



UNIVERSITAS INDONESIA

**KAJIAN INTERAKSI ANTIGEN BAKTERI PERIODONTAL DAN
CANDIDA ALBICANS DENGAN RESPONS IMUN HUMORAL
SALIVA SUBJEK PERIODONTITIS BERBAGAI *STAGE***

DISERTASI

**MUHAMMAD IHSAN RIZAL
1706009582**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
PROGRAM DOKTOR ILMU KEDOKTERAN GIGI
JAKARTA
2021**



UNIVERSITAS INDONESIA

**KAJIAN INTERAKSI ANTIGEN BAKTERI PERIODONTAL DAN
CANDIDA ALBICANS DENGAN RESPONS IMUN HUMORAL
SALIVA SUBJEK PERIODONTITIS BERBAGAI *STAGE***

DISERTASI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Doktor

MUHAMMAD IHSAN RIZAL

1706009582

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
PROGRAM DOKTOR ILMU KEDOKTERAN GIGI
JAKARTA
JULI 2021**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Disertasi ini adalah hasil karya Saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah Saya nyatakan dengan benar**

Nama : Muhammad Ihsan Rizal

NPM : 1706009582









Tanda Tangan : 

HALAMAN PENGESAHAN

Disertasi ini diajukan oleh :
Nama : Muhammad Ihsan Rizal
NPM : 1706009582
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran Gigi
Judul Disertasi : Kajian Interaksi Antigen Bakteri Periodontal dan *Candida albicans* dengan Respons Imun Humoral Saliva Subjek Periodontitis Berbagai Stage

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Promotor : Prof. Endang W. Bachtiar, drg., M.Biomed, Ph.D., PBO (.....)
Kopromotor : Prof. Boy M. Bachtiar, drg., MS., Ph.D., PBO (.....)
Prof. Dr. Yuniarti Soeroso, drg., Sp.Perio(K) (.....)
Ketua Penguji : Dr. Ferry P. Gultom, drg., M.Biomed., PBO (.....)
Tim Penguji : Prof. Dr. Boedi Oetomo Roeslan, drg., M.Biomed., PBO (.....)
Prof. Dr. Melanie Sadono Djamil, drg. M.Biomed., PBO (.....)
Prof. Dr. Retno D. Soejoedono, drh., MS. (.....)
Dr. Natalina, drg. Sp.Perio(K) (.....)

Ditetapkan di : Jakarta
Tanggal : 26 Juli 2021

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah Robbil `Alamin. Puji dan syukur saya panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas berkah dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan disertasi ini. Sholawat dan salam kepada Nabi Muhammad shalallahu'alaihi wa sallam. Penulisan disertasi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Doktor di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. Saya menyadari bahwa tanpa bantuan, bimbingan, dukungan, dan nasihat dari berbagai pihak sangatlah tidak mungkin bagi saya untuk dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan disertasi ini. Perkenankan saya dengan penuh rasa hormat menyampaikan terima kasih serta penghargaan kepada:

- (1) Rektor Universitas Indonesia beserta para Wakil Rektor yang telah memberikan izin untuk melaksanakan pendidikan Doktor di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
- (2) Rektor Universitas Trisakti beserta para Wakil Rektor yang telah memberikan tugas belajar pendidikan Doktor di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
- (3) Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia Prof. Dr. drg. M.F. Lindawati S. Kusdhany, Sp.Pros(K) beserta Wakil Dekan Bidang Pendidikan, Penelitian dan Kemahasiswaan Prof. Dr. drg. Ellyza Herda, M.Si dan Wakil Dekan Bidang Sumber Daya, Ventura dan Administrasi Umum Dr. drg. Retno Widayati, Sp.Ort(K).
- (4) Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti Prof. Dr. drg. Tri Erri Astoeti, M.Kes.; beserta Wakil Dekan I drg. Wiwiek Poedjiastuti, M.Kes, Sp.BM, Ph.D; Wakil Dekan II drg. Rosalina Tjandrawinata, M.Si., Ph.D; Wakil Dekan III drg. Abdul Gani Soulissa, M.P.H; Wakil Dekan IV Dr. drg. Wita Anggraini, M.Biomed., Sp.Perio. Terima kasih sudah memercayai saya dalam menjalankan tugas belajar ini dan selalu memberikan dukungan moril serta materil selama pendidikan saya.
- (5) Prof. drg. Endang Winiati Bachtiar, M.Biomed, Ph.D., PBO selaku promotor serta Prof. drg. Boy M. Bachtiar, M.S., Ph.D, PBO selaku kopromotor dan penasihat akademik. Semangat dan antusias beliau berdua dalam dunia penelitian sangat menginspirasi saya. Terima kasih telah memberikan bimbingan, solusi, motivasi, dan dukungan dengan sepenuh hati.

- (6) Prof. Dr. drg. Yuniarti Soeroso, Sp.Perio(K) selaku kopromotor yang telah memberikan bimbingan, motivasi, dan wawasan ilmu periodonsia terkini. Terima kasih telah menaruh perhatian yang begitu besar kepada saya.
- (7) Dr. drg. Ira Tanti, Sp.Pros(K) sebagai Manajer Pendidikan dan Prof. drg. Dewi Fatma Suniarti, M.S., Ph.D, PBO sebagai Ketua Program Studi Pendidikan Doktor yang telah membantu saya selama menjalani berbagai kegiatan akademik.
- (8) Tim penguji yang diketuai oleh Dr. drg. Ferry P. Gultom, M.Biomed., PBO dan seluruh anggota penguji yaitu Prof. Dr. drg. Boedi Oetomo Roeslan, M.Biomed., PBO; Prof. Dr. drg. Melanie Sadono Djamil, M.Biomed., PBO; Prof. Dr. drh. Retno D. Soejoedono, MS; dan Dr. drg. Natalina, Sp.Perio(K). Terima kasih atas bimbingan, arahan, dan saran sehingga dapat memperkaya disertasi ini.
- (9) Seluruh staf pengajar Program Doktor Ilmu Kedokteran Gigi FKGUI atas semua ilmu dan bimbingan yang diberikan.
- (10) Direktur RSKGM FKGUI Dr. drg. Maria Purbiati, Sp.Ort(K) beserta seluruh staf RSKGM FKGUI.
- (11) Ketua Departemen Biologi Oral FKGUI beserta seluruh staf Departemen Biologi Oral FKGUI.
- (12) Ketua Departemen Periodonsia FKGUI drg. Robert Lessang, Sp.Perio(K), staf pengajar Departemen Periodonsia FKGUI yaitu Prof. Dr. drg. Yuniarti Soeroso, Sp.Perio(K), Prof. Dr. drg. Sri Lelyati, S.U., Sp.Perio(K); drg. Yulianti Kemal, Sp.Perio(K); drg. Hari Sunarto, Sp.Perio(K); Dr. drg. Natalina, Sp.Perio(K); drg. Ete Tadjoeidin, Ph.D; drg. Benso Sulijaya, Sp.Perio(K), Ph.D; drg. Sandra Olivia K, MARS., Sp.Perio(K); drg. Adityo Widaryono, Sp.Perio(K); drg. Nadhia Anindhita Harsas, Sp.Perio(K); drg. Dimas Ilham Hutomo, Sp.Perio; dan drg. Herlis Rahdewati, Sp.Perio, serta Ibu Leni Marliani.
- (13) Para laboran di Laboratorium Riset Biologi Oral FKGUI Astri Deviana, S.Si; Nastiti Rilo Utami, S.Si; dan Anissa Dien Andriyani, S.Si, serta Michelle S.Si di laboratorium BioCORE FKG Usakti yang telah banyak membantu saya mengerjakan teknik-teknik laboratorium biomedik.
- (14) Bapak Khobir Abdul Karim Taufiqurahman, S.KM, M.KM yang telah membantu saya dalam pengolahan data dan uji statistik penelitian.

- (15) Ibu Emy Yunara dan staf administrasi pendidikan FKGUI, serta Bapak Asep Rachmat Hidayat, S.I.P., M.Ikom selaku Koordinator unit Perpustakaan FKGUI dan staf perpustakaan FKGUI atas bantuannya.
- (16) Kepala bagian Biologi Oral FKG Usakti Dr. drg. Didi Nugroho M.Sc., dan seluruh staf pengajar Biologi Oral FKG Usakti khususnya staf pengajar Biokimia dan Biologi Molekuler yaitu Prof. Dr. drg. Boedi Oetomo Roeslan, M.Biomed, PBO; Prof. Dr. drg. Melanie Sadono Djamil, M.Biomed, PBO; drg. Ferry Sandra Ph.D; dan drg. Ria Aryani Hayuningtias, MMSc.
- (17) Seluruh Guru Besar, staf dan tenaga kependidikan FKG Usakti, khususnya kepada Prof. drg. Rahmi Amtha, MDS, Ph.D; Dr. drg. Yohana Yusra, M.Kes; drg. J. Widijanto Sudhana, M.Kes; drg. Moehamad Orliando Roeslan, M.Kes, Ph.D; Dr. drg. Armelia Sari, M.Kes, PBO; Dr. drg. Ciptadhi Tri Oka Binartha, M.Kes; Dr. drg. Meiny Faudah Amin Sp.KG(K); dan drg. Ade Prijanti Dwisaptarini Sp.KG(K), Ph.D. Terima kasih sudah menjadikan lingkungan kerja yang menyenangkan untuk saya,
- (18) Mahasiswa program dokter gigi spesialis periodonsia FKGUI yang telah membantu saya dalam penelitian ini.
- (19) Keluarga besar RS Mitra Keluarga Cibubur dan RS Mayapada Lebak Bulus. Terima kasih atas dukungannya.
- (20) Teman seangkatan S3 tahun 2017, yaitu drg. Rike Rayanti, Sp.Perio; Dr. drg. Chaerita Maulani, Sp.Perio; drg. Sariesendy, Sp.Ort(K); dan Dr. drg. Dini Asrianti, Sp.KG(K). Terima kasih untuk kebersamaan dan dukungan selama menempuh pendidikan program Doktor.
- (21) Istri tercinta Dr. drg. Fatimah Maria Tadjoeidin, Sp.Perio(K) yang juga menjadi “tulang rusuk” sekaligus teman seangkatan S3 saya. Determinasi yang selalu kamu tunjukkan benar-benar menjadi dorongan dan motivasi saya menyelesaikan pendidikan Doktor ini. Semoga cinta yang Allah tetapkan ada di dunia ini, terus hadir di sisi kita hingga *Jannatul Firdaus, Aamiin Yaa Mujibass Sailin.*
- (22) Anak-anak tercinta Muhammad Hugo Rizal dan Muhammad Enzo Rizal. Kalian sungguh anak-anak Abah yang baik, sabar, cerdas, dan menyenangkan hati. Semoga kalian menjadi imam orang-orang yang bertakwa, penuntut ilmu yang bermanfaat, dan anak-anak yang shaleh, *Aamiin Yaa Rabbal Alamin.*

- (23) Orang tua saya tercinta Papa dr. Rizal Djaka dan almarhumah Mama Erna Djuwita atas semua doa yang tiada henti, dukungan, nasihat, dan cinta selama membesarkan dan mendidik saya.
- (24) Muhamad Rifai Tadjoeidin dan Monika Elisabeth Henning yang telah membesarkan istri tercinta menjadi seorang yang berkhidmat kepada keluarganya. Terima kasih Papi dan Mami untuk doa, dukungan, dan kasih sayang sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan Doktor ini.
- (25) Kakak-kakak tercinta Dr. drg. Mochamad Fahlevi Rizal, Sp.KGA(K); Eka Rini Octariana, SE, Ak. AMII; Mohammad Reza Rizal, S.T.; dr. Genia Chrysantiana; dr. Diana Rosalina, Sp.THT-KL(K); drg. Muhammad Furqan Rizal, Sp.KG; dan drg. Widhitya Yulia Iryana; Julius Bilal Tadjoeidin, S.H. M.Kn.; Yuliantie, S.H.; Anisa Regina Tadjoeidin, S.H.; Anton Rinaldi; serta kepada semua keponakan tercinta. Terima kasih atas doa dan dukungannya.
- (26) Keluarga besar H. Djaka, keluarga besar Noer Naith, keluarga besar Tadjoeidin, dan keluarga besar Henning atas doa maupun dukungan selama menjalani pendidikan ini.
- (27) Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan, doa, dan semangat untuk penyusunan disertasi ini.

Akhir kata penulis berdoa semoga Allah Subhanahu Wa Ta'ala membalas segala kebaikan seluruh pihak yang telah membantu saya dalam menyelesaikan disertasi ini. Mohon maaf atas segala kekurangan dan kesalahan yang dilakukan selama proses penyusunan disertasi ini.

Jakarta, Juli 2021

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Ihsan Rizal
NPM : 1706009582
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran Gigi
Fakultas : Kedokteran Gigi
Jenis karya : Disertasi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

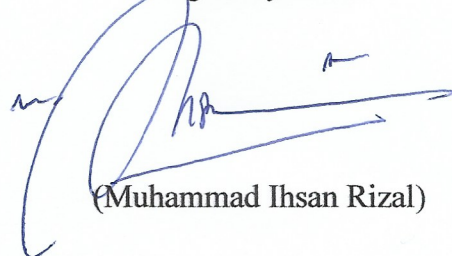
**KAJIAN INTERAKSI ANTIGEN BAKTERI PERIODONTAL DAN
CANDIDA ALBICANS DENGAN RESPONS IMUN HUMORAL
SALIVA SUBJEK PERIODONTITIS BERBAGAI *STAGE***

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta
Pada tanggal : 26 Juli 2021

Yang menyatakan



(Muhammad Ihsan Rizal)

ABSTRAK

Nama : Muhammad Ihsan Rizal
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran Gigi
Judul : Kajian Interaksi Antigen Bakteri Periodontal dan *Candida albicans* dengan Respons Imun Humoral Saliva Subjek Periodontitis Berbagai Stage

Periodontitis merupakan permasalahan kesehatan pada masyarakat Indonesia karena prevalensinya yang tinggi yaitu 74,1%. Periodontitis dibagi menjadi empat tingkat keparahan/stage berdasarkan klasifikasi terbaru. Konsep patogenesis periodontitis *polymicrobial synergy and dysbiosis* (PSD) menyatakan patogen *keystone P. gingivalis* dengan *abundance* rendah dapat mengatur remodulasi oralome lengkap menjadi keadaan disbiosis dan menyerang pertahanan *host*, termasuk sel-sel epitel sebagai sumber nutrisi. Bakteri ini memiliki kemampuan sebagai manipulator respons *host*. Patogen *keystone* dimediasi oleh patobion yang dapat menjadi patogen dalam lingkungan disbiosis seperti *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, dan *C. albicans*. Patobion dalam lingkungan tersebut merupakan sumber utama antigen pemicu respons imun adaptif. Pada imunitas adaptif humoral limfosit B menyekresi antibodi untuk mencegah infeksi dan mengeliminasi mikroba ekstraseluler. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan antara keberadaan polimikrobial dengan respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai stage serta kaitannya dengan status periodontal. Desain penelitian ini adalah observasional potong lintang. Pemeriksaan status periodontal, penegakan diagnosis, dan pengambilan sampel saliva dilakukan pada 39 subjek penelitian. Keberadaan antigen dianalisis dengan *Western Blot*. Respons imun humoral IgA dan IgG terhadap antigen dideteksi dengan ELISA. Keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans* tertinggi pada kelompok periodontitis stage IV. Respons imun IgA saliva terhadap antigen *F. nucleatum* ($p=0,014$) dan *C. albicans* ($p=0,009$) menunjukkan perbedaan signifikan berdasarkan tingkat keparahan periodontitis. Hasil yang sama pada respons imun IgG terhadap *F. nucleatum* ($p=0,011$) dan *Candida albicans* ($p=0,015$). Hubungan linier positif kuat terjadi antara keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans* dengan respons imun IgA ($p=0,019$; $r=0,688$) dan IgG ($p=0,011$; $r=0,727$) saliva pada subjek periodontitis stage III. Penelitian ini juga menunjukkan perbedaan signifikan indeks plak ($p=0,000$), indeks kebersihan mulut ($p=0,000$), dan indeks perdarahan papila ($p=0,000$) terhadap tingkat keparahan periodontitis. Hubungan signifikan ditemukan antara indeks plak dengan respons imun IgG saliva terhadap *C. albicans*, namun tidak ada hubungan signifikan antara indeks plak dengan respons imun IgG saliva terhadap bakteri periodontal. ($p=0,041$; $OR=5,33$). Hasil analisis menunjukkan hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans* ($p=0,008$; $OR=0,112$) dan *C. albicans* ($p=0,031$; $OR=0,153$). Terdapat hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans* ($p=0,003$; $OR=0,071$), *F. nucleatum* ($p=0,002$; $OR=0,083$), dan *C. albicans* ($p=0,008$; $OR=0,072$). Berdasarkan hal ini dapat disimpulkan bahwa respons imun IgA maupun IgG saliva terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans* berkorelasi terhadap tingkat keparahan stage III. Respons imun IgA serta IgG saliva terhadap antigen *F. nucleatum* dan *C. albicans* dapat menjadi biomarker keparahan periodontitis.

Kata kunci: periodontitis, respons imun humoral, saliva, patogen *keystone*, patobion.

ABSTRACT

Name : Muhammad Ihsan Rizal
Study Program : Doctoral of Dentistry
Title : Interaction of Periodontal Bacterial and *Candida albicans* Antigens with Saliva Humoral Immune Response based on Severity of Periodontitis

Periodontitis becomes public health problem in Indonesia because of its high prevalence of 74.1%. Periodontitis is divided into four levels of severity/stage based on the latest classification. The concept of pathogenesis of polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) states that the keystone pathogen *P. gingivalis* in low abundance can regulate complete oralome modulation into a dysbiotic state and raid host defenses, including epithelial cells as a source of nutrition. This bacteria has the ability as a host response manipulator. Keystone pathogens are mediated by pathobionts that can become pathogens in a dysbiotic environment such as *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, and *C. albicans*. Pathobionts in the environment are the main source of antigens that trigger the adaptive immune response. In humoral adaptive immunity, B lymphocytes secrete antibodies to prevent infection and eliminate extracellular microbes. This study aims to analyze the relationship between the presence of polymicrobials with salivary humoral immune response in periodontitis based on the severity and its relationship to periodontal status. The design of this study was a cross-sectional observation. Periodontal status examination, diagnosis, and saliva sampling were performed on 39 subjects. The presence of antigen was analyzed by Western Blot. Immunoglobulin A and IgG humoral immune responses to antigens were detected by ELISA. The presence of *A. actinomycetemcomitans* antigen was found highest in periodontitis stage IV group. Salivary IgA immune response against *F. nucleatum* ($p=0.014$) and *C. albicans* ($p=0.009$) antigens showed significant differences based on the severity of periodontitis. The results were similar for the IgG immune response against *F. nucleatum* ($p=0.011$) and *C. albicans* ($p=0.015$). There was a strong positive linear relationship between the presence of *A. actinomycetemcomitans* antigen and the IgA ($p=0.019$; $r=0.688$) along IgG ($p=0.011$; $r=0.727$) in periodontitis stage III subjects. This study also showed a significant difference in plaque index ($p=0.000$), oral hygiene index ($p=0.000$), and papillary bleeding index ($p=0.000$) on the severity of periodontitis. A significant relationship was found between plaque index and salivary IgG immune response to *C. albicans* ($p=0.041$; OR=5.33), but there was no significant relationship between plaque index and salivary IgG immune response to periodontal bacteria. This study also showed a relationship between oral hygiene index and salivary IgA immune response to the antigens of *A. actinomycetemcomitans* ($p=0.008$; OR=0.112) and *C. albicans* ($p=0.031$; OR=0.153). There was a correlation between papillary bleeding index and salivary IgA immune response against *A. actinomycetemcomitans* antigen ($p=0.003$; OR=0.071), *F. nucleatum* ($p=0.002$; OR=0.083), and *C. albicans* ($p=0.008$; OR= 0.072). Based on this, it can be concluded that the immune response of salivary IgA and IgG to the *A. actinomycetemcomitans* antigen is correlated with the severity of stage III. Salivary immunoglobulin A and IgG immune responses against *F. nucleatum* and *C. albicans* antigens can be use as biomarkers of periodontitis severity.

Keywords: periodontitis, humoral immune response, saliva, keystone pathogen, pathobionts.

DAFTAR ISI

| | |
|--|--------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iii |
| KATA PENGANTAR | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS | viii |
| ABSTRAK | ix |
| ABSTRACT | x |
| DAFTAR ISI | xi |
| DAFTAR TABEL | xiv |
| DAFTAR GAMBAR | xv |
| DAFTAR SINGKATAN | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xviii |
| | |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 7 |
| 1.3 Pertanyaan Penelitian..... | 8 |
| 1.3.1 Pertanyaan Umum..... | 8 |
| 1.3.2 Pertanyaan Khusus..... | 8 |
| 1.4 Tujuan Penelitian..... | 9 |
| 1.4.1 Tujuan Umum..... | 9 |
| 1.4.2 Tujuan Khusus..... | 10 |
| 1.5 Manfaat Penelitian..... | 11 |
| 1.6 Orisinalitas Penelitian..... | 11 |
| | |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | 13 |
| 2.1 Periodontitis..... | 13 |
| 2.2 Patogenesis Periodontitis..... | 17 |
| 2.3 Antigen Bakteri Periodontal dan <i>Candida albicans</i> | 20 |
| 2.3.1 <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> | 20 |
| 2.3.2 <i>Treponema denticola</i> | 21 |
| 2.3.3 <i>Porphyromonas gingivalis</i> | 24 |
| 2.3.4 <i>Fusobacterium nucleatum</i> | 25 |

| | |
|---|-----------|
| 2.3.5 <i>Candida albicans</i> | 26 |
| 2.4 Saliva..... | 28 |
| 2.4.1 Komposisi dan Produksi Saliva | 28 |
| 2.4.2 Fungsi Saliva..... | 29 |
| 2.4.3 Sekresi Protein Saliva | 30 |
| 2.5 Biomarker Jaringan Periodontal..... | 31 |
| 2.6 Respons Imun pada Periodontitis..... | 33 |
| 2.6.1 Respons Imun <i>Innate</i> | 35 |
| 2.6.2 Respons Imun Adaptif | 36 |
| 2.6.2.1 Limfosit T dan B pada Kondisi Homeostasis..... | 37 |
| 2.6.2.2 Limfosit T dan B pada Inflamasi Periodontal | 39 |
| 2.7 Kerangka Teori..... | 41 |
| BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS..... | 43 |
| 3.1 Kerangka Konsep..... | 43 |
| 3.1.1 Kerangka Konsep Pertama..... | 43 |
| 3.1.2 Kerangka Konsep Kedua | 44 |
| 3.2 Hipotesis..... | 44 |
| 3.2.1 Hipotesis Mayor | 44 |
| 3.2.2 Hipotesis Minor..... | 44 |
| BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN | 46 |
| 4.1 Desain Penelitian..... | 46 |
| 4.2 Tempat dan Waktu Penelitian | 46 |
| 4.2.1 Tempat Penelitian | 46 |
| 4.2.2 Waktu Penelitian..... | 46 |
| 4.3 Subjek Penelitian..... | 46 |
| 4.4 Kriteria Subjek Penelitian | 46 |
| 4.4.1 Kriteria Inklusi | 46 |
| 4.4.2 Kriteria Eksklusi | 46 |
| 4.5 Besar Sampel..... | 47 |
| 4.6 Alir Penelitian | 48 |
| 4.7 Alat dan Bahan Penelitian..... | 49 |

| | |
|---|------------|
| 4.7.1 Alat Penelitian..... | 49 |
| 4.7.2 Bahan penelitian..... | 49 |
| 4.8 Definisi Operasional..... | 50 |
| 4.9 Cara Kerja Penelitian | 53 |
| 4.9.1 Persiapan | 53 |
| 4.9.2 Pelaksanaan | 54 |
| 4.10 Pengolahan Data..... | 62 |
| 4.11 Etika Penelitian | 63 |
| BAB 5 HASIL PENELITIAN..... | 64 |
| 5.1 Analisis Deskriptif | 64 |
| 5.2 Analisis Kerangka Konsep Pertama..... | 65 |
| 5.3 Analisis Kerangka Konsep Kedua | 70 |
| BAB 6 PEMBAHASAN | 77 |
| 6.1 Pembahasan Kerangka Konsep Pertama..... | 77 |
| 6.2 Pembahasan Kerangka Konsep Kedua..... | 81 |
| BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN | 83 |
| 7.1 Kesimpulan | 83 |
| 7.2 Saran..... | 83 |
| DAFTAR REFERENSI..... | 84 |
| RINGKASAN..... | 154 |
| SUMMARY | 179 |
| DAFTAR RIWAYAT HIDUP | 206 |

DAFTAR TABEL

| | | |
|-----------|--|----|
| Tabel 2.1 | Stage pada Periodontitis | 14 |
| Tabel 2.2 | Grade pada Periodontitis..... | 16 |
| Tabel 2.3 | Faktor Virulensi <i>A. actinomycetemcomitans</i> | 21 |
| Tabel 2.4 | Faktor virulensi <i>T. denticola</i> | 23 |
| Tabel 2.5 | Faktor Virulensi <i>P. gingivalis</i> dan Efeknya pada Host..... | 25 |
| Tabel 2.6 | Faktor Virulensi <i>C. albicans</i> | 28 |
| Tabel 4.1 | Definisi Operasional | 50 |
| Tabel 5.1 | Karakteristik Subjek Penelitian | 64 |
| Tabel 5.2 | Hubungan antara Status Periodontal dengan Keberadaan Antigen <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> pada Subjek Periodontitis berbagai Stage..... | 72 |
| Tabel 5.3 | Hubungan antara Indeks Plak dengan Respons Imun IgA/IgG Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan <i>Candida albicans</i> pada Subjek Periodontitis berbagai Stage | 73 |
| Tabel 5.4 | Hubungan antara Indeks Kebersihan Mulut dengan Respons Imun IgA/IgG Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan <i>Candida</i> <i>albicans</i> pada Subjek Periodontitis berbagai Stage | 74 |
| Tabel 5.5 | Hubungan antara Indeks Perdarahan Papila dengan Respons Imun IgA/IgG Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan <i>Candida</i> <i>albicans</i> pada Subjek Periodontitis berbagai Stage | 76 |

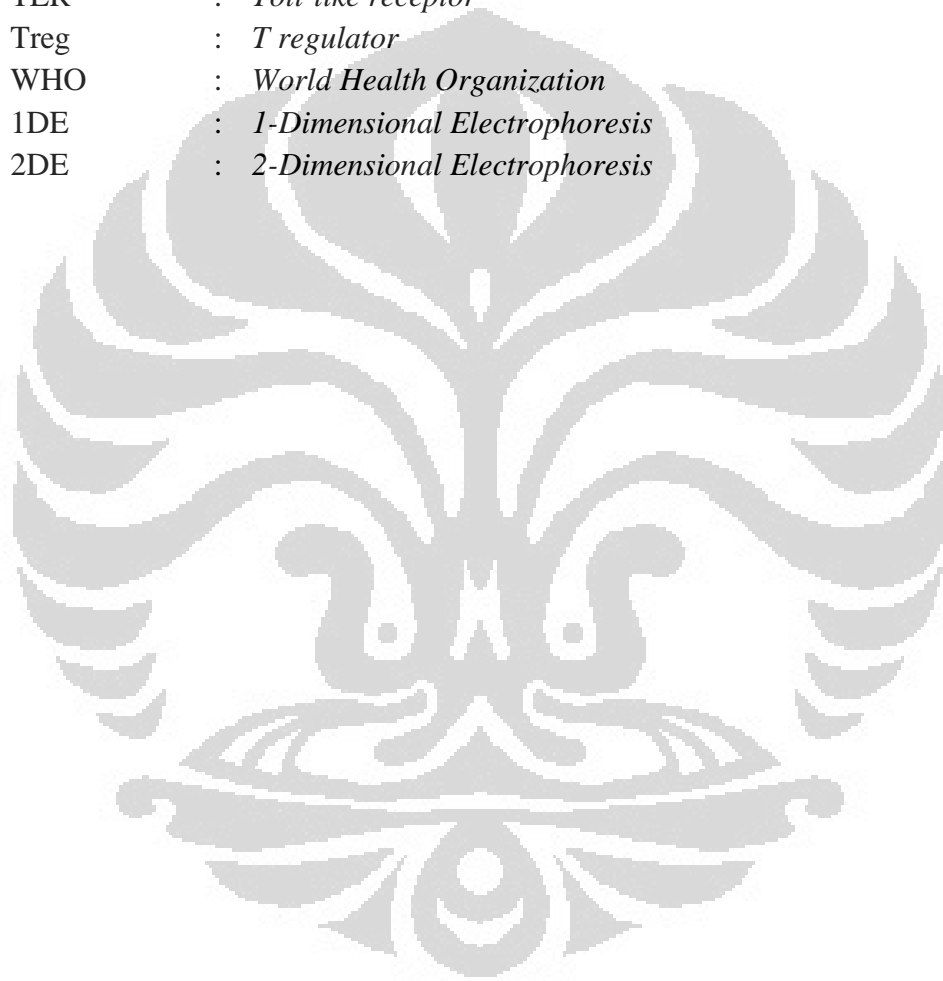
DAFTAR GAMBAR

| | | |
|-------------|--|----|
| Gambar 2.1 | Patogenesis Periodontitis: Sinergi dan Disbiosis Polimikroba (PSD) | 18 |
| Gambar 2.2 | Morfologi Sel Bakteri <i>A. actinomycetemcomitans</i> | 21 |
| Gambar 2.3 | Morfologi Sel Bakteri <i>Treponema</i> dari Sampel Plak..... | 22 |
| Gambar 2.4 | Struktur <i>T. denticola</i> | 22 |
| Gambar 2.5 | Morfologi Sel Bakteri <i>P. gingivalis</i> | 24 |
| Gambar 2.6 | Morfologi Sel Bakteri <i>F. nucleatum</i> | 26 |
| Gambar 2.7 | Perlekatan Hifa <i>C. albicans</i> pada Jaringan Periodontal | 27 |
| Gambar 2.8 | Sistem Duktus Kelenjar Saliva Mayor Submandibula..... | 29 |
| Gambar 2.9 | Sumber Protein Saliva..... | 30 |
| Gambar 2.10 | Homeostasis Jaringan Periodontal dan Patogenesis Periodontitis..... | 34 |
| Gambar 2.11 | Tipe Imunitas Adaptif..... | 36 |
| Gambar 2.12 | Kerangka Teori | 42 |
| Gambar 3.1 | Kerangka Konsep Pertama..... | 43 |
| Gambar 3.2 | Kerangka Konsep Kedua | 44 |
| Gambar 4.1 | Alir Penelitian | 48 |
| Gambar 4.2 | Sampel Saliva yang Diambil dari Subjek | 54 |
| Gambar 4.3 | Ekstraksi Protein Saliva | 55 |
| Gambar 4.4 | Proses Pengeringan Pelet Protein..... | 56 |
| Gambar 4.5 | Proses Purifikasi Antibodi | 57 |
| Gambar 4.6 | Teknik Dotblot..... | 61 |
| Gambar 5.1 | Analisis ImageJ Densitas Pita Protein Pada Uji Western Blot Antigen Aggregatibacter actinomycetemcomitans pada Saliva Pasien dengan Tingkat Keparahan Periodontitis..... | 65 |
| Gambar 5.2 | Median Respons Imun IgA Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan <i>Candida albicans</i> berdasarkan Tingkat Keparahan Periodontitis | 66 |
| Gambar 5.3 | Median Respons Imun IgG Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan <i>Candida albicans</i> berdasarkan Tingkat Keparahan Periodontitis | 68 |
| Gambar 5.4 | Hubungan Keberadaan Antigen <i>A. actinomycetemcomitans</i> dengan Respons Imun IgA dan IgG Saliva pada Subjek Periodontitis Stage III..... | 69 |
| Gambar 5.5 | Rerata Nilai Status Periodontal terhadap Tingkat Keparahan Periodontitis | 70 |

DAFTAR SINGKATAN

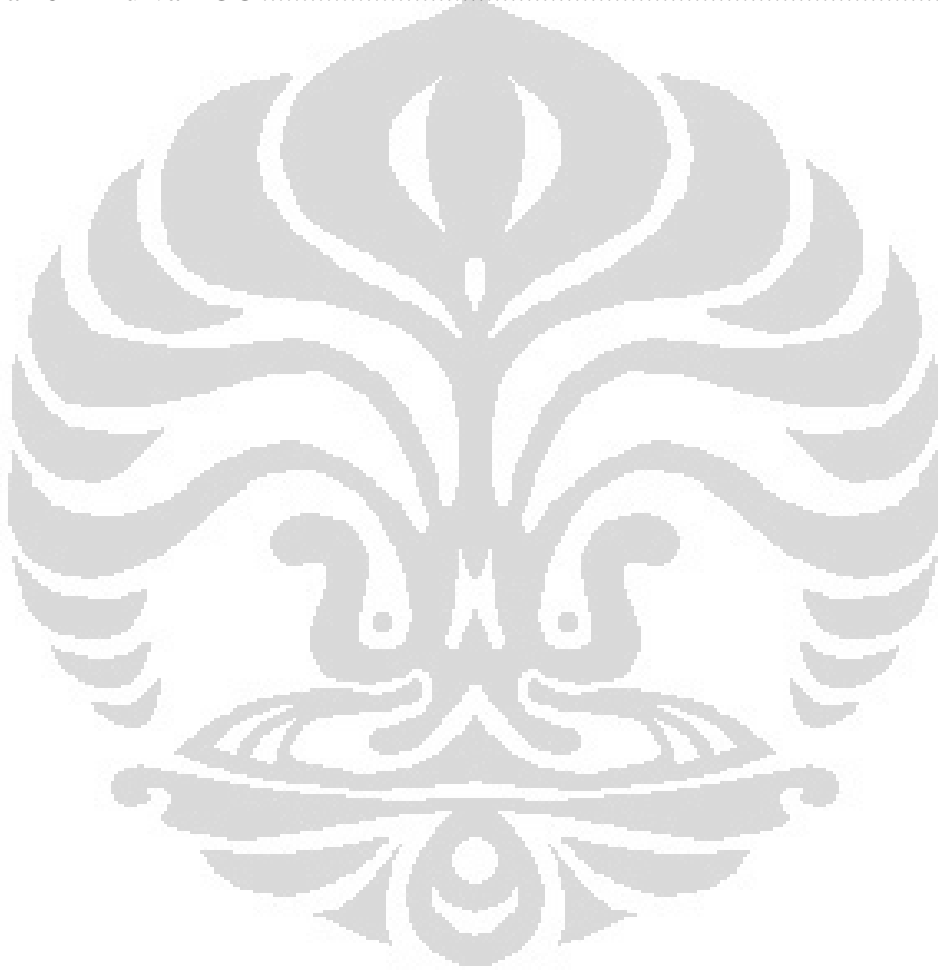
| | |
|-----------|---|
| AAP | : <i>American Academy of Periodontology</i> |
| APCs | : <i>Antigen Presenting Cells</i> |
| CAL | : <i>Clinical Attachment Loss</i> |
| CD | : <i>Cluster of Differentiation</i> |
| CKG | : Cairan Krevikular Gingiva |
| DAMPs | : <i>Damage-Associated Molecular Patterns</i> |
| DNA | : <i>Deoxyribonucleic Acid</i> |
| EFP | : <i>European Federation of Periodontology</i> |
| ELISA | : <i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i> |
| FKGUI | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia |
| Ig | : <i>Imunoglobulin</i> |
| IL | : <i>Interleukin</i> |
| IFN | : <i>Interferon</i> |
| IP | : Indeks Plak |
| KEPKG | : Komisi Etik Penelitian Kedokteran Gigi |
| LPS | : <i>Lipopolisakarida</i> |
| MIP | : <i>Macrophage Inflammatory Protein</i> |
| MNPs | : <i>Mononuclear Phagocytes</i> |
| mL | : <i>Mililiter</i> |
| mm | : <i>Milimeter</i> |
| MMPs | : <i>Matrix Metalloproteinase</i> |
| NOD | : <i>Nucleotide-binding Oligomerization Domain</i> |
| NK | : <i>Natural Killer</i> |
| OD | : <i>Optical Density</i> |
| OHI | : <i>Oral Hygiene Index</i> |
| PAMPs | : <i>Pathogens-Associated Molecular Patterns</i> |
| PBI | : <i>Papillary Bleeding Index</i> |
| PBS | : <i>Phosphate Buffered Saline</i> |
| PCA | : <i>Principal Component Analysis</i> |
| PCR | : <i>Polymerase Chain Reaction</i> |
| PMN | : Polimorfonuklear Neutrofil |
| PRRs | : <i>Pattern Recognition Receptors</i> |
| PSD | : <i>Polymicrobial Synergy and Dysbiosis</i> |
| PVDF | : <i>Polyvinylidene Difluoride</i> |
| RANKL | : <i>Receptor Activator of Nuclear Factor $\kappa\beta$-Ligand</i> |
| RBL | : <i>Radiographic Bone Loss</i> |
| RISKESDAS | : Riset Kesehatan Dasar |
| RNA | : <i>Ribonucleic Acid</i> |
| RSKGM | : Rumah Sakit Khusus Gigi dan Mulut |

| | |
|---------------|--|
| ROC | : <i>Receiver Operating Characteristic</i> |
| SB | : <i>Simpangan Baku</i> |
| SDS-PAGE | : <i>Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i> |
| SE | : <i>Standar Error</i> |
| SOFAT | : <i>Secreted Osteoclastogenic Factor of Activated T Cells</i> |
| T9SS | : <i>Type IX Secretion System</i> |
| TGF | : <i>Transforming Growth Factor</i> |
| Th | : <i>T helper</i> |
| TNF- α | : <i>Tumor Necrosis Factor-α</i> |
| TLR | : <i>Toll-like receptor</i> |
| Treg | : <i>T regulator</i> |
| WHO | : <i>World Health Organization</i> |
| 1DE | : <i>1-Dimensional Electrophoresis</i> |
| 2DE | : <i>2-Dimensional Electrophoresis</i> |



DAFTAR LAMPIRAN

| | | |
|------------|---|-----|
| Lampiran 1 | Etik Penelitian..... | 93 |
| Lampiran 2 | Penjelasan bagi Subjek Penelitian | 95 |
| Lampiran 3 | Surat Pernyataan Kesediaan menjadi Subjek Penelitian..... | 97 |
| Lampiran 4 | Pemeriksaan Klinis Periodontal..... | 98 |
| Lampiran 5 | Uji Statistik | 101 |
| Lampiran 6 | Kurva ROC | 151 |



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Periodontitis merupakan penyakit kronis kompleks yang ditandai dengan kerusakan pada jaringan pendukung gigi yaitu tulang alveolar, ligamen periodontal, gingiva, dan sementum.¹ Penyakit ini telah dilaporkan oleh *World Health Organisation* (WHO) menjadi penyebab utama kehilangan gigi di antara orang dewasa yaitu sekitar 20%.² Periodontitis disebabkan terutama oleh infeksi bakteri dengan keterlibatan biofilm yang tempatnya spesifik, dan berkaitan dengan mekanisme pertahanan tubuh.³ Periodontitis merupakan permasalahan kesehatan yang besar di dalam masyarakat karena prevalensinya yang tinggi dan akibat ditimbulkan berdampak pada kehilangan gigi, penurunan fungsi penguyahan dan estetik, kesehatan umum, serta kualitas hidup.⁴

Menurut *Global Burden of Disease Study* tahun 2016, penyakit periodontal *severe* merupakan penyakit dengan prevalensi urutan ke-6 tertinggi di dunia.⁵ Prevalensi penyakit ini dilaporkan memiliki rerata 20-50% di seluruh dunia.⁶ Pada tahun 1990 hingga 2010 terdapat peningkatan prevalensi penyakit periodontal di dunia sebesar 57,3%.⁷ Prevalensi ini diperkirakan akan terus bertambah dikarenakan meningkatnya populasi menua dan menurunnya tindakan pencabutan gigi pada populasi dewasa tua.⁸ Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018 melaporkan prevalensi penyakit ini di Indonesia masih besar yaitu 74,1%.⁹ Klasifikasi dan terminologi penyakit periodontal berkembang terus sejalan dengan kemajuan ilmu pengetahuan dalam memahami patogenesis penyakit ini. Klasifikasi periodontitis terbaru mulai diperkenalkan pada tahun 2017. Periodontitis yang sebelumnya dikenal sebagai kronis atau agresif sekarang dikelompokkan dalam kategori tunggal periodontitis yang selanjutnya dicirikan berdasarkan sistem *staging* dan *grading*. Penetapan *staging* tergantung pada tingkat keparahan penyakit serta kompleksitas penatalaksanaan penyakit. Tingkat keparahan periodontitis terbagi menjadi empat kategori, yaitu *stage* I, II, III, dan IV.¹⁰

Periodontitis terjadi dengan empat faktor utama yang berperan, yaitu interaksi bakteri dan *host*, pertahanan *host*, defisiensi pertahanan *host*, serta predisposisi genetik.⁴ Perkembangan dan keparahan penyakit ini, serta usia pada saat terjangkitnya sangat dipengaruhi oleh sejumlah faktor risiko seperti kondisi sistemik, kebiasaan merokok, dan genetik. Akumulasi biofilm dental sebagai akibat dari kebersihan mulut yang tidak adekuat merupakan faktor inisiasi penyakit periodontal. Disbiosis polimikroba dapat terjadi apabila biofilm tersebut tidak terkendali dan berinteraksi dengan individu yang rentan. Hal ini akan menginisiasi dan melanjutkan proses inflamasi serta kerusakan jaringan periodontal.^{11,12} Disbiosis polimikrobiota subgingiva yang paling sering teridentifikasi diantaranya trias bakteri anaerob *red complex* *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Treponema denticola* (*T. denticola*), *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*), *orange complex* *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*), dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*). Prevalensi patogen periodontal tersebut menunjukkan hasil yang beragam. Herrera dkk. memperlihatkan perbedaan prevalensi patogen *red complex* pada subjek periodontitis yang berasal dari Chili (*P. gingivalis* 83,8%; *T. forsythia* 16,2%), Kolombia (*P. gingivalis* 65,9%; *T. forsythia* 39%), dan Spanyol (*T. forsythia* 36,1%). Hal tersebut diduga adanya evolusi dari bakteri terhadap kelompok etnis tertentu.¹³

Hipotesis mengenai patogenesis periodontitis masih beragam, yaitu hipotesis plak non spesifik, hipotesis plak spesifik, hipotesis plak ekologi, dan hipotesis patogen *keystone*, serta hipotesis *polymicrobial synergy and dysbiosis*. Hipotesis plak non spesifik menyatakan bahwa respons inflamasi gingiva merupakan tahap inisial proses penyakit periodontal yang kemudian berkembang menjadi tahap destruksi (kehilangan perlekatan klinis dan kerusakan tulang alveolar) sehingga terjadi periodontitis. Hipotesis plak spesifik mengungkapkan adanya patogen spesifik tunggal maupun klaster yang berperan pada periodontitis. Pendekatan hipotesis ini mendominasi teori polimikrobial dalam beberapa dekade.¹⁴

Hipotesis plak ekologi dikembangkan oleh Marsh tahun 1994. Marsh menggabungkan konsep-konsep kunci dari hipotesis plak spesifik dan non spesifik serta menyimpulkan bahwa penyakit periodontal merupakan hasil ketidakseimbangan mikroflora yang didorong oleh faktor lingkungan. Hal tersebut mengakibatkan peningkatan patogen periodontal.¹⁵ Mikrobiom eubiosis (mikrobial homeostasis) hanya akan diperoleh apabila

tingkat patogen periodontal sangat rendah. Akibat faktor eksternal, *bacterial load* meningkat pada daerah subgingiva sehingga terjadi inflamasi (gingivitis). Respons inflamasi akan meningkatkan aliran cairan krevikular gingiva (eksudat *serum-like*) dan mengubah status nutrisi subgingiva. Perubahan ini meningkatkan bakteri Gram-negatif proteolitik seperti *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, dan *T. denticola* yang mengakibatkan degradasi jaringan *host* sehingga terjadi periodontitis.¹⁶

Hipotesis terakhir patogen *keystone* dikembangkan oleh Hajishengallis dkk. pada tahun 2012.¹⁷ Hipotesis ini menyatakan bahwa mikroba patogen dengan *abundance* rendah dapat mengatur remodulasi *oralome* lengkap menjadi keadaan disbiosis dan menyerang pertahanan *host*, termasuk sel-sel epitel sebagai sumber nutrisi. Faktor utama hipotesis ini adalah patogen *keystone* dapat mengganggu peran sistem imun karena neutrofil berada di antara plak dan permukaan sel epitel. *Porphyromonas gingivalis* dianggap sebagai patogen *keystone* untuk periodontitis.¹⁸ Hajishengallis dan Lamont memperbarui hipotesis patogen *keystone* menjadi hipotesis *polymicrobial synergy and dysbiosis* (PSD). Konsep PSD pada periodontitis dibuktikan dengan patogenitas gabungan periopatogen lebih tinggi signifikan dibandingkan infeksi monospesies pada hewan coba.¹⁹ Beberapa fungsi patogenik memerlukan ekspresi molekul spesifik seperti adhesin, reseptor, enzim proteolitik dan ligan permukaan proinflamasi yang tidak dapat ditemukan pada satu patogen *keystone* spesifik. Kombinasi molekul-molekul ini bertindak sebagai faktor virulensi komunitas untuk mempertahankan mikroba proinflamasi dan disbiosis sehingga terjadi respons *host* dan kerusakan jaringan.²⁰

Bakteri *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, dan *T. forsythia* dipercaya sebagai bakteri patogen periodontal apabila keberadaannya dalam jumlah tertentu dan berinteraksi dengan *host* yang rentan.²¹ *Porphyromonas gingivalis* merupakan organisme oral yang paling banyak diteliti pada tingkat molekuler dan patogenitasnya disebabkan oleh faktor virulensi lipopolisakarida (LPS). *Toll-like receptor-4* (TLR-4) bekerjasama dengan beberapa komponen protein seperti *LPS-binding protein* dan CD14 dapat mengenali secara spesifik LPS yang dihasilkan oleh bakteri Gram negatif. Lipopolisakarida patogen periodontal akan menstimulasi sel *host* menginduksi mediator inflamasi seperti interleukin (IL)-1 β dan *macrophage inflammatory protein* (MIP)-1 α .²²

Faktor virulensi *P. gingivalis* lebih berperan pada manipulasi respons *host* dibandingkan sebagai induktor inflamasi.²³ Paradoks ini dinyatakan dalam penelitian yang menunjukkan terdapat partisipasi mikrobiota komensal pada inflamasi dan kerusakan tulang dengan *P. gingivalis* sebagai pemicunya.¹¹ *Porphyromonas gingivalis* secara spesifik merusak sinyal imun *innate* termasuk *crossstalk* antara komplemen dengan TLR. Bakteri ini dapat menumbangkan pertahanan *host* dengan memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan seluruh komunitas mikrobiota.^{23,24} Peran *P. gingivalis* lebih kepada “mengorkestrai” dibandingkan menyebabkan langsung inflamasi kerusakan tulang, yang lebih dimediasi oleh patobion (symbion yang biasanya tidak berbahaya, namun dapat menjadi patogen dalam kondisi lingkungan tertentu).²⁵

Porphyromonas gingivalis menunjukkan interaksi sinergis dengan bakteri spesies dari *Fusobacterium*. Bakteri *P. gingivalis* merupakan bakteri anaerob. Kolonisasi bakteri ini membutuhkan interaksi dengan bakteri lain yang dapat mengurangi kadar oksigen lingkungan yang dapat ditoleransi. *Fusobacterium nucleatum* merupakan spesies yang toleran terhadap oksigen dan berperan penting terhadap kelangsungan hidup *P. gingivalis*. *Fusobacterium nucleatum* juga bakteri anaerob, namun bakteri ini memiliki aktivitas enzimatik seperti oksidasi *nicotinamide adenine dinucleotide hydrogen* (NADH) dan dapat memberikan suplai karbon dioksida kepada *P. gingivalis*.²⁶ Selain *F. nucleatum*, *P. gingivalis* juga berinteraksi dengan *Treponema denticola*. Asam butirat yang dihasilkan oleh *P. gingivalis* menstimulasi pertumbuhan *T. denticola*, demikian pula asam suksinat yang dihasilkan oleh *T. denticola* akan meningkatkan pertumbuhan *P. gingivalis*.²⁷ *Treponema denticola* apabila berinteraksi dengan *P. gingivalis* akan meningkatkan ekspresi *adhesins* dan protease.²⁸ Temuan *in vitro* ini juga selaras dengan temuan *in vivo*.^{29,30}

Berkenaan dengan interaksi lintas *kingdom*, protein permukaan *internalin family* InlJ *P. gingivalis* berikatan ke protein hifa *candidal* Als3 *Candida albicans* (*C. albicans*) yang selanjutnya akan meningkatkan regulasi komponen pengkodean gen dari *type IX secretion system* (T9SS) *P. gingivalis*.³¹ Faktor virulensi *P. gingivalis* seperti *gingipains* akan disekresikan melalui jalur T9SS, sehingga *C. albicans* dan *P. gingivalis* akan meningkat patogenesisnya. Koloni *C. albicans* ditemukan di dalam poket periodontal pada 15-20% kasus periodontitis kronis, dan kehadiran organisme ini diduga berhubungan erat dengan keparahan periodontitis tersebut.³²⁻³⁴

Penelitian proteomik yang dilakukan oleh Bostanci dkk. ditemukan 150 protein *host* dan *agent* (101 dari sel manusia, 27 dari sel bakteri, 14 dari jamur dan delapan protein yang berasal dari virus). Penelitian ini juga menyatakan bahwa proporsi protein yang berasal dari bakteri, jamur dan virus pada subjek periodontitis agresif meningkat apabila dibandingkan dengan subjek sehat.³⁵ Protein yang berasal dari *host* dan *agent* ini bahkan terbukti dapat menginduksi inflamasi pada sel fibroblas melalui jalur TLR-4.³⁶ Wu dkk. menggunakan saliva dalam menentukan profil proteomik periodontitis. Penelitian tersebut menyatakan terdapat enam protein yang meningkat pada subjek periodontitis agresif dibandingkan dengan subjek sehat. Protein tersebut diantaranya adalah serum albumin, imunoglobulin A (IgA), imunoglobulin G (IgG), vitamin D-binding protein, *saliva- α -amilase*, *zinc- α 2* glikoprotein meningkat pada subjek dengan periodontitis.³⁷

Sistem imun terdiri dari dua bagian yaitu imunitas *innate* dan adaptif. Respons imun *innate* terdiri dari *epithelial barrier* dan aktivitas sel fagosit (neutrofil dan makrofag). Imunitas ini merupakan sistem homeostatis garis pertahanan pertama terhadap patogen oral. Respons imun ini berlangsung dengan segera (*immediate*) ataupun dalam hitungan jam. Ketika sistem imun *innate* sudah tidak adekuat, sistem imun adaptif mengambil peran untuk merespons agen infeksi. Respons imun adaptif ini melibatkan aktivitas limfosit. Komponen utama sistem adaptif ini adalah limfosit B dan T, serta produknya seperti antibodi/imunoglobulin dan sitokin.³⁸ Sel B dan T memiliki reseptor permukaan sel yang dapat mengikat molekul unik yang diproduksi oleh mikroba ataupun sel *host* yang terinfeksi. Kemampuan limfosit untuk membedakan antigen merupakan spesifisitas yang dimiliki oleh respons imun adaptif. Imunoglobulin merupakan molekul protein yang diproduksi oleh sel-sel dalam sistem imun sebagai respons terhadap antigen seperti virus, bakteri, ataupun fungi. Fungsi imunoglobulin untuk mengikat molekul antigen secara spesifik.³⁹

Imunoglobulin juga terdapat pada saliva yang berfungsi sebagai pelindung dalam rongga mulut. Imunoglobulin A yang diproduksi oleh sel plasma pada kelenjar saliva merupakan Ig yang paling banyak ditemukan di dalam saliva.^{40,41} Pada gingiva yang inflamasi, sel B berdeferensiasi menjadi sel plasma dan mensekresikan IgG. Imunoglobulin yang berasal dari sirkulasi dapat masuk juga melalui krevikular gingiva.³⁹ Selain immunoglobulin, rongga mulut memiliki serangkaian faktor-faktor antimikroba *innate* yang disekresikan oleh kelenjar saliva, sel epitel, maupun neutrofil. Molekul antimikroba ini dapat

membunuh ataupun menghambat pertumbuhan mikroorganisme bakteri, fungi, ataupun virus.³⁹

Sel T dan B dapat berperan pada jaringan periodontal sehat maupun periodontitis.⁴² Pada jaringan periodontal sehat, sel T *regulator* (Treg) dan sel T CD8⁺ berkontribusi pada keadaan homeostasis dengan memproduksi IL-10 dan *transforming growth factor* (TGF)- β . Sel T- $\gamma\delta$ memproduksi *amphiregulin* dan IL-17 untuk meningkatkan homeostasis jaringan periodontal. Sel B memproduksi antibodi untuk melawan patogen periodontal agar inflamasi jaringan periodontal dapat dibatasi. Pada periodontitis, sel T *helper* (Th)1, Th2 dan Th17 memproduksi sitokin pro inflamasi yang berkontribusi pada kerusakan jaringan. Sel B dan T pada periodontitis memproduksi *receptor activator of nuclear factor $\kappa\beta$ -ligand* (RANKL) dan mengaktivasi ostoklas serta resorpsi tulang alveolar. Aktivasi klonal sel B oleh Tfh (T-*follicular helper*) dapat meningkatkan produksi autoantibodi terhadap kolagen, fibronectin dan laminin, sehingga mengakibatkan kerusakan jaringan tersebut.⁴³

Perkembangan dalam teknik isolasi jaringan, separasi protein, analisis kuantifikasi, dan sekuensing protein dapat digunakan untuk menjelaskan patogenesis periodontitis dari tingkat awal sampai tingkat lanjut.⁴⁴ Sampel klinis diperlukan untuk menganalisis keragaman protein dan hubungannya dengan kejadian periodontitis. Sampel dapat berasal dari saliva³⁷, cairan krevikular gingiva (CKG)^{45,46}, darah tepi⁴⁷, plak⁴⁸, ataupun jaringan poket periodontal.⁴⁴ Di antara sumber sampel tersebut, pengambilan sampel saliva tidak invasif. Saliva berperan penting dalam mempertahankan kesehatan rongga mulut. Peran ini bergantung pada interaksi saliva dengan permukaan mulut yang bervariasi, yaitu jaringan lunak dan jaringan keras mulut. Fungsi cairan ini diantaranya adalah untuk membersihkan substansi yang ada di mulut, mempertahankan derajat keasaman, mineralisasi gigi, proses penyembuhan, mengontrol mikrobiom mulut, dan membasahi permukaan mukosa mulut.⁴⁹ Saliva memiliki komponen penting sistem imun *host* dan dapat mencerminkan perubahan yang terjadi pada mulut kepada kesehatan secara sistemik.³⁷

Penelitian metagenomik dan metatranskriptomik menunjukkan hasil yang lebih konsisten dengan hipotesis terkini patogenesis penyakit periodontal.^{11,50-53} Penelitian-penelitian

tersebut memperlihatkan bahwa mikrobiota terkait periodontitis lebih beragam daripada yang diperkirakan sebelumnya. Periodontitis tidak disebabkan oleh patogen individu, melainkan sinergi dan disbiosis polimikroba yang mengganggu keseimbangan ekologis biofilm terkait dengan homeostasis jaringan periodontal.^{20,54,55} Dalam konteks baru patogenesis ini, peran polimikrobal dan interaksinya dengan respons imun humoral saliva perlu dikaji pada berbagai *stage* periodontitis.

1.2 Rumusan Masalah

Periodontitis adalah penyakit kronis yang diinduksi oleh polimikrobal. Kerusakan jaringan periodontal ireversibel ini akibat dari gangguan mekanisme homeostasis yang dimediasi oleh mikrobal seperti *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, dan *C. albicans* pada *host* yang rentan. Tingkat keparahan periodontitis ditetapkan berdasarkan *stage* pada klasifikasi terbaru penyakit periodontal.

Saliva merupakan cairan rongga mulut yang berasal dari kelenjar saliva dan memiliki berbagai fungsi diantaranya fungsi proteksi. Sistem imun sebagai salah satu fungsi proteksi pada saliva terdiri dari dua bagian yaitu *innate* dan adaptif. Respons imun *innate* adalah garis pertahanan pertama terhadap polimikrobal yang menyerang, sedangkan respons imun adaptif akan mengambil peran untuk merespons agen infeksi apabila sistem imun *innate* sudah tidak adekuat. Sel T dan B sebagai komponen dari respons imun adaptif dapat berperan pada jaringan periodontal sehat maupun periodontitis. Immunoglobulin A dan G yang terdapat pada saliva merupakan mekanisme efektor respons imun adaptif humoral yang berfungsi mengikat molekul antigen secara spesifik.

Pengetahuan mengenai mekanisme imun dan respons inflamasi pada periodontitis diperlukan untuk lebih memahami patogenesis penyakit ini. Peran polimikrobal sangat besar pada periodontitis, namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa periodontitis sebagai efek dari respons imun dan proses inflamasi, bukan hanya keberadaan bakteri. Identifikasi “patogen yang sebenarnya” pada periodontitis masih terus dilakukan. Penelitian respons imun adaptif pada periodontitis sudah mulai dikembangkan, namun masih sangat terbatas. Peran potensial sel B humoral pada homeostasis jaringan periodontal butuh diperdalam lagi. Berdasarkan uraian tersebut, maka masalah ilmiah dalam penelitian ini dirumuskan sebagai berikut: bagaimana hubungan antara keberadaan

polimikrobia yang terdiri dari *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, dan *C. albicans* dengan respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*. Peneliti juga ingin membuktikan hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen tersebut, serta respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.

1.3 Pertanyaan Penelitian

1.3.1 Pertanyaan Umum

- 1.3.1.1 Apakah terdapat hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*?
- 1.3.1.2 Apakah terdapat hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* serta respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*?

1.3.2 Pertanyaan Khusus

- 1.3.2.1 Apakah terdapat perbedaan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*?
- 1.3.2.2 Apakah terdapat perbedaan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*?
- 1.3.2.3 Apakah terdapat perbedaan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*?
- 1.3.2.4 Apakah terdapat hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun IgA saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*?
- 1.3.2.5 Apakah terdapat hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun IgG saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*?
- 1.3.2.6 Apakah terdapat perbedaan status periodontal terhadap tingkat keparahan periodontitis?

- 1.3.2.7 Apakah terdapat hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*?
- 1.3.2.8 Apakah terdapat hubungan antara indeks plak dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*?
- 1.3.2.9 Apakah terdapat hubungan antara indeks plak dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*?
- 1.3.2.10 Apakah terdapat hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*?
- 1.3.2.11 Apakah terdapat hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*?
- 1.3.2.12 Apakah terdapat hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*?
- 1.3.2.13 Apakah terdapat hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*?

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

- 1.4.1.1 Untuk menganalisis hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 1.4.1.2 Untuk menganalisis hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* serta respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.

1.4.2 Tujuan Khusus

- 1.4.2.1 Untuk menganalisis perbedaan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 1.4.2.2 Untuk menganalisis perbedaan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 1.4.2.3 Untuk menganalisis perbedaan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 1.4.2.4 Untuk menganalisis hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun IgA saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 1.4.2.5 Untuk menganalisis hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun IgG saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 1.4.2.6 Untuk menganalisis perbedaan status periodontal terhadap tingkat keparahan periodontitis.
- 1.4.2.7 Untuk menganalisis hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 1.4.2.8 Untuk menganalisis hubungan antara indeks plak dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 1.4.2.9 Untuk menganalisis hubungan antara indeks plak dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 1.4.2.10 Untuk menganalisis hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 1.4.2.11 Untuk menganalisis hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.

1.4.2.12 Untuk menganalisis hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.

1.4.2.13 Untuk menganalisis hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi Bidang Kedokteran Gigi diharapkan dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan ilmu biologi oral dan periodontologi.

1.5.2 Bagi Dokter Gigi diharapkan penelitian ini diharapkan dapat menambah khasanah ilmu kedokteran gigi mengenai respons imun humoral saliva terhadap tingkat keparahan periodontitis.

1.5.3 Bagi Masyarakat diharapkan dapat memberikan informasi mengenai peran respons imun dalam rongga mulut terhadap periodontitis, serta pentingnya menjaga kebersihan gigi dan mulut sehingga dapat mencegah periodontitis.

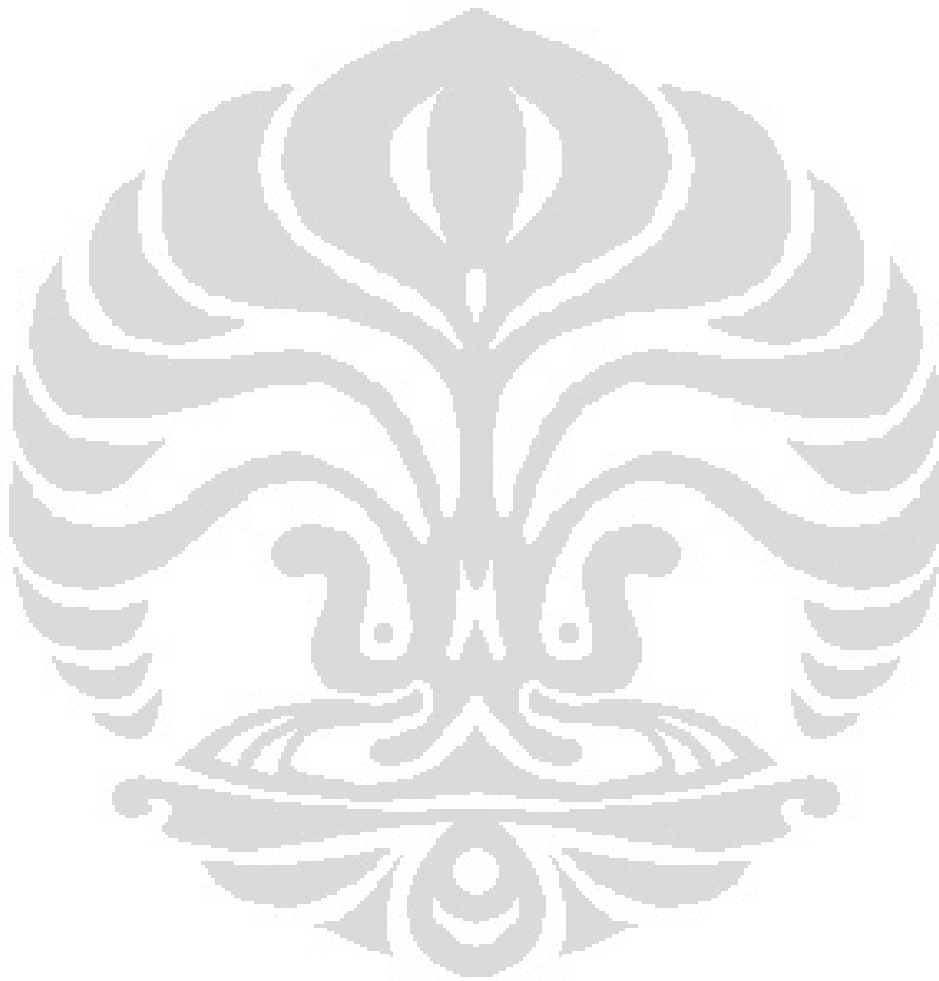
1.5.4 Bagi Perguruan Tinggi diharapkan penelitian ini dapat menjadi acuan penelitian berikutnya.

1.6 Orisinalitas Penelitian

1.6.1 Mengidentifikasi antigen bakteri periodontal dan *C. albicans* pada saliva subjek periodontitis berdasarkan tingkat keparahannya (klasifikasi periodontitis AAP/EFP 2017) di Indonesia. Identifikasi ini menggunakan antibodi poliklonal anti *rabbit* anti *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *F. nucleatum* dan *C. albicans* yang diproduksi dan dikembangkan oleh Laboratorium Biologi Oral FKGUI bekerjasama dengan Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor Indonesia.

1.6.2 Mendapatkan hubungan respons imun humoral (Imunoglobulin A dan G) saliva terhadap keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai tingkat keparahan (klasifikasi periodontitis AAP/EFP 2017) di Indonesia.

1.6.3 Mendapatkan hubungan status periodontal (indeks plak, indeks kebersihan mulut, dan indeks perdarahan papila) dengan respons imun humoral (imunoglobulin A dan G) saliva terhadap keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai tingkat keparahan (klasifikasi periodontitis AAP/EFP 2017) di Indonesia.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Periodontitis

Periodontitis merupakan penyakit kronis yang kompleks yang ditandai dengan kerusakan pada jaringan pendukung gigi yaitu tulang alveolar, ligamen periodontal, gingiva dan sementum. Periodontitis yang sebelumnya dikenal sebagai kronis atau agresif sekarang dikelompokkan di bawah kategori tunggal periodontitis yang selanjutnya dicirikan berdasarkan multidimensional sistem *staging* dan *grading*.⁵⁶ *American Academy of Periodontology (AAP)* dan *European Federation of Periodontology (EFP)* menyelenggarakan lokakarya dunia pada tahun 2017 mengenai klasifikasi penyakit periodontal dan peri-implan. *AAP* dan *EFP* telah melakukan pertemuan di Chicago tanggal 9-11 November 2017 membahas mengenai standarisasi definisi penyakit-periodontitis untuk meningkatkan kualitas penatalaksanaan penyakit periodontal pada pasien secara global.¹⁰

Penetapan *staging* tergantung pada tingkat keparahan penyakit serta kompleksitas manajemen penyakit (Tabel 2.1).¹⁰ Ambang batas interproksimal *clinical attachment loss (CAL)* ≥ 2 mm atau ≥ 3 mm pada ≥ 2 gigi yang tidak bersebelahan umumnya digunakan untuk indikator periodontitis. Konfirmasi kehilangan jaringan interproksimal dilakukan dengan penilaian radiografis kehilangan tulang. Gambaran klinis yang bermakna tentang periodontitis harus mencakup proporsi daerah yang mengalami perdarahan saat *probing*, dan jumlah dan proporsi gigi dengan kedalaman *probing* melewati batas tertentu (biasanya ≥ 4 mm dan ≥ 6 mm) dan gigi dengan *CAL* ≥ 3 mm dan ≥ 5 mm.⁵⁶

Tabel 2.1 *Stage* pada Periodontitis⁵⁶

| Stage Periodontitis | | Stage I | Stage II | Stage III | Stage IV |
|---------------------------------|---|--|---|---|--|
| Keparahan | CAL interdental pada sisi kehilangan terbesar | 1-2 mm | 3-4 mm | ≥ 5mm | ≥5 mm |
| | Kehilangan tulang radiografik (<i>RBL</i>) | Sepertiga koronal (<15%) | Sepertiga koronal (15%-33%) | Meluas sampai sepertiga tengah akar gigi atau lebih | Meluas sampai sepertiga tengah akar gigi atau lebih |
| | Kehilangan gigi | Tidak ada kehilangan gigi akibat periodontitis | | Kehilangan gigi akibat periodontitis ≤4 gigi | Kehilangan gigi akibat periodontitis ≥5 gigi |
| Kompleksitas | Lokal | Kedalaman probing ≤4 mm Umumnya kehilangan tulang horizontal | Kedalaman probing ≤5 mm Umumnya kehilangan tulang horizontal | Sebagai tambahan kompleksitas <i>stage II</i> : Kedalaman probing ≥6 mm Kehilangan tulang vertikal ≥3 mm Keterlibatan furkasi kelas II atau III Defek <i>ridge</i> sedang | Sebagai tambahan kompleksitas <i>stage III</i> : Memerlukan rehabilitasi kompleks akibat: Disfungsi pengunyahan Trauma oklusal sekunder (derajat kegoyangan gigi ≥2) Defek <i>ridge</i> parah <i>Bite collapse, drifting, flaring</i> Kurang dari 20 gigi yang tersisa |
| Perluasan dan Distribusi | Tambahkan pada <i>stage</i> sebagai penjas | Pada setiap <i>stage</i> , perluasan digambarkan sebagai terlokalisasi (<30% gigi yang terlibat), menyeluruh, atau pola molar/insisivus. | | | |

Tahap awal penetapan periodontitis menggunakan *clinical attachment loss* (CAL); jika tidak bisa, maka dilihat kehilangan tulang radiografi. Informasi tentang kehilangan gigi akibat periodontitis dapat memodifikasi definisi *stage*. Faktor kompleksitas dapat meningkatkan *stage*, misalnya furkasi II atau III akan bergeser ke *stage* III atau IV terlepas dari CAL. Perbedaan antara *stage* III dan IV terutama didasarkan pada faktor-faktor kompleksitas. Sebagai contoh, tingkat mobilitas gigi yang tinggi dan/atau kolaps gigitan posterior akan menjadikan diagnosis *stage* IV.⁵⁶

Definisi kasus ini adalah pedoman yang harus diterapkan menggunakan penilaian klinis yang baik untuk sampai pada diagnosis klinis yang paling tepat. Untuk pasien pasca perawatan, CAL dan radiografi masih merupakan penentu tahap primer. Jika faktor-faktor penggeser tahap dihilangkan dengan pengobatan, *stage* seharusnya tidak turun karena tingkat kompleksitas tahap awal harus selalu dipertimbangkan dalam manajemen fase pemeliharaan.⁵⁶ Tujuan *staging* ini adalah mengklasifikasi berdasarkan tingkat keparahan dan kerusakan jaringan periodontal yang diakibatkan oleh periodontitis serta menentukan faktor spesifik yang dapat meningkatkan kompleksitas penyakit, sedangkan *grading* menyatakan informasi tambahan berkaitan dengan progres periodontitis, penilaian risiko untuk progres lebih lanjut, analisis hasil pengobatan yang mungkin buruk, dan penilaian risiko bahwa penyakit atau perawatannya mungkin berdampak negatif terhadap kesehatan umum pasien (Tabel 2.2).⁴

Seseorang dinyatakan sebagai penderita periodontitis apabila: (1) CAL interdental terdeteksi pada ≥ 2 gigi yang tidak berdekatan, atau (2) CAL bukal atau oral ≥ 3 mm dengan kedalaman poket ≥ 3 mm terdeteksi pada ≥ 2 gigi. *Clinical attachment loss* tersebut tidak dapat dikaitkan dengan resesi gingiva yang berasal dari trauma, karies gigi servikal yang luas, CAL pada daerah distal gigi molar kedua yang mengalami malposisi atau pasca pencabutan gigi molar ketiga, lesi endodontik yang mencapai jaringan periodonsium, dan keberadaan fraktur akar gigi vertikal.⁴

Tabel 2.2 *Grade* pada Periodontitis⁵⁶

| <i>Grade</i> periodontitis | | | <i>Grade A:</i> Perkembangan lambat | <i>Grade B:</i> Perkembangan sedang | <i>Grade C:</i> Perkembangan cepat |
|--|--|--------------------------------------|--|--|--|
| Kriteria utama | Bukti langsung perkembangan penyakit | Data longitudinal (RBL/CAL) | Tidak ada kehilangan lebih dari 5 tahun | <2 mm lebih dari 5 tahun | ≥2mm lebih dari 5 tahun |
| | Bukti tidak langsung perkembangan penyakit | % kehilangan tulang/usia | <0.25 | 0.25 – 1.0 | >1.0 |
| | | Fenotip kasus | Deposit biofilm banyak dengan tingkat kerusakan rendah | Kerusakan sebanding dengan deposit biofilm | Kerusakan melewati harapan yang diberikan deposit biofilm, pola klinis spesifik dari periode perkembangan cepat dan/atau penyakit <i>earlyonset</i> (misalnya pola molar/insisivus; kurangnya respons yang diharapkan terhadap terapi bakteri standar) |
| Modifikasi <i>grade</i> | Faktor risiko | Merokok | Tidak merokok | Merokok <10 batang/hari | Merokok ≥ 10batang/hari |
| | | Diabetes | Glikemik normal / tidak ada diagnosis diabetes | HbA1c <7.0% pada pasien dengan diabetes | HbA1c ≥ 7.0% pada pasien dengan diabetes |
| Risiko dari pengaruh sistemik pada periodontitis | Beban peradangan | Sensitivitas tinggi CRP (hsCRP) | <1 mg/L | 1-3 mg/L | >3 mg/L |
| Biomarker | Indikator CAL/kehilangan tulang | Saliva, cairan sulkus gingiva, serum | ? | ? | ? |

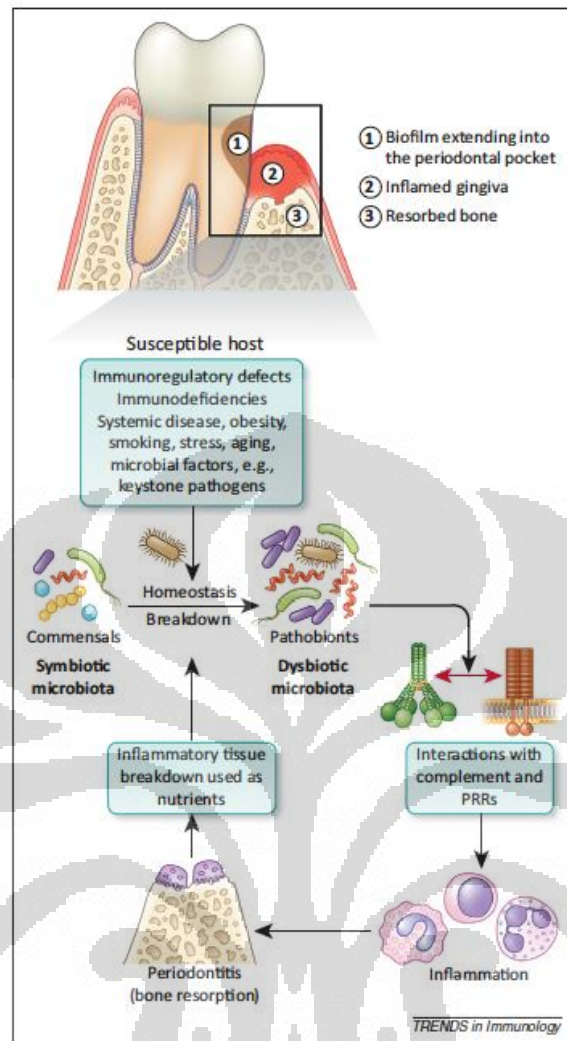
Keterangan: RBL: *radiographic bone loss*; CAL: *clinical attachment loss*; hsCRP: *high sensitivity c-reactive protein*.

2.2 Patogenesis Periodontitis

Rongga mulut manusia menyediakan lingkungan yang unik agar mikroorganisme dapat berkolonisasi.⁵⁷ Bagian sulkus gingiva yang terdiri dari jaringan keras akar gigi, jaringan lunak mukosa, dan cairan krevikular gingiva memperlihatkan keunikan karena terlindungi dari tekanan fisik intra oral.⁵⁸ Jaringan lunak mukosa permukaan epitel di dalam sulkus selalu tergantikan, namun beberapa spesies bakteri patogen mampu menginvasi sel dan jaringan gingiva yang menyebabkan respons dari berbagai sel imun.⁵⁹ Spesies bakteri pada biofilm subgingiva sering dikaitkan dengan penyakit ini dan dinyatakan sebagai patogen putatif.⁵⁷

Polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) pada *host* yang rentan menyebabkan terjadinya periodontitis. Jaringan periodontal yang sehat akan mengondisikan keadaan inflamasi terkontrol untuk mempertahankan homeostasis *host*-mikroba. Pada kondisi *host* yang rentan, seperti imunodefisiensi, faktor predisposisi (penyakit sistemik, obesitas, kebiasaan merokok, stress, dan penuaan), serta faktor lingkungan dan adanya spesies yang berperan *keystone pathogens/driver* menyebabkan terganggunya keseimbangan interaksi antara *host* dan *agent* menjadi (disbiosis). Kondisi ini membuat polimikroba yang awalnya komensal menjadi patobion pro-inflamasi. Inflamasi yang disebabkan oleh disbiosis mikroba sangat dipengaruhi oleh *crosstalk* pensinyalan antara komplemen dengan *pattern recognition receptors* (PRRs) (Gambar 2.1).²⁵

Crosstalk pensinyalan antara spesies bakteri *keystone pathogen* dengan komplemen dan PRRs selain menyebabkan inflamasi yang dilanjutkan dengan kerusakan jaringan periodontal, menghasilkan nutrisi dari peptida yang terdegradasi untuk meningkatkan proses disbiosis yang selanjutnya terjadi kerusakan jaringan periodontal terus menerus (*self-perpetuating pathogenic cycle*). Nutrisi tersebut yang memungkinkan terjadinya sinergisme antarpatobion pada biofilm subgingival. Kerentanan *host* bukan menjadi satu-satunya penentu dalam konversi simbiosis mikrobiota menjadi disbiosis, namun dapat mendasari perkembangan inflamasi *host* yang menyebabkan kerusakan jaringan ireversibel yaitu resorpsi tulang alveolar.²⁵ Kerusakan tulang alveolar yang dikaitkan dengan aktivitas osteoklas sudah dibuktikan dalam model hewan coba dan manusia. Peristiwa yang terjadi pada *late downstream* ini terutama melibatkan mekanisme *receptor activator of nuclear factor κ B ligand* (RANKL).⁶⁰



Gambar 2.1 Patogenesis Periodontitis: Konsep *Polymicrobial synergy and dysbiosis* (PSD). Inflamasi yang disebabkan oleh disbiosis mikrobiota sebagian besar tergantung pada *crosstalk signaling* antara polimikrobia dengan komplemen dan *pattern recognition receptors* (PRRs). Efek utama *signaling* ini adalah kerusakan jaringan periodontal yang kemudian menyediakan nutrisi (peptida dan produk lainnya) sehingga terjadi sinergisme antar patobion, kemudian terjadi siklus patogenik berlanjut.²⁵

Keberadaan bakteri Gram negatif spesifik pada plak subgingiva seperti *T. forsythia*, *T. denticola*, *P. gingivalis* berhubungan dengan perkembangan dan progres penyakit periodontal.⁶¹ Keberadaan *P. gingivalis* bahkan setelah dilakukan perawatan menunjukkan adanya hubungan dengan progres kehilangan tulang alveolar. Bakteri ini juga dinyatakan sebagai faktor penyebab penyakit sistemik seperti penyakit jantung dan paru.⁶² *Porphyromonas gingivalis* merupakan organisme oral paling banyak diteliti pada tingkat molekuler dan patogenitasnya disebabkan oleh faktor virulensinya yaitu *cysteine*

protease dan lipopolisakarida (LPS).⁶³ Namun, saat ini *P.gingivalis* lebih dipercaya memiliki kemampuan sebagai manipulator respons *host* dibandingkan sebagai induktor inflamasi.¹⁸

Molekul LPS yang berada pada lapisan terluar dari membran luar bakteri Gram negatif akan mempengaruhi berbagai aktivitas biologis. Lipopolisakarida patogen periodontal akan menstimulasi sel *host* menginduksi mediator inflamasi seperti IL-1, *tumor necrosis factor* (TNF)- α , IL-6, prostaglandin E-2, yang kemudian akan menginduksi ikatan *nuclear factor* (NF)- κ B yang merupakan faktor diferensiasi osteoklas di dalam osteoblas.^{64,65} Beberapa sitokin lain yang dilaporkan berperan pada penyakit periodontitis, diantaranya Interleukin IL-1 β dan *Macrophage Inflammatory Protein* (MIP)-1 α .^{22,66} *Macrophage Inflammatory Protein* (MIP)-1 α terbukti dapat menjadi biomarker prediksi untuk kehilangan tulang enam bulan sebelum terjadi kerusakan tulang.⁶⁶ Lipopolisakarida yang terdapat ataupun dilepas dari sel bakteri bekerja sebagai aktivator sistem imun *innate* sel *host* dengan cara merangsang ekspresi sitokin proinflamasi yang dibutuhkan untuk perkembangan respons inflamasi lokal terhadap infeksi bakteri.⁶³

Respons imun *innate* merupakan sistem homeostasis dan garis pertahanan pertama serta mampu mengenali mikroorganisme yang menyerang sebagai *non-self*, selanjutnya merangsang respons imun untuk menghilangkan mikroorganisme tersebut. Mekanisme sistem imun *innate* kemudian ditingkatkan oleh sistem imun adaptif yang akan berespons secara efektif melawan bakteri periodontopatik. Respons utama terhadap patogen oleh sistem imun *innate* dipicu oleh *Pattern Recognition Receptors* (PRRs) yang mengikat *Pathogens-Associated Molecular Patterns* (PAMPs). Berbagai reseptor tersebut diantaranya *Toll-like receptor* (TLR), *Nucleotide-binding oligomerization domain* (NOD), *cluster of differentiation-14* (CD14), *complement receptor-3*, *lectins* dan *scavenger receptors*.^{67,68}

Toll-like receptor merupakan reseptor yang paling banyak diteliti dan dapat mengenali PAMPs yang bervariasi dan kompleks secara selektif. Reseptor ini merupakan protein yang *conserved* terdiri atas domain *Toll-interleukin 1 receptor* (TIR) yang bersifat *highly conserved* di intraseluler yang berperan pada aktivasi sinyal dan interaksi protein-protein serta *Leucine-rich repeats* (LRRs) di domain ekstraseluler yang berperan pada

pengenalan ligan.⁶⁷ Di antara 10 TLR pada manusia yang sudah teridentifikasi, TLR-2 dan TLR-4 merupakan TLR yang paling banyak diteliti.⁵⁷ *Toll-like receptor-2* berperan utama pada identifikasi varian komponen sel bakteri seperti peptidoglikan dan lipoprotein. *Toll-like receptor-4* bekerjasama dengan beberapa komponen protein seperti *LPS-binding protein* dan CD14 dapat mengenali secara spesifik LPS yang dihasilkan oleh bakteri Gram negatif.^{69,70}

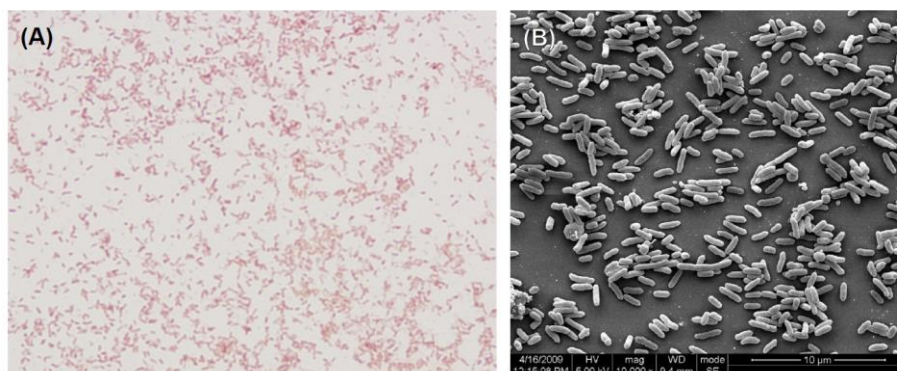
Berbagai penelitian telah menyatakan bahwa TLR terekspresi dalam jaringan periodontal.^{70,71} Sinyal TLR sangat penting bagi respons imun *innate* dan pertahanan kesehatan jaringan periodontal, karena gingiva secara terus menerus terpapar oleh mikroba yang terdapat pada biofilm. Produksi yang berlebihan sitokin pro-inflamasi yang disebabkan oleh rangsangan TLR dapat menyebabkan kerusakan jaringan.^{72,73}

2.3 Antigen Bakteri Periodontal dan *Candida albicans*

2.3.1 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Bakteri ini sebelumnya diklasifikasikan sebagai *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, kemudian dinamai *Haemophilus actinomycetemcomitans*, dan sekarang dikenal sebagai *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*). Bakteri *A. actinomycetemcomitans* merupakan bakteri Gram-negatif, anaerob fakultatif dan tumbuh dengan baik di lingkungan mikroaerofilik 5–10% CO₂. Suhu pertumbuhan optimumnya adalah 37 °C dan tidak tumbuh pada suhu 22 °C. Morfologi sel bakteri *A. actinomycetemcomitans* ditunjukkan pada Gambar 2.2.⁷⁴

Zambon dkk. mengidentifikasi tiga serotipe *A. actinomycetemcomitans*, yaitu a, b dan c. Serotipe a dan b biasa ditemukan di rongga mulut manusia, sedangkan serotipe c hanya terdiri sekitar 10% dari *A. actinomycetemcomitans* isolat oral manusia.⁷⁵ Kaplan dkk. membagi *A. actinomycetemcomitans* menjadi enam serotipe dari a sampai f.⁷⁵ Faktor virulensi yang diduga dari *A. actinomycetemcomitans* dapat dibagi menjadi faktor-faktor yang memodulasi sistem imun dan memicu kerusakan jaringan (Tabel 2.3).⁷⁶



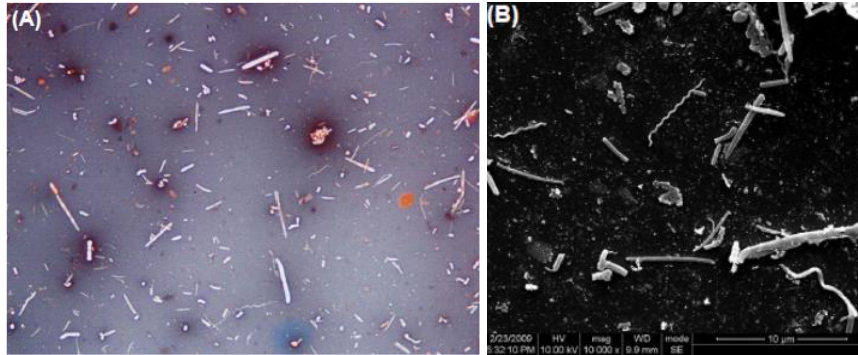
Gambar 2.2 Morfologi Sel Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. (A) Pewarnaan Gram; (B) *Scanning electron microscope*. Bakteri ini berukuran $0,5-0,8 \times 0,6-1,4 \mu\text{m}$. Sel berbentuk *spherical*, *club-shaped*, atau *rod-shaped*. Sel-sel tersusun sebagai sel tunggal, berpasangan, atau dalam tumpukan. Sel bakteri tersebut tidak menghasilkan spora, tidak bergerak, dan tidak membentuk kapsul.⁷⁴

Tabel 2.3 Faktor Virulensi *A. actinomycetemcomitans*⁷⁶

| Faktor virulensi yang memodulasi sistem imun | Faktor virulensi yang memicu kerusakan jaringan |
|--|--|
| Leukotoksin | Lipopolisakarida (LPS) pada dinding sel bakteri |
| Super antigen yang memproduksi apoptosis sel T | Protein yang disekresikan seperti <i>cell stress protein</i> |
| Protein modulator siklus sel disebut sebagai <i>cytolethal distending toxin</i> | |
| <i>Fc binding protein</i> disebut sebagai Omp34 Monosit/makrofag memodulasi protein dan inhibitor kemotaksis neutrofil | |

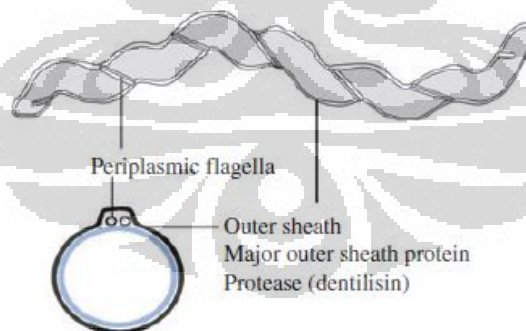
2.3.2 *Treponema denticola*

Treponema adalah Gram-negatif, tetapi sebagian besar strain tidak mudah dilakukan pewarnaan Gram atau Giemsa. Pewarnaan perak impregnasi dan Ryu lebih baik untuk pengamatan sel *Treponema*. Sekarang biasanya menggunakan metode pewarnaan negatif merah Kongo karena ekonomis dan sederhana. Morfologi sel bakteri *Treponema* ditunjukkan pada Gambar 2.3. *Treponema denticola* (*T. denticola*) merupakan salah satu spesies dari *Treponema* yang umum ditemukan di rongga mulut.⁷⁴



Gambar 2.3 Morfologi Sel Bakteri *Treponema* dari Sampel Plak. (A) Pewarnaan negatif merah Kongo); (B) *Scanning electron microscope*. Sel *Treponema* berukuran $0,1-0,4 \times 5-20 \mu\text{m}$. Bakteri ini berbentuk *spiral rod* yang rapat, teratur, atau tidak teratur. Sel memiliki satu atau lebih flagela⁷⁴

Sel-sel *T. denticola* yang berbentuk spiral ditutupi dengan selubung luar yang terdiri dari struktur mirip amplop yang rapuh. Flagela periplasmik berada di membran sitoplasma dan ditutupi dengan selubung luar. *Treponema denticola* biasanya menghasilkan empat flagela yang terjalin di sekitar silinder sitoplasma. Dua berasal dari masing-masing ujung dan mereka biasanya tumpang tindih di tengah bakteri. Protein selubung luar utama (Msp) adalah protein dominan di selubung luar (Gambar 2.4). Faktor virulensi potensial dari *T.denticola* termasuk faktor adhesi, motilitas, mekanisme penghindaran dari pertahanan host dan faktor sitotoksik untuk jaringan host (Tabel 2.4).⁷⁷



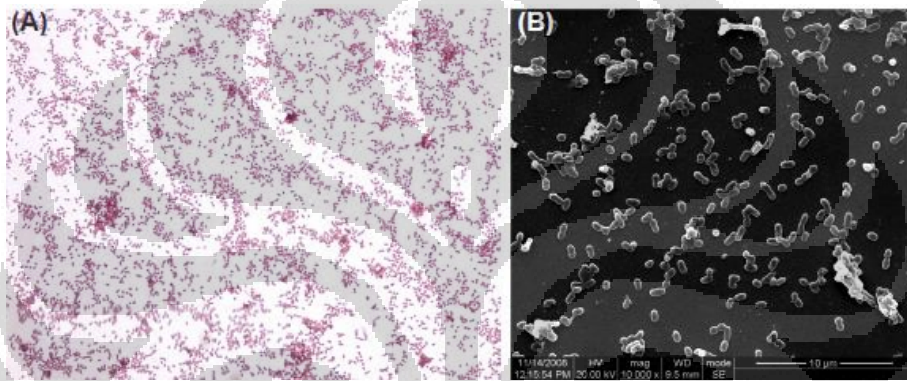
Gambar 2.4 Struktur *Treponema denticola*. Flagela periplasmik berada di dalam ruang periplasmik *T. denticola*. Protein membran luar merupakan komponen utama selubung luar sebagai kompleks dengan protein dentilisin di permukaannya.⁷⁷

Tabel 2.4 Faktor Virulensi *Treponema denticola*⁷⁷

| Faktor virulensi | Aktivitas |
|--|--|
| Adhesi | |
| <i>Major outer sheath protein</i> (Msp) | Adhesi pada fibronectin dan laminin |
| OppA | Adhesi pada fibronectin dan plasminogen |
| <i>FH-like binding protein</i> (fhbB) | Adhesi pada FH/FHL-1 |
| Dentilisin (prtP) | Ligan untuk agregasi dengan <i>P. gingivalis</i> |
| <i>Leucine-rich-repeat A</i> (IrrA) | Ligan untuk agregasi dengan <i>T. forsythia</i> |
| Imunomodulasi | |
| Faktor immunosupresif | Menginduksi penangkapan G1 pada sel-sel mononuclear darah perifer manusia |
| Dentilisin | Aktivasi C3 Hidrolisis IL-1 β , IL-6, IL-8, MCP-1 and TNF- α manusia Hidrolisis IgG dan IgA manusia |
| Msp | Aktivasi imunitas <i>innate</i> melalui TLR2 |
| Lipooligosakarida | Aktivasi imunitas <i>innate</i> melalui TLR4 Induksi TNF- α dan nitric oxide dari makrofag tikus Induksi IL-1 β , IL-6, IL-8, MCP-1, nitric oxide, MMP-8 dan PGE ₂ dari fibroblast gingiva manusia |
| Peptidoglikan | Memacu pelepasan IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , RANTES, MMP-8, dan PGE ₂ |
| Sitotoksitas | |
| Msp | <i>Channel-forming activity</i> Gangguan sitoskeletal pada fibroblas |
| Dentilisin | Degradasi protein host Pengikatan dan degradasi fibrinogen Induksi produksi MMP-8 melalui aktivasi C3 |
| Crystalisin | Melibatkan hemolisis dan aktivitas hemoooksidasi hemoglobin Cysteine desulhydrase |
| Penetrasi jaringan | |
| Flagella periplasmik | Pergerakan lokomotif |
| Kemotaksis (transduksi signal / sensor) | |
| Akuisisi logam | |
| <i>Hemin binding protein</i> | Akuisisi Fe ⁺ |

2.3.3 *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis (*P. gingivalis*) merupakan bakteri anaerob obligat Gram-negatif yang membentuk koloni berpigmen hitam pada piring agar darah. Habitat utamanya pada sulkus subgingiva di rongga mulut manusia.⁷⁷ Bakteri ini membutuhkan kondisi anaerobik untuk pertumbuhan, dan kehadiran heme atau hemin serta vitamin K dalam lingkungan nutrisinya. Energi metaboliknya diperoleh dengan memfermentasi asam amino agar bertahan di poket periodontal yang dalam.⁷⁸ Morfologi sel bakteri *P. gingivalis* ditunjukkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Morfologi Sel Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. (A) Pewarnaan Gram; (B) *Scanning electron microscope*. Sel *P. gingivalis* berukuran $0,5 \times 1-2 \mu\text{m}$ berbentuk *rods* atau *coccobacilli*. Sel berbentuk *coccobacilli* atau batang sangat pendek bila dibiakkan pada medium solid.⁷⁴

Induksi dan perjalanan kerusakan jaringan periodontal adalah proses kompleks yang melibatkan akumulasi plak, pelepasan substansi bakteri, dan respons inflamasi host. *Porphyromonas gingivalis* diketahui menghasilkan faktor-faktor virulensi yang dapat berpenetrasi ke gingiva, dan menyebabkan kerusakan jaringan secara langsung atau tidak langsung melalui induksi peradangan.¹⁷ Faktor virulensi dapat didefinisikan sebagai komponen atau metabolit dari organisme yang penting dalam berbagai tahap siklus hidup dan menyebabkan kerusakan host (Tabel 2.5). Kapasitas suatu organisme berkoloni dan menghindari mekanisme pertahanan host, serta kemampuan untuk menghasilkan zat yang bisa menginisiasi kerusakan jaringan merupakan ciri dari patogen yang sukses.⁷⁷

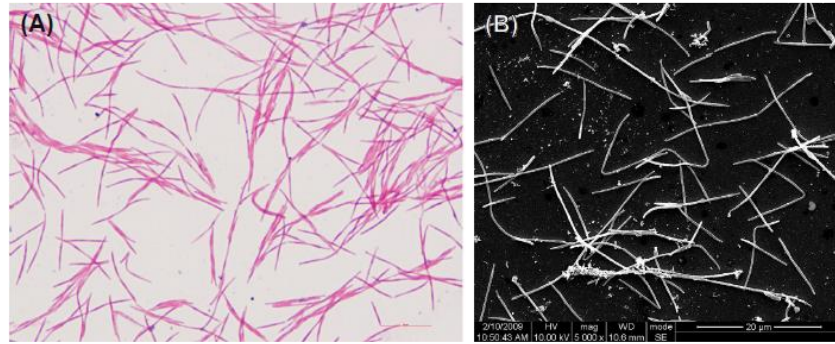
Tabel 2.5 Faktor Virulensi *Porphyromonas gingivalis* dan Efeknya pada *Host*.⁷⁷

| Faktor virulensi | Efek pada <i>host</i> |
|---|---|
| Enzim (hyaluronidase, kondroitin, sulfatase), kapsul | Menurunkan fagositosis untuk invasi, inhibitor kemotaksis |
| Lipopolisakarida | Resorpsi tulang, protease immunoglobulin |
| Fimbriae, eksopolisakarida, protein membran luar | Adhesi atau perlekatan ke membran luar <i>host</i> |
| Kolagenase, <i>trypsin-like protease</i> , gelatinase | Degradasi inhibitor protease plasma, kerusakan jaringan periodontal |
| Aminopeptidase | Degradasi <i>iron-transport protein</i> |

2.3.4 *Fusobacterium nucleatum*

Fusobacterium merupakan kelompok bakteri anaerob obligat Gram-negatif yang tidak membentuk spora dan termasuk dalam *family Bacteroidaceae*. Spesies yang banyak ditemukan di rongga mulut adalah *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium necrophorum*, dan *Fusobacterium varium*. Bakteri ini dapat tumbuh pada kondisi aerob pada plat agar apabila ditambahkan 5-10% CO₂ ke kondisi kultur.⁷⁴

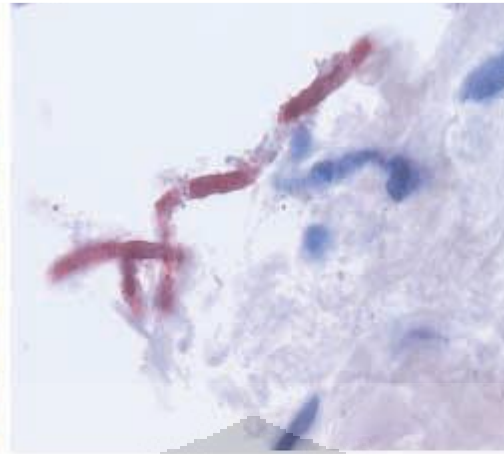
Spesies *F. nucleatum* memiliki lima subspecies, yaitu *F. nucleatum* subsp. *animalis*, *F. nucleatum* subsp. *fusiforme*, *F. nucleatum* subsp. *nucleatum*, *F. nucleatum* subsp. *polimorphum*, dan *F. nucleatum* subsp. *vincentii*. Sel-selnya adalah coli berbentuk gelendong gram negatif. Morfologi sel *F. nucleatum* ditunjukkan pada Gambar 2.6. *Fusobacterium nucleatum* merupakan anaerob obligat, tetapi dapat tumbuh di bawah kondisi atmosfer dengan >6% oksigen berdasarkan volume. Sel-sel tersebut dapat hidup bahkan setelah 100 menit terpapar udara.⁷⁴



Gambar 2.6 Morfologi Sel Bakteri *Fusobacterium nucleatum*. (A) Pewarnaan Gram; (B) *Scanning electron microscope*. *Fusobacterium nucleatum* berbentuk *spindle*, berdiameter $0,4-0,7 \times 3-10 \mu\text{m}$ dalam *glucose broth culture* dengan ujung *fusiform* atau meruncing. Pembengkakan seringkali dapat diamati di tengah sel, dan partikel Gram positif dapat diamati di dalam sel. Panjang sel umumnya dikaitkan dengan kondisi pertumbuhan. Sel ini tidak memiliki pili dan tidak memiliki flagella.⁷⁴

2.3.5 *Candida albicans*

Genus *Candida* memiliki lebih dari 350 heterogenus spesies, namun hanya beberapa spesies memiliki implikasi penyakit pada manusia, diantaranya adalah *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. utilis*, *C. lipolytica*, *C.a famata*, *C.haemulonii*, dan *C. rugosa*.⁷⁹ *Candida albicans* merupakan spesies fungi yang paling banyak ditemukan dibandingkan spesies fungi lainnya. Fungi di dalam mulut, dapat diisolasi dari permukaan mukosa, biofilm, infeksi saluran akar, lesi peri-implan, poket periodontal, dan saliva.⁸⁰ *Candida albicans* memiliki prevalensi yang tinggi pada saliva.⁸¹ Spesies ini dianggap sebagai salah satu mikroorganisme oportunistik yang berperan pada patogenesis penyakit periodontal.³¹ Pada subjek periodontitis, *C. albicans* dapat memfasilitasi peningkatan *P. gingivalis* dengan memodifikasi mekanisme pertahanan *host*.⁸²



Gambar 2.7 Perlekatan Hifa *Candida albicans* pada Jaringan Periodontal. Tiga hingga empat hifa *Candida* dapat terlihat pada permukaan jaringan ikat yang terlepas dari lapisan epitel menggunakan antibodi monoklonal. Kelompok hifa *Candida* ini dikelilingi oleh sel inflamasi. ($\times 1000$).³³

Faktor virulensi *C. albicans* yang paling signifikan mengindikasikan karakteristik patogennya adalah adhesi pada permukaan *host*, sekresi proteinase-proteinase dan pembentukan hifa (Tabel 2.6). Adhesi pada permukaan *host*, baik permukaan biotik maupun abiotik dibutuhkan untuk kolonisasi inisial. Sel-sel *Candida* melekat pada beberapa tipe sel *host*, diantaranya sel epitel, endotel, dan fagosit. Adhesin yang diekspresikan oleh *C. albicans* adalah protein *agglutinin-like sequence*. Adhesin ini berperan pada patogenesis dan pembentukan biofilm.⁸³ Adhesin akan melekat pada berbagai ligan peptida mamalia sehingga menyebabkan agregasi seluler dan koagregasi dengan mikroba patogen lain yang selanjutnya akan memediasi infeksi polimikroba. *Candida* dapat melekat pada alat kesehatan juga seperti gigi tiruan sehingga akan menyebabkan terbentuknya biofilm.⁷⁹ Hifa *Candida* ditemukan meluas ke jaringan ikat periodontal pada pasien periodontitis. Derajat dan jenis peradangan yang berdekatan dengan hifa bervariasi berdasarkan tempat dan subjek (Gambar 2.7).³³

Tabel 2.6. Faktor Virulensi *Candida albicans*⁷⁹

| Faktor Virulensi | Efek |
|---|--|
| Adhesi pada permukaan <i>host</i> <ul style="list-style-type: none"> • Hidrofobisitas relatif permukaan sel • Molekul adhesin permukaan sel | Meningkatkan retensi di dalam mulut <ul style="list-style-type: none"> • Proses perlekatan non spesifik • Mekanisme perlekatan spesifik |
| <i>Evasion</i> mekanisme peertahanan <i>host</i> <ul style="list-style-type: none"> • <i>High-frequency phenotypic switching</i> • Pembentukan hifa • Produksi <i>secreted aspartyl proteinase</i> • Pengikatan molekul komplemen | Meningkatkan retensi di dalam mulut <ul style="list-style-type: none"> • Modifikasi antigen terhadap perubahan permukaan sel secara berkala • Merusak fagositosis • Penghancuran <i>secretory IgA</i> • <i>Masking</i> antigen |
| Invasi dan perusakan jaringan <i>host</i> <ul style="list-style-type: none"> • Pembentukan hifa • Produksi <i>secreted aspartyl proteinase</i> • Produksi fosfolipase | Meningkatkan patogenisitas <ul style="list-style-type: none"> • Meningkatkan invasi epitel mulut • Perusakan sel dan matriks ekstraseluler <i>host</i> • Perusakan sel <i>host</i> |

2.4 Saliva

2.4.1 Komposisi dan Produksi Saliva

Saliva adalah larutan eksokrin yang terdiri dari 99% air. Sisanya 1% merupakan berbagai elektrolit dan protein, yaitu sodium, potassium, kalsium, magnesium, bikarbonat, fosfat, imunoglobulin, protein, enzim, musin, serta produk bernitrogen seperti urea dan amonia. Komponen-komponen ini berinteraksi dan bertanggung jawab pada berbagai fungsi saliva.^{84,85}

Saliva terbentuk terutama (kira-kira 90%) dari sekresi tiga pasangan kelenjar saliva mayor, submandibula (sekitar 65%), parotis (sekitar 20%) dan sublingual (sekitar 5-7%) yang dikendalikan oleh sistem saraf otonom. Kelenjar minor (labial, lingual, bukal dan palatinus) memproduksi saliva (<10%). Saat istirahat (tanpa stimulasi farmakologis atau eksogen) terdapat sedikit aliran saliva terus-menerus dalam bentuk film yang menutupi, melembabkan, dan melumasi jaringan rongga mulut. Aliran saliva saat istirahat ini sekitar 0,4-0,5 mL/menit pada subjek sehat.⁸⁴ Kandungan dan efektivitas saliva sangat ditentukan olah kelenjar saliva mayor dan minor.⁴⁹

Kelenjar saliva merupakan kelenjar eksokrin yang mensekresikan saliva ke permukaan mukosa. Selama perkembangan embrio, kelenjar saliva mayor terbentuk sebagai tunas epitel yang berkembang biak dari epitel mulut dan tumbuh menjadi mesenkim. Struktur duktus berkembang melalui proses morfogenesis percabangan dan kanalisasi.⁸⁶ Duktus kelenjar saliva ini dapat dilihat dengan teknik pencitraan sialografi. Pencitraan ini menggunakan medium kontras sinar-x yang disuntikkan ke dalam muara kelenjar (Gambar 2.8) Pada ujung dari saluran ini terlihat sel asinar yang merupakan kumpulan sel epitel yang memproduksi dan mensekresikan saliva. Sel-sel asinar tersebut menghasilkan protein dan glikoprotein yang tersimpan dalam granula di sitoplasma.⁴⁹



Gambar 2.8 Sistem Duktus Kelenjar Saliva Mayor Submandibula. Panah menunjukkan muara duktus Wharton di daerah sublingual dan sistem percabangan duktus kelenjar (sialografi).⁴⁹

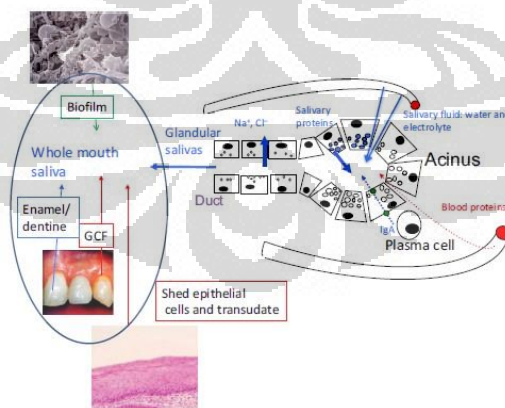
2.4.2 Fungsi Saliva

Dua fungsi utama saliva adalah proteksi rongga mulut dan jaringan periodontal, serta memfasilitasi makan dan bicara. Fungsi saliva dalam proteksi rongga mulut dan jaringan periodontal, yaitu lubrikasi, dilusi gula setelah makan dan minum, aktivitas pembersihan dan antimikroba, menetralkan produksi asam dan kontrol pH plak dengan bikarbonat, remineralisasi email dengan kalsium dan fosfat, serta perbaikan jaringan. Fungsi saliva dalam memfasilitasi makan dan bicara, yaitu preparasi makanan, meningkatkan pengunyahan, membersihkan sisa makanan dan penelanan, pencernaan dan pemecahan makanan dengan enzim, meningkatkan rasa, serta lubrikasi pergerakan jaringan rongga mulut. Saliva juga berfungsi dalam pengujian diagnostik, yaitu jumlah bakteri, jamur, dan virus mengindikasikan aktivitas karies dan mengubah respons imun, tes diagnostik penyakit di rongga mulut dan sistemik, serta keseimbangan hormonal.⁸⁷

2.4.3 Sekresi Protein Saliva

Sebagian besar cairan rongga mulut adalah protein kelenjar saliva yang dihasilkan melalui proses eksositosis sel-sel asinar. Namun, saliva di mulut juga mengandung sel epitel yang terlepas dari permukaan mukosa, sel darah (neutrofil) dari gingiva, dan mikroorganisme mulut yang terdiri dari campuran spesies bakteri dan kandida. Sejumlah kecil protein darah dan cairan jaringan masuk ke saliva terutama dari gingiva sebagai kandungan cairan krevikular gingiva.⁴⁹ Pada saat sel asinar distimulasi oleh sel saraf otonom, simpanan granula akan berada pada apikal membran sel asinar hingga kandungan proteinnya akan dilepaskan keluar sel (Gambar 2.9).^{88,89}

Pengemasan protein konsentrasi tinggi ke dalam granula membutuhkan akumulasi ion-ion kalsium untuk melindungi densitas muatan negatif yang tinggi, terutama pada granula yang menyimpan musin, yang merupakan protein yang besar, sangat terglykosilasi dan bermuatan negatif. Beberapa protein disekresikan ke dalam saliva melalui mekanisme lain seperti transpor vesikuler.⁸⁸ *Secretory Immunoglobulin A (sIgA)* merupakan bentuk dimer IgA dengan ikatan pada rantai J. Protein ini disekresikan di dalam saliva oleh sel plasma yang berada pada *interstitium* kelenjar saliva. Mekanisme sekresi saliva tersebut membutuhkan IgA terikat pada reseptor (*epithelial polymeric immunoglobulin receptor*) pada basolateral membran sel asinar dan duktus. Reseptor tersebut akan mentranspor IgA melewati sel asinar dan lumen sel tersebut hingga disekresikan dalam bentuk sIgA.⁹⁰



Gambar 2.9 Sumber Protein Saliva. Sebagian besar kandungan protein pada saliva berasal dari protein yang disintesis dan disekresikan oleh sel asinar. Saliva di mulut juga mengandung sel epitel yang terlepas dari permukaan mukosa, sel darah (neutrofil) dari gingiva, dan mikroorganisme mulut yang terdiri dari campuran spesies bakteri dan *Candida*. Protein cairan darah dan jaringan dalam jumlah kecil masuk ke dalam saliva terutama dari cairan krevikular gingiva.⁴⁹

2.5 Biomarker Jaringan Periodontal

Sejak tahun 1958, pengetahuan tentang patogenesis periodontitis terus berkembang. Diagnosis periodontitis masih tergantung kepada uji dan alat-alat yang sangat tinggi subjektivitasnya.⁹¹ Sesuai dengan perkembangan teknologi, para peneliti mencoba mencari biomarker molekuler untuk periodontitis dengan cara identifikasi gen, transkrip, protein dan metabolit yang berkaitan. Penelitian genomik, transkriptomik, proteomik dan metabolomik memiliki tujuan yang sama yaitu identifikasi dan karakterisasi molekuler yang berpacir pada penyakit periodontitis baik pada tingkat DNA, RNA, protein ataupun metabolit. Identifikasi pada level-level di atas diharapkan dapat memprediksi perkembangan, prognosis dan penatalaksanaan penyakit periodontitis.⁹²

Penelitian proteomik dapat menggunakan sampel saliva lengkap, saliva stimuli dan atau tanpa stimuli, cairan krevikular gingiva merupakan material yang banyak untuk digunakan sampel.⁹² Aplikasi teknologi proteomik dalam mempelajari penyakit periodontal semakin bermunculan. Beberapa penelitian bahkan menunjukkan hasil yang baik dalam penetapan diagnosis periodontitis. Hasil penelitian yang sudah ada juga memperkuat hipotesis tentang transisi gingivitis menjadi periodontitis.⁹³ Biomarker molekuler merupakan karakteristik yang terukur yang dapat digunakan sebagai indikator proses biologis atau respons farmakologis terhadap perawatan, dan dapat diaplikasikan ke dalam diagnosis dan prognosis. Elektroforesis, baik *1-dimensional electrophoresis* (1DE) ataupun *2-dimensional electrophoresis* (2DE) adalah teknik yang paling sering digunakan dalam memisahkan protein.

Biomarker pada jaringan periodontal sangat bervariasi mulai dari protein seperti imunoglobulin hingga protein *remodeling* tulang. Protein tersebut ada yang tergolong spesifik seperti imunoglobulin dan non-spesifik seperti enzim, musin, histatin, lactoferin, lisosmal peroksidase, dan lain-lain. Imunoglobulin A, G, M dan *secretory* IgA (sIgA) berperan sebagai mekanisme respons imun dengan cara merusak ikatan dan metabolisme bakteri. Konsentrasi imunoglobulin saliva (IgA, IgG, dan IgM) terbukti meningkat pada individu dengan kerusakan jaringan periodontal. Penatalaksanaan yang baik pada penyakit periodontal terbukti menurunkan konsentrasi imunoglobulin tersebut.⁹⁴

Wu dkk. menyatakan terdapat 11 protein yang berbeda bila saliva pada subjek yang sehat dibandingkan dengan subjek periodontitis agresif. Protein tersebut diantaranya adalah serum albumin, imunoglobulin (Ig) $\gamma 2$ rantai regio C, Ig $\alpha 2$ rantai regio C, vitamin D-binding protein, saliva α amilase, zinc- $\alpha 2$ glikoprotein meningkat pada subjek dengan periodontitis agresif. Protein yang ditemukan kadarnya menurun pada subjek periodontitis agresif antara lain laktotransferin, *elongation factor 2*, 14-3-3 sigma, *short palate lung and nasal epithelium carcinoma-associated protein 2* prekursor, dan *carbonic anhydrase 6*.³⁷ Penelitian yang lain dilakukan oleh Bostanci dkk. menemukan 150 protein (101 dari sel manusia, 27 dari sel bakteri, 14 dari jamur dan 8 protein yang dihasilkan oleh virus). Penelitian ini juga menyatakan bahwa proporsi protein yang dihasilkan oleh bakteri, jamur dan virus pada subjek periodontitis agresif meningkat bila dibandingkan dengan subjek sehat.³⁵

Bostanci dkk. mencatat beberapa protein berpotensi menjadi biomarker penyakit periodontitis agresif karena meningkat pada subjek dengan penyakit, ataupun hanya ditemukan pada subjek sehat. Protein-protein yang berkaitan dengan pertahanan *host* seperti *Cystatin-B* dan *Defensins* hanya ditemukan pada subjek sehat. Protein lainnya seperti *L-Plastin* yang hanya terdeteksi pada subjek periodontitis agresif, dan *Annexin-1* yang meningkat lima kali pada subjek yang sehat dibandingkan subjek dengan periodontitis agresif.³⁵ Protein seperti vitamin D-binding protein ditemukan pada penelitian yang dilakukan oleh Bostanci dkk., Wu dkk., maupun Kerishnan dkk.^{35,37,95} Mizuno dkk. Mengidentifikasi empat protein yang diduga berhubungan dengan periodontitis agresif, yaitu: *lactoferrin*, *caldesmon*, *heat shock protein* dan *stac*. Kadar *mRNA caldesmon* bahkan meningkat pada subjek periodontitis agresif dengan disfungsi neutrofil.⁴⁷

Kerishnan dkk. membandingkan 14 protein pada kelompok subjek sehat, periodontitis kronis ringan, sedang, berat dan periodontitis agresif. Empat protein yang terdapat perbedaan dari kelima kondisi di atas, yaitu: α -1-antitrypsin, haptoglobin, Ig kappa rantai regio C, dan Kininogen 1.⁹⁵ Penelitian yang dilakukan oleh Mertens dkk. menemukan empat protein yang berkaitan dengan periodontitis kronis dan agresif yaitu hemopexin, plasminogen, α -fibrinogen dan apolipoprotein.⁹⁶

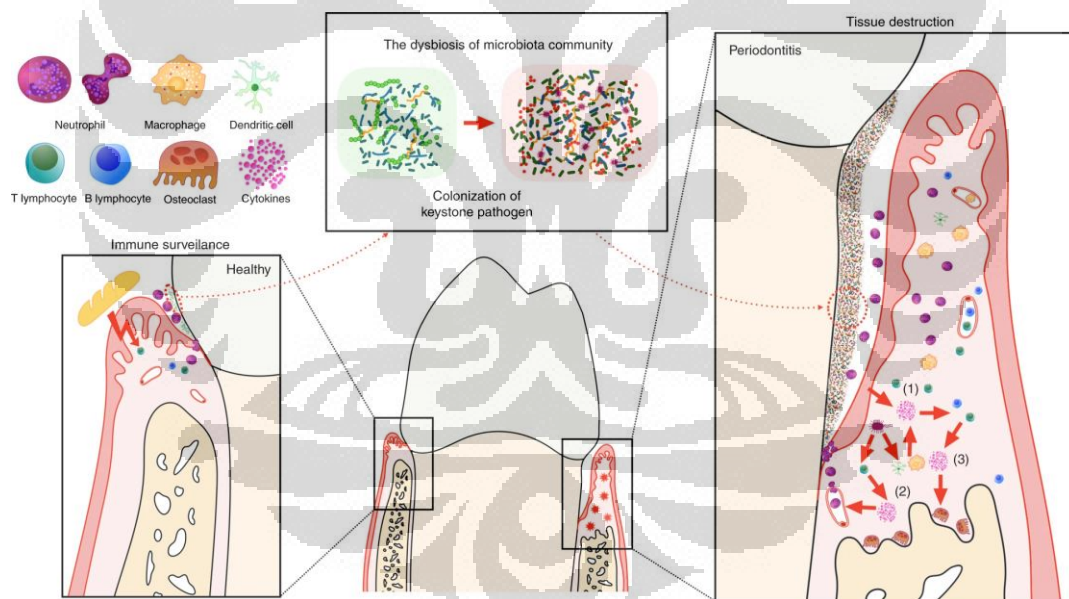
2.6 Respons Imun pada Periodontitis

Jaringan periodontal merupakan jaringan yang secara terus menerus terpapar dengan mikrobiota mulut serta rangsangan mekanis oleh pengunyahan.⁹⁷ Pada jaringan periodontal sehat terjadi keseimbangan interaksi antara respons imun dengan mikrobiota sehingga tercapai *immune surveillance*.⁹⁸ Keberadaan patogen *keystone* dapat meningkatkan patogenisitas seluruh komunitas mikrobiota dan mengganggu homeostasis jaringan.¹⁷ Pada kondisi ini, respons imun akan teraktivasi berlebih sehingga menyebabkan infiltrasi sel-sel imun dan aktivasi osteoklas yang pada akhirnya terjadi kerusakan periodontal.⁹⁹

Respons imun *host* terhadap disbiosis mikroba pada jaringan periodontal terjadi menjadi beberapa tahap. Tahap awal adalah interaksi langsung antara mikrobiom dengan sel *host* jaringan periodontal diantaranya: sel mukosa epitel, fibroblas gingiva, dan sel imun. Stimulasi yang terus menerus dari kerusakan oleh mikrobiom lokal dan pengunyahan akan menyebabkan sel imun seperti *mononuclear phagocytes* (MNs), *antigen presenting cells* (APCs) dan *subset* sel-T spesifik seperti sel T *helper* (Th)17 akan berada di jaringan periodontal tersebut. Interaksi ini selanjutnya akan menyebabkan sekresi sitokin gelombang pertama oleh aktivasi *Pattern Recognition Receptors* (PRRs) dan sinyal *downstream*-nya.⁹⁹

Sitokin yang tersekresikan diantaranya interleukin-1 (IL-1) *family*, IL-6 *family* dan *tumor necrosis factor* (TNF). Sitokin-sitokin ini memiliki efek pleiotropik pada peningkatan limfosit dan perusakan jaringan yang dikenal dengan sitokin proinflamasi.⁹⁹ Pada tahap kedua, sekelompok sitokin yang terkait erat dengan diferensiasi subset tertentu dari limfosit disekresikan oleh MNs dan APCs setelah distimulasi oleh mikrobiom. Setiap dari subset sel akan mensekresikan pola sitokin tertentu sebagai efektor langsung dan dilanjutkan dengan kerusakan jaringan. Anggota IL-1 dan IL-6 *families* akan menstimulasi sitokin tersebut untuk mengaktivasi maturasi dan diferensiasi sel T. Masing-masing *subset* sel tersebut akan mensekresikan pola sitokin tertentu yang mungkin bersifat proteksi ataupun inflamasi. Kebanyakan efek dari sitokin-sitokin dan subset sel tersebut sangat kompleks, mulai dari peningkatan pertahanan mukosa, pengendalian patobion, induksi atau supresi aktivitas osteoklas dan inhibisi respons imun yang berlebih.⁹⁹

Pada kondisi periodontal sehat, tantangan polimikroba dan respons imun berjalan seimbang. Mikrobiota komensal dan stimulasi mekanis berpartisipasi pada ‘pelatihan’ imunitas mukosa lokal. Pada tahap ini, terdapat sejumlah neutrofil yang menginfiltrasi sulkus gingiva, sel imun jaringan gingiva, termasuk sel Th17 dan *innate lymphoid cells* (ILCs). Apabila patogenitas polimikroba meningkat akibat peningkatan kolonisasi *keystone pathogen*, respons imun *host* akan aktif berlebih yang selanjutnya menginisiasi kerusakan jaringan. Interaksi antara mikrobiota dan sel-sel *host* akan meningkatkan sekresi sitokin gelombang pertama yang berperan utama pada amplifikasi sitokin pro inflamasi serta pengerahan, aktivasi, dan diferensiasi sel imun spesifik. Beberapa kelompok sitokin yang berperan pada diferensiasi *subset* limfosit disekresikan oleh MNPs dan APCs setelah adanya stimulasi oleh polimikroba. Setiap *subset* limfosit ini akan menghasilkan pola sitokin (Gambar 2.10).⁹⁹



Gambar 2.10 Homeostasis Jaringan Periodontal dan Patogenesis Periodontitis. Pada keadaan homeostasis terjadi keseimbangan antara faktor lokal dan respons imun *host* (kiri). Patogenitas mikrobiota meningkat akibat kolonisasi bakteri *keystone*, sehingga komunitas biofilm pada regio subgingival mengaktifasi respons imun *host* berlebih dan menginisiasi kerusakan jaringan (tengah). Interaksi antara mikrobiota dan respons imun menghasilkan gelombang pertama sitokin (1). Sekelompok sitokin hasil diferensiasi subset spesifik limfosit disekresikan oleh MNP dan APC setelah dirangsang oleh mikrobiom (2), sehingga terjadi kerusakan tulang (3).⁹⁹

2.6.1 Respons Imun *Innate*

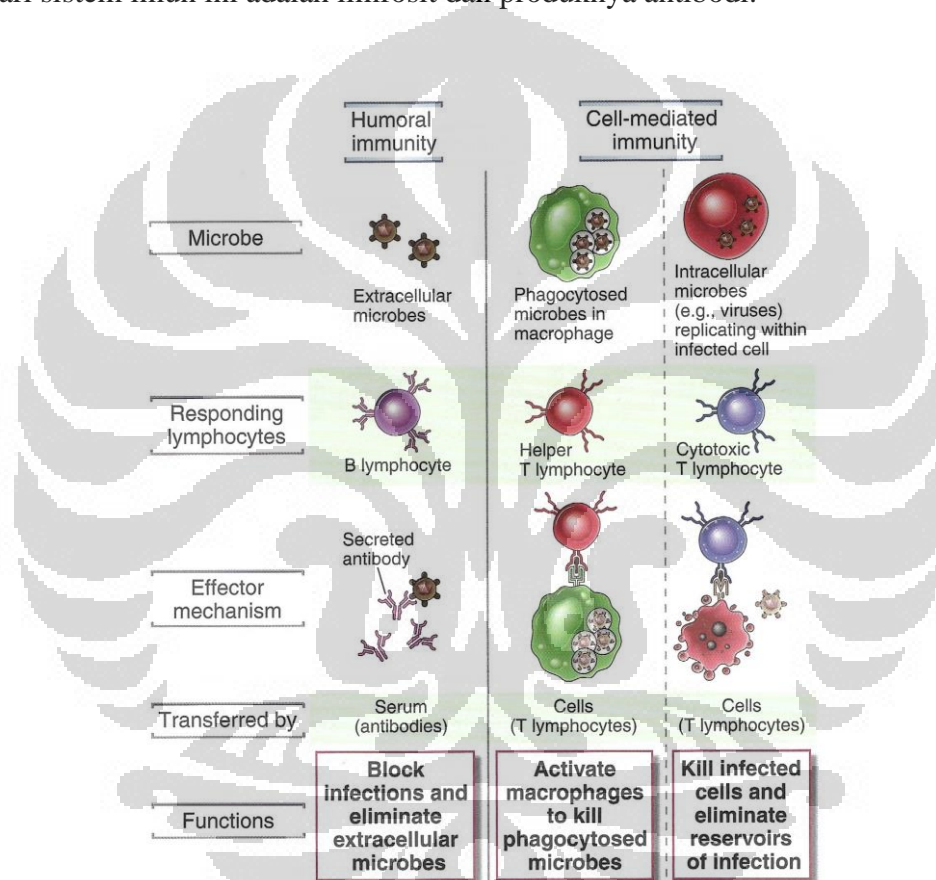
Respons *host* pada saat terjadi periodontitis melibatkan sistem imun *innate* dan adaptif. Sistem imun *innate* merupakan pertahanan pertama *host*. Respons imun *innate* disebut juga dengan imunitas natural atau *native*. Komponen yang terdapat pada respons imun *innate* adalah barrier fisik dan kimia (sel epitel dan bahan kimia antimikroba yang dihasilkan oleh permukaan epitel), sel fagosit (netrofil dan makrofag), sel dendrit, sel *natural killer* (NK), sel limfoid *innate* lainnya, serta protein (sistem komplemen dan mediator inflamasi).¹⁰⁰ Berbeda dengan sistem imun adaptif, sistem imun *innate* tidak dapat mengenali semua antigen. Namun, jenis sistem imun ini dapat mengenali beberapa molekul yang dihasilkan oleh beberapa mikroorganisme diantaranya: LPS, peptidoglikan, DNA bakteri, *N-formylmethionine* yang ditemukan pada protein bakteri (contohnya: PAMPs).¹⁰¹

Sel *host* memiliki *pattern-recognition receptors* (PPRs) yang dapat mengenali PAMPs sehingga dapat langsung memberikan respons terhadap mikroorganisme tersebut. *Pattern-recognition receptors* dapat ditemukan pada sel-sel inflamasi dan sel-sel residen jaringan periodontal seperti: sel epitel (ECs), fibroblas gingiva (GFs), fibroblas ligamen periodontal (PDLF), sel dendrit (DCs), dan osteoblas (OB). Reseptor PAMPs tersebut diantaranya: *toll-like receptors* (TLRs), protein *nucleotide-binding oligomerization domain* (NOD), *cluster of differentiation-14* (CD14), *complement receptor-3*, lectins, and *scavenger receptors*. Setelah invasi bakteri, sel residen mengenali PAMPs melalui TLR dan memulai pensinyalan yang selanjutnya akan menghasilkan produksi sitokin proinflamasi, kemokin, serta perekrutan sel inflamasi.¹⁰¹

Periodontitis diinduksi pada *host* yang rentan oleh komunitas polimikroba. Setiap kelompok mikroba memiliki peran berbeda yang secara sinergis menyebabkan peradangan. Spesies bakteri *keystone* yang difasilitasi oleh bakteri komensal pada awalnya memanipulasi respons *host* yang mengakibatkan terbentuknya kondisi lingkungan yang menguntungkan (*survival*) komunitas biofilm subgingiva, disebut disbiosis. Patobion mengaktifkan respons inflamasi secara berlebihan dan menyebabkan kerusakan jaringan periodontal, termasuk resorpsi tulang alveolar. Peradangan dan disbiosis saling memperkuat secara positif karena produk pemecahan jaringan inflamasi digunakan sebagai nutrisi oleh mikrobiota disbiotik.

2.6.2 Respons Imun Adaptif

Respons imun adaptif merupakan respons imun yang distimulasi oleh agen yang secara terus menerus sehingga meningkat kemampuan pertahanannya dan beradaptasi dengan infeksi tersebut. Respons imun ini dapat mengenali dan bereaksi terhadap substansi mikrobiom maupun non mikrobiom. Karakteristik dari sistem imun ini adalah dapat mengenali dan membedakan substansi yang masuk (spesifisitas) dan kemampuan merespons lebih cepat terhadap mikrobiom yang pernah masuk (memori). Komponen unik dari sistem imun ini adalah limfosit dan produknya antibodi.¹⁰⁰



Gambar 2.11 Tipe Imunitas Adaptif. Pada imunitas humoral, limfosit B menyekresi antibodi untuk mencegah infeksi dan mengeliminasi mikroba ekstraseluler. Pada imunitas seluler, limfosit T *helper* mengaktivasi makrofag untuk membunuh mikroba yang mengalami fagositosis atau limfosit T sitotoksik langsung menghancurkan sel yang terinfeksi.¹⁰⁰

Terdapat dua tipe respons imun adaptif, yaitu imunitas humoral dan imunitas *seluler*. Imunitas humoral dimediasi oleh molekul yang diproduksi oleh limfosit B/ sel B darah atau sekresi mukosa yang disebut dengan antibodi. Molekul ini akan mengenali antigen mikrobial, menetralkan infeksi dan menjadikan suatu mikrobial sebagai target untuk

eliminasi oleh mekanisme efektor. Imunitas humoral merupakan prinsip mekanisme pertahanan melawan mikroba ekstraseluler dan toksinnya karena antibodi dapat mengikat mikroba dan toksinnya sehingga kemudian dapat mengeliminasinya. Imunitas *cell-mediated* disebut juga dengan imunitas seluler yang dimediasi oleh limfosit T/ Sel T. Mikroba ekstraseluler seperti virus dan beberapa sel bakteri dapat bertahan dan berproliferasi di dalam fagosit atau di dalam sel *host* karena di dalam sel tersebut, antibodi tidak dapat memiliki akses.¹⁰⁰

Pada penyakit periodontal sel imunitas adaptif dan sitokin memiliki peran penting terutama pada peran CD4⁺ sel T. Menariknya, perkembangan imunitas adaptif yang dimediasi sel T sangat bergantung pada imunitas *innate* terkait APCs, yang setelah penangkapan antigen mengalami proses pematangan dan bermigrasi ke kelenjar getah bening. Pada kelenjar ini, dihasilkan pola sitokin yang akan mengaktifasi limfosit T CD4⁺ spesifik.¹⁰² Sel ini terbagi menjadi dua *subset* berdasarkan pola produksi sitokin, yaitu Th1 dan Th2.¹⁰³ Sitokin Th1 berperan pada kerusakan tulang, sedangkan antagonisnya sitokin T-helper 2 berfungsi untuk meminimalisasi kerusakan tulang. Dengan berkembangnya ilmu pengetahuan, ditemukan T helper lainnya menunjukkan perannya pada penyakit inflamasi kronis, termasuk periodontitis. Sel Th17 salah satu dari subset sel T yang saat ini perannya diduga sangat besar dalam penyakit periodontitis.¹⁰⁴

2.6.2.1 Limfosit T dan B pada Kondisi Homeostasis

Sel T adalah sel imun yang berperan pada pertahanan *host* dan pengendalian sistem imun dalam perkembangan inflamasi. Limfosit T dapat dibedakan dari limfosit lain dengan adanya reseptor sel T (TCR) pada permukaan sel sel tersebut. Kebanyakan sel T terdiri atas dua rantai glikoprotein yaitu rantai TCR α dan β . Grup sel T lainnya seperti sel T $\gamma\delta$ terdiri atas rantai TCR glikoprotein *gamma* dan *delta*. Sel T $\gamma\delta$ merupakan *subset* sel T yang penting karena sel T ini dapat mengenali antigen tanpa adanya molekul *major histocompatibility complex* (MHC).¹⁰⁵ Sel T terbagi menjadi Th, Treg, T sitotoksik (CD8⁺), sel *natural killer*, dan sel memori. Anergi sel T merupakan mekanisme toleransi perifer yang menentukan inaktivasi fungsional sel T apabila pengenalan antigen dalam kondisi tidak optimal.¹⁰⁶

Naive CD4⁺ diaktifkan setelah interaksi dengan kompleks antigen-MHC dan berdiferensiasi menjadi subtype spesifik tergantung pada lingkungan mikro sitokin.¹⁰⁷ Setelah berinteraksi mereka menjadi aktif dan berdiferensiasi menjadi sel T efektor, yang bertanggung jawab untuk produksi molekul efektor, seperti sitokin pro- / anti inflamasi dan molekul sitotoksik. Sebagian besar sel T efektor mengalami apoptosis setelah eliminasi antigen. Sel T yang tidak apoptosis, akan berdiferensiasi menjadi sel B memori.¹⁰⁸

Sel T *helper* diklasifikasikan sebagai subpopulasi Th1, Th2, Th17, dan Treg berdasarkan sifat sitokin uniknya. Selain subpopulasi sel Th klasik, terdapat sel T(fh) *follicular helper*, Th9, dan Th22 yang telah ditetapkan sebagai subpopulasi baru. *Subset* Th tersebut masing-masing memproduksi IL-21, IL-9, dan IL-22.^{108,109} Sel Tfh adalah subset sel T CD4⁺ khusus yang memberikan sinyal kelangsungan hidup, proliferasi, dan seleksi sinyal dengan sel B.¹¹⁰ Sel T sitotoksik (CD8⁺ sel T) dihasilkan oleh timus dan mengekspresikan koreseptor dimer (rantai CD8 α dan CD8 β) yang dapat mengenal peptida yang dipresentasikan oleh molekul MHC kelas I.¹¹¹

Limfosit T CD4⁺ mendominasi kondisi gingiva sehat.¹¹² Sel-sel ini berperan penting dalam respons imun adaptif. Produksi sitokin sel ini sebagai respons terhadap antigen imunologi spesifik mengarah kepada diferensiasi beberapa subset sel Th.¹¹³ Sel T CD8⁺ merupakan limfosit T kedua terbanyak pada gingiva sehat, diikuti oleh sel T $\gamma\delta$. Sel T CD8⁺ memiliki produk regulator dan supresor yang berperan untuk mempertahankan integritas jaringan gingiva dengan cara menurunkan inflamasi hingga kondisi homeostasis. Sel ini dapat memproduksi IL-10 dan TGF- β yang dapat menekan osteoklastogenesis.¹¹⁴ Sel T $\gamma\delta$ merupakan sel T terbanyak pada jaringan epitel. Sel tersebut meningkatkan pengawasan *barrier*, menjaga homeostasis, serta perbaikan epitel.¹¹⁵ Sel ini memproduksi *amphiregulin*, sitokin yang berkaitan dengan penyembuhan luka, yang akan menekan perkembangan periodontitis.¹¹⁶ Sel T $\gamma\delta$ juga merupakan sumber utama IL-17 dalam homeostasis. Penghilangan sel ini akan meningkatkan inflamasi gingiva dan perubahan keanekaragaman mikrobial.¹¹⁷ Pada CD4⁺ sekitar 15 % terdiri atas Treg yang berperan pada homeostasis jaringan periodontal. Peningkatan sel Treg berhubungan dengan homeostasis tulang, meskipun terdapat inflamasi lokal dan kemungkinan berkaitan dengan kondisi gingivitis yang tidak berlanjut menjadi

periodontitis.^{43,118} Peran sel T $\gamma\delta$ dan Treg pada homeostasis jaringan periodontal kemungkinan berkaitan dengan keparahan dari penyakit periodontal.⁴³

Mahanonda dkk. menyatakan subset sel B *naïve* pada jaringan sehat dan inflamasi sangat sedikit (<8%). Sel B memori (CD19⁺ CD27⁺ CD38⁺) ditemukan paling banyak dari sel B pada gingiva sehat. Deteksi sel B memori pada jaringan periodontal sehat sangat penting diketahui, karena belum banyak temuan mengenai sel B memori pada jaringan nonlimfoid manusia.¹¹⁹ Sel ini pula terdeteksi pada jaringan ikat bagian apikal dari epitel *junctional*. Jumlah sel B yang sedikit ini mungkin sangat penting untuk mempertahankan jaringan periodontal.⁴³ Aspek lain yang penting dari sel B adalah produksi antibodi melawan patogen periodontal sebagai proteksi *host*.^{120,121} Page dkk. memperlihatkan imunisasi menggunakan *P. gingivalis* sebagai antigen dapat mengurangi progresi kerusakan tulang alveolar primata.¹²² Shelburne dkk. menyatakan antibodi anti *P. gingivalis* HtpG dapat memprediksi kerentanan *host* terhadap penyakit periodontal.¹²⁰

2.6.2.2 Limfosit T dan B pada Inflamasi Periodontal

Peran sel T pada periodontitis dimulai dengan aktivasi berbagai sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , IL17E (IL-25), dan IL-17 oleh sel Th1, Th2, dan Th17. Sitokin tersebut akan mengaktivasi sel imun lain seperti sel dendritik, neutrofil, dan sel B. Aktivasi sel T dan sel B dapat memproduksi *receptor activator of nuclear factor κ B-ligand* (RANKL), yang selanjutnya akan menyebabkan resorpsi tulang oleh osteoklas. Aktivasi sel B oleh Tfh di *peripheral lymph nodes* atau organ limfa tersier menyebabkan aktivasi klonal sel B yang menghasilkan antibodi untuk mengenali komponen polimikroba. Produksi autoantibodi pada kolagen, *fibronectin*, dan laminin berkontribusi pada kerusakan jaringan periodontal. Sel Treg yang sedikit akan menurunkan kemampuan untuk mereduksi respons inflamasi lokal oleh sel imun lain. Hal ini menunjukkan peran Treg pada inflamasi kronis periodontitis.¹²³

Sumber utama IL-17 adalah sel T CD4⁺ dengan sedikit peran dari CD8, $\gamma\delta$ T dan non sel T. Prevalensi sel T CD4⁺ dalam memproduksi IL-17 secara signifikan meningkat pada periodontitis. Sel ini secara khusus meningkatkan regulasi IL-17 dan bukan IFN- γ pada jaringan gingiva pasien periodontitis. Sel Th17 pada periodontitis bergantung pada disbiosis polimikroba lokal. Interleukin 6 dan IL-23 berperan pada proses terjadi akumulasi polimikroba tersebut.^{112,124} Ketidakseimbangan Th17 dan Treg diduga

mempengaruhi progresi penyakit periodontal.⁴³ Sitokin lain seperti *secreted osteoclastogenic factor of activated T cells* (SOFAT), diduga berperan juga pada periodontitis dengan menginduksi osteoklastogenesis melalui jalur RANKL. Tingkat mRNA dan protein SOFAT secara signifikan meningkat pada pasien periodontitis dibandingkan dengan kontrol sehat.¹²⁵ Pada penelitian yang dilakukan dengan biopsi dan imunohistokimia dibuktikan bahwa adanya pewarnaan SOFAT yang lebih kuat pada sel B-lineage dan sel plasma pada subjek periodontitis dibandingkan dengan subjek sehat.¹²⁶

Sel B merupakan respons imun adaptif yang dapat meningkatkan sel plasma dan sel memori. Sel B mendominasi dan menginfiltrasi pada penyakit periodontal. Sel B berkontribusi pada periodontitis dan penyakit inflamasi kronis lainnya. Sel tersebut juga dapat memproduksi berbagai sitokin seperti TNF- α , IL-6, IL-10, TGF- β , serta *matrix metalloproteinase* (MMPs). Sel B yang terdapat pada infiltrat sel inflamasi diduga meningkatkan produksi MMP sehingga mendegradasi matriks jaringan periodontal.¹²⁶ Aktivitas MMP meningkat pada gingivitis dan berkorelasi dengan keparahan penyakit periodontal.^{127,128} Konsentrasi MMP secara konsisten menurun pada perawatan periodontal. MMP-8 dan MMP-13 berasal dari sel *macrophage-like*, sel B dan sel plasma.^{129,130}

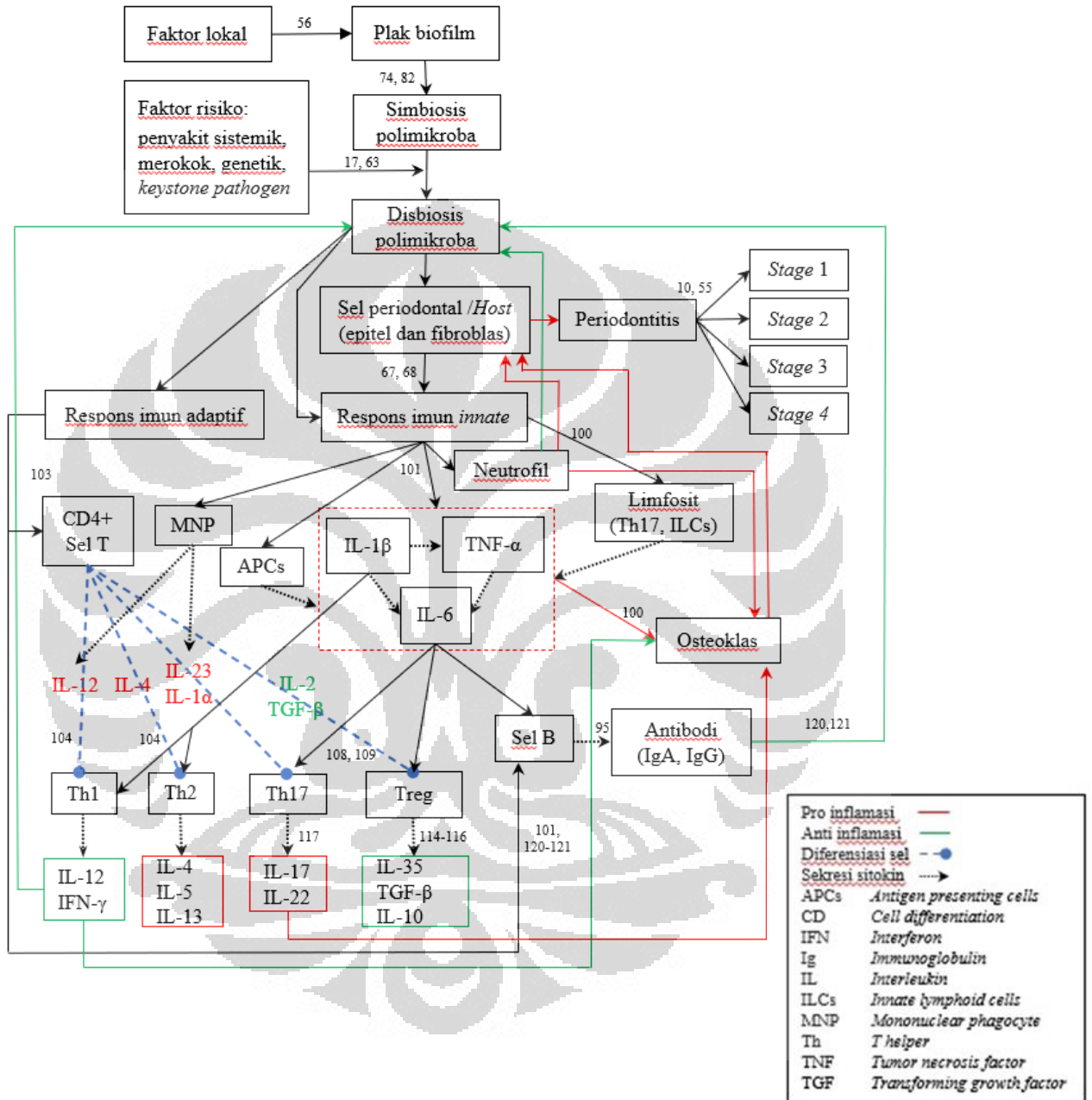
Penelitian oleh Oliver-Bell dkk menunjukkan aktivasi sel B dan ekspresi RANKL berkontribusi pada kerusakan tulang alveolar tikus.¹³¹ Subset sel B yaitu sel B memori pada periodontitis lebih rendah dibandingkan pada jaringan sehat dan gingivitis, namun sel-sel penghasil antibodi (sel B CD19⁺) merupakan tipe sel yang paling banyak dibandingkan sel B memori.¹¹⁹ Antigen eksogen telah dipercaya sebagai penyebab periodontitis, namun antigen endogen juga dipercaya berkontribusi pada penyakit ini. Fenomena autoimun ini dibuktikan dengan meningkatnya antibodi terhadap kolagen tipe I darah perifer pada pasien periodontitis dibandingkan kontrol sehat.¹³² Pada penelitian lain menunjukkan bahwa antibodi anti-kolagen mengalami pengalihan kelas dari IgM ke IgG atau IgA inflamasi gingiva dikarenakan stimulasi antigen yang berkepanjangan.^{133,134}

2.7 Kerangka Teori

Pada *host* yang sensitif, sinergisitas biofilm pada habitat (*niche*) subgingiva, memicu inflamasi jaringan periodontal (gingivitis) yang bila berlanjut dapat menjadi periodontitis. Keperahan periodontitis dibagi menjadi empat *stage*. Pada kondisi *host* yang rentan, seperti imunodefisiensi, faktor risiko seperti penyakit sistemik, obesitas, kebiasaan merokok, stress, penuaan serta *keystone pathogens* menyebabkan pergeseran keseimbangan menjadi disbiosis. Patogen *keystone P. gingivalis* merupakan bakteri flora mulut yang banyak diteliti karena memiliki kemampuan sebagai manipulator respons *host*. *Keystone pathogen* dimediasi oleh patobion yang biasanya tidak berbahaya, namun dapat menjadi patogen dalam kondisi lingkungan disbiosis. Patobion dalam lingkungan tersebut merupakan sumber utama antigen pemicu respon imun adaptif. Dari literatur dapat diketahui patobion tersebut berada dalam komunitas biofilm dan beberapa klaster (*complex*), yang dikenal sebagai *red complex*, *orange complex*, *yellow complex*, *purple complex*, dan lain-lain termasuk spesies *Candida*. Dalam penelitian ini, beberapa spesies periopatogen dipilih sebagai sumber antigen pemicu respons imun adaptif yang merepresentasikan beberapa klaster serta spesies *Candida*. Antigen tersebut adalah *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, dan *C. albicans*.

Terdapat dua tipe respons imun adaptif, yaitu imunitas humoral dan imunitas seluler. Imunitas humoral dimediasi oleh molekul yang diproduksi oleh limfosit B atau sekresi mukosa yang disebut dengan antibodi. Stimulasi yang terus menerus dari kerusakan oleh mikrobiom lokal dan penguyahan akan menyebabkan sel imun seperti MNP, APC dan subset sel-T spesifik seperti sel Th17 akan berada di jaringan periodontal tersebut. Interaksi ini selanjutnya akan menyebabkan sekresi sitokin gelombang pertama oleh aktivasi PRR dan sinyal *downstream*-nya. Sitokin proinflamasi dari famili IL-1, IL-6 dan TNF disekresikan oleh sel periodontal *host* dan imunosit setelah distimulasi oleh patobion. Stitokin tersebut akan mengaktivasi subset sel imun spesifik dan menyebabkan kerusakan jaringan langsung. Sel T dan sel B *naive* berdiferensiasi menjadi sel T dewasa atau sel plasma di bawah aksi sitokin spesifik dan selanjutnya mengaktifkan atau mempromosikan sel efektor lain seperti osteoklas dan neutrofil yang memberikan efek pro-inflamasi atau anti-inflamasi. Di antara sel subset ini, sel Th1 dan Treg terutama bertindak sebagai pelindung, sedangkan sel Th2/B dan Th17 memberikan efek kompleks

yang dapat menyebabkan kerusakan atau perlindungan jaringan periodontal. (Gambar 2.12)



Gambar 2.12 Kerangka Teori

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep

Penyusunan kerangka konsep dilakukan berdasarkan kerangka teori yang ada. Penelitian ini terdiri dari dua kerangka konsep. Kerangka konsep pertama dilakukan untuk menganalisis hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*. Kerangka konsep penelitian pertama dapat dilihat pada gambar 3.1 di bawah ini.

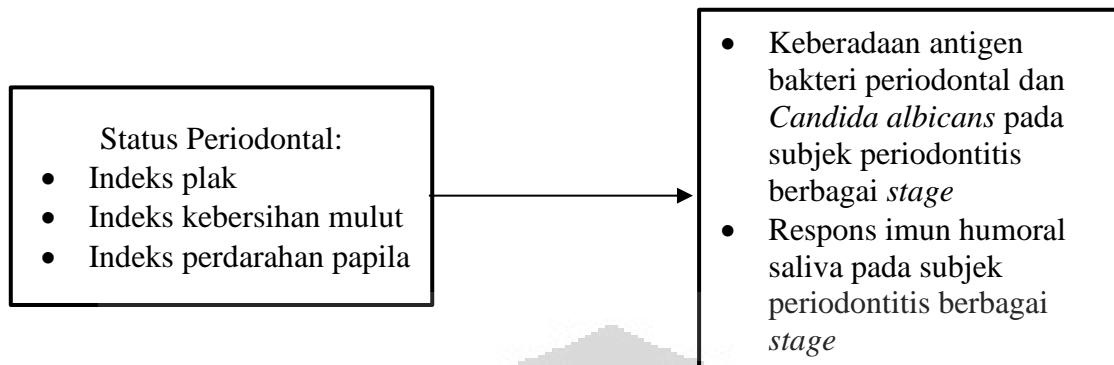
3.1.1 Kerangka Konsep Pertama



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Pertama

Setelah dilakukan penelitian tahap satu untuk membuktikan kerangka konsep pertama, selanjutnya kerangka konsep kedua dilakukan untuk menganalisis hubungan antara status periodontal (indeks plak, indeks kebersihan mulut, dan indeks perdarahan papila) dengan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* serta respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*. Kerangka konsep penelitian kedua tersebut dapat dilihat pada gambar 3.2 di bawah ini.

3.1.2 Kerangka Konsep Kedua



Gambar 3.2 Kerangka Konsep Kedua

3.2 Hipotesis

3.2.1 Hipotesis Mayor

- 3.2.1.1 Terdapat hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 3.2.1.2 Terdapat hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans*, serta respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.

3.2.2 Hipotesis Minor

- 3.2.2.1 Terdapat perbedaan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 3.2.2.2 Terdapat perbedaan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 3.2.2.3 Terdapat perbedaan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 3.2.2.4 Terdapat hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun IgA saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.

- 3.2.2.5 Terdapat hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun IgG saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 3.2.2.6 Terdapat perbedaan status periodontal terhadap tingkat keparahan periodontitis.
- 3.2.2.7 Terdapat hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 3.2.2.8 Terdapat hubungan antara indeks plak dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 3.2.2.9 Terdapat hubungan antara indeks plak dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 3.2.2.10 Terdapat hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 3.2.2.11 Terdapat hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 3.2.2.12 Terdapat hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
- 3.2.2.13 Terdapat hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini merupakan observasional potong silang untuk menganalisis hubungan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage* serta status periodontal.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

4.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Rumah Sakit Khusus Gigi dan Mulut Universitas Indonesia, Laboratorium Biomolekuler FKG Universitas Indonesia, serta BioCORE FKG Universitas Trisakti.

4.2.2 Waktu Penelitian

Bulan Juni 2019 sampai dengan bulan September 2020.

4.3 Subjek Penelitian

Laki-laki dan perempuan yang datang ke Rumah Sakit Khusus Gigi dan Mulut Universitas Indonesia, mulai dari bulan Juni 2019 sampai dengan Februari 2020 yang didiagnosis Periodontitis *stage* I, II, III, IV dan normal serta memenuhi kriteria inklusi penelitian.

4.4 Kriteria Subjek Penelitian

4.4.1 Kriteria Inklusi

- Laki-laki/wanita yang didiagnosis Periodontitis *stage* I, II, III, IV, dan normal.
- Subjek penelitian berusia 18-50 tahun.
- Bersedia menjadi sampel penelitian dan menandatangani lembar *informed consent*

4.4.2 Kriteria Eksklusi

- Memiliki riwayat penyakit sistemik (hipertensi, penyakit jantung, penyakit ginjal dan kelainan darah).
- Memperoleh riwayat konsumsi obat-obatan selama 3 bulan terakhir.
- Wanita hamil dan menyusui.
- Riwayat perawatan dental selama 3 bulan terakhir.

4.5 Besar Sampel

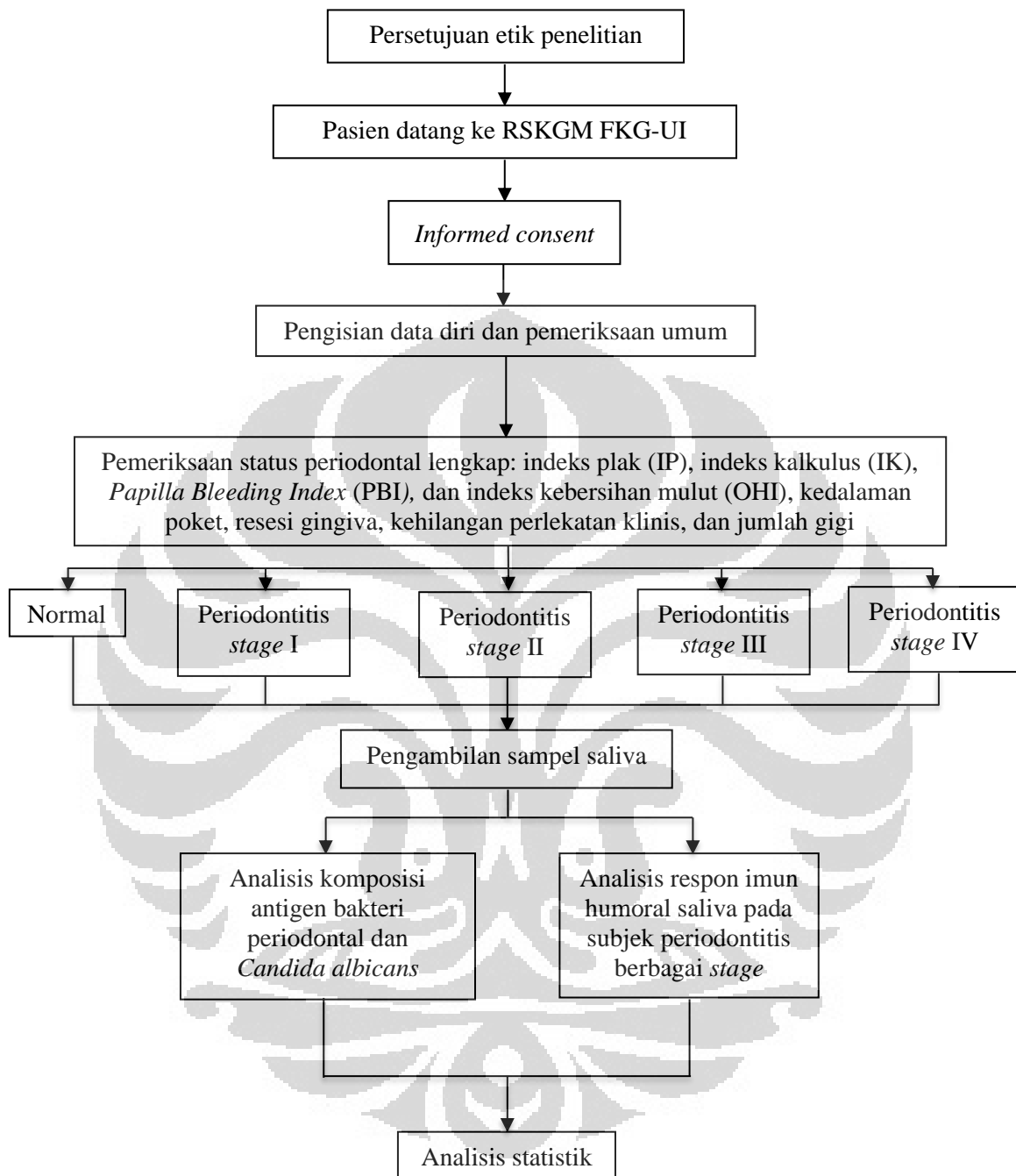
Subjek penelitian akan dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok normal, periodontitis *stage* I, II, dan III, IV. Masing-masing kelompok akan membutuhkan besar sampel sebagai berikut:

$$n = 2 \left\{ \frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{x_1 - x_2} \right\}^2$$

$$n = 2 \left\{ \frac{(1,96 + 0,84)4,91}{10,5 - 2,4} \right\}^2$$

$$= 5,76 \approx 6 \text{ subjek}$$

4.6 Alir Penelitian



Gambar 4.1 Alir Penelitian

4.7 Alat dan Bahan Penelitian

4.7.1 Alat Penelitian

- Kaca mulut no.4 (*Medesy, Italia*)
- Probe periodontal (*Hu-Friedy, AS*)
- Pinset (*Medesy, Italia*)
- Lembar status dan pemeriksaan klinis
- *Micropipette (Corning, AS)*
- *Vortexer*
- *Centrifuge (Thermo Sorvall Legend, AS)*
- *Microplate reader (Bio-rad, AS)*
- *Multichannel pippete (Eppendorf, AS)*
- *Uvitech Imaging (Uvitech, UK)*
- *SDS-PAGE (Bio-rad, AS)*

4.7.2 Bahan penelitian

- Masker
- Sarung tangan
- *Cotton roll*
- *Paper point nomor 30*
- Tabung mikro 1,5 mL (*Biologix, AS*)
- Tabung 15 mL (*Biologix, AS*)
- Tabung 50 mL (*Biologix, AS*)
- *Phosphate Buffer Saline*
- *Tris Buffer Saline*
- *Bradford solution (Biologix, AS)*
- *TE buffer (Thermo Fisher Scientific, AS)*
- *96-well plate (Biologix, AS)*
- *TMB Substrate Solution (Thermo Fisher Scientific, AS)*
- *Stop Solution (Invitrogen, AS)*
- *Precision Plus Protein™ Dual Color Standards (Bio-rad, AS)*
- *1-Step™ Chloronaphthol Substrate Solution (Thermo Fisher Scientific, AS)*

- Goat anti-Human IgA Secondary Antibody HRP (Thermo Fisher Scientific, AS)
- Goat anti-Human IgG – HRP (Thermo Fisher Scientific, AS)
- Goat anti-Rabbit IgG (H+L) secondary antibody (Thermo Fisher Scientific, AS)
- Blotting grade blocker non-fat dry milk (Bio-rad, AS)
- Reagen GENEzol™ (Geneaid, Taiwan)
- Triton X
- Tween-20
- High-Affinity Antibody Purification Kit (GenScript, AS)
- Membran PVDF Preassembled Transfer Packs (Bio-rad, AS)

4.8 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

| No | Variabel | Definisi Operasional | Cara Pengukuran | Hasil Ukur | Skala |
|----|--|---|---|--|-------|
| 1. | Keberadaan antigen bakteri periodontal dan <i>Candida albicans</i> | Keberadaan antigen bakteri periodontal (<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , <i>Treponema denticola</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i>), dan <i>Candida albicans</i> yang terdapat di dalam masing-masing saliva subjek | Sampel saliva yang sudah diekstraksi proteinnya dilakukan uji <i>western blot</i> dengan menggunakan <i>rabbit</i> antibodi spesifik terhadap masing-masing bakteri periodontal dan <i>Candida albicans</i> | Densitas pita protein yang terdapat pada membran PVDF yang dihitung dengan <i>ImageJ</i> Kategori: 0 = Rendah ($\leq 2742,225$) 1 = Tinggi ($> 2742,225$) | Rasio |
| 2. | Respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan <i>Candida albicans</i> | Respons imun humoral immunoglobulin A saliva terhadap antigen bakteri periodontal (<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , <i>Treponema denticola</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i>), dan <i>Candida albicans</i> | Stok bakteri periodontal dan <i>C. albicans</i> yang sudah di-coating di dasar sumur/well <i>microplate</i> selanjutnya direaksikan dengan sampel saliva, dan selanjutnya dilakukan uji ELISA untuk mendapatkan hasil absorbansi (OD 450 nm). Untuk uji Chi Square, data tersebut dikategorikan | Nilai absorbansi Kategori Aa 0 = Rendah ($\leq 3,98$) 1 = Tinggi ($> 3,98$) Kategori Td 0 = Rendah ($\leq 0,563$) 1 = Tinggi ($> 0,563$) Kategori Pg 0 = Rendah ($\leq 1,424$) 1 = Tinggi ($> 1,424$) Kategori Fn 0 = Rendah ($\leq 1,731$) | Rasio |

| | | | | | |
|----|--|---|---|--|-------|
| | | | menjadi dikotom menggunakan analisis <i>receiver operating characteristic</i> (ROC), sehingga mendapatkan nilai <i>cut off</i> . | 1 = Tinggi (>1,731) Kategori Ca 0 = Rendah (\leq 1,125) 1 = Tinggi (>1,125) | |
| 3. | Respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan <i>Candida albicans</i> Cairan Rongga Mulut | Respons imun humoral immunoglobulin G saliva terhadap antigen bakteri periodontal (<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , <i>Treponema denticola</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i>), dan <i>Candida albicans</i> | Stok bakteri periodontal dan <i>C. albicans</i> yang sudah di-coating di dalam <i>microplate</i> selanjutnya ditambahkan sampel saliva yang sudah diencerkan, dan kemudian dilakukan uji ELISA untuk mendapatkan hasil absorbansi. Untuk uji Chi Square, data tersebut dikategorikan menjadi dikotom menggunakan analisis <i>receiver operating characteristic</i> (ROC), sehingga mendapatkan nilai <i>cut off</i> . | Nilai absorbansi Kategori Aa 0 = Rendah (\leq 0,255) 1 = Tinggi (>0,255) Kategori Td 0 = Rendah (\leq 0,415) 1 = Tinggi (>0,415) Kategori Pg 0 = Rendah (\leq 0,555) 1 = Tinggi (>0,555) Kategori Fn 0 = Rendah (\leq 0,624) 1 = Tinggi (>0,624) Kategori Ca 0 = Rendah (\leq 0,248) 1 = Tinggi (>0,248) | Rasio |
| 4. | Status periodontal | Parameter klinis periodontal yaitu indeks plak, indeks kebersihan mulut, dan indeks perdarahan papilla | Untuk uji Chi Square, data tersebut dikategorikan menjadi dikotom menggunakan analisis <i>receiver operating characteristic</i> (ROC), sehingga mendapatkan nilai <i>cut off</i> . | | |
| | Indeks Plak | Ketebalan plak di daerah gingiva gigi. | Pemeriksaan dilakukan pada seluruh gigi. Permukaan yang diperiksa adalah empat area gingiva gigi yaitu permukaan distofasial, fasial, | Jumlah skor plak setiap permukaan dibagi jumlah permukaan yang diperiksa. Kategori 0 = Ringan (\leq 0,62) | Rasio |

mesiofasial, dan lingual. 1 = Sedang-Berat (>0,62)

Skor

0: tidak ada plak
 1: plak melekat pada margin gingiva bebas dan sekitar gigi diketahui melalui prob yang dijalankan mengelilingi gigi,
 2: penumpukan deposit lunak di dalam poket dan margin gingiva dan atau yang melekat ke permukaan gigi dan dapat dilihat kasat mata
 3: Plak dan sisa makanan menumpuk di dalam poket dan atau menutupi margin gingiva dan permukaan gigi yang berdekatan.

| Indeks kebersihan mulut (<i>OHI</i>) | Angka yang menyatakan kebersihan rongga mulut. | Pemeriksaan debris dan kalkulus dilakukan pada semua gigi yang ada. Permukaan yang diperiksa adalah fasial dan lingual/palatal. | Jumlah skor indeks debris dan indeks kalkulus. Kategori 0 = Baik ($\leq 0,76$) 1 = Sedang-Buruk ($> 0,76$) | Rasio |
|--|--|--|---|-------|
| | | Skor Indeks debris: 0: tidak ada debris/ <i>stain</i> 1: debris menutupi <1/3 permukaan gigi atau adanya <i>stain</i> tanpa debris. 2: debris menutupi >1/3 dan <2/3 permukaan gigi. 3: debris menutupi >2/3 permukaan gigi. | | |
| | | Skor indeks kalkulus: 0: tidak ada kalkulus 1: kalkulus menutupi <1/3 permukaan gigi 2: kalkulus menutupi >1/3 dan kurang 2/3 | | |

| | | | | |
|------------------------------------|--|---|--|---------|
| | | permukaan gigi atau ada flek/bintik kalkulus subgingiva di servikal gigi. 3: kalkulus supragingiva menutupi >2/3 permukaan gigi atau ada kalkulus subgingiva tebal di servikal gigi. | | |
| Indeks Perdarahan Papila (PBI) | Keadaan gingiva yang ditandai dengan adanya perdarahan saat probing pada papila. | Dengan menggunakan <i>Papillary Bleeding Index</i> a. Probe dimasukan secara perlahan ke dalam sulkus gingiva \pm 2mm. b. Pemeriksaan dilakukan distopalatal regio 1, distolingual regio 3, dan mesiobukal regio 2 dan 4. c. Nilai perdarahan yaitu: 0= tidak ada perdarahan 1= perdarahan berupa titik 2= perdarahan berupa garis 3= perdarahan berupa segitiga 4= perdarahan menyebar | Jumlah skor perdarahan papila dibagi dengan jumlah gigi yang diperiksa. Kategori 0 = Ringan ($\leq 0,25$) 1 = Sedang-Berat ($> 0,25$) | Rasio |
| 5. Tingkat keparahan periodontitis | <i>Staging</i> periodontitis | Berdasarkan kehilangan perlekatan klinis, kedalaman poket, dan kehilangan gigi (sesuai Tabel 2.1) | 0= <i>stage</i> I 1= <i>stage</i> II 2= <i>stage</i> III 3= <i>stage</i> IV | Ordinal |

4.9 Cara Kerja Penelitian

4.9.1 Persiapan

Alat dan bahan pemeriksaan pasien disiapkan. Subjek penelitian diberikan penjelasan mengenai prosedur penelitian dan dilakukan penandatanganan *informed consent*.

4.9.2 Pelaksanaan

Pengisian data demografis antropometrik: Nama, Alamat, Jenis Kelamin, Usia Pemeriksaan Indeks Plak (IP), *Papilla Bleeding Index (PBI)*, Indeks Kalkulus (IK), Pengambilan foto klinis dan radiografis untuk penentuan diagnosis periodontitis.

4.9.2.1 Sampel Saliva

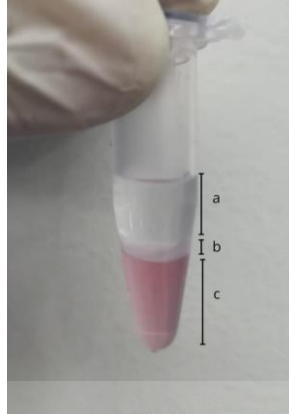
Sampel saliva dikumpulkan ke dalam tabung 15 mL sebanyak ± 2 mL dari subjek penelitian pada pagi hari (Gambar 4.2). Sampel yang sudah dikumpulkan segera disimpan ke dalam es untuk mencegah degradasi protei. *Protease inhibitor cocktail* sebanyak 50 μ L langsung dimasukkan ke dalam sampel saliva. Homogenisasi sampel saliva dilakukan dengan sentrifugasi pada suhu 4 °C 1300 \times g selama 5 menit. Supernatan dipindahkan sebanyak 150 μ L ke dalam tabung mikro yang baru, sedangkan sisanya disimpan pada suhu -80 °C untuk pemeriksaan lebih lanjut.



Gambar 4.2 Sampel Saliva yang Diambil dari Subjek

4.9.2.2 Ekstraksi Protein Saliva

Tabung mikro yang berisi 150 μ L sampel saliva di-vortex dengan *vortexer* lalu ditambahkan 300 μ L reagen *Genezol™*. Kemudian tabung mikro dikocok dengan tangan dan inkubasi selama 5 menit pada suhu ruang. Fase separasi dilakukan dengan cara menambahkan 100 μ L klorofom dan tabung mikro dibolak-balik. Sentrifugasi tabung mikro dengan *Thermo Sorvall Legend RT Refrigerated Centrifuge* dengan kecepatan 12.000 \times g, suhu 4 °C selama 15 menit. Larutan dalam tabung mikro akan terbagi menjadi tiga lapisan, yaitu RNA pada lapisan bagian atas, DNA pada lapisan bagian tengah, dan protein pada lapisan bagian bawah berwarna merah muda (Gambar 4.3).



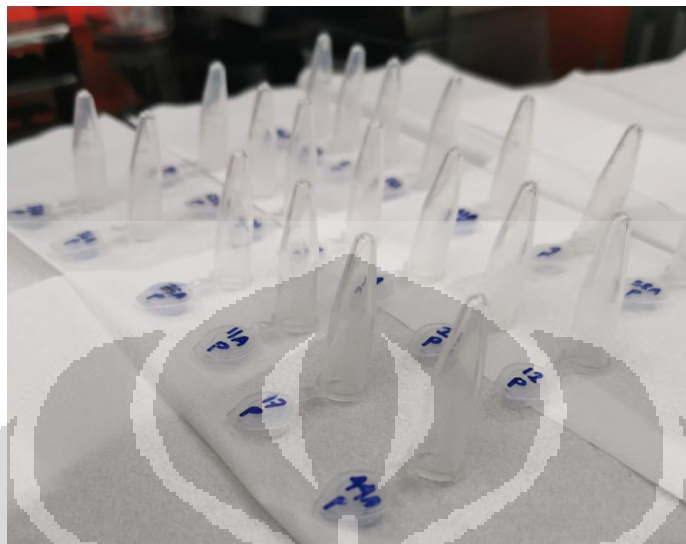
Gambar 4.3 Ekstraksi Protein Saliva
Tiga fase separasi yang terbentuk: RNA (a); DNA (b); Protein (c)

Lapisan RNA kemudian dipindahkan ke tabung baru dan disimpan di dalam *freezer* -80°C . Lapisan DNA dan protein dipisahkan dengan cara menambahkan $150\ \mu\text{L}$ etanol absolut, kemudian tabung mikro dibolak-balik dan diinkubasi selama lima menit pada suhu ruang. Sentrifugasi tabung mikro $2.000 \times g$, suhu 4°C selama 5 menit hingga DNA mengendap di dasar tabung dan supernatan protein dipindahkan ke dalam tabung yang baru. Endapan DNA disimpan di dalam *freezer* -80°C

Tahap selanjutnya dari ekstrak protein adalah presipitasi, cuci, dan resuspensi protein. Isopropanol sebanyak $700\ \mu\text{L}$ pada tube mikro yang berisi supernatan protein. Bolak-balik tabung mikro dan inkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Sampel selanjutnya disentrifugasi $16.000 \times g$ suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan dibuang, lalu cuci tabung mikro dengan $1\ \text{mL}$ 1% Triton X dalam etanol 95% dan tabung mikro dibolak-balik. Inkubasi sampel selama 20 menit pada suhu ruang, lalu sampel disentrifugasi kembali $16.000 \times g$ suhu 4°C selama 10 menit dan dibuang supernatannya hingga mendapatkan pelet protein. Proses pencucian ini diulang hingga dua kali.

Pelet protein selanjutnya ditambahkan $1\ \text{mL}$ etanol absolut dan diinkubasi selama 20 menit pada suhu ruang. Sampel disentrifugasi $7.500 \times g$ suhu 4°C selama 5 menit, kemudian buang supernatannya. Pelet protein dikeringkan (*air dry*) selama 10 menit pada suhu ruang (Gambar 4.4). Setelah pelet protein kering, tambahkan $200\ \mu\text{L}$ 1% SDS dan diresuspensi dengan menggunakan pipet mikro. Inkubasi sampel pada suhu 50°C selama 10 menit. Selanjutnya sentrifugasi $10.000 \times g$ suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan yang

terbentuk dipindahkan ke dalam tabung mikro yang baru dan disimpan di dalam *freezer* $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ untuk dihitung konsentrasi protein tiap sampel pada keesokan harinya.



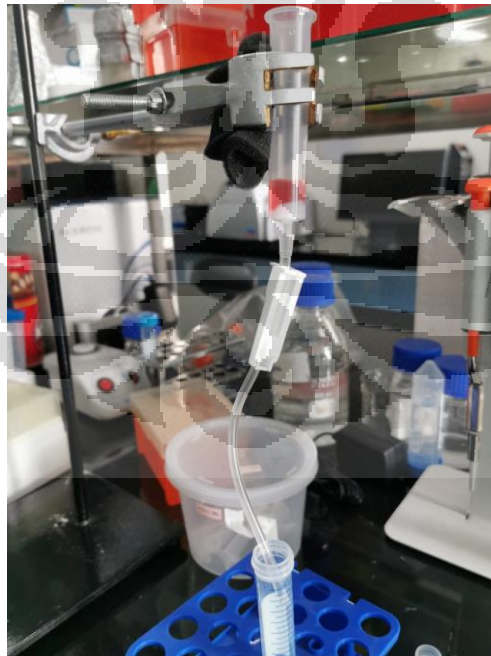
Gambar 4.4 Proses Pengeringan Pelet Protein

4.9.2.3 Uji Bradford

Konsentrasi protein dihitung dengan uji Bradford. Prinsip dari uji ini adalah ikatan protein dengan *coomassie brilliant blue (dye)*. Ketika terikat dengan protein maka *dye* akan berubah menjadi larutan biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer (*Bio-rad Benchmark Plus Microplate Reader*) pada 595 nm. BSA (Bio-Rad) 2 mg/mL digunakan sebagai protein standar dan disiapkan dalam dilusi serial (400, 320, 240, 160, 80 $\mu\text{g/mL}$). Sampel dilarutkan dengan akuades steril (faktor dilusi enam). Protein standar konsentrasi 0-400 $\mu\text{g/mL}$ dan sampel dimasukkan ke dalam well sebanyak 10 μL (duplo). Reagen *dye* dikeluarkan dari penyimpanan $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan dibiarkan menghangat pada suhu ruang. Reagen Bradford (reagen *working dye* 4:1 akuades) sebanyak 200 μL dimasukkan dan dicampurkan ke dalam *well* yang sudah terisi BSA dan sampel protein. Letakkan 96 *well microplate* pada *orbital shaker* dalam keadaan tertutup dari sinar luar selama lima menit atau hingga warna stabil. Sampel dimasukkan ke dalam spektrofotometer, hitung absorbansi pada 595 nm sehingga didapatkan kurva standar dan konsentrasi protein.

4.9.2.4. Purifikasi Antibodi

Serum antibodi poliklonal *rabbit* anti: *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, dan *C. albicans* dilakukan purifikasi dengan *High-Affinity Antibody Purification Kit (GenScript)*. Pada tahap awal dibuat kolom purifikasinya terlebih dahulu dengan menambahkan 1 mL resin kedalam kolom kosong, yang kemudian ditambahkan *wash buffer* sebanyak 5 mL. *Wash buffer* dibiarkan turun sampai habis. Tambahkan serum antibodi sebanyak 1 mL, lalu dibiarkan turun melalui resin dengan kecepatan 0,5 mL/menit (*flow through-1/FT-1*). Cairan FT-1 kemudian dimasukkan kembali ke dalam kolom dan dibiarkan turun kembali. Kemudian, pada kolom ditambahkan sebanyak 50 mL *wash buffer* dan dibiarkan cairan tersebut turun melalui resin dengan kecepatan 1,5 mL/menit (*flow through-2/FT-2*) dan dimasukkan ke dalam beberapa tabung mikro. Cairan FT-2 yang sudah terkumpul di dalam beberapa tabung mikro diperiksa absorbansinya pada 280 nm sampai stabil. Antibodi yang terikat pada resin kemudian dielusi dengan *elusion buffer* sebanyak 10 mL dan dibiarkan turun dengan kecepatan 1 mL/menit serta dikumpulkan dalam tabung mikro. Hasil elusi antibodi dinetralisir dengan *neutralizing buffer* sebanyak 100 μ L.



Gambar 4.5 Proses Purifikasi Antibodi

4.9.2.5 Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

4.9.2.5.1 Pembuatan Gel

Resolving gel 12% dibuat dengan resep H₂O (1600 µL); akrilamid 30% (2000 µL); 0,5 M Tris-HCl pH 8,8 (1300 µL); SDS 10% (50 µL); APS 10% (50 µL) dan TEMED (2 µL). *Stacking gel* dibuat dengan resep H₂O (1400 µL); akrilamid 30% (330 µL); 1,5 M Tris-HCl pH 6,8 (250 µL); SDS 10% (20 µL); APS 10% (20 µL) dan TEMED (2 µL). *Buffer dam* dipasang apabila hanya melakukan elektroforesis satu buah gel. *Running buffer* (Bio-Rad) dimasukkan ke bagian tengah alat elektroforesis hingga menutupi sumur gel dan pada bagian samping secukupnya.

4.9.2.5.2 Persiapan Sampel Protein

Sampel *buffer* (Bio-Rad) dicampur dengan β-mercaptoethanol dengan perbandingan 19:1. Protein sebanyak 3 µg yang telah ditambahkan sampel *buffer* (1:1) sehingga volumenya menjadi 20 µL disiapkan. Sampel protein tersebut dipanaskan dengan suhu 100 °C selama 5 menit. Campuran protein dan sampel *buffer* dimasukan ke dalam masing-masing sumur gel sebanyak 20 µL, demikian pula *pre-stained* standar protein (*Precision Plus Protein™ Dual Color Standards* BioRAD). Elektroforesis dijalankan pada 90 V selama 15 menit dan dilanjutkan dengan 125 V selama satu jam.

4.9.2.5.3 Transfer Protein

Transfer protein dari gel ke kertas membran *polyvinylidene difluoride* (PVDF) menggunakan sistem transfer *semi-dry* (Trans-Blot Turbo Transfer System Bio-Rad). Kertas membran PVDF yang digunakan *Preassembled Transfer Packs* (Bio-Rad). Setelah proses elektroforesis selesai, gel dibuka dan dipotong sesuai ukurannya. Gel diletakkan pada *Preassembled Transfer Packs* (Bio-Rad) dengan urutan filter, membran PVDF, gel, dan kertas filter ditumpuk berlapis dari bawah ke atas secara berurutan. Kemudian tumpukan *2-mini format gels* tersebut diletakkan pada alat transfer. Alat transfer ditutup dengan baik dan seimbang, lalu dijalankan dengan voltase 25 V dan 2,5 A selama 15 menit. Transfer yang baik akan ditandai dengan perpindahan marker pre-stain dari gel ke membran. Membran PVDF dicuci dengan TBS-T (0,05% Tween 20) selama lima menit di atas *orbital shaker*.

4.9.2.5.4 Immunoblotting

Membran yang sudah dicuci kemudian di-*blocking* menggunakan 5% *non-fat milk* dalam TBS-T selama 1 jam. Selanjutnya, membran direndam antibodi primer (antibodi poliklonal *rabbit* anti: *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, dan *C. albicans* 1:500 dalam 5% *non-fat milk*) dan diinkubasi dalam suhu ruang pada *orbital shaker* selama 15 menit dalam suhu ruang, kemudian diinkubasi *overnight* pada suhu 4 °C. Keesokan harinya, membran dicuci dengan TBS-T selama 15 menit di atas *orbital shaker*, kemudian membran direndam ke dalam antibodi sekunder *Goat Anti-Rabbit IgG* terkonjugasi *horseradish peroxide* (1:1000 dalam 5% *non-fat milk*) dan diinkubasi dalam suhu ruang pada *orbital shaker* selama 1 jam. Setelah itu, membran dicuci menggunakan TBS-T di-*shaker* selama lima menit sebanyak tiga kali. Membran yang telah dicuci kemudian dipindahkan ke atas alas *plastic wrap* dan selanjutnya ditetesi dengan *1-Step™ Chloronaphthol Substrate Solution* (*Thermo Fisher Scientific*) dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu ruang hingga terlihat pita protein. Inaktivasi reaksi dilakukan dengan cara mencuci membran dalam akuades dengan *shaker* selama lima menit sebanyak tiga kali.

4.9.2.6 Kultur Mikroba Periodontal

4.9.2.6.1 Kultur *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

Bakteri *A. actinomycetemcomitans* (ATCC® 29522™) dibiakkan dalam cawan petri yang berisi medium agar *A. actinomycetemcomitans* dengan resep *triptycase soya agar* (4 g/mL), *yeast extract* (0,6 g/mL), natrium bikarbonat (0,4 g/mL), dekstrose (0,8 g/mL) dan Vancomycin (2 µL). Bakteri dikultur dan diinkubasi dalam suasana anaerob (5% hidrogen, 10% karbondioksida dan 85% nitrogen) selama 24 jam pada suhu 37 °C. Keesokan harinya, bakteri dipindahkan ke dalam medium *broth A. actinomycetemcomitans* dengan resep *triptycase soya broth* (3 g/mL), *yeast extract* (0,6 g/mL), dan dekstrose (0,8 g/mL), yang selanjutnya dilakukan TPC (*total plate count*).

4.9.2.6.2 Kultur *Treponema denticola* dan *Fusobacterium nucleatum*

Bakteri *T. denticola* (ATCC® 35405™), dan *Fusobacterium nucleatum* (ATCC® 25586™) masing-masing dibiakkan dalam cawan petri yang berisi medium agar BHI (*Brain Heart Infusion*) dengan resep BHI (5,2 g), Agar (1 g), dan akuades (100 mL). Bakteri dikultur dan diinkubasi dalam suasana anaerob (5% hidrogen, 10% karbondioksida dan 85% nitrogen) selama 24 jam pada suhu 37 °C. Keesokan harinya,

bakteri dipindahkan ke dalam medium BHI *broth* dengan resep BHI (3,7 g) dan akuades (100 mL) yang selanjutnya dilakukan TPC.

4.9.2.6.3 Kultur *Porphyromonas gingivalis*

Bakteri *P. gingivalis* (ATCC® 33277™) dibiakkan dalam cawan petri yang berisi medium agar darah. Bakteri dikultur dan diinkubasi dalam suasana anaerob (5% hidrogen, 10% karbondioksida dan 85% nitrogen) selama 24 jam pada suhu 37 °C. Keesokan harinya, bakteri dipindahkan ke dalam medium BHI *broth* dengan resep BHI (3,7 g) dan akuades (100 mL) yang selanjutnya dilakukan TPC.

4.9.2.6.4 Kultur *Candida albicans*

Candida albicans (ATCC® 10231™) dibiakkan dalam cawan petri yang berisi *Sabouraud Dextrose Agar* dengan resep dekstrose (4 g/mL), peptone (0,1 g/mL), agar (1,5 g/mL), dan akuades (100 mL). *Candida albicans* dikultur dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Keesokan harinya dipindahkan ke dalam medium *Sabouraud Dextrose Broth* dengan resep dekstrose (4 g/mL), peptone (0,1 g/mL), dan akuades (100 mL). yang selanjutnya dilakukan TPC.

4.9.2.7 Dot Blot

Teknik Dot Blot dilakukan untuk mengonfirmasi spesifisitas serum antibodi poliklonal *rabbit anti: A. actinomycetemcomitans, T. denticola, P. gingivalis, F. nucleatum, dan C. albicans*. Teknik ini menggunakan potongan membran nitroselulose yang ditandai bulat berdiameter 1 cm sesuai dengan jumlah perlakuan. Terdapat 10 tanda bulat pada membran untuk kelompok tanpa perlakuan, kelompok bakteri yang antibodinya ingin diperiksa, kelompok bakteri kedua (kontrol negatif), kelompok bakteri pertama dan kedua yang digabung, dan kelompok *Bovine Serum Albumin* (BSA). Sampel bakteri diletakkan pada membran sebanyak 5 µL dan dibiarkan mengering dalam waktu beberapa menit. Selanjutnya, membran di-*blocking* dengan 5% *non-fat milk* dalam TBS-T selama 1 jam. Setelah itu, membran dicuci menggunakan TBS-T di-*shaker* selama lima menit sebanyak tiga kali. Membran direndam antibodi primer (antibodi poliklonal *rabbit anti: A. actinomycetemcomitans, T. denticola, P. gingivalis, F. nucleatum, dan C. albicans* 1:250 dalam 5% *non-fat milk*) dan diinkubasi dalam suhu ruang pada *orbital shaker* selama 2 jam dalam suhu ruang. Kemudian membran dicuci menggunakan TBS-T di-*shaker* selama lima menit sebanyak tiga kali. Selanjutnya membran direndam ke dalam antibodi

sekunder *Goat Anti-Rabbit IgG* terkonjugasi *horseradish peroxide* (1:1000 dalam 5% *non-fat milk*) dan diinkubasi dalam suhu ruang pada *orbital shaker* selama 1 jam. Setelah itu, membran dicuci menggunakan TBS-T di-*shaker* selama lima menit sebanyak tiga kali. Membran yang telah dicuci kemudian dipindahkan ke atas alas *plastic wrap* dan selanjutnya ditetesi dengan *I-Step™ Chloronaphthol Substrate Solution* (*Thermo Fisher Scientific*) dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu ruang hingga terlihat warna biru keunguan pada sampel yang reaktif.



Gambar 4.6 Teknik Dotblot. Teknik ini dilakukan untuk menguji spesifisitas antibodi *A. actinomycescomitans* pada lima sumber antigen yang berbeda secara duplo: tanpa antigen/kontrol negatif (a); Antigen *A. actinomycescomitans* (b); Antigen *F. nucleatum* (c); Antigen *A. actinomycescomitans* dan antigen *F. nucleatum* (d); *Bovine Serum Albumin* 2 mg/mL (e).

4.9.2.8 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

ELISA dilakukan untuk menganalisis respons imun humoral IgA dan IgG pada saliva subjek. *Coating buffer* yang dibuat dengan resep natrium bikarbonat/ NaHCO_3 (3,7 g), natrium karbonat/ Na_2CO_3 (0,64 g), dan akuades (1 L) dimasukkan ke dalam *microplate well* sebanyak 100 μL . Kemudian, stok bakteri dimasukkan ke dalam well sebanyak 50 μL dengan konsentrasi masing-masing sebagai berikut: *A. actinomycescomitans* $5,4 \times 10^7$ CFU/mL, *T. denticola* 2×10^8 CFU/mL, *P. gingivalis* $1,3 \times 10^7$ CFU/mL, *F. nucleatum* $3,89 \times 10^8$ CFU/mL dan *Candida albicans* $5,9 \times 10^7$ CFU/mL. Inkubasi *microplate* pada suhu 4 °C *overnight*. Keesokan harinya, larutan pada *well* dibuang, dilanjutkan dengan tiga kali pencucian menggunakan 200 μL TBS-T. Selanjutnya dilakukan *blocking* dengan *blocking buffer* (5% *non-fat milk*) sebanyak 150 μL . Tutup *microplate* dengan stiker dan inkubasi selama 1 jam di dalam inkubator pada suhu 37 °C dan 5% CO_2 . Kemudian

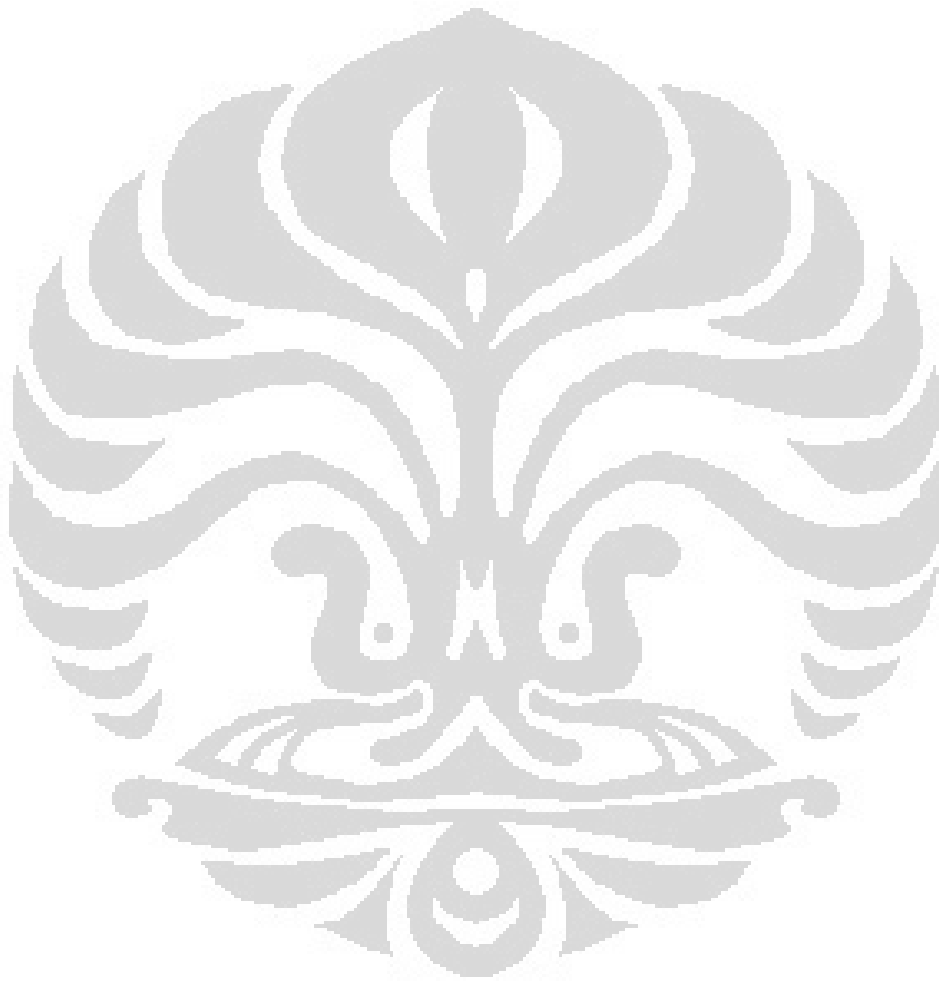
larutan *blocking buffer* dibuang, dan *well* dicuci dengan 200 μL TBS-T sebanyak tiga kali. Sampel saliva dimasukkan ke dalam *well* sebanyak 50 μL . Tutup *microplate* dengan stiker dan inkubasi selama 1 jam di dalam inkubator pada suhu 37 °C dan 5% CO₂. Larutan pada *well* dibuang, lalu masukkan 200 μL TBS-T untuk mencuci *well* sebanyak tiga kali. Selanjutnya antibodi sekunder *anti human IgA* terkonjugasi HRP (1:2000, 5% *non-fat milk*) sebanyak 100 μL dimasukkan ke dalam *well* pada pemeriksaan IgA. Pada pemeriksaan IgG dimasukkan antibodi sekunder *anti human IgG* terkonjugasi HRP (1:2000, 5% *non-fat milk*) sebanyak 100 μL . Inkubasi dengan *orbital shaker* pada suhu ruang selama 1 jam. Kemudian, larutanyang terdapat di dalam *well* dibuang dan dicuci dengan 200 μL TBS-T sebanyak tiga kali. Masukkan 100 μL TMB *substrat solution* (*Thermo Fisher Scientific*) pada ruang gelap. *Microplate* dibungkus dengan aluminium foil kemudian inkubasi di dalam inkubator pada suhu 37 °C dan 5% CO₂ selama 20 menit. *Microplate* dikeluarkan dari inkubator dan pada sampel dimasukkan 100 μL *stop solution*. Absorbansi dianalisis dengan ELISA *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm.

4.10 Pengolahan Data

Data yang didapat kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan piranti lunak SPSS versi 23. Analisis univariat dilakukan untuk mendapatkan nilai rerata serta simpang baku demografik dan parameter klinis subjek penelitian. Data perbedaan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* terhadap tingkat keparahan periodontitis, perbedaan respon imun IgA serta IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage* dilakukan uji bivariat One-way ANOVA (data terdistribusi normal) dan Kruskal – Wallis (data tidak terdistribusi normal) yang masing-masing dilanjutkan dengan uji *post-hoc* Bonferroni dan Mann-Whitney U. Hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respon imun IgA dan IgG saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage* serta hubungan antara status periodontal dengan respon imun IgA dan IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage* dilakukan uji Chi Square. Seluruh uji menggunakan batas kemaknaan sebesar 5%.

4.11 Etika Penelitian

Subjek yang memenuhi kriteria yang dibutuhkan pada penelitian ini akan dijelaskan mengenai prosedur, hal yang mungkin terjadi selama proses pengambilan sampel, seperti ada rasa tidak nyaman dan apa saja keuntungan yang didapatkan oleh subjek. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia nomor: 17/Persetujuan Etik/FKGUI/III/2019 pada tanggal 27 Maret 2019 dan 10 Juli 2020 (lanjutan) dengan nomor protokol 070210219.



BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Analisis Deskriptif

Subjek pada penelitian ini adalah penderita periodontitis yang datang ke RSKGM FKG UI berbagai tingkat keparahan. Penelitian ini juga menggunakan subjek normal (periodontal sehat) sebagai kontrol. Seluruh subjek penelitian sudah menyetujui dan menandatangani *informed consent* serta sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi penelitian. Sebanyak 31 subjek periodontitis dan delapan subjek periodontal sehat yang menjadi subjek penelitian telah didiagnosis oleh dokter gigi spesialis periodonsia. Subjek dengan periodontitis terbagi menjadi empat tingkat keparahan berdasarkan klasifikasi penyakit periodontal tahun 2017 oleh *American Academy of Periodontology* (AAP) dan *European Federation of Periodontology* (EFP).

Tabel 5.1 Karakteristik Subjek Penelitian

| Variabel | Keparahan Periodontitis (Rerata ± SB) | | | | |
|------------------------------------|---------------------------------------|---------------|----------------|------------------|----------------|
| | Normal (n=8) | Stage I (n=5) | Stage II (n=8) | Stage III (n=11) | Stage IV (n=7) |
| Jenis Kelamin (L/P) | 1/7 | 2/3 | 3/5 | 4/7 | 2/5 |
| Usia | 25,1 ± 2,9 | 41,8 ± 5,3 | 45,1 ± 7,3 | 45,9 ± 8,3 | 51 ± 6,1 |
| Indeks Plak | 0,45 ± 0,13 | 0,69 ± 0,25 | 0,82 ± 0,27 | 1,27 ± 0,35 | 1,58 ± 0,30 |
| Indeks Kebersihan Mulut | 0,25 ± 0,21 | 1,05 ± 0,47 | 1,33 ± 0,45 | 2,68 ± 0,57 | 3,48 ± 0,54 |
| Indeks Perdarahan Papila | 0,10 ± 0,09 | 0,67 ± 0,45 | 0,92 ± 0,59 | 1,67 ± 0,54 | 2,59 ± 0,25 |
| Konsentrasi Protein Saliva (µg/mL) | 147,38 ± 4,21 | 153,24 ± 4,55 | 156,37 ± 11,34 | 158,38 ± 12,10 | 155,57 ± 7,03 |

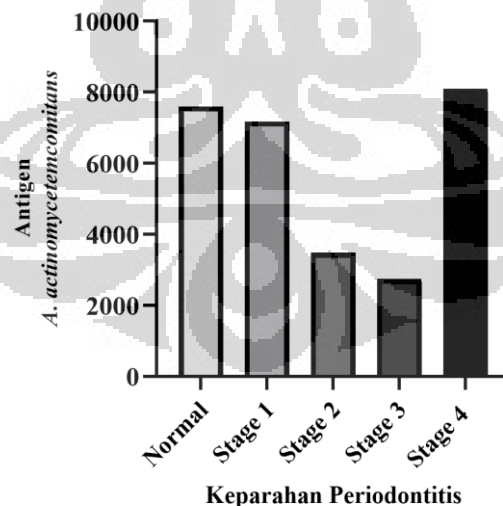
Keterangan: SB: Simpang Baku; L: Laki-laki; P: Perempuan

Tabel 5.1 menunjukkan deskripsi subjek penelitian yaitu jenis kelamin, rerata usia, rerata indeks plak, rerata indeks kebersihan mulut, rerata perdarahan papilla, dan rerata konsentrasi protein saliva. Jumlah subjek sebanyak 39 orang terdiri dari 12 laki-laki (30,74%) dan 27 perempuan (69,23%). Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah saliva. Saliva yang sudah dikumpulkan sesuai dengan metode yang sudah dijelaskan pada cara kerja 4.9.2.1, kemudian diekstraksi protein saliva masing-masing sampel (cara kerja

4.9.2.2) dan dilakukan uji Bradford (cara kerja 4.9.2.3) sehingga diperoleh konsentrasi masing-masing sampel dan reratanya berdasarkan tingkat keparahan periodontitis.

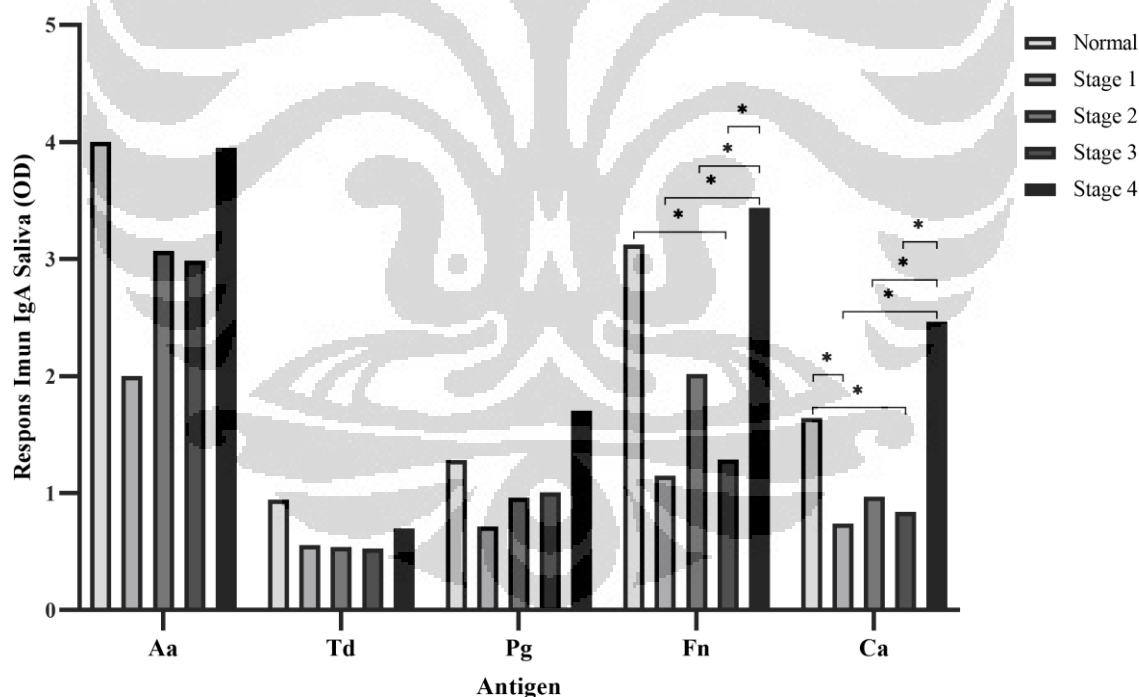
5.2 Analisis Kerangka Konsep Pertama

Kerangka konsep pertama menganalisis hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* terhadap respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*. Keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dideteksi dengan metode *Western Blot* yang sudah dijelaskan pada 4.9.2.5. Hasilnya ditemukan bahwa hanya antigen *A. actinomycetemcomitans* yang terekspresi pada saliva semua subjek penelitian (Lampiran 5). Densitas pita protein tersebut kemudian dihitung menggunakan piranti lunak ImageJ. Analisis komparasi keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans* terhadap tingkat keparahan periodontitis menggunakan Uji Kruskal-Wallis. Hasil uji statistik tersebut menunjukkan keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans* tertinggi pada kelompok periodontitis *stage IV* (Gambar 5.1), namun tidak terdapat perbedaan signifikan keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans* terhadap tingkat keparahan periodontitis. Nilai p sebesar 0,453 ($p > 0,05$), sehingga **hipotesis minor 3.2.2.1 ditolak**.



Gambar 5.1 Analisis ImageJ Densitas Pita Protein Pada Uji Western Blot Antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada Saliva Pasien dengan Tingkat Keparahan Periodontitis. Median (min-maks) Normal: 7594,34 (1867,27-11.343,25); Stage I: 7170,35 (1417,93-14.639,41); Stage II: 3482,51 (600,33-20.242,59); Stage III: 2742,23 (1009,98-10.925,25); Stage IV: 8096,35 (1134,08-14.587,27). Uji Kruskal-Wallis $p = 0,453$.

Respons imun humoral saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *C. albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage* dideteksi dengan menggunakan ELISA sesuai dengan metode yang tercantum pada 4.9.2.8. Uji komparasi Kruskal-Wallis digunakan untuk menganalisis respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *C. albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage* (Gambar 5.2). Respons imun IgA saliva yang menunjukkan perbedaan signifikan berdasarkan tingkat keparahan periodontitis adalah respons imun terhadap antigen *F. nucleatum* ($p=0,014$) dan *C. albicans* ($p=0,009$). Nilai median (min-maks) *optical density* respons imun IgA saliva terhadap antigen *F. nucleatum* adalah Normal: 3,12 (1,08-15,32); *Stage* I: 1,15 (0,95-3,28); *Stage* II: 2,02 (1,00-6,06); *Stage* III: 1,29 (0,66-10,54); *Stage* IV: 3,44 (1,73-21,12). Nilai median (min-maks) *optical density* respons imun IgA saliva terhadap antigen *C. albicans* adalah Normal: 1,64 (0,48-9,36); *Stage* I: 0,74 (0,52-1,27); *Stage* II: 0,97 (0,58-3,15) *Stage* III: 0,84 (0,31-4,81); *Stage* IV: 2,46 (0,99-28,98).

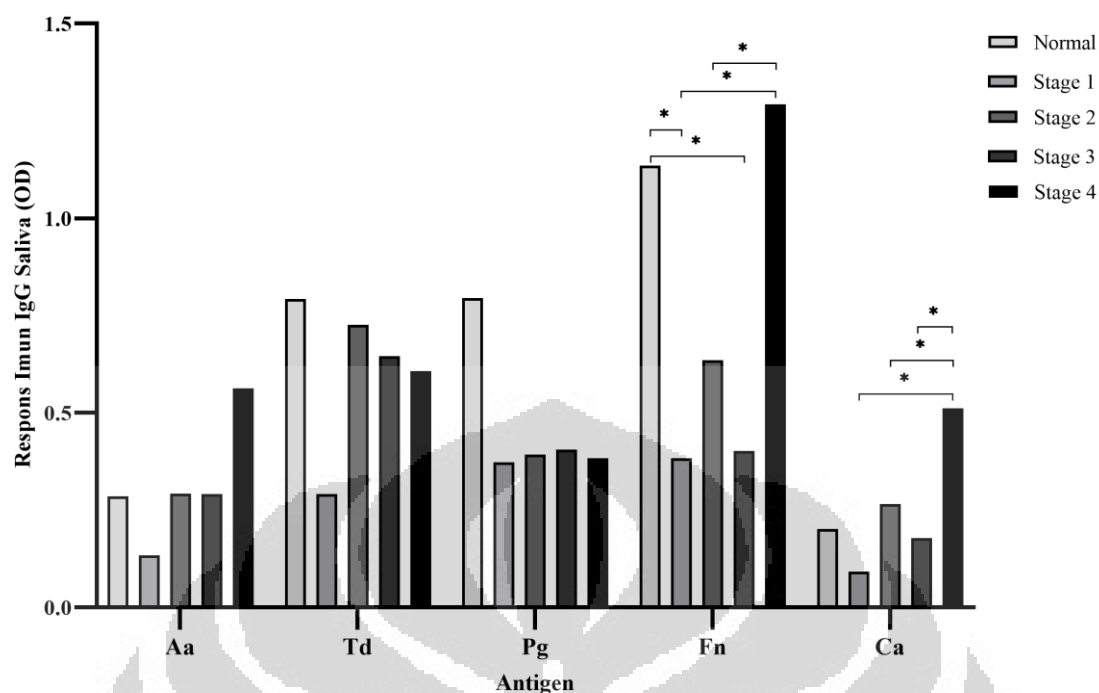


Gambar 5.2 Median Respons Imun IgA Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan *Candida albicans* berdasarkan Tingkat Keparahan Periodontitis. Uji Kruskal-Wallis dan Uji *Post hoc* Mann-Whitney U (*= berbeda bermakna $p<0,05$); Aa: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; Td: *Treponema denticola*; Pg: *Porphyromonas gingivalis*; Fn: *Fusobacterium nucleatum*; Ca: *Candida albicans*; OD: *Optical Density*

Respons imun IgA saliva terhadap antigen *F. nucleatum* pada subjek periodontitis berbagai *stage* selanjutnya dilakukan uji *post hoc* Mann-Whitney U. Perbedaan signifikan ditunjukkan pada respons imun IgA terhadap antigen *F. nucleatum* antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* III ($p=0,032$), kelompok periodontitis *stage* I dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,019$), kelompok periodontitis *stage* II dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,021$), dan kelompok periodontitis *stage* III dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,013$).

Hasil uji *post hoc* Mann-Whitney U menunjukkan terdapat perbedaan signifikan respons imun IgA terhadap antigen *C. albicans* antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* I ($p=0,040$), antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* III ($p=0,026$), antara kelompok periodontitis *stage* I dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,012$), antara kelompok periodontitis *stage* II dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,021$), dan kelompok periodontitis *stage* III dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,010$). Berdasarkan analisis tersebut, terdapat perbedaan respons imun IgA saliva terhadap antigen *F. nucleatum* dan *C. albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage* sehingga **hipotesis minor 3.2.2.2 diterima**.

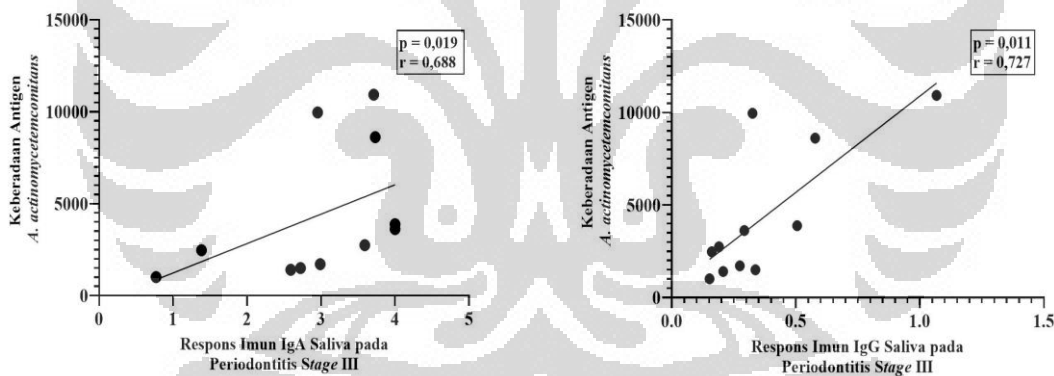
Uji Kruskal-Wallis juga digunakan untuk menganalisis perbedaan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *C. albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*. Sama halnya dengan respons imun IgA, pada respons imun IgG terdapat perbedaan signifikan terhadap antigen *F. nucleatum* ($p=0,011$) dan *Candida albicans* ($p=0,015$) berdasarkan tingkat keparahan periodontitis. Nilai median (min-maks) *optical density* respons imun IgG saliva terhadap antigen *F. nucleatum* adalah Normal: 1,14 (0,20-8,70); *Stage* I: 0,38 (0,32-0,76); *Stage* II: 0,64 (0,23-3,14); *Stage* III: 0,40 (0,13-0,47); *Stage* IV: 1,29 (1,10-9,40). Nilai median (min-maks) *optical density* respons imun IgG saliva terhadap antigen *C. albicans* adalah Normal: 0,20 (0,04-2,38); *Stage* I: 0,09 (0,06-0,37); *Stage* II: 0,26 (0,07-1,43); *Stage* III: 0,18 (0,09-2,32); *Stage* IV: 0,51 (0,40-1,28)



Gambar 5.3 Median Respons Immun IgG Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan *Candida albicans* berdasarkan Tingkat Keparahan Periodontitis. Uji Kruskal-Wallis dan Uji *Post hoc* Mann-Whitney U (*= berbeda bermakna $p < 0,05$); Aa: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; Td: *Treponema denticola*; Pg: *Porphyromonas gingivalis*; Fn: *Fusobacterium nucleatum*; Ca: *Candida albicans*; OD: *Optical Density*

Pada uji *post hoc* Mann-Whitney U (Gambar 5.4) didapatkan bahwa terdapat perbedaan signifikan respons imun IgG terhadap antigen *Fusobacterium nucleatum* antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* I ($p=0,040$), antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* III ($p=0,039$), antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,004$), dan antara kelompok periodontitis *stage* I dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,004$), dan antara kelompok periodontitis *stage* II dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,028$). Perbedaan signifikan juga ditemukan pada respons imun IgG terhadap antigen *Candida albicans* antara kelompok periodontitis *stage* I dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,004$), antara kelompok periodontitis *stage* II dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,015$), dan antara kelompok periodontitis *stage* III dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,006$). Berdasarkan analisis tersebut, terdapat perbedaan respons imun IgG saliva terhadap antigen *F. nucleatum* dan *C. albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage* sehingga **hipotesis minor 3.2.2.3 diterima**.

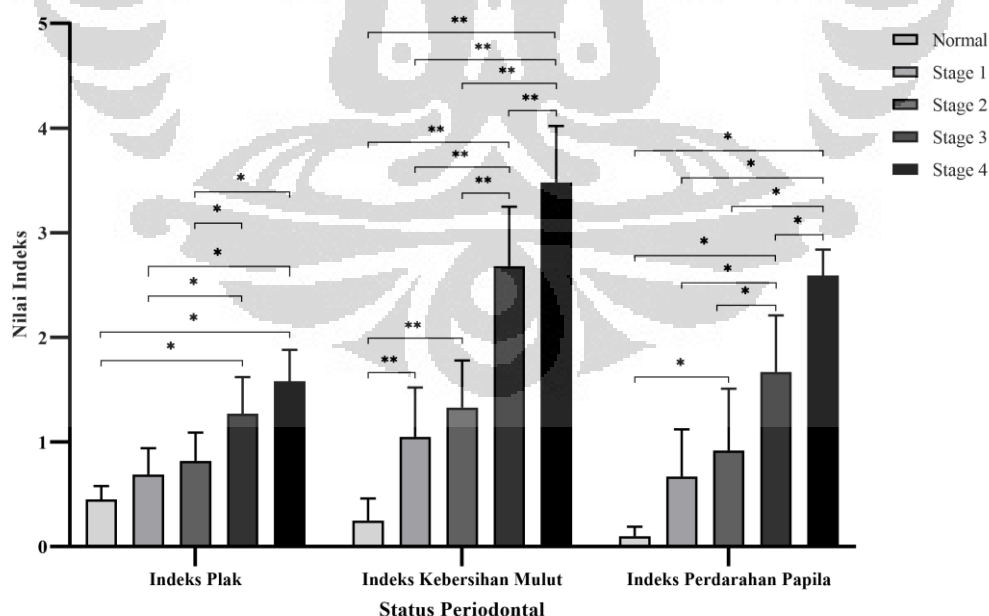
Analisis hubungan antara keberadaan antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* terhadap tingkat keparahan periodontitis dengan respons imun IgA/IgG saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage* menggunakan uji Spearman (Gambar 5.4). Hasil analisis menunjukkan terdapat hubungan linier positif kuat antara keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans* terhadap tingkat keparahan periodontitis dengan respons imun IgA saliva pada subjek periodontitis *stage* III, sehingga hipotesis 3.2.2.4 diterima ($p=0,019$; $r=0,688$) pada tingkat keparahan periodontitis *stage* 3. Demikian pula pada hubungan antara keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans* terhadap tingkat keparahan periodontitis dengan respons imun IgG saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage* menunjukkan terdapat hubungan linier positif kuat pada subjek periodontitis *stage* III, sehingga hipotesis 3.2.2.5 diterima ($p=0,011$; $r=0,727$) pada tingkat keparahan periodontitis *stage* III.



Gambar 5.4 Hubungan Keberadaan Antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan Respons Imun IgA (kiri) dan IgG (kanan) Saliva pada Subjek Periodontitis *Stage* III. Keterangan: Uji Spearman; IgA: Immunoglobulin A; IgG: Immunoglobulin G.

5.3 Analisis Kerangka Konsep Kedua

Pada kerangka konsep ini dilakukan analisis hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* serta respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*. Status periodontal yang diuji adalah indeks plak, indeks kebersihan mulut, dan indeks perdarahan papila. Uji beda ANOVA digunakan untuk menganalisis perbedaan nilai indeks plak serta indeks perdarahan papila terhadap tingkat keparahan periodontitis, sedangkan uji Kruskal-Wallis digunakan untuk menganalisis perbedaan nilai kebersihan mulut terhadap tingkat keparahan periodontitis. Hasil analisis menunjukkan perbedaan signifikan indeks plak ($p=0,000$), indeks kebersihan mulut ($p=0,000$), dan indeks perdarahan papila ($p=0,000$) terhadap tingkat keparahan periodontitis. Nilai rerata dan simpangan baku indeks plak adalah sebagai berikut, Normal: $0,45 \pm 0,13$; *Stage* I: $0,69 \pm 0,25$; *Stage* II: $0,82 \pm 0,27$; *Stage* III: $1,27 \pm 0,35$; *Stage* IV: $1,58 \pm 0,30$. Nilai rerata dan simpangan baku indeks kebersihan mulut adalah Normal: $0,25 \pm 0,21$; *Stage* I: $1,05 \pm 0,47$; *Stage* II: $1,33 \pm 0,45$; *Stage* III: $2,68 \pm 0,57$; *Stage* IV: $3,48 \pm 0,54$. Nilai rerata dan simpangan baku indeks perdarahan papila adalah Normal: $0,10 \pm 0,09$; *Stage* I: $0,67 \pm 0,45$; *Stage* II: $0,92 \pm 0,59$; *Stage* III: $1,67 \pm 0,54$; *Stage* IV: $2,59 \pm 0,25$.



Gambar 5.5 Rerata Nilai Status Periodontal (Indeks Plak, Indeks Kebersihan Mulut, dan Indeks Perdarahan Papila) terhadap Tingkat Keparahan Periodontitis. Uji ANOVA dan Uji *Post hoc* Bonferroni (*= berbeda bermakna $p < 0,05$); Uji Kruskal – Wallis dan Uji *Post hoc* Mann-Whitney U (**= berbeda bermakna $p < 0,05$).

Uji *post hoc* dilakukan untuk menganalisis masing-masing status periodontal terhadap tingkat keparahan periodontitis (Gambar 5.5). Hasil analisis *post hoc* Bonferroni menunjukkan perbedaan signifikan indeks plak antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* III ($p=0,000$), antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,000$), antara kelompok periodontitis *stage* I dengan periodontitis *stage* III ($p=0,005$), antara kelompok periodontitis *stage* I dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,000$), antara kelompok periodontitis *stage* II dengan periodontitis *stage* III ($p=0,013$), dan antara kelompok periodontitis *stage* II dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,000$). Hasil analisis *post hoc* Mann–Whitney U menunjukkan perbedaan signifikan indeks kebersihan mulut antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* I ($p=0,005$), antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* II ($p=0,001$), antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* III ($p=0,000$), antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,001$), antara kelompok periodontitis *stage* I dengan periodontitis *stage* III ($p=0,003$), antara kelompok periodontitis *stage* I dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,004$), antara kelompok periodontitis *stage* II dengan periodontitis *stage* III ($p=0,001$), antara kelompok periodontitis *stage* II dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,001$), dan antara kelompok periodontitis *stage* III dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,023$). Hasil analisis *post hoc* Bonferroni menunjukkan perbedaan signifikan indeks perdarahan papila antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* II ($p=0,008$), antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* III ($p=0,000$), antara kelompok normal dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,000$), antara kelompok periodontitis *stage* I dengan periodontitis *stage* III ($p=0,002$), kelompok periodontitis *stage* I dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,000$), kelompok periodontitis *stage* II dengan periodontitis *stage* III ($p=0,009$), kelompok periodontitis *stage* II dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,000$), dan kelompok periodontitis *stage* III dengan periodontitis *stage* IV ($p=0,001$). Berdasarkan keseluruhan analisis ini, **hipotesis 3.2.2.6 yang menyatakan terdapat perbedaan status periodontal terhadap tingkat keparahan periodontitis diterima.**

Selanjutnya seluruh variabel pada kerangka konsep kedua dikategorikan menjadi dikotom menggunakan analisis *receiver operating characteristic* (ROC) yang ditampilkan pada Lampiran 6. Uji Chi Square dilakukan untuk menganalisis hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans* pada subjek periodontitis berbagai *stage* (Tabel 5.2). Hasil uji tersebut menyatakan tidak terdapat

hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans*, sehingga **hipotesis 3.2.2.7 ditolak**.

Tabel 5.2 Hubungan antara Status Periodontal dengan Keberadaan Antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada Subjek Periodontitis berbagai Stage

| Status Periodontal | Keberadaan <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> | | Nilai p | OR | 95% CI OR (Min-Maks) |
|--------------------------|---|-----------------|---------|-------|----------------------|
| | Rendah n (%) | Tinggi n (%) | | | |
| Indeks Plak | | | 0,295 | 2,857 | 0,636 – 12,844 |
| Ringan | 3 (23,1) | 10 (76,9) | | | |
| Sedang-Berat | 12 (46,2) | 14 (53,8) | | | |
| Indeks Kebersihan Mulut | | | 0,711 | 1,647 | 0,353 – 7,692 |
| Baik | 3 (30,0) | 7 (70,0) | | | |
| Sedang-Buruk | 12 (41,4) | 17 (58,6) | | | |
| Indeks Perdarahan Papila | | | 0,437 | 2,676 | 0,475 – 15,089 |
| Ringan | 2 (22,2) | 7 (77,8) | | | |
| Sedang-Berat | 13 (43,3) | 17 (56,7) | | | |

Keterangan: Uji Chi Square; OR: *Odds ratio*

Uji Chi Square dilakukan untuk menganalisis hubungan antara indeks plak dengan respons imun humoral IgA/IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai stage (Tabel 5.3). Hasil analisis menunjukkan subjek dengan indeks plak sedang-berat mayoritas memiliki respons imun IgA yang rendah terhadap semua antigen, namun tidak terdapat hubungan signifikan antara keduanya, **sehingga hipotesis 3.2.2.8 ditolak**. Hubungan signifikan ditemukan antara indeks plak dengan respons imun IgG saliva terhadap *C. albicans* ($p=0,041$; OR=5,33), namun tidak ada hubungan signifikan antara indeks plak dengan respons imun IgG saliva terhadap bakteri periodontal. Indeks plak yang sedang-berat memiliki respons imun IgG *C. albicans* yang lebih tinggi 5,33 kali dibandingkan indeks plak ringan. Berdasarkan hal ini, **hipotesis 3.2.2.9 yang menyatakan terdapat hubungan antara indeks plak dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen *C. albicans* diterima**.

Tabel 5.3 Hubungan antara Indeks Plak dengan Respons Imun IgA/IgG Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan *Candida albicans* pada Subjek Periodontitis berbagai Stage

| Variabel | Indeks Plak | | Nilai p | OR | 95% CI OR (Min-Maks) |
|---------------------------------|-----------------|-----------------------|---------|-------|----------------------|
| | Ringan n (%) | Sedang-Berat n (%) | | | |
| Respons Imun IgA | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0,131 | 0,278 | 0,064 – 1,200 |
| Tinggi | 6 (54,5) | 5 (45,5) | | | |
| Rendah | 7 (25,0) | 21 (75,0) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0,176 | 0,326 | 0,079 – 1,337 |
| Tinggi | 9 (45,0) | 11 (55,0) | | | |
| Rendah | 4 (21,1) | 15 (78,9) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0,445 | 2,444 | 0,437 – 13,672 |
| Tinggi | 2 (20,0) | 8 (80,0) | | | |
| Rendah | 11 (37,9) | 18 (62,1) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0,176 | 0,326 | 0,079 – 1,337 |
| Tinggi | 9 (45,0) | 11 (55,0) | | | |
| Rendah | 4 (21,1) | 15 (78,9) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0,196 | 0,391 | 0,099 – 1,535 |
| Tinggi | 8 (44,4) | 10 (55,6) | | | |
| Rendah | 5 (23,8) | 16 (76,2) | | | |
| Respons Imun IgG | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0,087 | 4,250 | 1,019 – 17,729 |
| Tinggi | 4 (19,0) | 17 (81,0) | | | |
| Rendah | 9 (50,0) | 9 (50,0) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0,290 | 2,327 | 0,578 – 9,367 |
| Tinggi | 7 (26,9) | 19 (73,1) | | | |
| Rendah | 6 (46,2) | 7 (43,8) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0,090 | 0,278 | 0,069 – 1,119 |
| Tinggi | 8 (50,0) | 8 (50,0) | | | |
| Rendah | 5 (21,7) | 18 (78,3) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0,307 | 0,381 | 0,093 – 1,557 |
| Tinggi | 9 (42,9) | 12 (57,1) | | | |
| Rendah | 4 (22,2) | 14 (77,8) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0,041* | 5,333 | 1,175 – 24,213 |
| Tinggi | 3 (15,8) | 16 (84,2) | | | |
| Rendah | 10 (50,0) | 10 (50,0) | | | |

Keterangan: Uji Chi Square; OR: Odds ratio; *= berbeda bermakna $p < 0,05$

Uji Chi Square dilakukan untuk menganalisis hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun humoral IgA/IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai stage (Tabel 5.4). Hasil analisis menunjukkan terdapat hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans* ($p=0,008$; OR=0,112) dan *C. albicans* ($p=0,031$; OR=0,153). Indeks kebersihan mulut yang sedang-buruk memiliki respons imun IgA *A. actinomycetemcomitans* yang lebih tinggi 0,112 kali dibandingkan indeks kebersihan mulut baik. Indeks kebersihan mulut yang sedang-buruk memiliki respons imun IgA *C. albicans* yang lebih tinggi 0,153 kali dibandingkan indeks

kebersihan mulut baik. Berdasarkan hal ini **hipotesis 3.2.2.10 diterima** untuk kedua respons imun IgA tersebut, namun tidak terdapat hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *C. albicans* sehingga **hipotesis 3.2.2.11 ditolak**.

Tabel 5.4 Hubungan antara Indeks Kebersihan Mulut dengan Respons Imun IgA/IgG Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan *Candida albicans* pada Subjek Periodontitis berbagai *Stage*

| Variabel | Indeks Kebersihan Mulut | | Nilai p | OR | 95% CI OR (Min-Maks) |
|---------------------------------|-------------------------|-----------------------|---------|-------|----------------------|
| | Baik n (%) | Sedang-Buruk n (%) | | | |
| Respons Imun IgA | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0,008* | 0,112 | 0,022 – 0,567 |
| Tinggi | 7 (53,8) | 6 (46,2) | | | |
| Rendah | 3 (11,5) | 23 (88,5) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0,065 | 0,176 | 0,032 – 0,982 |
| Tinggi | 8 (40,0) | 12 (60,0) | | | |
| Rendah | 2 (10,5) | 17 (89,5) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0,057 | 0,119 | 0,013 – 1,064 |
| Tinggi | 9 (37,5) | 15 (62,5) | | | |
| Rendah | 1 (6,7) | 14 (93,3) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0,065 | 0,176 | 0,032 – 0,982 |
| Tinggi | 8 (40,0) | 12 (60,0) | | | |
| Rendah | 2 (10,5) | 17 (89,5) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0,031* | 0,153 | 0,027 – 0,854 |
| Tinggi | 8 (42,1) | 11 (57,9) | | | |
| Rendah | 2 (10,0) | 18 (90,0) | | | |
| Respons Imun IgG | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0,464 | 2,187 | 0,469 – 10,119 |
| Tinggi | 3 (17,6) | 14 (82,4) | | | |
| Rendah | 7 (31,8) | 15 (68,2) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0,141 | 0,262 | 0,056 – 1,230 |
| Tinggi | 7 (38,9) | 11 (61,1) | | | |
| Rendah | 3 (14,3) | 18 (85,7) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0,264 | 0,351 | 0,080 – 1,540 |
| Tinggi | 6 (37,5) | 10 (62,5) | | | |
| Rendah | 4 (17,4) | 19 (82,6) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0,065 | 0,176 | 0,032 – 0,982 |
| Tinggi | 8 (40,0) | 12 (60,0) | | | |
| Rendah | 2 (10,5) | 17 (89,5) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0,290 | 2,500 | 0,538 – 11,617 |
| Tinggi | 3 (16,7) | 15 (83,3) | | | |
| Rendah | 7 (33,3) | 14 (66,7) | | | |

Keterangan: Uji Chi Square; OR: *Odds ratio*

*= berbeda bermakna $p < 0,05$

Uji Chi Square dilakukan untuk menganalisis hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun humoral IgA/IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage* (Tabel 5.5). Hasil analisis menunjukkan terdapat hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans* ($p=0,003$; OR=0,071), *F. nucleatum* ($p=0,002$; OR=0,083), dan *C. albicans* ($p=0,008$; OR=0,072), namun tidak terdapat hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *C. albicans*. Indeks perdarahan papila yang sedang-berat memiliki respons imun IgA *A. actinomycetemcomitans* yang lebih tinggi 0,071 kali dibandingkan indeks kebersihan mulut baik. Indeks perdarahan papila yang sedang-berat memiliki respons imun IgA *F. nucleatum* yang lebih tinggi 0,083 kali dibandingkan indeks kebersihan mulut baik. Indeks perdarahan papila yang sedang-berat memiliki respons imun IgA *C. albicans* yang lebih tinggi 0,072 kali dibandingkan indeks kebersihan mulut baik. Berdasarkan hal ini, **hipotesis 3.2.2.12 diterima** untuk hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgA terhadap *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, dan *C. albicans*; sedangkan **hipotesis 3.2.2.13** yang menyatakan terdapat hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *C. albicans* **ditolak**.

Tabel 5.5 Hubungan antara Indeks Perdarahan Papila dengan Respons Imun IgA/IgG Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan *Candida albicans* pada Subjek Periodontitis berbagai Stage

| Variabel | Indeks Perdarahan Papila | | Nilai p | OR | 95% CI OR (Min-Maks) |
|---------------------------------|--------------------------|-----------------------|---------|-------|----------------------|
| | Ringan n (%) | Sedang-Berat n (%) | | | |
| Respons Imun IgA | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0,003* | 0,071 | 0,012 – 0,436 |
| Tinggi | 7 (53,8) | 6 (46,2) | | | |
| Rendah | 2 (7,7) | 24 (92,3) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0,055 | 0,165 | 0,029 – 0,941 |
| Tinggi | 7 (38,9) | 11 (61,1) | | | |
| Rendah | 2 (9,5) | 19 (90,5) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0,056 | 0,125 | 0,014 – 1,127 |
| Tinggi | 8 (34,8) | 15 (65,2) | | | |
| Rendah | 1 (6,3) | 15 (93,8) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0,020* | 0,083 | 0,009 – 0,775 |
| Tinggi | 8 (40,0) | 12 (60,0) | | | |
| Rendah | 1 (5,3) | 18 (94,7) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0,008* | 0,072 | 0,008 – 0,658 |
| Tinggi | 8 (42,1) | 11 (57,9) | | | |
| Rendah | 1 (5,0) | 19 (95,0) | | | |
| Respons Imun IgG | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0,440 | 0,436 | 0,075 – 2,523 |
| Tinggi | 6 (26,1) | 17 (73,9) | | | |
| Rendah | 2 (13,3) | 13 (86,7) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0,055 | 0,165 | 0,029 – 0,941 |
| Tinggi | 7 (38,9) | 11 (61,1) | | | |
| Rendah | 2 (9,5) | 19 (90,5) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0,197 | 0,313 | 0,064 – 1,533 |
| Tinggi | 4 (40,0) | 6 (60,0) | | | |
| Rendah | 5 (17,2) | 24 (82,8) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0,355 | 0,400 | 0,074 – 2,159 |
| Tinggi | 3 (37,5) | 5 (62,5) | | | |
| Rendah | 6 (19,4) | 25 (80,6) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0,319 | 0,308 | 0,054 – 1,754 |
| Tinggi | 3 (42,9) | 4 (57,1) | | | |
| Rendah | 6 (18,8) | 26 (81,3) | | | |

Keterangan: Uji Chi Square; OR: *Odds ratio*; *= berbeda bermakna $p < 0,05$

BAB 6 PEMBAHASAN

Periodontitis merupakan hasil dari interaksi yang kompleks antara disbiosis polimikroba oral dan perubahan respons imun *host*. Perubahan *abundance* relatif patogen periodontal yang pada umumnya merupakan bakteri Gram negatif teridentifikasi berkolonisasi di daerah subgingiva gigi tersebut.⁵⁸ Pada disbiosis terjadi ketidakseimbangan antara respons imun *innate* yang berperan dalam memantau perilaku komensal mikroorganisme pada permukaan supragingiva. Peran *surveillance* ini terutama oleh sel neutrofil dan sel dendritik. Disbiosis terjadi karena adanya spesies *keystone* yang memanipulasi respons imun *innate* melalui interaksinya dengan komplemen. Dampak dari *innate immune subvert* ini adalah terbentuknya akses masuk bakteri pada biofilm supragingiva ke dalam regio subgingiva. Bakteri dari berbagai spesies ini selanjutnya hidup secara simbiosis dalam biofilm subgingiva dan bersinergis dalam mendapatkan dan menyediakan nutrisi.¹⁷

6.1 Pembahasan Kerangka Konsep Pertama

Pada penelitian ini dilakukan deteksi pada spesies yg merupakan sumber antigen terkait dengan patogenesis periodontitis. Keberadaan antigen empat bakteri periodontal (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *F. nucleatum*) dan *C. albicans* kemudian dianalisis hubungan dengan respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* adalah bakteri Gram negatif fakultatif yang berperan penting pada periodontitis. Berbagai macam metode digunakan untuk menentukan keberadaan mikroba oral, diantaranya: *predominant cultivable*, media selektif, imunofloresens, PCR, qPCR, dan DNA-DNA *hybridization*.⁵⁸ Pada penelitian ini, keberadaan antigen ditentukan dengan teknik *western blot* menggunakan antibodi primer poliklonal *rabbit* yang dikembangkan oleh Lab Biologi Oral FKGUI bekerjasama dengan Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Antigen *A. actinomycetemcomitans* berhasil terdeteksi pada sampel saliva. Bakteri ini menghasilkan molekul *quorum-sensing autoinducer-2* yang secara *in vitro* menghambat pembentukan hifa *C. albicans* dan biofilm.^{135,136} Hal tersebut diperkuat dengan penemuan tidak terdeteksinya antigen *C. albicans* pada penelitian ini. Keberadaan antigen ini paling

banyak ditemukan pada kelompok periodontitis *stage IV*, meskipun tidak terdapat perbedaan signifikan dengan tingkat keparahan periodontitis.

Respons imun IgA dan IgG saliva terhadap antigen *F. nucleatum* dan *C. albicans* menunjukkan perbedaan signifikan berdasarkan tingkat keparahan periodontitis. Mikroorganisme *orange complex* tersebut merupakan patogen oral penyakit periodontal oportunistik dan dikenal kemampuan adhesinya ke beberapa bakteri oral. Bakteri ini dapat mengikat bakteri-bakteri lain dan dianggap sebagai organisme “penghubung” yang menjembatani koloni komensal yang umumnya patogen periodontal.¹³⁷ Keberadaan bakteri *orange complex* ini sangat penting, yang tanpanya agresivitas *red complex* tidak akan bertahan di dalam rongga mulut.¹³⁸ Penemuan adhesin (FadA) pada bakteri *F. nucleatum* menjadikan bakteri ini semakin banyak diteliti.¹³⁹ Implikasi *F. nucleatum* tidak hanya pada penyakit periodontal, namun juga terjadi pada berbagai kondisi sistemik seperti penyakit jantung, *adverse pregnancy outcome*, gangguan gastrointestinal, rheumatoid arthritis, diabetes melitus, hingga kanker lambung. Bakteri ini bahkan memiliki sensitivitas yang sangat baik hingga dapat dipertimbangkan sebagai marker diagnostik untuk skrining pasien kanker lambung.¹⁴⁰ FadA dapat mengikat sel endotel dan memfasilitasi invasi peri-seluler serta invasi langsung ke dalam sel *host* sehingga berpotensi terjadi mekanisme penyebaran sistemik. Permeabilitas sel endotel yang meningkat akan memudahkan bakteri sekitar penetrasi.¹⁴¹

Fusobacterium nucleatum sangat rentan terhadap sitokin dan fagositosis sehingga menginduksi respons imun yang rendah, namun dalam beberapa kondisi dapat memicu respons inflamasi dengan meningkatkan kadar sitokin proinflamasi dan metaloproteinase. Sitokin dan enzim tersebut diantaranya IL-8, MMP-9 dan MMP-13 perannya meningkatkan migrasi sel dan kelangsungan hidup sel epitel yang terinfeksi.¹⁴² Peran besar lain bakteri ini adalah mengganggu respons imun. *Fusobacterium nucleatum* dapat memicu terjadinya apoptosis sel polimorfonuklear dan mononuklear darah tepi dan menurunkan fungsi sel B dan sel T.¹⁴³ Bakteri ini secara signifikan memengaruhi fungsi neutrofil dengan meningkatkan kemampuan fagositik neutrofil.¹⁴⁴ Serine protease yang terdapat pada *F. nucleatum* dapat mendegradasi rantai α pada molekul IgA, sehingga dapat menghindari sistem imun *host*.¹⁴⁵

Pada penelitian ini respons imun IgA dan IgG memiliki perbedaan signifikan serta cenderung meningkat sesuai dengan tingkat keparahan periodontitis. Respons imun IgA dan IgG saliva terhadap terhadap antigen *F. nucleatum* pada periodontitis *stage IV* tidak ada perbedaan signifikan dengan subjek normal. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Papapanou dkk. yang menyatakan secara keseluruhan terdapat stabilitas titer serum antibodi IgG terhadap bakteri periodontal selama lebih dari 30 bulan pada subjek periodontitis dan normal. Penurunan titer antibodi hanya terjadi sementara setelah penatalaksanaan periodontitis dengan hubungan yang signifikan terhadap perkembangan progresivitas periodontitis.¹⁴⁶ Kerentanan *host* mungkin tidak hanya menjadi penentu transisi dari simbiosis ke disbiosis mikrobiota, tetapi dapat mendasari predisposisi *host* untuk mengembangkan inflamasi yang cukup dalam menyebabkan kerusakan jaringan ireversibel. Pada individu yang dapat mentoleransi konversi mikrobiota simbiosis menjadi disbiosis, *host* tersebut akan rentan terhadap disbiosis tetapi tidak terhadap kerusakan jaringan periodontal.²⁵

Pada rongga mulut *C. albicans* tidak hanya ditemukan pada permukaan mukosa dan saliva, namun juga di poket periodontal. Hal ini menunjukkan bahwa *C. albicans* mungkin terlibat dalam patogenesis periodontitis.³² Spesies ini menggunakan perubahan morfologi dan fisiologinya untuk beradaptasi dengan *host* individu sehat ataupun yang *immunocompromised*. Respons adaptif ini meningkatkan ketahanan hidupnya serta berubah menjadi patogen. Bentuk sel *C. albicans* dapat berupa *yeast-like* atau filamen (hifa). Kedua bentuk ini terlibat dalam kolonisasi *host*.¹⁴⁷ Canabaro dkk. menemukan peran *C. albicans* terhadap keparahan periodontitis.⁸² Pada penelitian ini respons imun IgA dan IgG terhadap *C. albicans* meningkat seiring dengan keparahan periodontitis.

Interaksi *C. albicans* dengan bakteri-bakteri periodontal terjadi di dalam rongga mulut. *Fusobacterium nucleatum* menunjukkan kemampuan yang baik untuk melekat pada *C. albicans*.¹⁴⁸ Wu dkk. menemukan adanya komponen karbohidrat pada permukaan *C. albicans* dan komponen protein pada permukaan *F. nucleatum* yang memediasi koadherensi kedua spesies ini.¹⁴⁹ Mekanisme pertahanan alami dan nonspesifik secara umum efektif dalam mencegah infeksi jamur rongga mulut. Mekanisme *innate* tersebut diantaranya alir saliva dan histatin yang merupakan komponen antimikroba namun efektif melawan *C. albicans*. Sebagian besar rongga mulut dikolonisasi oleh bakteri dan *C. albicans* harus bersaing untuk mendapatkan nutrisi. Kebanyakan fungi mengaktifkan

komplemen melalui jalur alternatif dilapisi oleh fragmen C3 dan melekat pada polimorfonuklear leukosit, monosit dan makrofag. Respons inisial pertahanan *host* melalui PAMPs *C. albicans* akan dikenali oleh PRR pada APC. Toll-like *receptor*-2 dan TLR-4 akan mengenali permukaan *mannan* (fungus β -glucan) dan memicu respons imun *innate* maupun respons imun adaptif.¹⁵⁰

Beberapa penelitian menunjukkan peningkatan serum antibodi IgA dan IgG terhadap *A. actinomycetemcomitans* pada awal keparahan penyakit sistemik seperti penyakit kardiovaskular, diabetes, dan rheumatoid arthritis.^{151–153} Respons imun IgG saliva terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans* berdasarkan tingkat keparahan periodontitis tidak terdapat perbedaan signifikan, namun memiliki kecenderungan meningkat pada periodontitis *stage* IV. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan Isola dkk. yang menyatakan subjek dengan periodontitis memiliki titer serum IgG terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans* lebih tinggi dibandingkan dengan subjek periodontal sehat.¹⁵⁴ Gadekar dkk. juga menunjukkan bahwa serum maupun saliva IgA dan IgG terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans* lebih tinggi pada subjek periodontitis kronis dibandingkan subjek periodontal sehat.¹⁵⁵ Keberadaan bakteri ini bila dihubungkan dengan respons imun IgA dan IgG pada masing-masing keparahan periodontitis berkorelasi pada periodontitis *stage* III. Peneliti menduga hasil tersebut dikarenakan pada *stage* III jumlah gigi yang terlibat periodontitis lebih banyak dibandingkan pada periodontitis *stage* IV. Berdasarkan klasifikasi keparahan periodontitis terbaru, *stage* III dan IV memiliki *clinical attachment loss* yang sama yaitu ≥ 5 mm, namun jumlah kehilangan gigi lebih banyak pada *stage* IV dibandingkan *stage* III.⁵⁶

Respons imun humoral IgA dan IgG terhadap *P. gingivalis* berdasarkan keparahan periodontitis tidak menunjukkan perbedaan signifikan. Hasil ini menguatkan hipotesis *keystone pathogen* oleh Hajishengallis dkk. yang menyatakan bahwa *P. gingivalis* dan virulensinya dapat menekan respons imun.¹⁷ Temuan ini didukung pula oleh penelitian *in vivo* yang membuktikan *P. gingivalis* dengan tingkat kolonisasi yang rendah dapat menginduksi periodontitis dengan cara memengaruhi bakteri komensal lainnya sehingga terjadi inflamasi dan kerusakan tulang alveolar. Kemampuan *P. gingivalis* ini tetap membutuhkan partisipasi mikrobiota komensal lainnya. Hal tersebut dibuktikan dengan eksperimen gagalnya *P. gingivalis* saja menyebabkan periodontitis pada tikus *germ free*.¹¹

Porphyromonas gingivalis tidak dapat menginduksi disbiosis dan periodontitis pada model tikus konvensional apabila kekurangan reseptor seluler yang dibutuhkan untuk meruntuhkan pertahanan leukosit.^{11,156} Oleh karena itu, *Arg-specific cysteine proteinases* (gingipains) dari *P. gingivalis* mengaktifkan komplemen C5 *convertase-like* yang akan mengaktifasi reseptor C5a pada leukosit. Sinyal reseptor ini terlibat pada *crosstalk* dengan *toll like receptor-2* (TLR2) yang secara paralel akan diaktivasi oleh ligan permukaan *P. gingivalis* sehingga meningkatkan terjadinya inflamasi, namun menurunkan kemampuan ‘membunuh’ leukosit.^{156,157} Bakteri ini juga dapat mencegah aktivasi jalur antimikroba dependen TLR4 pada leukosit dengan adanya ekspresi lipopolisakarida disertai *4-acyl monophosphorylated lipid A* yang menjadi antagonis TLR4.⁵⁴ *Porphyromonas gingivalis* juga dapat menghambat sintesis IL-8 oleh sel epitel yang berfungsi untuk mengerahkan neutrofil ke daerah krevikular gingiva.¹⁵⁸

6.2 Pembahasan Kerangka Konsep Kedua

Ada tiga status periodontal yang dinilai sebagai parameter klinis pada penelitian ini yaitu indeks plak, indeks kebersihan mulut, dan indeks perdarahan papila. Status periodontal tersebut berhubungan signifikan terhadap tingkat keparahan periodontitis berdasarkan klasifikasi penyakit periodontal oleh *American Academy of Periodontology* (AAP) dan *European Federation of Periodontology* (EFP) tahun 2017. Indeks plak dan indeks kebersihan mulut terbukti berhubungan signifikan terhadap tingkat keparahan periodontitis. Nilai kedua indeks tersebut semakin tinggi seiring dengan meningkatnya tingkat keparahan periodontitis (*stage* I-IV). Plak gigi merupakan komunitas mikroorganisme yang ditemukan pada permukaan gigi sebagai biofilm.¹⁵⁹ Perlekatan mikroorganisme ke gigi dimediasi oleh reseptor pada *acquired pellicle* yang tersusun atas produk-produk *host* dan bakteri.¹⁶⁰ Akumulasi plak gigi dan kebersihan mulut diketahui sebagai faktor risiko terhadap periodontitis. Lertpimonchai dkk. menyatakan dalam studi meta-analisisnya bahwa kebersihan mulut sedang dan buruk dapat meningkatkan dua sampai lima kali risiko periodontitis dibandingkan dengan kebersihan mulut baik.¹⁶¹

Inflamasi periodontal secara klinis dinilai dengan indeks perdarahan papila. Pada penelitian ini ditemukan bahwa indeks perdarahan papila juga berkorelasi signifikan terhadap keparahan periodontitis. Nilai indeks perdarahan papila semakin tinggi seiring dengan meningkatnya tingkat keparahan periodontitis. *Bleeding on probing* merupakan

indikator respons inflamasi jaringan terhadap patogen bakteri.¹⁶² Selanjutnya, pada penelitian ini status periodontal dihubungkan dengan keberadaan antigen bakteri periodontal yang terdeteksi yaitu antigen *A. actinomycetemcomitans*. Indeks plak, indeks kebersihan mulut, dan indeks perdarahan papila tidak mempunyai hubungan terhadap keberadaan *A. actinomycetemcomitans*.

Respons imun terhadap *C. albicans* paling berperan saat dihubungkan dengan status periodontal. Hal ini ditunjukkan oleh hubungan signifikan antara indeks plak dengan respons imun IgG terhadap *C. albicans*, indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgA terhadap *C. albicans*, dan indeks perdarahan papila dengan respons imun IgA terhadap *C. albicans*. Peran *C. albicans* dinyatakan oleh Fox dkk. bahwa *C. albicans* menciptakan biofilm yang menyediakan lingkungan mikro hipoksia di dalam komunitas biofilm dan mendukung pertumbuhan beberapa bakteri anaerob, bahkan dalam kondisi aerobik yang biasanya beracun bagi bakteri tersebut.¹⁶³

Sepengetahuan penulis, penelitian yang mengaitkan status periodontal terhadap keberadaan antigen dan respons imun humoral IgA dan IgG saliva terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *F. nucleatum* dan *C. albicans* berdasarkan klasifikasi periodontitis terbaru merupakan penelitian yang pertama di Indonesia. Keterbatasan pada penelitian ini adalah pada desain penelitian *cross-sectional* yang tidak dapat menganalisis hubungan secara longitudinal. Stratifikasi berdasarkan keparahan periodontitis (*stage*) telah dilakukan pada penelitian ini, namun tidak mengevaluasi progresivitas periodontitis (*grade*). Penelitian ini juga tidak melakukan pengambilan serta perbandingan dengan sampel serum darah.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

- 7.1.1 Antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ditemukan terbanyak pada saliva kelompok periodontitis yang paling parah yaitu *stage IV*.
- 7.1.2 Respons imun IgA maupun IgG saliva terhadap antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* berkorelasi terhadap tingkat keparahan *stage III*.
- 7.1.3 Respons imun IgA serta IgG saliva terhadap antigen *Fusobacterium nucleatum* dan *Candida albicans* dapat menjadi biomarker keparahan periodontitis.
- 7.1.4 Indeks plak, indeks kebersihan mulut, dan indeks perdarahan papila merupakan parameter klinis periodontal yang berperan pada tingkat keparahan periodontitis.
- 7.1.5 Indeks plak memengaruhi respons imun IgG saliva terhadap *Candida albicans*, indeks kebersihan mulut memengaruhi respons imun IgA saliva terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Candida albicans*, serta Indeks perdarahan papila memengaruhi respons imun IgA saliva terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* dan *Candida albicans*.

7.2 Saran

- 7.2.1 Penelitian longitudinal dilakukan untuk mengevaluasi progresivitas periodontitis (*grade*).
- 7.2.2 Penelitian lanjutan dilakukan untuk membandingkan respons imun IgA dan IgG dari sampel serum darah dan cairan krevikular gingiva.
- 7.2.3 Deteksi respons imun IgA serta IgG saliva terhadap antigen *Fusobacterium nucleatum* dan *Candida albicans* dapat menjadi alat skrining keparahan periodontitis (*stage*).
- 7.2.4 Penelitian lanjutan dilakukan untuk mendapatkan kit skrining saliva yang dapat memprediksi keparahan periodontitis berdasarkan antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan antibodinya, serta respons antibodi terhadap antigen *Fusobacterium nucleatum* dan *Candida albicans* isolat Indonesia.

DAFTAR REFERENSI

1. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal Diseases. *Lancet*. 2005;366(9499):1809-20.
2. Albandar JM, Rams TE. Global Epidemiology of Periodontal Diseases: An Overview. *Periodontol 2000*. 2002;29(1):7-10.
3. Armitage GC, Robertson PB. The Biology, Prevention, Diagnosis and Treatment of Periodontal Diseases. *J Am Dent Assoc*. 2012;140(September):S36-S43.
4. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, *et al*. Periodontitis: Consensus Report of Workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018;89(Suppl 1):S173-S182.
5. Vos T, Abajobir AA, Abbafati C, *et al*. Global, Regional, and National Incidence, Prevalence, and Years Lived with Disability for 328 Diseases and Injuries for 195 Countries, 1990-2016: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 2017. 390(10100):1211-59.
6. Sanz M, D'aiuto F, Deanfield J, *et al*. European Workshop in Periodontal Health and Cardiovascular Disease - Scientific Evidence on the Association Between Periodontal and Cardiovascular Diseases: A Review of The Literature. *European Heart Journal Supplement*; 2010. 12 (Supplement B), B3-B12.
7. Jin LJ, Lamster IB, Greenspan JS, *et al*. Global Burden of Oral Diseases: Emerging Concepts, Management, and Interplay with Systemic Health. *Oral Dis*. 2016. 22(7):609-19.
8. Jepsen S, Blanco J, Buchalla W, *et al*. Prevention and Control of Dental Caries and Periodontal Diseases at Individual and Population Level: Consensus Report of Group 3 of Joint EFP/ORCA Workshop on The Boundaries Between Caries and Periodontal Diseases. *J Clin Periodontol*. 2017. 44 (Suppl 18):S85-S93.
9. Kemenkes RI. Kesehatan Gigi dan Mulut. In: *Laporan Nasional Riskesdas 2018*. 2018.181-220.
10. G. Caton J, Armitage G, Berglundh T, *et al*. A New Classification Scheme for Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions – Introduction and Key Changes from The 1999 Classification. *J Clin Periodontol*. 2018;45(Maret):S1-S8.
11. Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, *et al*. Low-abundance Biofilm Species Orchestrates Inflammatory Periodontal Disease Through the Commensal Microbiota and Complement. *Cell Host Microbe*. 2011.10(5):497-506.
12. Sanz M, Beighton D, Curtis MA, *et al*. Role of Microbial Biofilms in The Maintenance of Oral Health and in The Development of Dental Caries and Periodontal Diseases. Consensus Report of Group 1 of The Joint EFP/ORCA Workshop on The Boundaries Between Caries and Periodontal Disease. *J Clin Periodontol*. 2017. 4 (Suppl 18):S5-S11.
13. Herrera D, Contreras A, Gamonal J, *et al*. Subgingival Microbial Profiles in Chronic Periodontitis Patients from Chile, Colombia, and Spain. *J Clin Periodontol*. 2008. 35(2):106-13.
14. Radaic A, Kapila YL. The Oralome and Its Dysbiosis: New Insights into Oral Microbiome-Host Interactions. *Comput Struct Biotechnol J*. 2021. 19:1335-60.
15. Marsh PD. Are Dental Diseases Examples of Ecological Catastrophes? *Microbiology*. 2003. 149(Pt 2):279-94.

16. Van Dyke TE, Bartold PM, Reynolds EC. The Nexus Between Periodontal Inflammation and Dysbiosis. *Front Immunol.* 2020.11(511):1-9.
17. Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The Keystone-Pathogen Hypothesis. *Nat Rev Microbiol.* 2012. 10(10): 717–25.
18. Darveau RP, Hajishengallis G, Curtis MA. *Porphyromonas gingivalis* As a Potential Community Activist for Disease. *J Dent Res.* 2012;91(9):816-20.
19. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The Oral Microbiota: Dynamic Communities and Host Interactions. *Nat Rev Microbiol.* 2018;16(12):745-59.
20. Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond The Red Complex and into More Complexity: The Polymicrobial Synergy and Dysbiosis (PSD) Model of Periodontal Disease Etiology. *Mol Oral Microbiol.* 27(6):409-19
21. Genco RJ, Borgnakke WS. Risk Factors for Periodontal Disease. *Periodontol 2000.* 2013;62:59-94.
22. Nibali L. Aggressive Periodontitis: Microbes and Host Response, Who to Blame? *Virulence.* 2015;6(3):223-8.
23. Hajishengallis G, Lambris JD. Microbial Manipulation of Receptor Crosstalk in Innate Immunity. *Nat Rev Immunol.* 2011. 11(3):187-200.
24. Barth K, Remick DG, Genco CA. Disruption of Immune Regulation by Microbial Pathogens and Resulting Chronic Inflammation. *J Cell Physiol.* 2013. 228(7): 1413-22.
25. Hajishengallis G. Immunomicrobial Pathogenesis of Periodontitis: Keystones, Pathobionts, and Host Response. *Trends Immunol.* 2014;35(1):3-11.
26. Diaz PI, Zilm PS, Rogers AH. *Fusobacterium nucleatum* Supports The Growth of *Porphyromonas gingivalis* in Oxygenated and Carbon-Dioxide-Depleted Environments. *Microbiology.* 2002.148(Pt 2):467-72.
27. Grenier D. Nutritional Interactions Between Two Suspected Periodontopathogens, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 1992. 60(12):5298-301.
28. Meuric V, Martin B, Guyodo H, *et al.* *Treponema denticola* Improves Adhesive Capacities of *Porphyromonas gingivalis*. *Mol Oral Microbiol.* 2013. 28(1):40-53.
29. Kesavalu L, Holt SC, Ebersole JL. Virulence of A Polymicrobial Complex, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis*, in A Murine Model. *Oral Microbiol Immunol.* 1998. 13(6):373-7.
30. Kesavalu L, Sathishkumar S, Bakthavatchalu V, *et al.* Rat Model of Polymicrobial Infection, Immunity, and Alveolar Bone Resorption in Periodontal Disease. *Infect Immun.* 2007. 75(4):1704-12.
31. Sztukowska MN, Dutton LC, Delaney C, *et al.* Community Development Between *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans* Mediated by inIJ and Als3. *MBio.* 2018. 9:e00202-18.
32. Urzua B, Hermosilla G, Gamonal J, *et al.* Yeast Diversity in The Oral Microbiota of Subjects with Periodontitis: *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* Colonize The Periodontal Pockets. *Med Mycol.* 2008;46(8):783-93.
33. Järvensivu A, Hietanen J, Rautemaa R, *et al.* Candida Yeasts in Chronic Periodontitis Tissues and Subgingival Microbial Biofilms *in vivo*. *Oral Dis.* 2004;10(2):106-12.
34. Reynaud AH, Nygaard-Østby B, Bøygard GK, *et al.* Yeasts in Periodontal Pockets. *J Clin Periodontol.* 2001;28(9):860-4.

35. Bostanci N, Heywood W, Mills K, *et al.* Application of Label-Free Absolute Quantitative Proteomics in Human Gingival Crevicular Fluid by LC/MS (Gingival Exudatome). *J Proteome Res.* 2010;9(5):2191-9.
36. Gao H, Hou J, Meng H, *et al.* Proinflammatory Effects and Mechanisms of Calprotectin on Human Gingival Fibroblasts. *J Periodontal Res.* 2017;52(6):975-83.
37. Wu Y, Shu R, Luo LJ, *et al.* Initial Comparison of Proteomic Profiles of Whole Unstimulated Saliva Obtained from Generalized Aggressive Periodontitis Patients and Healthy Control Subjects. *J Periodontal Res.* 2009;44(5):636-44.
38. Hajishengallis G, Korostoff JM. The Immune System and Its Function. In: *Oral Microbiology and Immunology.* 3rd ed. John Wiley & Sons; 2020:29-51.
39. Hajishengallis E, Hajishengallis G. Immunology of The Oral Cavity. In: *Oral Microbiology and Immunology.* 3rd ed. John Wiley & Sons; 2020:227-48.
40. Shilpashree HS, Sarapur S. Evaluation of Salivary Immunoglobulin A Levels in Tobacco Smokers and Patients with Recurrent Aphthous Ulcers. *J Nat Sci Biol Med.* 2012. 3(2):177-81.
41. Sistig S, Vučićević-Boras V, Lukač J, *et al.* Salivary IgA and IgG Subclasses in Oral Mucosal Diseases. *Oral Dis.* 2002. 8(6):282-6.
42. Berglundh T, Liljenberg B, Tarkowski A, *et al.* The Presence of Local and Circulating Autoreactive B Cells in Patients with Advanced Periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2002. 29(4):281-6.
43. Figueredo CM, Lira-Junior R, Love RM. T and B Cells in Periodontal Disease: New Functions in A Complex Scenario. *Int J Mol Sci.* 2019. 20(16): 3949.
44. Monari E, Cuoghi A, Bellei E, *et al.* Analysis of Protein Expression in Periodontal Pocket Tissue: A Preliminary Study. *Proteome Sci.* 2015;13(1):1-11.
45. Huynh AHS, Veith PD, Mcgregor NR, *et al.* Gingival Crevicular Fluid Proteomes in Health, Gingivitis, and Chronic Periodontitis. *J Periodontal Res.* 2014;50(5):637-49.
46. Baliban RC, Sakellari D, Li Z, *et al.* Novel Protein Identification Methods for Biomarker Discovery via A Proteomic Analysis of Periodontally Healthy and Diseased Gingival Crevicular Fluid Samples. *J Clin Periodontol.* 2012;39(3):203-12.
47. Mizuno N, Niitani M, Shiba H, *et al.* Proteome Analysis of Proteins Related to Aggressive Periodontitis Combined with Neutrophil Chemotaxis Dysfunction. *J Clin Periodontol.* 2011;38(4):310-7.
48. Pham TK, Roy S, Noirel J, *et al.* A Quantitative Proteomic Analysis of Biofilm Adaptation by The Periodontal Pathogen *Tannerella forsythia.* *Proteomics.* 2010;10(17):3130-41.
49. Proctor GB. The Physiology of Salivary Secretion. *Periodontol 2000.* 2016;70(1):11-25.
50. Abusleme L, Dupuy AK, Dutzan N, *et al.* The Subgingival Microbiome in Health and Periodontitis and Its Relationship with Community Biomass and Inflammation. *ISME J.* 2013. 7(5):1016-25.
51. Griffen AL, Beall CJ, Campbell JH, *et al.* Distinct and Complex Bacterial Profiles in Human Periodontitis and Health Revealed by 16S Pyrosequencing. *ISME J.* 2012;6:1176-85.
52. Jorth P, Turner KH, Gumus P, *et al.* Metatranscriptomics of The Human Oral Microbiome During Health and Disease. *MBio.* 2014;5(2): e01012-14.

53. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, *et al.* The Human Oral Microbiome. *J Bacteriol.* 2010;192(19):5002-17.
54. Darveau RP. Periodontitis: A Polymicrobial Disruption of Host Homeostasis. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8(7):481-90.
55. Rosier BT, De Jager M, Zaura E, *et al.* Historical and Contemporary Hypotheses on The Development of Oral Diseases: Are We There Yet? *Front Cell Infect Microbiol.* 2014;4:92.
56. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and Grading of Periodontitis: Framework and Proposal of A New Classification and Case Definition. *J Clin Periodontol.* 2018;45(February):S149-S161.
57. Silva N, Abusleme L, Bravo D, *et al.* Host Response Mechanisms in Periodontal Diseases. *J Appl Oral Sci.* 2015;23(3):329-55.
58. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal Microbial Ecology. *Periodontol 2000.* 2005;38:135-87.
59. Tribble GD, Lamont RJ. Bacterial Invasion of Epithelial Cells and Spreading in Periodontal Tissue. *Periodontol 2000.* 2010;52(1):68-83.
60. Belibasakis GN, Bostanci N. The RANKL-OPG System in Clinical Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2012;39(3):239-48.
61. O'Brien-Simpson NM, Pathirana RD, Paolini RA, *et al.* An Immune Response Directed to Proteinase and Adhesin Functional Epitopes Protects against *Porphyromonas gingivalis*-Induced Periodontal Bone Loss. *J Immunol.* 2005;175(6):3980-9.
62. Hajishengallis G. *Porphyromonas gingivalis*-Host Interactions: Open War or Intelligent Guerilla Tactics? *Microbes Infect.* 2009;11(6-7):637-45.
63. Tsuchida S, Satoh M, Sogawa K, *et al.* Application of Proteomic Technologies to Discover and Identify Biomarkers for Periodontal Diseases in Gingival Crevicular Fluid: A Review. *Proteomics - Clin Appl.* 2014;8(3-4):232-40.
64. Jiang ZL, Cui YQ, Gao R, *et al.* Study of TNF- α , IL-1 β and LPS Levels in The Gingival Crevicular Fluid of A Rat Model of Diabetes Mellitus And Periodontitis. *Dis Markers.* 2013;34(5):295-304.
65. Kishimoto T, Kaneko T, Ukai T, *et al.* Peptidoglycan and Lipopolysaccharide Synergistically Enhance Bone Resorption and Osteoclastogenesis. *J Periodontal Res.* 2012;47(4):446-54.
66. Fine DH, Markowitz K, Fairlie K, *et al.* Macrophage Inflammatory Protein-1 α Shows Predictive Value as a Risk Marker for Subjects and Sites Vulnerable To Bone Loss in A Longitudinal Model of Aggressive Periodontitis. *PLoS One.* 2014;9(6):1-11.
67. Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like Receptors: Critical Proteins Linking Innate and Acquired Immunity. *Nat Immunol.* 2001;2:675-80.
68. Arancibia SA, Beltrán CJ, Aguirre IM, *et al.* Toll-Like Receptors are Key Participants in Innate Immune Responses. *Biol Res.* 2007;40(2):97-112.
69. Kikkert R, Laine ML, Aarden LA, *et al.* Activation of Toll-Like Receptors 2 and 4 by Gram-negative Periodontal Bacteria. *Oral Microbiol Immunol.* 2007;22(3):145-51.
70. Mori Y, Yoshimura A, Ukai T, *et al.* Immunohistochemical Localization of Toll-Like Receptors 2 and 4 in Gingival Tissue from Patients with Periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2003;18(1):54-8.
71. Sugawara Y, Uehara A, Fujimoto Y, *et al.* Toll-Like Receptors, NOD1, and NOD2

- in Oral Epithelial Cells. *J Dent Res*. 2006;85(6):524-9.
72. Beklen A, Hukkanen M, Richardson R, *et al*. Immunohistochemical Localization of Toll-Like Receptors 1-10 in Periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. 2008;23(5):425-31.
 73. Watanabe K, Iizuka T, Adeleke A, *et al*. Involvement of Toll-Like Receptor 4 in Alveolar Bone Loss and Glucose Homeostasis in Experimental Periodontitis. *J Periodontol Res*. 2011;46(1):21-30.
 74. Zhou X, Li Y. Subgingival Microbes. In: *Atlas of Oral Microbiology: From Healthy Microflora to Disease*. Academic Press; 2015:67-93.
 75. Zambon JJ, Slots J, Genco RJ. Serology of Oral *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and Serotype Distribution in Human Periodontal Disease. *Infect Immun*. 1983;41(1):19-27.
 76. Raja M, Ummer F, Dhivakar CP. *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*-A Tooth Killer. *J Clin Diagnostic Res*. 2014;8(8):13-6.
 77. Ishihara K. Virulence Factors of *Treponema denticola*. *Periodontol 2000*. 2010;54(1):117-35.
 78. Bostanci N, Belibasakis GN. *Porphyromonas gingivalis*: An Invasive and Evasive Opportunistic Oral Pathogen. *FEMS Microbiol Lett*. 2012;333(1):1-9.
 79. Williams DW, Kuriyama T, Silva S, Malic S, Lewis MAO. Candida Biofilms and Oral Candidosis: Treatment and Prevention. *Periodontol 2000*. 2011;55(1):250-65.
 80. Song X, Eribe ERK, Sun J, *et al*. Genetic Relatedness of Oral Yeasts Within and Between Patients with Marginal Periodontitis and Subjects with Oral Health. *J Periodontol Res*. 2005;40(6):446-52.
 81. Egan MW, Spratt DA, Ng YL, *et al*. Prevalence of Yeasts in Saliva and Root Canals of Teeth Associated With Apical Periodontitis. *Int Endod J*. 2002;35(4):321-9.
 82. Canabarro A, Valle C, Farias MR, *et al*. Association of Subgingival Colonization of *Candida albicans* and Other Yeasts with Severity of Chronic Periodontitis. *J Periodontol Res*. 2013;48(4):428-32.
 83. Nobile CJ, Schneider HA, Nett JE, *et al*. Complementary Adhesin Function in *C. albicans* Biofilm Formation. *Curr Biol*. 2008;18(14):1017-24.
 84. De Almeida PDV, Grégio AMT, Machado MÂN, *et al*. Saliva Composition and Functions: A Comprehensive Review. *J Contemp Dent Pract*. 2008;9(3):72-80.
 85. Humphrey SP, Williamson RT. A Review of Saliva: Normal Composition, Flow, and Function. *J Prosthet Dent*. 2001;85(2):162-9.
 86. Miletich I. Introduction to salivary glands: Structure, Function and Embryonic Development. *Front Oral Biol*. 2010;14:1-20.
 87. Dodds M, Roland S, Edgar M, *et al*. Saliva A Review of Its Role in Maintaining Oral Health and Preventing Dental Disease. *BDJ Team*. 2015;2(1-8):1-3.
 88. Ambort D, Johansson MEV, Gustafsson JK, *et al*. Calcium and pH-Dependent Packing and Release of The Gel-Forming MUC2 Mucin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(15):5645-50.
 89. Segawa A, Loffredo F, Puxeddu R, *et al*. Cell Biology of Human Salivary Secretion. *Eur J Morphol*. 2000;38(4):237-41.
 90. Proctor GB, Carpenter GH. Neural Control of Salivary S-IgA Secretion. *Int Rev Neurobiol*. 2002;52:187-212.
 91. Slots J. Periodontology: Past, Present, Perspectives. *Periodontol 2000*. 2013;62(1):7-19.
 92. Trindade F, Oppenheim FG, Helmerhorst EJ, *et al*. Uncovering The Molecular

- Networks in Periodontitis. *Proteomics Clin Appl*. 2014;8(9-10):748-61.
93. Guzman YA, Sakellari D, Arsenakis M, Floudas CA. Proteomics for The Discovery of Biomarkers and Diagnosis of Periodontitis: A Critical Review. *Expert Rev Proteomics*. 2014;11(1):31-41.
 94. Grover HS, Kapoor S, Saksena N. Periodontal Proteomics: Wonders Never Cease! *Int J Proteomics*. 2013;2013:850235.
 95. Kerishnan JP, Mohammad S, Alias MS, *et al*. Identification of Biomarkers for Periodontal Disease Using the Immunoproteomics Approach. *PeerJ*. 2016;4:e2327.
 96. Mertens B, Orti V, Vialaret J, *et al*. Assessing a multiplex-targeted proteomics approach for the clinical diagnosis of periodontitis using saliva samples. *Bioanalysis*. 2018;10(1):35-45.
 97. Moutsopoulos NM, Konkel JE. Tissue-Specific Immunity at the Oral Mucosal Barrier. *Trends Immunol*. 2018;39(4):276-87.
 98. Graves DT, Corrêa JD, Silva TA. The Oral Microbiota Is Modified by Systemic Diseases. *J Dent Res*. 2019;98(2):148-56.
 99. Pan W, Wang Q, Chen Q. The Cytokine Network Involved in The Host Immune Response to Periodontitis. *Int J Oral Sci*. 2019;11:30.
 100. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*. 8th ed. Elsevier; 2015.
 101. Sell AM, Alencar JB de, Visentainer JEL, *et al*. Immunopathogenesis of Chronic Periodontitis. In: *Periodontitis - A Useful Ref*. Published online 2017.
 102. Cutler CW, Jotwani R. Antigen-Presentation and The Role of Dendritic Cells In Periodontitis. *Periodontol 2000*. 2004;35(96):135-57.
 103. Murphy KM, Reiner SL. The Lineage Decisions of Helper T Cells. *Nat Rev Immunol*. 2002. 2:933-44.
 104. Hajishengallis G. Periodontitis: From Microbial Immune Subversion to Systemic Inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2015. 15(1): 30–44.
 105. Bonneville M, O'Brien RL, Born WK. γ δ T Cell Effector Functions: A Blend of Innate Programming And Acquired Plasticity. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(7):467-78.
 106. Valdor R, Macian F. Induction and Stability of The Anergic Phenotype in T Cells. *Semin Immunol*. 2013. 25(4):313-20.
 107. Luckheeram RV, Zhou R, Verma AD, Xia B. CD4⁺T Cells: Differentiation and Functions. *Clin Dev Immunol*. 2012. 925135.
 108. Jia L, Wu C. The Biology and Functions of Th22 Cells. *Adv Exp Med Biol*. 2014. 841:209-30
 109. Lee N, Kim WU. Microbiota in T-Cell Homeostasis and Inflammatory Diseases. *Exp Mol Med*. 2017. 49:e340.
 110. Crotty S. Follicular Helper CD4 T Cells (TFH). *Annu Rev Immunol*. 2011. 29:621-63.
 111. Xu Z, Ho S, Chang CC, *et al*. Molecular and Cellular Characterization of Human CD8 T Suppressor Cells. *Front Immunol*. 2016. 7: 549.
 112. Dutzan N, Konkel JE, Greenwell-Wild T, *et al*. Characterization of The Human Immune Cell Network at The Gingival Barrier. *Mucosal Immunol*. 2016. 9(5):1163-72.
 113. Zhu J, Paul WE. CD4 T Cells: Fates, Functions, and Faults. *Blood*. 2008. 112(5):1557-69.
 114. Cardoso EM, Arosa FA. CD8⁺ T Cells in Chronic Periodontitis: Roles and Rules.

- Front Immunol.* 2017. 8:145.
115. Nielsen MM, Witherden DA, Havran WL. $\gamma\delta$ T Cells in Homeostasis and Host Defence of Epithelial Barrier Tissues. *Nat Rev Immunol.* 2017. 17(12):733-45.
 116. Krishnan S, Prise IE, Wemyss K, *et al.* Amphiregulin-Producing $\gamma\delta$ T Cells are Vital for Safeguarding Oral Barrier Immune Homeostasis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018.115(42):10738-43.
 117. Wilharm A, Tabib Y, Nassar M, *et al.* Mutual Interplay between IL-17–Producing $\gamma\delta$ T Cells and Microbiota Orchestrates Oral Mucosal Homeostasis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019. 116(7):2652-61.
 118. Arizon M, Nudel I, Segev H, *et al.* Langerhans Cells Down-Regulate Inflammation-Driven Alveolar Bone Loss. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012. 109(18):7043-8.
 119. Mahanonda R, Champaiboon C, Subbalekha K, *et al.* Human Memory B Cells in Healthy Gingiva, Gingivitis, and Periodontitis. *J Immunol.* 2016. 197(3):715-25.
 120. Shelburne C, Shelburne PS, Dhople V, *et al.* Serum Antibodies to *Porphyromonas gingivalis* Chaperone HtpG Predict Health in Periodontitis Susceptible Patients. *PLoS One.* 2008. 3(4):e1984.
 121. Garlet GP. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine: Destructive and Protective Roles of Cytokines in Periodontitis: A Re-Appraisal From Host Defense and Tissue Destruction Viewpoints. *J Dent Res.* 2010. 89(12):1349-63.
 122. Page RC, Lantz MS, Darveau R, *et al.* Immunization of *Macaca fascicularis* Against Experimental Periodontitis Using a Vaccine Containing Cysteine Proteases Purified from *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol.* 2007. 22(3):162-8.
 123. Campbell L, Millhouse E, Malcolm J, *et al.* T Cells, Teeth and Tissue Destruction – What Do T Cells Do in Periodontal Disease? *Mol Oral Microbiol.* 2016. 31(6):445-56.
 124. Dutzan N, Abusleme L, Konkel JE, *et al.* Isolation, Characterization, and Functional Examination of The Gingival Immune Cell Network. *J Vis Exp.* 2016. 108:53736.
 125. Jarry CR, Duarte PM, Freitas FF, *et al.* Secreted Osteoclastogenic Factor of Activated T Cells (SOFAT), A Novel Osteoclast Activator, in Chronic Periodontitis. *Hum Immunol.* 2013. 74(7):861-6.
 126. Jarry CR, Martinez EF, Peruzzo DC, *et al.* Expression of SOFAT by T- and B-Lineage Cells May Contribute to Bone Loss. *Mol Med Rep.* 2016;13(5):4252-8.
 127. Kowashi Y, Jaccard F, Cimasoni G. Increase of Free Collagenase and Neutral Protease Activities in The Gingival Crevice During Experimental Gingivitis in Man. *Arch Oral Biol.*1979. 24(9):645-50.
 128. Ohlsson K, Olsson I, Tynelius-Bratthall G. Neutrophil Leukocyte Collagenase, Elastase and Serum Protease Inhibitors in Human Gingival Crevices. *Acta Odontol Scand.*1974. 32(1):51-9.
 129. Wahlgren J, Maisi P, Sorsa T, *et al.* Expression and Induction of Collagenases (MMP-8 and -13) in Plasma Cells Associated with Bone-Destructive Lesions. *J Pathol.* 2001. 194(2):217-24.
 130. Di Girolamo N, Tedla N, Lloyd A, *et al.* Expression of Matrix Metalloproteinases by Human Plasma Cells And B Lymphocytes. *Eur J Immunol.* 1998. 28(6):1773-84.
 131. Oliver-Bell J, Butcher JP, Malcolm J, *et al.* Periodontitis in The Absence of B Cells

- And Specific Anti-Bacterial Antibody. *Mol Oral Microbiol.* 2015;30(2):160-9.
132. Ftis A, Singh G, Dolby AE. Antibody to Collagen Type I in Periodontal Disease. *J Periodontol.* 1986. 57(11):693-8.
 133. Tabeta K, Yamazaki K, Hotokezaka H, *et al.* Elevated Humoral Immune Response to Heat Shock Protein 60 (Hsp60) Family in Periodontitis Patients. *Clin Exp Immunol.* 2000. 120(2):285-93.
 134. Anusaksathien O, Singh G, Matthews N, *et al.* Autoimmunity to Collagen in Adult Periodontal Disease: Immunoglobulin Classes in Sera And Tissue. *J Periodontal Res.*1992. 27(1):55-61.
 135. Bachtiar EW, Bachtiar BM, Jarosz LM, *et al.* AI-2 of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Inhibits *Candida albicans* Biofilm Formation.. *Front Cell Infect Microbiol.* 2014. 4:94.
 136. Bachtiar EW, Bachtiar BM. Effect of Cell-Free Spent Media Prepared from *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* on The Growth of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans* in Co-Species Biofilms. *Eur J Oral Sci.* 2020. 00: 1–10.
 137. Rickard AH, Gilbert P, High NJ, *et al.* Bacterial Coaggregation: An Integral Process in The Development of Multi-Species Biofilms. *Trends Microbiol.* 2003. 11(2):94-100.
 138. Brennan CA, Garrett WS. *Fusobacterium nucleatum*-Symbiont, Opportunist, and Oncobacterium. *Nat Rev Microbiol.* 2019. 17(3):156-66.
 139. Han YW, Ikegami A, Rajanna C, *et al.* Identification and Characterization of A Novel Adhesin Unique to Oral Fusobacteria. *J Bacteriol.* 2005. 187(15):5330-40.
 140. Han YW. *Fusobacterium nucleatum*: A Commensal-Turned Pathogen. *Curr Opin Microbiol.* 2015. 23:141-7.
 141. Fardini Y, Wang X, Témoïn S, *et al.* *Fusobacterium nucleatum* Adhesin FadA Binds Vascular Endothelial Cadherin and Alters Endothelial Integrity. *Mol Microbiol.* 2011. 82(6):1468-80.
 142. Şurlin P, Nicolae FM, Şurlin VM, *et al.* Could Periodontal Disease through Periopathogen *Fusobacterium nucleatum* Be an Aggravating Factor for Gastric Cancer? *J Clin Med.* 2020. 9(12):3885.
 143. Signat B, Roques C, Poulet P, *et al.* Role of *Fusobacterium nucleatum* in Periodontal Health and Disease. *Curr Issues Mol Biol.* 2011. 13(2):25-36.
 144. Kurgan Ş, Kansal S, Nguyen D, *et al.* Strain-Specific Impact of *Fusobacterium nucleatum* on Neutrophil Function . *J Periodontol.* 2017. 88(4):380-9.
 145. Bachrach G, Rosen G, Bellalou M, *et al.* Identification of a *Fusobacterium nucleatum* 65 kDa Serine Protease. *Oral Microbiol Immunol.* 2004. 19(3):155-9.
 146. Papapanou PN, Neiderud AM, Disick E, *et al.* Longitudinal Stability of Serum Immunoglobulin G Responses to Periodontal Bacteria. *J Clin Periodontol.* 2004;31(11):985-90.
 147. Bartnicka D, Gonzalez-Gonzalez M, Sykut J, *et al.* *Candida albicans* Shields The Periodontal Killer *Porphyromonas gingivalis* from Recognition by The Host Immune System and Supports The Bacterial Infection of Gingival Tissue. *Int J Mol Sci.* 2020. 21(6):1984.
 148. Grimaudo NJ, Nesbitt WE. Coaggregation of *Candida albicans* with Oral Fusobacterium Species. *Oral Microbiol Immunol.* 1997. 12(3):168-73.
 149. Wu T, Cen L, Kaplan C, *et al.* Cellular Components Mediating Coadherence of *Candida albicans* and *Fusobacterium nucleatum*. *J Dent Res.* 2015. 94(10):1432-8.

150. Cannon RD, Holmes AR, Firth NA. Fungi and Fungal Infections of the Oral Cavity. In: *Oral Microbiology and Immunology*. 3rd ed. John Wiley & Sons; 2020:397-415.
151. Ogrendik M, Kokino S, Ozdemir F, *et al.* Serum Antibodies to Oral Anaerobic Bacteria in Patients with Rheumatoid Arthritis. *MedGenMed Medscape Gen Med*. 2005. 7(2):2.
152. Colhoun HM, Slaney JM, Rubens MB, *et al.* Antibodies to Periodontal Pathogens and Coronary Artery Calcification in Type 1 Diabetic and Nondiabetic Subjects. *J Periodontal Res*. 2008. 43(1):103-10.
153. Liljestrand JM, Paju S, Pietiäinen M, *et al.* Immunologic Burden Links Periodontitis to Acute Coronary Syndrome. *Atherosclerosis*. 2018. 268:177-84.
154. Isola G, Polizzi A, Patini R, *et al.* Association Among Serum and Salivary A. *Actinomycescomitans* Specific Immunoglobulin Antibodies and Periodontitis. *BMC Oral Health*. 2020;20(1):1-13.
155. Gadekar NB, Hosmani J V., Bhat KG, *et al.* Detection of Antibodies Against *Aggregatibacter actinomycescomitans* in Serum and Saliva Through ELISA in Periodontally Healthy Individuals and Individuals with Chronic Periodontitis. *Microb Pathog*. 2018;125:438-442.
156. Wang M, Krauss JL, Domon H, *et al.* Microbial Hijacking of Complement-Toll-Like Receptor Crosstalk. *Sci Signal*. 2010. 3(109):ra11.
157. Liang S, Krauss JL, Domon H, *et al.* The C5a Receptor Impairs IL-12–Dependent Clearance of *Porphyromonas gingivalis* and Is Required for Induction of Periodontal Bone Loss . *J Immunol*. 2011.186(2):869-77.
158. Madianos PN, Papapanou PN, Sandros J. *Porphyromonas gingivalis* Infection of Oral Epithelium Inhibits Neutrophil Transepithelial Migration. *Infect Immun*. 1997. 65(10):3983-90.
159. Marsh PD. Dental Plaque As A Biofilm And A Microbial Community - Implications For Health And Disease. In: *BMC Oral Health*. 2006. 6:S1-S14.
160. Scannapieco FA, Ruhl S. The Oral Enviroment. In: *Oral Microbiology and Immunology*. 3rd ed. John Wiley & Sons; 2020:53-80.
161. Lertpimonchai A, Rattanasiri S, Arj-Ong Vallibhakara S, *et al.* The Association between Oral Hygiene and Periodontitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int Dent J*. 2017. 67(6):332-343.
162. Checchi L, Montevecchi M, Checchi V, *et al.* The Relationship Between Bleeding on Probing and Subgingival Deposits. An Endoscopical Evaluation. *Open Dent J*. 2009. 3:154-60.
163. Fox EP, Cowley ES, Nobile CJ, *et al.* Anaerobic Bacteria Grow Within *Candida albicans* Biofilms and Induce Biofilm Formation in Suspension Cultures. *Curr Biol*. 2014. 24(20):2411-6.



**KOMISI ETIK PENELITIAN KEDOKTERAN GIGI (KEPKG)
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS INDONESIA**

Jln. Salemba Raya No. 4 Jakarta Pusat 10430
Email: etikrisetfkg@ui.ac.id; Website: <http://research.fkg.ui.ac.id/ethical-committee/>
Telp. (62-21) 31906289; Fax: (62-21) 31906289

PERSETUJUAN ETIK (ETHICAL APPROVAL)

Nomor: 17 /Ethical Approval /FKGUI/III/2019

Yang bertanda tangan di bawah ini, Komisi Etik Penelitian Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia, setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian, dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul :

**“Analisis Proteomik Cairan Rongga Mulut Terkait Dengan Tingkat
Keparahan Periodontitis”**

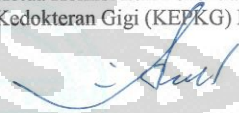
No Protokol: 070210219.

Nama Peneliti : drg. Muhammad Ihsan Rizal, M.Kes
Nama Institusi : Departemen Biologi Oral
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia

dapat disetujui pelaksanaannya. Persetujuan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan batas waktu pelaksanaan penelitian seperti tertera dalam protokol.

Pada akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan kepada KEPKG-FKGUI. Jika ada perubahan protokol dan / atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).

Jakarta, 27 Maret 2019
Ketua Komisi Etik Penelitian
Kedokteran Gigi (KEPKG) FKG UI,


Prof. Anton Rahardjo, drg, MKM, PhD
NIP 195406021983031002

Keterangan/Notes:

Persetujuan etik ini berlaku selama satu tahun sejak tanggal ditetapkan.
Pada akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan ke Komisi Etik Penelitian Kedokteran Gigi FKGUI
Jika ada perubahan protokol dan atau perpanjang penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian.



**KOMISI ETIK PENELITIAN KEDOKTERAN GIGI (KEPKG)
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS INDONESIA**

Jln. Salemba Raya No. 4 Jakarta Pusat 10430
Email: etikrisefitka@ui.ac.id; Website: <http://research.fkg.ui.ac.id/ethical-committee/>
Telp. (82-21) 31808288; Fax: (82-21) 31808288

PERSETUJUAN ETIK (ETHICAL APPROVAL)

Nomor: 17 /Ethical Approval /FKG UI/III/2019(lanjutan)

Yang bertanda tangan di bawah ini, Komisi Etik Penelitian Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia, setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian, dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul :

**“Analisis Proteomik Cairan Rongga Mulut Terkait Dengan Tingkat
Keparahan Periodontitis”**

No Protokol: 070210219

Nama Peneliti : drg. Muhammad Ihsan Rizal, M.Kes
Nama Institusi : Departemen Biologi Oral
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia

dapat disetujui pelaksanaannya. Persetujuan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan batas waktu pelaksanaan penelitian seperti tertera dalam protokol.

Pada akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan kepada KEPKG-FKG UI. Jika ada perubahan protokol dan / atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).

Jakarta, 10 Juli 2020
Ketua Komisi Etik Penelitian
Kedokteran Gigi (KEPKG) FKG UI,


Dr. Lisa R. Amir, PhD
NIP. 197609172010122002

Keterangan/Notes:

Persetujuan etik ini berlaku selama satu tahun sejak tanggal ditetapkan.
Pada akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan ke Komisi Etik Penelitian Kedokteran Gigi FKG UI.
Jika ada perubahan protokol dan atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian.

PENJELASAN BAGI SUBJEK PENELITIAN

Penelitian:

“KAJIAN INTERAKSI KEBERADAAN ANTIGEN BAKTERI PERIODONTAL DAN *CANDIDA ALBICANS* TERHADAP RESPONS IMUN HUMORAL SALIVA SUBJEK PERIODONTITIS BERBAGAI *STAGE*”

Peneliti: drg. Muhammad Ihsan Rizal, M.Kes (08558006161)
FKG UI Jl. Salemba Raya no. 4 Jakarta Pusat

Faktor penyebab penyakit peradangan jaringan pendukung gigi (periodontitis) belum sepenuhnya dipahami, penetapan diagnosis penyakit ini lebih didasarkan pada riwayat penyakit, gambaran secara klinis, dan gambaran radiografi (rontgen), sehingga sulit dibedakan. Faktor genetik juga merupakan faktor risiko yang mempercepat kerusakan jaringan pendukung gigi selain keterlibatan bakteri. Dari aspek biologi molekular, berbagai faktor risiko ini dapat ditelusuri keterkaitannya, antara lain melalui profil proteomik.

Apakah yang dimaksud dengan periodontitis?

Periodontitis adalah penyakit peradangan pada jaringan pendukung gigi (gusi, ligamen periodontal, sementum, dan tulang alveolar). Gejala dari penyakit ini antara lain gusi bengkak dan kemerahan, gusi mudah berdarah, gigi goyang, serta bau mulut. Periodontitis biasanya tidak menimbulkan rasa sakit, sehingga penderitanya merasa sehat. Penyebab utama periodontitis adalah plak.

Apakah yang dimaksud dengan profil proteomik?

Profil proteomik adalah identifikasi dan karakterisasi protein-protein yang terdapat dalam suatu penyakit dalam hal ini periodontitis. Karakterisasi perubahan protein berkaitan dengan periodontitis dapat memberikan informasi mengenai mekanisme dan sebagai alat bantu penetapan diagnosis penyakit ini.

Apakah tujuan dan manfaat dari penelitian ini?

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis profil proteomik cairan gusi dan air liur pada kasus periodontitis bila dibandingkan dengan keadaan normal.

Pemeriksaan apa saja yang dilakukan?

Setelah Bapak/Ibu menandatangani lembar persetujuan ikut penelitian (*informed consent*), Bapak/Ibu akan mengisi data demografis –antropometrik (nama, alamat, jenis kelamin, usia) dan kemudian menjalani pemeriksaan status periodontal, pengambilan foto klinis dan radiografis serta pengambilan sampel air liur dan cairan gusi.

Risiko apa yang akan diterima oleh subjek penelitian?

Pemeriksaan rongga mulut dan pengambilan cairan gusi merupakan tindakan yang tidak invasif, namun terkadang subjek dapat merasa sedikit tidak nyaman.

Berapa lama penelitian akan dilakukan?

Penelitian dilakukan satu kali meliputi penjelasan dan persetujuan subjek penelitian 5 menit, pengisian data selama 5 menit, pemeriksaan status periodontal 30 menit, dan pengambilan sampel cairan gusi dan air liur 5 menit.

Bagaimana mengenai biaya dan keuntungan apa yang didapatkan jika bersedia menjadi subjek penelitian?

Pada penelitian ini Bapak/Ibu tidak dikenakan biaya atau gratis. Keuntungan yang didapatkan oleh Bapak/Ibu adalah mengetahui hasil pemeriksaan status periodontal, dan penetapan kasus penyakit periodontitis.

Bagaimana sifat kerahasiaan data penelitian ini?

Kami menjamin bahwa kerahasiaan data subjek dan spesimen dalam penelitian ini sangat dijaga. Informasi ini diberikan guna memberikan penjelasan kepada saudara/i untuk pertimbangan mengikuti penelitian ini. Keikutsertaan saudara/i dalam penelitian ini bersifat sukarela dan tanpa paksaan serta memiliki hak mengundurkan diri selama penelitian berlangsung.

SURAT PERNYATAAN KESEDIAAN MENJADI SUBJEK PENELITIAN

Saya sudah membaca dan memahami informasi tentang penelitian yang berjudul “Kajian Interaksi Antigen Bakteri Periodontal dan *Candida albicans* dengan Respons Imun Humoral Saliva Subjek Periodontitis Berbagai *Stage*”. Saya diperbolehkan bertanya mengenai keterlibatan saya dalam penelitian ini.

Saya mengerti bahwa saya tidak mempunyai kewajiban apapun untuk terlibat dalam penelitian ini.

Saya memahami bahwa saya berhak untuk menarik keikutsertaan saya dalam penelitian ini dan tidak diharuskan untuk menjelaskan alasannya.

Saya memahami bahwa semua informasi yang saya berikan akan dirahasiakan.

Saya setuju untuk menjadi subjek penelitian ini.

Nama :

Tanda tangan :

Nama Saksi :

Tanda tangan Saksi :

Nama Peneliti :

Tanda tangan Peneliti :

Tanggal :

PEMERIKSAAN STATUS PERIODONTAL

Nama:

| Maksila (Bukal/labial) | 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
|---------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Mobiliti | | | | | | | | | | | | | | |
| Poket | | | | | | | | | | | | | | |
| Resesi | | | | | | | | | | | | | | |
| CAL | | | | | | | | | | | | | | |

| Maksila (Palatal) | 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
|----------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Mobiliti | | | | | | | | | | | | | | |
| Poket | | | | | | | | | | | | | | |
| Resesi | | | | | | | | | | | | | | |
| CAL | | | | | | | | | | | | | | |

| Mandibula (Bukal/labial) | 47 | 46 | 45 | 44 | 43 | 42 | 41 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 |
|-----------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Mobiliti | | | | | | | | | | | | | | |
| Poket | | | | | | | | | | | | | | |
| Resesi | | | | | | | | | | | | | | |
| CAL | | | | | | | | | | | | | | |

| Mandibula (Lingual) | 47 | 46 | 45 | 44 | 43 | 42 | 41 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 |
|------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Poket | | | | | | | | | | | | | | |
| Resesi | | | | | | | | | | | | | | |
| CAL | | | | | | | | | | | | | | |

Pemeriksaan Plak

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
| M/B/D/P | | | | | | | | | | | | | | |
| M/B/D/Li | | | | | | | | | | | | | | |
| | 47 | 46 | 45 | 44 | 43 | 42 | 41 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 |

Ket : M=Mesiobukal, B=MidBukal, D=Distobukal, P=Palatal, Li=Lingual

Skor indeks plak:

0: tidak ada plak

1: plak melekat pada margin gingiva bebas dan sekitar gigi diketahui melalui prob yang dijalankan mengelilingi gigi,

2: penumpukan deposit lunak di dalam poket dan margin gingiva dan atau yang melekat ke permukaan gigi dan dapat dilihat kasat mata

3: Plak dan sisa makanan menumpuk di dalam poket dan atau menutupi margin gingiva dan permukaan gigi yang berdekatan

Pemeriksaan Debris

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
| B/P | | | | | | | | | | | | | | |
| B/Li | | | | | | | | | | | | | | |
| | 47 | 46 | 45 | 44 | 43 | 42 | 41 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 |

Ket : B=Bukal, P=Palatal, Li=Lingual

Skor indeks debris:

0: tidak ada debris/stain

1: debris menutupi <1/3 permukaan gigi atau adanya stain tanpa debris

2: debris menutupi >1/3 dan kurang 2/3 menutupi permukaan gigi

3: debris menutupi >2/3 permukaan gigi

Pemeriksaan Kalkulus

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
| B/P | | | | | | | | | | | | | | |
| B/Li | | | | | | | | | | | | | | |
| | 47 | 46 | 45 | 44 | 43 | 42 | 41 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 |

Ket : B=Bukal, P=Palatal, Li=Lingual

Skor indeks kalkulus:

0: tidak ada kalkulus

1: kalkulus menutupi <math>1/3</math> permukaan gigi

2: kalkulus menutupi >math>1/3</math> dan kurang <math>2/3</math> permukaan gigi atau ada flek/bintik kalkulus subgingiva di servikal gigi.

3: kalkulus supragingiva menutupi >math>2/3</math> permukaan gigi atau ada kalkulus subgingiva tebal di servikal gigi

Pemeriksaan *Papillary Bleeding Index*

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------|----|----|----|----|----|----|----|-----------|----|----|----|----|----|----|----|
| | 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
| DP | | | | | | | | MB | | | | | | | |
| MB | | | | | | | | DL | | | | | | | |
| | 47 | 46 | 45 | 44 | 43 | 42 | 41 | | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 |

Ket: DP = Disto Palatal, DL = Disto lingual, MB = Mesio bukal

***Papillary Bleeding Index* :**

0: Tidak ada perdarahan

1: Perdarahan berupa titik

2: Perdarahan berupa garis

3: Perdarahan berupa segitiga

4: Perdarahan menyebar

Lampiran 5

Hipotesis Minor 3.2.2.1

Tests of Normality

| | Stage_Perio | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----------|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Keberadaa | Normal | .218 | 8 | .200* | .857 | 8 | .112 |
| n_Antigen | Stage 1 | .221 | 5 | .200* | .926 | 5 | .566 |
| _Aa | Stage 2 | .238 | 8 | .200* | .831 | 8 | .061 |
| | Stage 3 | .278 | 11 | .017 | .801 | 11 | .010 |
| | Stage 4 | .233 | 7 | .200* | .906 | 7 | .369 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

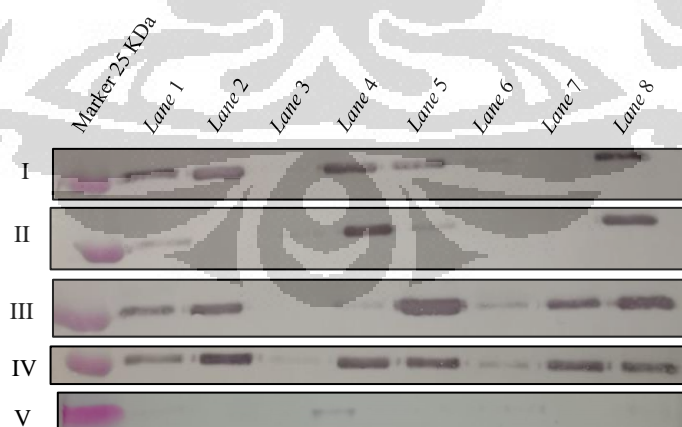
Test Statistics^{a,b}

| | Keberadaan_ Antigen_Aa |
|-------------|---------------------------|
| Chi-Square | 3.668 |
| df | 4 |
| Asymp. Sig. | .453 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Stage_Perio



Hasil *Western Blot*. Hasil ini menunjukkan keberadaan antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada subjek dengan Periodontitis stage IV: Gel I (*lane 1-7*); Periodontitis stage III: Gel I (*lane 8*), gel II (*lane 1-6*), dan gel V (*lane 1-4*); Periodontitis stage II: Gel II (*lane 7-8*) dan III (*lane 1-6*); Periodontitis stage I: Gel III (*lane 7-8*) dan Gel IV (*lane 1-3*); Normal: Gel IV (*lane 4-8*) dan gel V (*lane 5-7*).

Hipotesis Minor 3.2.2.2**Tests of Normality**

| | Stage_Perio | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----------|-------------|---------------------------------|----|-------------------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| OD_IgA_Aa | Normal | .381 | 8 | .001 | .614 | 8 | .000 |
| | Stage 1 | .181 | 5 | .200 [*] | .955 | 5 | .770 |
| | Stage 2 | .327 | 8 | .012 | .750 | 8 | .008 |
| | Stage 3 | .185 | 11 | .200 [*] | .870 | 11 | .077 |
| | Stage 4 | .388 | 7 | .002 | .584 | 7 | .000 |
| OD_IgA_Td | Normal | .365 | 8 | .002 | .624 | 8 | .000 |
| | Stage 1 | .198 | 5 | .200 [*] | .969 | 5 | .870 |
| | Stage 2 | .360 | 8 | .003 | .691 | 8 | .002 |
| | Stage 3 | .223 | 11 | .132 | .822 | 11 | .018 |
| | Stage 4 | .481 | 7 | .000 | .495 | 7 | .000 |
| OD_IgA_Pg | Normal | .397 | 8 | .001 | .616 | 8 | .000 |
| | Stage 1 | .312 | 5 | .127 | .781 | 5 | .056 |
| | Stage 2 | .317 | 8 | .017 | .755 | 8 | .009 |
| | Stage 3 | .343 | 11 | .001 | .663 | 11 | .000 |
| | Stage 4 | .324 | 7 | .025 | .707 | 7 | .004 |
| OD_IgA_Fn | Normal | .329 | 8 | .011 | .823 | 8 | .050 |
| | Stage 1 | .307 | 5 | .140 | .754 | 5 | .032 |
| | Stage 2 | .252 | 8 | .143 | .783 | 8 | .019 |
| | Stage 3 | .454 | 11 | .000 | .563 | 11 | .000 |
| | Stage 4 | .296 | 7 | .064 | .751 | 7 | .013 |
| OD_IgA_Ca | Normal | .327 | 8 | .012 | .813 | 8 | .039 |
| | Stage 1 | .220 | 5 | .200 [*] | .919 | 5 | .526 |
| | Stage 2 | .307 | 8 | .025 | .761 | 8 | .011 |
| | Stage 3 | .394 | 11 | .000 | .646 | 11 | .000 |
| | Stage 4 | .350 | 7 | .010 | .626 | 7 | .001 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics^{a,b}

| | OD_IgA_Aa | OD_IgA_Td | OD_IgA_Pg | OD_IgA_Fn | OD_IgA_Ca |
|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Chi-Square | 7.764 | 2.438 | 4.861 | 12.469 | 13.507 |
| df | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Asymp. Sig. | .101 | .656 | .302 | .014 | .009 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Stage_Perio

Normal dan Stage 1 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgA_Fn | OD_IgA_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 7.000 | 6.000 |
| Wilcoxon W | 22.000 | 21.000 |
| Z | -1.903 | -2.049 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .057 | .040 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .065 ^b | .045 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Normal dan Stage 2 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgA_Fn | OD_IgA_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 15.000 | 15.000 |
| Wilcoxon W | 51.000 | 51.000 |
| Z | -1.785 | -1.785 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .074 | .074 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .083 ^b | .083 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Normal dan Stage 3 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgA_Fn | OD_IgA_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 18.000 | 17.000 |
| Wilcoxon W | 84.000 | 83.000 |
| Z | -2.148 | -2.229 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .032 | .026 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .033 ^b | .026 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Normal dan Stage 4 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgA_Fn | OD_IgA_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 25.000 | 24.000 |
| Wilcoxon W | 61.000 | 60.000 |
| Z | -.347 | -.463 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .728 | .643 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .779 ^b | .694 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 1 dan Stage 2 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgA_Fn | OD_IgA_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 13.000 | 12.000 |
| Wilcoxon W | 28.000 | 27.000 |
| Z | -1.025 | -1.171 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .306 | .242 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .354 ^b | .284 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 1 dan Stage 3 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgA_Fn | OD_IgA_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 24.000 | 24.000 |
| Wilcoxon W | 39.000 | 39.000 |
| Z | -.397 | -.397 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .692 | .692 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .743 ^b | .743 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 1 dan Stage 4 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgA_Fn | OD_IgA_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 3.000 | 2.000 |
| Wilcoxon W | 18.000 | 17.000 |
| Z | -2.355 | -2.517 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .019 | .012 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .018 ^b | .010 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 2 dan Stage 3 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgA_Fn | OD_IgA_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 34.000 | 34.000 |
| Wilcoxon W | 100.000 | 100.000 |
| Z | -.826 | -.826 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .409 | .409 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .442 ^b | .442 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 2 dan Stage 4 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgA_Fn | OD_IgA_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 8.000 | 8.000 |
| Wilcoxon W | 44.000 | 44.000 |
| Z | -2.315 | -2.315 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .021 | .021 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .021 ^b | .021 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 3 dan Stage 4 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgA_Fn | OD_IgA_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 11.000 | 10.000 |
| Wilcoxon W | 77.000 | 76.000 |
| Z | -2.492 | -2.581 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .013 | .010 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .011 ^b | .008 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Hipotesis Minor 3.2.2.3

Tests of Normality

| | Stage_Perio | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----------|-------------|---------------------------------|----|-------------------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| OD_IgG_Aa | Normal | .255 | 8 | .134 | .836 | 8 | .069 |
| | Stage 1 | .211 | 5 | .200 [*] | .940 | 5 | .669 |
| | Stage 2 | .317 | 8 | .018 | .801 | 8 | .030 |
| | Stage 3 | .278 | 11 | .017 | .773 | 11 | .004 |
| | Stage 4 | .367 | 7 | .005 | .592 | 7 | .000 |
| OD_IgG_Td | Normal | .233 | 8 | .200 [*] | .875 | 8 | .167 |
| | Stage 1 | .316 | 5 | .115 | .822 | 5 | .121 |
| | Stage 2 | .265 | 8 | .103 | .740 | 8 | .006 |
| | Stage 3 | .241 | 11 | .073 | .876 | 11 | .091 |
| | Stage 4 | .488 | 7 | .000 | .480 | 7 | .000 |
| OD_IgG_Pg | Normal | .265 | 8 | .103 | .785 | 8 | .020 |
| | Stage 1 | .272 | 5 | .200 [*] | .807 | 5 | .092 |
| | Stage 2 | .307 | 8 | .026 | .715 | 8 | .003 |
| | Stage 3 | .380 | 11 | .000 | .593 | 11 | .000 |
| | Stage 4 | .327 | 7 | .023 | .634 | 7 | .001 |
| OD_IgG_Fn | Normal | .294 | 8 | .040 | .781 | 8 | .018 |
| | Stage 1 | .292 | 5 | .191 | .849 | 5 | .190 |
| | Stage 2 | .249 | 8 | .155 | .737 | 8 | .006 |
| | Stage 3 | .429 | 11 | .000 | .579 | 11 | .000 |
| | Stage 4 | .380 | 7 | .003 | .590 | 7 | .000 |
| OD_IgG_Ca | Normal | .322 | 8 | .014 | .734 | 8 | .005 |

| | | | | | | |
|---------|------|----|------|------|----|------|
| Stage 1 | .399 | 5 | .009 | .685 | 5 | .007 |
| Stage 2 | .443 | 8 | .000 | .592 | 8 | .000 |
| Stage 3 | .386 | 11 | .000 | .473 | 11 | .000 |
| Stage 4 | .269 | 7 | .135 | .822 | 7 | .068 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics^{a,b}

| | OD_IgG_Aa | OD_IgG_Td | OD_IgG_Pg | OD_IgG_Fn | OD_IgG_Ca |
|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Chi-Square | 5.788 | 3.619 | 2.245 | 13.052 | 12.401 |
| df | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Asymp. Sig. | .216 | .460 | .691 | .011 | .015 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Stage_Perio
Normal dan Stage 1 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgG_Fn | OD_IgG_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 6.000 | 9.000 |
| Wilcoxon W | 21.000 | 24.000 |
| Z | -2.049 | -1.610 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .040 | .107 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .045 ^b | .127 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Normal dan Stage 2 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgG_Fn | OD_IgG_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 18.000 | 29.000 |
| Wilcoxon W | 54.000 | 65.000 |
| Z | -1.470 | -.315 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .141 | .753 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .161 ^b | .798 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Normal dan Stage 3 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgG_Fn | OD_IgG_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 19.000 | 33.000 |
| Wilcoxon W | 85.000 | 99.000 |
| Z | -2.064 | -.908 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .039 | .364 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .041 ^b | .395 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Normal dan Stage 4 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgG_Fn | OD_IgG_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 20.000 | 18.000 |
| Wilcoxon W | 56.000 | 54.000 |
| Z | -.926 | -1.157 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .355 | .247 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .397 ^b | .281 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 1 dan Stage 2 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgG_Fn | OD_IgG_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 13.000 | 10.000 |
| Wilcoxon W | 28.000 | 25.000 |
| Z | -1.025 | -1.464 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .306 | .143 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .354 ^b | .171 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 1 dan Stage 3 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgG_Fn | OD_IgG_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 26.000 | 13.000 |
| Wilcoxon W | 92.000 | 28.000 |
| Z | -.170 | -1.643 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .865 | .100 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .913 ^b | .115 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 1 dan Stage 4 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgG_Fn | OD_IgG_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 | .000 |
| Wilcoxon W | 15.000 | 15.000 |
| Z | -2.842 | -2.842 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .004 | .004 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .003 ^b | .003 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 2 dan Stage 3 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgG_Fn | OD_IgG_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 31.000 | 31.000 |
| Wilcoxon W | 97.000 | 97.000 |
| Z | -1.073 | -1.073 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .283 | .283 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .310 ^b | .310 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 2 dan Stage 4 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgG_Fn | OD_IgG_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 9.000 | 7.000 |
| Wilcoxon W | 45.000 | 43.000 |
| Z | -2.199 | -2.430 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .028 | .015 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 ^b | .014 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 3 dan Stage 4 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OD_IgG_Fn | OD_IgG_Ca |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 11.000 | 8.000 |
| Wilcoxon W | 77.000 | 74.000 |
| Z | -2.491 | -2.762 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .013 | .006 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .011 ^b | .004 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Hipotesis Minor 3.2.2.4 dan Hipotesis Minor 3.2.2.5

Normal

Correlations

| | | | OD_IgG_Aa | OD_IgA_Aa | | |
|----------------|-----------------------|-----------------|-----------|-----------|------|-------|
| Spearman's rho | Keberadaan_Antigen_Aa | Correlation | .048 | .000 | | |
| | | Coefficient | | | | |
| | | Sig. (2-tailed) | | | .911 | 1.000 |
| | | N | | | 8 | 8 |

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Periodontitis Stage 1

| Correlations ^c | | | OD_IgG_Aa | OD_IgA_Aa |
|---------------------------|-----------------------|-------------------------|-----------|-----------|
| Spearman's rho | Keberadaan_Antigen_Aa | Correlation Coefficient | -.300 | -.500 |
| | | Sig. (2-tailed) | .624 | .391 |
| | | N | 5 | 5 |

c. Some or all bootstrap sample results are missing, so no bootstrap estimation has been performed for this table.

Periodontitis Stage 2

| Correlations | | | OD_IgG_Aa | OD_IgA_Aa |
|----------------|-----------------------|-------------------------|-----------|-----------|
| Spearman's rho | Keberadaan_Antigen_Aa | Correlation Coefficient | .071 | .048 |
| | | Sig. (2-tailed) | .867 | .911 |
| | | N | 8 | 8 |

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Periodontitis Stage 3

| Correlations | | | OD_IgG_Aa | OD_IgA_Aa |
|----------------|-----------------------|-------------------------|-----------|-----------|
| Spearman's rho | Keberadaan_Antigen_Aa | Correlation Coefficient | .727* | .688* |
| | | Sig. (2-tailed) | .011 | .019 |
| | | N | 11 | 11 |

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Periodontitis Stage 4

| Correlations | | | OD_IgG_Aa | OD_IgA_Aa |
|----------------|-----------------------|-------------------------|-----------|-----------|
| Spearman's rho | Keberadaan_Antigen_Aa | Correlation Coefficient | -.036 | .321 |
| | | Sig. (2-tailed) | .939 | .482 |
| | | N | 7 | 7 |

Hipotesis Minor 3.2.2.6

| Tests of Normality | | | | | | | |
|--------------------|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Stage_Perio | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Indeks_Plak | Normal | .172 | 8 | .200* | .922 | 8 | .445 |
| | Stage 1 | .265 | 5 | .200* | .849 | 5 | .190 |

| | | | | | | | |
|-----|---------|------|----|-------|------|----|------|
| | Stage 2 | .212 | 8 | .200* | .854 | 8 | .104 |
| | Stage 3 | .253 | 11 | .048 | .864 | 11 | .065 |
| | Stage 4 | .146 | 7 | .200* | .958 | 7 | .798 |
| OHI | Normal | .310 | 8 | .023 | .720 | 8 | .004 |
| | Stage 1 | .237 | 5 | .200* | .959 | 5 | .800 |
| | Stage 2 | .163 | 8 | .200* | .973 | 8 | .920 |
| | Stage 3 | .234 | 11 | .094 | .948 | 11 | .617 |
| | Stage 4 | .241 | 7 | .200* | .881 | 7 | .229 |
| PBI | Normal | .229 | 8 | .200* | .881 | 8 | .191 |
| | Stage 1 | .327 | 5 | .086 | .789 | 5 | .066 |
| | Stage 2 | .222 | 8 | .200* | .865 | 8 | .133 |
| | Stage 3 | .221 | 11 | .139 | .895 | 11 | .161 |
| | Stage 4 | .205 | 7 | .200* | .946 | 7 | .693 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Indeks_Plak | Between Groups | 6.377 | 4 | 1.594 | 20.104 | .000 |
| | Within Groups | 2.696 | 34 | .079 | | |
| | Total | 9.073 | 38 | | | |
| PBI | Between Groups | 27.614 | 4 | 6.904 | 35.000 | .000 |
| | Within Groups | 6.706 | 34 | .197 | | |
| | Total | 34.320 | 38 | | | |

Test of Homogeneity of Variances

| | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|-------------|------------------|-----|-----|------|
| Indeks_Plak | 1.906 | 4 | 34 | .132 |
| PBI | 2.099 | 4 | 34 | .103 |

Multiple Comparisons

| Dependent Variable | | (I) Stage_Perio | (J) Stage_Perio | Sig. |
|--------------------|------------|-----------------|-----------------|-------|
| Indeks_Plak | Bonferroni | Normal | Stage 1 | 1.000 |
| | | | Stage 2 | .139 |
| | | | Stage 3 | .000 |

| | | | | |
|-----|------------|---------|---------|-------|
| | | | Stage 4 | .000 |
| | | Stage 1 | Normal | 1.000 |
| | | | Stage 2 | 1.000 |
| | | | Stage 3 | .005 |
| | | | Stage 4 | .000 |
| | | Stage 2 | Normal | .139 |
| | | | Stage 1 | 1.000 |
| | | | Stage 3 | .013 |
| | | | Stage 4 | .000 |
| | | Stage 3 | Normal | .000 |
| | | | Stage 1 | .005 |
| | | | Stage 2 | .013 |
| | | | Stage 4 | .289 |
| | | Stage 4 | Normal | .000 |
| | | | Stage 1 | .000 |
| | | | Stage 2 | .000 |
| | | | Stage 3 | .289 |
| PBI | Bonferroni | Normal | Stage 1 | .304 |
| | | | Stage 2 | .008 |
| | | | Stage 3 | .000 |
| | | | Stage 4 | .000 |
| | | Stage 1 | Normal | .304 |
| | | | Stage 2 | 1.000 |
| | | | Stage 3 | .002 |
| | | | Stage 4 | .000 |
| | | Stage 2 | Normal | .008 |
| | | | Stage 1 | 1.000 |
| | | | Stage 3 | .009 |
| | | | Stage 4 | .000 |
| | | Stage 3 | Normal | .000 |
| | | | Stage 1 | .002 |
| | | | Stage 2 | .009 |
| | | | Stage 4 | .001 |
| | | Stage 4 | Normal | .000 |
| | | | Stage 1 | .000 |
| | | | Stage 2 | .000 |
| | | | Stage 3 | .001 |

Indeks Kebersihan Mulut (OHI)

Test Statistics^{a,b}

| | OHI |
|-------------|--------|
| Chi-Square | 32.933 |
| df | 4 |
| Asymp. Sig. | .000 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Stage_Perio

Normal dan Stage 1 Periodontitis

Test Statistics^a

| | OHI |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 1.000 |
| Wilcoxon W | 37.000 |
| Z | -2.781 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .005 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .003 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Normal dan Stage 2 Periodotitis

Test Statistics^a

| | OHI |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 1.000 |
| Wilcoxon W | 37.000 |
| Z | -3.256 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .001 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .000 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Normal dan Stage 3 Periodotitis

Test Statistics^a

| | OHI |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 36.000 |
| Z | -3.635 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .000 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .000 ^b |

- a. Grouping Variable: Stage_Perio
b. Not corrected for ties.

Normal dan Stage 4 Periodotitis

| Test Statistics ^a | |
|--------------------------------|-------------------|
| | OHI |
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 36.000 |
| Z | -3.240 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .001 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .000 ^b |

- a. Grouping Variable: Stage_Perio
b. Not corrected for ties.

Stage 1 dan Stage 2 Periodotitis

| Test Statistics ^a | |
|--------------------------------|-------------------|
| | OHI |
| Mann-Whitney U | 12.000 |
| Wilcoxon W | 27.000 |
| Z | -1.171 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .242 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .284 ^b |

- a. Grouping Variable: Stage_Perio
b. Not corrected for ties.

Stage 1 dan Stage 3 Periodotitis

| Test Statistics ^a | |
|--------------------------------|-------------------|
| | OHI |
| Mann-Whitney U | 1.000 |
| Wilcoxon W | 16.000 |
| Z | -3.004 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .003 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .001 ^b |

- a. Grouping Variable: Stage_Perio
b. Not corrected for ties.

Stage 1 dan Stage 4 Periodotitis

Test Statistics^a

| | OHI |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 15.000 |
| Z | -2.842 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .004 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .003 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 2 dan Stage 3 Periodotitis

Test Statistics^a

| | Indeks_Kalkulus | Indeks_Debri s | OHI |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 2.000 | 6.000 | 2.000 |
| Wilcoxon W | 38.000 | 42.000 | 38.000 |
| Z | -3.470 | -3.145 | -3.470 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .001 | .002 | .001 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .000 ^b | .001 ^b | .000 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 2 dan Stage 4 Periodotitis

Test Statistics^a

| | Indeks_Kalkulus | Indeks_Debri s | OHI |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 | .000 | .000 |
| Wilcoxon W | 36.000 | 36.000 | 36.000 |
| Z | -3.243 | -3.243 | -3.240 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .001 | .001 | .001 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .000 ^b | .000 ^b | .000 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Stage 3 dan Stage 4 Periodontitis

Test Statistics^a

| | Indeks_Kalkulus | Indeks_Debris | OHI |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 13.000 | 16.000 | 13.500 |
| Wilcoxon W | 79.000 | 82.000 | 79.500 |
| Z | -2.312 | -2.039 | - |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .021 | .041 | .023 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .020 ^b | .044 ^b | .020 ^b |

a. Grouping Variable: Stage_Perio

b. Not corrected for ties.

Hipotesis Minor 3.2.2.7

COP_PLAK * COP_KeberadaanAntigen

Crosstab

| | | COP_KeberadaanAntigen | | Total |
|------------------------|-------------------|-----------------------|---------------------|--------|
| | | Tinggi (>2742,225) | Rendah (<=2742,225) | |
| COP_PLAK Baik (<=0,62) | Count | 10 | 3 | 13 |
| | % within COP_PLAK | 76.9% | 23.1% | 100.0% |
| COP_PLAK Buruk (>0,62) | Count | 14 | 12 | 26 |
| | % within COP_PLAK | 53.8% | 46.2% | 100.0% |
| Total | Count | 24 | 15 | 39 |
| | % within COP_PLAK | 61.5% | 38.5% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2-sided) | Exact Sig. (2-sided) | Exact Sig. (1-sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|-----------------------------------|----------------------|----------------------|
| Pearson Chi-Square | 1.950 ^a | 1 | .163 | | |
| Continuity Correction ^b | 1.097 | 1 | .295 | | |
| Likelihood Ratio | 2.035 | 1 | .154 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .295 | .147 |
| Linear-by-Linear Association | 1.900 | 1 | .168 | | |

| | | | |
|------------------|----|--|--|
| N of Valid Cases | 39 | | |
|------------------|----|--|--|

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.00.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|---|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_PLAK (Baik (<= 0,62) / Buruk (>0,62)) | 2.857 | .636 | 12.844 |
| For cohort COP_KeberadaanAntigen = Tinggi (> 2742,225) | 1.429 | .898 | 2.272 |
| For cohort COP_KeberadaanAntigen = Rendah (<= 2742,225) | .500 | .171 | 1.466 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_OHI * COP_KeberadaanAntigen

Crosstab

| | | COP_KeberadaanAntigen | | Total |
|------------------------|------------------|-----------------------|----------------------|--------|
| | | Tinggi (> 2742,225) | Rendah (<= 2742,225) | |
| COP_OHI Baik (<= 0,76) | Count | 7 | 3 | 10 |
| | % within COP_OHI | 70.0% | 30.0% | 100.0% |
| Buruk (>0,76) | Count | 17 | 12 | 29 |
| | % within COP_OHI | 58.6% | 41.4% | 100.0% |
| Total | Count | 24 | 15 | 39 |
| | % within COP_OHI | 61.5% | 38.5% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|-------------------|----|----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | | Significance (2- sided) | | |
| Pearson Chi-Square | .407 ^a | 1 | .524 | | |
| Continuity Correction ^b | .068 | 1 | .794 | | |
| Likelihood Ratio | .416 | 1 | .519 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .711 | .403 |
| Linear-by-Linear Association | .396 | 1 | .529 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.85.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|-------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_OHI (Baik (<= 0,76) / Buruk (>0,76)) | 1.647 | .353 | 7.692 |
| For cohort COP_KeberadaanAntigen = Tinggi (> 2742,225) | 1.194 | .718 | 1.985 |
| For cohort COP_KeberadaanAntigen = Rendah (<= 2742,225) | .725 | .256 | 2.054 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_PBI * COP_KeberadaanAntigen

Crosstab

| | | COP_KeberadaanAntigen | | Total |
|------------------------|------------------|-----------------------|----------------------|--------|
| | | Tinggi (> 2742,225) | Rendah (<= 2742,225) | |
| COP_PBI Baik (<= 0,25) | Count | 7 | 2 | 9 |
| | % within COP_PBI | 77.8% | 22.2% | 100.0% |
| Buruk (>0,25) | Count | 17 | 13 | 30 |
| | % within COP_PBI | 56.7% | 43.3% | 100.0% |
| Total | Count | 24 | 15 | 39 |
| | % within COP_PBI | 61.5% | 38.5% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2-sided) | Exact Sig. (2-sided) | Exact Sig. (1-sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|-----------------------------------|----------------------|----------------------|
| Pearson Chi-Square | 1.304 ^a | 1 | .254 | | |
| Continuity Correction ^b | .564 | 1 | .453 | | |
| Likelihood Ratio | 1.381 | 1 | .240 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .437 | .230 |
| Linear-by-Linear Association | 1.270 | 1 | .260 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.46.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_PBI (Baik (<= 0,25) / Buruk (>0,25)) | 2.676 | .475 | 15.089 |
| For cohort COP_KeberadaanAntigen = Tinggi (> 2742,225) | 1.373 | .859 | 2.194 |
| For cohort COP_KeberadaanAntigen = Rendah (<= 2742,225) | .513 | .141 | 1.861 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

Hipotesis Minor 3.2.2.8

COP_IgA_Aa_PLAK * COP_PLAK

Crosstab

| | | COP_PLAK | | Total |
|---------------------------------|--------------------------|----------------|---------------|--------|
| | | Baik (<= 0,62) | Buruk (>0,62) | |
| COP_IgA_Aa_PLAK Tinggi (> 3,98) | Count | 6 | 5 | 11 |
| | % within COP_IgA_Aa_PLAK | 54.5% | 45.5% | 100.0% |
| Rendah (<= 3,98) | Count | 7 | 21 | 28 |
| | % within COP_IgA_Aa_PLAK | 25.0% | 75.0% | 100.0% |
| Total | Count | 13 | 26 | 39 |
| | % within COP_IgA_Aa_PLAK | 33.3% | 66.7% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2-sided) | Exact Sig. (2-sided) | Exact Sig. (1-sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|-----------------------------------|----------------------|----------------------|
| Pearson Chi-Square | 3.102 ^a | 1 | .078 | | |
| Continuity Correction ^b | 1.915 | 1 | .166 | | |
| Likelihood Ratio | 2.999 | 1 | .083 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .131 | .085 |
| Linear-by-Linear Association | 3.023 | 1 | .082 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.67.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|---|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Aa_PLAK (Tinggi (> 3,98) / Rendah (<= 3,98)) | 3.600 | .834 | 15.547 |
| For cohort COP_PLAK = Baik (<= 0,62) | 2.182 | .944 | 5.045 |
| For cohort COP_PLAK = Buruk (>0,62) | .606 | .306 | 1.198 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgA_Pg_PLAK * COP_PLAK

Crosstab

| | | COP_PLAK | | Total |
|----------------------------------|--------------------------|----------------|---------------|--------|
| | | Baik (<= 0,62) | Buruk (>0,62) | |
| COP_IgA_Pg_PLAK Tinggi (> 1,424) | Count | 2 | 8 | 10 |
| | % within COP_IgA_Pg_PLAK | 20.0% | 80.0% | 100.0% |
| Rendah (<= 1,424) | Count | 11 | 18 | 29 |
| | % within COP_IgA_Pg_PLAK | 37.9% | 62.1% | 100.0% |
| Total | Count | 13 | 26 | 39 |
| | % within COP_IgA_Pg_PLAK | 33.3% | 66.7% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2-sided) | Exact Sig. (2-sided) | Exact Sig. (1-sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|-----------------------------------|----------------------|----------------------|
| Pearson Chi-Square | 1.076 ^a | 1 | .300 | | |
| Continuity Correction ^b | .420 | 1 | .517 | | |
| Likelihood Ratio | 1.144 | 1 | .285 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .445 | .264 |
| Linear-by-Linear Association | 1.048 | 1 | .306 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.33.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|---|-------|-------------------------|-------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Pg_PLAK (Tinggi (> 1,424) / Rendah (<= 1,424)) | .409 | .073 | 2.288 |
| For cohort COP_PLAK = Baik (<= 0,62) | .527 | .140 | 1.982 |
| For cohort COP_PLAK = Buruk (>0,62) | 1.289 | .846 | 1.963 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgA_Td_PLAK * COP_PLAK

Crosstab

| | | COP_PLAK | | Total |
|----------------------------------|--------------------------|----------------|---------------|--------|
| | | Baik (<= 0,62) | Buruk (>0,62) | |
| COP_IgA_Td_PLAK Tinggi (> 0,563) | Count | 9 | 11 | 20 |
| | % within COP_IgA_Td_PLAK | 45.0% | 55.0% | 100.0% |
| | | | | |
| Rendah (<= 0,563) | Count | 4 | 15 | 19 |
| | % within COP_IgA_Td_PLAK | 21.1% | 78.9% | 100.0% |
| | | | | |
| Total | Count | 13 | 26 | 39 |
| | % within COP_IgA_Td_PLAK | 33.3% | 66.7% | 100.0% |
| | | | | |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2-sided) | Exact Sig. (2-sided) | Exact Sig. (1-sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|-----------------------------------|----------------------|----------------------|
| Pearson Chi-Square | 2.514 ^a | 1 | .113 | | |
| Continuity Correction ^b | 1.552 | 1 | .213 | | |
| Likelihood Ratio | 2.566 | 1 | .109 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .176 | .106 |
| Linear-by-Linear Association | 2.450 | 1 | .118 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6.33.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|---|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Td_PLAK (Tinggi (> 0,563) / Rendah (<= 0,563)) | 3.068 | .748 | 12.587 |
| For cohort COP_PLAK = Baik (<= 0,62) | 2.138 | .789 | 5.790 |
| For cohort COP_PLAK = Buruk (>0,62) | .697 | .440 | 1.103 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgA_Fn_PLAK * COP_PLAK

Crosstab

| | | COP_PLAK | | |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,62) | Buruk (>0,62) | Total |
| COP_IgA_Fn_PLAK Tinggi (> 1,731) | Count | 9 | 11 | 20 |
| | % within COP_IgA_Fn_PLAK | 45.0% | 55.0% | 100.0% |
| Rendah (<= 1,731) | Count | 4 | 15 | 19 |
| | % within COP_IgA_Fn_PLAK | 21.1% | 78.9% | 100.0% |
| Total | Count | 13 | 26 | 39 |
| | % within COP_IgA_Fn_PLAK | 33.3% | 66.7% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2-sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1-sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---|-----------------------------|-------------------------|
| Pearson Chi-Square | 2.514 ^a | 1 | .113 | | |
| Continuity Correction ^b | 1.552 | 1 | .213 | | |
| Likelihood Ratio | 2.566 | 1 | .109 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .176 | .106 |
| Linear-by-Linear Association | 2.450 | 1 | .118 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6.33.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|---|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Fn_PLAK (Tinggi (> 1,731) / Rendah (<= 1,731)) | 3.068 | .748 | 12.587 |
| For cohort COP_PLAK = Baik (<= 0,62) | 2.138 | .789 | 5.790 |
| For cohort COP_PLAK = Buruk (>0,62) | .697 | .440 | 1.103 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgA_Ca_PLAK * COP_PLAK

Crosstab

| | | COP_PLAK | | Total |
|-------------------------------------|-----------------------------|----------------|---------------|--------|
| | | Baik (<= 0,62) | Buruk (>0,62) | |
| COP_IgA_Ca_PLAK Tinggi (> 1,125) | Count | 8 | 10 | 18 |
| | % within COP_IgA_Ca_PLAK | 44.4% | 55.6% | 100.0% |
| Rendah (<= 1,125) | Count | 5 | 16 | 21 |
| | % within COP_IgA_Ca_PLAK | 23.8% | 76.2% | 100.0% |
| Total | Count | 13 | 26 | 39 |
| | % within COP_IgA_Ca_PLAK | 33.3% | 66.7% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2-sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 1.857 ^a | 1 | .173 | | |
| Continuity Correction ^b | 1.045 | 1 | .307 | | |
| Likelihood Ratio | 1.865 | 1 | .172 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .196 | .153 |
| Linear-by-Linear Association | 1.810 | 1 | .179 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6.00.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|---|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Ca_PLAK (Tinggi (> 1,125) / Rendah (≤ 1,125)) | 2.560 | .652 | 10.059 |
| For cohort COP_PLAK = Baik (≤ 0,62) | 1.867 | .742 | 4.699 |
| For cohort COP_PLAK = Buruk (>0,62) | .729 | .452 | 1.175 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

Hipotesis Minor 3.2.2.9

COP_IgG_Aa_PLAK * COP_PLAK

Crosstab

| | | COP_PLAK | | Total |
|----------------------------------|-----------------------------|------------------|------------------|--------|
| | | Baik (≤ 0,62) | Buruk (>0,62) | |
| COP_IgG_Aa_PLAK Tinggi (> 0,255) | Count | 4 | 17 | 21 |
| | % within COP_IgG_Aa_PLAK | 19.0% | 81.0% | 100.0% |
| Rendah (≤ 0,255) | Count | 9 | 9 | 18 |
| | % within COP_IgG_Aa_PLAK | 50.0% | 50.0% | 100.0% |
| Total | Count | 13 | 26 | 39 |
| | % within COP_IgG_Aa_PLAK | 33.3% | 66.7% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2-sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 4.179 ^a | 1 | .041 | | |
| Continuity Correction ^b | 2.902 | 1 | .088 | | |
| Likelihood Ratio | 4.244 | 1 | .039 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .087 | .044 |
| Linear-by-Linear Association | 4.071 | 1 | .044 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6.00.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|---|-------|-------------------------|-------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Aa_PLAK (Tinggi (> 0,255) / Rendah (<= 0,255)) | .235 | .056 | .982 |
| For cohort COP_PLAK = Baik (<= 0,62) | .381 | .141 | 1.031 |
| For cohort COP_PLAK = Buruk (>0,62) | 1.619 | .976 | 2.687 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgG_Pg_PLAK * COP_PLAK

Crosstab

| | | COP_PLAK | | Total |
|----------------------------------|--------------------------|----------------|---------------|--------|
| | | Baik (<= 0,62) | Buruk (>0,62) | |
| COP_IgG_Pg_PLAK Tinggi (> 0,555) | Count | 8 | 8 | 16 |
| | % within COP_IgG_Pg_PLAK | 50.0% | 50.0% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,555) | Count | 5 | 18 | 23 |
| | % within COP_IgG_Pg_PLAK | 21.7% | 78.3% | 100.0% |
| Total | Count | 13 | 26 | 39 |
| | % within COP_IgG_Pg_PLAK | 33.3% | 66.7% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic | Exact Sig. (2-sided) | Exact Sig. (1-sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|------------------------|----------------------|----------------------|
| | | | Significance (2-sided) | | |
| Pearson Chi-Square | 3.391 ^a | 1 | .066 | | |
| Continuity Correction ^b | 2.239 | 1 | .135 | | |
| Likelihood Ratio | 3.382 | 1 | .066 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .090 | .068 |
| Linear-by-Linear Association | 3.304 | 1 | .069 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.33.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|---|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Pg_PLAK (Tinggi (> 0,555) / Rendah (<= 0,555)) | 3.600 | .893 | 14.505 |
| For cohort COP_PLAK = Baik (<= 0,62) | 2.300 | .919 | 5.756 |
| For cohort COP_PLAK = Buruk (>0,62) | .639 | .374 | 1.091 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgG_Td_PLAK * COP_PLAK

Crosstab

| | | COP_PLAK | | Total |
|-------------------|------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------|
| | | Baik (<= 0,62) | Buruk (>0,62) | |
| COP_IgG_Td_PLAK | Tinggi (> 0,415) | Count 7 | Count 19 | Count 26 |
| | | % within COP_IgG_Td_PLAK 26.9% | % within COP_IgG_Td_PLAK 73.1% | % total 100.0% |
| Rendah (<= 0,415) | Count | Count 6 | Count 7 | Count 13 |
| | | % within COP_IgG_Td_PLAK 46.2% | % within COP_IgG_Td_PLAK 53.8% | % total 100.0% |
| Total | Count | Count 13 | Count 26 | Count 39 |
| | | % within COP_IgG_Td_PLAK 33.3% | % within COP_IgG_Td_PLAK 66.7% | % total 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2-sided) | Exact Sig. (2-sided) | Exact Sig. (1-sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|-----------------------------------|----------------------|----------------------|
| Pearson Chi-Square | 1.442 ^a | 1 | .230 | | |
| Continuity Correction ^b | .707 | 1 | .401 | | |
| Likelihood Ratio | 1.414 | 1 | .234 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .290 | .199 |
| Linear-by-Linear Association | 1.405 | 1 | .236 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.33.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|---|-------|-------------------------|-------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Td_PLAK (Tinggi (> 0,415) / Rendah (<= 0,415)) | .430 | .107 | 1.731 |
| For cohort COP_PLAK = Baik (<= 0,62) | .583 | .246 | 1.383 |
| For cohort COP_PLAK = Buruk (>0,62) | 1.357 | .779 | 2.363 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgG_Fn_PLAK * COP_PLAK

Crosstab

| | | COP_PLAK | | Total | |
|-----------------|----------------------|-----------------------------|------------------|-------|--------|
| | | Baik (<= 0,62) | Buruk (>0,62) | | |
| COP_IgG_Fn_PLAK | Tinggi (> 0,624) | Count | 9 | 12 | 21 |
| | | % within COP_IgG_Fn_PLAK | 42.9% | 57.1% | 100.0% |
| | Rendah (<= 0,624) | Count | 4 | 14 | 18 |
| | | % within COP_IgG_Fn_PLAK | 22.2% | 77.8% | 100.0% |
| Total | | Count | 13 | 26 | 39 |
| | | % within COP_IgG_Fn_PLAK | 33.3% | 66.7% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2-sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 1.857 ^a | 1 | .173 | | |
| Continuity Correction ^b | 1.045 | 1 | .307 | | |
| Likelihood Ratio | 1.897 | 1 | .168 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .307 | .153 |
| Linear-by-Linear Association | 1.810 | 1 | .179 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6.00.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|---|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Fn_PLAK (Tinggi (> 0,624) / Rendah (<= 0,624)) | 2.625 | .642 | 10.728 |
| For cohort COP_PLAK = Baik (<= 0,62) | 1.929 | .713 | 5.218 |
| For cohort COP_PLAK = Buruk (>0,62) | .735 | .471 | 1.147 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgG_Ca_PLAK * COP_PLAK

Crosstab

| | | COP_PLAK | | Total |
|-------------------------------------|-----------------------------|----------------|---------------|--------|
| | | Baik (<= 0,62) | Buruk (>0,62) | |
| COP_IgG_Ca_PLAK Tinggi (> 0,248) | Count | 3 | 16 | 19 |
| | % within COP_IgG_Ca_PLAK | 15.8% | 84.2% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,248) | Count | 10 | 10 | 20 |
| | % within COP_IgG_Ca_PLAK | 50.0% | 50.0% | 100.0% |
| Total | Count | 13 | 26 | 39 |
| | % within COP_IgG_Ca_PLAK | 33.3% | 66.7% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2-sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 5.132 ^a | 1 | .023 | | |
| Continuity Correction ^b | 3.708 | 1 | .054 | | |
| Likelihood Ratio | 5.348 | 1 | .021 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .041 | .026 |
| Linear-by-Linear Association | 5.000 | 1 | .025 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6.33.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|-------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Ca_PLAK (Tinggi (> 0,248) / Rendah (<= 0,248)) | .188 | .041 | .851 |
| For cohort COP_PLAK = Baik (<= 0,62) | .316 | .102 | .975 |
| For cohort COP_PLAK = Buruk (>0,62) | 1.684 | 1.043 | 2.721 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

Hipotesis Minor 3.2.2.10

COP_IgA_Aa_OHI * COP_OHI

Crosstab

| | | COP_OHI | | Total |
|--------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,76) | Buruk (>0,76) | |
| COP_IgA_Aa_OHI Tinggi (> 3,95) | Count | 7 | 6 | 13 |
| | % within COP_IgA_Aa_OHI | 53.8% | 46.2% | 100.0% |
| Rendah (<= 3,95) | Count | 3 | 23 | 26 |
| | % within COP_IgA_Aa_OHI | 11.5% | 88.5% | 100.0% |
| Total | Count | 10 | 29 | 39 |
| | % within COP_IgA_Aa_OHI | 25.6% | 74.4% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 8.136 ^a | 1 | .004 | | |
| Continuity Correction ^b | 6.069 | 1 | .014 | | |
| Likelihood Ratio | 7.862 | 1 | .005 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .008 | .008 |
| Linear-by-Linear Association | 7.928 | 1 | .005 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.33.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Aa_OHI (Tinggi (> 3,95) / Rendah (<= 3,95)) | 8.944 | 1.763 | 45.366 |
| For cohort COP_OHI = Baik (<= 0,76) | 4.667 | 1.438 | 15.146 |
| For cohort COP_OHI = Buruk (>0,76) | .522 | .285 | .954 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgA_Td_OHI * COP_OHI

Crosstab

| | | COP_OHI | | Total |
|---------------------------------|-------------------------|----------------|---------------|--------|
| | | Baik (<= 0,76) | Buruk (>0,76) | |
| COP_IgA_Td_OHI Tinggi (> 0,563) | Count | 8 | 12 | 20 |
| | % within COP_IgA_Td_OHI | 40.0% | 60.0% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,563) | Count | 2 | 17 | 19 |
| | % within COP_IgA_Td_OHI | 10.5% | 89.5% | 100.0% |
| Total | Count | 10 | 29 | 39 |
| | % within COP_IgA_Td_OHI | 25.6% | 74.4% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2-sided) | Exact Sig. (2-sided) | Exact Sig. (1-sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|-----------------------------------|----------------------|----------------------|
| Pearson Chi-Square | 4.439 ^a | 1 | .035 | | |
| Continuity Correction ^b | 3.028 | 1 | .082 | | |
| Likelihood Ratio | 4.696 | 1 | .030 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .065 | .039 |
| Linear-by-Linear Association | 4.326 | 1 | .038 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.87.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Td_OHI (Tinggi (> 0,563) / Rendah (<= 0,563)) | 5.667 | 1.018 | 31.541 |
| For cohort COP_OHI = Baik (<= 0,76) | 3.800 | .922 | 15.667 |
| For cohort COP_OHI = Buruk (>0,76) | .671 | .454 | .990 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgA_Pg_OHI * COP_OHI

Crosstab

| | | COP_OHI | | Total |
|------------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,76) | Buruk (>0,76) | |
| COP_IgA_Pg_OHI Tinggi (> 0,965) | Count | 9 | 15 | 24 |
| | % within COP_IgA_Pg_OHI | 37.5% | 62.5% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,965) | Count | 1 | 14 | 15 |
| | % within COP_IgA_Pg_OHI | 6.7% | 93.3% | 100.0% |
| Total | Count | 10 | 29 | 39 |
| | % within COP_IgA_Pg_OHI | 25.6% | 74.4% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 4.603 ^a | 1 | .032 | | |
| Continuity Correction ^b | 3.128 | 1 | .077 | | |
| Likelihood Ratio | 5.300 | 1 | .021 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .057 | .034 |
| Linear-by-Linear Association | 4.485 | 1 | .034 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.85.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Pg_OHI (Tinggi (> 0,965) / Rendah (<= 0,965)) | 8.400 | .940 | 75.102 |
| For cohort COP_OHI = Baik (<= 0,76) | 5.625 | .790 | 40.041 |
| For cohort COP_OHI = Buruk (>0,76) | .670 | .478 | .939 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgA_Fn_OHI * COP_OHI

Crosstab

| | | COP_OHI | | Total |
|------------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,76) | Buruk (>0,76) | |
| COP_IgA_Fn_OHI Tinggi (> 1,731) | Count | 8 | 12 | 20 |
| | % within COP_IgA_Fn_OHI | 40.0% | 60.0% | 100.0% |
| Rendah (<= 1,731) | Count | 2 | 17 | 19 |
| | % within COP_IgA_Fn_OHI | 10.5% | 89.5% | 100.0% |
| Total | Count | 10 | 29 | 39 |
| | % within COP_IgA_Fn_OHI | 25.6% | 74.4% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|--|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 4.439 ^a | 1 | .035 | | |
| Continuity Correction ^b | 3.028 | 1 | .082 | | |
| Likelihood Ratio | 4.696 | 1 | .030 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .065 | .039 |
| Linear-by-Linear Association | 4.326 | 1 | .038 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.87.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|---|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Fn_OHI (Tinggi (> 1,731) / Rendah (<= 1,731)) | 5.667 | 1.018 | 31.541 |
| For cohort COP_OHI = Baik (<= 0,76) | 3.800 | .922 | 15.667 |
| For cohort COP_OHI = Buruk (>0,76) | .671 | .454 | .990 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgA_Ca_OHI * COP_OHI

Crosstab

| | | COP_OHI | | Total |
|--------------------------------|-------------------------|----------------|---------------|--------|
| | | Baik (<= 0,76) | Buruk (>0,76) | |
| COP_IgA_Ca_OHI Tinggi (> 1,11) | Count | 8 | 11 | 19 |
| | % within COP_IgA_Ca_OHI | 42.1% | 57.9% | 100.0% |
| | | | | |
| Rendah (<= 1,11) | Count | 2 | 18 | 20 |
| | % within COP_IgA_Ca_OHI | 10.0% | 90.0% | 100.0% |
| | | | | |
| Total | Count | 10 | 29 | 39 |
| | % within COP_IgA_Ca_OHI | 25.6% | 74.4% | 100.0% |
| | | | | |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2-sided) | Exact Sig. (2-sided) | Exact Sig. (1-sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|-----------------------------------|----------------------|----------------------|
| Pearson Chi-Square | 5.267 ^a | 1 | .022 | | |
| Continuity Correction ^b | 3.718 | 1 | .054 | | |
| Likelihood Ratio | 5.536 | 1 | .019 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .031 | .026 |
| Linear-by-Linear Association | 5.132 | 1 | .023 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.87.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|---|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Ca_OHI (Tinggi (> 1,11) / Rendah (<= 1,11)) | 6.545 | 1.170 | 36.608 |
| For cohort COP_OHI = Baik (<= 0,76) | 4.211 | 1.021 | 17.360 |
| For cohort COP_OHI = Buruk (>0,76) | .643 | .427 | .970 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

Hipotesis Minor 3.2.2.11

COP_IgG_Aa_OHI * COP_OHI

Crosstab

| | | COP_OHI | | Total |
|---------------------------------|-------------------------|----------------|---------------|--------|
| | | Baik (<= 0,76) | Buruk (>0,76) | |
| COP_IgG_Aa_OHI Tinggi (> 0,316) | Count | 3 | 14 | 17 |
| | % within COP_IgG_Aa_OHI | 17.6% | 82.4% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,316) | Count | 7 | 15 | 22 |
| | % within COP_IgG_Aa_OHI | 31.8% | 68.2% | 100.0% |
| Total | Count | 10 | 29 | 39 |
| | % within COP_IgG_Aa_OHI | 25.6% | 74.4% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2-sided) | Exact Sig. (2-sided) | Exact Sig. (1-sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|-----------------------------------|----------------------|----------------------|
| Pearson Chi-Square | 1.010 ^a | 1 | .315 | | |
| Continuity Correction ^b | .404 | 1 | .525 | | |
| Likelihood Ratio | 1.037 | 1 | .308 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .464 | .265 |
| Linear-by-Linear Association | .984 | 1 | .321 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.36.

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|-------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Aa_OHI (Tinggi (> 0,316) / Rendah (<= 0,316)) | .459 | .099 | 2.134 |
| For cohort COP_OHI = Baik (<= 0,76) | .555 | .168 | 1.833 |
| For cohort COP_OHI = Buruk (>0,76) | 1.208 | .842 | 1.732 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgG_Td_OHI * COP_OHI

Crosstab

| | | COP_OHI | | Total |
|---------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,76) | Buruk (>0,76) | |
| COP_IgG_Td_OHI Tinggi (> 0,645) | Count | 7 | 11 | 18 |
| | % within COP_IgG_Td_OHI | 38.9% | 61.1% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,645) | Count | 3 | 18 | 21 |
| | % within COP_IgG_Td_OHI | 14.3% | 85.7% | 100.0% |
| Total | Count | 10 | 29 | 39 |
| | % within COP_IgG_Td_OHI | 25.6% | 74.4% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 3.077 ^a | 1 | .079 | | |
| Continuity Correction ^b | 1.922 | 1 | .166 | | |
| Likelihood Ratio | 3.121 | 1 | .077 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .141 | .083 |
| Linear-by-Linear Association | 2.998 | 1 | .083 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.62.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Td_OHI (Tinggi (> 0,645) / Rendah (<= 0,645)) | 3.818 | .813 | 17.928 |
| For cohort COP_OHI = Baik (<= 0,76) | 2.722 | .822 | 9.011 |
| For cohort COP_OHI = Buruk (>0,76) | .713 | .474 | 1.072 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgG_Pg_OHI * COP_OHI

Crosstab

| | | COP_OHI | | Total |
|---------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,76) | Buruk (>0,76) | |
| COP_IgG_Pg_OHI Tinggi (> 0,555) | Count | 6 | 10 | 16 |
| | % within COP_IgG_Pg_OHI | 37.5% | 62.5% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,555) | Count | 4 | 19 | 23 |
| | % within COP_IgG_Pg_OHI | 17.4% | 82.6% | 100.0% |
| Total | Count | 10 | 29 | 39 |
| | % within COP_IgG_Pg_OHI | 25.6% | 74.4% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 2.001 ^a | 1 | .157 | | |
| Continuity Correction ^b | 1.085 | 1 | .297 | | |
| Likelihood Ratio | 1.979 | 1 | .159 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .264 | .149 |
| Linear-by-Linear Association | 1.950 | 1 | .163 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.10.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Pg_OHI (Tinggi (> 0,555) / Rendah (<= 0,555)) | 2.850 | .650 | 12.505 |
| For cohort COP_OHI = Baik (<= 0,76) | 2.156 | .723 | 6.429 |
| For cohort COP_OHI = Buruk (>0,76) | .757 | .495 | 1.155 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgG_Fn_OHI * COP_OHI

Crosstab

| | | COP_OHI | | Total |
|------------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,76) | Buruk (>0,76) | |
| COP_IgG_Fn_OHI Tinggi (> 0,658) | Count | 8 | 12 | 20 |
| | % within COP_IgG_Fn_OHI | 40.0% | 60.0% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,658) | Count | 2 | 17 | 19 |
| | % within COP_IgG_Fn_OHI | 10.5% | 89.5% | 100.0% |
| Total | Count | 10 | 29 | 39 |
| | % within COP_IgG_Fn_OHI | 25.6% | 74.4% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 4.439 ^a | 1 | .035 | | |
| Continuity Correction ^b | 3.028 | 1 | .082 | | |
| Likelihood Ratio | 4.696 | 1 | .030 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .065 | .039 |
| Linear-by-Linear Association | 4.326 | 1 | .038 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.87.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Fn_OHI (Tinggi (> 0,658) / Rendah (<= 0,658)) | 5.667 | 1.018 | 31.541 |
| For cohort COP_OHI = Baik (<= 0,76) | 3.800 | .922 | 15.667 |
| For cohort COP_OHI = Buruk (>0,76) | .671 | .454 | .990 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgG_Ca_OHI * COP_OHI

Crosstab

| | | COP_OHI | | Total |
|---------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,76) | Buruk (>0,76) | |
| COP_IgG_Ca_OHI Tinggi (> 0,258) | Count | 3 | 15 | 18 |
| | % within COP_IgG_Ca_OHI | 16.7% | 83.3% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,258) | Count | 7 | 14 | 21 |
| | % within COP_IgG_Ca_OHI | 33.3% | 66.7% | 100.0% |
| Total | Count | 10 | 29 | 39 |
| | % within COP_IgG_Ca_OHI | 25.6% | 74.4% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 1.412 ^a | 1 | .235 | | |
| Continuity Correction ^b | .673 | 1 | .412 | | |
| Likelihood Ratio | 1.449 | 1 | .229 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .290 | .207 |
| Linear-by-Linear Association | 1.376 | 1 | .241 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.62.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|-------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Ca_OHI (Tinggi (> 0,258) / Rendah (<= 0,258)) | .400 | .086 | 1.859 |
| For cohort COP_OHI = Baik (<= 0,76) | .500 | .151 | 1.655 |
| For cohort COP_OHI = Buruk (>0,76) | 1.250 | .867 | 1.803 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

Hipotesis Minor 3.2.2.12

COP_IgA_Aa_PBI * COP_PBI

Crosstab

| | | COP_PBI | | Total |
|--------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,25) | Buruk (>0,25) | |
| COP_IgA_Aa_PBI Tinggi (> 3,95) | Count | 7 | 6 | 13 |
| | % within COP_IgA_Aa_PBI | 53.8% | 46.2% | 100.0% |
| | Rendah (<= 3,95) | Count | 2 | 24 |
| % within COP_IgA_Aa_PBI | | 7.7% | 92.3% | 100.0% |
| Total | | Count | 9 | 30 |
| | % within COP_IgA_Aa_PBI | 23.1% | 76.9% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|---------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 10.400 ^a | 1 | .001 | | |
| Continuity Correction ^b | 7.963 | 1 | .005 | | |
| Likelihood Ratio | 10.089 | 1 | .001 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .003 | .003 |
| Linear-by-Linear Association | 10.133 | 1 | .001 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.00.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|--------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Aa_PBI (Tinggi (> 3,95) / Rendah (<= 3,95)) | 14.000 | 2.295 | 85.398 |
| For cohort COP_PBI = Baik (<= 0,25) | 7.000 | 1.686 | 29.060 |
| For cohort COP_PBI = Buruk (>0,25) | .500 | .275 | .909 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgA_Td_PBI * COP_PBI

Crosstab

| | | COP_PBI | | Total |
|---------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,25) | Buruk (>0,25) | |
| COP_IgA_Td_PBI Tinggi (> 0,633) | Count | 7 | 11 | 18 |
| | % within COP_IgA_Td_PBI | 38.9% | 61.1% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,633) | Count | 2 | 19 | 21 |
| | % within COP_IgA_Td_PBI | 9.5% | 90.5% | 100.0% |
| Total | Count | 9 | 30 | 39 |
| | % within COP_IgA_Td_PBI | 23.1% | 76.9% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 4.708 ^a | 1 | .030 | | |
| Continuity Correction ^b | 3.199 | 1 | .074 | | |
| Likelihood Ratio | 4.870 | 1 | .027 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .055 | .036 |
| Linear-by-Linear Association | 4.587 | 1 | .032 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.15.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Td_PBI (Tinggi (> 0,633) / Rendah (<= 0,633)) | 6.045 | 1.063 | 34.377 |
| For cohort COP_PBI = Baik (<= 0,25) | 4.083 | .968 | 17.232 |
| For cohort COP_PBI = Buruk (>0,25) | .675 | .456 | 1.001 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgA_Pg_PBI * COP_PBI

Crosstab

| | | COP_PBI | | Total |
|---------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,25) | Buruk (>0,25) | |
| COP_IgA_Pg_PBI Tinggi (> 0,969) | Count | 8 | 15 | 23 |
| | % within COP_IgA_Pg_PBI | 34.8% | 65.2% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,969) | Count | 1 | 15 | 16 |
| | % within COP_IgA_Pg_PBI | 6.3% | 93.8% | 100.0% |
| Total | Count | 9 | 30 | 39 |
| | % within COP_IgA_Pg_PBI | 23.1% | 76.9% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 4.327 ^a | 1 | .038 | | |
| Continuity Correction ^b | 2.869 | 1 | .090 | | |
| Likelihood Ratio | 4.934 | 1 | .026 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .056 | .041 |
| Linear-by-Linear Association | 4.216 | 1 | .040 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.69.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Pg_PBI (Tinggi (> 0,969) / Rendah (<= 0,969)) | 8.000 | .888 | 72.099 |
| For cohort COP_PBI = Baik (<= 0,25) | 5.565 | .770 | 40.248 |
| For cohort COP_PBI = Buruk (>0,25) | .696 | .503 | .962 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgA_Fn_PBI * COP_PBI

Crosstab

| | | COP_PBI | | Total |
|---------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,25) | Buruk (>0,25) | |
| COP_IgA_Fn_PBI Tinggi (> 1,731) | Count | 8 | 12 | 20 |
| | % within COP_IgA_Fn_PBI | 40.0% | 60.0% | 100.0% |
| Rendah (<= 1,731) | Count | 1 | 18 | 19 |
| | % within COP_IgA_Fn_PBI | 5.3% | 94.7% | 100.0% |
| Total | Count | 9 | 30 | 39 |
| | % within COP_IgA_Fn_PBI | 23.1% | 76.9% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 6.623 ^a | 1 | .010 | | |
| Continuity Correction ^b | 4.811 | 1 | .028 | | |
| Likelihood Ratio | 7.380 | 1 | .007 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .020 | .012 |
| Linear-by-Linear Association | 6.453 | 1 | .011 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.38.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|--------|-------------------------|---------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Fn_PBI (Tinggi (> 1,731) / Rendah (<= 1,731)) | 12.000 | 1.325 | 108.674 |
| For cohort COP_PBI = Baik (<= 0,25) | 7.600 | 1.047 | 55.142 |
| For cohort COP_PBI = Buruk (>0,25) | .633 | .436 | .920 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgA_Ca_PBI * COP_PBI

Crosstab

| | | COP_PBI | | Total |
|-----------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,25) | Buruk (>0,25) | |
| COP_IgA_Ca_PBI Tinggi (> 1,11) | Count | 8 | 11 | 19 |
| | % within COP_IgA_Ca_PBI | 42.1% | 57.9% | 100.0% |
| | Rendah (<= 1,11) | Count | 1 | 19 |
| % within COP_IgA_Ca_PBI | | 5.0% | 95.0% | 100.0% |
| Total | | Count | 9 | 30 |
| | % within COP_IgA_Ca_PBI | 23.1% | 76.9% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 7.557 ^a | 1 | .006 | | |
| Continuity Correction ^b | 5.611 | 1 | .018 | | |
| Likelihood Ratio | 8.331 | 1 | .004 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .008 | .008 |
| Linear-by-Linear Association | 7.363 | 1 | .007 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.38.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|--------|-------------------------|---------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgA_Ca_PBI (Tinggi (> 1,11) / Rendah (<= 1,11)) | 13.818 | 1.520 | 125.648 |
| For cohort COP_PBI = Baik (<= 0,25) | 8.421 | 1.161 | 61.099 |
| For cohort COP_PBI = Buruk (>0,25) | .609 | .410 | .906 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

Hipotesis Minor 3.2.2.13

COP_IgG_Aa_PBI * COP_PBI

Crosstab

| | | COP_PBI | | Total |
|-----------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,25) | Buruk (>0,25) | |
| COP_IgG_Aa_PBI Tinggi (> 0,19) | Count | 6 | 17 | 23 |
| | % within COP_IgG_Aa_PBI | 26.1% | 73.9% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,19) | Count | 2 | 13 | 15 |
| | % within COP_IgG_Aa_PBI | 13.3% | 86.7% | 100.0% |
| Total | Count | 8 | 30 | 38 |
| | % within COP_IgG_Aa_PBI | 21.1% | 78.9% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|-------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | .889 ^a | 1 | .346 | | |
| Continuity Correction ^b | .287 | 1 | .592 | | |
| Likelihood Ratio | .931 | 1 | .335 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .440 | .302 |
| Linear-by-Linear Association | .865 | 1 | .352 | | |
| N of Valid Cases | 38 | | | | |

a. 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.16.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Aa_PBI (Tinggi (> 0,19) / Rendah (<= 0,19)) | 2.294 | .396 | 13.277 |
| For cohort COP_PBI = Baik (<= 0,25) | 1.957 | .453 | 8.443 |
| For cohort COP_PBI = Buruk (>0,25) | .853 | .623 | 1.167 |
| N of Valid Cases | 38 | | |

COP_IgG_Td_PBI * COP_PBI

Crosstab

| | | COP_PBI | | Total |
|---------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,25) | Buruk (>0,25) | |
| COP_IgG_Td_PBI Tinggi (> 0,645) | Count | 7 | 11 | 18 |
| | % within COP_IgG_Td_PBI | 38.9% | 61.1% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,645) | Count | 2 | 19 | 21 |
| | % within COP_IgG_Td_PBI | 9.5% | 90.5% | 100.0% |
| Total | Count | 9 | 30 | 39 |
| | % within COP_IgG_Td_PBI | 23.1% | 76.9% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 4.708 ^a | 1 | .030 | | |
| Continuity Correction ^b | 3.199 | 1 | .074 | | |
| Likelihood Ratio | 4.870 | 1 | .027 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .055 | .036 |
| Linear-by-Linear Association | 4.587 | 1 | .032 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.15.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Td_PBI (Tinggi (> 0,645) / Rendah (<= 0,645)) | 6.045 | 1.063 | 34.377 |
| For cohort COP_PBI = Baik (<= 0,25) | 4.083 | .968 | 17.232 |
| For cohort COP_PBI = Buruk (>0,25) | .675 | .456 | 1.001 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgG_Pg_PBI * COP_PBI

Crosstab

| | | COP_PBI | | Total |
|---------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,25) | Buruk (>0,25) | |
| COP_IgG_Pg_PBI Tinggi (> 0,969) | Count | 4 | 6 | 10 |
| | % within COP_IgG_Pg_PBI | 40.0% | 60.0% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,969) | Count | 5 | 24 | 29 |
| | % within COP_IgG_Pg_PBI | 17.2% | 82.8% | 100.0% |
| Total | Count | 9 | 30 | 39 |
| | % within COP_IgG_Pg_PBI | 23.1% | 76.9% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 2.170 ^a | 1 | .141 | | |
| Continuity Correction ^b | 1.077 | 1 | .299 | | |
| Likelihood Ratio | 2.013 | 1 | .156 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .197 | .150 |
| Linear-by-Linear Association | 2.114 | 1 | .146 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.31.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Pg_PBI (Tinggi (> 0,969) / Rendah (<= 0,969)) | 3.200 | .652 | 15.696 |
| For cohort COP_PBI = Baik (<= 0,25) | 2.320 | .772 | 6.976 |
| For cohort COP_PBI = Buruk (>0,25) | .725 | .426 | 1.235 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgG_Fn_PBI * COP_PBI

Crosstab

| | | COP_PBI | | Total |
|---------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,25) | Buruk (>0,25) | |
| COP_IgG_Fn_PBI Tinggi (> 1,731) | Count | 3 | 5 | 8 |
| | % within COP_IgG_Fn_PBI | 37.5% | 62.5% | 100.0% |
| Rendah (<= 1,731) | Count | 6 | 25 | 31 |
| | % within COP_IgG_Fn_PBI | 19.4% | 80.6% | 100.0% |
| Total | Count | 9 | 30 | 39 |
| | % within COP_IgG_Fn_PBI | 23.1% | 76.9% | 100.0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 1.179 ^a | 1 | .277 | | |
| Continuity Correction ^b | .379 | 1 | .538 | | |
| Likelihood Ratio | 1.089 | 1 | .297 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .355 | .260 |
| Linear-by-Linear Association | 1.149 | 1 | .284 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.85.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Fn_PBI (Tinggi (> 1,731) / Rendah (<= 1,731)) | 2.500 | .463 | 13.495 |
| For cohort COP_PBI = Baik (<= 0,25) | 1.938 | .615 | 6.103 |
| For cohort COP_PBI = Buruk (>0,25) | .775 | .441 | 1.362 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

COP_IgG_Ca_PBI * COP_PBI

Crosstab

| | | COP_PBI | | Total |
|---------------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------|
| | | Baik (<= 0,25) | Buruk (>0,25) | |
| COP_IgG_Ca_PBI Tinggi (> 0,655) | Count | 3 | 4 | 7 |
| | % within COP_IgG_Ca_PBI | 42.9% | 57.1% | 100.0% |
| Rendah (<= 0,655) | Count | 6 | 26 | 32 |
| | % within COP_IgG_Ca_PBI | 18.8% | 81.3% | 100.0% |
| Total | Count | 9 | 30 | 39 |
| | % within COP_IgG_Ca_PBI | 23.1% | 76.9% | 100.0% |

Chi-Square Tests

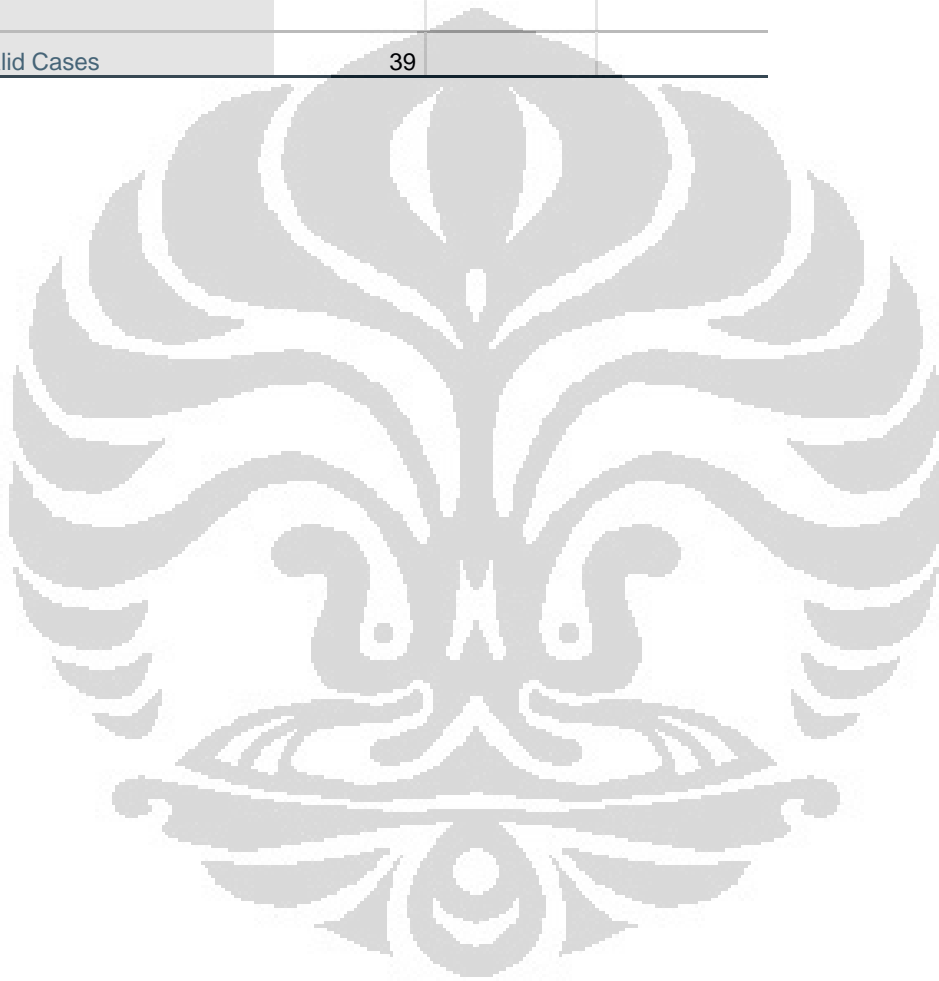
| | Value | df | Asymptotic Significance (2- sided) | Exact Sig. (2- sided) | Exact Sig. (1- sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 1.880 ^a | 1 | .170 | | |
| Continuity Correction ^b | .768 | 1 | .381 | | |
| Likelihood Ratio | 1.690 | 1 | .194 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .319 | .187 |
| Linear-by-Linear Association | 1.832 | 1 | .176 | | |
| N of Valid Cases | 39 | | | | |

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.62.

b. Computed only for a 2x2 table

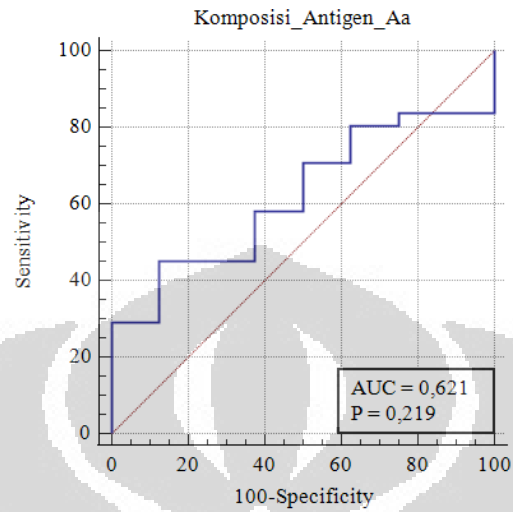
Risk Estimate

| | Value | 95% Confidence Interval | |
|--|-------|-------------------------|--------|
| | | Lower | Upper |
| Odds Ratio for COP_IgG_Ca_PBI (Tinggi (> 0,655) / Rendah (<= 0,655)) | 3.250 | .570 | 18.523 |
| For cohort COP_PBI = Baik (<= 0,25) | 2.286 | .747 | 6.998 |
| For cohort COP_PBI = Buruk (>0,25) | .703 | .362 | 1.365 |
| N of Valid Cases | 39 | | |

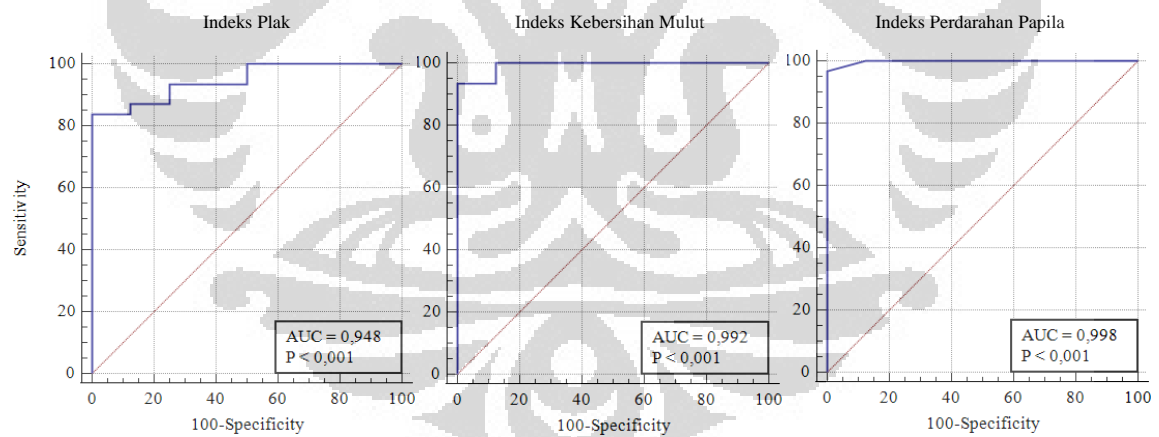


Lampiran 6

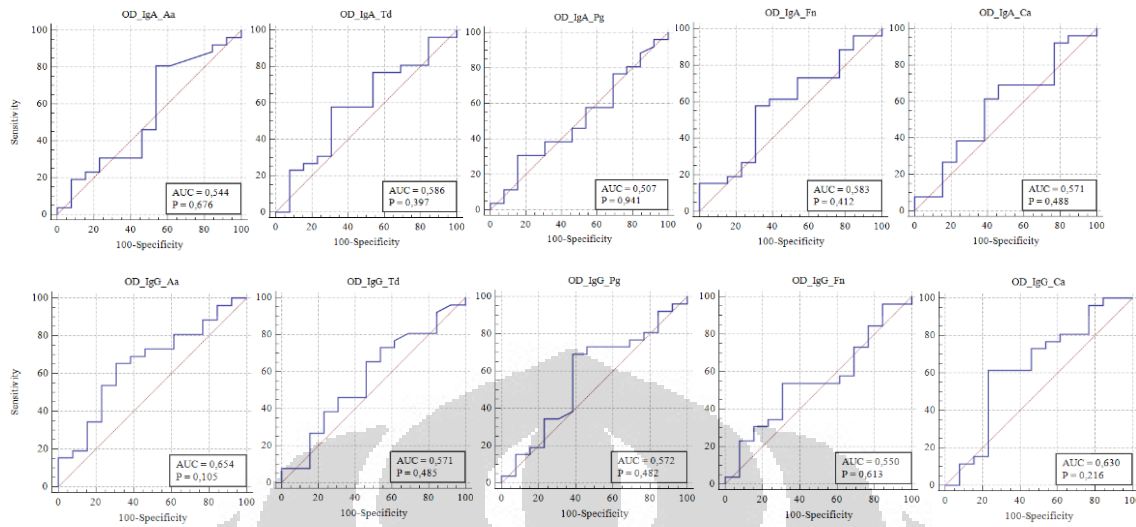
Kurva ROC Keberadaan Antigen Saliva *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* terhadap Keperahan Periodontitis



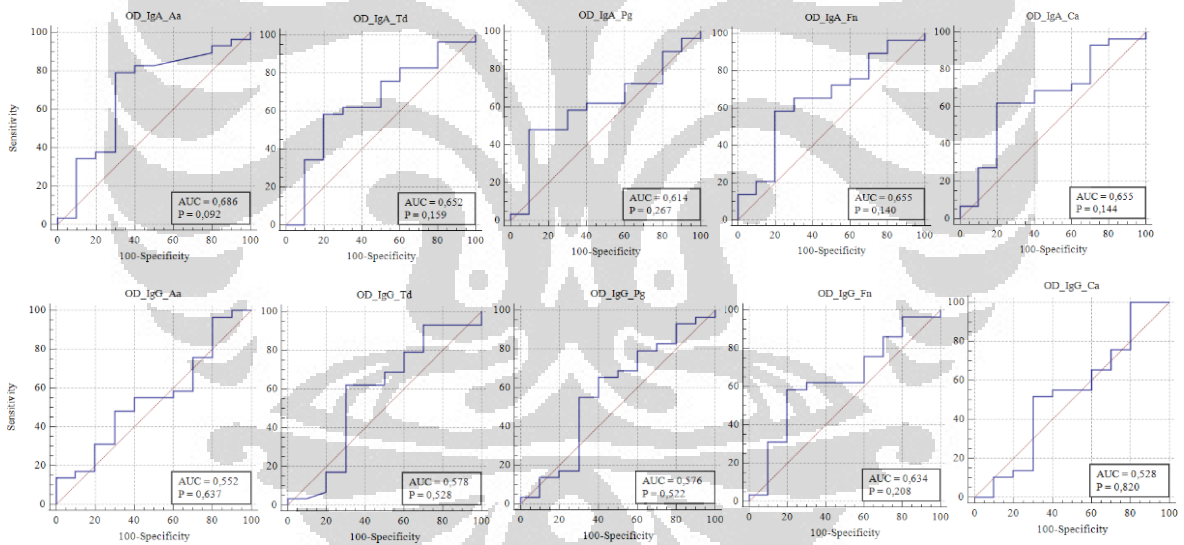
Kurva ROC Status Periodontal terhadap Keperahan Periodontitis



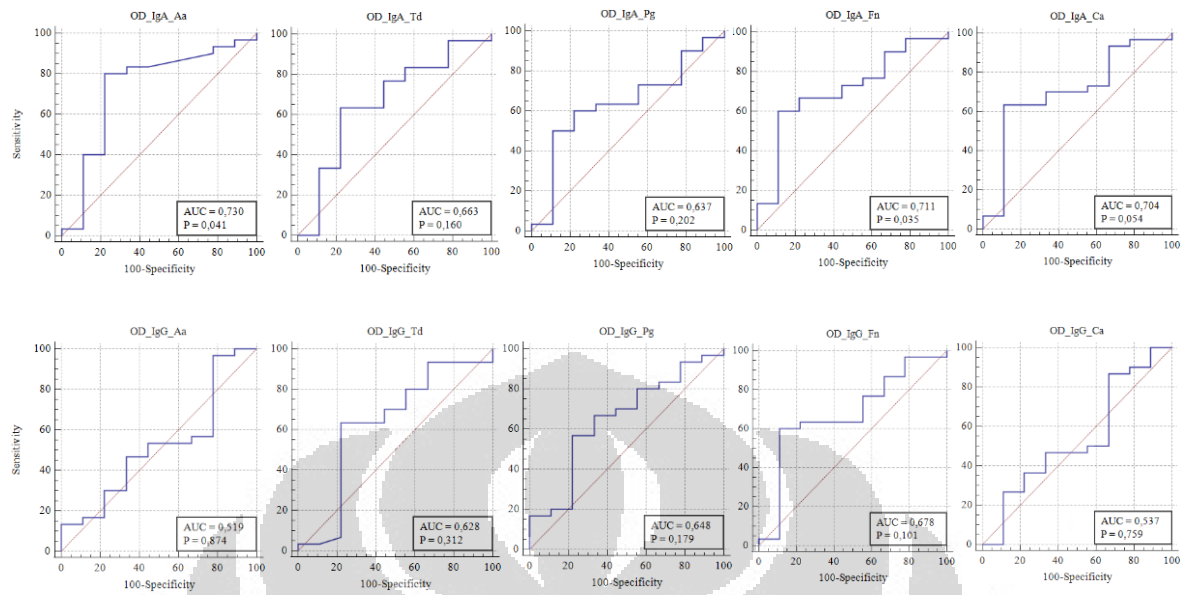
Kurva ROC Respons Imun IgA dan IgG terhadap *cut off point* Indeks Plak



Kurva ROC Respons Imun IgA dan IgG terhadap *cut off point* Indeks Kebersihan Mulut



Kurva ROC Respons Imun IgA dan IgG terhadap *cut off point* Indeks Perdarahan Papila



RINGKASAN

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Periodontitis merupakan penyakit kronis kompleks yang ditandai dengan kerusakan jaringan pendukung gigi yaitu tulang alveolar, ligamen periodontal, gingiva, dan sementum.¹ Penyakit ini telah dilaporkan oleh *World Health Organisation* menjadi penyebab utama kehilangan gigi di antara orang dewasa yaitu sekitar 20%.² Menurut *Global Burden of Disease Study* tahun 2016, penyakit periodontal *severe* merupakan penyakit dengan prevalensi urutan ke-6 tertinggi di dunia.³ Prevalensi penyakit ini dilaporkan memiliki rerata 20-50% di seluruh dunia.⁴ Riset Kesehatan Dasar 2018 melaporkan prevalensi penyakit ini di Indonesia masih besar yaitu 74,1%.⁵ Klasifikasi dan terminologi penyakit periodontal berkembang terus sejalan dengan kemajuan ilmu pengetahuan dalam memahami patogenesis penyakit ini. Klasifikasi periodontitis terbaru mulai diperkenalkan pada tahun 2017. Penetapan *staging* tergantung pada tingkat keparahan penyakit serta kompleksitas penatalaksanaan penyakit. Tingkat keparahan periodontitis terbagi menjadi empat kategori, yaitu *stage* I, II, III, dan IV.⁶

Hipotesis mengenai patogenesis periodontitis masih beragam, yaitu hipotesis plak non spesifik, hipotesis plak spesifik, hipotesis plak ekologi, dan hipotesis patogen *keystone*, serta hipotesis *polymicrobial synergy and dysbiosis*. Hipotesis patogen *keystone* dikembangkan oleh Hajishengallis dkk. pada tahun 2012.⁷ Hipotesis ini menyatakan bahwa mikroba patogen dengan *abundance* rendah dapat mengatur remodulasi *oralome* lengkap menjadi keadaan disbiosis dan menyerang pertahanan *host*, termasuk sel-sel epitel sebagai sumber nutrisi. Faktor utama hipotesis ini adalah patogen *keystone* dapat mengganggu peran sistem imun karena neutrofil berada di antara plak dan permukaan sel epitel. *Porphyromonas gingivalis* dianggap sebagai patogen *keystone* untuk periodontitis.⁸ Hajishengallis dan Lamont memperbarui hipotesis patogen *keystone* menjadi hipotesis *polymicrobial synergy and dysbiosis* (PSD). Konsep PSD pada periodontitis dibuktikan dengan patogenitas gabungan periopatogen lebih tinggi signifikan dibandingkan infeksi monospesies pada hewan coba.⁹ Beberapa fungsi

patogenik memerlukan ekspresi molekul spesifik seperti adhesin, reseptor, enzim proteolitik dan ligan permukaan proinflamasi yang tidak dapat ditemukan pada satu patogen *keystone* spesifik. Kombinasi molekul-molekul ini bertindak sebagai faktor virulensi komunitas untuk mempertahankan mikroba proinflamasi dan disbiosis sehingga terjadi respons *host* dan kerusakan jaringan.¹⁰

Penelitian proteomik yang dilakukan oleh Bostanci dkk. ditemukan 150 protein *host* dan *agent* (101 dari sel manusia, 27 dari sel bakteri, 14 dari jamur dan delapan protein yang berasal dari virus). Penelitian ini juga menyatakan bahwa proporsi protein yang berasal dari bakteri, jamur dan virus pada subjek periodontitis agresif meningkat apabila dibandingkan dengan subjek sehat.¹¹ Protein yang berasal dari *host* dan *agent* ini bahkan terbukti dapat menginduksi inflamasi pada sel fibroblas melalui jalur TLR-4.¹² Wu dkk. menggunakan saliva dalam menentukan profil proteomik periodontitis. Penelitian tersebut menyatakan terdapat enam protein yang meningkat pada subjek periodontitis agresif dibandingkan dengan subjek sehat. Protein tersebut diantaranya adalah serum albumin, imunoglobulin A (IgA), imunoglobulin G (IgG), vitamin D-binding protein, *saliva- α -amilase*, *zinc- α 2* glikoprotein meningkat pada subjek dengan periodontitis.¹³

Sistem imun terdiri dari dua bagian yaitu imunitas *innate* dan adaptif. Respons imun *innate* terdiri dari *epithelial barrier* dan aktivitas sel fagosit (neutrofil dan makrofag). Imunitas ini merupakan sistem homeostatis garis pertahanan pertama terhadap patogen oral. Respons imun ini berlangsung dengan segera (*immediate*) ataupun dalam hitungan jam. Ketika sistem imun *innate* sudah tidak adekuat, sistem imun adaptif mengambil peran untuk merespons agen infeksi. Respons imun adaptif ini melibatkan aktivitas limfosit. Komponen utama sistem adaptif ini adalah limfosit B dan T, serta produknya seperti antibodi/imunoglobulin dan sitokin.¹⁴ Sel B dan T memiliki reseptor permukaan sel yang dapat mengikat molekul unik yang diproduksi oleh mikroba ataupun sel *host* yang terinfeksi. Kemampuan limfosit untuk membedakan antigen merupakan spesifisitas yang dimiliki oleh respons imun adaptif. Imunoglobulin merupakan molekul protein yang diproduksi oleh sel-sel dalam sistem imun sebagai respons terhadap antigen seperti virus, bakteri, ataupun fungi. Fungsi imunoglobulin untuk mengikat molekul antigen secara spesifik.¹⁵

Imunoglobulin juga terdapat pada saliva yang berfungsi sebagai pelindung dalam rongga mulut. Imunoglobulin A yang diproduksi oleh sel plasma pada kelenjar saliva merupakan Ig yang paling banyak ditemukan di dalam saliva.^{16,17} Pada gingiva yang inflamasi, sel B berdeferensiasi menjadi sel plasma dan mensekresikan IgG. Imunoglobulin yang berasal dari sirkulasi dapat masuk juga melalui krevikular gingiva. Selain immunoglobulin, rongga mulut memiliki serangkaian faktor-faktor antimikroba *innate* yang disekresikan oleh kelenjar saliva, sel epitel, maupun neutrofil. Molekul antimikroba ini dapat membunuh ataupun menghambat pertumbuhan mikroorganisme bakteri, fungi, ataupun virus.¹⁵

Rumusan Masalah

Pada *host* yang sensitif, sinergisitas biofilm pada habitat (*niche*) subgingiva, memicu inflamasi jaringan periodontal (gingivitis) yang bila berlanjut dapat menjadi periodontitis. Keperahan periodontitis dibagi menjadi empat *stage*. Pada kondisi *host* yang rentan, seperti imunodefisiensi, faktor risiko seperti penyakit sistemik, obesitas, kebiasaan merokok, stress, penuaan serta *keystone pathogens* menyebabkan pergeseran keseimbangan menjadi disbiosis. Patogen *keystone P. gingivalis* merupakan bakteri flora mulut yang banyak diteliti karena memiliki kemampuan sebagai manipulator respons *host*. *Keystone pathogen* dimediasi oleh patobion yang biasanya tidak berbahaya, namun dapat menjadi patogen dalam kondisi lingkungan disbiosis. Patobion dalam lingkungan tersebut merupakan sumber utama antigen pemicu respon imun adaptif. Dari literatur dapat diketahui patobion tersebut berada dalam komunitas biofilm dan beberapa klaster (*complex*), yang dikenal sebagai *red complex*, *orange complex*, *yellow complex*, *purple complex*, dan lain-lain termasuk spesies *Candida*. Dalam penelitian ini, beberapa spesies periopatogen dipilih sebagai sumber antigen pemicu respons imun adaptif yang merepresentasikan beberapa klaster serta spesies *Candida*. Antigen tersebut adalah *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, dan *C. albicans*.

Peran polimikrobia sangat besar pada periodontitis, namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa periodontitis sebagai efek dari respons imun dan proses inflamasi, bukan hanya keberadaan bakteri. Identifikasi “patogen yang sebenarnya” pada periodontitis masih terus dilakukan. Penelitian respons imun adaptif pada periodontitis sudah mulai dikembangkan, namun masih sangat terbatas. Peran potensial sel B humoral

pada homeostasis jaringan periodontal butuh diperdalam lagi. Berdasarkan uraian tersebut, maka masalah ilmiah dalam penelitian ini dirumuskan sebagai berikut: bagaimana hubungan antara keberadaan polimikrobia yang terdiri dari *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, dan *C. albicans* dengan respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*. Peneliti juga ingin membuktikan hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen tersebut, serta respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.

Tujuan Umum Penelitian

1. Untuk menganalisis hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
2. Untuk menganalisis hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* serta respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.

Tujuan Khusus Penelitian

1. Untuk menganalisis perbedaan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
2. Untuk menganalisis perbedaan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
3. Untuk menganalisis perbedaan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
4. Untuk menganalisis hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun IgA saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
5. Untuk menganalisis hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun IgG saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
6. Untuk menganalisis perbedaan status periodontal terhadap tingkat keparahan periodontitis.

7. Untuk menganalisis hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
8. Untuk menganalisis hubungan antara indeks plak dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
9. Untuk menganalisis hubungan antara indeks plak dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
10. Untuk menganalisis hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
11. Untuk menganalisis hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
12. Untuk menganalisis hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
13. Untuk menganalisis hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.

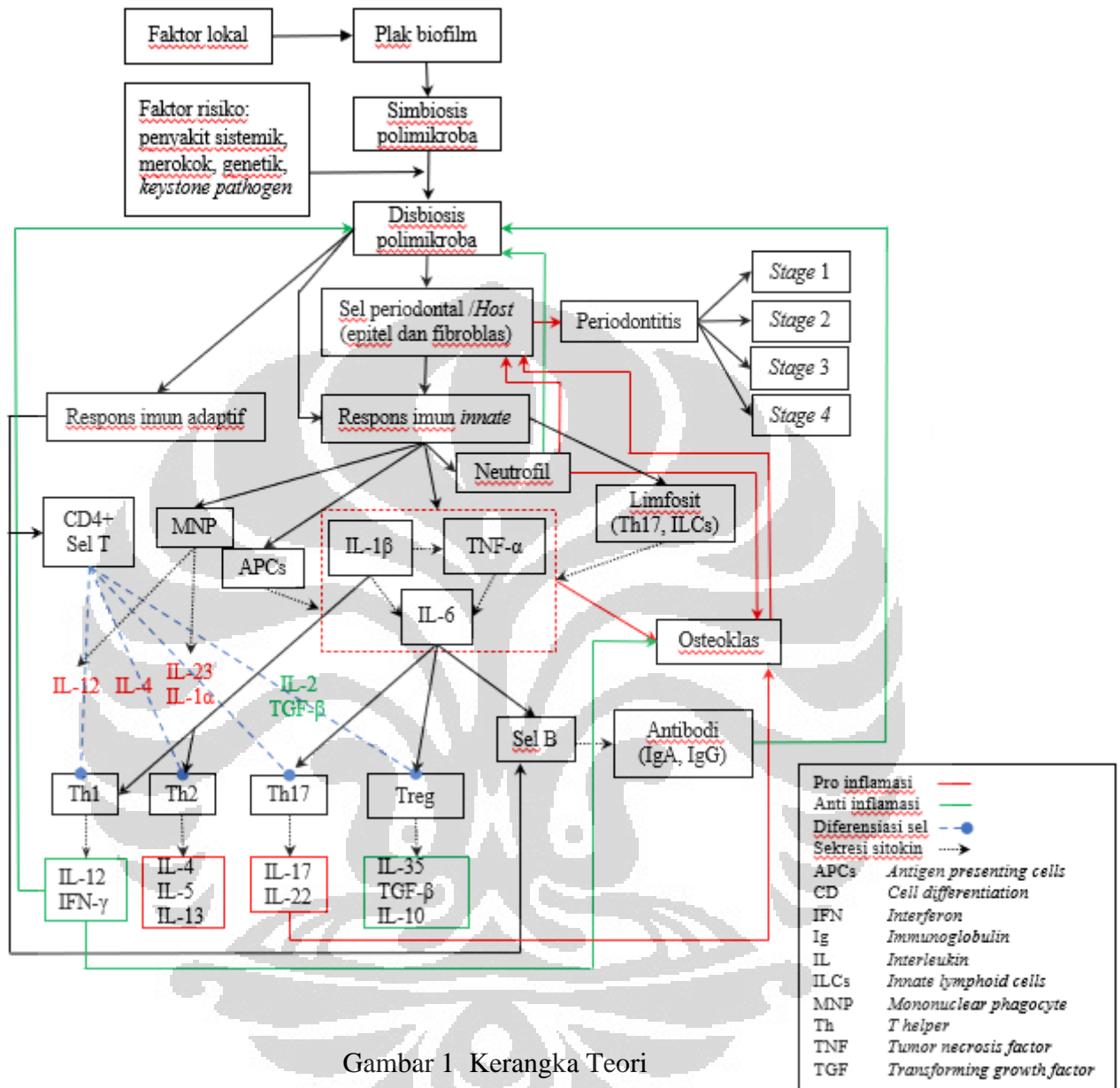
Manfaat Penelitian

1. Bagi Bidang Kedokteran Gigi diharapkan dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan ilmu biologi oral dan periodontologi.
2. Bagi Dokter Gigi diharapkan penelitian ini diharapkan dapat menambah khasanah ilmu kedokteran gigi mengenai respons imun humoral saliva terhadap tingkat keparahan periodontitis.
3. Bagi Masyarakat diharapkan dapat memberikan informasi mengenai peran respons imun dalam rongga mulut terhadap periodontitis, serta pentingnya menjaga kebersihan gigi dan mulut sehingga dapat mencegah periodontitis.
4. Bagi Perguruan Tinggi diharapkan penelitian ini dapat menjadi acuan penelitian berikutnya.

Orisinalitas Penelitian

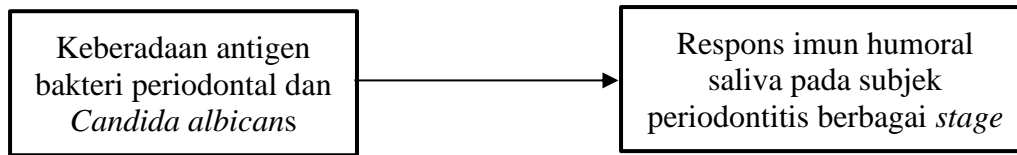
1. Mengidentifikasi antigen bakteri periodontal dan *C. albicans* pada saliva subjek periodontitis berdasarkan tingkat keparahannya (klasifikasi periodontitis AAP/EFP 2017) di Indonesia. Identifikasi ini menggunakan antibodi poliklonal anti *rabbit* anti *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *F. nucleatum* dan *C. albicans* yang diproduksi dan dikembangkan oleh yang dikembangkan oleh Laboratorium Biologi Oral FKGUI bekerjasama dengan Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor Indonesia.
2. Mendapatkan hubungan respons imun humoral (Imunoglobulin A dan G) saliva terhadap keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai tingkat keparahan (klasifikasi periodontitis AAP/EFP 2017) di Indonesia.
3. Mendapatkan hubungan status periodontal (indeks plak, indeks kebersihan mulut, dan indeks perdarahan papila) dengan respons imun humoral (imunoglobulin A dan G) saliva terhadap keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai tingkat keparahan (klasifikasi periodontitis AAP/EFP 2017) di Indonesia.

Kerangka Teori

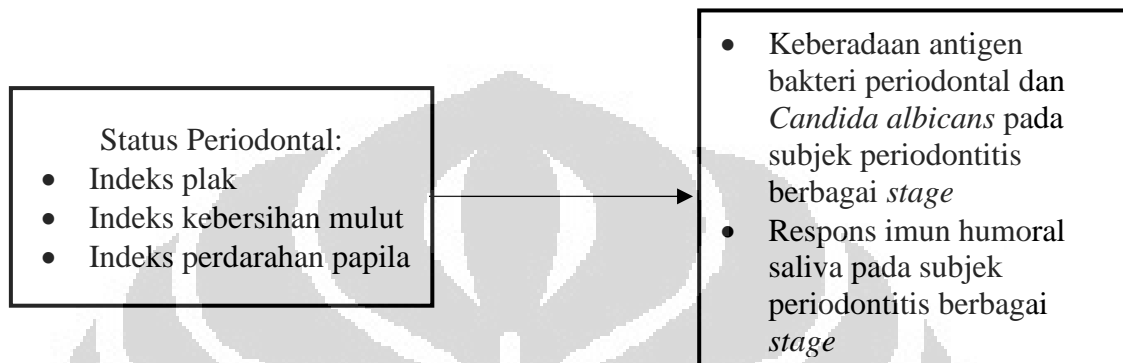


Gambar 1 Kerangka Teori

Kerangka Konsep



Gambar 2 Kerangka Konsep Pertama



Gambar 3 Kerangka Konsep Kedua

Hipotesis Mayor

1. Terdapat hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
2. Terdapat hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans*, serta respons imun humoral saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.

Hipotesis Minor

1. Terdapat perbedaan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
2. Terdapat perbedaan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
3. Terdapat perbedaan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
4. Terdapat hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun IgA saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.

5. Terdapat hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respons imun IgG saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
6. Terdapat perbedaan status periodontal terhadap tingkat keparahan periodontitis.
7. Terdapat hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
8. Terdapat hubungan antara indeks plak dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
9. Terdapat hubungan antara indeks plak dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
10. Terdapat hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
11. Terdapat hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
12. Terdapat hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.
13. Terdapat hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*.

METODE PENELITIAN

Desain penelitian ini merupakan observasional potong silang. Penelitian dilaksanakan di Rumah Sakit Khusus Gigi dan Mulut Universitas Indonesia, Laboratorium Biomolekuler FKG Universitas Indonesia, serta BioCORE FKG Universitas Trisakti. Subjek penelitian laki-laki dan perempuan usia 18-50 tahun yang datang ke Rumah Sakit Khusus Gigi dan Mulut Universitas Indonesia, mulai dari bulan Juni 2019 sampai dengan Februari 2020 yang didiagnosis Periodontitis *stage* I, II, III, IV dan normal. Penelitian sudah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian

FKGUI. Subjek yang memenuhi kriteria inklusi dilakukan pengumpulan data diri dan pemeriksaan umum, serta pemeriksaan status periodontal lengkap, yaitu indeks plak, indeks kalkulus, indeks perdarahan papila, indeks kebersihan mulut, kedalaman poket, resesi gingiva, kehilangan perlekatan klinis, dan jumlah gigi. Penentuan keparahan periodontitis berdasarkan klasifikasi penyakit periodontal 2017 oleh AAP dan EFP.

Setiap subjek diambil sampel salivanya, lalu diekstraksi proteinnya menggunakan reagen Genezol™ dan dihitung konsentrasinya dengan Bradford. Setiap sampel dilakukan uji Western Blot untuk menganalisis keberadaan antigen di dalam saliva. Uji ini menggunakan serum antibodi primer poliklonal rabbit anti: *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, dan *C. albicans* yang diproduksi dan dikembangkan oleh Lab Biologi Oral FKGUI bekerjasama dengan FKH IPB Indonesia. Purifikasi antibodi menggunakan dengan *High-Affinity Antibody Purification Kit (GenScript)* dan teknik Dot Blot dilakukan untuk mengonfirmasi spesifisitas serum antibodi tersebut. Antibodi sekunder yang digunakan adalah *Goat Anti-Rabbit IgG* terkonjugasi *horseradish peroxide (HRP)*. Visualisasi pita protein pada membran PVDF menggunakan *1-Step™ Chloronaphthol Substrate Solution (Thermo Fisher Scientific)*.

Respons imun humoral IgA dan IgG saliva dianalisis menggunakan teknik ELISA. *Coating buffer* dimasukkan ke dalam *microplate well* sebanyak 100 µL. Kemudian, stok bakteri yang sudah dibiakkan, dimasukkan ke dalam well sebanyak 50 µL dengan konsentrasi masing-masing sebagai berikut: *A. actinomycetemcomitans* $5,4 \times 10^7$ CFU/mL, *T. denticola* 2×10^8 CFU/mL, *P. gingivalis* $1,3 \times 10^7$ CFU/mL, *F. nucleatum* $3,89 \times 10^8$ CFU/mL dan *Candida albicans* $5,9 \times 10^7$ CFU/mL. Inkubasi *microplate* pada suhu 4 °C *overnight*. Keesokan harinya 50 µL sampel saliva masing-masing subjek dimasukkan dan direaksikan dengan *coating buffer* beserta stok bakteri tersebut. Antibodi sekunder yang digunakan pada uji ELISA ini adalah *anti human* IgA terkonjugasi HRP (1:2000, 5% *non-fat milk*) sebanyak 100 µL pada pemeriksaan respons imun humoral IgA. Pada pemeriksaan respons imun humoral IgG dimasukkan antibodi sekunder *anti human* IgG terkonjugasi HRP (1:2000, 5% *non-fat milk*) sebanyak 100 µL.

Data yang didapat kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan piranti lunak SPSS versi 23. Analisis univariat dilakukan untuk mendapatkan nilai rerata serta simpang baku demografik dan parameter klinis subjek penelitian. Data perbedaan keberadaan antigen

bakteri periodontal dan *Candida albicans* terhadap tingkat keparahan periodontitis, perbedaan respon imun IgA serta IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage* dilakukan uji bivariat One-way ANOVA (data terdistribusi normal) dan Kruskal – Wallis (data tidak terdistribusi normal) yang masing-masing dilanjutkan dengan uji *post-hoc* Bonferroni dan Mann-Whitney U. Hubungan antara keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dengan respon imun IgA dan IgG saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage* serta hubungan antara status periodontal dengan respon imun IgA dan IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage* dilakukan uji Chi Square. Seluruh uji menggunakan batas kemaknaan sebesar 5%.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 31 subjek periodontitis dan delapan subjek periodontal sehat yang menjadi subjek penelitian telah didiagnosis oleh dokter gigi spesialis periodonsia berdasarkan klasifikasi penyakit periodontal tahun 2017 AAP dan EFP. Tabel 1 menunjukkan deskripsi subjek penelitian yaitu jenis kelamin, rerata usia, rerata indeks plak, rerata indeks kebersihan mulut, rerata perdarahan papilla, dan rerata konsentrasi protein saliva. Jumlah subjek sebanyak 39 orang terdiri dari 12 laki-laki (30,74%) dan 27 perempuan (69,23%).

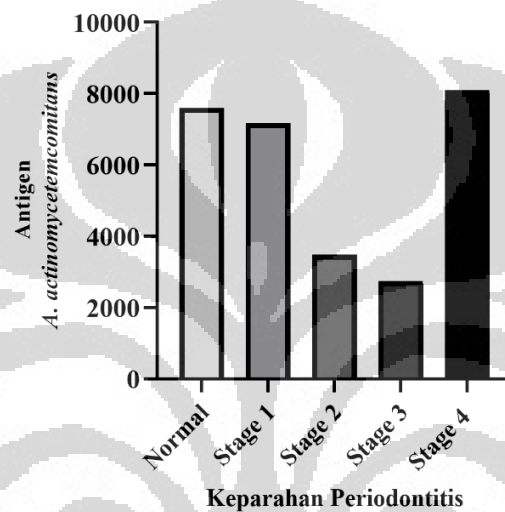
Tabel 1 Karakteristik Subjek Penelitian

| Variabel | Keparahan Periodontitis (Rerata ± SB) | | | | |
|------------------------------------|---------------------------------------|---------------|----------------|------------------|----------------|
| | Normal (n=8) | Stage I (n=5) | Stage II (n=8) | Stage III (n=11) | Stage IV (n=7) |
| Jenis Kelamin (L/P) | 1/7 | 2/3 | 3/5 | 4/7 | 2/5 |
| Usia | 25,1 ± 2,9 | 41,8 ± 5,3 | 45,1 ± 7,3 | 45,9 ± 8,3 | 51 ± 6,1 |
| Indeks Plak | 0,45 ± 0,13 | 0,69 ± 0,25 | 0,82 ± 0,27 | 1,27 ± 0,35 | 1,58 ± 0,30 |
| Indeks Kebersihan Mulut | 0,25 ± 0,21 | 1,05 ± 0,47 | 1,33 ± 0,45 | 2,68 ± 0,57 | 3,48 ± 0,54 |
| Indeks Perdarahan Papila | 0,10 ± 0,09 | 0,67 ± 0,45 | 0,92 ± 0,59 | 1,67 ± 0,54 | 2,59 ± 0,25 |
| Konsentrasi Protein Saliva (µg/mL) | 147,38 ± 4,21 | 153,24 ± 4,55 | 156,37 ± 11,34 | 158,38 ± 12,10 | 155,57 ± 7,03 |

Keterangan: SB: Simpang Baku; L: Laki-laki; P: Perempuan

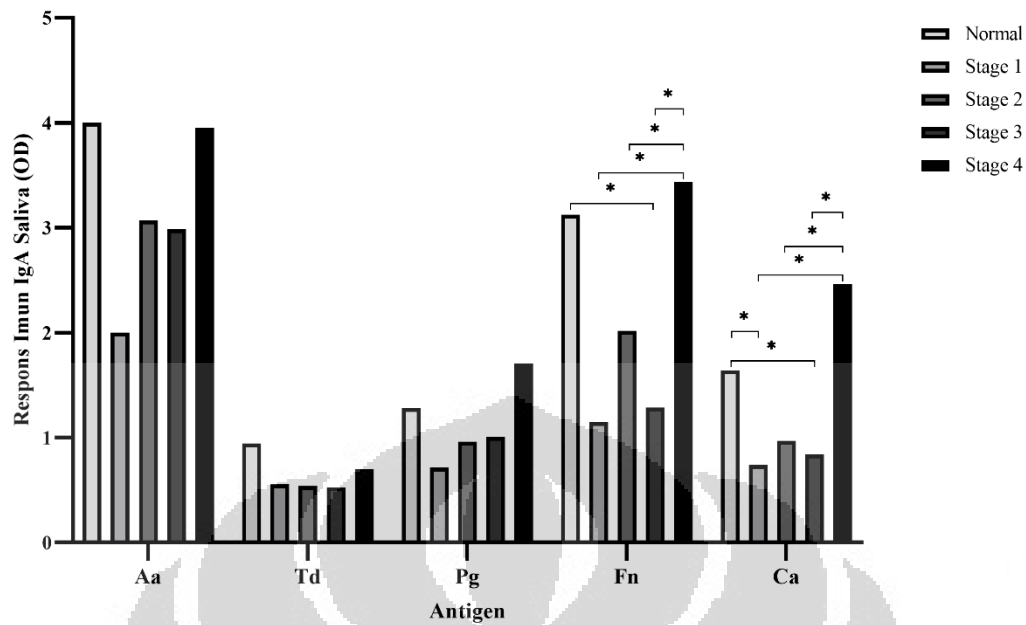
Keberadaan antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* dideteksi dengan metode *Western Blot*. Hasilnya ditemukan bahwa hanya antigen *A. actinomycetemcomitans* yang terekspresi pada saliva semua subjek penelitian. Densitas pita protein tersebut kemudian

dihitung menggunakan piranti lunak ImageJ. Analisis komparasi keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans* terhadap tingkat keparahan periodontitis menggunakan Uji Kruskal-Wallis. Hasil uji statistik tersebut menunjukkan keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans* tertinggi pada kelompok periodontitis *stage IV* (Gambar 4). Hasil ini sesuai dengan penemuan yang menyatakan bahwa bakteri ini menghasilkan molekul *quorum-sensing autoinducer-2* secara *in vitro* menghambat pembentukan hifa *C. albicans* dan biofilm.^{18,19}



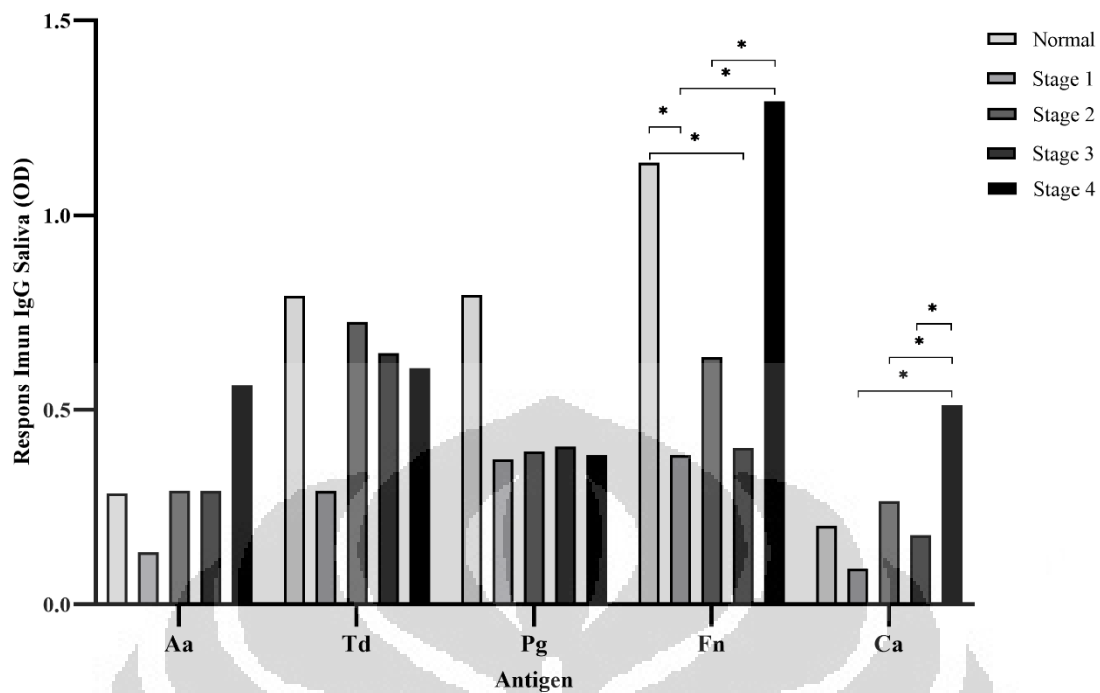
Gambar 4 Analisis ImageJ Densitas Pita Protein Pada Uji Western Blot Antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada Saliva Pasien dengan Tingkat Keparahan Periodontitis. Median (min-maks) Normal: 7594,34 (1867,27-11.343,25); Stage I: 7170,35 (1417,93-14.639,41); Stage II: 3482,51 (600,33-20.242,59); Stage III: 2742,23 (1009,98-10.925,25); Stage IV: 8096,35 (1134,08-14.587,27). Uji Kruskal-Wallis $p=0,453$.

Respons imun IgA saliva yang menunjukkan perbedaan signifikan berdasarkan tingkat keparahan periodontitis adalah respons imun terhadap antigen *F. nucleatum* ($p=0,014$) dan *C. albicans* ($p=0,009$) (Gambar 5). Nilai median (min-maks) *optical density* respons imun IgA saliva terhadap antigen *F. nucleatum* adalah Normal: 3,12 (1,08-15,32); Stage I: 1,15 (0,95-3,28); Stage II: 2,02 (1,00-6,06); Stage III: 1,29 (0,66-10,54); Stage IV: 3,44 (1,73-21,12). Nilai median (min-maks) *optical density* respons imun IgA saliva terhadap antigen *C. albicans* adalah Normal: 1,64 (0,48-9,36); Stage I: 0,74 (0,52-1,27); Stage II: 0,97 (0,58-3,15) Stage III: 0,84 (0,31-4,81); Stage IV: 2,46 (0,99-28,98).



Gambar 5 Median Respons Immun IgA Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan *Candida albicans* berdasarkan Tingkat Keparahan Periodontitis. Uji Kruskal-Wallis dan Uji *Post hoc* Mann-Whitney U (*= berbeda bermakna $p < 0,05$); Aa: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; Td: *Treponema denticola*; Pg: *Porphyromonas gingivalis*; Fn: *Fusobacterium nucleatum*; Ca: *Candida albicans*; OD: *Optical Density*

Sama halnya dengan respons imun IgA, pada respons imun IgG terdapat perbedaan signifikan terhadap antigen *F. nucleatum* ($p=0,011$) dan *Candida albicans* ($p=0,015$) berdasarkan tingkat keparahan periodontitis (Gambar 6). Nilai median (min-maks) *optical density* respons imun IgG saliva terhadap antigen *F. nucleatum* adalah Normal: 1,14 (0,20-8,70); Stage I: 0,38 (0,32-0,76); Stage II: 0,64 (0,23-3,14); Stage III: 0,40 (0,13-0,47); Stage IV: 1,29 (1,10-9,40). Nilai median (min-maks) *optical density* respons imun IgG saliva terhadap antigen *C. albicans* adalah Normal: 0,20 (0,04-2,38); Stage I: 0,09 (0,06-0,37); Stage II: 0,26 (0,07-1,43); Stage III: 0,18 (0,09-2,32); Stage IV: 0,51 (0,40-1,28)



Gambar 6 Median Respons Immun IgG Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan *Candida albicans* berdasarkan Tingkat Keparahan Periodontitis. Uji Kruskal-Wallis dan Uji *Post hoc* Mann-Whitney U (*= berbeda bermakna $p < 0,05$); Aa: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; Td: *Treponema denticola*; Pg: *Porphyromonas gingivalis*; Fn: *Fusobacterium nucleatum*; Ca: *Candida albicans*; OD: *Optical Density*

Respons imun IgA dan IgG saliva terhadap antigen *F. nucleatum* dan *C. albicans* menunjukkan perbedaan signifikan berdasarkan tingkat keparahan periodontitis. Mikroorganisme *orange complex* tersebut merupakan patogen oral penyakit periodontal oportunistik dan dikenal kemampuan adhesinya ke beberapa bakteri oral. Bakteri ini dapat mengikat bakteri-bakteri lain dan dianggap sebagai organisme “penghubung” yang menjembatani koloni komensal yang umumnya patogen periodontal.²⁰ Keberadaan bakteri *orange complex* ini sangat penting, yang tanpanya agresivitas *red complex* tidak akan bertahan di dalam rongga mulut.²¹ Penemuan adhesin (FadA) pada bakteri *F. nucleatum* menjadikan bakteri ini semakin banyak diteliti.²² Implikasi *F. nucleatum* tidak hanya pada penyakit periodontal, namun juga terjadi pada berbagai kondisi sistemik seperti penyakit jantung, *adverse pregnancy outcome*, gangguan gastrointestinal, rheumatoid arthritis, diabetes melitus, hingga kanker lambung. Bakteri ini bahkan memiliki sensitivitas yang sangat baik hingga dapat dipertimbangkan sebagai marker diagnostik untuk skrining pasien kanker lambung.²³ FadA dapat mengikat sel endotel dan

memfasilitasi invasi peri-seluler serta invasi langsung ke dalam sel *host* sehingga berpotensi terjadi mekanisme penyebaran sistemik. Permeabilitas sel endotel yang meningkat akan memudahkan bakteri sekitar penetrasi.²⁴

Fusobacterium nucleatum sangat rentan terhadap sitokin dan fagositosis sehingga menginduksi respons imun yang rendah, namun dalam beberapa kondisi dapat memicu respons inflamasi dengan meningkatkan kadar sitokin proinflamasi dan metaloproteinase. Sitokin dan enzim tersebut diantaranya IL-8, MMP-9 dan MMP-13 perannya meningkatkan migrasi sel dan kelangsungan hidup sel epitel yang terinfeksi.²⁵ Peran besar lain bakteri ini adalah mengganggu respons imun. *Fusobacterium nucleatum* dapat memicu terjadinya apoptosis sel polimorfonuklear dan mononuklear darah tepi dan menurunkan fungsi sel B dan sel T.²⁶ Bakteri ini secara signifikan memengaruhi fungsi neutrofil dengan meningkatkan kemampuan fagositik neutrofil.²⁷ Serine protease yang terdapat pada *F. nucleatum* dapat mendegradasi rantai α pada molekul IgA, sehingga dapat menghindari sistem imun *host*.²⁸

Respons imun IgA dan IgG saliva terhadap terhadap antigen *F. nucleatum* pada periodontitis *stage IV* tidak ada perbedaan signifikan dengan subjek normal. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Papapanou dkk. yang menyatakan secara keseluruhan terdapat stabilitas titer serum antibodi IgG terhadap bakteri periodontal selama lebih dari 30 bulan pada subjek periodontitis dan normal. Penurunan titer antibodi hanya terjadi sementara setelah penatalaksanaan periodontitis dengan hubungan yang signifikan terhadap perkembangan progresivitas periodontitis.²⁹ Kerentanan *host* mungkin tidak hanya menjadi penentu transisi dari simbiosis ke disbiosis mikrobiota, tetapi dapat mendasari predisposisi *host* untuk mengembangkan inflamasi yang cukup dalam menyebabkan kerusakan jaringan ireversibel. Pada individu yang dapat mentoleransi konversi mikrobiota simbiosis menjadi disbios, *host* tersebut akan rentan terhadap disbiosis tetapi tidak terhadap kerusakan jaringan periodontal.³⁰

Pada rongga mulut *C. albicans* tidak hanya ditemukan pada permukaan mukosa dan saliva, namun juga di poket periodontal. Hal ini menunjukkan bahwa *C. albicans* mungkin terlibat dalam patogenesis periodontitis.³¹ Spesies ini menggunakan perubahan morfologi dan fisiologinya untuk beradaptasi dengan *host* individu sehat ataupun yang *immunocompromised*. Respons adaptif ini meningkatkan ketahanan hidupnya serta

berubah menjadi patogen. Bentuk sel *C. albicans* dapat berupa *yeast-like* atau filamen (hifa). Kedua bentuk ini terlibat dalam kolonisasi *host*.³² Canabaro dkk. menemukan peran *C. albicans* terhadap keparahan periodontitis.³³ Pada penelitian ini respons imun IgA dan IgG terhadap *C. albicans* meningkat seiring dengan keparahan periodontitis.

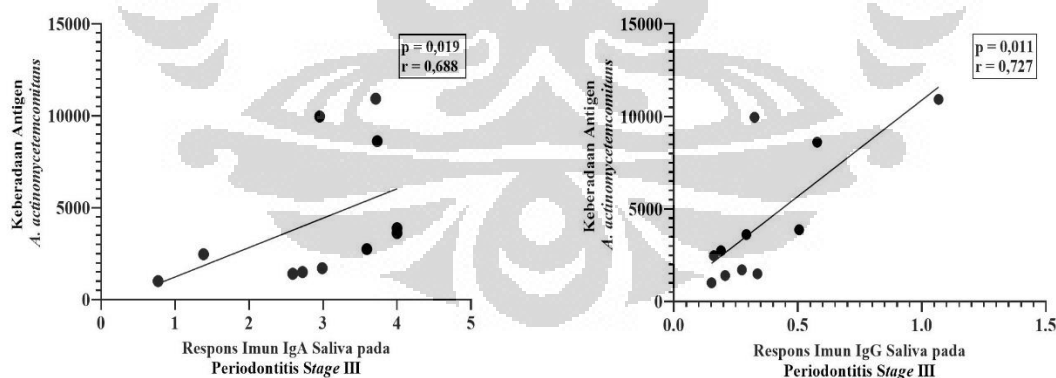
Interaksi *C. albicans* dengan bakteri-bakteri periodontal terjadi di dalam rongga mulut. *Fusobacterium nucleatum* menunjukkan kemampuan yang baik untuk melekat pada *C. albicans*.³⁴ Wu dkk. menemukan adanya komponen karbohidrat pada permukaan *C. albicans* dan komponen protein pada permukaan *F. nucleatum* yang memediasi koadherensi kedua spesies ini.³⁵ Mekanisme pertahanan alami dan nonspesifik secara umum efektif dalam mencegah infeksi jamur rongga mulut. Mekanisme *innate* tersebut diantaranya alir saliva dan histatin yang merupakan komponen antimikroba namun efektif melawan *C. albicans*. Sebagian besar rongga mulut dikolonisasi oleh bakteri dan *C. albicans* harus bersaing untuk mendapatkan nutrisi. Kebanyakan fungi mengaktifkan komplemen melalui jalur alternatif dilapisi oleh fragmen C3 dan melekat pada polimorfonuklear leukosit, monosit dan makrofag. Respons inisial pertahanan *host* melalui PAMPs *C. albicans* akan dikenali oleh PRR pada APC. Toll-like *receptor*-2 dan TLR-4 akan mengenali permukaan *mannan* (fungus β -glucan) dan memicu respons imun *innate* maupun respons imun adaptif.³⁶

Respons imun humoral IgA dan IgG terhadap *P. gingivalis* berdasarkan keparahan periodontitis tidak menunjukkan perbedaan signifikan. Hasil ini menguatkan hipotesis *keystone pathogen* oleh Hajishengallis dkk. yang menyatakan bahwa *P. gingivalis* dan virulensinya dapat menekan respons imun.⁷ Temuan ini didukung pula oleh penelitian *in vivo* yang membuktikan *P. gingivalis* dengan tingkat kolonisasi yang rendah dapat menginduksi periodontitis dengan cara memengaruhi bakteri komensal lainnya sehingga terjadi inflamasi dan kerusakan tulang alveolar. Kemampuan *P. gingivalis* ini tetap membutuhkan partisipasi mikrobiota komensal lainnya. Hal tersebut dibuktikan dengan eksperimen gagalnya *P. gingivalis* saja menyebabkan periodontitis pada tikus *germ free*.³⁷

Porphyromonas gingivalis tidak dapat menginduksi disbiosis dan periodontitis pada model tikus konvensional apabila kekurangan reseptor seluler yang dibutuhkan untuk meruntuhkan pertahanan leukosit.^{37,38} Oleh karena itu, *Arg-specific cysteine proteinases*

(gingipains) dari *P. gingivalis* mengaktifkan komplemen *C5 convertase-like* yang akan mengaktifasi reseptor *C5a* pada leukosit. Sinyal reseptor ini terlibat pada *crosstalk* dengan *toll like receptor-2* (TLR2) yang secara paralel akan diaktivasi oleh ligan permukaan *P. gingivalis* sehingga meningkatkan terjadinya inflamasi, namun menurunkan kemampuan ‘membunuh’ leukosit.^{38,39} Bakteri ini juga dapat mencegah aktivasi jalur antimikroba dependen TLR4 pada leukosit dengan adanya ekspresi lipopolisakarida disertai *4-acyl monophosphorylated lipid A* yang menjadi antagonis TLR4.⁴⁰ *Porphyromonas gingivalis* juga dapat menghambat sintesis IL-8 oleh sel epitel yang berfungsi untuk mengerahkan neutrofil ke daerah krevikular gingiva.⁴¹

Analisis hubungan antara keberadaan antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* terhadap tingkat keparahan periodontitis dengan respons imun IgA/IgG saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage* menggunakan uji Spearman (Gambar 7). Hasil analisis menunjukkan terdapat hubungan linier positif kuat antara keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans* terhadap tingkat keparahan periodontitis dengan respons imun IgA saliva pada subjek periodontitis *stage III*. Demikian pula pada hubungan antara keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans* terhadap tingkat keparahan periodontitis dengan respons imun IgG saliva pada subjek periodontitis berbagai *stage* menunjukkan terdapat hubungan linier positif kuat pada subjek periodontitis *stage III*

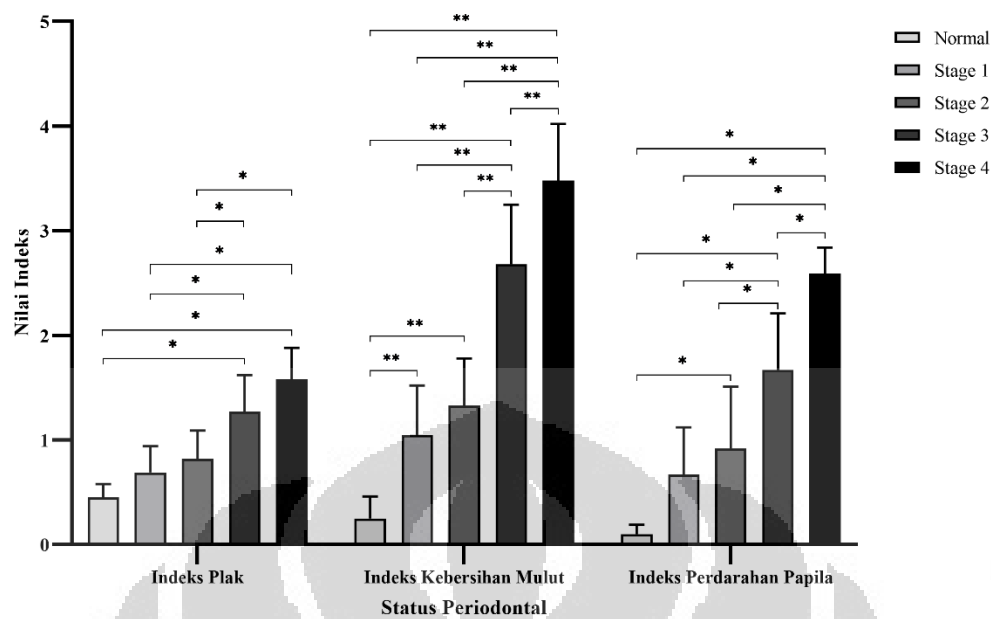


Gambar 7 Hubungan Keberadaan Antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan Respons Imun IgA (kiri) dan IgG (kanan) Saliva pada Subjek Periodontitis *Stage III*. Keterangan: Uji Spearman; IgA: Immunoglobulin A; IgG: Immunoglobulin G.

Beberapa penelitian menunjukkan peningkatan serum antibodi IgA dan IgG terhadap *A. actinomycetemcomitans* pada awal keparahan penyakit sistemik seperti penyakit kardiovaskular, diabetes, dan rheumathoid arthritis.⁴²⁻⁴⁴ Respons imun IgG saliva

terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans* berdasarkan tingkat keparahan periodontitis tidak terdapat perbedaan signifikan, namun memiliki kecenderungan meningkat pada periodontitis *stage IV*. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan Isola dkk. yang menyatakan subjek dengan periodontitis memiliki titer serum IgG terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans* lebih tinggi dibandingkan dengan subjek periodontal sehat.⁴⁵ Gadekar dkk. juga menunjukkan bahwa serum maupun saliva IgA dan IgG terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans* lebih tinggi pada subjek periodontitis kronis dibandingkan subjek periodontal sehat.⁴⁶ Keberadaan bakteri ini bila dihubungkan dengan respons imun IgA dan IgG pada masing-masing keparahan periodontitis berkorelasi pada periodontitis *stage III*. Peneliti menduga hasil tersebut dikarenakan pada *stage III* jumlah gigi yang terlibat periodontitis lebih banyak dibandingkan pada periodontitis *stage IV*. Berdasarkan klasifikasi keparahan periodontitis terbaru, *stage III* dan *IV* memiliki *clinical attachment loss* yang sama yaitu ≥ 5 mm, namun jumlah kehilangan gigi lebih banyak pada *stage IV* dibandingkan *stage III*.⁴⁷

Uji beda ANOVA digunakan untuk menganalisis perbedaan nilai indeks plak serta indeks perdarahan papila terhadap tingkat keparahan periodontitis, sedangkan uji Kruskal-Wallis digunakan untuk menganalisis perbedaan nilai kebersihan mulut terhadap tingkat keparahan periodontitis (Gambar 8). Hasil analisis menunjukkan perbedaan signifikan indeks plak ($p=0,000$), indeks kebersihan mulut ($p=0,000$), dan indeks perdarahan papila ($p=0,000$) terhadap tingkat keparahan periodontitis.



Gambar 8 Rerata Nilai Status Periodontal (Indeks Plak, Indeks Kebersihan Mulut, dan Indeks Perdarahan Papila) terhadap Tingkat Keparahan Periodontitis. Uji ANOVA dan Uji *Post hoc* Bonferroni (*= berbeda bermakna $p < 0,05$); Uji Kruskal – Wallis dan Uji *Post hoc* Mann-Whitney U (**= berbeda bermakna $p < 0,05$).

Indeks plak dan indeks kebersihan mulut terbukti berhubungan signifikan terhadap tingkat keparahan periodontitis. Nilai kedua indeks tersebut semakin tinggi seiring dengan meningkatnya tingkat keparahan periodontitis. Plak gigi merupakan komunitas mikroorganisme yang ditemukan pada permukaan gigi sebagai biofilm.⁴⁸ Perlekatan mikroorganisme ke gigi dimediasi oleh reseptor pada *acquired pellicle* yang tersusun atas produk-produk *host* dan bakteri.⁴⁹ Akumulasi plak gigi dan kebersihan mulut diketahui sebagai faktor risiko terhadap periodontitis. Lertpimonchai dkk. menyatakan dalam studi meta-analisisnya bahwa kebersihan mulut sedang dan buruk dapat meningkatkan dua sampai lima kali risiko periodontitis dibandingkan dengan kebersihan mulut baik.⁵⁰

Inflamasi periodontal secara klinis dinilai dengan indeks perdarahan papila. Pada penelitian ini ditemukan bahwa indeks perdarahan papila juga berkorelasi signifikan terhadap keparahan periodontitis. Nilai indeks perdarahan papila semakin tinggi seiring dengan meningkatnya tingkat keparahan periodontitis. *Bleeding on probing* merupakan indikator respons inflamasi jaringan terhadap patogen bakteri.⁵¹

Uji Chi Square dilakukan untuk menganalisis hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans* pada subjek periodontitis berbagai *stage*

(Tabel 2). Hasil uji tersebut menyatakan tidak terdapat hubungan antara status periodontal dengan keberadaan antigen *A. actinomycetemcomitans*

Tabel 2 Hubungan antara Status Periodontal dengan Keberadaan Antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada Subjek Periodontitis berbagai Stage

| Status Periodontal | Keberadaan <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> | | Nilai p | OR | 95% CI OR (Min-Maks) |
|--------------------------|---|-----------------|---------|-------|----------------------|
| | Rendah n (%) | Tinggi n (%) | | | |
| Indeks Plak | | | 0,295 | 2,857 | 0,636 – 12,844 |
| Ringan | 3 (23,1) | 10 (76,9) | | | |
| Sedang-Berat | 12 (46,2) | 14 (53,8) | | | |
| Indeks Kebersihan Mulut | | | 0,711 | 1,647 | 0,353 – 7,692 |
| Baik | 3 (30,0) | 7 (70,0) | | | |
| Sedang-Buruk | 12 (41,4) | 17 (58,6) | | | |
| Indeks Perdarahan Papila | | | 0,437 | 2,676 | 0,475 – 15,089 |
| Ringan | 2 (22,2) | 7 (77,8) | | | |
| Sedang-Berat | 13 (43,3) | 17 (56,7) | | | |

Keterangan: Uji Chi Square; OR: *Odds ratio*

Uji Chi Square dilakukan untuk menganalisis hubungan antara indeks plak dengan respons imun humoral IgA/IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai stage (Tabel 3). Hubungan signifikan ditemukan antara indeks plak dengan respons imun IgG saliva terhadap *C. albicans* ($p=0,041$; OR=5,33), namun tidak ada hubungan signifikan antara indeks plak dengan respons imun IgG saliva terhadap bakteri periodontal.

Tabel 3 Hubungan antara Indeks Plak dengan Respons Imun IgA/IgG Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan *Candida albicans* pada Subjek Periodontitis berbagai Stage

| Variabel | Indeks Plak | | Nilai p | OR | 95% CI OR (Min-Maks) |
|---------------------------------|-----------------|-----------------------|---------|-------|----------------------|
| | Ringan n (%) | Sedang-Berat n (%) | | | |
| Respons Imun IgA | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0,131 | 0,278 | 0,064 – 1,200 |
| Tinggi | 6 (54,5) | 5 (45,5) | | | |
| Rendah | 7 (25,0) | 21 (75,0) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0,176 | 0,326 | 0,079 – 1,337 |
| Tinggi | 9 (45,0) | 11 (55,0) | | | |
| Rendah | 4 (21,1) | 15 (78,9) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0,445 | 2,444 | 0,437 – 13,672 |
| Tinggi | 2 (20,0) | 8 (80,0) | | | |
| Rendah | 11 (37,9) | 18 (62,1) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0,176 | 0,326 | 0,079 – 1,337 |
| Tinggi | 9 (45,0) | 11 (55,0) | | | |
| Rendah | 4 (21,1) | 15 (78,9) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0,196 | 0,391 | 0,099 – 1,535 |
| Tinggi | 8 (44,4) | 10 (55,6) | | | |
| Rendah | 5 (23,8) | 16 (76,2) | | | |
| Respons Imun IgG | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0,087 | 4,250 | 1,019 – 17,729 |
| Tinggi | 4 (19,0) | 17 (81,0) | | | |
| Rendah | 9 (50,0) | 9 (50,0) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0,290 | 2,327 | 0,578 – 9,367 |
| Tinggi | 7 (26,9) | 19 (73,1) | | | |
| Rendah | 6 (46,2) | 7 (43,8) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0,090 | 0,278 | 0,069 – 1,119 |
| Tinggi | 8 (50,0) | 8 (50,0) | | | |
| Rendah | 5 (21,7) | 18 (78,3) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0,307 | 0,381 | 0,093 – 1,557 |
| Tinggi | 9 (42,9) | 12 (57,1) | | | |
| Rendah | 4 (22,2) | 14 (77,8) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0,041* | 5,333 | 1,175 – 24,213 |
| Tinggi | 3 (15,8) | 16 (84,2) | | | |
| Rendah | 10 (50,0) | 10 (50,0) | | | |

Keterangan: Uji Chi Square; OR: *Odds ratio*; *= berbeda bermakna $p < 0,05$

Untuk menganalisis hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun humoral IgA/IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai stage dilakukan uji Chi Square (Tabel 4). Hasil analisis menunjukkan terdapat hubungan antara indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans* ($p=0,008$; OR=0,112) dan *C. albicans* ($p=0,031$; OR=0,153).

Tabel 4 Hubungan antara Indeks Kebersihan Mulut dengan Respons Imun IgA/IgG Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan *Candida albicans* pada Subjek Periodontitis berbagai *Stage*

| Variabel | Indeks Kebersihan Mulut | | Nilai p | OR | 95% CI OR (Min-Maks) |
|---------------------------------|-------------------------|-----------------------|---------|-------|----------------------|
| | Baik n (%) | Sedang-Buruk n (%) | | | |
| Respons Imun IgA | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0,008* | 0,112 | 0,022 – 0,567 |
| Tinggi | 7 (53,8) | 6 (46,2) | | | |
| Rendah | 3 (11,5) | 23 (88,5) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0,065 | 0,176 | 0,032 – 0,982 |
| Tinggi | 8 (40,0) | 12 (60,0) | | | |
| Rendah | 2 (10,5) | 17 (89,5) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0,057 | 0,119 | 0,013 – 1,064 |
| Tinggi | 9 (37,5) | 15 (62,5) | | | |
| Rendah | 1 (6,7) | 14 (93,3) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0,065 | 0,176 | 0,032 – 0,982 |
| Tinggi | 8 (40,0) | 12 (60,0) | | | |
| Rendah | 2 (10,5) | 17 (89,5) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0,031* | 0,153 | 0,027 – 0,854 |
| Tinggi | 8 (42,1) | 11 (57,9) | | | |
| Rendah | 2 (10,0) | 18 (90,0) | | | |
| Respons Imun IgG | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0,464 | 2,187 | 0,469 – 10,119 |
| Tinggi | 3 (17,6) | 14 (82,4) | | | |
| Rendah | 7 (31,8) | 15 (68,2) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0,141 | 0,262 | 0,056 – 1,230 |
| Tinggi | 7 (38,9) | 11 (61,1) | | | |
| Rendah | 3 (14,3) | 18 (85,7) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0,264 | 0,351 | 0,080 – 1,540 |
| Tinggi | 6 (37,5) | 10 (62,5) | | | |
| Rendah | 4 (17,4) | 19 (82,6) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0,065 | 0,176 | 0,032 – 0,982 |
| Tinggi | 8 (40,0) | 12 (60,0) | | | |
| Rendah | 2 (10,5) | 17 (89,5) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0,290 | 2,500 | 0,538 – 11,617 |
| Tinggi | 3 (16,7) | 15 (83,3) | | | |
| Rendah | 7 (33,3) | 14 (66,7) | | | |

Keterangan: Uji Chi Square; OR: Odds ratio; *= berbeda bermakna $p < 0,05$

Uji Chi Square dilakukan untuk menganalisis hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun humoral IgA/IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *Candida albicans* pada subjek periodontitis berbagai *stage* (Tabel 5). Hasil analisis menunjukkan terdapat hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgA saliva terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans* ($p=0,003$; OR=0,071), *F. nucleatum* ($p=0,002$; OR=0,083), dan *C. albicans* ($p=0,008$; OR=0,072), namun tidak terdapat hubungan antara indeks perdarahan papila dengan respons imun IgG saliva terhadap antigen bakteri periodontal dan *C. albicans*.

Tabel 5 Hubungan antara Indeks Perdarahan Papila dengan Respons Imun IgA/IgG Saliva terhadap Antigen Bakteri Periodontal dan *Candida albicans* pada Subjek Periodontitis berbagai Stage

| Variabel | Indeks Perdarahan Papila | | Nilai p | OR | 95% CI OR (Min-Maks) |
|---------------------------------|--------------------------|-----------------------|---------|-------|----------------------|
| | Ringan n (%) | Sedang-Berat n (%) | | | |
| Respons Imun IgA | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0,003* | 0,071 | 0,012 – 0,436 |
| Tinggi | 7 (53,8) | 6 (46,2) | | | |
| Rendah | 2 (7,7) | 24 (92,3) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0,055 | 0,165 | 0,029 – 0,941 |
| Tinggi | 7 (38,9) | 11 (61,1) | | | |
| Rendah | 2 (9,5) | 19 (90,5) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0,056 | 0,125 | 0,014 – 1,127 |
| Tinggi | 8 (34,8) | 15 (65,2) | | | |
| Rendah | 1 (6,3) | 15 (93,8) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0,020* | 0,083 | 0,009 – 0,775 |
| Tinggi | 8 (40,0) | 12 (60,0) | | | |
| Rendah | 1 (5,3) | 18 (94,7) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0,008* | 0,072 | 0,008 – 0,658 |
| Tinggi | 8 (42,1) | 11 (57,9) | | | |
| Rendah | 1 (5,0) | 19 (95,0) | | | |
| Respons Imun IgG | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0,440 | 0,436 | 0,075 – 2,523 |
| Tinggi | 6 (26,1) | 17 (73,9) | | | |
| Rendah | 2 (13,3) | 13 (86,7) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0,055 | 0,165 | 0,029 – 0,941 |
| Tinggi | 7 (38,9) | 11 (61,1) | | | |
| Rendah | 2 (9,5) | 19 (90,5) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0,197 | 0,313 | 0,064 – 1,533 |
| Tinggi | 4 (40,0) | 6 (60,0) | | | |
| Rendah | 5 (17,2) | 24 (82,8) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0,355 | 0,400 | 0,074 – 2,159 |
| Tinggi | 3 (37,5) | 5 (62,5) | | | |
| Rendah | 6 (19,4) | 25 (80,6) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0,319 | 0,308 | 0,054 – 1,754 |
| Tinggi | 3 (42,9) | 4 (57,1) | | | |
| Rendah | 6 (18,8) | 26 (81,3) | | | |

Keterangan: Uji Chi Square; OR: *Odds ratio*; *= berbeda bermakna $p < 0,05$

Respons imun terhadap *C. albicans* paling berperan saat dihubungkan dengan status periodontal. Hal ini ditunjukkan oleh hubungan signifikan antara indeks plak dengan respons imun IgG terhadap *C. albicans*, indeks kebersihan mulut dengan respons imun IgA terhadap *C. albicans*, dan indeks perdarahan papila dengan respons imun IgA terhadap *C. albicans*. Peran *C. albicans* dinyatakan oleh Fox dkk. bahwa *C. albicans* menciptakan biofilm yang menyediakan lingkungan mikro hipoksia di dalam komunitas biofilm dan mendukung pertumbuhan beberapa bakteri anaerob, bahkan dalam kondisi aerobik yang biasanya beracun bagi bakteri tersebut.⁵²

Sepengetahuan penulis, penelitian yang mengaitkan status periodontal terhadap keberadaan antigen dan respons imun humoral IgA dan IgG saliva terhadap antigen *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *F. nucleatum* dan *C. albicans* berdasarkan klasifikasi periodontitis terbaru merupakan penelitian yang pertama di Indonesia. Keterbatasan pada penelitian ini adalah pada desain penelitian *cross-sectional* yang tidak dapat menganalisis hubungan secara longitudinal. Stratifikasi berdasarkan keparahan periodontitis (*stage*) telah dilakukan pada penelitian ini, namun tidak mengevaluasi progresivitas periodontitis (*grade*). Penelitian ini juga tidak melakukan pengambilan serta perbandingan dengan sampel serum darah.

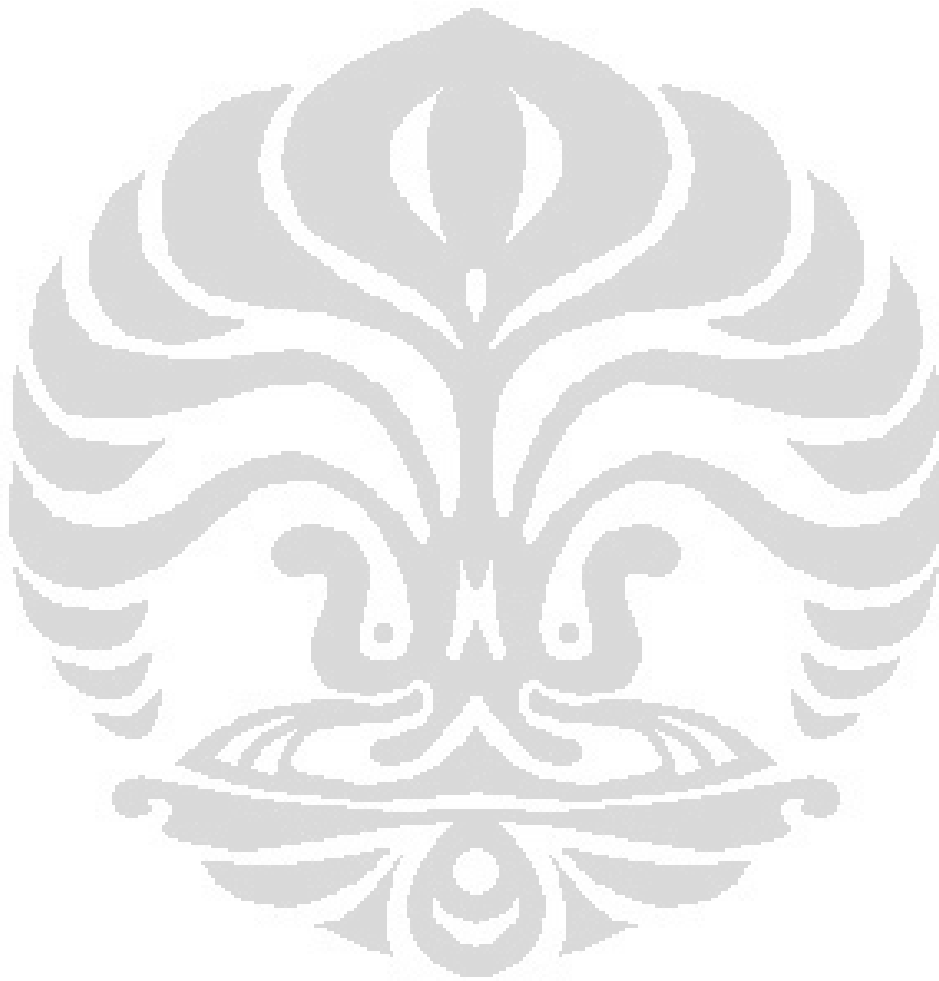
KESIMPULAN

1. Antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ditemukan terbanyak pada saliva kelompok periodontitis yang paling parah yaitu *stage IV*.
2. Respons imun IgA maupun IgG saliva terhadap antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* berkorelasi terhadap tingkat keparahan *stage III*
3. Respons imun IgA serta IgG saliva terhadap antigen *Fusobacterium nucleatum* dan *Candida albicans* dapat menjadi biomarker keparahan periodontitis.
4. Indeks plak, indeks kebersihan mulut, dan indeks perdarahan papila merupakan parameter klinis periodontal yang berperan pada tingkat keparahan periodontitis.
5. Indeks plak memengaruhi respons imun IgG saliva terhadap *Candida albicans*, indeks kebersihan mulut memengaruhi respons imun IgA saliva terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Candida albicans*, serta Indeks perdarahan papila memengaruhi respons imun IgA saliva terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* dan *Candida albicans*.

SARAN

1. Penelitian longitudinal dilakukan untuk mengevaluasi progresivitas periodontitis (*grade*).
2. Penelitian lanjutan dilakukan untuk membandingkan respons imun IgA dan IgG dari sampel serum darah dan cairan krevikular gingiva.
3. Deteksi respons imun IgA serta IgG saliva terhadap antigen *Fusobacterium nucleatum* dan *Candida albicans* dapat menjadi alat skrining keparahan periodontitis (*stage*).

4. Penelitian lanjutan dilakukan untuk mendapatkan kit skrining saliva yang dapat memprediksi keparahan periodontitis berdasarkan antigen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan antibodinya, serta respons antibodi terhadap antigen *Fusobacterium nucleatum* dan *Candida albicans* isolat Indonesia.



SUMMARY

INTRODUCTION

Background

Periodontitis is a complex disease characterized by damage to the supporting tissues of the teeth, namely the alveolar bone, periodontal ligament, gingiva, and cementum.¹ This disease has been reported by the World Health Organization to be the main cause of tooth loss among adults, which is about 20%.² According to the Global Burden Disease Study in 2016, severe periodontal disease is the disease with the 6th highest prevalence in the world.³ The prevalence of this disease is reported to have an average of 20-50% worldwide.⁴ The 2018 Basic Health Research reports that the prevalence of this disease in Indonesia is still high at 74.1%.⁵ The classification and terminology of periodontal disease continues to evolve in line with advances in science in understanding the pathogenesis of this disease. The latest classification of periodontitis was introduced in 2017. The staging depends on the severity of the disease and the management of the disease. The severity of periodontitis is divided into four categories, namely stage I, II, III, and IV.⁶

There are various hypotheses regarding the pathogenesis of periodontitis, namely the non-specific plaque hypothesis, the specific plaque hypothesis, the ecological plaque hypothesis, and the keystone pathogen hypothesis, as well as the polymicrobial synergy and dysbiosis hypothesis. The keystone pathogen hypothesis was developed by Hajishengallis et al. in 2012.⁷ This hypothesis states that pathogenic microbes with low abundance can regulate complete oralome modulation to a dysbiotic state and manipulate host defenses, including epithelial cells as a source of nutrition. The main factor of this hypothesis is that keystone pathogens can interfere with the role of the immune system because neutrophils are between the plaque and the epithelial cell surface. *Porphyromonas gingivalis* is considered a keystone pathogen for periodontitis.⁸ Hajishengallis and Lamont updated the keystone pathogen hypothesis to the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) hypothesis. The concept of PSD in periodontitis is proven by the combined pathogenicity of periopathogens which is significantly higher than monospecies infection in experimental animals.⁹ Several

pathogenic functions require the expression of specific molecules such as adhesins, receptors, proteolytic enzymes and proinflammatory surface ligands that cannot be found in one specific keystone pathogen. The combination of these molecules acts as a community virulence factor to maintain proinflammatory and dysbiotic microbes resulting in a host response and tissue damage.

The proteomic study conducted by Bostanci et al. stated that there were 150 host and agent proteins in periodontitis subjects (101 from human cells, 27 from bacterial cells, 14 from fungi and eight proteins from viruses). This study also stated that the proportion of proteins derived from bacteria, fungi and viruses in aggressive periodontitis subjects increased when compared to healthy subjects.¹¹ These proteins derived from hosts and agents have been shown to induce inflammation in fibroblast cells through the TLR-4 pathway.¹² Wu et al. used saliva in determining the proteomic profile of periodontitis. The study stated that there were six proteins that were increased in aggressive periodontitis subjects compared to healthy subjects. These proteins include serum albumin, immunoglobulin A (IgA), immunoglobulin G (IgG), vitamin D-binding protein, saliva- α -amylase, and zinc- α 2 glycoprotein.¹³

There are two types of immune system, namely innate and adaptive immunity. The innate immune response consists of the epithelial barrier and the activity of phagocytic cells (neutrophils and macrophages). This immunity is the first line of homeostatic defence against oral pathogens. This immune response takes place immediately or within hours. When the innate immune system is inadequate, the adaptive immune system takes on a role to respond to infectious agents. This adaptive immune response involves lymphocyte activity. The main components of this adaptive system are B and T lymphocytes, and their products such as antibodies/immunoglobulins and cytokines.¹⁴ B and T cells have cell surface receptors that can bind to unique molecules produced by microbes or infected host cells. The ability of lymphocytes to discriminate against antigens is the specificity of the adaptive immune response. Immunoglobulins are protein molecules produced by cells in the immune system in response to antigens such as viruses, bacteria, or fungi. The function of immunoglobulins is to bind specific antigen molecules.¹⁵

Immunoglobulins are also present in saliva which serves as a protector in the oral cavity. Immunoglobulin A produced by plasma cells in the salivary glands is the most abundant

Ig found in saliva.^{16,17} In inflamed gingiva, B cells differentiate into plasma cells and secrete IgG. Immunoglobulins of circulating origin can also enter through the gingival crevicular. In addition to immunoglobulins, the oral cavity has a series of innate antimicrobial factors secreted by salivary glands, epithelial cells, and neutrophils. These antimicrobial molecules can kill or inhibit the growth of bacteria, fungi, or viruses.¹⁵

Problem Outline

In sensitive hosts, the synergism of biofilms in the subgingival niche, triggers inflammation of the periodontal tissues (gingivitis) which, if continued, can lead to periodontitis. The severity of periodontitis is divided into four stages. In susceptible host conditions, such as immunodeficiency, risk factors such as systemic disease, obesity, smoking habits, stress, aging, and keystone pathogens cause a shift in the balance to dysbiosis. The keystone pathogen *P. gingivalis* is a bacterial flora of the mouth that has been widely studied because its ability to act as a manipulator of the host response. Keystone pathogens are mediated by pathogens which are usually harmless but can become pathogenic under dysbiosis environmental conditions. Pathobionts in this environment are the main source of antigens that trigger the adaptive immune response. From the literature, these pathogens are in the biofilm community and several clusters (complexes), known as red complex, orange complex, yellow complex, purple complex, and others including *Candida* species. In this study, several periopathogenic species were selected as sources of antigens that trigger the adaptive immune response, representing several clusters and *Candida* species. The antigens were *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, and *C. albicans*.

Polymicrobial have great roles in periodontitis, but several studies have shown that periodontitis is an effect of the immune response and the inflammatory process, not just the presence of bacteria. The identification of the “true pathogen” in periodontitis is still ongoing. Research on the adaptive immune response in periodontitis has begun to be developed but is still limited. The potential role of humoral B cells in periodontal tissue homeostasis needs to be further explored. Based on this description, the scientific problem in this study is formulated as follows: how is the relationship between the presence of polymicrobial consisting of *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, and *C. albicans* with salivary humoral immune response in periodontitis

subjects at various stages. Researchers also wanted to prove the relationship between periodontal status and the presence of these antigens, as well as salivary humoral immune responses in periodontitis subjects at various stages.

General Purpose of Research

1. To analyse the relationship between the presence of antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* with salivary humoral immune response in periodontitis subjects at various stages.
2. To analyse the relationship between periodontal status and the presence of periodontal bacterial antigens and *Candida albicans* as well as salivary humoral immune response in periodontitis subjects at various stages.

Specific Purpose of Research

1. To analyse the differences in the presence of antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
2. To analyse differences in salivary IgA immune responses to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
3. To analyse differences in salivary IgG immune responses to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
4. To analyse the relationship between the presence of antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* with salivary IgA immune responses in periodontitis subjects at various stages.
5. To analyse the relationship between the presence of periodontal bacterial antigens and *Candida albicans* with salivary IgG immune responses in periodontitis subjects at various stages.
6. To analyse the differences in periodontal status on the severity of periodontitis.
7. To analyse the relationship between periodontal status and the presence of antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.

8. To analyse the relationship between plaque index and salivary IgA immune response to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
9. To analyse the relationship between plaque index and salivary IgG immune response to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
10. To analyse the relationship between oral hygiene index and salivary IgA immune response to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
11. To analyse the relationship between oral hygiene index and salivary IgG immune response to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
12. To analyse the relationship between papillary bleeding index and salivary IgA immune response to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
13. To analyse the relationship between papillary bleeding index and salivary IgG immune response to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.

Research Benefits

1. For dentistry, it is expected to contribute for the knowledge development of oral biology and periodontology.
2. For dentists, it is hoped that this research can add to the repertoire of dental science regarding the humoral immune response of saliva to the severity of periodontitis.
3. For the society, it is expected to provide information about the role of the immune response in the oral cavity against periodontitis, as well as the importance of maintaining dental and oral hygiene to prevent periodontitis.
4. For Universities, it is hoped that this research can be a reference for the next research.

Research Originality

1. Identifying antigens of periodontal bacteria and *C. albicans* in the saliva of periodontitis subjects based on their severity (AAP/EFP periodontitis classification 2017) in Indonesia. This identification was using anti-rabbit polyclonal antibodies against *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, and *C. albicans* which were produced and developed by Oral Biology Laboratory Faculty of Dentistry Universitas Indonesia and Faculty of Veterinary Medicine, Bogor Agricultural University, Indonesia.
2. Obtaining the relationship of salivary humoral immune responses (immunoglobulins A and G) to the presence of antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects of various severity (based on AAP/EFP periodontitis classification 2017) in Indonesia.
3. Obtaining the relationship between periodontal status (plaque index, oral hygiene index, and papillary bleeding index) with salivary humoral immune response (immunoglobulin A and G) to the presence of periodontal bacterial antigens and *Candida albicans* in periodontitis subjects of various severity (based on AAP/EFP periodontitis classification 2017) in Indonesia.

Theoretical Framework

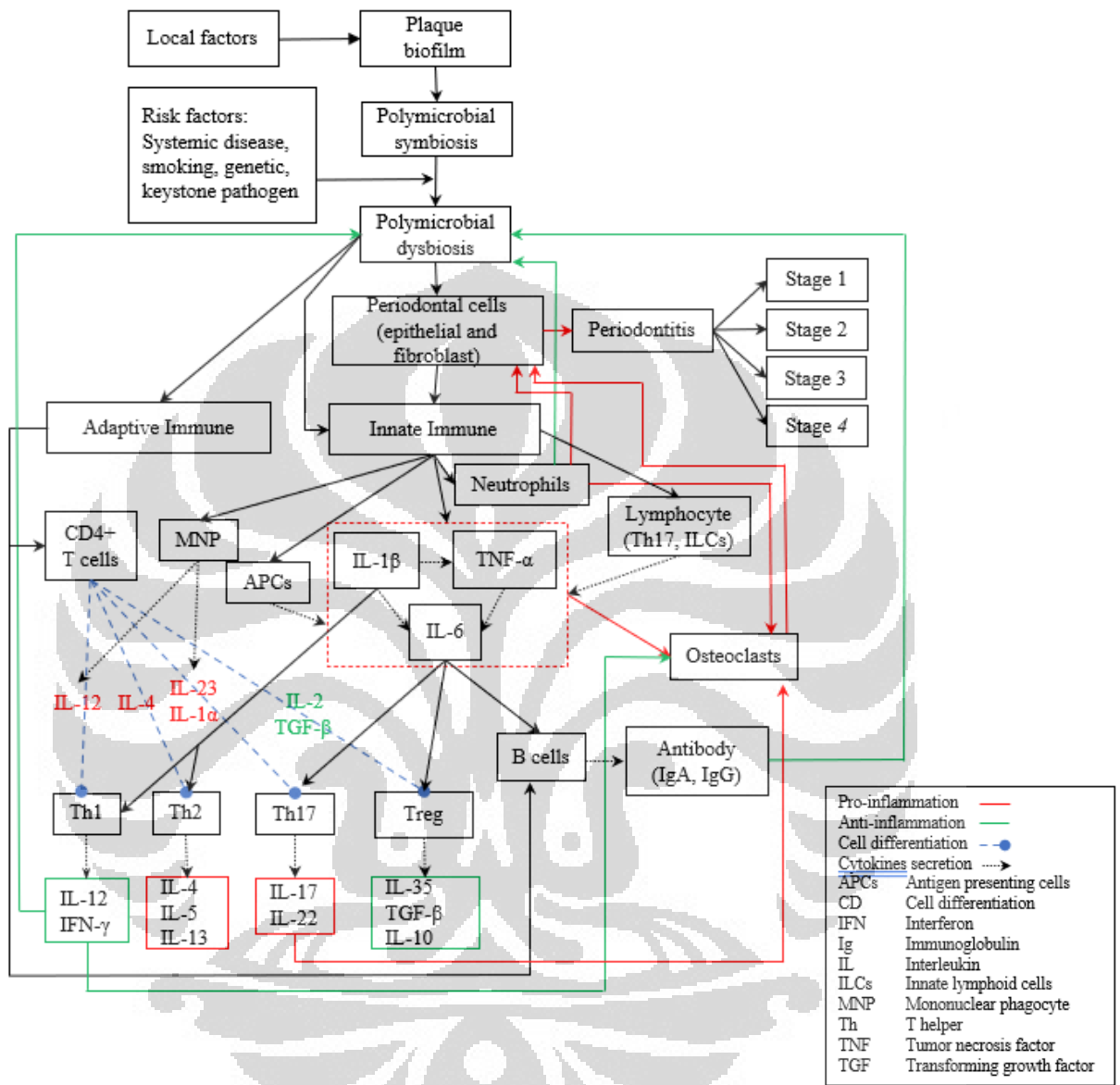


Figure 1. Theoretical Framework

Conceptual Framework



Figure 2 First Conceptual Framework

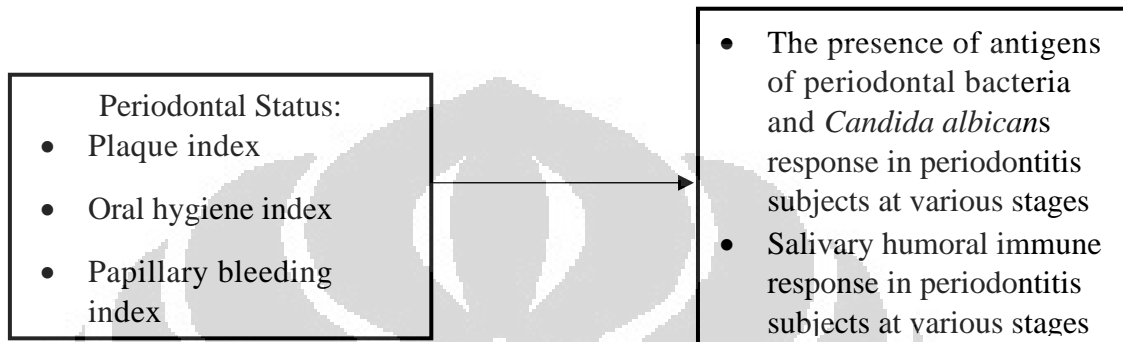


Figure 3 Second Conceptual Framework

Major Hypothesis

1. There is a relationship between the presence of antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* with salivary humoral immune response in periodontitis subjects at various stages.
2. There is a relationship between periodontal status and the presence of periodontal bacterial antigens and *Candida albicans* as well as salivary humoral immune response in periodontitis subjects at various stages.

Minor Hypothesis

1. There are differences in the presence of antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
2. There are differences in salivary IgA immune responses to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
3. There are differences in salivary IgG immune responses to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.

4. There is a relationship between the presence of antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* with salivary IgA immune responses in periodontitis subjects at various stages.
5. There is a relationship between the presence of periodontal bacterial antigens and *Candida albicans* with salivary IgG immune responses in periodontitis subjects at various stages.
6. There are differences in periodontal status on the severity of periodontitis.
7. There is a relationship between periodontal status and the presence of antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
8. There is a relationship between plaque index and salivary IgA immune response to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
9. There is a relationship between plaque index and salivary IgG immune response to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
10. There is a relationship between oral hygiene index and salivary IgA immune response to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
11. There is a relationship between oral hygiene index and salivary IgG immune response to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
12. There is a relationship between papillary bleeding index and salivary IgA immune response to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.
13. There is a relationship between papillary bleeding index and salivary IgG immune response to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages.

RESEARCH METHODS

The design of this study was an observational cross-section. The research was carried out at the Dental Hospital Universitas Indonesia, Biomolecular Laboratory of FKG Universitas Indonesia, and BioCORE FKG Trisakti University. Research subjects were

men and women aged 18-50 years who came to the Dental Hospital Universitas Indonesia, from June 2019 to February 2020 who were diagnosed with periodontitis stage I, II, III, IV, and periodontally health. The research has received ethical approval from the FKGUI Research Ethics Commission. Subjects who met the inclusion criteria were subjected to personal identity data collection and general examination, as well as complete periodontal examination status, namely plaque index, calculus index, papillary bleeding index, oral hygiene index, pocket depth, gingival recession, clinical attachment loss, and number of teeth. periodontitis severity based on the 2017 classification of periodontal disease by AAP and EFP.

Saliva samples were taken from each subject. Furthermore, the protein was extracted using Genezol reagent and the concentration was calculated with Bradford assay. Each sample was subjected to a Western Blot test to analyze the presence of antigen in the saliva. This test used primary anti-rabbit polyclonal antibodies against: *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, and *C. albicans*. Antibody purification was conducted using High-Affinity Antibody Purification Kit (GenScript) and Dot Blot technique was performed to ensure the specificity of the antibody serum. Goat anti-rabbit IgG conjugated with horseradish peroxidase (HRP) was used as the secondary antibody. Visualization of protein bands on PVDF membranes were using 1-Step™ Chloronaphthol Substrate Solution (Thermo Fisher Scientific).

The humoral immune response of salivary IgA and IgG were analysed using ELISA technique. An amount of 100 µL coating buffer was inserted into the microplate well. A 50 µL stock of cultured bacterial pathogens and *C. albicans* were set into the well with each concentration as follows: *A. actinomycetemcomitans* 5.4×10^7 CFU/mL, *T. denticola* 2×10^8 CFU/mL, *P. gingivalis* 1.3×10^7 CFU/mL, *F. nucleatum* 3.89×10^8 CFU/mL and *Candida albicans* 5.9×10^7 CFU/mL. Microplate incubation at 4 °C overnight. The next day, 50 µL of saliva samples from each subject were added and reacted with coating buffer along with the bacterial stock. The secondary antibody used in this ELISA test was 100 µL anti-human IgA conjugated with HRP (1:2000, 5% non-fat milk) for the humoral IgA immune response examination. Moreover, for for the humoral IgG immune response examination, 100 µL of HRP-conjugated anti-human IgG secondary antibody (1:2000, 5% non-fat milk) was added.

The data were then statistically analysed using SPSS software version 23. Univariate analysis was carried out to obtain the mean value and the demographic and clinical parameters of the study. The presence of antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* based on the severity of periodontitis, differences in the immune response of IgA/ IgG against antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages were carried out by bivariate One-way ANOVA test (normally distributed data) and Kruskal-Wallis (data were not normally distributed) followed by Bonferroni and Mann-Whitney U post-hoc tests, respectively. The relationship between the presence of periodontal bacterial antigens and *Candida albicans* as well as salivary IgA/IgG immune responses in periodontitis subjects at various stages along with the relationship between periodontal status and IgA/IgG salivary immune responses to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages were carried out by Chi Square test. All tests used the value of significance at 5%.

RESEARCH RESULTS AND DISCUSSION

A total of 31 periodontitis and eight healthy periodontal subjects was diagnosed by a periodontist based on the 2017 AAP and EFP classification of periodontal disease. Table 1 shows a description of the research subjects, namely gender, average age, average plaque index, average oral hygiene index, average papillary bleeding index, and average salivary protein concentration. The number of subjects was 39 consist of 12 men (30.74%) and 27 women (69.23%).

Table 1 Characteristics of Research Subjects

| Variable | Periodontitis Severity (Mean ± SD) | | | | |
|--------------------------------------|------------------------------------|---------------|----------------|------------------|----------------|
| | Normal (n=8) | Stage I (n=5) | Stage II (n=8) | Stage III (n=11) | Stage IV (n=7) |
| Gender (M/F) | 1/7 | 2/3 | 3/5 | 4/7 | 2/5 |
| Age | 25.1 ± 2.9 | 41.8 ± 5.3 | 45.1 ± 7.3 | 45.9 ± 8.3 | 51 ± 6.1 |
| Plaque Index | 0.45 ± 0.13 | 0.69 ± 0.25 | 0.82 ± 0.27 | 1.27 ± 0.35 | 1.58 ± 0.30 |
| Oral Hygiene Index | 0.25 ± 0.21 | 1.05 ± 0.47 | 1.33 ± 0.45 | 2.68 ± 0.57 | 3.48 ± 0.54 |
| Papillary Bleeding Index | 0.10 ± 0.09 | 0.67 ± 0.45 | 0.92 ± 0.59 | 1.67 ± 0.54 | 2.59 ± 0.25 |
| Saliva Protein Concentration (µg/mL) | 147.38 ± 4.21 | 153.24 ± 4.55 | 156.37 ± 11.34 | 158.38 ± 12.10 | 155.57 ± 7.03 |

SD: Standard Deviation; M: Male; F: Female

The presence of periodontal bacteria and *Candida albicans* antigens were detected by the Western Blot method. The results found that only *A. actinomycetemcomitans* antigen was expressed in the saliva of all study subjects. The protein band density was then calculated using ImageJ software. Comparative analysis of the presence of *A. actinomycetemcomitans* antigen on the severity of periodontitis using the Kruskal-Wallis test. The results of these statistical tests showed the highest presence of *A. actinomycetemcomitans* antigen in the stage IV periodontitis group (Figure 4). These results are consistent with the finding that these bacteria produce the quorum-sensing autoinducer-2 molecule *in vitro* that inhibits the formation of *C. albicans* hyphae and biofilms.^{18,19}

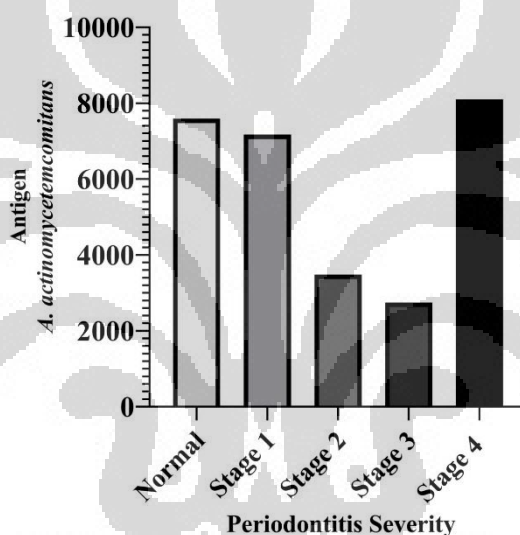
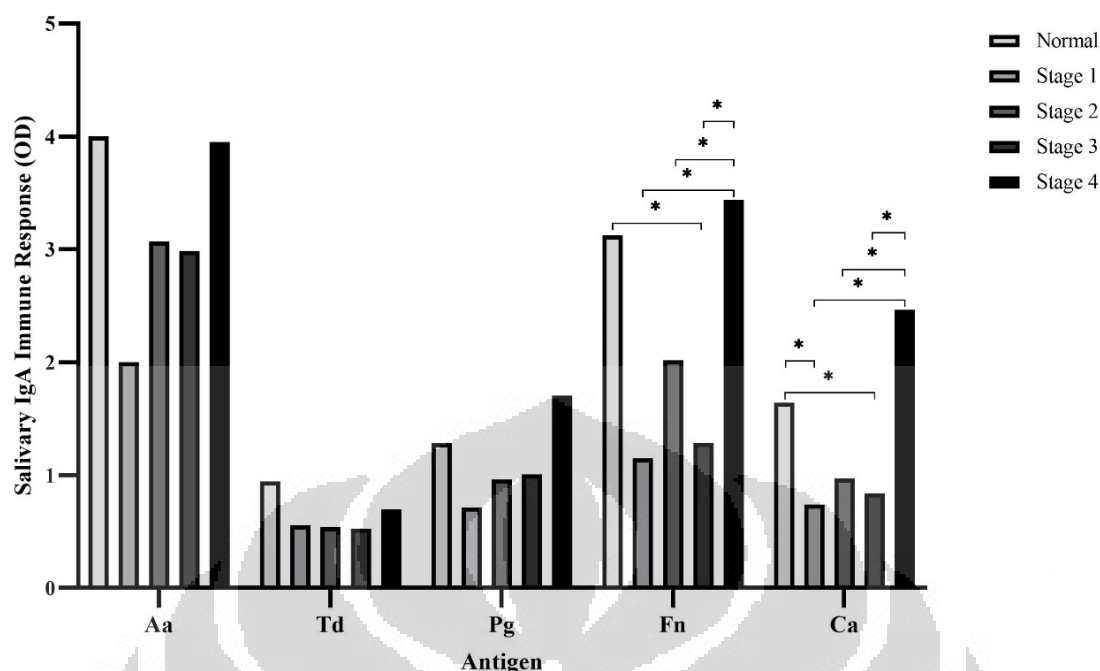


Figure 4 ImageJ Analysis of Protein Band Density in Western Blot Assay of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* antigen in Saliva based on Periodontitis Severity. Median (min-max) Normal: 7594.34 (1867.27-11343.25); Stage I: 7170.35 (1417.93-14,639.41); Stage II: 3482.51 (600.33-20,242.59); Stage III: 2742.23 (1009.98-10925.25); Stage IV: 8096.35 (1134.08-14,587.27). Kruskal-Wallis test $p=0.453$.

The salivary IgA immune response that showed a significant difference based on the severity of periodontitis was the immune response to *F. nucleatum* ($p=0.014$) and *C. albicans* ($p=0.009$) antigens (Figure 5). The median (min-max) optical density of salivary IgA immune response to *F. nucleatum* antigen was Normal: 3.12 (1.08-15.32); Stage I: 1.15 (0.95-3.28); Stage II: 2.02 (1.00-6.06); Stage III: 1.29 (0.66-10.54); Stage IV: 3.44 (1.73-21.12). The median (min-max) optical density of salivary IgA immune response to the *C. albicans* antigen was Normal: 1.64 (0.48-9.36); Stage I: 0.74 (0.52-1.27); Stage II: 0.97 (0.58-3.15) Stage III: 0.84 (0.31-4.81); Stage IV: 2.46 (0.99-28.98).



Gambar 5 Median Value of Saliva IgA Immune Response to Periodontal Bacterial Antigens and *Candida albicans* based on Periodontitis Severity. Kruskal-Wallis test and Post hoc Mann-Whitney U test (*= significantly different $p < 0.05$); Aa: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; Td: *Treponema denticola*; Subject: *Porphyromonas gingivalis*; Fn: *Fusobacterium nucleatum*; Ca: *Candida albicans*; OD: Optical Density

Similar to the IgA immune response, there was a significant difference in the IgG immune response against *F. nucleatum* antigens ($p=0.011$) and *Candida albicans* ($p=0.015$) based on the severity of periodontitis (Figure 6). The median (min-max) optical density of salivary IgG immune response to *F. nucleatum* antigen was Normal: 1.14 (0.20-8.70); Stage I: 0.38 (0.32-0.76); Stage II: 0.64 (0.23-3.14); Stage III: 0.40 (0.13-0.47); Stage IV: 1.29 (1.10-9.40). The median (min-max) optical density of salivary IgG immune response to the *C. albicans* antigen was Normal: 0.20 (0.04-2.38); Stage I: 0.09 (0.06-0.37); Stage II: 0.26 (0.07-1.43); Stage III: 0.18 (0.09-2.32); Stage IV: 0.51 (0.40-1.28)

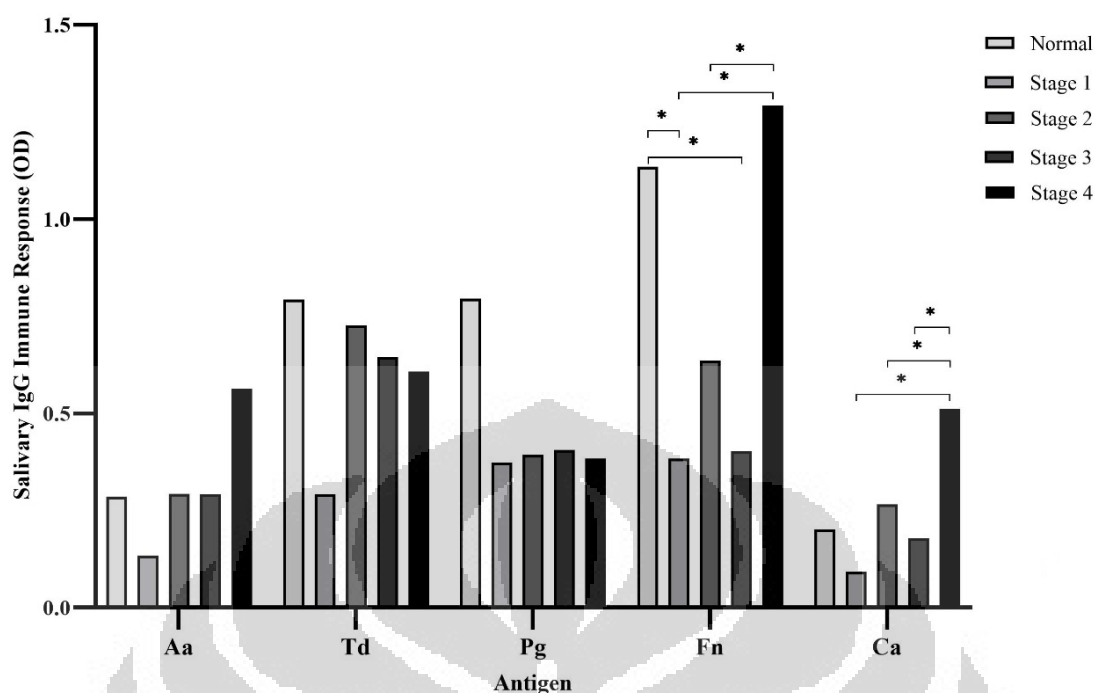


Figure 6 Median Value of Saliva IgG Immune Response to Periodontal Bacterial Antigens and *Candida albicans* based on Periodontitis Severity. Kruskal–Wallis Test and Post hoc Mann–Whitney U Test (*= significantly different $p < 0.05$); Aa: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; Td: *Treponema denticola*; Pg: *Porphyromonas gingivalis*; Fn: *Fusobacterium nucleatum*; Ca: *Candida albicans*; OD: Optical Density

Salivary IgA and IgG immune responses to *F. nucleatum* and *C. albicans* antigens showed significant differences based on the severity of periodontitis. The orange complex microorganism is an oral pathogen of opportunistic periodontal disease and is known for its ability to adhere to several oral bacteria. These bacteria can bind to other bacteria and are considered as connector organisms that bridge commensal colonies which are generally periodontal pathogens.²⁰ The presence of this bacterial orange complex is very important, without which the aggressiveness of the red complex would not survive in the oral cavity.²¹ The discovery of adhesins (FadA) in *F. nucleatum* makes this bacterium more and more studied.²² The implications of *F. nucleatum* are not only in periodontal disease, but also occur in various systemic conditions such as heart disease, adverse pregnancy outcomes, gastrointestinal disorders, rheumatoid arthritis, diabetes mellitus, and gastric cancer. This bacterium even has a good sensitivity so that it can be considered as a diagnostic marker for screening gastric cancer patients.²³ FadA can bind to endothelial cells and facilitate peri-cellular invasion as well as direct invasion into host cells, thus potentially a mechanism of systemic spread. Increased endothelial cell permeability will make it easier for bacteria to penetrate.²⁴

Fusobacterium nucleatum is very susceptible to cytokines and phagocytosis so that it induces a low immune response, but in some conditions, it can trigger an inflammatory response by increasing levels of proinflammatory cytokines and metalloproteinases. These cytokines and enzymes including IL-8, MMP-9 and MMP-13 play a role in increasing cell migration and survival of infected epithelial cells.²⁵ Another major role of these bacteria is to interfere with the immune response. *Fusobacterium nucleatum* can trigger apoptosis of peripheral blood polymorphonuclear and mononuclear cells and reduce the function of B cells and T cells.²⁶ These bacteria significantly affect neutrophil function by increasing the phagocytic ability of neutrophils.²⁷ Serine proteases present in *F. nucleatum* can degrade the chain in the molecule IgA, so it can evade the host immune system.²⁸

The immune response of salivary IgA and IgG to the *F. nucleatum* antigen in stage IV periodontitis was not significantly different from that of normal subjects. This is in line with the research by Papapanou et al. which stated that overall, there was stability of serum IgG antibody titers against periodontal bacteria for more than 30 months in periodontitis and normal subjects. The decrease in antibody titers is only transient after treatment of periodontitis with a significant association with the progression of periodontitis.²⁹ Host susceptibility may not only be a determinant of the transition from symbiosis to microbiota dysbiosis but may underlie host predisposition to develop inflammation sufficient to cause irreversible tissue damage. In individuals who can tolerate conversion of the symbiotic microbiota to dysbiosis, the host will be susceptible to dysbiosis but not to periodontal tissue destruction.³⁰

In the oral cavity, *C. albicans* is not only found on mucous and salivary surfaces, but also in periodontal pockets. This suggests that *C. albicans* may be involved in the pathogenesis of periodontitis.³¹ This species uses its morphological and physiological changes to adapt to healthy or immunocompromised hosts. This adaptive response increases their survival and transforms them into pathogens. The cell shape of *C. albicans* can be yeast-like or filamentous (hyphae). Both forms are involved in host colonization.³² Canabaro et al. found a role for *C. albicans* on the severity of periodontitis.³³ In this study, the IgA and IgG immune responses to *C. albicans* increased with the severity of periodontitis.

The interaction of *C. albicans* with periodontal bacteria occurs in the oral cavity. *Fusobacterium nucleatum* showed good ability to adhere to *C. albicans*.³⁴ Wu et al. found the presence of a carbohydrate component on the surface of *C. albicans* and a protein component on the surface of *F. nucleatum* that mediates the co-adherence of these two species.³⁵ Natural and nonspecific defense mechanisms are generally effective in preventing oral fungal infections. These innate mechanisms include salivary flow and histatins, which are antimicrobial components but are effective against *C. albicans*. Most of the oral cavity is colonized by bacteria and *C. albicans* must compete for nutrients. Most fungi activate complement via an alternative pathway coated by the C3 fragment and attached to polymorphonuclear leukocytes, monocytes, and macrophages. The initial host defense response through *C. albicans* PAMPs will be recognized by the PRR on the APC. Toll-like receptor-2 and TLR-4 will recognize surface mannan (fungal -glucan) and trigger both innate and adaptive immune responses.³⁶

IgA and IgG humoral immune responses to *P. gingivalis* based on the severity of periodontitis did not show significant differences. These results confirm the keystone pathogen hypothesis by Hajishengallis et al. which states that *P. gingivalis* and its virulence can suppress the immune response.⁷ This finding is also supported by *in vivo* studies that prove *P. gingivalis* with a low colonization rate can induce periodontitis by influencing other commensal bacteria resulting in inflammation and alveolar bone destruction. This ability of *P. gingivalis* still requires the participation of other commensal microbiota. This was proven by the experimental failure of *P. gingivalis* alone to cause periodontitis in germ free rats.³⁷

Porphyromonas gingivalis cannot induce dysbiosis and periodontitis in conventional mouse models if it lacks the cellular receptors needed to break down leukocyte defenses.^{37,38} Therefore, Arg-specific cysteine proteinases (gingipains) from *P. gingivalis* activate complement C5 convertase-like which will activate the C5a receptor on leukocytes. This receptor signal is involved in crosstalk with Toll like receptor-2 (TLR2) which in parallel will be activated by the surface ligand *P. gingivalis* thereby increasing the occurrence of inflammation but reduces the ability to 'kill' leukocytes.^{38,39} These bacteria can also prevent the activation of the TLR4-dependent antimicrobial pathway in leukocytes by the expression of lipopolysaccharide accompanied by 4-acyl monophosphorylated lipid A which is a TLR4.⁴⁰ antagonist. *Porphyromonas gingivalis*

can also inhibit the synthesis of IL-8 by epithelial cells that function to mobilize neutrophils to the gingival crevicular area.⁴¹

The relationship between the presence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* antigen on the severity of periodontitis and salivary IgA/IgG immune responses in periodontitis subjects at various stages was using the Spearman test (Figure 7). The results of the analysis showed that there was a strong positive linear relationship between the presence of *A. actinomycetemcomitans* antigen on the severity of periodontitis and the salivary IgA immune response in stage III periodontitis subjects. Similarly, the relationship between the presence of *A. actinomycetemcomitans* antigen on the severity of periodontitis and salivary IgG immune responses in periodontitis subjects at various stages showed that there was a strong positive linear relationship in stage III periodontitis subjects.

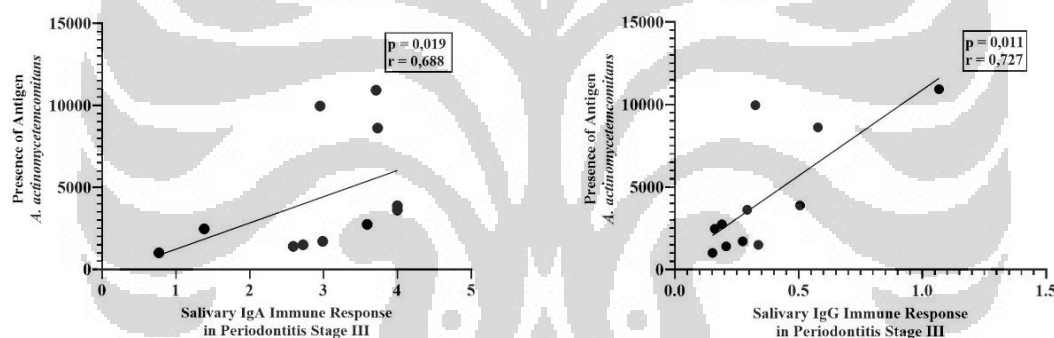


Figure 7 Relationship between the presence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* antigen with IgA (left) and IgG (right) salivary immune responses in Periodontitis Stage III subjects. Description: Spearman's Test; IgA: Immunoglobulin A; IgG: Immunoglobulin G.

Several studies have shown an increase in serum IgA and IgG antibodies against *A. actinomycetemcomitans* in early severity of systemic diseases such as cardiovascular disease, diabetes, and rheumatoid arthritis.⁴²⁻⁴⁴ Salivary IgG immune responses to *A. actinomycetemcomitans* antigens based on the severity of periodontitis were not significantly different, however, tends to increase in stage IV periodontitis. This is in line with research conducted by Isola et al. who stated that subjects with periodontitis had higher serum IgG titers against the *A. actinomycetemcomitans* antigen compared to healthy periodontal subjects.⁴⁵ Gadekar et al. also showed that serum and salivary IgA

and IgG against *A. actinomycetemcomitans* antigens were higher in chronic periodontitis subjects than healthy periodontal subjects.⁴⁶ The presence of these bacteria when associated with IgA and IgG immune responses in each periodontitis severity correlated with stage III periodontitis. The researcher suspected that the result was because in stage III the number of teeth involved in periodontitis was more than in stage IV periodontitis. Based on the latest classification of periodontitis severity, stages III and IV have the same clinical attachment loss of 5 mm, but the number of tooth loss is more in stage IV than stage III.⁴⁷

ANOVA test was used to analyse the differences in the values of the plaque index and papillary bleeding index on the severity of periodontitis, while the Kruskal-Wallis test was used to analyse the differences in the values of oral hygiene on the severity of periodontitis (Figure 8). The results of the analysis showed significant differences in plaque index ($p=0.000$), oral hygiene index ($p=0.000$), and papillary bleeding index ($p=0.000$) on the severity of periodontitis.

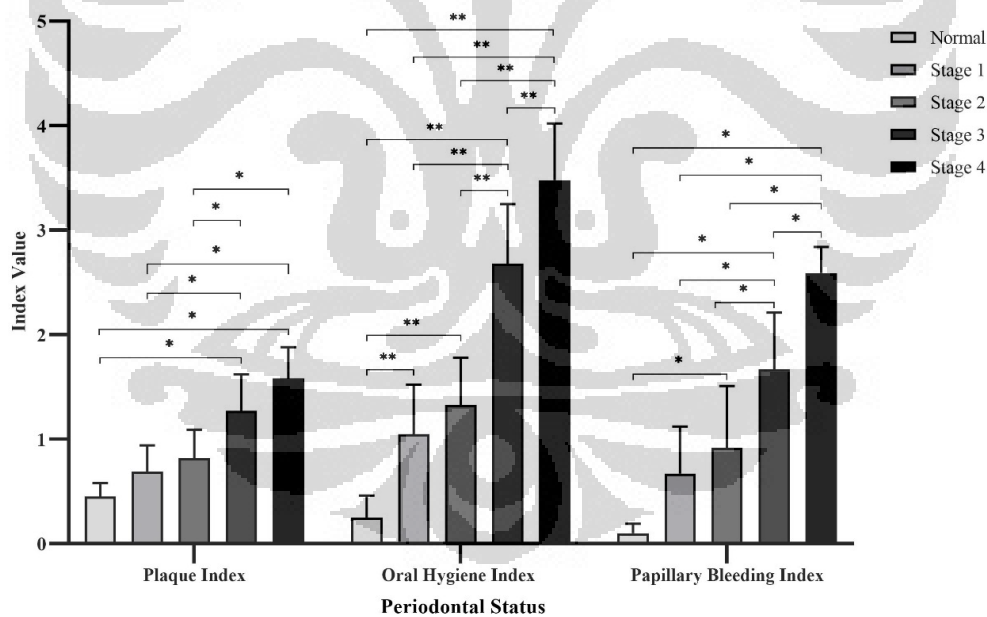


Figure 8 The Mean Value of Periodontal Status (Plaque Index, Oral Hygiene Index, and Papillary Bleeding Index) on Periodontitis Severity. ANOVA test and Bonferroni Post hoc test (*= significantly different $p < 0.05$); Kruskal – Wallis Test and Post hoc Mann-Whitney U Test (**= significantly different $p < 0.05$).

Plaque index and oral hygiene index were shown to be significantly related to the severity of periodontitis. The value of both indices is getting higher as the severity of periodontitis increases. Dental plaque is a community of microorganisms found on the tooth surface as a biofilm.⁴⁸ The attachment of microorganisms to teeth is mediated by receptors on the acquired pellicle which is composed of host products and bacteria.⁴⁹ Dental plaque accumulation and oral hygiene are known risk factors for periodontitis. Lertpimonchai et al. stated in a meta-analysis study that moderate and poor oral hygiene can increase the risk of periodontitis two to five times compared with good oral hygiene.⁵⁰

Periodontal inflammation was clinically assessed by the papillary bleeding index. In this study, it was found that the papillary bleeding index was also significantly correlated with the severity of periodontitis. The value of the papillary bleeding index increased with the increasing severity of periodontitis. Bleeding on probing is an indicator of tissue inflammatory response to bacterial pathogens.⁵¹

The Chi Square test was performed to analyze the relationship between periodontal status and the presence of *A. actinomycetemcomitans* antigen in periodontitis subjects at various stages (Table 2). The test results stated that there was no relationship between periodontal status and the presence of *A. actinomycetemcomitans* antigen.

Table 2 Relationship between Periodontal Status and the Presence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Antigen in Periodontitis Subjects at Various Stages

| Periodontal Status | Presence of <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> | | P-value | OR | 95% CI OR (Min-Max) |
|--------------------------|--|---------------|---------|-------|---------------------|
| | Low n (%) | High n (%) | | | |
| Plaque Index | | | 0.295 | 2.857 | 0.636 – 12.844 |
| Thin | 3 (23.1) | 10 (76.9) | | | |
| Moderate-Abundance | 12 (46.2) | 14 (53.8) | | | |
| Oral Hygiene Index | | | 0.711 | 1.647 | 0.353 – 7.692 |
| Good | 3 (30.0) | 7 (70.0) | | | |
| Fair-Poor | 12 (41.4) | 17 (58.6) | | | |
| Papillary Bleeding Index | | | 0.437 | 2.676 | 0.475 – 15.089 |
| Good | 2 (22.2) | 7 (77.8) | | | |
| Fair-Poor | 13 (43.3) | 17 (56.7) | | | |

Chi Square test; OR: Odds ratio

Chi Square test was conducted to analyse the relationship between plaque index and salivary IgA/IgG humoral immune response to periodontal bacteria and *Candida albicans* antigens in periodontitis subjects at various stages (Table 3). A significant relationship

was found between plaque index and salivary IgG immune response to *C. albicans* ($p=0.041$; $OR=5.33$), but there was no significant relationship between plaque index and salivary IgG immune response to periodontal bacteria.

Table 3 The Relationship between Plaque Index and Saliva IgA/IgG Immune Response to Periodontal Bacterial and *Candida albicans* Antigens in Periodontitis Subjects at Various Stages

| Variable | Plaque Index | | P-value | OR | 95% CI OR (Min-Max) |
|---------------------------------|--------------|--------------------------|---------|-------|---------------------|
| | Thin n (%) | Moderate-Abundance n (%) | | | |
| IgA Immune Response | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0.131 | 0.278 | 0.064 – 1.200 |
| High | 6 (54.5) | 5 (45.5) | | | |
| Low | 7 (25.0) | 21 (75.0) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0.176 | 0.326 | 0.079 – 1.337 |
| High | 9 (45.0) | 11 (55.0) | | | |
| Low | 4 (21.1) | 15 (78.9) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0.445 | 2.444 | 0.437 – 13.672 |
| High | 2 (20.0) | 8 (80.0) | | | |
| Low | 11 (37.9) | 18 (62.1) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0.176 | 0.326 | 0.079 – 1.337 |
| High | 9 (45.0) | 11 (55.0) | | | |
| Low | 4 (21.1) | 15 (78.9) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0.196 | 0.391 | 0.099 – 1.535 |
| High | 8 (44.4) | 10 (55.6) | | | |
| Low | 5 (23.8) | 16 (76.2) | | | |
| IgG Immune Response | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0.087 | 4.250 | 1.019 – 17.729 |
| High | 4 (19.0) | 17 (81.0) | | | |
| Low | 9 (50.0) | 9 (50.0) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0.290 | 2.327 | 0.578 – 9.367 |
| High | 7 (26.9) | 19 (73.1) | | | |
| Low | 6 (46.2) | 7 (43.8) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0.090 | 0.278 | 0.069 – 1.119 |
| High | 8 (50.0) | 8 (50.0) | | | |
| Low | 5 (21.7) | 18 (78.3) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0.307 | 0.381 | 0.093 – 1.557 |
| High | 9 (42.9) | 12 (57.1) | | | |
| Low | 4 (22.2) | 14 (77.8) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0.041* | 5.333 | 1.175 – 24.213 |
| High | 3 (15.8) | 16 (84.2) | | | |
| Low | 10 (50.0) | 10 (50.0) | | | |

Chi Square test; OR: Odds ratio; *= significantly different $p<0.05$

To analyze the relationship between oral hygiene index and salivary IgA/IgG humoral immune response to antigens of periodontal bacteria and *Candida albicans* in periodontitis subjects at various stages, Chi Square test was performed (Table 4). The results of the analysis showed that there was a relationship between oral hygiene index

and salivary IgA immune response to the antigens of *A. actinomycetemcomitans* ($p=0.008$; OR=0.112) and *C. albicans* ($p=0.031$; OR=0.153).

Table 4 The Relationship between Oral Hygiene Index and Saliva IgA/IgG Immune Response to Periodontal Bacterial Antigens and *Candida albicans* in Periodontitis Subjects at Various Stages

| Variable | Oral Hygiene Index | | P-value | OR | 95% CI OR (Min-Max) |
|---------------------------------|--------------------|--------------------|---------|-------|---------------------|
| | Good n (%) | Fair-Poor n (%) | | | |
| IgA Immune Response | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0.008* | 0.112 | 0.022 – 0.567 |
| High | 7 (53.8) | 6 (46.2) | | | |
| Low | 3 (11.5) | 23 (88.5) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0.065 | 0.176 | 0.032 – 0.982 |
| High | 8 (40.0) | 12 (60.0) | | | |
| Low | 2 (10.5) | 17 (89.5) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0.057 | 0.119 | 0.013 – 1.064 |
| High | 9 (37.5) | 15 (62.5) | | | |
| Low | 1 (6.7) | 14 (93.3) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0.065 | 0.176 | 0.032 – 0.982 |
| High | 8 (40.0) | 12 (60.0) | | | |
| Low | 2 (10.5) | 17 (89.5) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0.031* | 0.153 | 0.027 – 0.854 |
| High | 8 (42.1) | 11 (57.9) | | | |
| Low | 2 (10.0) | 18 (90.0) | | | |
| IgG Immune Response | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0.464 | 2.187 | 0.469 – 10.119 |
| High | 3 (17.6) | 14 (82.4) | | | |
| Low | 7 (31.8) | 15 (68.2) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0.141 | 0.262 | 0.056 – 1.230 |
| High | 7 (38.9) | 11 (61.1) | | | |
| Low | 3 (14.3) | 18 (85.7) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0.264 | 0.351 | 0.080 – 1.540 |
| High | 6 (37.5) | 10 (62.5) | | | |
| Low | 4 (17.4) | 19 (82.6) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0.065 | 0.176 | 0.032 – 0.982 |
| High | 8 (40.0) | 12 (60.0) | | | |
| Low | 2 (10.5) | 17 (89.5) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0.290 | 2.500 | 0.538 – 11.617 |
| High | 3 (16.7) | 15 (83.3) | | | |
| Low | 7 (33.3) | 14 (66.7) | | | |

Chi Square test; OR: Odds ratio; *= significantly different $p<0.05$

Chi Square test was conducted to analyze the relationship between papillary bleeding index and salivary IgA/IgG humoral immune response to periodontal bacteria and *Candida albicans* antigens in periodontitis subjects at various stages (Table 5). The results of the analysis showed that there was a relationship between papillary bleeding index and salivary IgA immune response to the antigens of *A. actinomycetemcomitans* ($p=0.003$; OR=0.071), *F. nucleatum* ($p=0.002$; OR=0.083), and *C. albicans* ($p=0.008$);

OR=0.072), but there was no correlation between papillary bleeding index and salivary IgG immune response to periodontal bacteria and *C. albicans* antigens.

Table 5 The Relationship between Papillary Bleeding Index and Saliva IgA/IgG Immune Response to Periodontal Bacterial Antigens and *Candida albicans* in Periodontitis Subjects at Various Stages

| Variable | Papillary Bleeding Index | | P-value | OR | 95% CI OR (Min-Max) |
|---------------------------------|--------------------------|-----------------|---------|-------|---------------------|
| | Good n (%) | Fair-Poor n (%) | | | |
| IgA Immune Response | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0.003* | 0.071 | 0.012 – 0.436 |
| High | 7 (53.8) | 6 (46.2) | | | |
| Low | 2 (7.7) | 24 (92.3) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0.055 | 0.165 | 0.029 – 0.941 |
| High | 7 (38.9) | 11 (61.1) | | | |
| Low | 2 (9.5) | 19 (90.5) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0.056 | 0.125 | 0.014 – 1.127 |
| High | 8 (34.8) | 15 (65.2) | | | |
| Low | 1 (6.3) | 15 (93.8) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0.020* | 0.083 | 0.009 – 0.775 |
| High | 8 (40.0) | 12 (60.0) | | | |
| Low | 1 (5.3) | 18 (94.7) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0.008* | 0.072 | 0.008 – 0.658 |
| High | 8 (42.1) | 11 (57.9) | | | |
| Low | 1 (5.0) | 19 (95.0) | | | |
| IgG Immune Response | | | | | |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | | | 0.440 | 0.436 | 0.075 – 2.523 |
| High | 6 (26.1) | 17 (73.9) | | | |
| Low | 2 (13.3) | 13 (86.7) | | | |
| <i>T. denticola</i> | | | 0.055 | 0.165 | 0.029 – 0.941 |
| High | 7 (38.9) | 11 (61.1) | | | |
| Low | 2 (9.5) | 19 (90.5) | | | |
| <i>P. gingivalis</i> | | | 0.197 | 0.313 | 0.064 – 1.533 |
| High | 4 (40.0) | 6 (60.0) | | | |
| Low | 5 (17.2) | 24 (82.8) | | | |
| <i>F. nucleatum</i> | | | 0.355 | 0.400 | 0.074 – 2.159 |
| High | 3 (37.5) | 5 (62.5) | | | |
| Low | 6 (19.4) | 25 (80.6) | | | |
| <i>C. albicans</i> | | | 0.319 | 0.308 | 0.054 – 1.754 |
| High | 3 (42.9) | 4 (57.1) | | | |
| Low | 6 (18.8) | 26 (81.3) | | | |

Chi Square test; OR: Odds ratio; *= significantly different p<0.05

The immune response to *C. albicans* is most is most closely related to periodontal status. This is indicated by the significant relationship between plaque index and IgG immune response to *C. albicans*, oral hygiene index to IgA immune response to *C. albicans*, and papillary bleeding index to IgA immune response to *C. albicans*. The role of *C. albicans* was stated by Fox et al. that *C. albicans* creates a biofilm that provides a hypoxic microenvironment within the biofilm community and supports the growth of some

anaerobic bacteria, even under aerobic conditions that are normally toxic to these bacteria.⁵²

To the author's knowledge, the study relating periodontal status to the presence of antigens and salivary IgA and IgG humoral immune responses to antigens *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *F. nucleatum* and *C. albicans* based on the latest classification of periodontitis is the first study in Indonesia. The limitation of this study is the cross-sectional study design which cannot analyse the relationship longitudinally. Stratification based on periodontitis severity (stage) was performed in this study however did not evaluate periodontitis progression (grade). This study also did not take and compare with blood serum samples.

CONCLUSION

1. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* antigen was found in the most severe group of salivary periodontitis, namely stage IV.
2. Immune response of salivary IgA and IgG against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* antigens were correlated in periodontitis stage III.
3. IgA and salivary IgG immune responses to *Fusobacterium nucleatum* and *Candida albicans* antigens can be biomarkers of periodontitis severity.
4. Plaque index, oral hygiene index, and papillary bleeding index are periodontal clinical parameters that play a role in the severity of periodontitis.
5. Plaque index affects salivary IgG immune response to *Candida albicans*, oral hygiene index affects salivary IgA immune response to *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Candida albicans*, and papillary bleeding index affects salivary IgA immune response to *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* and *Candida albicans*.

SUGGESTION

1. Longitudinal studies should be conducted to evaluate the progression of periodontitis (grade).
2. Further studies should be conducted to compare IgA and IgG immune responses from blood serum and gingival crevicular fluid samples.
3. Detection of salivary IgA and IgG immune responses against *Fusobacterium nucleatum* and *Candida albicans* antigens can be used as a screening tool for periodontitis severity (stage).
4. Further research should be carried out to obtain a saliva screening kit that can predict the severity of periodontitis based on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* antigen and its antibodies, as well as antibody responses to *Fusobacterium nucleatum* and *Candida albicans* antigens derives from Indonesian isolates.

DAFTAR REFERENSI

1. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal Diseases. *Lancet*. 2005;366(9499):1809-20.
2. Albandar JM, Rams TE. Global Epidemiology of Periodontal Diseases: An Overview. *Periodontol 2000*. 2002;29(1):7-10.
3. Vos T, Abajobir AA, Abbafati C, *et al*. Global, Regional, and National Incidence, Prevalence, and Years Lived with Disability for 328 Diseases and Injuries for 195 Countries, 1990-2016: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 2017. 390(10100):1211-59.
4. Sanz M, D'aiuto F, Deanfield J, *et al*. European Workshop in Periodontal Health and Cardiovascular Disease - Scientific Evidence on the Association Between Periodontal and Cardiovascular Diseases: A Review of The Literature. *European Heart Journal Supplement*; 2010. 12 (Supplement B), B3-B12.
5. Kemenkes RI. Kesehatan Gigi dan Mulut. In: *Laporan Nasional Riskesdas 2018*. 2018.181-220.
6. G. Caton J, Armitage G, Berglundh T, *et al*. A New Classification Scheme for Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions – Introduction and Key Changes from The 1999 Classification. *J Clin Periodontol*. 2018;45(Maret):S1-S8.
7. Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The Keystone-Pathogen Hypothesis. *Nat Rev Microbiol*. 2012. 10(10): 717–25.
8. Darveau RP, Hajishengallis G, Curtis MA. *Porphyromonas gingivalis* As a Potential Community Activist for Disease. *J Dent Res*. 2012;91(9):816-20.
9. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The Oral Microbiota: Dynamic Communities and Host Interactions. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(12):745-59.
10. Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond The Red Complex and into More Complexity: The Polymicrobial Synergy and Dysbiosis (PSD) Model of Periodontal Disease Etiology. *Mol Oral Microbiol*.2012. 27(6):409-19.
11. Bostanci N, Heywood W, Mills K, *et al*. Application of Label-Free Absolute Quantitative Proteomics in Human Gingival Crevicular Fluid by LC/MS (Gingival Exudatome). *J Proteome Res*. 2010;9(5):2191-9.
12. Gao H, Hou J, Meng H, *et al*. Proinflammatory Effects and Mechanisms of Calprotectin on Human Gingival Fibroblasts. *J Periodontal Res*. 2017;52(6):975-83.
13. Wu Y, Shu R, Luo LJ, *et al*. Initial Comparison of Proteomic Profiles of Whole Unstimulated Saliva Obtained from Generalized Aggressive Periodontitis Patients and Healthy Control Subjects. *J Periodontal Res*. 2009;44(5):636-44.
14. Hajishengallis G, Korostoff JM. The Immune System and Its Function. In: *Oral Microbiology and Immunology*. 3rd ed. John Wiley & Sons; 2020:29-51.
15. Hajishengallis E, Hajishengallis G. Immunology of The Oral Cavity. In: *Oral Microbiology and Immunology*. 3rd ed. John Wiley & Sons; 2020:227-48.
16. Shilpashree HS, Sarapur S. Evaluation of Salivary Immunoglobulin A Levels in Tobacco Smokers and Patients with Recurrent Aphthous Ulcers. *J Nat Sci Biol Med*. 2012. 3(2):177-81.
17. Sistig S, Vučićević-Boras V, Lukač J, *et al*. Salivary IgA and IgG Subclasses in Oral Mucosal Diseases. *Oral Dis*. 2002. 8(6):282-6.

18. Bachtiar EW, Bachtiar BM, Jarosz LM, *et al.* AI-2 of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Inhibits *Candida albicans* Biofilm Formation.. *Front Cell Infect Microbiol.* 2014. 4:94.
19. Bachtiar EW, Bachtiar BM. Effect of Cell-Free Spent Media Prepared from *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* on The Growth of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans* in Co-Species Biofilms. *Eur J Oral Sci.* 2020. 00: 1–10.
20. Rickard AH, Gilbert P, High NJ, *et al.* Bacterial Coaggregation: An Integral Process in The Development of Multi-Species Biofilms. *Trends Microbiol.* 2003. 11(2):94-100.
21. Brennan CA, Garrett WS. *Fusobacterium nucleatum*-Symbiont, Opportunist, and Oncobacterium. *Nat Rev Microbiol.* 2019. 17(3):156-66.
22. Han YW, Ikegami A, Rajanna C, *et al.* Identification and Characterization of A Novel Adhesin Unique to Oral Fusobacteria. *J Bacteriol.* 2005. 187(15):5330-40.
23. Han YW. *Fusobacterium nucleatum*: A Commensal-Turned Pathogen. *Curr Opin Microbiol.* 2015. 23:141-7.
24. Fardini Y, Wang X, Témoins S, *et al.* *Fusobacterium nucleatum* Adhesin FadA Binds Vascular Endothelial Cadherin and Alters Endothelial Integrity. *Mol Microbiol.* 2011. 82(6):1468-80.
25. Şurlin P, Nicolae FM, Şurlin VM, *et al.* Could Periodontal Disease through Periopathogen *Fusobacterium nucleatum* Be an Aggravating Factor for Gastric Cancer? *J Clin Med.* 2020. 9(12):3885.
26. Signat B, Roques C, Poulet P, *et al.* Role of *Fusobacterium nucleatum* in Periodontal Health and Disease. *Curr Issues Mol Biol.* 2011. 13(2):25-36.
27. Kurgan Ş, Kansal S, Nguyen D, *et al.* Strain-Specific Impact of *Fusobacterium nucleatum* on Neutrophil Function . *J Periodontol.* 2017. 88(4):380-9.
28. Bachrach G, Rosen G, Bellalou M, *et al.* Identification of a *Fusobacterium nucleatum* 65 kDa Serine Protease. *Oral Microbiol Immunol.* 2004. 19(3):155-9.
29. Papapanou PN, Neiderud AM, Disick E, *et al.* Longitudinal Stability of Serum Immunoglobulin G Responses to Periodontal Bacteria. *J Clin Periodontol.* 2004;31(11):985-90.
30. Hajishengallis G. Immunomicrobial Pathogenesis of Periodontitis: Keystones, Pathobionts, and Host Response. *Trends Immunol.* 2014;35(1):3-11.
31. Urzua B, Hermosilla G, Gamonal J, *et al.* Yeast Diversity in The Oral Microbiota of Subjects with Periodontitis: *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* Colonize The Periodontal Pockets. *Med Mycol.* 2008;46(8):783-93.
32. Bartnicka D, Gonzalez-Gonzalez M, Sykut J, *et al.* *Candida albicans* Shields The Periodontal Killer *Porphyromonas gingivalis* from Recognition by The Host Immune System and Supports The Bacterial Infection of Gingival Tissue. *Int J Mol Sci.* 2020. 21(6):1984.
33. Canabarro A, Valle C, Farias MR, *et al.* Association of Subgingival Colonization of *Candida albicans* and Other Yeasts with Severity of Chronic Periodontitis. *J Periodontal Res.* 2013;48(4):428-32.
34. Grimaudo NJ, Nesbitt WE. Coaggregation of *Candida albicans* with Oral Fusobacterium Species. *Oral Microbiol Immunol.* 1997. 12(3):168-73.
35. Wu T, Cen L, Kaplan C, *et al.* Cellular Components Mediating Coadherence of *Candida albicans* and *Fusobacterium nucleatum*. *J Dent Res.* 2015. 94(10):1432-8.
36. Cannon RD, Holmes AR, Firth NA. Fungi and Fungal Infections of the Oral Cavity.

- In: *Oral Microbiology and Immunology*. 3rd ed. John Wiley & Sons; 2020:397-415.
37. Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, *et al.* Low-abundance Biofilm Species Orchestrates Inflammatory Periodontal Disease Through the Commensal Microbiota and Complement. *Cell Host Microbe*. 2011.10(5):497-506.
 38. Wang M, Krauss JL, Domon H, *et al.* Microbial Hijacking of Complement-Toll-Like Receptor Crosstalk. *Sci Signal*. 2010. 3(109):ra11.
 39. Liang S, Krauss JL, Domon H, *et al.* The C5a Receptor Impairs IL-12–Dependent Clearance of *Porphyromonas gingivalis* and Is Required for Induction of Periodontal Bone Loss . *J Immunol*. 2011.186(2):869-77.
 40. Darveau RP. Periodontitis: A Polymicrobial Disruption of Host Homeostasis. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(7):481-90.
 41. Madianos PN, Papapanou PN, Sandros J. *Porphyromonas gingivalis* Infection of Oral Epithelium Inhibits Neutrophil Transepithelial Migration. *Infect Immun*. 1997. 65(10):3983-90.
 42. Ogrendik M, Kokino S, Ozdemir F, *et al.* Serum Antibodies to Oral Anaerobic Bacteria in Patients with Rheumatoid Arthritis. *MedGenMed Medscape Gen Med*. 2005. 7(2):2.
 43. Colhoun HM, Slaney JM, Rubens MB, *et al.* Antibodies to Periodontal Pathogens and Coronary Artery Calcification in Type 1 Diabetic and Nondiabetic Subjects. *J Periodontal Res*. 2008. 43(1):103-10.
 44. Liljestrang JM, Paju S, Pietiäinen M, *et al.* Immunologic Burden Links Periodontitis to Acute Coronary Syndrome. *Atherosclerosis*. 2018. 268:177-84.
 45. Isola G, Polizzi A, Patini R, *et al.* Association Among Serum and Salivary *A. Actinomycescomitans* Specific Immunoglobulin Antibodies and Periodontitis. *BMC Oral Health*. 2020;20(1):1-13.
 46. Gadekar NB, Hosmani J V., Bhat KG, *et al.* Detection of Antibodies Against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in Serum and Saliva Through ELISA in Periodontally Healthy Individuals and Individuals with Chronic Periodontitis. *Microb Pathog*. 2018;125:438-442.
 47. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and Grading of Periodontitis: Framework and Proposal of A New Classification and Case Definition. *J Clin Periodontol*. 2018;45(February):S149-S161.
 48. Marsh PD. Dental Plaque As A Biofilm And A Microbial Community - Implications For Health And Disease. In: *BMC Oral Health*. 2006. 6:S1-S14.
 49. Scannapieco FA, Ruhl S. The Oral Enviroment. In: *Oral Microbiology and Immunology*. 3rd ed. John Wiley & Sons; 2020:53-80.
 50. Lertpimonchai A, Rattanasiri S, Arj-Ong Vallibhakara S, *et al.* The Association between Oral Hygiene and Periodontitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int Dent J*. 2017. 67(6):332-343.
 51. Checchi L, Montevecchi M, Checchi V, *et al.* The Relationship Between Bleeding on Probing and Subgingival Deposits. An Endoscopical Evaluation. *Open Dent J*. 2009. 3:154-60.
 52. Fox EP, Cowley ES, Nobile CJ, *et al.* Anaerobic Bacteria Grow Within *Candida albicans* Biofilms and Induce Biofilm Formation in Suspension Cultures. *Curr Biol*. 2014. 24(20):2411-6.

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : drg. Muhammad Ihsan Rizal, M.Kes
 Tempat/Tanggal lahir : Tangerang, 26 Juli 1982
 Pekerjaan : Staf Pengajar Bagian Biologi Oral / Biokimia dan Biologi Molekuler FKG Universitas Trisakti
 Alamat : Komplek Bukit Pratama Jl. Bukit Pratama III blok H2, Lebak Bulus, Jakarta Selatan
 E-mail : ihsan.rizal@trisakti.ac.id; ihsan.rizal@gmail.com
 Ayah : dr. Rizal Djaka
 Ibu : Erna Djuwita
 Istri : Dr. drg. Fatimah Maria Tadjoeidin, Sp.Perio(K)
 Anak : 1. Muhammad Hugo Rizal
 2. Muhammad Enzo Rizal

RIWAYAT PENDIDIKAN

| Program Pendidikan | Tahun Lulus |
|--|-------------|
| SD Negeri 6 Tangerang | 1994 |
| SMP Negeri 1 Tangerang | 1997 |
| SMA Negeri 1 Tangerang | 2000 |
| Pendidikan Dokter Gigi FKG Universitas Trisakti | 2006 |
| Program Pascasarjana Magister Kesehatan Konsentrasi Biomedik Oral FKG Universitas Trisakti | 2010 |
| Pendidikan Doktoral Ilmu Kedokteran Gigi FKG Universitas Indonesia | |

ORGANISASI

| | |
|---|---------------|
| Persatuan Dokter Gigi Indonesia | 2006-saat ini |
| <i>International Association for Dental Research (IADR)</i> | 2010-saat ini |
| Perhimpunan Biologi Oral Indonesia (PBOI) | 2014-saat ini |

SEMINAR / KONFERENSI / WORKSHOP

| No. | Kegiatan | Tahun |
|-----|--|-------|
| 1. | Regional Oral Biology Scientific Meeting | 2014 |
| 2. | Insight Pro “Redefining Periodontology” | 2015 |
| 3. | Inter-disciplinary Dentistry Studies QTP “Calibrated Preparation” | 2015 |
| 4. | Forum Ilmiah (FORIL) XI FKG Usakti | 2015 |
| 5. | Current Concept in Dental Prophylaxis and Implant Maintenance | 2015 |
| 6. | SEAADE – IADR South-East Asia Division | 2015 |
| 7. | The 4 th Indonesian Symposium of Implant Dentistry | 2015 |
| 8. | Biomolecular Laboratory Training for Basic and Clinical Research in Dentistry. Modul 1: Principal of Molecular Biology | 2018 |
| 9. | Biomolecular Laboratory Training for Basic and Clinical Research in Dentistry. Modul 2: Molecular Biology Techniques I | 2018 |
| 10. | Biomolecular Laboratory Training for Basic and Clinical Research in Dentistry. Modul 2: Molecular Biology Techniques II | 2018 |
| 11. | Workshop Bioinformatika Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah | 2018 |
| 12. | National Scientific Seminar in Periodontics | 2018 |
| 13. | Forum Ilmiah (FORIL) XII FKG Usakti | 2018 |
| 14. | Course and Workshop on Applied Good Clinical Practice (GCP) | 2019 |
| 15. | Mass Spectrometry and Proteomics Workshop | 2019 |
| 16. | Forum Kursus (FOKUS) FKG Usakti | 2019 |
| 17. | 2 nd Annual Oral Biology Scientific Meeting: “COVID-19: Peluang Riset dalam Keterbatasan Mendapatkan akses Sampel Klinis” | 2020 |
| 18. | Stovit Online Series 5 FKG Unair | 2020 |
| 19. | Stovit Online Series FKG Unair – FKG Unhas | 2021 |

PUBLIKASI

| No. | Judul | Publikasi |
|-----|---|--|
| 1. | <i>Brucea javanica</i> Leaf Extract Activates Caspase-9 and Caspase-3 of Mitochondrial Apoptotic Pathway in Human Oral Squamous Cell Carcinoma. | The Indonesian Biomedical Journal. 2016; 8(1): 43-8. |
| 2. | Level of salivary uric acid in gingivitis and periodontitis patients. | Scientific Dental Journal. 2017; 1:7-10. |
| 3. | Profil Protein pada Periodontitis Agresif | Prosiding NASSIP 5. 2018. 506-15. |
| 4. | Proteomics Approach for Biomarkers and Diagnosis of Periodontitis: Systematic Review | Heliyon. 2020;6(6). e04022 |
| 5. | COVID-19 Awareness Among Dental Professionals in Indonesia | Frontiers in Medicine. 2020 7:589759 |

PENGABDIAN MASYARAKAT

| Kegiatan | Tahun |
|--|--------------|
| Bakti Sosial Bulan Kesehatan Gigi Nasional RSGM FKG Usakti bekerjasama dengan PT Unilever Indonesia | 2010-2014 |
| Pengabdian Kepada Masyarakat dalam bentuk Pengobatan Gigi Gratis bagi Masyarakat sekitar Kampus dalam rangka Dies Natalis Usakti | 2013 |
| Seminar Awam Edukasi Kesehatan RS Mitra Keluarga | 2014 |
| Pemberian Edukasi kepada Masyarakat tentang Bahaya COVID-19 dan Pentingnya Social Distancing | 2020 |
| Kesehatan Gigi dan Mulut di Masa Pandemi | 2020 |
| Penyuluhan dan Pelatihan Menjaga Kesehatan Diri Pada Masa Pandemi Covid 19 bagi Komunitas Mimic Theater Jakarta Pusat | 2021 |

PENGHARGAAN

| Kegiatan | Tahun |
|---|--------------|
| Juara 2 presentasi poster MDA/FDI Kuala Lumpur, Malaysia | 2011 |
| Indonesia's Young Research Investigators Awards. IADR SEA - Division Annual Meeting Singapura | 2011 |
| Indonesia's Young Research Investigators Awards. IADR SEA - Division Annual Meeting Taiwan | 2017 |
| Juara 3 Literature Review 5th National Scientific Seminar in Periodontics Medan | 2018 |