

Research Report

## Kemampuan protein Adhesin *A.actinomycetemcomitans* mengaktivasi sel radang akut dan khronis pada periodontitis agresif

(The ability of *A.actinomycetemcomitans* adhesin protein in activating acute and chronic inflammatory cells on aggressive periodontitis )

Wisnu Setyari, Rini Devijanti, Markus Budi R  
Departemen Biologi Oral  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga  
Surabaya – Indonesia

### ABSTRACT

**Background:** Adhesion of bacteria in eukaryotes or tissue surface requires two (2) factors, namely receptor and adhesin. Adhesin is the first bacterial molecule that contacts and invades the host. Bacterial adhesin depends on ligand interaction as the signaling mediator which influences the invasion and improvement of pro and anti inflammation due to the influence from the innate immune response receptor. On *A.actinomycetemcomitans*, some adhesins plays in the adhesion of bacteria on the epithelial cells with multifactorial nature. **Purpose:** This research aims to prove that *A.actinomycetemcomitans* adhesion proteins that have been obtained from the previous research can influence the amount of acute and chronic inflammatory cells in experimental animals (Wistar rat). **Methods:** Samples are divided into four groups of rat, each consisting of ten rats; the control group is induced with NaCl 0,9%, group 2,3 and 4 is the groups that are induced consecutively by adhesion protein, adhesion protein + *A.actinomycetemcomitans* and whole cell *A.actinomycetemcomitans* which are induced in gingival sulcus in experimental animals for seven (7) days. The counting of the number of acute and chronic inflammatory cells are performed by staining of Hematoxylin Eosin (HE). **Result:** This study shows an increase in the number of PMN and macrophages in the four treatment groups given to the experimental animals. **Conclusion:** This phenomenon shows that there is an antigen and immunogenic epitope of *A.actinomycetemcomitans* that play a role in this condition.

**Key words :** adhesin protein Aa , PMN , lymphocyte , macrofag

### ABSTRAK

**Latar belakang :** Perlekatan bakteri di eukariota atau permukaan jaringan membutuhkan dua (2) faktor, yaitu reseptor dan adhesin. Adhesin merupakan molekul bakteri yang pertama kontak dan melakukan invasi dengan *host*. Adhesin bakteri tergantung pada interaksi ligan sebagai mediator signaling yang akan mempengaruhi invasi dan peningkatan pro dan antiinflamasi karena pengaruh dari reseptor respons imun *innate*. Pada *A.actinomycetemcomitans* beberapa adhesin berperan pada perlekatan bakteri ini pada sel epitel bersifat multifaktorial. **Tujuan :** Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa protein adhesin *A.actinomycetemcomitans* yang telah didapatkan pada penelitian sebelumnya akan dapat mempengaruhi jumlah sel radang akut dan kronis pada hewan coba (tikus Wistar). **Metode :** Sampel dibagi menjadi 4 kelompok tikus yang masing2 terdiri dari 10 ekor tikus ,yaitu kelompok kontrol diinduksi NaCl 0,9%,kelompok 2,3 dan 4 adalah kelompok perlakuan yg berturutan diinduksi protein adhesin, protein adhesin + *A.actinomycetemcomitans* dan *whole cell A.actinomycetemcomitans* diinduksikan pada sulkus gingiva pada hewan coba selama 7 hari . Penghitungan jumlah sel radang akut dan kronis dilakukan dengan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE). **Hasil :** pada hasil penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan jumlah PMN dan makrofag

pada 4 kelompok perlakuan yang diberikan pada hewan coba. **Kesimpulan:** fenomena ini menunjukkan terdapat antigen dan epitop imunogenik dari *A.actinomycetemcomitans* yang berperan pada keadaan ini`

**Kata kunci :** Protein adhesi Aa , PMN , Limfosit , Makrofag

Korespondensi (correspondence) : Wisnu Setyari , Rini Devijanti, Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga .Jl. Mayjend Prof. Dr .Moestopo n0.47 Surabaya – Indonesia.  
E-mail :devi.rini@yahoo.co.id

---

## PENDAHULUAN

Bakteri patogen penyebab periodontitis dipengaruhi oleh kebersihan rongga mulut, adanya plak atau retensi makanan, dan diet. Sedangkan *host* dipengaruhi oleh adanya faktor genetik yang menentukan respons imun spesifik dan non spesifik, kebiasaan, faktor sosial dan fisik<sup>1</sup>. Periodontitis agresif merupakan penyakit pada jaringan penyangga gigi yang ditandai dengan kerusakan yang cepat di ligamen periodontal dan tulang alveolar pada penderita usia muda, pada umumnya terjadi pada usia di bawah 30 tahun. Proses kehilangan perlekatan jaringan dan resesi gingiva pada periodontitis agresif empat kali (4x) lebih cepat dibandingkan dengan periodontitis kronis<sup>2,3</sup>. Periodontitis agresif pada penderita usia muda masih merupakan masalah yang belum dapat dijelaskan secara tuntas dalam bidang kedokteran gigi. Berbagai upaya penanggulangan untuk terapi periodontitis agresif secara bedah dan non bedah telah banyak dilakukan tetapi belum memberikan hasil yang signifikan, sehingga diperlukan upaya pencegahan dan penanggulangan periodontitis agresif agar proses progresifitas tidak semakin berlanjut. Periodontitis agresif berbeda dengan periodontitis kronis terutama dalam hal kecepatan dan agresifitas penyakit ini pada individu yang sehat, tanpa disertai akumulasi dalam plak atau kalkulus dan mempunyai riwayat keluarga atau faktor genetik yang berpengaruh dalam agresifitasnya<sup>4</sup>.

Pada pengamatan yang dilakukan pada bulan Januari – Desember 2006 menunjukkan bahwa terdapat 288 penderita periodontitis dan 57 (20%)

diantaranya dengan periodontitis agresif<sup>5</sup>. Di klinik Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga prevalensi penderita periodontitis agresif tampak terus mengalami peningkatan, pada tahun 1991 sebesar 9% dan pada tahun 2002 meningkat menjadi 13%<sup>6</sup>.

Sampai saat ini kejadian periodontitis agresif pada usia muda masih merupakan masalah yang belum dapat dijelaskan secara tuntas dibidang kedokteran gigi. Patogenesis periodontitis dipengaruhi interaksi antara faktor *host* dan bakteri yang didominasi oleh *Actinobacillus actinomycetemcomitans* yang sekarang lebih dikenal dengan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.actinomycetemcomitans*), bakteri yang terdapat pada plak gigi dihubungkan dengan agresifitas kerusakan jaringan periodontal dan diperparah dengan faktor genetik dan lingkungan<sup>7</sup>. Proses adesi (perlekatan) selalu mengawali kontak langsung antara agen infeksius dengan sel *host*. *Fimbriae* pada *A.actinomycetemcomitans* berfungsi sebagai adesi dan invasi, *fimbriae* ini merupakan faktor virulensi pada proses infeksi di dalam rongga mulut. *A.actinomycetemcomitans* (Aa) mempunyai berbagai macam faktor virulensi yaitu LtxA yang dapat merusak *polymorphonuclear leucocyte* (PMN) dan monosit, *Cytolethal distending toxin* (Cdt), LPS, *surface associated material* (SAM), *chemotactic inhibition factors*, protease yang mendegradasi immunoglobulin, kolagenase yang mendegradasi jaringan ikat kolagen, vesikel *extracellular outer membrane*, faktor yang mempengaruhi respons imun, faktor yang merusak sel *host* yaitu sel epitel dan fibroblas dan sifat virulensi yang relevan dengan adesi dan penetrasi pada jaringan yaitu adhesin dan

*fimbriae*<sup>8</sup>. Proses adesi merupakan salah satu sifat virulensi dari bakteri patogen yang berperan penting untuk terjadinya kolonisasi, invasi sampai timbulnya penyakit infeksi.

Adhesin yang merupakan salah satu faktor virulensi *A.actinomycetemcomitans* sampai saat ini belum terungkap secara eksklusif dan belum banyak diketahui perannya pada penderita periodontitis agresif, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengungkap peran adhesin dalam patogenesis periodontitis agresif sehingga diagnosis dan terapi yang tepat pada penderita periodontitis agresif dapat dilakukan.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan jumlah sampel 40 ekor tikus Wistar jantan yang dibagi secara random menjadi 4 kelompok, yang terdiri dari kelompok 1 adalah kelompok kontrol yang diinduksi NaCl 0,9%, kelompok 2,3 dan 4 adalah kelompok perlakuan yang masing masing secara berurutan diinduksi pada bagian sulkus gigi M1 kanan atas tikus dengan protein adhesin Aa, protein adhesin Aa + Aa dan whole cell Aa selama 7 hari yang bertujuan untuk menghasilkan periodontitis agresif yang nyata<sup>9</sup>. Pada hari kedelapan tikus dikorbankan dan dibuat sediaan histopatologi menurut metode Humason (1972)<sup>10</sup>. Penghitungan sel radang akut dan kronis dilakukan dengan pengecatan Hematoksin Eosin (HE), untuk menjamin representasi hasil dilakukan pengamatan pada 20 lapang pandang dengan pembesaran 1000x yang masing masing berisi kurang lebih 1500 sel<sup>11</sup>. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji LSD.

## HASIL

### Jumlah sel radang akut (PMN) pada jaringan gingiva

Penghitungan jumlah PMN pada gingiva didapatkan data berdistribusi normal dan homogen dengan nilai signifikansi  $> 0,05$  (0,440). Dari hasil uji Anova menunjukkan nilai p sebesar 0,000 ( $< 0,05$ ), hal ini

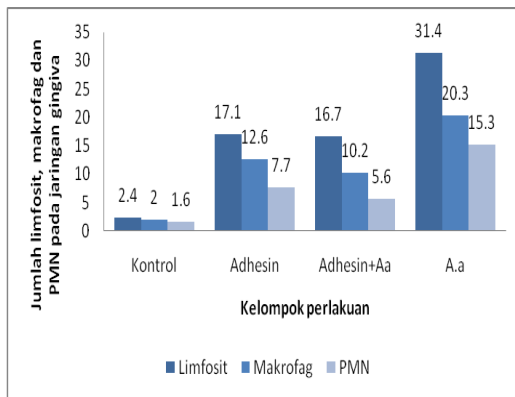
menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada jumlah PMN di antara kelompok perlakuan. Hasil uji LSD menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada jumlah PMN dari kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan induksi adhesin, adhesin + *A.actinomycetemcomitans*, dan *A.actinomycetemcomitans*. Terdapat perbedaan signifikan pada jumlah PMN kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang diinduksi adhesin, *A.actinomycetemcomitans* + adhesin dan *A.actinomycetemcomitans* dan di antara kelompok perlakuan.

### Jumlah radang kronis (Makrofag) pada jaringan gingiva

Penghitungan jumlah makrofag pada gingiva didapatkan data berdistribusi normal tetapi tidak homogen dengan nilai signifikansi  $< 0,05$  (0,027). Karena data tidak homogen maka dilakukan uji Brown Forsythe, hasil uji Brown Forsythe menunjukkan nilai p sebesar 0,000 ( $< 0,05$ ), hal ini menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada jumlah makrofag di antara kelompok perlakuan. Hasil uji Gomes Howell menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada jumlah makrofag dari kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan induksi adhesin, adhesin + *A.actinomy cetemcomitans*, dan *A.actinomy cetemcomitans* dan di antara kelompok perlakuan.

### Jumlah radang kronis (Limfosit) pada jaringan gingiva

Hasil penghitungan jumlah limfosit pada gingiva didapatkan data berdistribusi normal dan homogen dengan nilai signifikansi  $> 0,05$  (0,426). Didasarkan hasil uji Anova menunjukkan nilai p sebesar 0,000 ( $< 0,05$ ), hal ini menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada jumlah limfosit diantara kelompok perlakuan. Hasil uji LSD menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada jumlah limfosit dari kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan induksi adhesin, adhesin + *A.actinomycetemcomitans*, dan *A.actinomy cetemcomitans*.



Gambar 1. Rerata jumlah limfosit, makrofag dan PMN pada jaringan gingiva

## PEMBAHASAN

Terdapat peningkatan yang bermakna dari jumlah PMN dan makrofag pada jaringan gingiva dengan induksi *A.actinomycescomitans* dibandingkan dengan induksi dengan *A.actinomycescomitans* + adhesin dan adhesin serta kelompok kontrol. Pada peningkatan jumlah makrofag yang merupakan sel monosit mononuklear menunjukkan proses inflamasi sudah menuju inflamasi kronis, sedangkan peningkatan jumlah PMN menunjukkan terjadi reaksi inflamasi akut. Dalam hal ini diidentifikasi terjadinya periodontitis agresif pada hewan coba karena induksi yang diberikan merupakan bakteri penyebab utama periodontitis agresif. Sel PMN merupakan fagosit yang predominan dalam sirkulasi dan selalu tiba di lokasi infeksi lebih cepat dari sel lain, karena sel PMN tertarik oleh sinyal kemotaktik yang dikeluarkan oleh bakteri, sel PMN lain, komplemen atau makrofag lain, yang lebih dahulu tiba di tempat infeksi. Sel PMN sangat peka terhadap semua faktor kemotaktik. Sel PMN yang telah mengalami kemotaktik selanjutnya akan melakukan adesi pada dinding sel bakteri, endotel maupun jaringan yang terinfeksi. Kemampuan adesi PMN pada permukaan sel bakteri akan bertambah kuat karena sinyal yang terbentuk pada proses adesi ini akan merangsang ekspresi Fc dan komplemen pada permukaan sel. Sel PMN juga akan melakukan proses diapedesis agar dapat menjangkau bakteri yang telah menginfeksi.

Induksi dengan *A. Actinomycescomitans*, *A.actinomycescomitans* + adhesin dan adhesin saja telah terbukti mengakibatkan terjadi proses inflamasi. Seperti pada bakteri periodontopatogen yang lain, *A.actinomycescomitans* akan mengeluarkan faktor yang dapat meningkatkan dan menekan mekanisme pertahanan *host*. Ada beberapa tahap yang terjadi pada proses ini, yaitu adanya signal kemotaktik, peningkatan regulasi reseptor adesi, pengikatan pada endotelium dan Bergeraknya fagosit pada jaringan. Kemampuan untuk mengganggu proses kemotaksis akan meningkatkan ke langsung hidup bakteri. *A.actinomycescomitans* dapat menghambat kemotaksis oleh PMN dan dapat resisten pada fagositosis dari PMN<sup>12</sup>.

Pada hasil penelitian ini menunjukkan terdapat peningkatan jumlah PMN dan makrofag pada 4 kelompok perlakuan yang diberikan pada hewan coba. Fenomena ini menunjukkan terdapat antigen dan epitop imunogenik dari *A.actinomycescomitans* yang berperan pada keadaan ini. Antigen dan epitop yang imunogenik inilah yang akan mengaktifkan sel T sehingga akan mengaktifkan PMN dan makrofag sehingga terjadi peningkatan tersebut. Keadaan ini memberikan gambaran terdapat peran ganda dari bakteri ini yaitu yang pertama adalah melumpuhkan sistem imun dari *host* tetapi disisi lain mampu menginduksi sistem imun *innate* dan adaptif yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan makrofag, netrofil (sistem imun *innate*) dan limfosit (sistem imun adaptif). Keadaan yang didapatkan tersebut memberikan prospek ke depan pada adhesin *A.actinomycescomitans* 24 kDa dan pengkajian epitop *A.actinomycescomitans* 24 kDa yang mampu menginduksi PMN dan makrofag guna pengembangan vaksin, sehingga strategi ke depan yang dapat dilakukan berdasarkan fenomena yang didapat dari penelitian ini adalah :

1. Menghambat terjadinya perlekatan dari *A.actinomycescomitans* sebagai bakteri penyebab utama periodontitis agresif pada *host* dengan memberikan

kandidat vaksin yang berupa anti adhesin atau analog adhesin (yang disebut anti *diseases* vaksin /mencegah agar tidak sakit) dari protein adhesin 24 kDa yang telah melalui beberapa pengujian sehingga perlekatan *A. actinomycetemcomitans* pada *host* tidak terjadi.

2. Dengan adanya kapasitas bakteri yang mampu meningkatkan makrofag, PMN dan limfosit maka dapat dilakukan mengembangkan usaha preventif lainnya melalui pengembangan kandidat vaksin (anti mikrobial vaksin) yang berbasis pada imunogenitas epitop.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Wolf HF, Rateitschak KH, and Hassel TM, Colour Atlas of Dental Medicine. Periodontology. 2004
2. Velden V, Abbas F, Armand S, Loos BG, Timmerman MF, Weijden V, Java project on periodontal diseases. The natural development of periodontitis : risk factor, risk predictors and risk determinants. J Clin. Periodontol. 2006. 33 : 540-49
3. Newman MG, Takei N, Klokkevold P, Carranza F, Carranza's Clinical Periodontology. 10<sup>th</sup> ed. WB Saunders Co. Philadelphia, New York, London, 2006. p: 168-181, 409-414, 675-688
4. Novak KF, Novak MJ, Aggressive Periodontitis. In Newman MG, Takey HH, Klokkevold PR and Carranza Fa. Carranza's Clinical Periodontology. 2006
5. Rahmantlya RD, Distribusi penyakit periodontal pada penderita di klinik Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Januari – Desember 2006. Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga-Surabaya. 2007 hal 23- 27
6. Pniella, M. Pola Penyakit pada Penderita di Klinik Periodonsia FKG Unair tahun 1998-2003. Skripsi, 2003 hlm. 21-40
7. Korman KS. Genetics factors in the pathogenesis of periodontitis of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Periodontol. 2000. 20:135-167.
8. Kler S and Malik R. An update on the virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* an systemic review. Research & Review: A Journal of Dentistry. 2010. (1): 1 – 10
9. Zhou Q, Desta T, Fenton M, Graves DT, Amar S. LPS cytokines profiling of macrophage exposed to *Porphyromonas gingivalis*, its lipopolysachcharide, or its FimA protein. Infect Immun 2005. 73(2): 935-943
10. Sudiana K. Teknologi Ilmu Jaringan dan Imunohistokimia. Universitas Airlangga. Sagung Seto, Jakarta. 2005.
11. Soini, Y., Paakko, P. and Lehto, V-P. Histopathological Evaluation of Apoptosis in Cancer, American Journal of Pathology, 1997. 153(4): 1041-1048.
12. Lamont RJ and Yilmaz Ö, In or out: the invasiveness of oral bacteria. Periodontology 2002. 30: 61-69