

TERAPI PENGGANTIAN STRAIN SEBAGAI ALTERNATIF PENCEGAHAN KARIES GIGI

Retno Indrawati R. Rini Devijanti R.

Universitas Airlangga

Retno Indrawati, R. Rini Devijanti, R. Terapi Penggantian Strain sebagai Alternatif Pencegahan Karies Gigi. Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. 2003; 10 (Edisi Khusus):449-453

Abstract

Dental caries is a unique multifactorial infectious disease. In recent years, the prevalence of dental caries in most western countries has steadily declined. By contrast study done in some developing countries such as Zambia, Nigeria, Thailand and Indonesia showed a marked increase in dental caries. *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) is the most important agent of human caries. Cariogenic feature of these bacteria include synthesis intracellular polysaccharide, extracellular polysaccharide, lactic acid production and ability to survive at low pH levels. Potentially, caries can be reduced by interfering with transmission of *S. mutans*, eliminating established *S. mutans* populations from the oral cavity, increasing the acid resistance of the teeth and control of the carbohydrate composition of the diet. Oral anti *mutans* vaccines have been demonstrated in the laboratory, the costs involved in the development for human are relatively high. Studies Strain replacement therapy is a great promise in implantation of benign oral microbial strain capable of successfully competing with *S. mutans*.

Key words: Dental caries; streptococcus mutans; strain

Pendahuluan

Karies gigi adalah suatu penyakit infeksi yang paling umum diderita oleh manusia. Dari data epidemiologi prevalensi penyakit mulut dan gigi diderita 90% penduduk di Indonesia. Karies gigi memerlukan perhatian khusus, mengingat sifatnya yang tidak mungkin terjadi pembentukan struktur gigi kembali bila sudah terjadi kavitas. WHO telah menetapkan indikator dan standar "Oral Global Goal For the Year 2000", melalui status kesehatan gigi dan mulut pada anak kelompok usia 12 tahun sebagai indikator

utama dalam kriteria pengukuran karies gigi. Untuk keberhasilan program ini perlu diketahui *Performed Treatment Index (PTI)* yang menggambarkan motivasi anak untuk menumpat gigi, sebagai upaya mempertahankan gigi tetapnya. Hasil penelitian PTI di Indonesia masih jauh dari target Nasional tahun 2000 yaitu 50%. Demikian pula hasil penelitian yang telah dilakukan di Yogyakarta, Jakarta, Medan dan Surabaya, karies gigi pada anak-anak dari tahun ketahun tidak menunjukkan adanya penurunan baik dalam *dmf* maupun frekuensi.^{1,2}

Angka kejadian karies gigi tampaknya berhubungan dengan populasi *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) di dalam rongga mulut¹, kuman ini merupakan penyebab utama karies gigi dan dianggap paling kariogenik dari semua *oral Streptococci*.^{3,4,5,6} Disamping itu pemicu karies gigi adalah terjadinya pembentukan plak. Akibatnya akan terjadi akumulasi *S. mutans* serta kuman yang lain di permukaan gigi. Secara fisik plak dapat menghambat difusi asam ke dalam saliva, sehingga terjadi lokalisasi produk asam dengan konsentrasi yang tinggi pada permukaan enamel. Asam ini akan menurunkan pH plak, dan mampu menyebabkan dekalifikasi enamel. Apabila hal ini terjadi terus menerus akan memicu terjadinya karies gigi.^{7,8}

Karies gigi dapat dicegah secara potensial dengan mengganggu transmisi *S. mutans*, mengeliminasi pembentukan populasi *S. mutans* dari rongga mulut, meningkatkan resistensi asam pada gigi dan mengontrol komposisi karbohidrat pada makanan.⁷ Imunisasi untuk pencegahan karies gigi melalui oral, sistemik, pasif telah dicoba baik menggunakan seluruh sel, dinding sel, maupun aplikasi spesifik antibodi monoklonal untuk antigen permukaan I/II dari *S. mutans*. Tetapi sampai saat ini hasilnya belum maksimal, karena adanya efek samping reaksi silang dengan jantung, ginjal dan biayanya terlalu mahal.^{2,4,6,9}

Dewasa ini dengan berkembangnya teknologi rekombinan atau rekayasa genetika, para peneliti telah mencoba cara pencegahan karies gigi melalui terapi penggantian strain, melalui cara *pre-emptive colonization* atau *competitive displacement*. Pada penelitian tentang kolonisasi *pre-emptive*, *S. mutans* yang tidak dapat menyebabkan karies gigi, dikarenakan ketidakmampuan *S. mutans* memproduksi asam laktat atau tidak mampu mensintesis *Intracellular polysaccharida (ICP)*. Konsep tersebut adalah bahwa *S. mutans* non virulen akan mempunyai tempat yang secara ekologi sama dengan *S. mutans* yang virulen dan kemudian akan sanggup berkolonisasi

dengan bakteri kariogenik. Pada *competitive displacement* prinsipnya kuman yang non kariogenik sanggup bersaing untuk memindahkan atau menggantikan tempat kuman kariogenik yang asli.^{7,10} Strain efektor yang ideal menggunakan kuman non kariogenik yang secara terus menerus berada di dalam rongga mulut, mampu bersaing dengan *S. mutans*, bereplikasi dengan cepat dan mampu menahan perubahan pH.⁷

Hilman et al mengembangkan LDH mutant (*S. mutans* BCS3-L1) yang memproduksi mutacin tiga kali lebih banyak dan mempunyai potensi superkolonisasi, dapat dipertimbangkan sebagai strain induk. Terapi pengganti strain secara teoritis mempunyai proteksi terhadap karies gigi jangka panjang, yang secara tidak langsung akan meminimalkan biaya, selain itu strain-strain tersebut kemungkinan dapat ditransmisikan secara alami melalui penularan antar individu.^{7,11}

Tinjauan Pustaka

Karies Gigi

Karies gigi merupakan suatu penyakit infeksi jaringan keras gigi, yaitu enamel, dentin dan sementum yang disebabkan oleh aktivitas suatu mikroorganisme. Kuman yang dikatakan sebagai faktor utama penyebab karies gigi adalah *S. mutans*, walaupun mikroorganisme lain mungkin ikut mengambil bagian.^{2,3,4,7}

Menurut Balakrishnan (2000)⁷ mekanisme perlekatan *S. mutans* di permukaan gigi dapat melalui dua proses yaitu: a) *Sucrosa independent adherence*, merupakan reaksi melekatnya antara *S. mutans* dengan komponen saliva yaitu pelikel, tanpa adanya sukrose. Perlekatan tersebut melalui cara elektrostatik, *lectin like* dan interaksi hidrofobik, melalui protein permukaan dengan sifat perlekatannya reversibel; b) *Sucrosa dependent*, terjadi apabila perlekatan serta akumulasi *S. mutans* di permukaan gigi karena produksi dextran/glukan oleh enzim *glucosyltransferase (GTF)* terhadap

sukrosa dan biasanya perlekatannya bersifat ireversibel.

S. mutans memproduksi paling sedikitnya tiga macam GTF yaitu GTF-I bertanggung jawab dalam sintesis *water insoluble glucan* (WIG) atau λ (1--3). GTF-S, terutama mensintesis *water soluble glucan* (WSG) atau λ (1--6) dan GTF-SI yang memproduksi WSG dan WIG. Enzim ini memegang peranan dalam sintesa polisakarida ekstraseluler (dextran) dari substrat sukrosa, dengan jalan memindahkan unit glukosis atau fruktosil secara langsung kerantai poliglukan sebagai primer polimer. WSG bertanggung jawab dalam perlekatan pada permukaan gigi yang halus, sedangkan WIG sebagai faktor kariogenik dari *S. mutans*. Enzim GTF cenderung bersatu dengan produknya dan merupakan komposisi utama dalam plak gigi.^{12,13,14}

Koloni kuman rongga mulut yang dilapisi dextran/glukan dapat menurunkan sifat saliva sebagai pelindung dan antibakteri pada plak. Plak sendiri secara fisik dapat menghambat difusi asam ke dalam saliva, sehingga terjadi lokalisasi produk asam dengan konsentrasi yang tinggi pada permukaan email. Asam ini akan melepas ion hidrogennya yang akan bereaksi dengan kristal apatit, sehingga kristal apatit tidak stabil. Selain itu akan terbentuk air dan fosfat yang larut, yang akhirnya akan menghancurkan membran enamel. Proses selanjutnya adalah dekalsifikasi dentin yang mengakibatkan kerusakan gigi berupa lubang. Kavitas / lubang merupakan tempat yang mendukung untuk pertumbuhan kuman-kuman asidogenik, sehingga produksi asam meningkat dan demineralisasi akan berlangsung terus menerus, selanjutnya mengakibatkan terjadinya karies gigi.^{3, 7, 15}

S. Mutans sebagai Penyebab Karies Gigi

Clarke adalah peneliti pertama yang menemukan *S. mutans* pada tahun 1924. *S. mutans* dapat ditemukan dalam rongga mulut setiap individu sebagai flora normal. Beberapa alasan mengapa *S. mutans* sebagai kuman komensal rongga mulut dianggap penting dalam

hubungannya sebagai penyebab karies gigi adalah sebagai berikut: 1) *S. mutans* dapat membuat *intracellular Polysaccharide* (ICP) yang merupakan cadangan makanan untuk bertahan hidup, berkolonisasi dan membuat asam apabila intake sukrosa dari luar tidak ada; 2) Mampu mensintesa *extracellular polysaccharide* (Dextran/glukan) melalui aktivitas enzim *Glucosyltransferase* (GTF); dan 3) *S. mutans* merupakan kuman asidogenik dan asidurik.

Kloning Gen

Kloning gen merupakan prosedur untuk menghasilkan suatu fragmen DNA yang mengandung gen spesifik. Gen yang mengatur senyawa-senyawa penting seperti hormon, enzim dan sebagainya, yang dapat diambil dari mikroorganisme asalnya dan dimasukkan ke mikroorganisme lain yang produksinya dapat diperoleh dengan lebih mudah dengan jumlah lebih besar. Pada umumnya kloning dapat dikerjakan melalui pembuatan pustaka genom atau dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR). Kloning gen yang selama ini dilaporkan sering menggunakan cara pertama, hal ini terkait dengan sulitnya merancang primer akibat jarangya ditemukan homologi di antara gen-gen dari enzim, hormon yang ada.¹¹

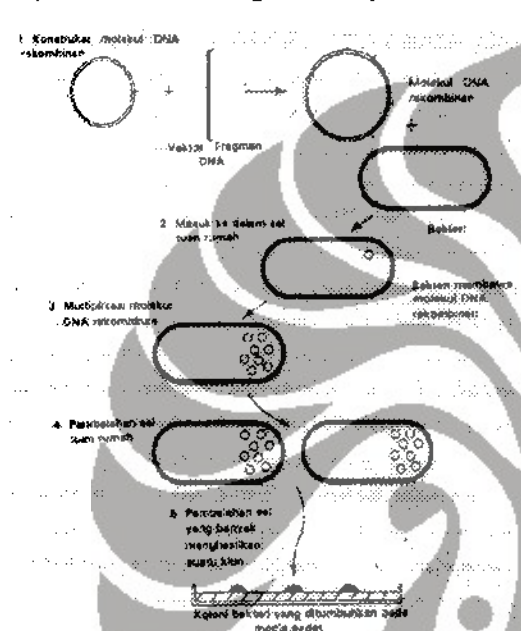
Langkah dasar dalam kloning gen adalah sebagai berikut:

1. Suatu fragmen DNA yang mengandung gen yang akan diklon di-insersikan pada molekul DNA sirkular yang disebut vektor, untuk menghasilkan suatu molekul DNA rekombinan.
2. Vektor bertindak sebagai wahana yang membawa gen masuk kedalam sel tuan rumah (host) yang biasanya berupa bakteri
3. Didalam sel host vektor mengadakan replikasi, menghasilkan banyak kopi atau turunan yang identik, baik vektornya sendiri maupun gen yang dibawa
4. Ketika sel host membelah, kopi molekul DNA rekombinan diwariskan pada

progeni dan terjadi replikasi vektor selanjutnya.

5. Setelah terjadi sejumlah besar pembelahan sel, maka dihasilkan koloni atau klon sel yang identik.

Para ahli bioteknologi telah mencatat beberapa keberhasilan dalam kloning gena misalnya insulin rekombinan, hormon pengatur kadar glukosa darah, interferon sebagai antivirus, antigen inti hepatitis B untuk diagnostik hepatitis B.⁷



Gambar 1. Langkah-langkah dasar dalam kloning gena⁸

Pembahasan

Etiologi karies gigi merupakan fenomena multifaktorial, terutama interaksi dari host, lingkungan, kuman dan waktu, yang bisa disederhanakan menjadi keseimbangan antara faktor internal (host) misalnya Ras, genetik, umur, gigi, saliva, respons imun) dan faktor eksternal (faktor kariogenik), antara lain pola makan, diet, kuman. Kedua faktor ini saling berinteraksi selama kehidupan seseorang. Sehingga untuk pencegahan karies gigi yang optimal seharusnya dilakukan kombinasi faktor-faktor etiologi eksternal.^{2,7,9} Pemicu terjadinya karies gigi adalah plak gigi, yang dibentuk karena produksi dextran/glukan dari *S.mutans* melalui enzim GTF. Sehingga mengeliminasi

S.mutans dalam rongga mulut merupakan salah satu cara pencegahan yang dewasa ini banyak diupayakan.^{2,3,4} Balakrishnan (2000)⁷ telah melakukan terapi *competitive displacement* melalui pemindahan *Streptococcus salivarius* (*S.salivarius*) strain TOVE-R yang ternyata tumbuh lebih cepat dari pada *S.mutans*, sehingga level *S.mutans* menurun dan frekuensi karies gigi juga menurun.

Hillman dkk⁷ melakukan pencegahan karies gigi melalui terapi *pre-emptive colonization* dengan menggunakan *S.mutans* strain JH1001 yang memproduksi bakteriosin (merupakan protein dalam *S.mutans* yang berpengaruh dalam transmisi antar individu) dua kali lebih banyak, dimasukkan dalam rongga mulut lima orang sukarelawan, yang mempunyai level *S.mutans* sangat tinggi. Dua setengah tahun kemudian strain *S.mutans* JH1001 masih ada pada tiga sukarelawan, dengan populasi yang berubah, tetapi jumlah total *S.mutans* (Strain JH1001 dan *S.mutans* asli) tidak berpengaruh, begitu pula *S.mutans* yang asli tidak berkembang menjadi resisten terhadap bakteriosin.

Stahberg (2001)¹⁶ telah memurnikan enzim dextranase yang diproduksi oleh *Penicillium minioluteum*. Enzim *dextranase* tersebut dikatakan mampu menghidrolisis *dextran* ikatan λ (1-6) dan merupakan enzim yang dapat dikomersialkan dalam industri pabrik gila. Dikatakan pula enzim tersebut berpotensi dalam menurunkan plak gigi.^{17,18,19} Fulsang (2000)²⁰ melaporkan penelitian tentang *mutanase* jamur rekombinan dari *Trichoderma harzianum* dan *Penicillium purporogenum* diklon kemudian diekspresikan ke *aspergillus oryzae*. *Mutanase* merupakan enzim yang mampu menghidrolisis *dextran* ikatan λ (1-3) yang merupakan penentu *adherent* molekul glukosa.

Kesimpulan

Dengan makin berkembangnya bioteknologi kloning gena dapat dipikirkan

di kemudian hari pencegahan karies gigi dengan menginsersi fragmen DNA yang mengandung gena enzim *dextranase* dari *Penicillium. minioluteum* atau gena enzim *mutanase* dari *Trichoderma harzianum* dan *Penicillium purporogenum* kedalam host vektor mikroorganisme kariogenik dalam rongga mulut, sebagai terapi pemindahan strain melalui *competitive displacement*.

Daftar Pustaka

1. Departemen Kesehatan RI : Profil Kesehatan Gigi dan Mulut Indonesia pada *PELITA VI*, Jakarta, 1999:2-20
2. Wunder D and Bowen WH.: *Oral diseases*. 2000. 6 : 289-296
3. Roeslan BO.: *Imunologi oral kelainan di dalam rongga mulut*, FKU UI, Jakarta, 2002: 127-139
4. Balakrishnan M, Simmond RS, Tagg JR: Dental caries is preventable infectious disease, *Australian dent Journal*, 2000.45 (4) : 235-245
5. Suraningtias: Peran Papain pada pelepasan plak gigi tiruan serta sifat biokompatibilitas, *disertasi S-3 Program Pascasarjana Unair*. 2002 :11-13
6. Bratthall: *Dental caries in European*, *Oral Sciences*, 1996.104, (4):607-613
7. Gronroos L, Saarela M, Matto J, et al.: *Mutacin productin by Streptococcus mutans may promote transmission of bacteria from mother to child*, *Infect Immun*. 1998. 6 (66) :2593-2600
8. Brown T.A.: *Gene Cloning an Introduction* (alih bahasa: Muhammad A.S dan Praseno) Yayasan Essentia Medica Yogyakarta. 1991: 3-24
9. Kopec LK.: *Influence of antibody on the structure of glucan Caries res* . 2002.36, (2): 108 – 115
10. Ajdic. D, : Genom squence of *Streptococcus mutans* UA 159 a cariogenic dental pathogen, *PNAS*, 2002. 99, (22): 14434 – 14439
11. Tsumori: *Identification of essential amino acid in Streptococcus mutans glucosyltransferase*, *j. bacteriology*, 1997.179 (11):3391 – 3396
12. Carranza F.A: *Glickmans Clinical periodontology*, 7 th ed, Philadelphia WB Saunders Company. 2000: 364 – 364.
13. Stahberg.J.: Protein engineering of recombinant *Penicillium minioluteum* dextranase for structure determination *SBNNet2001*<http://alpha2.bmc.uu.se/sbnet/conf01/poster>
14. Igarashi .T., Yamamoto.A., Goto.N.:. *Characterization of the dextranase gen (dex) of S.mutans and its recombinant product in a Escherichia coli host*, *Microbiol Immunol*. 1995 .39 (6) : 387 – 391
15. Rodriquez: Some structures of an insoluble alpha D-glucan from a mutan strain. *J. Ind Microbiol Biotechnol*. 2000. 23(1): 656 – 660
16. Russel: *General bacteriological aspects of mutans streptococcus*, Rev of literature. 2000:1-4
17. Fuglsang CC, Berka RM, Wahleitner JA, et al.: *Biochemical Analysis of Recombinant Fungal Mutanase. Anew Family alpha 1-3, glucanases with Novel Binding Domain*. *J. Biol Chem*. 2000.275 (3): 2009 - 2018