

# BAB 5

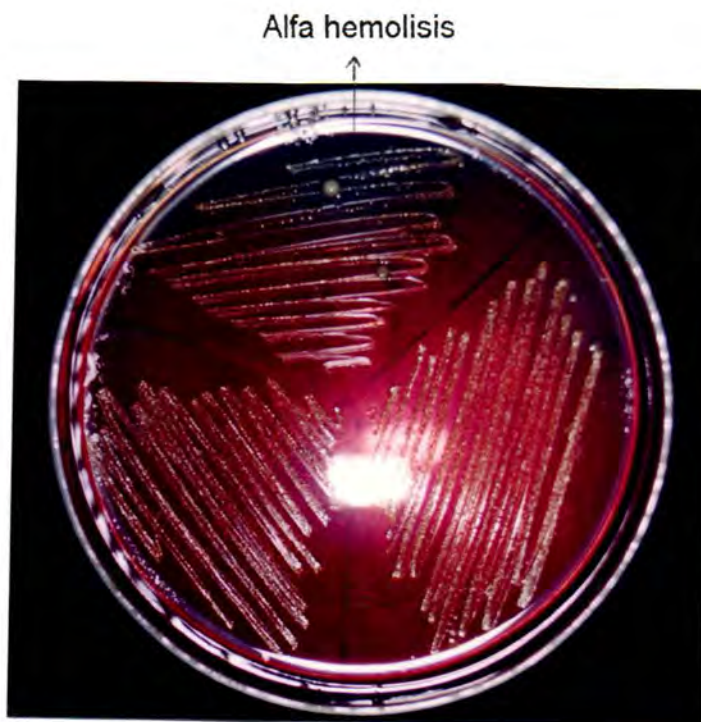
## BAB 5

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

## 5.1. Hasil penelitian

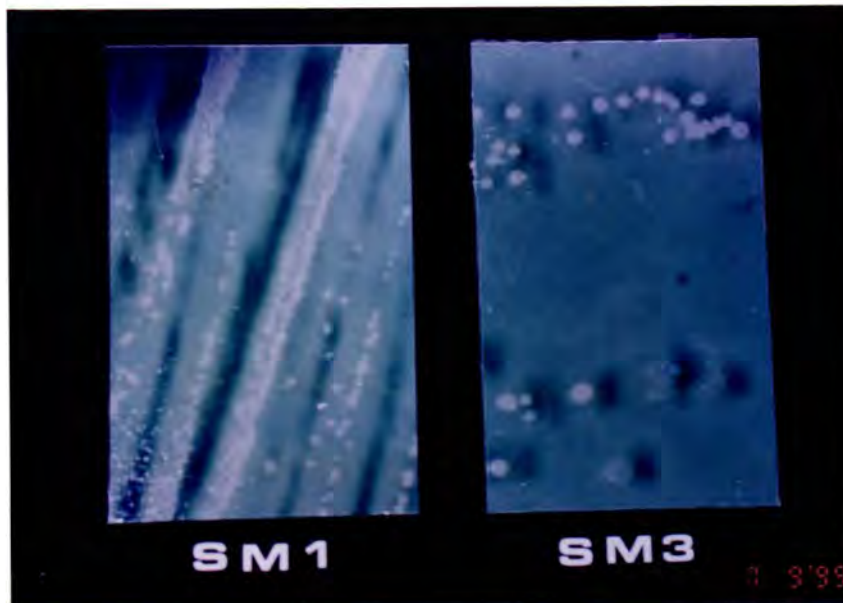
5.1.1. Hasil isolasi *Streptococcus mutans*

Hasil isolasi *S. mutans* pada media agar darah, membentuk hemolisis alfa (gambar 5.1). Pada media padat selektif TYC, berupa koloni dengan diameter kurang lebih 1 mm, berwarna putih jernih, permukaan agak kasar, konsistensi agak keras, tepi rata, melekat pada media (gambar 5.2)



Gambar 5.1 : Alfa hemolisis koloni *S. mutans* pada media agar darah.



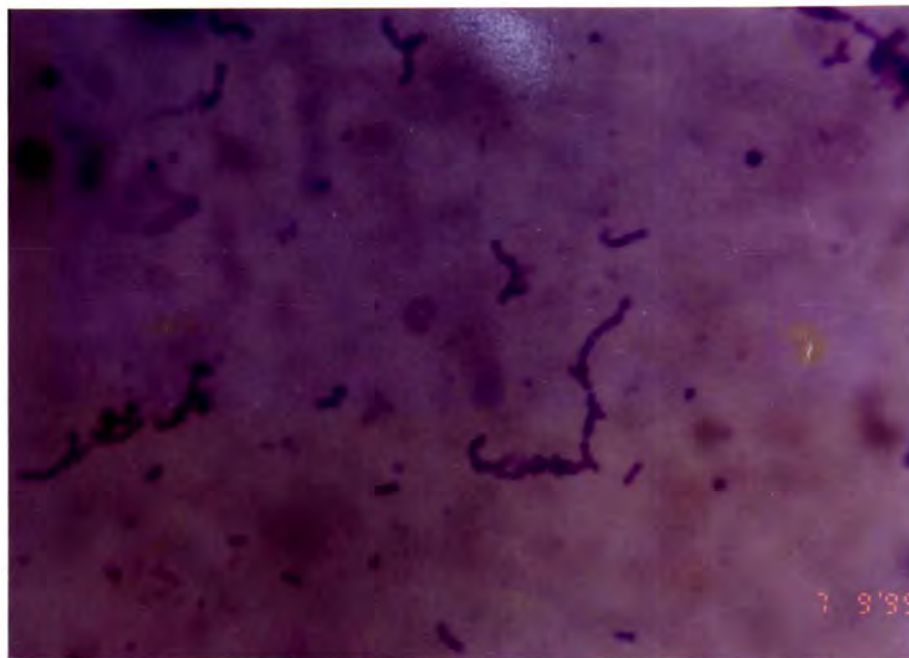


Gambar 5.2 : Koloni *S.mutans* pada media padat TYC  
A = koloni S.m1  
B = koloni S.m3

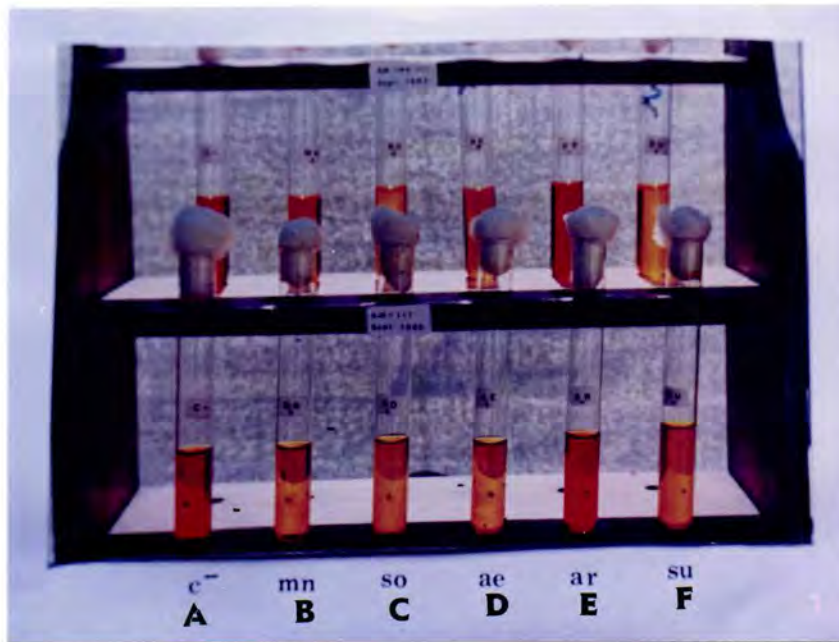
Gambaran secara mikroskopik dengan pengecatan Gram, berupa kuman Gram positif, dengan rantai panjang. Dengan demikian secara morfologis, bentuk koloni maupun mikroskopis, sesuai dengan ciri-ciri *Streptococcus alfa hemolytic* (gambar 5.3).

Hasil tes biokimia terhadap media gula-gula, menunjukkan reaksi fermentasi bila terjadi perubahan warna dari indikator merah menjadi kuning. *Streptococcus* yang diisolasi dalam penelitian ini mengadakan reaksi fermentasi terhadap manitol, sorbitol, sukrosa, maltosa, laktosa dan aesculin, serta tidak mengadakan hidrolisis terhadap arginin (gambar 5.4). Dengan demikian

maka *Streptococcus alfa hemolytic* yang diisolasi dari sampel plak anak-anak TK di kotamadya Surabaya dalam penelitian ini adalah *Streptococcus mutans*.



Gambar 5.3 : Gambaran mikroskopik *Streptococcus alfa Hemolytic* dengan pengecatan Gram, pembesaran 1000x.



Gambar 5.4: Hasil tes biokimia *S. mutans* pada media gula-gula.  
(Slot and Taubman, 1992)

Keterangan :

A= - media steril (kontrol negatif)

B= + Manitol (fermentasi, menghasilkan asam, warna kuning)

C= + Sorbitol (fermentasi, menghasilkan asam, warna kuning)

D= - Aesculin (terjadi hidrolisis, warna kuning)

E= + Arginin (tidak terjadi hidrolisis, warna merah)

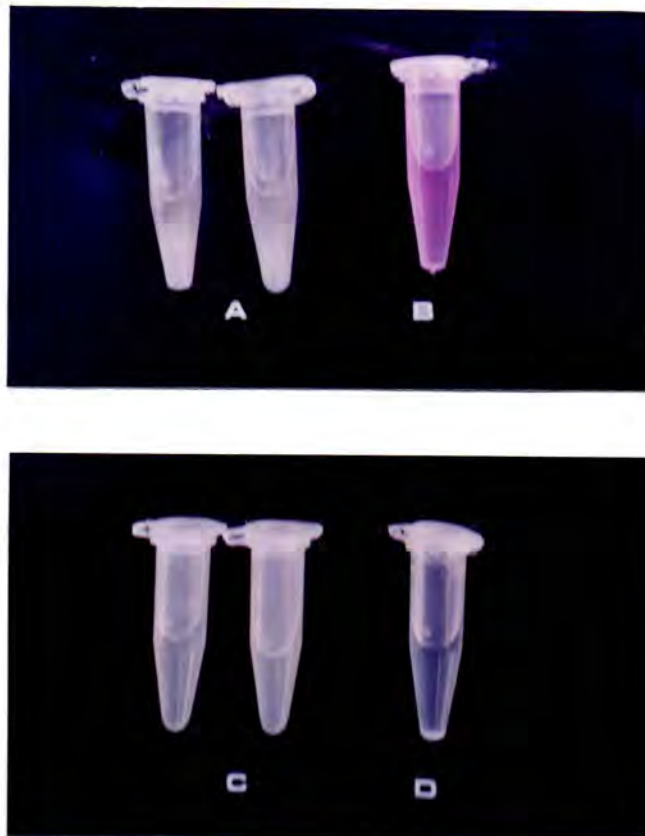
F= + Sukrosa (fermentasi, menghasilkan asam, warna kuning)

### 5.1.2. Hasil ekstraksi dan purifikasi antigen whole cell dan membran cell dari *S. mutans* serotipe c dan d

Pembuatan antigen whole cell dan membran cell dari *S. mutans* serotipe c (Ingbritt) dan d (Sobrinus) diperoleh setelah diinkubasikan dalam media BHI selama 18 jam (fase stasioner), diukur dengan spektrofotometer pada panjang

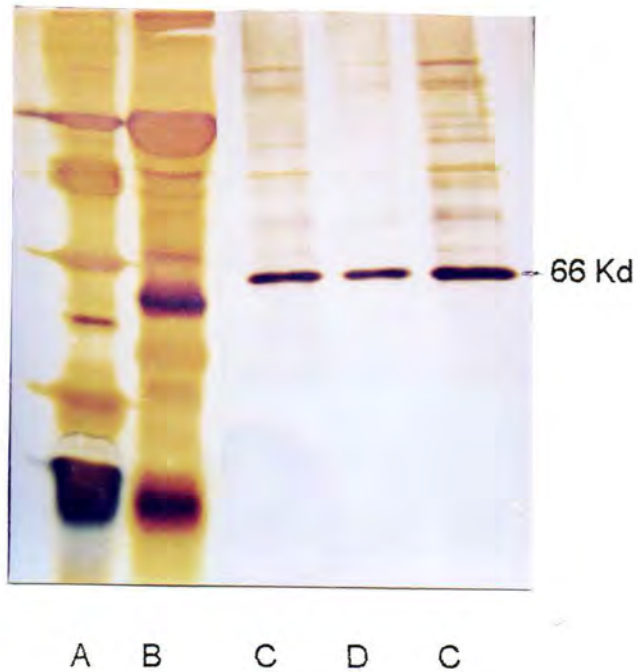
gelombang 550 nm, menunjukkan densitas optik 1, sesuai dengan  $3 \times 10^8$  bakteri/ml.

Setelah selesai pembuatan ekstrak antigen sesuai prosedur cara kerja, dilakukan pengukuran konsentrasi protein dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm, hal ini untuk menetapkan dosis yang tepat guna imunisasi pada hewan coba dan uji serologi (gambar 5.5). Estimasi protein dengan SDS-PAGE (gambar 5.6, 5.7.).



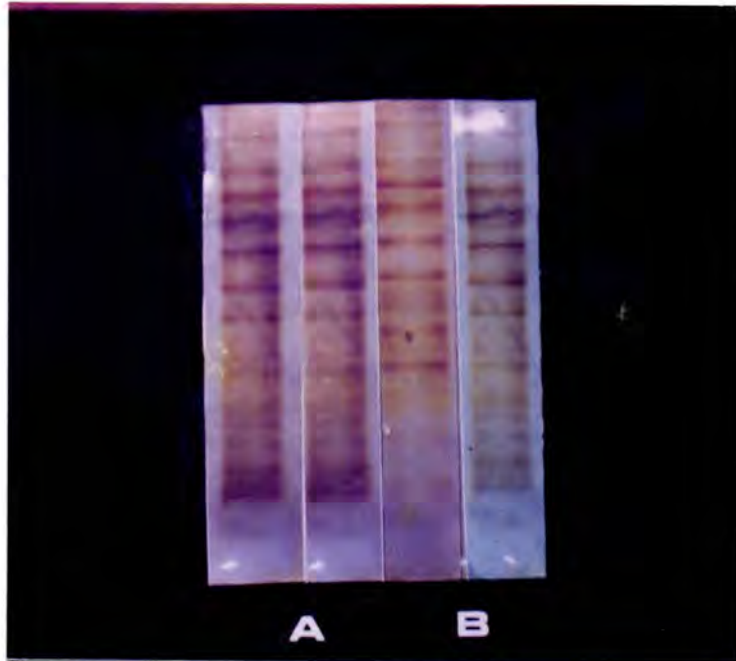
Gambar 5.5 : Ekstrak antigen

- A= ekstrak antigen *S.mutans* serotipe c dan d, whole cell
- B= ekstrak antigen *S.mutans* sampel, whole cell
- C= ekstrak antigen *S.mutans* serotipe c dan d, membran cell
- D= ekstrak antigen *S.mutans* sampel, membran cell



Gambar 5.6 : Hasil SDS-PAGE dengan pengecatan silver stain terlihat fraksi protein untuk imunisasi :

- A. whole cell *S. mutans* serotipe c
- B. whole cell *S. mutans* serotipe d
- C. membran cell *S. mutans* serotipe c
- D. membran cell *S. mutans* serotipe d



Gambar 5.7: Hasil SDS-PAGE dengan pengecatan silver stain terlihat fraksi-fraksi protein untuk serologi :

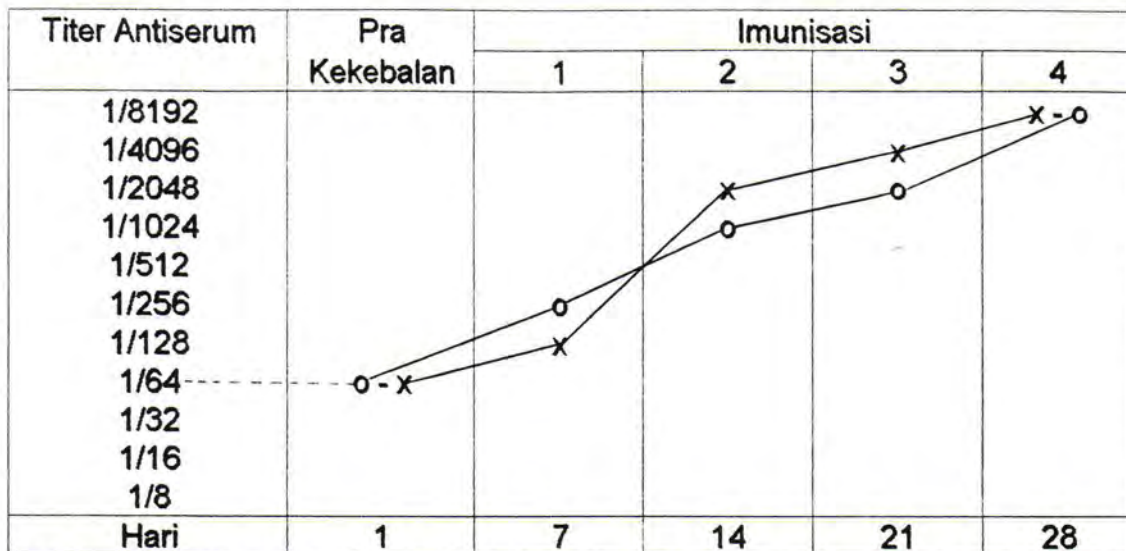
- A. Whole cell *S.mutans* sampei
- B. Membran cell *S.mutans* sampel

### 5.1.3 Hasil titer antibodi pada hewan coba kelinci

Dari 8 hewan coba kelinci New Zealand setelah dilakukan imunisasi dengan antigen whole cell atau membran cell dari *S.mutans* serotipe c dan d didapatkan titer antibodi sebagai berikut :

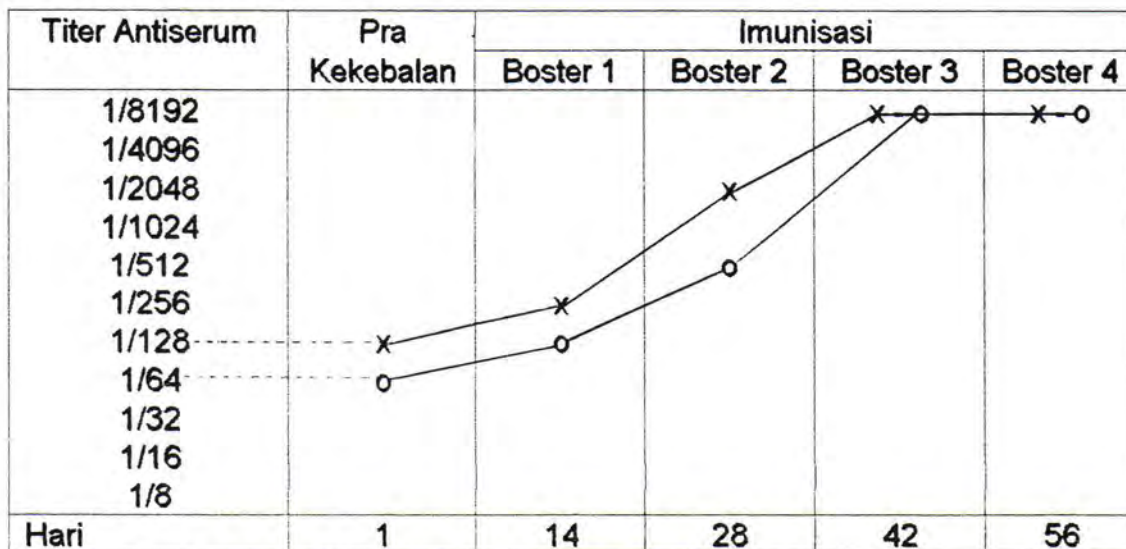


Tabel 5.1 Produksi antibodi poliklonal dari antigen whole cell *S.mutans* serotipe c dan d



Keterangan : o = titer antibodi serotipe c  
 x = titer antibodi serotipe d

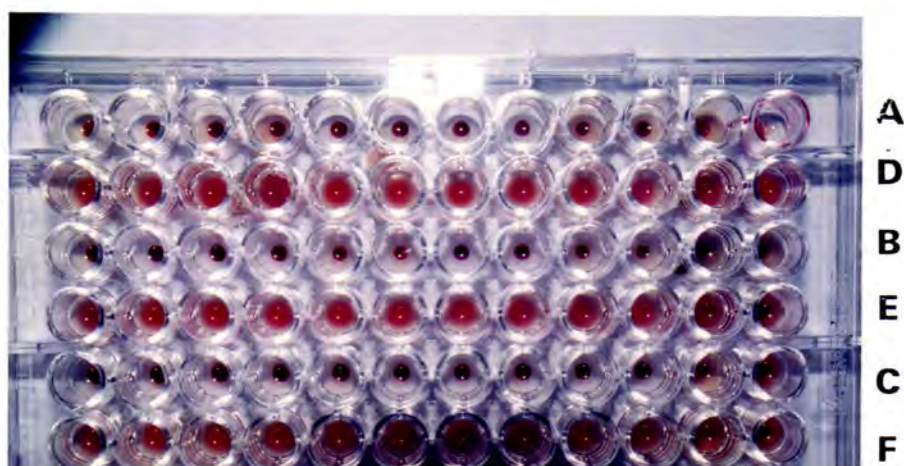
Tabel 5.2 Produksi antibodi poliklonal dari antigen membran cell *S.mutans* serotipe c dan d



Keterangan : o = titer antibodi serotipe c  
 x = titer antibodi serotipe d

#### 5.1.4 Hasil uji serologi

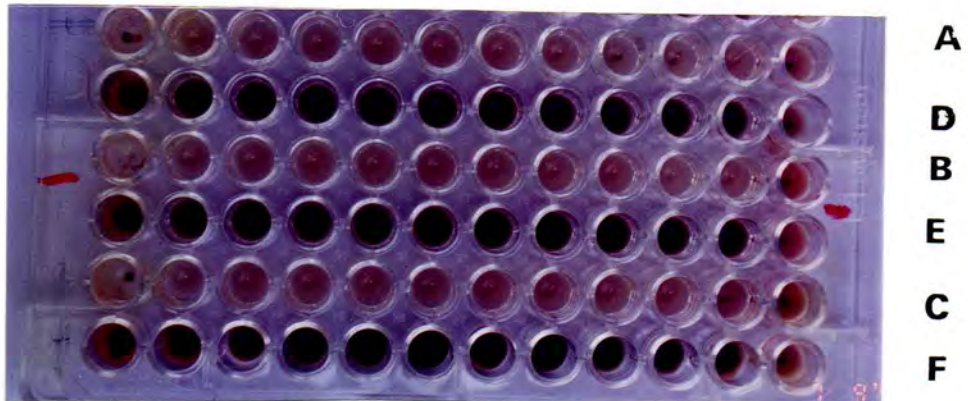
Dari 80 sampel setelah dilakukan uji serologi *reverse passive hemagglutination assay* (gambar 5.8, 5.9) dan 40 sampel diulang dengan uji imunodifusi ganda (contoh gambar 5.9), memberikan hasil positif *S.mutans* strain Indonesia yang diambil dari plak gigi karies dari sampel anak-anak TK di-kotamadya surabaya, adalah serotipe c sebanyak 100%



Gambar 5.8 : Hasil uji serologi dengan antibodi poliklonal *S.mutans* serotipe c metode RPHA

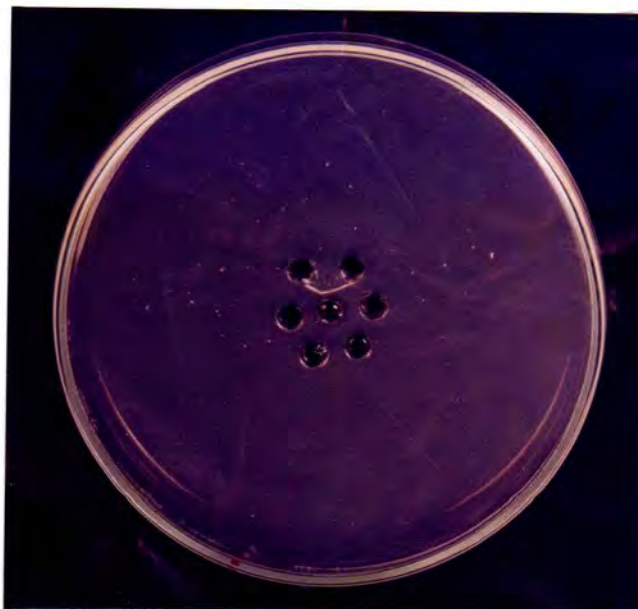
A, B, C = Hasil aglutinasi, membentuk endapan sel yang menutupi sebagian dasar sumur (3+)

D, E, F = Kontrol negatif.

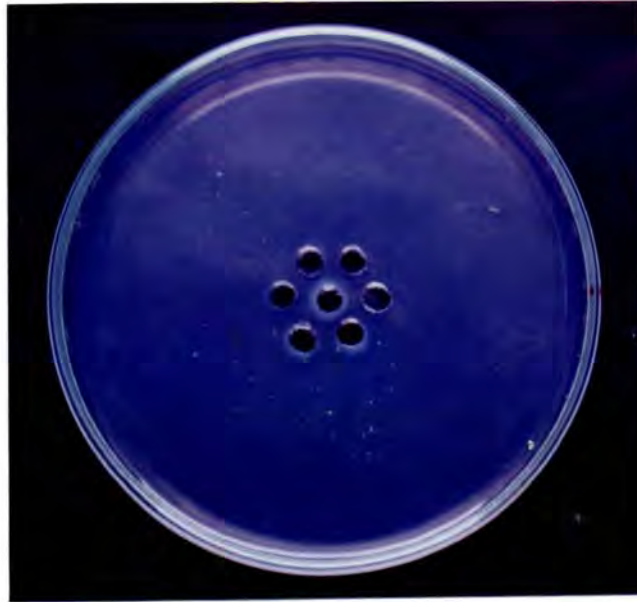


Gambar 5.9 : Hasil uji serologi dengan antibodi poliklonal *S.mutans* serotipe d metode RPHA

A, B, C= Tidak terjadi aglutinasi (non reaktif)  
D, E, F= Kontrol negatif



Gambar 5.10 : Hasil uji serologi dari antigen sampel dan antibodi poliklonal *S.mutans* serotipe c metode IMG. Garis presipitasi antara anti bodi (ditengah) dan antigen pada penipisan 1/2 dan 1/4.



Gambar 5.11 : Hasil uji serologi dari antigen sampel dengan antibodi poliklonal *S.mutans* serotipe d metode IMG. Tampak tidak terdapat garis partisipasi antara antibodi (ditengah) dengan antigen yang telah dipisahkan  $\frac{1}{2}$  sampai dengan  $\frac{1}{64}$  dalam sumuran dipinggir.

Tabel 5.3 : Hasil uji serologi

Sex	Jumlah Koloni <i>S.mutans</i> dalam $10^4$		Tes RPHA	
	Sm.1	Sm.3	c (+)	d (+)
L	1438	1824	63.75%	0%
P	567	1079	36.25%	0%
Total	2005	2903	100%	0%

Keterangan :

L = Laki-laki

P = Perempuan

S.m.1 dan S.m3 = Jumlah koloni dalam satu plate x penipisan  $10^4$

Hasil tabel 5.3.

Jumlah <i>S.mutans</i> 1 anak laki-laki	= 1438	$\rightarrow \bar{x} = 46,39$
Jumlah <i>S.mutans</i> 3 anak laki-laki	= 1824	$\rightarrow \bar{x} = 46,77$
Jumlah <i>S.mutans</i> 1 anak perempuan	= 567	$\rightarrow \bar{x} = 43,62$
Jumlah <i>S.mutans</i> 3 anak perempuan	= 1079	$\rightarrow \bar{x} = 46,91$
Jumlah <i>S.mutans</i> 1 laki dan perempuan	= 2005	$\rightarrow \bar{x} = 45,57$
jumlah <i>S.mutans</i> 3 laki dan perempuan	= 2902	$\rightarrow \bar{x} = 46,81$

**Tabel 5.4 : Data klinis OHI, def dan jumlah koloni *S.mutans***

No	Jumlah Koloni <i>S.Mutans</i>	OHI			def			
		Plak +	Cal	=	D	e	f	=
1	131	2.67	0	2.67	2	1	0	3
2	61	2	0	2	2	8	0	10
3	40	2	0	2	2	1	0	3
4	49	2	0	2	5	7	0	12
5	57	2	0	2	6	8	0	14
6	58	2	0	2	2	9	0	11
7	44	2	0	2	2	1	0	3
8	46	2	0	2	2	8	0	10
9	45	1.67	0	1.67	2	4	0	6
10	68	2	0	2	4	6	0	10
11	131	2.33	0	2.33	5	15	0	20
12	52	2.67	0	2.67	2	4	0	6
13	147	2.67	0	2.67	2	7	0	9
14	52	2.67	0	2.67	3	10	0	13
15	98	1.67	0	1.67	2	4	0	6
16	43	1.5	0	1.5	4	7	0	11
17	57	1.67	0	1.67	0	16	0	16
18	40	2	0	2	1	4	0	5
19	32	1.5	0	1.5	2	9	0	11
20	66	2	0	2	1	10	0	11
21	36	1.67	0	1.67	1	10	0	11
22	34	1.5	0	1.5	3	9	0	12
23	105	2	0	2	2	13	0	15
24	54	1.33	0	1.33	2	4	0	6
25	32	1.5	0	1.5	2	6	0	8
26	79	2.17	0	2.17	2	7	0	9
27	88	2	0	2	2	7	0	9
28	40	1.5	0	1.5	1	2	0	3
29	106	2	0	2	2	6	0	8
30	50	1.5	0	1.5	2	10	0	12
31	46	1.5	0	1.5	1	19	0	20
32	139	2	0	2	11	2	0	13
33	37	1.5	0	1.5	4	11	0	15
34	50	1.5	0	1.5	1	2	0	3

Tabel 5.4 (Lanjutan) : Data klinis OHI, def dan jumlah koloni *S.mutans*

No	Jumlah Koloni <i>S.Mutans</i>	OHI			def			=
		Plak +	Cal	=	d	e	f	
35	104	1.67	0	1.67	4	12	0	16
36	75	1.67	0	1.67	4	6	0	10
37	44	1.5	0	1.5	0	6	0	6
38	104	2	0	2	5	4	0	9
39	49	1.5	0	1.5	1	2	0	3
40	42	1.5	0	1.5	0	11	0	11
41	74	1.5	0	1.5	0	20	0	20
42	49	1.5	0	1.5	1	9	0	10
43	32	1.5	0	1.5	1	2	0	3
44	71	1.5	0	1.5	0	3	0	3
45	32	1.5	0	1.5	3	1	0	4
46	46	1.5	0	1.5	2	7	0	9
47	91	1.5	0	1.5	0	8	0	8
48	43	1.5	0	1.5	3	11	0	11
49	46	1.5	0	1.5	0	8	0	8
50	42	1.5	0	1.5	0	12	0	12
51	102	1.5	0	1.5	1	3	0	4
52	40	1.5	0	1.5	1	2	0	3
53	42	1.5	0	1.5	0	7	0	7
54	79	1.5	0	1.5	2	7	0	9
55	34	1.5	0	1.5	13	0	0	13
56	73	1.67	0	1.67	1	10	0	11
57	37	1.67	0	1.67	4	7	0	11
58	83	1.5	0	1.5	3	8	0	11
59	34	1.5	0	1.5	2	2	0	4
60	44	1.5	0	1.5	3	1	0	4
61	39	1.5	0	1.5	6	9	0	15
62	63	1.5	0	1.5	6	5	0	11
63	31	1.5	0	1.5	5	4	0	9
64	42	1.67	0	1.67	6	2	0	8
65	66	1.5	0	1.5	2	3	0	5
66	63	1.5	0	1.5	2	7	0	9
67	116	2	0	2	8	5	0	13
68	141	2	0	2	1	17	0	18
69	71	2	0	2	1	11	0	12
70	34	1.5	0	1.5	1	8	0	9
71	32	1.5	0	1.5	2	12	0	14
72	36	1.67	0	1.67	1	9	0	10
73	41	1.67	0	1.67	3	5	0	8
74	89	1.5	0	1.5	2	6	0	8
75	32	1.67	0	1.67	1	4	0	5
76	65	1.5	0	1.5	4	4	0	8
77	37	1.5	0	1.5	2	3	0	5
78	84	1.5	0	1.5	2	9	0	11
79	129	1.67	0	1.67	3	7	0	10
80	45	2	0	2	4	3	0	7

Keterangan :

Jumlah koloni : Adalah jumlah dalam satu plate TYC setelah penipisan 1/10.000

cal = 0 : Jumlah skor CIS dibagi 6 = 0 (tidak ada kalkulus atau stain)

f = 0 : Jumlah gigi yang sudah ditumpat tidak ada

Hasil tabel 5.4 :

Jumlah koloni <i>S.mutans</i>	: 4907
Rata-rata koloni <i>S.mutans</i>	: 61,34
Jumlah OHI	: 137,72
Rata-rata OHI	: 1,72
Jumlah def	: 749
Rata-rata def	: 9,36
Jumlah d (decayed)	: 203
Rata-rata d (decayed)	: 2,54

Oleh karena distribusinya tidak normal, maka analisis data memakai *Spearman correlation coefficients* dengan hasil sebagai berikut :

1. Hubungan jumlah *S.mutan* dengan indeks karies (def)  
 $p = 0,369$ , kuat hubungan = 0,1017  
 $p > 0,05$  maka tidak menunjukkan hubungan yang bermakna
2. Hubungan jumlah koloni *S.mutans* dengan d (decayed)  
 $p = 0,511$ , kuat hubungan = 0,746  
 $p > 0,05$ , maka tidak menunjukkan hubungan yang bermakna
3. Hubungan indeks kebersihan mulut (OHI) dengan indeks karies (def)  
 $p = 0,169$ , kuat hubungan = 0,1552  
 $p > 0,05$  maka tidak menunjukkan hubungan yang bermakna

4. Hubungan jumlah *S.mutans* dengan indeks kebersihan mulut  $p = 0,000$ , kuat hubungan = 0,3830  
 $p < 0,05$  maka menunjukkan hubungan yang bermakna antara jumlah *S.mutans* dengan indeks kebersihan mulut (OHI).

## 5.2. Analisis hasil penelitian

Dari hasil uji serologi dengan metode Reverse Passive Hemagglutination Assay pada tabel 5.3, 100% dari 80 sampel yang terdiri dari 51 laki-laki dan 29 perempuan, semuanya menunjukkan serotipe c. Rata-rata jumlah *S.mutans* 3 (*S.m.3*) untuk murid laki-laki, perempuan maupun bila digabung laki-laki dan perempuan, selalu lebih besar dari pada jumlah *S.mutans* 1 (*S.m.1*)

Tabel 5.4, tidak terdapat korelasi antara jumlah koloni *S.mutans*, indeks kebersihan mulut (OHI) maupun indeks karies gigi (def), dengan macam serotipe *S.mutans*. Tetapi jumlah koloni *S.mutans*, menunjukkan hubungan yang bermakna dengan indeks kebersihan mulut, pada anak-anak TK di Surabaya.

Jumlah koloni *S.mutans* adalah 4907, sehingga rata-ratanya adalah 61,34. Jumlah OHI = 137,72, rata-rata = 1,72 (termasuk katagori sedang). Jumlah d= 203, rata-rata = 2,54 dan jumlah e = 546, dengan rata-rata 6,83. Jumlah f = 0. Sedangkan total jumlah def = 749, sehingga rata-rata = 9,36 (termasuk katagori sangat tinggi).



Penggunaan metode RPHA dibandingkan dengan IMG, RPHA lebih efisien dari segi waktu, biaya dan metode relatif lebih mudah dari pada metode IMG. Tetapi uji IMG mempunyai kelebihan, karena dapat dipakai untuk menetapkan antigen atau antibodi secara kualitatif atau semikwantitatif, yaitu dengan melakukan beberapa pengenceran dan melaporkan pengenceran tertinggi yang masih dapat membentuk presipitasi. Uji IMG juga dapat dipakai untuk mengetahui adanya reaksi silang.