor *poli-Ig*, yang diekspresikan pada permukaan basal sel epitel. Reseptor ini mengikat IgA, melakukan endositosis, dan menyalurkan ke permukaan lumen. Di sini reseptor tersebut dipecah oleh protease dan sIgA dilepaskan ke dalam lumen dengan tetap membawa reseptor poli-Ig.

Pada penelitian yang mendasari penulisan buku ini, Jenis penelitian adalah observasional analitik untuk menentukan hubungan antara varian genotipe HLA-DRB dan risiko karies. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *case-control* dengan pemadanan kasus dan kontrol dalam hal usia, etnik, dan jenis kelamin (Slayton *et al.*, 2005).

Populasi penelitian adalah siswa sekolah dasar dari suku Jawa, berusia 6–9 tahun yang tersebar di wilayah Surabaya. Populasi kasus adalah siswa dengan sIgA rendah (< 300 ng/ml) dan populasi kontrol adalah siswa dengan sIgA tinggi (≥ 300 ng/ml).

Perhitungan besar sampel dihitung dengan derajat kepercayaan = 0,05 dan kuat uji = 0,90. Proporsi HLA-DRB pada kasus dan kontrol merujuk pada penelitian sebelumnya pada populasi sampel di Iran (Bagherian *et al.*, 2008). Dengan demikian, didapat besar sampel pada kelompok kontrol $n = 30$ dan kelompok kasus $n = 30$.

Pengambilan sampel di Sekolah Dasar (SD) di seluruh wilayah Surabaya dengan membagi wilayah Kotamadya menjadi lima klaster yaitu Surabaya tengah, barat, timur, utara dan selatan berdasar data dari Departemen Pendidikan Nasional Kotamadya Surabaya. Pada tiap klaster dilakukan *judgement sample* untuk mendapatkan 2 SD pada tiap wilayah. Dilakukan koleksi sampel saliva oleh peneliti pada seluruh siswa SD usia 6–9 tahun yang memenuhi kriteria inklusi untuk uji kadar sIgA. Hasil pengukuran kadar saliva selanjutnya digunakan sebagai dasar penentuan kelompok kasus dan kontrol melalui pemadanan usia dan jenis kelamin pada dua kelompok sampel. Hasil pemeriksaan menunjukkan 170 siswa memenuhi kriteria inklusi. Berdasar uji ELISA pada sampel saliva terhadap 170 siswa tersebut diambil secara random 30 siswa dengan kadar sIgA rendah (< 300 ng/ml) dan 30 siswa dengan kadar sIgA tinggi (≥ 300 ng/ml) berdasar kategori Rashkova (2009). Kriteria inklusi kelompok kasus adalah Kadar sIgA rendah (< 300 ng/ml) dan berada pada masa geligi pergantian (*mix dentition*). Kriteria inklusi kelompok kontrol adalah Kadar sIgA tinggi (≥ 300 ng/ml) dan berada pada masa geligi pergantian (*mix dentition*). Kriteria eksklusi adalah menderita *xerostomia* dan menjalani pengobatan yang bersifat menekan sistem imun.

HLA-DRB1 adalah lokus dalam MHC klas II dengan polimorfisme tinggi. Varian HLA-DRB1 ditentukan berdasar pada SNP untuk penentuan nomenklatur HLA-DRB1. Posisi SNP menentukan perubahan asam amino yang berpengaruh terhadap produk sIgA yang disandi oleh lokus HLA-DRB1.

sIgA adalah antibodi yang disekresi di mukosa rongga mulut sebagai mekanisme pertahanan terhadap invasi *S.mutans*. sIgA berperan pada awal inisiasi kuman melalui pencegahan adhesi *S.mutans*. Kadar sIgA diperiksa melalui ELISA indirek untuk menggambarkan reaksi antigen-antibodi dalam satuan ng/ml. Kadar sIgA dikelompokkan menjadi kelompok sIgA tinggi (≥ 300 ng/ml) dan kelompok sIgA rendah (< 300 ng/ml) berdasar penelitian Rashkova *et al.* (2009).

def-t (*decayed, extraction, filled teeth*) adalah indeks tingkat keparahan karies gigi pada gigi sulung yang ditetapkan oleh WHO. Nilai *def-t* berkisar

antara 1 hingga 20. Indeks *def-t* menggambarkan proporsi jumlah gigi yang mengalami kerusakan, pencabutan, atau tumpatan karena karies dibanding jumlah total gigi yang diperiksa dalam rongga mulut seorang anak. Menurut WHO (1988), indeks *def-t* dihitung berdasar rumus:

$$def-t = \text{Jumlah gigi rusak} + \text{gigi dicabut} + \text{gigi ditumpat karena karies}$$

CD4 adalah metode standar penentuan jumlah limfosit CD4 atau sel T *helper* dalam darah. Limfosit CD4 adalah sel target mayor pada berbagai infeksi. Penurunan progresivitas CD4 merupakan awal proses patologis yang terkait dengan infeksi, termasuk destruksi sel imunologi lainnya. Penghitungan CD4 berperan sebagai indikator klinis kompetensi imunitas seseorang. Pemeriksaan CD4 dilakukan melalui sampel darah menggunakan *flowsitometri* dengan satuan jumlah sel/UL.

TGF- β 1 adalah salah satu *growth factor* yang berperan pada *class switching* IgA. Biomarker ini diperiksa melalui sampel jaringan gingiva menggunakan reaksi antigen-antibodi yaitu imunohistokimia untuk mengetahui jumlah ekspresi TGF- β 1 pada jaringan gingiva.

Usia siswa adalah usia yang dinyatakan dalam satuan bulan pada saat pengambilan sampel. Data tanggal, bulan, dan tahun kelahiran diperoleh dari data sekolah. Usia siswa berpengaruh terhadap kematangan respons imunitas seorang anak.

Xerostomia adalah penurunan sekresi saliva akibat terapi radiasi, pengaruh psikis, dan pengobatan jangka panjang.

Menjalani pengobatan yang menekan sistem imun adalah siswa yang sedang menjalani terapi pengobatan untuk menekan sistem imun dalam 3 bulan sebelum pengambilan sampel.

Penelitian ini menggunakan bahan penelitian 2 cc darah dari vena *cubiti* ditampung dalam Vacutainer EDTA, dipisahkan serum dan *buffy coat*. Serum darah digunakan untuk pemeriksaan CD4 melalui *Flowcytometry* dan *buffy coat* digunakan untuk pemeriksaan HLA-DRB1, 2 cc saliva ditampung dalam tabung steril, suhu dijaga tetap pada -20°C , untuk pemeriksaan kadar sIgA, Jaringan gingiva disimpan dalam

buffer formalin 10%, diperoleh saat ekstraksi gigi sulung. Dilakukan proses histologi dan imunohistokimia untuk pemeriksaan ekspresi TGF- β 1.

Reagensia penelitian untuk ELISA adalah sIgA ELISA Kit (Immun Diagnostik, K8870). Reagensia ekstraksi DNA *Sukrose*, Triton X-100, MgCl₂, Tris-HCl, *Guanidin Thiocyanate*, NaCl, dan *Sodium N-Lauroy Sarcosinate*. Reagensia amplifikasi lokus HLA-DRB1 adalah *Dream Taq Green PCR Master Mix (Fermentas, K1081)*, Primer DR3 dan AmpB (*1st Base*), serta H₂O. Reagensia elektroforesis hasil PCR adalah *Ultra pure agarose (Gibco BLR, cat.No.15610019)*, *Marker step ladder 100 bp (Sigma, S7025)*, *TBE (Sigma, T3913)*, *Ethyidium Bromide (Sigma, Eb 751)*. Reagensia RFLP adalah *BsaI (New England Biolab, R 0536S)*, *RsaI (New England Biolab, R 0167S)*, *Sau 961 (New England Biolab, R 0165S)*, dan *BseRI (New England Biolab, R 0581S)*. Reagensia *sequencing* adalah *Low Melting agar*, *DNA Sequencing Kit (BigDye Termalamior V.1.1)*, dan *Forward primer DR3*.

Reagensia Flowcytometry adalah *BD Multiset CD3/CD45/CD8/CD4 (Bectin Dickinson TriTEST, California)*.

Reagensia Imunohistokimia TGF- β 1 adalah gelas objek dengan lapisan *Poly-L-Lysine*, *Xylol*, Alkohol absolute, 96% dan 70%, *Protease K* 0,025%, PBS, H₂O₂ 3%, *Monoclonal antibody anti-TGF- β 1 Ab (cat#NB 100-91995, Novus Biologicals)*, *Streptavidin-HRP (secunder antibody streptavidin-HRP dari IHC kit accessories)*, *DAB-Chromogen*, *Meyer's Hematoxylin*, dan *Entelan*.

Penentuan lokasi pengambilan sampel berdasar metode kluster. Seluruh sampel berasal dari 10 sekolah dasar di Surabaya, masing-masing diwakili oleh dua sekolah dasar di wilayah Surabaya Tengah, Barat, Timur, Utara, dan Selatan berdasar data dari Dinas Pendidikan Nasional Kotamadya Surabaya. Pemeriksaan ELISA kadar sIgA dilakukan di Institute of Tropical Disease (ITD) Universitas Airlangga. PCR-RFLP dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Analisis jumlah CD4 melalui pemeriksaan *Flowcytometry* dilakukan di Diagnostic Center, RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Imunohistokimia dilakukan di Laboratorium Gramik, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Analisis Bioinformatika

dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya Malang.

Untuk menjamin bahwa semua prosedur yang dilakukan dalam penelitian ini laik etik maka penelitian ini telah mendapatkan penilaian dan pengesahan kelaikan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

Seleksi calon sampel kasus dan kontrol di beberapa Sekolah Dasar di Surabaya dilakukan melalui pengambilan sampel saliva dengan stimulasi *parafin wax* selama 1 menit, tampung dalam tabung, disentrifugasi pada 3.000 rpm pada 4°C selama 10 menit, *supernatants* diambil, disimpan pada suhu -20°C sampai dilakukan ELISA (Nogueira *et al.*, 2005). Pada calon sampel yang sensitif, dilakukan pengambilan saliva tanpa stimulasi menggunakan *sterile polypropylene graduated transfer pipettes* pada dasar mulut atau bawah lidah. Pengambilan sampel dilakukan 1 jam sesudah makan pagi untuk mencegah kontaminasi dengan komponen nonsaliva. Saliva ditempatkan pada tabung 1,5 ml. Sampel diproses sebelum 4 jam dari saat pengambilan.

Selanjutnya dilakukan sekuensing untuk analisis bioinformatika. Serum digunakan untuk pemeriksaan CD4 melalui *Flowcytometry*.

Pemilihan sampel dalam masa geligi pergantian bertujuan untuk mendapatkan sampel gingiva saat dilakukan pencabutan gigi sulung. Pengambilan gingiva dilakukan seminimal mungkin pada jaringan gingiva interdental. Sampel gingiva selanjutnya di proses dalam bentuk preparat histologi untuk pemeriksaan imunohistokimia.

Kadar sIgA diukur melalui ELISA menggunakan *sIgA ELISA kit* dari *Immundiagnostik*. Hasil uji ini dibaca pada *ELISA reader* untuk mendapatkan hasil *optical density* selanjutnya dikonversi dalam satuan ng/ml.

Isolasi genomik DNA (lokus HLA-DRB1) dari leukosit, pengambilan darah dilakukan pada vena kubiti sebanyak 2 cc, kemudian ditampung dalam *Vacutainer* EDTA. Dilakukan pemisahan *buffy coat* dan serum. *Buffy coat* untuk pemeriksaan HLA-DRB1. Pemeriksaan DNA genom dilakukan melalui ekstraksi DNA menggunakan metode *simple and rapid genomic DNA* (Suhartati, 2006). Dilakukan amplifikasi DNA pada ekson 2 HLA-DRB1

sebesar 266bp. Hasil isolasi DNA dilakukan pemeriksaan kemurnian dan konsentrasi DNA. Hasil pemeriksaan ini selanjutnya digunakan sebagai acuan penentuan jumlah DNA pada amplifikasi lokus HLA-DRB1 melalui PCR menggunakan primer *Forward primer* DRB1: 5' CAC GTT TCT TGG AGT ACT CT 3' dan *Reverse primer* DRB1: 5' CCG CAC TGT GAA GCT CT 3'.

RFLP dilakukan pada amplicon DNA menggunakan enzim BseRI, BsaJI, RsaI dan Sau 961. BseRI adalah enzim restriksi yang akan memotong amplicon hasil PCR dengan urutan pengenalan GTAC. BsaJI memotong amplicon hasil PCR dengan urutan pengenalan C' CnnG_G. RsaI adalah enzim restriksi yang akan memotong amplicon hasil PCR dengan urutan pengenalan GTAC. Sau961 memotong amplicon hasil PCR dengan urutan pengenalan G' GnC_C. Keempat enzim restriksi ini masing-masing akan memotong amplicon hasil PCR menjadi 2 *band* (Trejaut *et al.*, 2000; Senpuku & Yumiko, 2004).

Analisis selanjutnya adalah sekuensing dengan metode *direct sequencing*. Hasil sekuensing digunakan sebagai bahan analisis homologi HLA-DRB1 untuk mengetahui nomenklatur. Analisis bioinformatik dilakukan menggunakan program *Clustal W2* untuk menemukan posisi SNP.

Pada *Flowcytometry*, sampel dikoleksi di flowcytometer (BD FACS *Calibur cytometer*- *Becton Dickinson*, Amerika) Reagen yang digunakan adalah BD Multiset CD3/CD4/CD8/CD45 (*Bectin Dickinson TriTEST*, California). Setiap sel diplot di layar histogram, yang merupakan distribusi frekuensi. Dalam histogram tampak dua puncak. Puncak pertama merupakan sel yang negatif, dan dengan demikian tidak mengikat *probe*. Puncak kedua merupakan sel-sel yang "positif" diberikan antibodi monoklonal (MAB). Dari histogram, dapat ditentukan persentase sel positif untuk MAB. Ditambahkan antibodi monoklonal label untuk mengklasifikasikan setiap jenis sel (atau bagian dari sel) yang ada di darah.

Prosedur pembuatan preparat imunohistokimia, Jaringan eksisi dimasukkan ke dalam larutan formalin buffer (larutan formalin 10% dalam *buffer* Natrium asetat sampai mencapai pH 7,0). Pembuatan preparat

histologi dilanjutkan dengan prosedur pengecatan immunohistokimia menggunakan *monoclonal antibody anti TGF- β* . Penghitungan ekspresi TGF- β 1 dilakukan oleh tiga orang *reviewer* untuk memastikan pengamatan. Dokumentasi preparat dilakukan melalui fotomikroskopi. Uji anova untuk menganalisis perbedaan kadar sIgA, jumlah CD4 dan ekspresi TGF- β 1 pada tiap variabel HLA-DRB1. Uji korelasi *Pearson* untuk menganalisis korelasi antara sIgA,CD4 dan TGF- β 1, serta menganalisis korelasi antara sIgA dan indeks *def-t*. Analisis jalur untuk menganalisis hubungan antara sIgA,CD4, dan TGF- β 1.

Kesimpulan

Telah dilakukan penelitian oleh penulis pada 60 subjek penelitian yang telah memenuhi standar *Declaration of Helsinki* dengan unit analisis serum dan leukosit dari darah, saliva, dan jaringan gingiva. Karies gigi adalah penyakit infeksi dengan penyebab multifaktorial yang banyak terjadi pada penduduk negara berkembang dan negara industri. Karies lebih sering terjadi pada kelompok sosio ekonomi rendah yang dipengaruhi oleh latar belakang pendidikan dan kesempatan untuk mendapatkan layanan kesehatan (Ettinger, 1999; National Institutes of Health, 2001). Etiologi karies dipengaruhi oleh faktor inang, lingkungan, dan waktu. Faktor lingkungan dipengaruhi oleh akumulasi bakteri rongga mulut dan diet. Faktor inang dipengaruhi oleh variasi genetik pengendali sekresi antibodi dalam saliva dan variasi genetik pada lokus pengendali pembentukan jaringan keras gigi, yaitu amelogenin, enamelin, dan tuftelin (Amerongen, 2007).

Peran sIgA dalam rongga mulut adalah mencegah adhesi *S. mutans* ke permukaan gigi sehingga glukosa tidak terbentuk dan menghambat proses demineralisasi jaringan keras gigi. Berbagai penelitian membuktikan bahwa kadar sIgA rendah dalam rongga mulut merupakan risiko karies tinggi, sedangkan kadar sIgA tinggi menyebabkan risiko karies rendah (Brathall, 1996; Lehner, 1996; Van Wallace, 2010).

Penelitian kami menunjukkan korelasi yang signifikan antara kadar sIgA dan indeks *def-t* sebesar -0,839. Nilai korelasi ini menunjukkan hubungan yang berlawanan antara kadar sIgA dan indeks *def-t* di mana semakin tinggi nilai *def-t* maka semakin rendah kadar sIgA, demikian pula sebaliknya.

Korelasi diatas berhubungan dengan peran saliva dalam karies gigi. Sekresi sIgA dari *gingival crevicular fluid* dan keberadaan sIgA dalam saliva berperan pada patogenesis karies gigi. Hipofungsi kelenjar saliva berpengaruh terhadap *flow rate* saliva dan berpengaruh pula pada perkembangan karies gigi. Beberapa penelitian melaporkan pengobatan menggunakan obat psikofarmaka dan pengobatan diabetes yang tak terregulasi berpengaruh terhadap penurunan *flow rate* saliva (Fox *et al.*, 1985; Navazesh, 1994; Leone & Oppenheim, 2001).

Hubungan antara diet karbohidrat dan karies gigi adalah faktor yang sulit diprediksi. Jika seseorang mengonsumsi gula dalam jumlah besar tetapi pada saat bersamaan menggunakan perawatan fluorida maka konsumsi gula tidak menimbulkan kerusakan jaringan keras gigi (Burt & Pai, 2001; Tinanoff & Douglass, 2001; Zero, 2004; Tsuchi *et al.*, 2004).

Riwayat karies gigi pada ibu dapat meningkatkan risiko karies pada anaknya dan riwayat karies pada fase gigi sulung merupakan prediksi karies pada fase gigi permanen (Helm & Helm, 1990; Reich *et al.*, 1999; Russel *et al.*, 1999; Li & Wang, 2002; Indrawati, 2006). Usia berpengaruh terhadap karies gigi karena imunitas mukosa terhadap bakteri kariogenik yang diperankan oleh sIgA sejalan dengan kematangan imunitas tubuh. Pengukuran imunitas anak-anak disarankan dilakukan di atas usia enam tahun karena sistem imunitas tubuh diperkirakan telah lengkap pada usia ini (Senpuku & Yumiko, 2004).

HUBUNGAN POLIMORFISME PADA HLA-DRB1 DAN RISIKO KARIES GIGI

Sekresi sIgA dalam saliva dikendalikan oleh lokus HLA-DRB1, suatu fragmen dalam gen HLA kelas II. *Multiplicity loci* pada *heavy chain* (α) dan *light chain* (β) terhadap antigen menyebabkan tingginya diversitas kombinasi molekul HLA kelas II pada manusia. Peningkatan kerentanan beberapa penyakit diketahui berhubungan dengan lokus HLA karena lokus ini berhubungan dengan peningkatan imunologi. Penelitian membuktikan defisiensi IgA bersifat diturunkan dan terkait dengan HLA. Patogenesis penurunan IgA umumnya disebabkan oleh kesalahan transkripsi saat *DNA rearrangement* pada sel B. Kadar IgA pada beberapa individu akan meningkat setara dengan usia karena penurunan faktor supresor IgA pada diferensiasi sel B (Asano *et al.*, 2004).

Pada penelitian ini, ditemukan polimorfisme jenis *single nucleotide polymorphism* (SNP) yang berbentuk substitusi dan delesi. Substitusi adalah penggantian suatu nukleotida oleh nukleotida lain dan delesi adalah hilangnya satu nukleotida. SNP pada penelitian yang mendasari buku ini menyebabkan terjadinya *frame shift* sehingga *stop codon* muncul lebih awal. SNP merupakan polimorfisme yang paling sering terjadi dan memengaruhi fenotipe suatu penyakit (Klug, 2007).

SNP pada ekson 2 dari lokus HLA-DRB1 menyebabkan perubahan sintesis asam amino. Mutasi pada *region coding* lokus HLA-DRB1 menyebabkan terjadi kesalahan pembentukan asam amino yaitu *silent mutation*, sedangkan bila mutasi pada suatu kodon tidak menyebabkan perubahan asam amino yang disandi. *Missense mutation* adalah perubahan nukleotida pada suatu kodon menyebabkan terbentuknya asam amino yang berbeda dan *nonsense mutation* terjadi bila perubahan nukleotida di dalam kodon membentuk *stop codon* sehingga translasi asam amino terhenti lebih awal (Klug, 2007).

Substitusi pada *coding area* menyebabkan terjadinya *frame shift mutation* sehingga terjadi perubahan asam amino. Berdasar penjelasan yang berhubungan dengan HLA dan asosiasi penyakit, jelas bahwa sistem HLA berkolaborasi dengan faktor lain yang tidak berhubungan dengan gen,

sedangkan faktor lingkungan memiliki pengaruh pada proses terjadinya suatu penyakit (Van Wallace, 2010).

Dari penelitian ini, penulis menyimpulkan bahwa varian DRB*1209(2), DRB*1209(3), dan DRB*1209(4) pada populasi Jawa di Surabaya secara positif berkaitan dengan risiko karies. Hal ini terkait polimorfisme pada varian DRB*1209(2), DRB*1209(3), dan DRB*1209(4) sehingga menyebabkan perubahan signal transduksi dalam jalur imunogenetik sekresi sIgA. Dari pemeriksaan ELISA terbukti bahwa rerata kadar sIgA pada DRB*1209(2) sebesar 151.11 ± 57.542 , rerata sIgA DRB*1209(3) sebesar 246.00 ± 31.073 dan rerata sIgA DRB*1209(4) sebesar 112.27 ± 42.299 . Rerata ketiga varian HLA ini berada di bawah 300 ng/ml dan termasuk dalam kategori sIgA rendah sehingga menyebabkan risiko karies tinggi dengan rerata *def-t* sebesar 4,17.

Penyebab peningkatan risiko karies ini adalah penurunan kekuatan presentasi sinyal bakteri karies oleh HLA-DRB1 kepada reseptor sel T. Kekuatan presentasi peptida antigen oleh HLA-DRB1 kepada reseptor sel T berkaitan dengan pembentukan Th2 dan aktivasi sel B yang bermuara pada tingkat sekresi sIgA. Penurunan kekuatan presentasi pada DRB*1209(2), DRB*1209(3) dan DRB*1209(4) secara kuat berkaitan dengan delesi nukleotida sehingga menyebabkan *frame shift* dan *nonsense mutation* sehingga posisi stop kodon maju ke posisi kodon ke-61 pada DRB*1209(2) dan DRB*1209(3) serta kodon ke-79 pada DRB*1209(4), menyebabkan translasi berhenti lebih awal

Mekanisme penurunan kadar sIgA pada varian DRB*1209(2), DRB*1209(3), dan DRB*1209(4) dapat dijelaskan melalui pendekatan konformasi protein. Polipeptida yang terbentuk pada varian DRB*1209(2), DRB*1209(3) dan DRB*1209(4) menjadi lebih pendek, di mana semula 122 asam amino menjadi 61 dan 79 asam amino sehingga struktur tiga dimensi (konformasi) protein DRB*1209(2), DRB*1209(3), dan DRB*1209(4) menjadi sangat pendek dan abnormal dari segi kualitas. Struktur protein ini memicu *chaperon* untuk melakukan *refolding* (pelipatan ulang). Apabila *refolding* polipeptida gagal dilakukan maka dilanjutkan dengan meningkatkan hidrolisis atau destruksi polipeptida DRB*1209(2), DRB*1209(3), dan

DRB*1209(4) yang abnormal melalui sistem *ubiquitin* proteasom (kuantitas). Dengan demikian, kualitas protein yang ditentukan oleh konformasi protein DRB*1209(2), DRB*1209(3), dan DRB*1209(4) serta kuantitas yang ditentukan oleh jumlah/kadar protein DRB*1209(2), DRB*1209(3), dan DRB*1209(4) mengalami penurunan. Hal ini akan memengaruhi sinyal presentasi peptida antigen kariogenik oleh DRB*0808, DRB*0803, dan DRB*0101 kepada reseptor sel T (Lodish *et al.*, 2000; Tropp, 2008).

Premature Termination Codons (PTC) adalah pengenalan kodon stop sebelum akhir translasi. Hal ini menyebabkan residu asam amino terpotong sehingga presentasi peptida antigen ke sel T reseptor tidak berjalan dengan baik. PTC menyebabkan perubahan bentuk 3 dimensi dari varian DRB*1209(2), DRB*1209(3), dan DRB*1209(4).

Dari penelitian kami, diperoleh data bahwa pada kelompok kasus diketahui kadar sIgA pada varian DRB*1209(3) lebih rendah dibanding DRB*1209(2) dan DRB*1209(3). Ditinjau dari posisi kodon stop, susunan nukleotida DRB*1209(4) lebih panjang daripada DRB*1209(2) dan DRB*1209(3). Uji t pada hubungan varian HLA-DRB1 dan CD4 serta hubungan varian HLA-DRB1 dan TGF- β 1 diketahui rerata CD4 dan rerata TGF- β 1 pada DRB*1209(4) lebih rendah dibanding rerata CD4 dan rerata TGF- β 1 pada varian DRB*1209(2) dan DRB*1209(3). Diperkirakan hal ini disebabkan oleh gangguan pada presentasi peptida antigen dari varian DRB*1209(4) menuju TCR sehingga jumlah CD4 menurun dan menyebabkan penurunan kadar sIgA.

Varian DRB*1209 dan DRB*1209(1) memiliki rerata sIgA sebesar 341 ± 35.951 dan 554.20 ± 70.514 . Rerata kedua varian HLA ini berada di atas 300 ng/ml dan termasuk dalam kategori sIgA tinggi dan risiko karies rendah dengan rerata *def-t* sebesar 0,7, berkorelasi secara negatif dengan risiko karies.

HUBUNGAN VARIAN HLA-DRB1 DAN JUMLAH CD4

Perbandingan berdasar varian HLA-DRB1 pada seluruh sampel pada penelitian ini menunjukkan perbedaan yang signifikan pada jumlah CD4

antara kelompok kasus dan kontrol. Peran HLA-DRB1 sebagai molekul yang mempresentasikan peptida antigen kepada sel T reseptor digunakan sebagai dasar tinjauan untuk mengetahui perbedaan jumlah CD4. Apabila varian HLA tertentu mampu menyandi sIgA tinggi berarti HLA tersebut mampu mempresentasikan peptida antigen dengan baik. (Ndung'u, *et al.*, 2005; Manasa *et al.*, 2007). Konsep ini digunakan untuk membahas ikatan DRB*1209 dan DRB*1209(1) yang menghasilkan sekresi sIgA kadar tinggi.

Untuk mengetahui perbedaan kekuatan presentasi peptida antigen antara DRB*1209 dan DRB*1209(1), penulis melakukan analisis bioinformatika melalui *Bio Edit*. Pada analisis ini, tampak perbedaan kedua varian HLA-DRB1, yang terletak pada perubahan residu asam amino D (Aspartat) pada DRB*1209 berubah menjadi H (Histidin) pada DRB*1209(1) karena terjadi substitusi nukleotida pada nukleotida 295(G→C).

Penjelasan tentang perbedaan kemampuan presentasi antigen pada varian DRB*1201 dan DRB*1405 dapat penulis jelaskan melalui pendekatan teori ikatan kimiawi, di mana Aspartat pada DRB*1209 yang bermuatan negatif, berperan sebagai pengikat bagian peptida antigen yang bermuatan positif. SNP pada residu asam amino DRB*1209 mengakibatkan Aspartat berubah menjadi Histidin yang bermuatan positif pada polipeptida DRB*1209(1) sehingga peptida antigen yang bermuatan positif tidak dapat diikat oleh DRB*1209(1) karena terjadi tolak-menolak. Dengan demikian, dapat dipahami jika jumlah CD4 pada DRB*1209 lebih tinggi dibanding DRB*1209(1) berdasarkan pendekatan yang telah diuraikan (Nelson & Cox, 2008).

Pada penelitian ini, terbukti bahwa varian HLA-DRB1 pada kelompok kasus yaitu DRB*1209(2), DRB*1209(3), dan DRB*1209(4) memiliki jumlah CD4 dengan rerata 587,07 sel/UL, lebih rendah dibanding rerata CD4 pada kelompok kontrol yaitu 1028,57 sel/UL. Maka jelas bahwa varian DRB*1209 dan DRB*1209(1) yang tidak mengalami *frame shift* dan *premature termination codons* (PTC) dapat mempresentasikan peptida antigen lebih baik sehingga menghasilkan jumlah CD4 lebih tinggi.

Beberapa penelitian sebelumnya menjelaskan hubungan antara antigen dan HLA dalam patogenesis penyakit, dengan metode yang menyerupai dengan salah satu pendekatan berikut. Pendekatan pertama HLA lemah dalam mempresentasikan peptida virus atau antigen bakteri. Pendekatan kedua diperkirakan terdapat *binding sites* khusus pada permukaan sel T untuk mengikat virus atau bakteri. Pendekatan ketiga diduga tersedia jalur transportasi khusus untuk peptida antigen bakteri sehingga memungkinkan untuk dikenali oleh sel T. Pendekatan keempat adalah Sel T memiliki kesamaan atau similaritas molekul dengan kuman patogen sehingga sistem kekebalan tubuh gagal untuk mengenali patogen asing dan gagal membentuk respons imun untuk melawannya. Diperkirakan bahwa semua mekanisme tersebut terlibat dengan tingkat yang bervariasi di berbagai penyakit (Trosby, 1997).

Perbedaan HLA-DR dalam menyandi pola imunitas beberapa penyakit pada beberapa ras yang berbeda telah dilaporkan pada berbagai penelitian. Glomerulonefritis membranosa idiopatik di kaukasia disandi oleh DR3, sedangkan di Jepang disandi oleh DR2. Beberapa penyakit seperti hipertiroidism, *rheumatoid arthritis*, dan diabetes mellitus tipe I menunjukkan kaitan yang berbeda pula antara tiap ras dengan varian HLA-DRB (Harrison, 2001). Populasi Jawa di Surabaya menunjukkan DRB*1209 sangat berperan pada jalur imunogenetik sIgA, tetapi pada populasi Jepang, jalur ini dikendalikan oleh varian DRB*0403, DRB*0405, DRB*0410, DRB*1602, dan DRB*1405 (Senpuku & Yumiko, 2004).

Mekanisme *rearrangement* DNA pada HLA berpengaruh terhadap vertebrata melalui dua jalur yang segaris yaitu sekresi imunoglobulin dan diversitas reseptor sel T. Imunoglobulin dan reseptor sel T adalah protein yang disintesis oleh limfosit B dan limfosit T. Sepanjang masa hidup organisme, sistem imun harus mampu menyintesis berbagai antigen dan harus mampu menyintesis sistem imunitas untuk menghasilkan imunoglobulin dan protein reseptor pada sel T. Pada masa perkembangan awal dari sel B, genom dan lokus imunoglobulin mengalami *rearrangement*. Hal ini menyebabkan perubahan pada segmen gen Vh, segmen gen Dh, dan segmen gen Jh. Hasil akhir dari *rearrangement* ini berupa gabungan

segmen VDJ dari protein imunoglobulin. Jika sel B telah matang, limfosit ini mengendalikan *class switching* sehingga menghasilkan berbagai tipe imunoglobulin sesuai sintesis yang dilakukan oleh sel B (Brown, 2007).

HUBUNGAN VARIAN HLA-DRB1 DAN TGF-B

Jumlah CD4 yang tinggi akan memacu pembentukan Th2 dan sel B yang lebih baik dalam jalur imunogenetik karies gigi. Kompleks HLA klas II peptida antigen mengaktifkan sel Th2 yang terikat pada TCR dan menginduksi ekspresi CD 40 dari sel T (Rodriguez-Pinto, 2005). Hal ini menghasilkan sinyal sitokin yang dikeluarkan di sinaps Th2- sel B menyebabkan migrasi sel B ke *germinal center* dari folikel, berproliferasi, terjadi hipermutasi somatik, dan *switching isotope* atau *class switch recombination* (CSR). Semua induksi ini terjadi karena pengenalan kompleks sel T - HLA Klas II-epitop antigen. Selama proliferasi sel B dalam *germinal center*, regio C antibodi mengalami modifikasi menjadi CSR. CSR terbentuk untuk merespons sitokin yang diproduksi Th2 untuk perubahan CSR menjadi IgA dan dibutuhkan sitokin TGF- β 1 dengan kontribusi dari IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, dan IL-10 yang telah diinduksi oleh interaksi HLA klas II-antigen, sel B dan sel-Th2 (Van Wallace, 2009; Boris dan Steinke 2003; Lebman *et al.*, 1990).

Untuk mengetahui peran sel B dalam jalur diferensiasi plasma sel dalam jalur imunogenetik karies maka dilakukan pengukuran ekspresi TGF- β 1 melalui imunohistokimia. Hasil penelitian menunjukkan rerata nilai TGF- β 1 pada kelompok kontrol sebesar 0,57 dan varian HLA3 dan kelompok kasus sebesar 0,26. Maka dapat disimpulkan bahwa varian HLA-DRB1 pada kelompok kontrol menyandi ekspresi TGF- β 1 lebih baik dibandingkan varian HLA kelompok kasus. Peningkatan dan penurunan ekspresi TGF- β 1 selaras dengan beberapa penelitian pada *isotypes switching*. Proses *isotypes switching* pada sel B diduga diatur oleh suatu mekanisme tertentu. Analisis ekspresi isotope pada kultur sel B menunjukkan bahwa IgM pada permukaan sel B dapat beralih menjadi isotope yang lain (Cebra *et al.*, 1982). Sitokin tertentu terbukti memengaruhi pola isotope yang

disekresikan. Penelitian sebelumnya menunjukkan penambahan TGF- β 1 pada kultur sel B yang dirangsang dengan lipopolisakarida mampu meningkatkan sekresi IgA diikuti dengan penurunan sekresi isotipe lain (Coffman *et al.*, 1989). Sel prekursor sekresi IgA di kultur ini adalah IgA pada permukaan sel B maka terbukti bahwa TGF- β 1 merangsang isotipe lain beralih ke IgA (Lebman *et al.*, 1990).

PENGARUH CD4 TERHADAP SEKRESI sIgA

CD4 berpengaruh terhadap signal transduksi karena limfosit CD4 adalah sel target mayor pada berbagai infeksi. Penurunan progresivitas CD4 merupakan awal proses patologis yang terkait dengan infeksi, termasuk destruksi sel imunologi lainnya (Manasa *et al.*, 2007). Pada penelitian ini diketahui korelasi antara CD4 dan sIgA pada kelompok kasus dan kontrol sangat kuat. Analisis statistik menggunakan analisis jalur menjelaskan bahwa CD4 memengaruhi sIgA secara tidak langsung. Regulasi sIgA oleh CD4 terjadi melalui pengaruh induksi TGF- β 1. Analisis ini sesuai dengan kerangka teori bahwa *switching isotype* pada sel B memori dengan *membran-bound antibody* IgA terjadi melalui pengenalan CD 40 dan aktivasi TGF- β 1 terhadap sel B naif dengan *membran-bound antibody* IgM dengan induksi IL-5, IL-6 dan IL-10. *Switching isotype* IgA terjadi pada saat IgA dibutuhkan oleh tubuh untuk eliminasi patogen di mukosa. Kecenderungan jaringan limfoid mukosa untuk memproduksi IgA karena TGF- β 1 diproduksi dalam jumlah besar di jaringan ini (Abbas *et al.*, 2010).

Penelitian kami tentang pengaruh jumlah CD4 terhadap risiko karies gigi berpijak pada penelusuran peran faktor inang yang berpengaruh terhadap kerentanan atau risiko seseorang terhadap infeksi dan perkembangan penyakit. Hal ini sejalan dengan penelitian peran CD4 pada kasus HIV (*Human immunodeficiency virus*) di mana faktor inang terbukti berperan pada kerentanan dan perkembangan penyakit melalui polimorfisme reseptor kemokin, respons imun adaptif terhadap patogen, dan polimorfisme pada molekul HLA yang berperan dalam respons imunitas humoral. Frekuensi dari berbagai faktor di atas berhubungan

dengan perbedaan transmisi dan patogenesis penyakit pada latar belakang etnik dan ras yang berbeda. Polimorfisme tinggi pada HLA kelas II menyebabkan keterbatasan pengembangan kandidat vaksin karena desain vaksin harus berdasar pada analisis sekuen patogen dan frekuensi polimorfisme lokus HLA di berbagai negara. Pengumpulan data HLA dari berbagai populasi diharapkan dapat menjelaskan perbedaan mekanisme penyakit berdasar kelompok etnik. Penelitian polimorfisme HLA diharapkan secara signifikan meningkatkan fungsi vaksin yang mampu direspons oleh ikatan CD4-selT untuk memicu respons imunitas adaptif (Ndung'u *et al.*, 2005)

PENGARUH EKSPRESI TGF- β 1 TERHADAP KADAR sIgA

Pada kelompok kasus di penelitian yang dilaksanakan oleh penulis, diperoleh rerata TGF- β 1 sebesar 0,26 dan rerata sIgA 168,5 ng/ml, sedangkan pada kelompok kontrol rerata TGF- β 1 sebesar 0,06 dan rerata sIgA 491,3. Korelasi antara TGF- β 1 dan sIgA pada kelompok kasus sebesar 0,919 dan pada kelompok kontrol sebesar 0,631. Angka tersebut menunjukkan terdapat korelasi kuat antara TGF- β 1 dan sIgA. Analisis jalur pada penelitian ini menunjukkan TGF secara langsung berpengaruh terhadap kadar sIgA. Hubungan ini dapat dianalisis melalui teori *isotype switching*.

isotype switching IgA membutuhkan TGF- β 1 pada untuk mengatur aktivitas transkripsi. TGF- β 1 menghambat kelangsungan hidup atau ekspresi IgA pada sel B yang mengalami *rearrangement* DNA pada lokus IgA setelah stimulasi LPS. Diduga transkripsi sel B dari pasien dengan imunodefisiensi IgA mampu meningkatkan ekspresi transkripsi jika dirangsang dengan TGF- β 1 secara *in vitro* (Islam *et al.*, 1994).

Gangguan pada diferensiasi sel B dapat terjadi oleh karena peningkatan atau penurunan ekspresi TGF- β 1. Perbedaan ini menyebabkan diferensiasi sel B terganggu karena TGF- β 1 menginduksi CD4 dan berbagai sitokin yang berperan pada sekresi sIgA.

Tingkat antibodi IgA saliva ditekan mengikuti perkembangan karies. Penelitian pada peningkatan kadar antibodi IgG dan IgM dalam serum selama pengembangan karies menunjukkan bahwa kompleks imun yang terdiri dari antibodi serum dan antigen *S. mutans* mampu menekan stimulasi sistem kekebalan mukosa. Hal ini didukung oleh penelitian yang mengungkapkan bahwa perawatan karies diikuti oleh peningkatan kadar antibodi IgA untuk *S. mutans*, menyebabkan penurunan tingkat antibodi IgG dan IgM di serum (Marcotte & Lavoie, 1998).

HUBUNGAN KADAR sIgA DENGAN RISIKO KARIES

sIgA memainkan peran penting dalam homeostasis mikrobiota oral dalam proses pencegahan karies. Penelitian pada sIgA pasien dengan lesi awal karies atau karies aktif membuktikan bahwa IgA saliva memainkan peran protektif terhadap karies (Jaspergaard *et al.*, 2002). Hal ini selaras dengan hasil penelitian korelasi sIgA dan indeks karies (*def-t*) pada populasi Jawa di Surabaya dimana terdapat hubungan kuat antara peningkatan karies gigi dan penurunan kadar sIgA, demikian pula sebaliknya.

sIgA pada inang merupakan mekanisme pertahanan imunitas spesifik dalam saliva yang berperan penting dalam homeostasis mikrobiota rongga mulut. antibodi sIgA reaktif terhadap berbagai bakteri komensal yang terdeteksi dalam saliva. Antibodi ini mengontrol mikrobiota rongga mulut dengan menurunkan inisiasi bakteri pada mukosa mulut dan gigi. Induksi antibodi sIgA pada sistem imunitas mukosa mampu menstimulasi sistem pertahanan tubuh terhadap bakteri etiologi karies.

sIgA adalah Ig dominan dalam saliva dan pertahanan spesifik utama dalam mekanisme imunitas rongga mulut. Antibodi sIgA membantu menjaga integritas permukaan mukosa oral dengan menghambat inisiasi mikroba di permukaan epitel dan gigi oleh enzim netralisasi, atau berperan secara sinergis dengan faktor antibakteri lainnya seperti lisozim, laktoferin, peroksidase saliva, dan mucin. sIgA dapat pula mencegah penetrasi antigen dalam mukosa mulut. Saliva umumnya kurang memiliki komponen dan sel efektor fungsional seperti monosit, PMN, dan limfosit.

sIgA dalam serum berperan melengkapi fungsi efektor fungsional ini. sIgA dalam ekologi mikroba oral berpengaruh terhadap bakteri komensal, walaupun terdapat sistem kekebalan mukosa dalam saliva, mikrobiota komensal tetap ada di rongga mulut (Schenck *et al.*, 1993).

Kelangsungan hidup bakteri komensal dalam rongga mulut berkaitan dengan berkurangnya kerentanan dan kemampuan bakteri untuk melawan mekanisme imunitas inang (Cole, 1985). Diperkirakan bahwa antibodi sIgA memainkan peran penting dalam homeostasis mikrobiota oral dan dalam pencegahan terhadap karies (Michalek & Childers, 1990; Smith & Taubman, 1992).

Beberapa penelitian telah membuktikan peran antibodi sIgA terhadap berbagai bakteri di saliva dan sekresi lain di tubuh manusia dan hewan (Ahl & Reinholdt, 1991; Schenck *et al.*, 1993; Marcotte *et al.*, 1995; Marcotte dan Lavoie, 1993). Kelangsungan hidup bakteri komensal dalam rongga mulut berkaitan dengan berkurangnya kerentanan dan kemampuan bakteri komensal untuk melawan mekanisme imunitas. Sebaliknya, studi lain menunjukkan bahwa sebagian besar dari antibodi IgA melawan bakteri komensal melalui *cross-reaktif antigen* dari bakteri lain. Dalam hal ini, sIgA mengalami reaksi silang dengan GTF yang terkait dengan antigen *S. Mutans* (Van Wallace, 2010).

Beberapa peneliti telah melaporkan bahwa antibodi sIgA di saliva bereaksi dengan *S. Mutans* pada saliva bayi walaupun tidak terdeteksi koloni *S. mutans* dalam rongga mulutnya. Antibodi ini mungkin dihasilkan dari perubahan *S. mutans* tanpa menyebabkan kolonisasi permanen. Pada jalur lain diduga antibodi telah diinduksi oleh antigen *cross-reaktif* dari makanan atau bakteri komensal rongga mulut atau mikroorganisme di sistem pencernaan. Cole, *et al.* (1992) menemukan bahwa tikus dewasa yang bebas dari *S. mutans* menunjukkan antibodi sIgA reaktif dengan GTF dan karbohidrat dari *S. sobrinus*. Diduga antibodi sIgA mencerminkan respons terhadap sejumlah antigen bakteri komensal pada dinding sel bakteri yang berbeda, di mana sebagian sIgA bersifat spesifik untuk bakteri tertentu dan sebagian lagi bersifat spesifik untuk bakteri lain (Widerstrom *et al.*, 1994).

Dari penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa pembahasan lokus HLA klas II saja belum mampu menjelaskan seluruh patogenesis pada risiko karies gigi. Karies gigi adalah penyakit kompleks yang melibatkan perkembangan genetika dan berbagai faktor lingkungan. Dengan memahami bagaimana suatu varian HLA-DRB1 menjadi lebih rentan atau resistan terhadap penyakit infeksi seperti karies maka akan terungkap sebagian dari kompleks genetik yang memengaruhi karies gigi. Kurangnya pemahaman bagaimana lokus HLA-DRB1 menyebabkan rentan atau resistan terhadap karies merupakan masalah umum yang belum terselesaikan, bukan hanya di penyakit karies tetapi juga di berbagai penyakit lain. Masalah ini tidak dapat diselesaikan dalam waktu dekat, tetapi semakin dipahami maka proses penanggulangan penyakit tersebut semakin jelas.

Pustaka

- Abbas AK and Lichtman AH. 2007. Basic Immunology: Function and disorders of the immune system. Second Edition. Elsevier. 47-157.
- Abbas AK, Lichtman AH and Pillai S. 2010. Cellular and Molecular Immunology. Sixth Edition. Abbas AK, Lichtman AH and Pillai S. Elsevier. Philadelphia. 3-463.
- Acton RT, Dasanayake AP, Harrison RA, Li Y, Roseman JM, Go RCP, Wiener H, Caufield PW. 1999. Associations of MHC genes with levels of caries-inducing organism and caries severity in African-American women. *Human Immunology*. 60:984-989
- Ahl T and Reinholdt J. 1991. Subclass distribution of salivary secretory immunoglobulin A antibodies to oral streptococci. *Infect. Immun*. 59: 3619–3625.
- Alan E and Francis SC. 2002. Genomic medicine–Primer. *NEJM*. 347:19;1512-1520
- Alberts B, Johnson A, Lewis J. 2002. *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. New York: Garland Science.
- Bagherian A, Nematollahi H, Afshari JT, Moheghi N. 2008. Comparison of allele frequency for HLA-DR and HLA-DQ between patients with ECC and caries-free children. *Journal of Official publication of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*. 26:18-21.
- Balakrishnan M, Simmonds R.S, Tagg JR. 2000, Dental Caries is Preventable Infectious Disease. *Australian Dental Journal*. 45: 235-245.
- Becker WM, Kleinmann LJ and Hardin J. 2006. The regulation of gene expression in; *The World of The Cell 6th*. Pearson Education. San Francisco. 715-738.
- Borish LC and Steinke JW. 2003. Cytokines and chemokines. *J Allergy Clin Immunol*. 111:460-475.
- Bratthall. 1996. Dental caries in Europe. *J Oral Science*. 4: 607-13.

- Brandtzaeg P. 2007. Do Salivary Antibodies Reliably Reflect Both Mucosal and Systemic Immunity? In: Annals of the New York Academy of Sciences. 288-311.
- Brown TA. 2007. Genomes 3. Third Edition. Garland Science Publishing. New York. 505-522.
- Burt BA and Pai S. 2001. Sugar Consumption And Caries Risk: A Systematic review. J Dent Educ. 65(10):1017-23.
- Cebra J J, Cebra ER, Clough ER, Fuhrman JA and Schweitzer PA. 1982. in Regulation of the Immune Response. eds. Peary PL & Jacobs DM. Karger Basel. 107-121.
- Coffman RL, Lebman DA and Shrader B. 1989. J. Exp.Med. 170:1039-1045.
- Cole MF. 1985. Influence of secretory immunoglobulin A on ecology of oral bacteria. In Molecular basis of oral microbial adhesion. Editor: Mergenhagen SE and Rosan B. American Society for Microbiology. Washington DC. 131-135.
- Cole MF, Hsu SD, Sheridan MJ, and Stiles HM. 1992. Natural transmission of *Streptococcus sobrinus* in rats: saliva and serum antibody responses to colonization. Infect. Immun. 60:778-783.
- Ettinger RL. 2001. Epidemiology of Dental Caries: a broad review.. National Institutes of Health. Diagnosis and Management of Dental Caries Throughout Life. Bethesda, Md.: National Institutes of Health. Dent Clin North Am. 43(4):679-94.
- Fontana M, Buller TL, Dunipace AJ, Stookey GK, Gregory RL. 2000. An in vitro microbial-caries model used to study the efficacy of antibodies to *Streptococcus mutans* surface proteins in preventing dental caries. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 7(1):49-54.
- Fox PC, van der Ven PF, Sonies BC, Weiffenbach JM, Baum BJ. Xerostomia. 1985. Evaluation of A Symptom With Increasing Significance. JADA. 110(4): 519-25.
- Goodrich AJ and Tjian R. 2006. Transcription: The never ending story in gene expression and regulation. Editor Jun Ma. First edition. Higher Education Press. 3-20.
- Gronroos L. 2000. Quantitative and Qualitative Characterization of Mutans Streptococci in saliva and in the dentition. Academic Dissertation the faculty of Medicine of the University of Helsinki. Helsinki. 121-132.

- Haruyama N, Sreenath TL, Suzuki S, Yao XM, Wang ZG, Wang Y *et al.* 2009. Genetic evidence for key roles of decorin and biglycan in dentin mineralization. *Matrix Biology* 28(3):129-136.
- Harris NO, García-Godoy F, Nathe CN. 2009. Primary preventive dentistry. Upper Saddle River, N.J.: Pearson
- Harrison. 2001. Prinsip Ilmu Penyakit Dalam. Vol 1, edisi 13. Isselbacher, Braunwald, Wilson, Martin, Fauci, Kasper. Editor Prof dr Ahmad H. Asdie SpPD-KE. Penerbit buku kedokteran EGC.
- Helm S and Helm T. 1990. Correlation Between Caries Experience In Primary And Permanent Dentition In Birth-cohorts 1950-70. *Scand J Dent Res.* 98(3):225-7.
- Horwitz DA, Zheng SG, Gray JD. 2003. The role of combination of IL-2 and TFG-b or IL-10 in the generation and function of CD4+ CD25+ and CD8+ regulatory T cell subsets. *Journal of Leukocyte Biology.*74:471-478
- Islam KB, Baskin B, Nilsson L, Hammarstrom L, Sideras P and Smith CI. 1994. Molecular analysis of IgA deficiency. Evidence for impaired switching to IgA. *J. Immunol.* 152:1442-1452.
- Joewono Soeroso. 2004. Asosiasi HLA-DRB dan HLA-DQB1 Dengan Artritis Reumatoid. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya. 56-58.
- Kinane DF and Hart TC. 2003. Gene and Gene Polymorphisms Associated With Periodontal Disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 14(6):430-449
- Kindt TJ, Osborne BA, Goldsby RA. 2006. Kuby Immunology. Sixth Edition. WH Freeman & Co. 236-341.
- Klug William S. 2007. Structures and names of the nucleoside and nucleotides of polyclonal b cell activation. *Journal of Experimental Medicine.* 165: 1755-1760
- Ksander BR and Streilein JW. 1990. Failure of infiltrating precursor cytotoxic T cells to acquire direct cytotoxic function in immunologically privileged sites. *J Immunol.*145:2057-63.
- Larson MR, Rajashankar KR, Patel MH, Robinette RA, Crowley PJ, Michalek S *et al.* 2010. Elongated fibrillar structure of a streptococcal adhesin assembled by the high-affinity association of α - and PPII-helices. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(13):5983-5988.
- Lebman DA, Lee FD and Coffman RL. 1990. Mechanism for transforming growth factor b and IL-2 enhancement of IgA expression in lipopolysaccharide-stimulated B cell cultures. *J. Immunol.* 144:952-959.

- Lebman DA, Lee FD and Coffman RL. 1990. Immunology Molecular Characterization of Germ-Line Immunoglobulin A Transcripts Produced During Transforming Growth Factor Type, 8-Induced Isotype Switching (polymerase chain reaction). *J. Immunol.* 87:3962-3966.
- Lehner T. 1996. *Imunologi Pada Penyakit Mulut*. Terjemahan Farida dan Suryadana. Ed.3. Jakarta. EGC press. 61-89
- Leone CW and Oppenheim FG. 2001. Physical and Chemical Aspects Of Saliva As Indicators Of Risk For Dental Caries In Humans. *J Dent Educ.* 65(10): 1054-62.
- Li Y and Wang W. 2002. Predicting Caries In Permanent Teeth From Cariesin Primary Teeth: An Eight-Year cohort study. *J Dent Res.* 81(8):561-6.
- Lwanga SK and Lemeshow S. 1991. Sample size determination in health studies: a practical manual. World Health Organization. Geneva. 80.
- Macpherson, A. J. & Uhr, T. 2004. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science* 303, 1662 – 1665
- Macpherson, A. J. 2000. A primitive T cell-independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensal bacteria. *Science* 288, 2222 – 2226
- Marcotte H and Lavoie MC. 1993. Evaluation of mouse salivary IgA directed against indigenous oral bacteria. *J. Immunoassay* 14:63–81.
- Marcotte H, Rodrigue L, Gamache M and Lavoie MC. 1995. Immunization against the oral indigenous bacteria of the BALB/c mouse. *Adv.Exp. Med. Biol.* 371B:1173–1176.
- Marcotte H and Lavoie MC. 1998.Oral Microbial Ecology and the role of salivary Immunoglobulin A. *J Microbiol Mol Biol Rev* 1:71-109.
- Medzhitov R and Janeway CA Jr. 2000. Innate Immunity. *Advances in Immunology.* The New England Journal of Medicine. 343-338.
- Medzhitov R. 2007. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature* 449(7164):819-826.
- Mestecky J, Lamm ME, Strober W, Bienenstock J, McGhee JR, Mayer L. 2005. *Mucosal Immunology*. Third Edition. Elsevier. 561-574.
- Michalek SM and Childers NK. 1990. Development and outlook for a caries vaccine. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 1:37–54.
- Murphy K, Travers P and Walport M. 2008. *Janeway's Immunobiology*. Seventh Edition. Garland Science.111-142
- Nariyama M, Shimizu K, Uematsu T, and Maeda T. 2004. Identification of chromosomes associated with dental caries susceptibility using quantitative trait locus análisis in mice. *Caries Res.* 38:79-84.

- National Institutes of Health. 2001. Diagnosis And Management of Dental Caries Throughout Life. Bethesda, Md.: National Institutes of Health.
- Navazesh M. 1994. Salivary Gland Hypofunction In Elderly Patients. *J.Calif Dent Assoc.* 22(3):62-8.
- Nobbs AH, Lamont RJ, Jenkinson HF. 2009. Streptococcus Adherence and Colonization. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 73(3):407-450.
- Nogueira RD, Alves AC, Napimoga MH, Smith DJ, Mattos-Graner RO. 2005. Characterization of salivary immunoglobulin A responses in children heavily exposed to the oral bacterium *Streptococcus mutans*: Influence of specific antigen recognition in infection. *Infection and Immunity.* 73(9):5675-5684
- Horst OV, Tompkins KA, Coats SR, Braham PH, Darveau RP and Dale BA. 2009. TGF- β 1 Inhibits TLR-mediated Odontoblast Responses to Oral Bacteria. *J DENT RES.* 88: 333.
- Ogaard B, Seppa L and Rolla G. 1994. Relationship Between Oral Hygiene and Approximal Caries in 15-year-old Norwegians. *Caries Res.* 28(4):297-300.
- Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, Bienenstock J, McGhee JR. 1999. *Mucosal Immunology.* San Diego:Academic Press. 485-506.
- Pinkham JR. 2005. *Pediatric dentistry: infancy through adolescence* St. Louis, Mo.: Elsevier Saunders.
- Rashkova M, Baleva M, Peneva M, Toneva N, Jegova G. 2009. Secretory Immunoglobulin A And Dental Caries of Children With Different Disease And Conditions Influencing Oral Medium. *Journal of IMAB - Annual Proceeding (Scientific Papers) book 2, 6-9*
- Reich E, Lussi A and Newbrun E. 1999. Caries Risk Assessment. *Int Dent J.* 49(1): 15-26.
- Retno Indrawati. 2006. Aktivitas enzim dextranase dan sebaran genotype *Streptococcus mutans* penderita karies dan bebas karies. Disertasi. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga. Surabaya. 58-72.
- Russell JI, MacFarlane TW, Aitchison TC, Stephen KW and Burchell CK. 1999. Prediction of dental caries in Scottish adolescents. *Community Dent Oral Epidemiol.* 19(2):74-7.
- Rodriguez-Pinto D (2005). B cells as antigen presenting cells. *Cellular Immunology* 238(2):67-75.
- Schenck K, Poppelsdorf D, Denis C and Tollefsen T. 1993. Levels of salivary IgA antibodies reactive with bacteria from dental plaque are associated with susceptibility to experimental gingivitis. *J. Clin. Periodontol.* 20:411-417.

- Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. 2007. Dental caries. *Lancet* 369(9555):51-59.
- Senpuku H. 1995. An antigenic peptida inducing cross-reacting antibodies inhibiting the interaction of *Streptococcus mutans* PAc with human salivary components. *Infect Immun (USA)*. Baltimore Md. American Association of immunologists. 63:4695-4703.
- Senpuku H and Yumiko M. 2004. Method for examining the caries risk, United States Patent 20040132071.
- Senpuku H. 2001. Inhibitory Effects of MoAbs against a Surface Protein Antigen in Real-Time Adherence In vitro and Recolonization In vivo of *Streptococcus mutans*. *Scand J. Immunol. England*. Oxford Blackwell Scientific Publications. 54:109-116
- Shuler CF. 2001. Inherited risks for susceptibility to dental caries. *Journal of Dental Education*. 65:1038-1045.
- Slayton RL, Cooper ME, Marazita ML. 2005. Tuftelin, Mutans Streptococci, and Dental Caries Susceptibility. *J Dent Res*. 84(8):711-714,
- Smith DJ and Taubman MA. 1992. Ontogeny of Immunity to Oral Microbiota in Humans Department of Immunology. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. 3:109-133.
- Stephanopoulos G, Garefalaki ME, Lyroudia K. 2005. Genes and related proteins involved in amelogenesis imperfecta. *Journal of Dental Research*. 84(12): 1117-1126.
- Suhartati. 2006. Mutasi Gen Penyebab Defisiensi Glukosa 6 Fosfat Dehidrogenase (G6PD) Di Surabaya Dan Kepulauan Maluku Tenggara. Disertasi. Program Pasca sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Tenovuo J, Jentsch H, Soukka T and Karhuvaara L. 1992. Antimicrobial factors of saliva in relation to dental caries and salivary levels of mutans streptococci. *J. Biol. Buccale* 20:85–90.
- Tinanoff N and Douglass J. 2001. Clinical Decision-Making For Caries Management In Primary Teeth. *J Dent Educ*. 65(10):1133-42.
- Tsuha Y, Hanada N, Asano T, Abe T, Yamaguchi S, Salam MA, Nakao R, Takeuchi H. 2004 Role of peptida antigen for induction of inhibitory antibodies to *Streptococcus mutans* in the human oral cavity *Clin Exp Immunol*
- Townsend G, Richards L, Hughes T. 2003. Molar intercuspal dimensions: Genetic input to phenotypic variation. *Journal of Dental Research* 82(5):350-355.
- Twetman S, Johansson I, Birkhed D, Niderfors T. 2002. Caries incidence in young type 1 diabetes mellitus patients in relation to metabolic control and caries-associated risk factors. *Caries Research* 36(1):31-35.

- Tréjaut J, Kennedy A, Hobart D, Le T, Greville W. D, G. Ng, Taverniti A& Dunckley H. 2001. PCR-RFLP typing detects new HLA-DRB1 alleles: DRB1*13022, DRB1*1336 and DRB1*1435. Blackwell Science Ltd, European Journal of Immunogenetics 28, 441–447
- van Ginkel FW, Nguyen HH, and McGhee JR. 2000. Vaccines for Mucosal Immunity to Combat Emerging Infectious Diseases. Emerging Infectious Diseases. 6:123-132.
- Van Vlasselaer, P., J. Punnonen, and J. E. de Vries. 1992. Transforming growth factor b directs IgA switching in human B cells. J. Immunol. 148:2062–2067.
- Van Wallace MC, Jr. 2010. Immunogenetic of dental Caries. Dissertation. School of Dentistry, Indiana University, USA.
- Weaver RF. 2008. Molecular tool for studying gen and gen activity in molecular biology. 4th edition. Editor: Weaver R F. McGraw Hill. New York. 97-125.
- Widerstrom L, Bratthall D and Hamberg K. 1994. Immunoglobulin A antibodies to mutans streptococci in human saliva and serum comparing fresh and subcultivated strains and activity in repeated saliva samples. Oral Microbiol. Immunol. 9:278–283.
- Wright JT, Hart TC. 2002. The Genome Projects: Implications for Dental Practice and Education. Journal of Dental Education. 66:659-671
- Yuwono, T. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Andi Yogyakarta
- Zero D. 2004. Sugars: the arch criminal? Caries Res. 38(3):277-85.
- Zhernakova A, van Diemen CC and Wijmenga C. 2009. Detecting shared pathogenesis from the shared genetics of immune-related diseases. *Nature Reviews Genetics* 10(1):43-55.
- Pitts, N.B., Zero, D.T., Marsh, P.D., Ekstrand, K., Weintraub, J.A., Ramos-Gomez, F., Tagami, J., Twetman, S., Tsakos, G. and Ismail, A., 2017. Dental caries. *Nature reviews Disease primers*, 3, p.17030.

Biografi

Pratiwi Soesilawati lulus pendidikan dokter gigi dari Universitas Airlangga tahun 1995, dan merampungkan pendidikan Magister Ilmu Kesehatan Gigi di Pascasarjana Universitas Airlangga tahun 2001. Pendidikan doctoral Ilmu Kesehatan diselesaikan pada tahun 2011 dengan *sandwich programme* di *University of Putra Malaysia*.

Selepas program Doktor, ibu dari satu orang putera ini mengikuti *staff exchange* di *Department of Bacteriology – Graduate School of Biomedical Sciences Hiroshima University*. Beberapa pelatihan di bidang genetika molekuler diikuti baik di dalam dan luar negeri untuk melengkapi keterampilan laboratorisnya. Brevet Pakar Anatomi ia raih pada tahun 2007 dan Pakar Anatomi Konsultan diperoleh pada tahun 2011.

Di almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Pratiwi mengajar untuk bidang ilmu Histologi Kedokteran Gigi, Biologi Oral, Research Instrumentation, Genetika Molekuler, Proteomik dan Genomic, Biologi Oral Lanjut, serta Imunologi pada program Pendidikan Sarjana Kedokteran Gigi, Program Pendidikan Magister Ilmu Kesehatan Gigi, Program Doctoral by Research Kedokteran Gigi dan Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis. Beberapa tugas sebagai pendidik, tim Task Force Pengabdian Masyarakat Universitas Airlangga, Sekretaris *World University Association For Community Development* Universitas Airlangga, Tim Pengembang Pengabdian Masyarakat Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Koordinator Kabupaten Lamongan dan Kabupaten Bandung untuk Kuliah Kerja Nyata, serta Reviewer Penelitian Nasional bersertifikat dijalaninya sebagai ibadah kepada Allah SWT.

Dalam menjalankan tugasnya sebagai ibu, istri dan dosen, puluhan journal ilmiah nasional dan internasional telah ia publikasikan. Beberapa Granted Paten dan Hak Cipta telah ia peroleh dari Kementerian Hukum dan Hak asasi Manusia. Saat ini, dosen, peneliti dan pelaksana pengabdian masyarakat ini sedang menjalankan kerja sama riset dengan *Kagoshima University* dan *University of Malaya*. Kecintaannya pada dunia penelitian memacu dirinya untuk menulis beberapa buku ilmiah. Buku **Imunogenetik Karies Gigi ini** adalah buku pertamanya. Buku ini merupakan intisari dari perjalanan pendidikan, penelitian, dan pelatihan yang telah di jalannya selama ini.