

- DENTAL CARES
ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga
STRAIN S. MUTANS ANTARA IBU DAN ANAK BALITA

ku /
TK 6.11.05
Set
5

TESIS

STRAIN S. *MUTANS* ANTARA IBU DAN ANAK BALITA
MELALUI ANALISA RESTRIKSI ENDONUKLEASE



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

DYAH SETYORINI

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

2005

**STRAIN *S. MUTANS* ANTARA IBU DAN ANAK BALITA
MELALUI ANALISA RESTRIKSI ENDONUKLEASE**

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Gigi
Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

**MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

DYAH SETYORINI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2005

Lembar Pengesahan

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 18 JULI 2005**

Oleh

Pembimbing Ketua

Seno Pradopo, drg., S.U., Ph.D., Sp. KGA
130 687 387

Pembimbing

Udijanto Tediosasonzko, drg., Ph.D., Sp.KGA
132 061 808

Mengetahui
Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Gigi
Program Pascasarjana
Universitas Airlangga

Dr. Prijedani Widodo, drg., MS., Sp.KG
NIP. 130 368 691

**Telah diuji pada
Tanggal 18 Juli 2005**

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. Anita Yuliati, drg., M.Kes

**Anggota : 1. Seno Pradopo, drg, S.U., Ph.D., Sp.KGA
2. Udijanto Tedjosasongko, drg, ph.D., Sp.KGA
3. Markus Budi Raharjo, drg, M.Kes
4. Dr. Darmawan S., drg., M.Kes.**

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadiran Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Pemerintah Republik Indonesia, dalam hal ini Menteri Pendidikan Nasional Republik Indonesia yang telah memberikan dana pendidikan melalui BPPS selama lima semester.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Rektor Universitas Airlangga, Prof. DR. Med. Dr. Puruhito atas kesempatan yang diberikan kepada saya mengikuti Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga dijabat oleh Prof. Dr. H. M. Amin, dr, atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Gigi Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Dr. Trijoedani Widodo, drg, M.S, Sp.KG, atas pengarahan dan petunjuk yang diberikan sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan Program Magister.

Rektor Universitas Jember, Prof. Dr. T. Soetikto, Ir, M.Sc dan mantan Rektor Universitas Jember, Prof. Dr. H. Kabul Santoso, M.S, atas ijin yang diberikan kepada saya untuk mengikuti Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Zahreni Hamzah, drg, MS dan mantan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, H. Bob Soebijantoro, drg, MSc, SpProst., atas ijin yang diberikan kepada saya untuk mengikuti Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Kepala Bagian Pedodontia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Sulistiyani, drg, M.Kes, beserta staf yang telah banyak memberikan dorongan serta bantuan selama saya mengikuti pendidikan Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Seno Pradopo, drg, S.U., Ph.D., Sp.KGA, sebagai pembimbing ketua dan guru saya yang telah menyisihkan waktu untuk membimbing, mengarahkan dan melakukan perbaikan atas tesis ini hingga selesai dengan penuh perhatian dan kesabaran.

Udijanto Tedjosongko, drg, Ph.D., Sp.KGA, sebagai pembimbing yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan saran-saran yang sangat berharga.

Dr. Darmawan S, drg, M.Kes, dari Bagian Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, atas bantuan dalam melakukan analisa hingga penelitian saya selesai.

Dr. dr. Edi Bagus Wasito, M.S, Sp.MK, selaku penanggungjawab Laboratorium Gastroenteritis Tropical Disease Center Universitas Airlangga yang banyak membantu memberikan fasilitas untuk penelitian.

Wahyu, selaku analis Laboratorium Gastroenteritis Tropical Disease Center Universitas Airlangga yang banyak membantu dalam pengerjaan penelitian.

Dr. Retno Pudji, drg, M.S., atas bantuan konsultasi dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis.

Dr. Aulani'am, drh, selaku penanggungjawab Laboratorium MIPA Biomolekuler Universitas Brawijaya yang banyak membantu fasilitas penelitian.

Mbak Levi dan Mbak Aida, selaku analis Laboratorium MIPA Biomolekuler Universitas Brawijaya yang banyak membantu dalam pengerjaan penelitian.

Para dosen penguji yaitu Seno Pradopo, drg, S.U., Ph.D., Sp.KGA, Udijanto Tedjosongko, drg, Ph.D., Sp.KGA, Dr. Darmawan Setijanto, drg, M.Kes, Markus Budi Raharjo, drg, M.Kes, Dr. Anita, drg, M.Kes, yang telah banyak memberikan masukan dalam ujian proposal.

Rekan peserta didik di Program Studi Ilmu Kesehatan Gigi angkatan 2002, Supriyadi, drg, M.Kes, Budi Yuwono, drg, M.Kes, Christian, drg, M.Kes, Galih Sampurna, drg, M.Kes, Hendrik, drg, M.Kes, Elly Rusdiana, drg, M.Kes, atas kerjasama yang baik selama dalam pendidikan.

Suami saya tercinta, Suko Hadiwiyono, A.Md., yang sabar mendampingi saya dan mendengar semua keluh kesah saya serta memberi dorongan semangat ketika saya mendapat kesulitan.

Ketiga anak saya tercinta, Zalza Lola Rinanda, Vito Rahmaditya, Ayesha Verna Paramesthi yang telah memberikan motivasi dan semangat selama

menempuh pendidikan magister ini. Semoga kelak kalian bertiga diberikan kesempatan oleh Allah SWT untuk mendapatkan pendidikan, pekerjaan dan menjadi manusia berguna bagi nusa dan bangsa.

Orang tua saya, Prof. Ir. Rijanto dan Soesetijati, BA, yang selalu memberikan doa dan restu hingga saya dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis ini.

Mertua saya Martodikromo (alm) dan Sumining yang memberikan doa dan restu.

Adik-adik saya tersayang Kel. Ir. H. Edi Ariawan, Kel. Ir. Yudhie Setyanto, Kel. Ir. Prasetyo Wahyudi, Kel. dr. Raharto Setyaputra atas dorongan dan dukungan serta doa sehingga tesis ini dapat terselesaikan.

Semua pihak dan para sejawat yang telah memberikan bantuan selama saya mengikuti pendidikan Pascasarjana.

Surabaya, Juni 2005

Penulis

RINGKASAN**STRAIN *S. MUTANS* ANTARA IBU DAN ANAK BALITA
MELALUI ANALISA RESTRIKSI ENDONUKLEASE****Dyah Setyorini**

Streptococcus mutans (*S. mutans*) merupakan bakteri utama yang menyebabkan karies gigi. *S. mutans* berkolonisasi dalam rongga mulut setelah erupsi gigi. Bakteri ini dapat menular melalui saliva. Ibu merupakan sumber utama penularan *S. mutans* pada anaknya. Hal ini didasarkan pada kesamaan strain *S. mutans* antara ibu dan anak. Penelitian tersebut lebih difokuskan pada lingkungan keluarga. Metode yang digunakan adalah dengan pemeriksaan *fingerprint* pemotongan kromosom DNA dengan enzim endonuklease restriksi EcoRI dengan marker Hind III dan marker MBI Fermentas. Metode ini dilaporkan sebagai cara yang efektif untuk menganalisa transmisi *S. mutans*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kesamaan strain *S. mutans* antara ibu dan anak. Penelitian ini adalah penelitian observasional. Sampel penelitian sebanyak 10 pasang yang terdiri dari ibu dan anak balita TK Al Hidayah Kecamatan Jambangan di Surabaya. Metode penelitian ini meliputi isolasi kuman, persiapan DNA kromosom serta pemotongan DNA dan elektroforesis. Analisa data dilakukan dengan membandingkan pola band pada ibu dan anak balita.

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa tidak ada kesamaan strain antara ibu dan anak. Hal ini menunjukkan bahwa transmisi *S. mutans* bisa berasal dari dalam keluarga kemungkinan dari ayah atau selain orang tuanya, mereka dapat memperoleh transmisi dari orang lain. Dengan mengetahui sumber infeksi *S. mutans* maka usaha untuk mencegah atau menunda transmisi *S. mutans* selama mungkin dapat dilakukan, sehingga akan dapat menurunkan resiko terjadinya karies pada anak-anak. Keadaan rongga mulut anak dan lingkungan anak dibesarkan juga turut berperan pada transmisi *S. mutans*.

SUMMARY

STRAIN OF *S. MUTANS* BETWEEN MOTHER AND CHILDREN UNDER FIVE YEARS OLD USING RESTRICTION ENDONUCLEASE ANALYSIS

Dyah Setyorini

Mutans streptococci (*S. mutans*) is the main bacterium causing dental caries. It is well known that *S. mutans* can colonizes in the oral cavity after the eruption of primary teeth. This bacteria is able to spread through saliva. Mother is the major carrier of *S. mutans* to her child. It is based on the similarity of *S. mutans* strain between mothers and children. Such study is more focused on the family environment. The method used is through the fingerprint examination of digesting chromosomal DNA with restriction endonuclease enzyme of EcoRI, using marker of Hae III and MBI Fermentas. This method was reported as the most effective way to analyze *S. mutans* transmission.

The objective of the study was to examine the similarity of mutans streptococci between mothers and children. An observational study has been carried out. The sample of the study were 10 pairs of mothers and children under five years old of Al Hidayah kindergarten in Surabaya. The method of the study included isolation of strain, the preparation of chromosomal DNA, digestion and electrophoresis. Data was analyzed by comparing band between mothers and children under five years old.

The result of the study concluded that there was no similarity of *S. mutans* strain between mothers and children. It showed that transmission of *S. mutans* could derive from father and other people. By knowing the source of *S. mutans* infection, it could help the effort to prevent or delay the transmission of *S. mutans*. If so, it would reduce the risk of caries at children. The condition of children's oral cavity and children environment also contributed to the acceleration of *S. mutans* transmission.

ABSTRACT

STRAIN OF *S. MUTANS* BETWEEN MOTHER AND CHILDREN UNDER FIVE YEARS OLD USING RESTRICTION ENDONUCLEASE ANALYSIS

Dyah Setyorini

The objective of the study was to examine the similarity of mutans streptococci between mothers and children. An observational study has been carried out. The sample of the study were 10 pairs of mothers and children under five years old of Al Hidayah kindergarten in Surabaya. The method of the study included isolation of strain, the preparation of chromosomal DNA, digestion and electrophoresis. Data was analyzed by comparing band between mothers and children under five years old. The result of the study concluded that there was no similarity of *S. mutans* strain between mothers and children. It showed that transmission of *S. mutans* could derive from father and other people. By knowing the source of *S. mutans* infection, it could help the effort to prevent or delay the transmission of *S. mutans*. If so, it would reduce the risk of caries at children. The condition of children's oral cavity and children environment also contributed to the acceleration of *S. mutans* transmission.

Keywords : *S. mutans*, DNA fingerprint, transmission.

DAFTAR ISI

Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Halaman Pengesahan	iv
Penetapan Panitia Penguji	v
Ucapan Terima kasih	vi
Ringkasan	ix
Summary	x
Abstract	xi
Daftar Isi	xii
Daftar Gambar	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Teori Terjadinya Karies Gigi	6
2.2 <i>Streptococcus mutans</i>	7
2.3 Plak Gigi	9
2.4 Struktur Permukaan	10
2.5 Transmisi <i>S. mutans</i> dari Ibu ke Anak Balita	11
2.6 PFGE (<i>Pulse Field Gell Electrophoresis</i>)	13
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN	16
BAB 4 METODE PENELITIAN	19
4.1 Jenis Penelitian	19
4.2 Sampel	19
4.2.1 Populasi	19
4.3 Variabel Penelitian	19
4.4 Definisi Operasional Variabel	20
4.5 Lokasi Penelitian	20
4.6 Cara Kerja Penelitian	20
4.6.1 Isolasi Mikroorganisme <i>S. mutans</i>	20
4.6.1.1 Bahan	20
4.6.1.2 Alat	21
4.6.1.3 Cara Kerja	21
4.6.1.4 Skema Penelitian	22
4.6.2 Isolasi DNA	22
4.6.2.1 Bahan	22
4.6.2.2 Alat	22

4.6.2.3 Cara Kerja	23
4.6.2.4 Skema penelitian	24
4.6.3 Pemotongan DNA dan Elektroforesis	24
4.6.3.1 Bahan	24
4.6.3.2 Alat	25
4.6.3.3 Cara Kerja	25
4.6.3.4 Skema Penelitian	26
4.7 Analisa Data	26
4.8 Alur Penelitian	26
BAB 5 ANALISA HASIL PENELITIAN	28
BAB 6 PEMBAHASAN	32
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 5.1 :	Pemotongan kromosom DNA isolat <i>S. mutans</i> dengan enzim endonuklease restriksi <i>EcoRI</i> dari 2 pasang sampel, line 1 ibu (30) dan line 2 anak (10), line 3 ibu (23) dan line 4 anak (3). M1 (marker Hind III) dan M2 (marker MBI Fermentas)	28
Gambar 5.2 :	Pemotongan kromosom DNA isolat <i>S. mutans</i> dengan enzim endonuklease restriksi <i>EcoRI</i> dari 2 pasang sampel, line 1 anak (2) dan line 2 ibu (22), line 3 anak (16) dan line 4 ibu (36). M1 (marker Hind III) dan M2 (marker MBI Fermentas)	29
Gambar 5.3 :	Pemotongan kromosom DNA isolat <i>S. mutans</i> dengan enzim endonuklease restriksi <i>EcoRI</i> dari 1 pasang sampel, line 1 ibu (35) dan line 2 anak (15). M1 (marker Hind III) dan M2 (marker MBI Fermentas)	30
Gambar 5.4 :	Pemotongan kromosom DNA isolat <i>S. mutans</i> dengan enzim endonuklease restriksi <i>EcoRI</i> dari 1 pasang sampel, line 1 anak (8) dan line 2 ibu (28) M1 (marker Hind III) dan M2 (marker MBI Fermentas)	31

BAB 1

PENDAHULUAN



TESIS



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Karies gigi merupakan penyakit mulut terbanyak di dunia, baik di negara maju maupun di negara berkembang. Karies adalah kerusakan gigi yang bersifat progresif dan *irreversible* dari enamel, dentin, cementum oleh bekerjanya mikroorganisme pada permukaan gigi (Soerodjo, 1989). Penelitian yang dilakukan oleh Nuraini (1993) pada 505 anak di kotamadya Surabaya yang berumur 4-5 tahun yang diambil dari lima lokasi pemeriksaan yaitu : Surabaya Utara, Surabaya Selatan, Surabaya Pusat, Surabaya Timur dan Surabaya Barat, sekitar 92,1% menderita karies dengan rata-rata def-t 7,98 dan SD = 4,87. Angka ini termasuk dalam kategori sangat tinggi (WHO, 1990).

Karies gigi adalah penyakit yang multifaktorial, sehingga untuk terjadinya karies gigi harus ada faktor-faktor yaitu permukaan gigi itu sendiri, substrat, mikroorganisme dan waktu. Apabila salah satu dari faktor tersebut tidak ada, maka tidak akan terjadi karies. Karies gigi merupakan proses demineralisasi dan desintegrasi secara terus menerus terhadap jaringan gigi yang mengalami dekalsifikasi dan terjadi akibat mikroorganisme yang menempel pada permukaan gigi (Kock, 1991).

Secara normal dalam rongga mulut didapatkan koloni berbagai macam mikroorganisme, tetapi yang paling berperan di dalam proses terjadinya karies gigi adalah *Streptococcus mutans* (*S. mutans*). *S. mutans* merupakan

mikroorganisme yang kariogenik karena mempunyai kemampuan membentuk asam yang selanjutnya akan merusak matrik anorganik jaringan gigi (Kidd, 1991). *S. mutans* juga mempunyai daya pelekatan substrat terutama karbohidrat pada permukaan gigi dan menghidrolisa dengan hasil akhir asam. Asam ini melarutkan bahan anorganik dari enamel atau proses demineralisasi (Volker & Russel, 1973; Adair, 1994; McDonald *et al*, 1994). Plak gigi memegang peranan penting sebagai penyebab karies dan penyakit periodontal.

Keyes (1960) melakukan penelitian dengan memasukkan mikroorganisme *Streptococcus* pada binatang yang bebas mikroorganisme. Ternyata mikroorganisme *Streptococcus* ini dapat dipindahkan ke binatang lain yang bebas mikroorganisme, sehingga binatang tersebut menjadi rentan terhadap karies. Peneliti terdahulu (Berkowitz, 1975) menunjukkan bahwa *S. mutans* bukan mikroorganisme yang didapat sejak lahir namun merupakan mikroorganisme yang didapat kemudian, sesuai dengan perkembangan usia. Kohler *et al* (1988) dan Alaluusua (1991) mengatakan bahwa usia anak pada awal ditemukan koloni *S. mutans* pada rongga mulut berkaitan dengan resiko terjadinya karies gigi. Semakin dini usia anak yang mempunyai kolonisasi *S. mutans* maka semakin tinggi pula resiko terjadinya karies pada anak tersebut. Untuk dapat membentuk koloni yang stabil dalam rongga mulut mikroorganisme ini membutuhkan adanya gigi atau permukaan yang permanen. Oleh karena itu *S. mutans* hanya dapat ditemukan setelah gigi erupsi, pemakaian obturator atau pada gigi tiruan (Berkowits *et al*, 1980; Kulkarni *et al*, 1989). *S. mutans* dapat dipindahkan dari ibu ke balita, kemungkinan disebabkan kontak oral, oleh karena itu karies



dianggap sebagai suatu penyakit yang dapat ditularkan (Kidd & Bechal, 1987 cit Devijanti, 2001).

Upaya pemeliharaan kesehatan gigi anak tentunya tidak terlepas dari peran orang tua terutama ibu. Oleh karena itu, kesadaran seorang ibu untuk memelihara kesehatan gigi anaknya sangat besar perannya. Ibu yang memiliki pengetahuan tentang kesehatan gigi yang baik serta mengajarkan cara hidup sehat terhadap anaknya akan mungkin mendapat anak-anak dengan gigi yang sehat pula (Koenhardini, 1994). Dengan demikian peran ibu dalam menumbuhkan suatu kebiasaan kepada anaknya merupakan kunci utama dalam menentukan keberhasilan suatu perawatan.

Adanya transmisi *S. mutans* dapat dilihat melalui kesamaan fingerprint dari kromosom DNA *S. mutans* dengan analisis endonuklease restriksi (EcoRI). Metode ini dilaporkan yang paling efektif untuk meneliti transmisi *S. mutans* (Kulkarni, 1989; Kozai, 1999). Namun demikian, sampai saat ini transmisi *S. mutans* sesuai dengan tipe strain secara genotip belum tuntas penjelasannya. Peneliti terdahulu telah melaporkan bahwa kesamaan tipe strain antara ibu dan anak paling sering ditemukan (Davey & Roger, 1984; Caufield, 1993). Hal ini menunjukkan bahwa transmisi *S. mutans* dalam keluarga lebih bersumber pada ibu, karena ibu lebih banyak menghabiskan waktu dengan anak-anak dibandingkan dengan ayah. Menurut Kozai *et al* (1999) ayah juga berpotensi sebagai sumber transmisi *S. mutans* dalam keluarga dan tidak tertutup kemungkinan sumber transmisi dari luar keluarga. Redmo *et al* (1998), Tedjosasongko (2002), menunjukkan bahwa anak bisa terinfeksi *S. mutans* dari

transmisi di dalam dan di luar keluarga, namun seberapa banyak jumlah strain *S. mutans* yang didapat seorang anak dan bagaimana level *S. mutans* setelah periode inisial akuisisi belum banyak dilaporkan. Menurut Vant Houte & Green (1974), seorang anak juga dapat mengakuisisi *S. mutans* lebih dari satu strain dari sumber yang berbeda.

Hasil penelitian sebelumnya (Chandra, 2002) menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara level *S. mutans* ibu dengan anak balita, hal ini dimungkinkan oleh berbagai hal antara lain kebiasaan sehari-hari. Anak akan memperoleh *S. mutans* dengan *mouth to mouth* transmisi dari ibu. Dengan prosentase anak yang disuap dengan penggunaan alat sangat besar sehingga proses transmisi dengan pemberian makanan atau pemakaian sendok dapat terjadi.

Saat ini, perhatian terhadap cara menurunkan karies pada anak melalui upaya memutus rantai infeksi *S. mutans* dari ibu ke anak, tidak saja terpusat di Barat, tetapi juga telah diterapkan di Timur antara lain Jepang (Hanada, 2000). Budaya di Indonesia anak balita banyak diasuh oleh ibunya sendiri, beda dengan di luar negeri, anak balita banyak dititipkan pada penitipan anak. Kondisi Indonesia yang berbeda, kemungkinan akan membawa hasil yang berbeda, diantaranya dari jenis *S. mutans*, kondisi geografis, diet ataupun perilaku masyarakat. Caufield *et al* (1993) mengungkapkan bahwa anak balita yang diasuh bukan ibu kandungnya sendiri ternyata lebih lambat terinfeksi *S. mutans*. Dengan demikian peneliti ingin mengetahui kesamaan strain *S. mutans* antara ibu dan anak balita.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA



TESIS

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Teori Terjadinya Karies Gigi

Sejak penyakit karies gigi dikenal, maka telah banyak dikembangkan teori tentang terjadinya karies gigi. Teori tentang karies gigi yang melibatkan peran serta mikroorganisme dalam proses terjadinya karies dimulai oleh Miller (1890), teori ini dikenal teori asam. Miller melakukan pengamatan penting, bahwa sejumlah mikroorganisme rongga mulut dapat menghasilkan asam sebagai hasil fermentasi gula. Asam yang terbentuk menyebabkan pelarutan kristal apatit email. Asam yang terdapat pada plak gigi yang dihasilkan melalui interval waktu yang teratur, mempunyai kemampuan untuk menimbulkan demineralisasi email.

Teori lain tentang karies yang melibatkan peran mikroorganisme dalam proses terjadinya karies adalah

1. Teori Kemo-Parasitik
2. Teori Proteolitik
3. Teori Proteolisis-Khelasi
4. Teori Autoimun

Dari teori-teori yang menerangkan tentang terjadinya karies di atas, maka dapat diketahui bahwa sebelum ditemukannya teori asam, dalam perkembangan etiologi karies, dikenal teori yang menerangkan bahwa karies dapat terjadi tanpa pembentukan asam. Akan tetapi terdapat kesamaan pandangan, bahwa dalam

proses karies terjadi demineralisasi email yang disebabkan oleh adanya aksi mikroorganisme.

2.2 *Streptococcus mutans*

S. mutans berperan paling besar dalam proses terjadinya karies gigi, karena mempunyai perlekatan terhadap substrat terutama sukrosa pada permukaan gigi dan menghidrolisa dengan hasil akhir asam. Asam ini akan melarutkan bagian anorganik dari enamel (proses demineralisasi) (McDonald *et al*, 1994; Adair, 1994; dan Volker & Russel, 1973).

Mikroorganisme yang dapat memproduksi asam adalah *Streptococci aciduric*, *Lactobacilli*, *Diphtheroids*, *Yeast*, *Staphylococcy* dan strain tertentu dari *Sarcinae*. *S. mutans* dianggap sebagai mikroorganisme utama penyebab karies gigi (McDonald *et al*, 1994). Terdapat hubungan antara jumlah *S. mutans* dalam saliva dengan aktivitas karies (Atirill *et al*, 1977).

Kohler *et al* (1988), Avery Stookey (1994) melaporkan bahwa semakin awal kolonisasi *S. mutans* dalam rongga mulut anak-anak, maka semakin tinggi prevalensi karies gigi yang akan terjadi pada usia 4 tahun.

S. mutans memproduksi polisakarida ekstrasellular dari sukrosa yang dapat melekat pada gigi membentuk sejumlah besar plak. *S. mutans* melekat pada saliva, dapat membentuk lapisan paling dalam dari plak gigi. *S. mutans* lebih aktif dibandingkan dengan mikroorganisme lainnya dalam kemampuan mengubah sukrosa menjadi asam dan polisakarida (Rosen, 1991).

Streptococcus mutans merupakan famili *Streptococcaceae*. Rongga mulut adalah habitat utama untuk *S. mutans* yang biasanya mengadakan kolonisasi pada permukaan gigi, tidak dijumpai pada orang yang tidak mempunyai gigi, tetapi mungkin mengadakan kolonisasi di permukaan gigi palsu. *S. mutans* merupakan mikroorganisme yang paling kariogenik untuk manusia atau binatang, jika dibandingkan dengan mikroorganisme *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. fecalis*, *Lactobacillus*, *Actinomyces viscesus*, dan *Actinomyces naeslundii* (Keene, 1986). *S. mutans* penyebab utama karies gigi manusia, bersifat fakultatif anaerob, akan tetapi pertumbuhannya menjadi optimal bila suasananya anaerob. Beberapa media untuk menumbuhkan *S. mutans* diantaranya :

- a. Medium yang mengandung bacitracin dan 20% sukrosa (Michalek dan McGhne, 1981 cit Devijanti, 2001).
- b. TYC (Medium *Trypton Yeast Cystine*) yang terutama menumbuhkan bakteri pembentuk dekstran dalam plak (De Stoppelaar, 1969 cit Devijanti, 2001).
- c. Agar Mitis Salivarius digunakan untuk menumbuhkan *Streptococci* schubungan dengan karies dan yang penghitungannya dibandingkan dengan yang lain *Streptococci* dalam plak gigi (Duchir & Van Hpute, 1978 cit Devijanti, 2001).

Morfologi :

Streptococcus mutans adalah kuman Gram positif berbentuk bulat. Diameter sel *S. mutans* 0,5 – 0,75 μm , kadang-kadang bentuknya mengalami pemanjangan menjadi batang pendek, tersusun berpasangan atau membentuk rantai pendek. Pada agar darah diameter koloni 0,5 – 1 μm , biasanya berwarna

abu-abu transparan sampai putih, sirkuler dan tidak teratur, kadang-kadang permukaan kasar dan mungkin melekat pada agar darah. *S. mutans* biasanya α hemolitik atau non hemolitik. Pada media yang mengandung sukrosa *S. mutans* menghasilkan polisakarida ekstraseluler, yang ditandai dengan koloni yang berwarna putih *opaque*, kasar, biasanya tidak melekat kuat pada agar dan kadang-kadang dikelilingi oleh "wet" (*Water soluble*) *glucan polymer* (Melville & Russel, 1981). *S. mutans* dibagi menjadi 7 serotipe a, b, c, d, e, f, g (Kral dan Darnoe Moore, 1981). Dari ketujuh serotipe yang paling sering diisolasi dari plak adalah *S. mutans* serotipe c (Nolte, 1977). Serotipe c, e dan f memproduksi asam dari *meliobiose* dan *affinose*, resisten terhadap 2 unit/ml bacitracin dan tidak mendeaminasi L-arginin, *S. mutans* adalah sensitif pada 2 unit/ml bacitracin, serotipe b mendeaminasi L-arginin, serotipe e tidak memproduksi asam dari *meliobiose*, *S. mutans* d dan g tidak dapat memproduksi asam dari *meliobiose* (Oldershaw, 1982 cit Chandra, 2002).

2.3 Plak Gigi

Menurut Caranza (1996) plak gigi adalah deposit lunak yang berupa lapisan tipis (*biofilm*) yang melekat pada permukaan gigi atau permukaan struktur keras lain di rongga mulut, termasuk pada restorasi lepasan atau cekat.

Sedangkan Seymour & Heasman (1992) menggunakan istilah plak untuk menggambarkan mikroorganisme pada permukaan gigi atau pada struktur-struktur keras lainnya dalam mulut. Plak merupakan material yang lunak, melekat erat

pada gigi dan sulit dibersihkan oleh aliran saliva atau dengan penyemprotan air secara perlahan.

Pembentukan *pellicle* merupakan tahap pertama proses pembentukan plak, tahap kedua pembentukan plak dimulai 24 jam setelah pembersihan gigi. Pada saat ini mikroorganisme saliva berkoloni pada *pellicle* membentuk *early* plak. Kemudian tahap terakhir pembentukan plak terjadi sejalan dengan bertambah banyaknya mikroorganisme dan bertambah umur plak (Nolte, 1977).

Pada plak yang baru terbentuk, terdapat bakteri *Streptococcus* dan *Neisseria*, tetapi sesuai perjalanan waktu terdapat bakteri lain yang berkembang yaitu *Actinomyces* dan *Veillonella*. Mikroorganisme yang paling banyak *S. mutans* dan yang kedua *S. sanguis*, sedangkan *S. salivarius* tidak ditemukan di dalam plak, tetapi di saliva (Nolte, 1977). *S. mutans* akan memetabolisme karbohidrat menjadi asam yang dapat mengakibatkan demineralisasi gigi melalui mekanisme ini *S. mutans* menunjukkan sifat kariogenik dalam menimbulkan karies gigi (Soerodjo, 1989).

2.4 Struktur Permukaan

Struktur anatomi dari gigi terdiri dari lapisan email di bagian terluar gigi dan lapisan dentin yang terdapat di bawah lapisan email. Struktur email sangat menentukan dalam proses terjadinya karies. Permukaan email yang terluar lebih tahan terhadap kemungkinan terjadinya karies dibandingkan lapisan email di bawahnya, karena lebih keras dan padat. Bila proses karies berlanjut, maka proses karies akan lebih cepat karena email di bawahnya kurang tahan terhadap

karies dibandingkan email di permukaan. Bentuk gigi, struktur email serta bentuk permukaan gigi mempengaruhi kecepatan bertambahnya karies, terutama bentuk permukaan gigi yang sukar dibersihkan serta tidak adanya daya untuk membersihkan sendiri (*self cleansing*) (Adair, 1994).

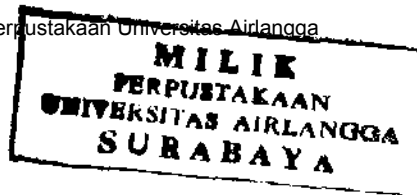
Gigi dengan permukaan yang *non desquamating*, maka permukaan ini tidak melepaskan sel, sementara mukosa dapat kehilangan sel epitel yang terus menerus sehingga memberikan sifat permukaan sel berbeda untuk mikroorganisme yang melekat. *S. mutans* memerlukan permukaan *non-shedding* untuk kolonisasi (Berkowitz & Jordan, 1975). Semua permukaan pada kavitas oral dilapisi dengan lapisan tipis organik, yang menunjukkan *pellicle*. Reseptor *pellicle* dikenal dengan permukaan mikroorganisme dan *appendage* yang bertindak sebagai adhesif (Bowden & Hamilton, 1998).

2.5 Transmisi *S. mutans* dari Ibu ke Anak Balita

Dilaporkan bahwa transmisi *S. mutans* bersumber pada ibu. Berkowitz & Jones (1985) menyatakan hal ini disebabkan oleh karena kesamaan tipe strain antara ibu dan anak balitanya.

Transmisi *S. mutans* terjadi melalui saliva, baik melalui kontak langsung ataupun tidak langsung. Kontak tidak langsung melalui media sendok, sikat gigi, pasta gigi ataupun media lain yang terkontaminasi saliva (Newbrun, 1992; Kohler & Brathall, 1978; Svanberg, 1978).

Anak-anak lebih banyak terinfeksi *S. mutans* dari ibu daripada individu lain (Caufield, 1993 cit Chandra, 2002) karena adanya kesamaan imunitas



terhadap karies (Volker & Russel, 1973). Peneliti terdahulu telah melaporkan bahwa kesamaan tipe strain *S. mutans* pada ibu dan anak balita sering ditemukan, hal ini menunjukkan bahwa transmisi *S. mutans* dalam keluarga lebih bersumber pada ibu (Berkowitz & Jones, 1985; Tedjosasongko & Kozai, 2000). Penularan *S. mutans* lebih mudah terjadi jika sumber penularan tersebut memiliki jumlah *S. mutans* yang tinggi pula (Van Houte, 1981). *S. mutans* dianggap dalam jumlah tinggi, kurang lebih sekitar 10^6 CFU (*Colony Forming Unit*) yang berarti satu unit CFU per 1 saliva. Bila seorang individu memiliki jumlah *S. mutans* lebih dari 10^5 CFU per ml, maka individu tersebut beresiko tinggi terjadi karies (Bratthall, 1998).

Beberapa faktor yang menentukan transfer subyek dan penyebaran intra oral adalah (Praseno, 1991):

1. Afinitas mikroorganisme untuk permukaan oral
2. Tingkat pertumbuhan mikroorganisme
3. Frekuensi transfer sel
4. Waktu yang tersedia untuk menjadi perlekatan
5. Kelangsungan hidup mikroorganisme selama transfer
6. Faktor host yang mempengaruhi perlekatan mikroorganisme atau pertumbuhan.

Pada bayi atau anak-anak yang belum memiliki gigi tidak dapat ditemukan *S. mutans*, karena *S. mutans* dapat membentuk koloni yang stabil dalam rongga mulut membutuhkan adanya gigi atau permukaan yang permanen (Berkowitz, 1980), oleh karena itu bakteri ini hanya ditemukan pada anak-anak setelah gigi

sulung erupsi. Anak-anak yang terkolonisasi dengan *S. mutans* pada usia awal mempunyai resiko perkembangan karies yang lebih tinggi daripada yang terkolonisasi belakangan.

Selain faktor di atas terdapat faktor pendukung lain seperti frekwensi bertemu antar ibu dan anak, kebiasaan makan, berapa banyak keluarga di rumah, yang dapat mempengaruhi transmisi *S. mutans* dari sumber lain selain ibu (Caufield, 1993).

2.6 PFGE (*Pulse Field Gell Electrophoresis*)

PFGE atau nama lain adalah *Restriction Endonuclease Fingerprinting of Chromosomal DNA* (Bialkowska-Hobrzanska *et al*, 1990) adalah suatu cara untuk pemeriksaan genotip dengan menggunakan seluruh panjang genom untuk dipergunakan sebagai bahan analisis (Sambrook *et al*, 1989). Sistem restriksi memungkinkan bakteri untuk memantau asal dari DNA yang masuk ke dalam sel dan menghancurkan apabila DNA tersebut dikenali sebagai DNA asing. Enzim endonuklease restriksi mengenali sekuens/urutan DNA spesifik pada DNA asing dan memecah menjadi potongan-potongan, baik pada tempat yang spesifik atau secara random. Diketahui bahwa genom organisme adalah sangat panjang, khususnya mikroorganisme dan organisme yang lebih tinggi. Karena itu memisahkan menggunakan cara elektroforesis yang biasa menjadi sangat sulit. Dengan PFGE bisa dipisahkan panjang fragmen DNA sampai 4500 sampai 9000 kb.

Pada PFGE tersebut, genom organisme yang sangat panjang, dipotong dengan enzim restriksi tertentu sehingga menjadi potongan-potongan yang lebih pendek dengan panjang fragmen yang sangat bervariasi tergantung letak titik potong. Kemudian hasil potongan tersebut dielektroforesis secara PFGE. Elektroforesis cara ini, aliran listrik arahnya diganti-ganti dengan sudut 60° berganti-ganti ke arah yang berlawanan. Dengan cara ini diharapkan DNA akan berjalan secara *reptation* melalui agarose menuju ke arah kutub listrik positif.

Kadaan elektroforesis sangat bervariasi tergantung ukuran produk fragmen DNA. Misalnya fragmen dengan berat antara 50 kb sampai 2.000 kb, membutuhkan listrik 200 Volt dalam waktu 15 jam.

Hasilnya adalah profil elektroforesis pita DNA dengan panjang bervariasi dari pendek sampai panjang. Selanjutnya dibandingkan antara organisme satu terhadap yang lain. Salah satu cara adalah membedakan berdasar urutan basa-basa nukleotida yang ada di dalam kromosom atau genom bakteri yang bersangkutan, dan cara ini sering dikenal dengan nama *genotyping* atau dikenal juga dengan DNA *fingerprinting*. Jadi *genotyping* atau DNA *fingerprinting* adalah membedakan galur bakteri (khususnya dalam satu spesies) berdasar urutan basa nukleotida yang ada dalam genom mikroba tersebut. Cara-cara yang sering dipergunakan untuk membedakan galur bakteri ada banyak cara seperti : *biotyping*, *phage typing*, *antibiogram typing*, *protein electrophoretic profiling*, *ribotyping* (misalnya ARDRA = *Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis*), *plasmid typing*, *PCR-based fingerprinting*, *chromosomal digested fingerprinting*

BAB 3

**KERANGKA KONSEPTUAL
PENELITIAN**

TESIS

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

S. mutans merupakan bakteri utama penyebab karies gigi (Soet, Graaff, 1998). Koloni *S. mutans* diawali sejak gigi mulai erupsi (Alaluusua *et al*, 1991). *S. mutans* merupakan bakteri komensal oportunistik yang dapat menular dari orang ke orang lain melalui saliva. *S. mutans* bukan bakteri yang didapat sejak lahir namun merupakan bakteri yang didapat kemudian sesuai dengan perkembangan usia, dari yang tidak ada sama sekali pada bayi, meningkat pada periode gigi sulung dan gigi permanen (Nuraini, 2003). Penularan *S. mutans* pada anak usia yang sangat dini terbukti meningkatkan resiko terjadinya karies gigi. Sebagian besar anak tertular mikroorganisme ini dari ibunya. Hal ini didasarkan pada penemuan kesamaan jenis strain *S. mutans* pada anak dengan orang di lingkungan terdekat khususnya ibu (Caufield, 1993; Kozai *et al*, 1999; Tedjosasongko, 2000).

Transmisi *S. mutans* dari suatu sumber ke anak dapat terjadi melalui saliva baik melalui kontak langsung maupun tidak langsung. Kontak tidak langsung dapat melalui media sendok, sikat gigi, pasta gigi maupun media lain yang terkontaminasi oleh saliva (Kohler, 1978; Newburn, 1992).

Transmisi *S. mutans* dalam keluarga lebih bersumber pada ibu, tetapi menurut Kozai *et al* (1999) bahwa ayah berpotensi sebagai sumber transmisi

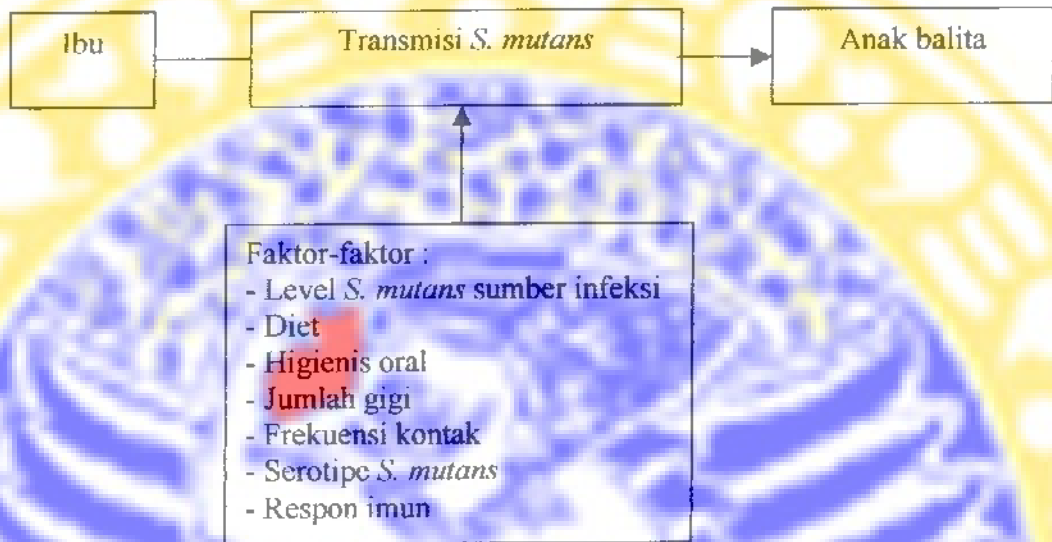
dalam keluarga dan tidak menutup kemungkinan sumber transmisi itu berasal dari luar keluarga.

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi transmisi adalah (Kozai *et al*, 1999) : serotipe mikroorganisme, jumlah *S. mutans* yang dimiliki oleh sumber penularan, jumlah mikroorganisme yang berpindah setiap kali terjadi kontak dan frekuensi kontak, faktor diet, status imun dari anak.

Kohler (1984) berhasil menghambat kolonisasi dini *S. mutans* pada anak dengan menerapkan program preventif yang intensif kepada ibu yang mengasuh bayinya dengan cara melakukan upaya pembersihan gigi secara profesional dan instruksi pemeliharaan higiene mulut, petunjuk diet dan aplikasi fluor. Dengan demikian akan terjadi penundaan infeksi *S. mutans* pada balita akan menurunkan resiko penularan karies gigi.

Kohler, Adreen & Jonson (1988) cit Donald, Avery (1994) melaporkan bahwa semakin awal kolonisasi *S. mutans* dalam rongga mulut anak-anak maka semakin tinggi prevalensi karies gigi yang akan terjadi. Orang yang terdekat dengan anak pada masa terinfeksi *S. mutans* mempunyai potensi besar sebagai sumber infeksi. Dengan mengetahui kesamaan strain *S. mutans* diharapkan dapat mencegah atau menunda terjadinya transmisi *S. mutans* selama mungkin pada anak-anak sehingga resiko terjadinya karies dapat dikurangi.

Skema 1 : Kerangka konseptual



BAB 4

METODE PENELITIAN



TESIS

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian observasional.

4.2 Sampel

4.2.1 Populasi

Semua balita TK Al Hidayah Surabaya. Sampel yang didapat pada penelitian adalah 10 pasang dari 25 pasang sampel awal ibu dan anak balita.

Kriteria sampel pada penelitian sebelumnya :

1. Anak usia 4-5 tahun dengan gigi sulung yang telah erupsi sempurna dan gigi permanen yang belum tumbuh.
2. def lebih dari 3.
3. Gigi tidak berdesakan atau maloklusi.
4. Anak sedang tidak terapi antibiotik.
5. Anak tidak memakai obat kumur.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel yang diteliti pada penelitian ini adalah strain mutans anak dan strain mutans ibu.

4.4 Definisi Operasional Variabel

- a. Strain mutans adalah suatu kelompok mikroorganisme yang dianalisa berdasarkan kilo *basepair* (kbp).
- b. Enzim restriksi adalah enzim pemotong yang mengenali urutan basa spesifik dalam DNA rantai ganda dan memotong kedua rantai pada sisi spesifik. Misal : enzim EcoRI selalu memotong molekul DNA pada posisi G | AATTC (tanda “|” merupakan tempat pemotongan).
- c. Kesamaan strain ibu dan anak balita dikatakan sama bila menunjukkan pola/gambaran *band* yang sama pada kilo *basepair* (kbp).
- d. Plak gigi adalah deposit lunak yang berupa lapisan tipis (*biofilm*) yang melekat pada permukaan gigi atau permukaan struktur keras lain di rongga mulut, termasuk pada restorasi lepasan atau cekat.

4.5 Lokasi Penelitian

1. Tropical Disease Center Universitas Airlangga Surabaya
2. Laboratorium Biokimia Fakultas MIP Universitas Brawijaya

4.6 Cara Kerja Penelitian

4.6.1 Isolasi Mikroorganisme *S. mutans*

4.6.1.1 Bahan

- BGSS (*Buffered Glycerol Saline Solution*)
- Mitis Salivarius (Difo, Detroit, Mick, USA)
- Brain Heart Infusion (BHI, Difco)

- Sorbitol
- Manitol

4.6.1.2 Alat

- Kaca mulut
- Sonde
- Pinset
- Sikat gigi
- Tabung reaksi
- Petri dish
- Inkubator

4.6.1.3 Cara Kerja

Sampel plak diambil dengan sikat gigi kemudian dimasukkan ke dalam media transport *Buffered Glycerol Saline Solution* 3 ml (NaCl, K₂HPO₄, KH₂PO₄, Gliserin, Air distilasi).

Pemrosesan dilakukan dalam waktu 30 menit setelah pengambilan sampel, sampel divorteks 30 detik kemudian inokulasi pada media mitis salivarius agar dengan penambahan basitrasin (MSB) dan diinkubasi secara anaerobik pada 37°C selama 48 jam. Kemudian koloni *S. mutans* diambil dan diinokulasi pada media BHI. Kultur tersebut diulangi kembali sampai diperoleh isolate *S. mutans*. Setelah didapat identifikasi mikroorganisme dilakukan tes fermentasi dengan menggunakan manitol, sorbitol.

4.6.1.4 Skema Penelitian

Kumpulkan plak gigi dari subyek → suspensikan dalam saline fisiologikal yang disterilisasi

Inokulasi suspensi pada Mitis Salivarius agar dan inkubasi secara anaerobik pada 37°C selama 48 jam

Inokulasi salah satu koloni pada Brain Heart Infusion (BHI) broth

Strain yang diisolasi → identifikasi dengan mannitol, test fermentasi sorbitol

Ulangi

4.6.2 Isolasi DNA

4.6.2.1 Bahan

- TE (Tris EDTA)
- Proteinase K (Promega)
- *Phenol Chloroform Isoamin* (PCI)
- Etanol dingin (Merck)

4.6.2.2 Alat

- Sentrifuse dingin "Hethich" (Jerman)
- Pipet
- Ependrof



4.6.2.3 Cara Kerja

Isolat *S. mutans* disentrifuse 3000 rpm selama 15 menit, kemudian dipisahkan antara endapan dan supernatan. Endapan ditambahkan TE 750 μ l kemudian pipeting dan sentrifuse 15.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C, hasil dipisahkan supernatan dan endapan. Endapan ditambahkan proteinase K (sebagai pemisah) 200 μ l dengan pengenceran 20 μ l TE kemudian diinkubasi 56°C selama 45 menit dan 95°C dalam waktu 10 menit setelah itu ditambahkan PCI (*Phenol Chloroform Isoamin*) (25:24:1) 450 μ l dan divortex, disentrifuse 15.000 rpm selama 10 menit pada 4°C diambil lapisan atas dan ditambahkan etanol dingin (1:1), baru disentrifuse 15.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C, kemudian didapat DNA kromosom.

4.6.2.4 Skema Penelitian



4.6.3 Pemotongan DNA dan Elektroforesis

4.6.3.1 Bahan

- Enzim EcoRI (Toyobo, Co, Osaka Japan)
- *Loading dye*
- Gel agarose 1% (Promega)

- Larutan buffer Trisborate-EDTA (TBE)
- Ethidium Bromide
- Air murni
- Marker Hind III (23,1 kbps), Marker MBI Fermentas (2000-50)

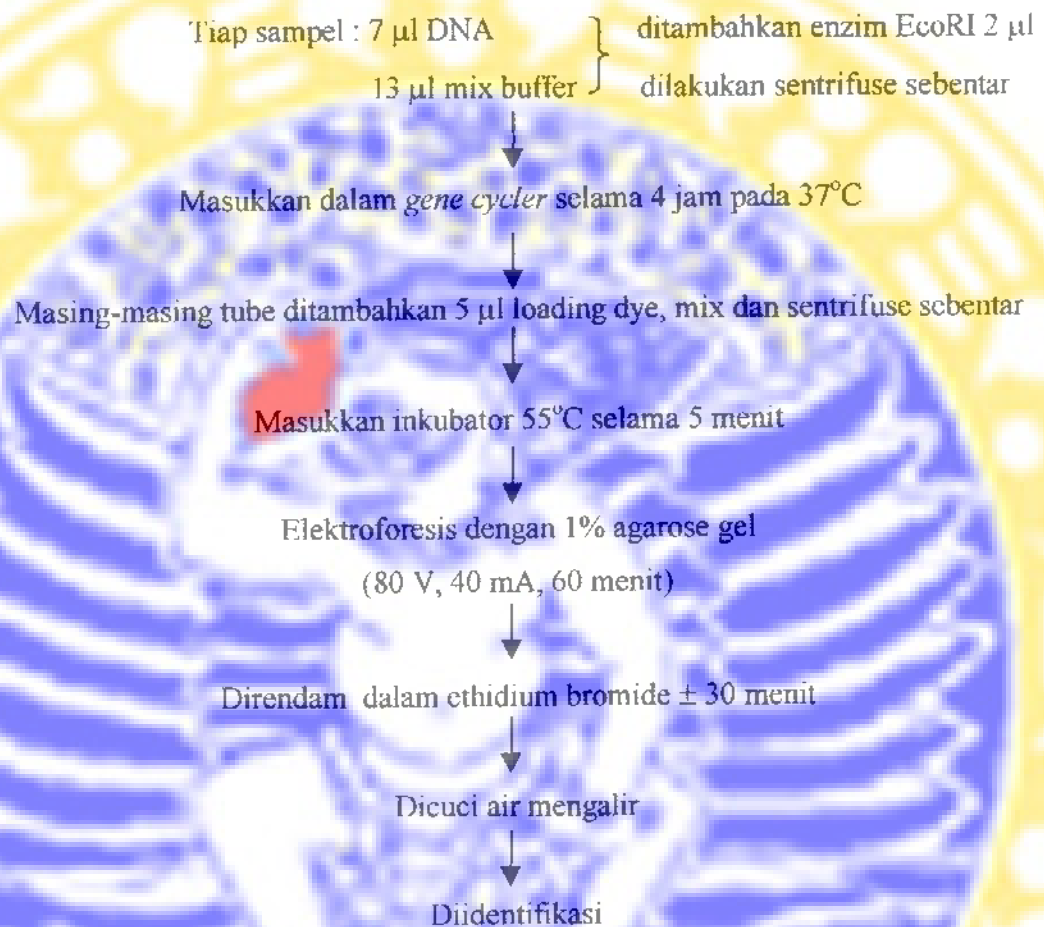
4.6.3.2 Alat

- *Gene cyclor* "Biorad" (Jerman)
- Elektroforesis
- Kamera polaroid MP₃
- Film polaroid 667

4.6.3.3 Cara Kerja

DNA kromosom 7 μ l dan 13 μ l mix buffer tambahkan enzim EcoRI 2 μ l, kemudian disentrifuse sebentar. DNA kromosom dimasukkan dalam *gene cyclor* selama 4 jam pada suhu 37°C. Tiap sampel ditambahkan 5 μ l *loading dye* dan diletakkan kembali pada inkubator pada suhu 55°C selama 5 menit. Kemudian elektroforesis dilakukan pada 1% gel agarose dalam larutan buffer Tris-borate EDTA (TBE). Elektroforesis dijalankan pada 80 Volt 40 mA selama 60 menit. Kemudian pewarnaan gel dilakukan dengan ethidium bromide selama 30 menit dan dicuci dengan air murni. Dan gel difoto dengan menggunakan kamera polaroid MP₃ dan film polaroid 667.

4.6.3.3 Skema Penelitian



4.7 Analisa Data

Hasil dianalisa deskriptif melalui pola band yang tampak dengan membandingkan kesamaan pola antara ibu dan anak secara *eyeball technique*.

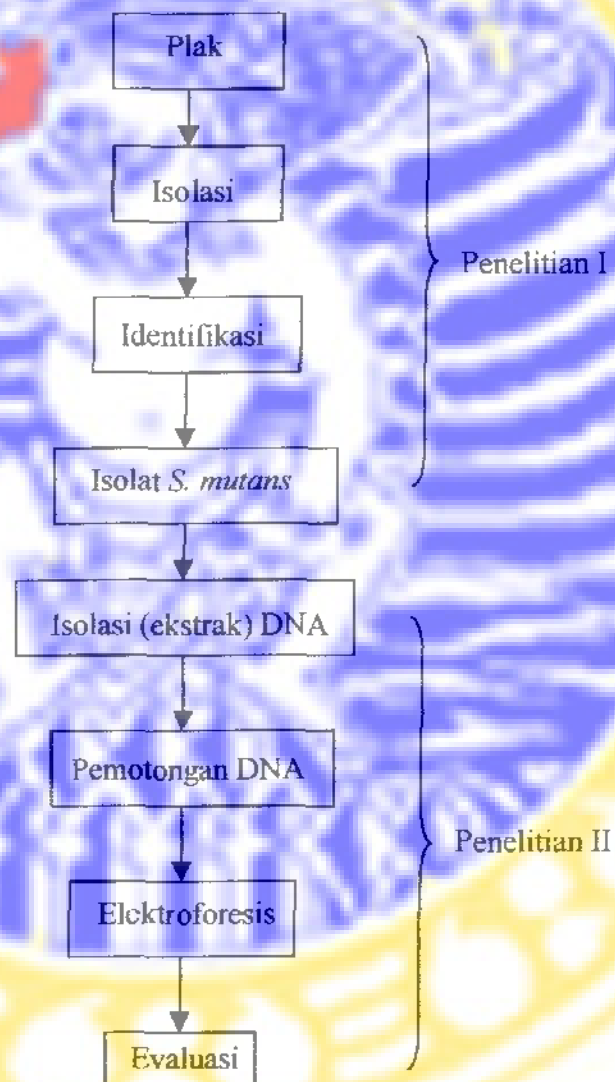
4.8 Alur Penelitian

Penelitian ini merupakan lanjutan penelitian Chandra (2002), dengan judul Level *S. mutans* Ibu dan Anak Usia 4-5 tahun di TK Al Hidayah Kecamatan Jambangan Kodya Surabaya. Penelitian I melakukan pengambilan plak hingga

pada tahap didapat isolat *S. mutans*. Pada penelitian II ini akan dilakukan (Dyah Setyorini) dengan tahap :

- Isolasi DNA kromosom (ekstrak DNA)
- Pemotongan DNA dan elektroforesis

TAHAPAN PENELITIAN



BAB 5
HASIL PENELITIAN

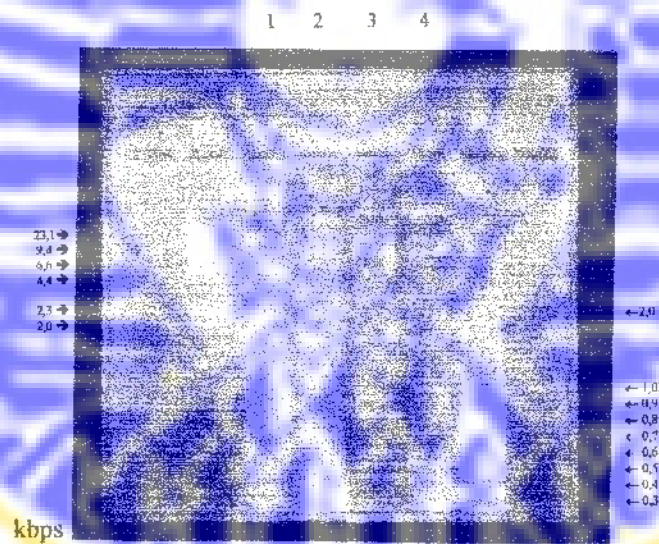
TESIS

BAB 5

HASIL PENELITIAN

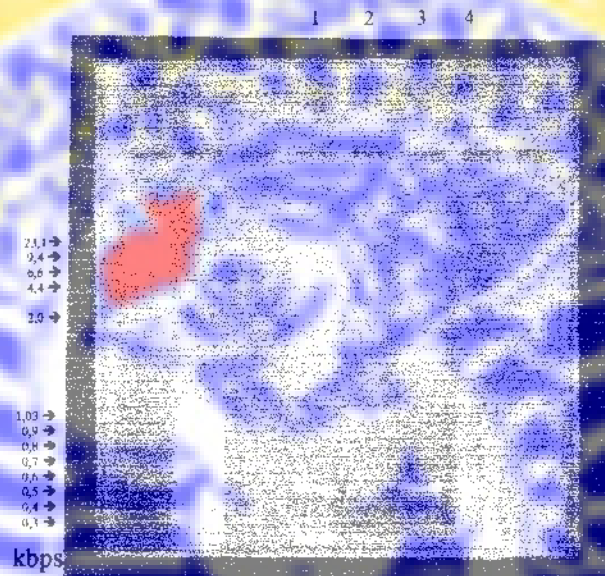
5.1 Data Penelitian

Penelitian menggunakan 10 pasang sampel ibu dan balita. Pada 6 pasang sampel berhasil didapatkan DNA *fingerprint S. mutans* melalui analisa restriksi endonuklease, sedangkan yang 4 pasang sampel tidak berhasil didapatkan DNA *fingerprint S. mutans* melalui analisa restriksi endonuklease. Pada penelitian ini adanya kesamaan band dapat dilihat bila letak band terletak pada kilo *basepair* (kbps) yang sama pada sampel ibu dan anak balita.



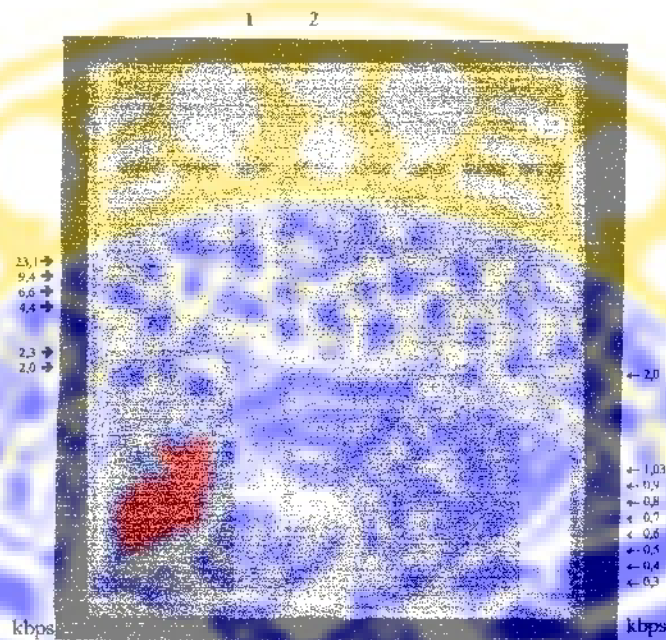
Gambar 5.1 Pemotongan kromosom DNA isolat *S. mutans* dengan enzim endonuklease restriksi *EcoRI* dari 2 pasang sampel, line 1 ibu (30) dan line 2 anak (10), line 3 ibu (23) dan line 4 anak (3). M1 (marker Hind III) dan M2 (marker MBI Fermentas).

Pola pita band pada sampel no. 30 line 1 (ibu) dan pola pita band sampel no. 10 line 2 (anak) tidak ada kesamaan. Pola pita band pada sampel no. 23 line 3 (ibu) dengan pola pita band sampel no. 3 (anak) tidak ada kesamaan.



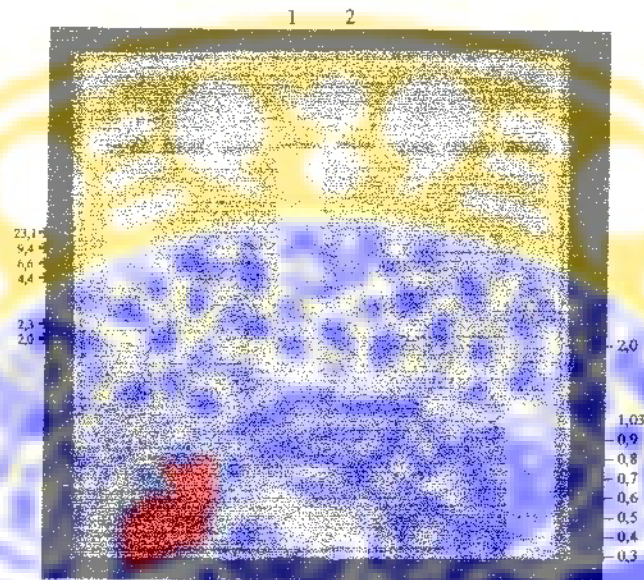
Gambar 5.2 Pemotongan kromosom DNA isolat *S. mutans* dengan enzim endonuklease restriksi *EcoRI* dari 2 pasang sampel, line 1 anak (2) dan line 2 ibu (22), line 3 anak (16) dan line 4 ibu (36). M1 (marker Hind III) dan M2 (marker MBI Fermentas).

Pada gambar di atas tampak bahwa pola pita band pada sampel no. 2 line 1 (anak) dengan pola pita band pada sampel no. 22 line 2 (ibu) tidak ada kesamaan. Pola pita band pada sampel no. 16 line 1 (anak) dengan pola pita band pada sampel no. 36 line 4 (ibu) tidak ada kesamaan (Gambar 5.2).



Gambar 5.3 Pemotongan kromosom DNA isolat *S. mutans* dengan enzim endonuklease restriksi *EcoRI* dari 1 pasang sampel, line 1 ibu (35) dan line 2 anak (15), M1 (marker Hind III) dan M2 (marker MBI Fermentas).

Gambar 5.3 tampak adanya pola pita band pada sampel no. 35 line 1 (ibu) dengan pola pita band sampel no. 15 line 2 (anak) tidak ada kesamaan.



Gambar 5.4 Pemotongan kromosom DNA isolat *S. mutans* dengan enzim endonuklease restriksi *EcoRI* dari 1 pasang sampel, line 1 anak (8) dan line 2 ibu (28). M1 (marker Hind III) dan M2 (marker MBI Fermentas).

Gambar 5.4 menunjukkan pola pita band pada sampel no. 8 line 1 (anak) dengan pola pita band pada sampel no. 28 line 2 (ibu) ada kesamaan antara ibu dan anak balita.

BAB 6

PEMBAHASAN



TESIS

BAB 6**PEMBAHASAN**

Penelitian ini dilakukan 2 tahap yaitu tahap pertama dilakukan oleh penelitian I (Chandra, 2002) dengan tahapan pengambilan sampel hingga mendapatkan isolat mikroorganisme *S. mutans*, pada penelitian II oleh Dyah Setyorini (2004) dengan tahapan isolasi DNA (ekstrak sel DNA), pemotongan DNA, elektroforesis dan evaluasi.

Penelitian I dan penelitian II saling menunjang, pada penelitian I ingin mengetahui apakah ada hubungan antara level *S. mutans* ibu dengan level *S. mutans* anak. Pada penelitian II apakah ada kesamaan *S. mutans* ibu dan *S. mutans* anak balita dengan melalui analisa restriksi endonuklease. Hasil yang diperoleh penelitian I menyatakan ada hubungan level *S. mutans* ibu dengan level *S. mutans* anak, hasil penelitian II menunjukkan bahwa transmisi *S. mutans* tidak selalu berasal dari ibu. Pada ibu dengan level *S. mutans* tinggi akan ditemukan level *S. mutans* yang tinggi pula pada anak balita (Caufield, 1993; Salvador & Grisi, 1997; Behrendt & Sziegoleit, 1998; Van Loveren & Buijs, 2000). Berkowitz (1985) menyatakan bahwa ibu adalah sumber transmisi *S. mutans* pada anak balita, hal ini disebabkan oleh karena kesamaan strain ibu dan anak. Ibu adalah orang terdekat dengan anak pada usia pra sekolah.

Sampel yang digunakan pada penelitian II adalah 10 pasang dari 25 pasang sampel awal ibu dan anak balita di TK Al Hidayah Surabaya. Pada 6 pasang sampel berhasil didapatkan DNA *fingerprint* *S. mutans* melalui analisa restriksi

endonuklease, sedangkan yang 4 pasang sampel tidak berhasil didapatkan DNA *fingerprint S. mutans* melalui analisa restriksi endonuklease. Kegagalan 4 pasang sampel kemungkinan disebabkan oleh karena beberapa sampel pada saat isolat yang didapat pada penelitian I tidak atau kurang memiliki pertumbuhan yang baik pada saat dilakukan kultur ulang, sehingga konsentrasi DNA yang didapatkan sangat sedikit (kurang), aktivitas enzim restriksi pada penelitian ini dilakukan 4 jam yang menurut penelitian lain (Kozai *et al*, 1999) 16 jam. Penelitian ini juga membutuhkan suatu ketelitian dan kesabaran yang tinggi, sehingga psikologi peneliti sangat menunjang sekali.

Metode yang digunakan pada penelitian ini pemeriksaan *fingerprint* pemotongan kromosom DNA dengan enzim restriksi endonuklease (EcoRI), metode ini merupakan metode yang paling efektif untuk meneliti transmisi *S. mutans* (Kozai *et al*, 1999). Metode ini sama dengan metode yang digunakan oleh Kozai *et al* (1999), Caufield (1993) dan Alaluusua (1991). Manfaat lain *fingerprint* dapat melacak asal atau sumber suatu mikroba, penyebab infeksi (Kuntaman, 2003). *Restriction Endonuclease Fingerprinting of Chromosomal DNA* atau nama lain PFGE (Bialkowska-Hobrzanska *et al*, 1990 cit Kuntaman, 2003) adalah suatu cara untuk pemeriksaan genotip dengan menggunakan seluruh panjang genom untuk dipergunakan sebagai bahan analisis (Sambrook *et al*, 1989).

Transmisi *S. mutans* dari ibu ke anak balita melalui saliva bisa kontak langsung ataupun tidak langsung (Kohler *et al*, 1978). Selain saliva, faktor lain yang dapat mempengaruhi transmisi *S. mutans* adalah serotipe bakteri, jumlah

S. mutans yang dimiliki oleh sumber penular, jumlah bakteri yang terjadi kontak dengan frekuensi kontak, faktor-faktor diet dan imun dari anak (Kozai, 1999; Newburn, 1992).

Enam pasang ibu dan anak balita TK Al Hidayah Surabaya didapatkan hanya 1 pasang sampel 8 (anak) dan 28 (ibu) ada kesamaan strain *S. mutans*, hal ini terlihat pada letak band pada kilo *basepair* (kbp) yang sama, sedangkan 5 pasang yang lain sampel 30 (ibu) dan 10 (anak), 23 (ibu) dan 3 (anak), 22 (ibu) dan 2 (anak), 36 (ibu) dan 16 (anak), 35 (ibu) dan 15 (anak) menunjukkan tidak ada kesamaan strain *S. mutans*. Hal ini menunjukkan bahwa anak dapat terinfeksi *S. mutans* dari dalam dan luar keluarga atau selain ibu. Sumber lain dapat dari ayah, atau selain orang tuanya, mereka dapat memperoleh transmisi dari orang lain. Hasil penelitian ini memiliki kesamaan dengan hasil penelitian Redmo (1998) dan Kozai (1999). Penelitian II yang ditunjang dengan kuesioner pada penelitian I menunjukkan bahwa 5 sampel anak balita diasuh oleh anggota keluarga yang lain, jadi ibu bukan merupakan satu-satunya yang mengasuh anak. Anak mempunyai kebiasaan makan sendiri atau disuap oleh anggota keluarga yang lain. Kemungkinan juga anak tercemari oleh *S. mutans* dari permainannya sendiri karena sebagian waktunya digunakan untuk bermain bersama teman-temannya.

Pada sampel no. 8 (anak) dan no. 28 (ibu) didapatkan adanya kesamaan strain *S. mutans* antara ibu dan anak balita. Balita akan mendapat transmisi dari ibu dengan berbagai cara diantaranya *mouth to mouth* transmisi. Mereka juga dapat memperoleh transmisi *S. mutans* melalui penggunaan peralatan sehari-hari

(Alahuusua, 1991; Roeters *et al*, 1995). Transfer *S. mutans* dari saliva ibu ke anak dapat melalui sendok karena anak makan dengan disuap dan ibu ikut mencicipi makanan dengan sendok yang sama. Transmisi dapat juga melalui sikat gigi, pasta gigi maupun media lain yang terkontaminasi oleh saliva (Kohler, 1978; Svanberg, 1978; Newburn, 1992). Dari hasil penelitian ini anak balita memiliki kesamaan strain *S. mutans* dengan orang di lingkungan terdekat khususnya ibu (Berkowitz & Jones, 1985; Li Y Caufield, 1995; Kozai, 1999, Tedjosasongko & Kozai, 2000). Hasil kuesioner pada penelitian I menyatakan bahwa sampel 28 (ibu) dan 8 (anak) tidak menggunakan sikat gigi bersama sehingga kemungkinan penularan melalui sikat gigi adalah kecil. Pada sampel ini juga didapatkan bahwa anak balita dalam sehari menghabiskan waktu bersama ibunya lebih dari 8 jam, sehingga transmisi mudah terjadi.

Menurut Caufield *et al* (1993) menyatakan bahwa anak lebih banyak terinfeksi *S. mutans* dari ibunya daripada individu lain, karena kesamaan imunitas terhadap karies. Kekebalan terhadap *S. mutans* dapat diwariskan secara genetik, ibu dan anak akan membentuk antibodi yang serupa terhadap suatu mikroorganisme (Van Lovere & Buijs, 2000). Mikroorganisme yang terdeteksi di dalam mulut anak memiliki korelasi dengan yang terdapat di dalam mulut ibu (Roeters, 1995), sehingga anak dengan ibu yang mempunyai level tinggi cenderung lebih dahulu terinfeksi *S. mutans* maka mereka memiliki kecenderungan lebih mudah karies pada periode gigi sulung.

Untuk penelitian lebih lanjut, peneliti harus memperhatikan dengan benar cara pengambilan sampel, besar sampel dan volume sampel sehingga mengurangi terjadinya kegagalan.

Dengan mengetahui transmisi *S. mutans*, maka diharapkan dapat dicegah atau ditunda terjadinya transmisi *S. mutans* selama mungkin pada anak sehingga resiko terjadinya karies pada anak dapat dikurangi.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN



TESIS

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Ditemukan kesamaan strain ibu dan anak balita pada sampel (28, 8). Tidak ditemukan kesamaan strain ibu dan anak balita pada sampel (30, 10); (23, 3), (22, 2), (36, 16), (30, 15).
2. Infeksi *S. mutans* pada anak balita tidak selalu bersumber dari ibu, dapat dari ayah atau orang lain.

7.2 Saran

Harus diperhatikan pada penelitian lebih lanjut :

1. Cara pengambilan sampel.
2. Besar sampel
3. Volume sampel

DAFTAR PUSTAKA



TESIS

DAFTAR PUSTAKA

- Aaltonen AS, Tenovu J, 1994. Association between mother-infant salivary contacts and caries resistance in children : a co-hort study. **Pediatr. Dent.** 16 : 110-116.
- Adair SM, 1994. **Epidemiologi and mechanism of dental disease in children in** (Pinkan SR, ed) **pediatric dentistry, infarcy through adolescent.** 2nd edition. Philadelphia. WB Saunders Co. 10, 12, 13.
- Alalussua S, 1991. Transmission of *mutans streptococci*. **Proc Finn Dent Soc.** 87 (4) : 443-7.
- Attrill DC, *et al*, 1977. Salivary *Streptococcus mutans* level and their relationship to caries activity. **Dent. Rest. Abstract Edition.** 76.5 : 1034.
- Berkowitz RJ, Jordan HV, 1975. Similarity of bacteriocins of *Streptococcus mutans* from mother and infant. **Arch Oral Biol.** 20 : 725-730.
- Berkowitz RJ, Jordan HV, dan White G, 1997. The early establishment of *S. mutans* in the mouth of infants. **Arch Oral Biol.** 20 : 171-4.
- Berkowitz RJ, Turner J, Green P, 1980. Primary oral infection of infants with *Streptococcus mutans*. **Arch Oral Biol.** 25 : 221-4.
- Berkowitz RJ, Turner J, Green P, 1981. Maternal salivary levels of *Streptococcus mutans* and primary oral infection of infants. **Arch Oral Biol.** 26 : 147-49.
- Berkowitz RJ, Jones P, 1985. Mouth-to-mouth transmission of the bacterium *Streptococcus mutans* between mother and child. **Archs Oral Biol.** 30 (4) : 377-9.
- Bialkowska-Hobrazanska H, Jaskot D, Hammerberg O, 1990 cit Kuntaman. **Kursus Biologi Molekuler.** Gramik FK UNAIR, 2003.
- Bowden GH, Hamilton IR, 1998. Survival of oral bacteria. **Crit Rev Oral Biol Med.** 9 : 54-85.
- Carranza FA, Jr, 1996. **Clinical Periodontoly.** Seven Edition. Philadelpia. WB Saunders. 60-69.
- Carlsson J, Grahnen H, Jonson G, 1975. *Lactobacilli* and *Streptococci* in the mouth of children. **Carries Res.** 9 : 333-39.

- Caufield PW, Cutter GR, Dasanayake AP, 1993. Initial acquisition of mutans streptococci by infants : Evidence for a discrete window of infectivity. **J. Dent Res** 1; 72: 37-45.
- Chandra, 2002. **Level *S. mutans* ibu dan anak usia 4-5 tahun di TK Al Hidayah, Kecamatan Jambangan, Kotamadya Surabaya**. Skripsi FKG Unair.
- Davey AL and Roger AH, 1984. Multiple types of the bacterium *Streptococcus mutans* in the human mouth and their intra-family transmission. **Arch Oral Biol.** 29 (6) : 453-60.
- De Soet JJ, de Graaff J, 1998. Microbiology of carious lesions. **Dent Update.** 25 : 319-24.
- Devijanti R, 2001. **Peranan bakteri *S. mutans* pada proses terjadinya karies gigi**. Kumpulan Naskah TIMNAS 1. 559-62.
- Emilson CG, Gisselson H, dan Birkehed D, 1999. Recolonization pattern of mutans streptococcus after suppression by three different modes of chlorhexidine gel application. **Eur J Oral Sci.** 107 : 170-5.
- Hanada N, 2000. Current understanding of the causa of dental caries. **Jpn. J Infect Dis.** 53 : 1-5.
- Huis in't Veld JHJ, Van Palenstein Helderman WH, Dirks OB, 1993. **Ilmu kedokteran gigi pencegahan**. Gajah Mada University Press. 58-59.
- Hildebrant GH dan Sparks BS, 2000. Maintaning mutans streptococci suppression with xylitol chewing gum. **J. Am Dent Assoc.** 131 : 909-16
- Keyes, 1960. cit Narlan Sumawinata, Safrida Faruk. **Dasar-dasar karies penyakit dan penanggulangannya**. ECG. 1991. 3-4.
- Kidd FAM, 1991. Role of chlorhexidine in management of dental caries. **Int Dent J.** 41 (5) : 279-286.
- Knuuttila ML, Makinen K, 1975. Effect of xylitol on the growth and the metabolism of *S. mutans*. **Caries Res.** 9 : 177-89.
- Kock G, 1991. **Fundamental of dentistry for children Chicago**. Quintessence Publishing Co. Inc, 83.
- Kohler B, Brathall D, 1978. Intrafamilial levels of *Streptococcus mutans* and some aspect of bacterial transmission. **Scand J.Dent Res.** 86 : 35-42.

- Kohler B, Andreen I and Jonsson B, 1984. The effect of caries preventive measure in mother on dental caries and the oral presence of bacteria *Streptococcus mutans* and lactobacilli in their children. **Arch Oral Biol.** 29 : 879-83.
- Kohler B, Andreen I, Jonsson B, 1988. The earlier the colonization by *mutans streptococci* the higher the caries prevalence at 4 years of age. **Oral Microbial Immunol.** 3 : 14-17.
- Koenhardini, 1994, cit Remita. **Hubungan antara pendidikan dan pengetahuan ibu dengan gambaran kebersihan gigi siswa SD kelas VI.** Skripsi. Surabaya. Fakultas Kedokteran Gigi.
- Kozai, Nakayana R dan Tejosasongko U, 1999. Intrafamilial famili distribution of *mutans streptococci* in Japanese famili and possibility of father to child transmission. **Microbiol Imunolol.** 43 (2) : 99-106.
- Kulkarni CV, Chan KH dan Sandhan IJJ, 1989. An investigation into the use of restriction endonuclease analysis for the study of transmission of mutans streptococci. **J. Dent Rest.** 68 (7) : 1155-61.
- Kuntaman, 2003. **Sidik jari DNA (DNA fingerprint).** Kursus Biomol, Gramik FK Unair, 2003.
- Li Y, Wang W, Caufield PW, 2000. The fidelity of *mutans streptococci* transmission and carries status correlate with breast-feeding experience among Chinese families. **Caries Res.** 34 : 123-132.
- Li Y, Caufiled PW, 1995. The fidelity of initial acquisition of *Mutans Streptococci* by infant from their mother. **J Dent Rest.** 74 (2) : 681-685.
- Makinen K, 1976. Dental aspect of consumption of xylitol and fructose diet. **Int. Dent. J.** 26 : 15-28.
- Mc Donald RE, Avery DR, Stookey GK, 1994. **Dental caries on the child and adolescent in** (Mc Donald RE, Avery DR, eds) **dentistry for the child and adolescent.** St Louis. Mosby Year Book Inc, 216-255.
- Melville PH and Russel C, 1981. **Microbiologi for dental student.** 3 rd Edition, Williem Heinemann Medical Book Ltd, London, 323-338.
- Newburn E, 1992. Preventing dental carries. Breaking the chain of transmission. **J. Am. Dent. Assac.** 123 : 55-9.

- Nolte WA, 1977. **Oral microbiology with basic microbiology and immunology**. 3th ed. CV Mosby Co, St Louis, 197-221.
- Nuraini P, 1993. **Prevalensi karies gigi anak usia 4-6 tahun di kotamadya Surabaya**, Lembaga Penelitian Surabaya.
- Praseno, 1991. **Pengantar Kloning Gen**. Yayasan Essentia Medika. Yogyakarta.
- Redmo El, Li I, Bratthall D, 1998. Genotyping shows different strains of *mutans streptococci* between father and child and within parental pairs in Swedish families. **Oral Microbiol Immunol**. 13 : 271-277.
- Roeters FJ, Van der Hoeven JS, Burgers alijk RCW, Schaeken MJM, 1995. Lactobacilli, *mutans streptococci* and dental caries : A longitudinal study in 2-year old children up to the age of 5 years. **Caries Res**. 29 : 272-9.
- Rosen S, 1991. **Dental carries in** (Willet NP, *et al*, eds) **essential dental microbiology**. Singapore. Prentice Hall Int. 335-341.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T, 1989. cit Kuntaman. **Kursus Biologi Molekuler**. Gramik FK UNAIR, 2003
- Sandham HJ, Brown J, Chan KH, Phillips HI, Burgess RC, and Stokl AJ, 1991. Clinical trials in adult of antimicrobial varnish for reducing *mutans streptococci*. **J. Dent Rest**. 70 : 1401-8.
- Seymour AR, Heasman AP, 1992. Drug disease and periodontium. Tokyo. **Oxford Medical Publication**. 10-13.
- Soerodjo TS, 1989. **Respon imun humoral terhadap *S. mutans* sehubungan dengan penyakit karies gigi**. Program Pascasarjana, Universitas Airlangga, Surabaya (Disertasi).
- Svanberg M, 1978. Contamination of saliva – treated *Streptococcus mutans* in man. **Arch Oral Biol**. 86 : 412-414.
- Tedjosasongko U, Kozai K, 2000. Kesamaan tipe strain *Streptococcus mutans* pada anak balita di tempat penitipan anak. **Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia**. 7 (Edisi Khusus), 151-5.
- Tedjosasongko, 2002. **Level dan jumlah strain *S. mutans* pada anak balita setelah inisial akuisisi**. M.I. Kedokteran Gigi edisi khusus Foril, 180-184.
- Tenuvuo J, 1998. Antimicrobial function of human saliva-how important is it for oral health. **Acta Odontol Scand**. 56 : 250-256.

- Van Houte J, Green DB, 1974. Relationship between the concentration of bacteria in saliva and colonization of teeth in human. **Infect Immun.** 9 (4) : 624-30.
- Van Houte J, Yanover, Brecher S, 1981. Relationship of the levels of the bacterium *S. mutans* in saliva children and their parents. **Arch Oral Biol.** 26 : 381-6.
- Van Loveren C, Buijs JF, ten Cate JM, 2000. Similarity of bacteriocin activity profiles of mutan streptococci within the family when the children acquire the strain after the age of 5 years. **Caries Res.** 34 (6) : 481-5 (Abstract).
- Volker JF, Russel DL, 1973. **The etiology of dental caries in** (Finn SB, ed) **clinical pedodontics.** Philadelphia. WB Saunders Co. 479-480.
- Wennerholm K, et al, 1994. Effect of xylitol and sorbitol in chewing gums on mutans streptococci plaque, pH and mineral loss of enamel. **Caries Res.** 28 : 48-54.
- WHO, 1990. Program Kerja Umum Ke-8 Tahun 1990-1995. Terjemahan : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

LAMPIRAN

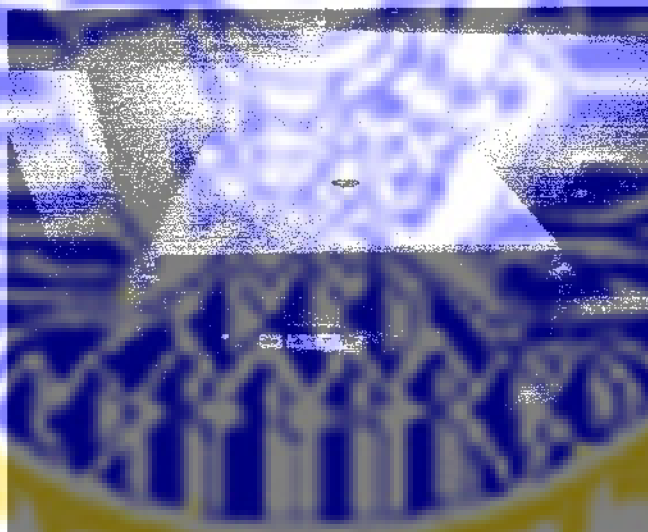


TESIS

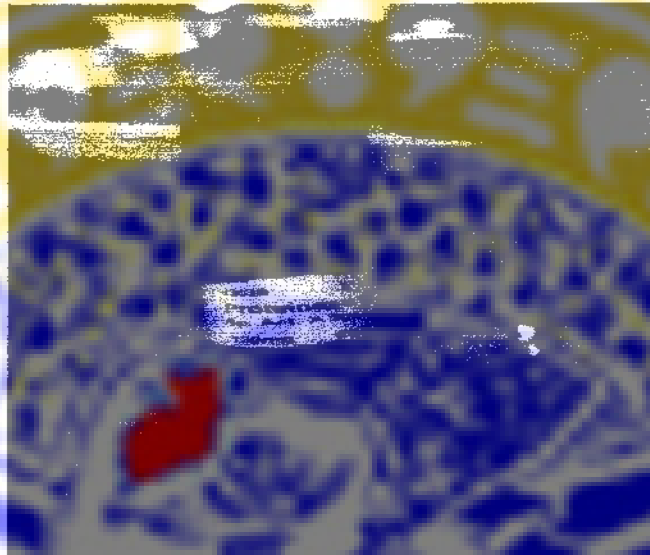
LAMPIRAN



Gene cyclers merk Biorad Jerman



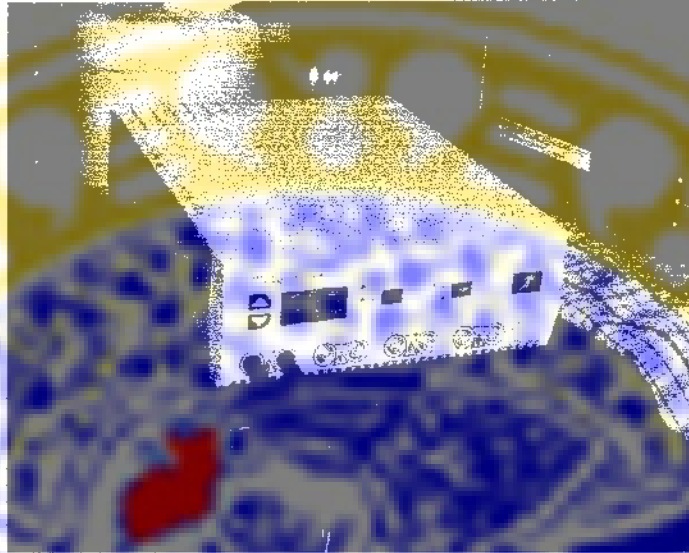
Elektroforesis dingin merk Hethich Jerman



Proteinase K



Gel agarose



Power supply



Gel apparatus



**PANITIA KELAIKAN ETIK
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

Nomor : 11/Panke.KKE/2004

Panitia Kelaikan Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, telah mempelajari secara seksama rancangan penelitian yang diusulkan, maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian berjudul :

**"KESAMAAN TIPE STRAIN S MUTANS ANAK BALITA MELALUI
ANALISA RESTRIKSI ENDONUKLEASE"**

Peneliti Utama : **DYAH SETYORINI, drg**

Unit / Lembaga/ Tempat Penelitian : Puskesmas Pucang Sewu Jember

DINYATAKAN LAIK ETIK

Surabaya, 12 Juli 2004



Prof. Retno Daktaningtih Soebagyo, drg, MHPed