

BAB 2

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Definisi karies gigi

Karies gigi adalah kerusakan gigi yang progresif dari enamel, dentin dan sementum, yang dimulai bekerjanya mikroorganisme pada permukaan gigi (Melville and Russell, 1981).

Kidd and Joyston (1987) mendefinisikan karies gigi sebagai infeksi jaringan enamel, dentin dan sementum, yang disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme yang mampu meragikan karbohidrat, memberi tanda adanya demineralisasi jaringan keras gigi dan diikuti oleh kerusakan bahan organiknya, akibatnya terjadi infeksi bakteri yang menyebabkan kematian pulpa, dan penyebaran infeksi ke jaringan periapikal yang dapat menimbulkan rasa nyeri.

Karies gigi ialah suatu penyakit infeksi yang dapat menular yang terutama mengenai jaringan keras gigi. Proses ini terjadi melalui suatu reaksi kimiawi oleh mikroorganisme, dengan serangan permulaan pada bagian anorganik gigi, kemudian diikuti kerusakan dari bagian organik gigi (Mc Ghee et al., 1982).

2.2. Epidemiologi karies gigi

Karies gigi merupakan penyakit yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat dinegara berkembang.

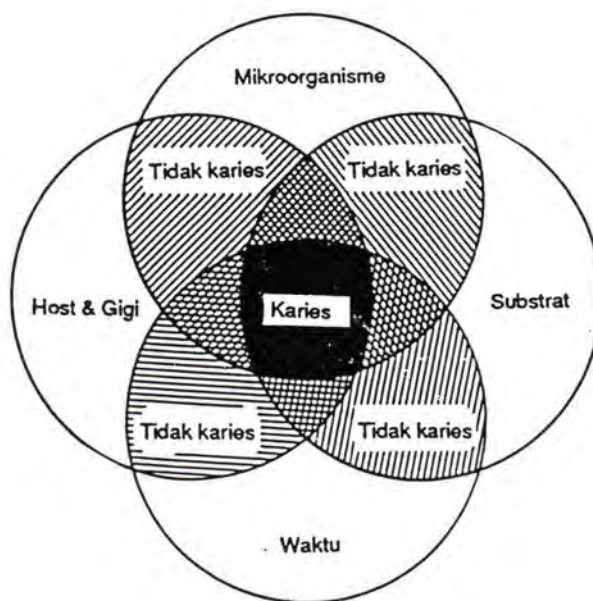
Peta dunia tentang distribusi karies gigi menunjukkan terjadi penurunan frekuensi karies gigi di negara maju, tetapi kenaikan dinegara berkembang (Barmes, 1983).

Beberapa data karies gigi anak usia sekolah di Indonesia yang ada selama ini menunjukkan angka yang sangat tinggi. Penelitian yang dilakukan oleh Supartinah dari tujuh lokasi pemeriksaan di Yogyakarta pada anak usia 3 - 5 tahun, 75% menderita karies dengan rata-rata def-t 5,19. Pada tahun 1985 dilaporkan frekuensi karies gigi di seratus sekolah taman kanak-kanak di Yogyakarta sebesar 85 %, tanpa melaporkan indeks def-tnya (Rinaldi dan Sutardjo, 1985).

Di Medan frekuensi karies gigi sulung anak usia balita, karena minum susu botol di beberapa Puskesmas adalah 61% (Lina dan Situmorang, 1985). Penelitian yang dilakukan Suwelo di Jakarta pada anak-anak usia pra sekolah menderita karies sebesar 85,7% dengan rata-rata def-t sebesar 6,04 (Suwelo, 1988 cit Nuraini, 1993).

2.2.1. Etiologi Karies Gigi

Terjadinya karies gigi adalah suatu kejadian biologis, dengan berperannya banyak faktor yang merupakan interaksi antara *host* dan gigi, substrat, mikroorganisme dan waktu (Sumawinata dan Faruk,1992). Paduan kekempat faktor penyebab tersebut dapat digambarkan sebagai empat lingkaran yang bersitumpang sebagai berikut :



Gambar 2.1 : Empat lingkaran yang menggambarkan paduan faktor penyebab karies (Sumawinata dan Faruk, 1992)

a. Peran mikroorganisme

S.mutans merupakan mikroorganisme yang kariogenik, karena mampu segera membuat asam dari karbohidrat yang dapat diragikan. Kuman tersebut dapat tumbuh subur dalam suasana asam dan dapat

menempel pada permukaan gigi, karena kemampuannya membuat polisakarida ekstra sel yang sangat lengket dari karbohidrat makanan. Polisakarida ini yang terutama terdiri dari polimer glukosa, menyebabkan matriks plak gigi mempunyai konsistensi seperti gelatin. Akibatnya, memudahkan mikroorganisme saling melekat satu sama lain pada permukaan gigi. Dan karena plak makin tebal maka hal ini akan menghambat fungsi saliva dalam menetralkan plak tersebut (Lehner, 1992).

Rosen et al., (1991), menemukan jumlah *S.mutans* yang meningkat pada individu dengan aktivitas karies yang tinggi, sedangkan pada individu dengan aktivitas karies rendah, *S.mutans* ditemukan dalam jumlah sedikit.

b. Peran Substrat (Karbohidrat makanan)

Dibutuhkan waktu bagi plak dan karbohidrat yang menempel pada gigi untuk membentuk asam dan mampu mengakibatkan demineralisasi enamel. Karbohidrat ini menyediakan substrat untuk pembuatan asam bagi mikroorganisme dan sintesa polisakarida ekstra sel.

Tidak semua karbohidrat sama derajat kariogeniknya. Karbohidrat yang kompleks misalnya pati, relatif tidak berbahaya karena tidak dicerna secara sempurna didalam mulut, sedangkan karbohidrat dengan berat

molekul yang rendah seperti gula akan segera meresap kedalam plak dan dimetabolisme dengan cepat oleh bakteri.

Makanan dan minuman yang mengandung gula akan menurunkan pH plak dengan cepat sampai derajat yang dapat menyebabkan demineralisasi enamel. Plak akan tetap bersifat asam selama beberapa waktu. Untuk kembali ke pH normal sekitar 7, dibutuhkan waktu 30-60 menit. Oleh karena itu, konsumsi gula yang sering dan berulang akan tetap menahan pH plak dibawah normal dan menyebabkan demineralisasi enamel (Kidd and Joyston 1987, Lehner 1992).

c. Peran waktu

Adanya kemampuan saliva untuk mendepositkan kembali mineral selama berlangsungnya proses karies, menandakan bahwa proses karies tersebut terdiri atas periode perusakan dan perbaikan yang silih berganti, oleh karena itu proses terjadinya tidak dalam waktu yang pendek, melainkan dalam bulan atau tahun (Lehner, 1992).

d. Peran *host* dan gigi

Kepekaan *host* terhadap derajat karies tergantung dari faktor genetik, komposisi gigi, aliran saliva serta keadaan imunitas. Dilaporkan bahwa pada individu dengan umur yang lebih tua, mempunyai gigi yang lebih tahan terhadap karies, karena telah terjadi maturasi enamel.

Dikatakan pula bahwa berkurangnya aliran dan jumlah saliva meningkatkan resiko terjadinya karies, hal ini dikarenakan selain saliva mampu remineralisasikan karies yang masih dini, saliva juga mempengaruhi keadaan mikroorganisme dan pH didalam plak.

Plak yang mengandung bakteri merupakan awal bagi terbentuknya karies gigi, oleh sebab itu permukaan gigi seperti pit dan fisur permukaan molar dan premolar, pit bukal molar, pit palatal insisif, bagian aproksimal sedikit dibawah titik kontak, enamel pada tepian daerah leher gigi, permukaan akar yang terbuka, merupakan daerah yang mudah terserang karies, hal ini karena secara anatomi pada daerah-daerah tersebut permukaannya kasar, atau sulit terjangkau pada saat penyikatan, sehingga mempermudah terjadinya akumulasi plak (Rosen et al., 1991, Lehner 1992).



2.2.2. Faktor Predisposisi Karies Gigi

a. Keadaan gigi itu sendiri:

Kekuatan gigi merupakan suatu akibat dari hasil perkembangan benih gigi sampai gigi terbentuk sempurna. Kekuatan ini tergantung dari beberapa faktor yaitu :

- Faktor Keturunan
- Faktor bawaan lahir
- Faktor kesehatan anak
- Faktor daerah tempat lahir dan dibesarkan

b. Jenis makanan

Di Amerika Serikat sejak diproduksi gula pabrik, dan diolah menjadi makanan manisan seperti biskuit, permen, roti; maka jumlah penderita karies gigi meningkat

c. Kebiasaan jelek

Kebiasaan jelek suka menggigit benda keras seperti jarum, benang, pensil dan sebagainya akan menyebabkan gigi aus, sehingga akan lebih memudahkan mikroorganisme menambah dalamnya karies gigi.

d. Jenis pekerjaan

Hasil penelitian di beberapa negara maju, ternyata para pekerja di pabrik tepung, cat, air raksa; mudah terkena karies gigi apabila kurang berhati-hati menutup mulutnya sewaktu bekerja.

e. Kontrol berkala ke dokter gigi

Penderita tidak akan bisa melihat dengan jelas keadaan keseluruhan dari giginya, sehingga memerlukan untuk mengontrol kesehatan giginya secara teratur setiap enam bulan sekali.

2.3. Peran *Streptococcus mutans* sebagai penyebab karies

Beberapa jenis dari *Streptococcus* hidup sebagai parasit pada manusia, yang dapat ditemukan pada kulit, genital, rongga mulut dan rongga hidung. Dalam rongga mulut manusia, *Streptococcus* merupakan kelompok yang paling banyak dari flora rongga mulut, yang mencapai sekitar 30% sampai 60%, terutama *Streptococcus* grup viridans, terdiri dari *S.salivarius*, *S.mitior*, *S. mutans* dan *S.sanguis* (Joklik et al., 1984).

Etiologi karies gigi karena bakteri pertama kali diajukan oleh Miller pada tahun 1882 (Shafer et al.,1983) dengan teorinya *chemico parasitic*, yaitu karena adanya bakteri rongga mulut yang sangat kompleks, misalnya dalam saliva dan plak gigi. Miller berpendapat bahwa beberapa macam bakteri rongga mulut mungkin mengadakan fermentasi gula menjadi laktat.

Clarke adalah peneliti pertama yang menemukan *S.mutans* pada tahun 1924,dan memilih nama tersebut karena sifat *S.mutans* yang *pleiomorphic* (Hamada, 1980).

S.mutans dapat ditemukan pada rongga mulut setiap individu. Kolonisasi *S.mutans* kemungkinan terjadi pada saat gigi mulai tumbuh. Orang tua terutama ibu atau pengasuh dapat merupakan penyebab dari kontak pertama *S.mutans* pada bayi. Konsep ini merupakan dasar dalam penemuan identifikasi serotipe dari *S.mutans* yang sama antara ibu dan anak. Dikatakan pula bahwa kolonisasi *S.mutans* mudah menyebar ke permukaan gigi yang lain (Slot and Taubman 1992, Bratthall, 1976).

Beberapa penelitian cross-sectional dan penelitian longitudinal selama 10 tahun terakhir menyatakan bahwa diketemukan kadar *S.mutans* lebih tinggi pada individu dengan karies gigi, serta prosentase *S.mutans* yang lebih tinggi pada anak-anak dengan karies aktif dari pada anak-anak yang bebas karies.

Beberapa alasan mengapa *S.mutans* yang terdapat sebagai komensal rongga mulut disebut penting hubungannya dengan karies gigi, dijelaskan oleh Mc Ghee et al.,(1982) cit Soerodjo (1989) sebagai berikut :

1. Dapat membuat enzim *glucosyltransferase (GTF)* yang menyebabkan produksi glukon dari sukrosa. Glukon yang terbentuk merupakan masa seperti lumpur, pekat, tidak mudah larut, bersifat lengket, penting didalam pembentukan plak.
2. Glukon yang mempunyai daya lekat merupakan satu tanda virulensi yang karakteristik untuk *S.mutans*.

3. Sangat asidogenik sehingga dapat menyebabkan demineralisasi hidroksi apatit dengan pH terminal 3 - 4 yang dapat menyebabkan karies gigi.
4. Dalam metabolisme sukrosa dapat merubah glukosa menjadi *intracellular polysaccharide (IPS)*, sebagai bahan cadangan.

2.4. Karakteristik *Streptococcus mutans*

Menurut Shklair and Keene (1974), Slot and Taubman (1992), *S. mutans* termasuk mikroorganisme gram positif, bersifat fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, tidak bergerak aktif, mempunyai susunan seperti rantai, berdua atau lebih, dengan diameter selnya 0,5 - 0,75 Um, berbentuk bulat agak lonjong. Pada umumnya *S. mutans* termasuk alfa hemolitik, namun kadang-kadang pada beberapa strain bersifat beta hemolitik. Dapat tumbuh pada media agar darah, media cair Brain Hearth Infusion (BHI) dan Todd Hewitt broth. Media selektif yang umumnya digunakan adalah Mitis Salivarius Agar (MSA) dan Tryton Yeast Cystine (TYC) agar. *S. mutans* dapat dibedakan dengan *oral Streptococcus* lainnya dengan melihat fermentasinya terhadap manitol, sorbitol, raffinose, inulin, arginin, dan esculin.

Zinner at al yang pertama kali melakukan serologi dari *S. mutans* strain FA1 dan HS1. Kemudian dilanjutkan oleh Bratthall (1976) yang menyatakan bahwa *S. mutans* terdiri dari 5 serotipe yaitu a,b,c,d,e. Perch at al mengusulkan menambah 2 serotipe yaitu f dan g. Coykendall melaporkan

berdasarkan analisa studi DNA pada strain *S.mutans* secara genospesies dapat dikelompokkan menjadi 4 group (I-IV) (Hamada and slade, 1980).

Shklair dan keene mengusulkan secara biokimiawi *S.mutans* terdiri dari 5 biotipe yang dilaporkan mempunyai korelasi dengan serotipe a sampai e. Biotipe didasarkan atas fermentasi dari manitol (dengan atau bacitracin), sorbitol, raffinose, melibiose serta produksi ammonia dari arginine.

Beberapa tahun terakhir telah dipublikasikan secara meluas, bahwa serotipe *S.mutans* berdasarkan perbedaan antigen polisakarida pada dinding selnya, terdapat 8 serotipe (a sampai h). Serotipe c dan d berhubungan dengan karies gigi pada manusia (Lehner 1992, Slot and Taubman 1992).

Struktur dan komposisi antigenik dari *S.mutans* merupakan pertimbangan penting pada respons imun terhadap organisme ini (Lehner, 1992). Matrik dinding selnya terdiri dari peptidoglikan rantai silang yang mempunyai komposisi gula amino N-asetil, asam N-asetilnuramik dan beberapa peptida.

Antigen permukaan dinding sel terlibat dalam imunogenitas organisme. Sejumlah antigen telah ditemukan, yang terpenting adalah protein; termasuk enzim glukosiltransferase. Enzim ini mampu mengubah sukrosa menjadi dekstran yang bertanggung jawab terhadap adhesi *S.mutans* pada permukaan gigi. Antigen protein terbanyak lainnya disebut antigen I, II, I/II dan antigen III. Antigen I dan II tampak berupa determinan yang biasanya terdapat dalam molekul tunggal yang disebut antigen I/II, antigen ini mempunyai berat

molekul 185.000 dalton. Imunisasi pada hewan coba dengan antigen I/II dan glukosiltransferase dapat mencegah terjadinya karies. Menurut Hajishengalis et al (1992), antigen I/II berfungsi sebagai adhesin, yang mana adhesin merupakan bahan perantara yang menyebabkan *S.mutans* dapat melekat pada permukaan gigi yang dilapisi oleh pelikel saliva (Sidarningsih, 1999).

Tabel 2.1. Sifat karakteristik dari grup *S.mutans* (Slot and Taubman, 1992).

Characteristic	Species						
	<i>S.cricetus</i>	<i>S.dowaci</i>	<i>S.ferus</i>	<i>S.macocos</i>	<i>S.mutans</i>	<i>S.rattus</i>	<i>S.sobrinus</i>
Hemolysis	γ° (some α)	μ°	μ	α	α or γ (some β)	μ	γ (some α)
Fermentation of :							
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	-	+	+	+	+	±
Raffinose	+	-	-	+	+	+	±
Inulin	+	+	+	-	+	+	-
Melibiose	+	-	-	-	+	+	-
Hydrolysis of :							
Arginine	-	-	-	-	-	+	-
Esculin	+	-	+	-	+	+	±
Production of :							
Acetoin	+	+	±	+	+	+	+
Hydrogen peroxide	-	-	-	-	-	-	+
Polymer from sucrose :							
Formed	+	+	+	+	+	+	+
Adherent	-	-	-	-	-	-	-
Bacitracin resistance	-	-	-	-	+	+	+
Mutans group serotype	a	h	c	c	def	b	d.g.
Primary host species	Human	Monkey	Rat	Monkey	Human	Human	Human
More G + C content	42 ATCC	41-42 NCTC	43-45 ATCC	35-36 NCTC	36-38 ATCC 25175	41-43 ATCC	43-46 ATCC
Type strain	19642	11391	33477	33477	(NCTC 10449)	19645	33478

2.5. Imunitas terhadap *Streptococcus mutans*

2.5.1. Pertahanan yang didapat Selama Masa Perinatal dan Bayi

Didalam tubuh terdapat 5 kelas imunoglobulin (Ig) yaitu IgA, IgD, IgE, IgG, dan IgM. Ibu dapat mempengaruhi bayi *in utero* dengan memindahkan antibodi IgG maternal terhadap *Streptococcus*. Tetapi, karena terbatasnya waktu paruh antibodi pasif yang dipindahkan, maka antibodi tersebut akan menghilang setelah bayi umur 3-6 bulan.

Setelah lahir, ibu merupakan sumber infeksi oleh *S.mutans*, oleh karena kontak yang dekat seperti ciuman pada bayi. Terpaparnya bayi oleh *S.mutans* dalam jumlah besar dari saliva ibu mungkin membuat tertelannya mikroorganisme tersebut. Pada bayi muda sebelum gigi tumbuh (0-5 bulan), tidak terdapat gigi untuk tempat perlekatan *S.mutans*, sehingga tidak terdapat kolonisasi dalam rongga mulut. Tetapi antibodi IgA saliva terhadap *S.mutans* mungkin dibentuk oleh antigen yang tertelan masuk secara langsung ke kelenjar saliva minor yang bertebaran dibawah mukosa mulut atau secara tidak langsung menelan *S.mutans* dengan konsentrasi cukup sehingga merangsang jaringan limfoid pada usus untuk membentuk respons imun.

Hubungan tipe pertahanan antara ibu dan anak telah diteliti, tetapi ada kemungkinan respons imun yang efektif tidak didapat atau toleran terhadap antigen permukaan; maka kolonisasi pada gigi bayi akan terjadi oleh transmisi *S.mutans* dalam saliva maternal. Hal mana yang perlu diperhatikan, bahwa

makin awal infeksi pada gigi oleh *S.mutans*, makin besar resikonya terhadap perkembangan karies.

Sumber lain dari antibodi dan leukosit dalam mulut bayi adalah air susu ibu (ASI). ASI mengandung IgA sekretori, komplemen, PMN dan makrofag yang mampu melakukan opsonisasi, fagositosis dan membunuh jasad renik. Studi epidemiologi telah menunjukkan bahwa bayi yang minum ASI kurang peka terhadap infeksi dibandingkan dengan bayi yang mendapat makanan buatan. hal ini tampak jelas bahwa ASI berisi antibodi terhadap *S.mutans*, sehingga bayi dengan ASI mendapat tambahan antibodi IgA, juga sel fagosit yang mungkin mengubah pola kolonisasi mikroba dalam rongga mulut (Lehner,1992).

2.5.2. Karies Gigi dan Respons Imun dari Host

Karies gigi dikarenakan tidak adanya keseimbangan antara mikroorganisme penyebab dan respons imun host. Keadaan tidak seimbang tersebut mungkin suatu peristiwa kepekaan atau suatu imunitas yang rendah. pada penderita karies, respons imun lokal yaitu infiltrasi leukosit, enzim lysozomal dan lainnya, tidak berhasil menghilangkan mikroorganisme yang terus melekat pada permukaan gigi.

Menurut Lehner (1992), permukaan gigi dipengaruhi oleh mekanisme imun sistemik dan salivari lokal. pembagian antara 2 mekanisme tersebut berada pada tepi gingiva dan daerah saliva. Perbedaan antara daerah saliva

dan gingiva menunjukkan bahwa daerah saliva sangat tergantung pada IgA sekretori (s.IgA), sedang daerah gingiva dikontrol oleh semua komponen imun yang ada dalam darah. daerah gingiva berpengaruh pada penyakit periodontal maupun karies, sedang daerah saliva berpengaruh pada infeksi karies.

Dalam saliva mempunyai kandungan kira-kira 19 mg IgA, 1,4 mg IgG dan 0,2 mg IgM setiap 100 ml saliva. IgA yang dominan adalah dimerik, 05-10% berbentuk monomerik, dan s.IgA adalah yang dimerik (Lehner 1992, Challacombe 1994). Didalam saliva penderita karies ditemukan sIgA yang menurun (rendah), apabila dibandingkan dengan karies negatif. Hal ini kemungkinan karena peran dari s.IgA dalam menahan perlekatan *S.mutans* pada permukaan gigi dan fungsinya dalam menghambat kerja enzim glukosiltrasferase dari *S.mutans* (Lehner 1992, Slot and Taubman 1992).

Didalam saliva juga ditemukan IgM, yang mana pada kondisi defisiensi IgA, akan dikompensasi produk IgM secara lokal untuk memberi dukungan sebagai pertahanan terhadap infeksi.

Bekerjanya cairan gusi mencerminkan respons imun sistemik dalam rongga mulut. Antibodi IgG, dalam serum mampu melakukan opsonisasi terhadap *S.mutans*. Kedua antibodi IgG dan IgM akan mengaktifkan komplemen bila bergabung dengan antigen. Demikian juga *S.mutans* dapat merangsang limfosit manusia untuk berproliferasi maupun melepas sitokin. Fungsi ini merupakan pendukung untuk terjadinya imunitas seluler terhadap organisme kariogenik pada manusia.

Dalam penelitian terakhir menunjukkan bahwa perkembangan karies dihubungkan dengan peningkatan kadar IgG dan IgM serum, terhadap *S.mutans*. Walaupun rendah tetapi bermakna. Perubahan kecil pada kadar antibodi tersebut merupakan refleksi karies kronik secara natural yang berkembang dalam waktu berbulan-bulan. Dikatakan pula pada karies positif s.IgA akan menurun sedangkan IgA dalam serum cenderung meningkat, keadaan ini menunjukkan kegagalan pertahanan lokal, tetapi tidak dari pertahanan sistemik (Lehner 1992, slot and taubman 1992).

2.6. Ekstrak antigen dan pembuatan anti serum

Ada 2 macam ekstrak antigen bakteri yang biasanya digunakan imunisasi pada hewan coba untuk pembuatan antiserum. Yang pertama pemurnian antigen yang didapat dari sel bakteri, flagela dan kapsul. Macam yang kedua adalah dari seluruh sel (*wlole cell*), yang biasanya dimatikan dengan cara pemanasan, formalin, aseton atau dengan alkohol (Garvey et al., 1977).

Jika yang dibutuhkan adalah antibodi yang mempunyai spesifisitas yang tinggi atau untuk mendapatkan antibodi monoklonal, maka pemurnian antigen harus memenuhi standar tehniknya, misalnya dengan kolom kromatografi, SDS polyacrylamide gel.

Dalam penelitian ini digunakan ekstrak antigen dari sel utuh (*whole cell*) dan sel membran. Antiserum poliklonal yang didapat mengandung determinan antigen jamak dari seluruh dinding sel termasuk ketiga antigen dari pili, lipopolisakarida, dan outer membran sebagai struktur antigenik yang kompleks.

2.6.1. Pemilihan dan penyuntikan hewan coba

Pada umumnya ada 5 kelompok hewan coba yang sering digunakan dalam laboratorium yaitu, kelinci, mencit, tikus, *hamster* dan marmot. Pemilihan hewan coba untuk diimunisasi harus mempertimbangkan empat faktor yaitu : berapa jumlah serum yang dibutuhkan, dari spesies apa antigen tersebut diisolasi, apakah dibutuhkan antibodi monoklonal, dan berapa banyak jumlah antigen yang tersedia.

Menurut Cohen dan Tissof (1991) kelinci merupakan hewan coba pilihan untuk sebagian besar penelitian dibidang imunologi, dan merupakan pilihan terbaik untuk memproduksi antiserum poliklonal. Kelinci mudah dipelihara dan antibodi yang dihasilkan mempunyai karakteristik khusus (Harlow and Lane, 1988).



Tabel 2.2. Pemilihan hewan coba (Harlow and Lane, 1988)

Hewan Coba	Maksimum Serum (ml)	Keterangan
Kelinci	500	Kebutuhan antigen sedikit pilihan terbaik untuk produksi poliklonal antibodi
Mencit	2	Mempunyai respons imun yang baik dan pilihan terbaik untuk produksi monoklonal antibodi
Tikus	20	Pilihan terbaik untuk produksi monoklonal antibodi
Hamster	20	Kebutuhan antigen sedikit pilihan terbaik untuk produksi poliklonal antibodi
Marmot	30	Susah dalam pengambilan darah

Tabel 2.3. Imunogen dan dosis yang dianjurkan untuk kelinci (Harlow and Lane, 1988)

Bentuk Antigen	Dosis ug	Cara Pemberian	Adjuvan	Keterangan
Protein Solubel	50 – 1000	Sc	+/-	Injeksi mudah
		Im	+/-	Penetrasi lambat
		Id	+/-	Injeksi susah dan penetrasi lambat
		Iv	-/-	Imunisasi primer Tidak efektif
Protein Insolubel	50 – 1000	Sc	+/-	Sda
		Im	+/-	Sda
		Id	+/-	Sda
Protein Partikulat	50 – 1000	Sc	+/-	Sda
		Im	+/-	Sda
		Id	+/-	Sda
Karbohidrat	50 – 1000	Sc	+/-	Sda
		Im	+/-	Sda
		Id	+/-	Sda
		Iv	-/-	Sda

2.6.2. Penentuan titer antibodi

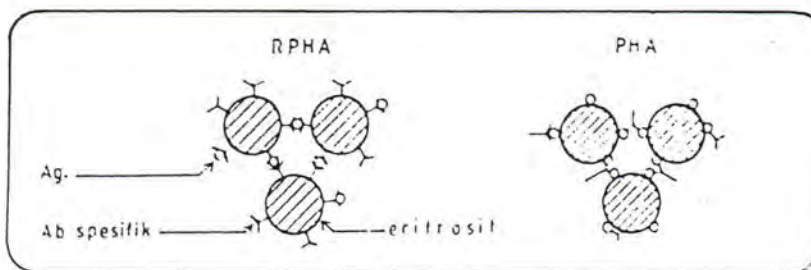
Pengujian berdasarkan aglutinasi merupakan metode klasik untuk menetapkan antibodi. Reaksi aglutinasi berlangsung dalam dua tahap, yaitu pertama-tama antibodi dengan salah satu reseptornya bereaksi dengan antigen, dan karena pada umumnya antibodi memiliki lebih dari satu reseptor, maka pada tahap kedua dengan perantara reseptornya yang lain, antibodi bereaksi dengan molekul antigen lain yang mungkin sudah berikatan dengan antibodi, sehingga dengan demikian terbentuk gumpalan kompleks antigen antibodi.

Salah satu syarat untuk reaksi aglutinasi adalah bahwa antigen harus berupa sel atau partikel, sehingga apabila direaksikan dengan antibodi spesifik terjadi gumpalan dari partikel atau sel tersebut. Cara ini disebut aglutinasi direk.

Dengan tehnik tertentu, cara aglutinasi dapat juga dipakai untuk menetapkan antibodi terhadap antigen yang larut, dengan terlebih dulu melekatkan antigen ini pada suatu partikel yang disebut *carrier*. Beberapa jenis partikel dapat dipakai sebagai *carrier*, diantaranya eritrosit, lateks, bentonit, karbon dan kolodion. Cara ini disebut cara aglutinasi indirek atau aglutinasi pasif. Apabila *carrier* yang dipakai adalah eritrosit, dinamakan hemaglutinasi (Pasif Hemaglutinasi = PHA).

Selain untuk mendeteksi antibodi, cara aglutinasi ini dapat juga dipakai untuk menetapkan adanya antigen, yaitu dengan melekatkan antibodi spesifik

pada *carrier*, kemudian mereaksikannya dengan antigen terlarut. Cara yang terakhir ini disebut aglutinasi pasif terbalik. Apabila sebagai *carrier* dipakai eritrosit disebut *Reserve Passive Hemagglutination Assay (RPHA)* (Garvey et al., 1977, Kresno, 1984).



Gambar 2.2 : Aglutinasi (Kresno,1984)

Uji aglutinasi mempunyai beberapa keuntungan misalnya

- a. reaksi aglutinasi mempunyai tingkat kepekaan deteksi cukup tinggi. Karena antibodi atau antigennya adalah bagian suatu partikel yang tidak larut, sehingga secara relatif diperlukan lebih sedikit molekul antigen atau antibodi untuk membentuk agregat yang dapat dilihat secara visual.
- b. Berbagai macam antigen dapat dideteksi dengan reaksi aglutinasi.
- c. Cara pengerjaannya mudah, sederhana dan cepat diperoleh hasilnya.

Reaksi aglutinasi dibantu oleh suhu yang tinggi (37 - 56°C) dan oleh gerakan yang menambah kontak antara antigen dan antibodi, misalnya mengocok, mengaduk, memusingkan. Titer antibodi adalah pengenceran tertinggi dengan aglutinasi yang jelas terlihat.

2.7. Uji serologi

Serologi merupakan cabang imunologi yang mempelajari reaksi antigen-antibodi secara *in vitro*, ada 3 katagori dalam uji serologi antara lain :

1. Uji pengikat primer, yang mengukur langsung interaksi antara antigen dengan antibodi, dan kemudian mengukur jumlah kompleks imun yang terbentuk. Contoh uji pengikat primer adalah Radioimunoesei (RIA), *Enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA), uji yang melibatkan Imunofluoresensi
2. Uji pengikat sekunder, mengukur akibat pembentukan imunokompleks *in vitro*, karena itu secara teoritis uji ini kurang peka dari pada uji pengikatan primer, tetapi sangat lebih mudah untuk dilakukan. Contoh uji ini antara lain presipitasi, aglutinasi, uji pengikatan komplemen.
3. Uji pengikat tersier, mengukur akibat respons imun *in vivo* atau menggambarkan akibat praktis respons imun. Uji ini biasanya kurang peka dari pada uji pengikatan primer. Contohnya adalah uji anafilaksis kulit pasif.

Dalam penelitian ini digunakan uji pengikat sekunder yaitu presipitasi dan aglutinasi. Teknik presipitasi dimaksudkan untuk mendeteksi reaksi antigen-antibodi dengan reaksi presipitasi. Disini antibodi dan antigen bertemu dengan cara difusi. Penentu paling penting dalam reaksi ini adalah kadar relatif antigen dan antibodi.

Uji presipitasi dengan metode imunodifusi ganda atau yang dikenal sebagai teknik Ouchterloney merupakan cara yang banyak dipakai, paling mudah, dan cukup informatif. Teknik ini dapat digunakan untuk menetapkan antigen atau antibodi secara kualitatif atau semikwantitatif, yaitu dengan melakukan pengenceran dan melaporkan pengenceran tertinggi yang masih dapat membentuk presipitasi. Disamping itu teknik ini juga dipakai untuk mengetahui adanya reaksi silang.

Keunggulan teknik ini adalah bahwa kadar gradien antigen dan antibodi secara otomatis terbentuk dari proses difusi. Imunopresipitasi akan terjadi di suatu tempat antara sumuran asalkan diperoleh kadar yang setara pada suatu tempat di gradien antigen dan antibodi yang tumpang tindih.

Adanya satu garis presipitasi menunjukkan bahwa antiserum mengandung antibodi khas untuk antigen. Bila terdapat lebih dari satu garis, hal ini menunjukkan heterogenitas pada antigen dan antiserum.

Tidak adanya garis presipitasi menunjukkan tidak adanya antibodi dengan kekhususan untuk antigen, atau adanya antibodi tetapi tidak mampu membuat presipitasi antigen, atau adanya antibodi tetapi kadar antigen dan

atau antibodi tidak sesuai, yaitu tidak diperoleh kesetaraan (Mayo, 1984; Tizard, 1987; Sofro, 1994).

Uji *Reserve Passive Hemagglutination Assay (RPHA)* digunakan sebagai pembanding dengan uji Imunodifusi Ganda.