

## LAMA PEMBERSIHAN EFISIEN PAPAIN PADA PELEPASAN PLAK GIGITIRUAN

Siti Sunarintyas

Biomaterial, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada

Siti Sunarintyas. Lama Pembersihan Efisien papain pada Pelepasan Plak Gigi Tiruan. Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. 2003; 10(Edition Khusus): 211-215

### Abstract

Everyday denture cleansing is needed to prevent the mouth from denture stomatitis and esthetic concern. Enzyme cleansers are developed in attempt to break down the organic components of denture plaque. The aim of this research is to determine the efficient cleansing duration of papain solution to remove 24-hour denture plaque. The research was done on 16 patients with complete dentures. Plaque removal was determined by Lowry method and SDS PAGE. The result shows that papain dose required to hydrolyze 24-hour denture plaque is 15.66 TU/mg enzyme activity for 10 minutes soaking. Soaking the denture in papain solution for 10 minutes makes all of the detected plaque protein bands remove. In conclusion, efficient cleansing duration of papain solution to remove 24-hour denture plaque is papain activity of 15.66 TU/mg by soaking duration of 10 minutes. Further research is suggested to examine papain residue on the denture that may influence the denture wearer biocompatibility.

Key words: Cleansing duration; papain; denture plaque

### Pendahuluan

Gigi tiruan yang dipasang di dalam mulut akan segera berkontak dengan saliva. Gigi tiruan mengadsorpsi sejumlah molekul saliva dan membentuk lapisan organik tipis yang disebut pelikel. Pelikel mengandung protein yang dapat mengikat mikroorganisme rongga mulut sehingga melekat pada permukaan gigitiruan. Mikroorganisme ini akan berkoloni dengan mikroorganisme lain dan berkembang biak membentuk biofilm pada permukaan gigitiruan yang disebut plak.<sup>1</sup>

Mikroorganisme dan produk mikroorganisme dapat menyebabkan keradangan jaringan mukosa mulut yang

disebut denture stomatitis.<sup>2</sup> Plak yang terakumulasi juga dapat menimbulkan bau mulut kurang sedap dan perubahan warna gigitiruan.<sup>3</sup> Untuk mencegah terjadinya keadaan patologis dan gangguan estetika tersebut perlu dilakukan pembersihan gigitiruan setiap hari.

Pembersihan gigi tiruan dapat dilakukan dengan cara mekanik atau kimia. Pembersihan mekanik dengan penyikatan gigitiruan berulang-ulang mempunyai kelemahan dapat menyebabkan keausan pada plat gigitiruan sehingga gigitiruan mudah patah.<sup>4</sup> Pembersihan kimiawi merupakan alternatif dari pembersihan mekanik terutama bagi pemakai gigitiruan lanjut usia atau penderita cacat tubuh. Penelitian Sunarintyas<sup>5</sup> menunjukkan bahwa papain yang dikombinasi dengan

aktivator sistein 0.02M dan EDTA 0,003M dengan aktivitas sebesar 15,66TU/mg efektif melepaskan plak gigitiruan-24 jam. Hal ini berdasarkan pengukuran rerata kadar plak gigitiruan-24 jam pada 42 orang pemakai gigitiruan yang tinggal di lingkungan perkotaan sebesar 23,56 $\mu$ g.<sup>6</sup> Papain diperkirakan melepaskan plak gigitiruan dengan cara menghidrolisis protein matriks plak.<sup>5</sup> Untuk mendapatkan dosis pemakaian papain sebagai alternatif pembersih gigitiruan, penelitian ini bertujuan mendapatkan waktu efisien yang dibutuhkan papain untuk melepaskan plak gigitiruan-24 jam.

### Bahan dan Cara

Pemeriksaan waktu yang diperlukan papain untuk menghidrolisis protein plak secara kuantitatif menggunakan metode Lowry.<sup>7</sup> Untuk pemeriksaan ini diperlukan bahan: plak, reagen Lowry, *disclosing solution*, akuades, NaOH 1 N, papain 15,66 TU/mg; dan alat spektrofotometer, *stopwatch*, serta sikat gigi. Untuk pemeriksaan protein plak yang terhidrolisis secara kualitatif digunakan metode SDS PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*). Alat yang diperlukan pada pemeriksaan ini adalah : perangkat elektroforesis vertikal, *gel dryer*, sikat gigi, dan *stopwatch*. Bahan yang digunakan adalah : plak, PBS pH 7,2, ammonium sulfat 70%, *gradient gel* 10%, bufer elektroforesis, *stacking gel* 3%, marker protein (6.500-205.000 Da), *millipore* 0,22  $\mu$ m serta papain 15,66TU/mg.

Pemeriksaan hidrolisis protein plak oleh papain secara kuantitatif memerlukan plak yang berasal dari gigitiruan pasien. Sebelum pemeriksaan dilakukan, pasien diberi tahu tentang tujuan dan manfaat penelitian. Jika pasien setuju mengikuti penelitian, pasien diminta untuk menandatangani *informed consent*. Gigitiruan rahang atas dibersihkan menggunakan sikat gigi. Kontrol kebersihan gigitiruan dilakukan dengan mengolesi gigitiruan dengan *disclosing solution*. Pasien diminta memakai

gigitiruan selama 24 jam tanpa dilepas. Setelah pemakaian 24 jam, gigitiruan dilepas, dibilas dengan akuades untuk membersihkan *food debris* yang menempel. Gigitiruan dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang mengandung 100 ml larutan papain. Kadar protein larutan perendam pada perendaman 1 menit 15 detik, 2 menit 30 detik, 5 menit, 10 menit dan 20 menit diperiksa menggunakan metode Lowry.<sup>7</sup> Setelah perendaman 20 menit, gigitiruan diambil dan plak yang masih melekat disikat dalam 100 ml larutan PBS. Kadar protein plak tersisa dihitung menggunakan metode Lowry.<sup>7</sup> Plak yang terlepas dihitung dalam  $\mu$ g dan persen. Persentase plak yang terlepas dari permukaan gigitiruan adalah banyaknya plak yang terlepas dibagi banyaknya plak total dikalikan 100%.

Cara pemeriksaan menggunakan metode SDS PAGE adalah sebagai berikut: plat gelas bersih, *spacer*, klem dipasang pada *stand*. *Gradient former* dihubungkan dengan pompa peristaltik. Larutan gel 10% dituangkan di atas plat kaca sebanyak 4ml. Kran penutup dibuka dan pompa peristaltik dihidupkan. Larutan dibiarkan mengalir ke slab gel sampai larutan dari tabung habis. Butanol ditambahkan untuk menutup permukaan larutan. Larutan dibiarkan selama 30 menit sampai terjadi polimerisasi. *Gradient* dibersihkan dengan menyemprotkan akuades ke permukaan gel. *Stacking gel* disiapkan dan dituang di atas *gradient gel* hingga penuh. Sisir dipasang pada posisi yang tepat dan dibiarkan hingga *stacking gel* membeku. Sisir diambil dan gel siap dipakai. Bufer elektroforesis sebanyak 800ml dimasukkan ke dalam tangki elektroforesis. Slab gel dipindahkan ke dalam tangki elektroforesis. Protein marker dimasukkan ke dalam sumuran gel pertama dengan mikropipet. Larutan sampel sebanyak 20  $\mu$ l dimasukkan ke dalam sumuran gel berikutnya. Tangki diisi bufer elektroforesis sampai elektroda terendam larutan. Perangkat elektroforesis dihubungkan dengan *power supply* dengan voltase 100 volt untuk running gel selama 1 jam. Slab gel diambil, gel dilepas dari platnya. Gel dilakukan pewarnaan menggunakan silver. Gel dikeringkan di dalam *gel dryer*. Prosedur di atas diulangi

untuk plak yang diambil dari permukaan gigitiruan setelah perendaman dalam larutan papain selama 1 menit 15 detik, 2 menit 30 detik, 5 menit, 10 menit, dan 20 menit. Berat molekul (BM) protein dihitung sebagai berikut : *relative mobility* (Rf) protein marker diukur dengan cara membandingkan jarak protein (band) terhadap total running gel atau tinggi gel. Hasil pengukuran Rf melawan BM protein marker yang telah diketahui digambar pada kertas semi logaritma. Analisis regresi linier dilakukan untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat. Karakterisasi BM protein sampel dapat diperoleh dari pengukuran Rf masing-masing sampel diplotkan dengan

garis yang terdapat pada kertas semi logaritma dari marker protein atau dengan cara memasukkan perolehan Rf pada persamaan regresi.

### Hasil

Deskripsi rerata dan simpang baku hasil pengukuran banyaknya protein plak yang terhidrolisis papain dan PBS berdasar dimensi waktu serta kemaknaan perbedaan dengan uji t seperti pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Deskripsi rerata dan simpang baku banyaknya protein plak ( $\mu\text{g}$ ) yang terhidrolisis papain dan PBS berdasar dimensi waktu, serta kemaknaan perbedaan dengan uji-t

Lama perendaman	Rerata dan simpang baku		p
	Kelompok perendaman dalam larutan papain	Kelompok perendaman dalam larutan PBS	
1 menit 15 detik	1,75 $\pm$ 0,15	0	0,001 **
2 menit 30 detik	8,97 $\pm$ 0,74	0	0,001 **
5 menit	19,56 $\pm$ 0,78	0	0,001 **
10 menit	23,40 $\pm$ 0,67	0	0,001 **
20 menit	23,40 $\pm$ 0,67	0	0,001 **

Keterangan : p=tingkat kemaknaan: \*\*= sangat bermakna

Untuk mengetahui tingkat kemaknaan banyaknya protein plak yang terhidrolisis oleh papain berdasar dimensi waktu dilakukan uji statistik menggunakan analisis varian 1 arah. Hasil analisis menunjukkan harga  $p < 0,01$ . Hal ini berarti ada perbedaan yang sangat bermakna banyaknya protein plak yang terhidrolisis oleh papain berdasar dimensi waktu. Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok waktu perendaman dilakukan uji LSD. Hasil uji LSD memperlihatkan bahwa banyaknya protein plak yang terhidrolisis papain pada kelompok lama perendaman 10 menit tidak berbeda bermakna dengan kelompok lama perendaman 20 menit. Hal ini berarti bahwa

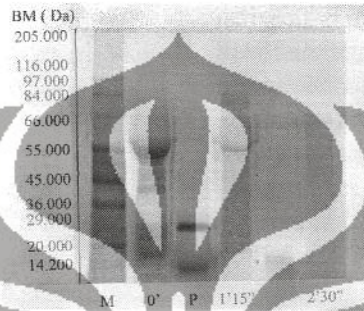
lama perendaman 10 menit dalam larutan papain efisien menghidrolisis protein plak gigitiruan.

Untuk mengetahui persentase banyaknya plak yang terhidrolisis secara kumulatif oleh larutan papain berdasar dimensi waktu, dilakukan perhitungan persentase seperti pada tabel 2. Dari tabel tersebut tampak bahwa lama perendaman 10 menit dalam larutan papain mampu melepaskan plak gigitiruan 100 %. Hasil pemeriksaan SDS PAGE seperti pada gambar 1 dan 2 berikut

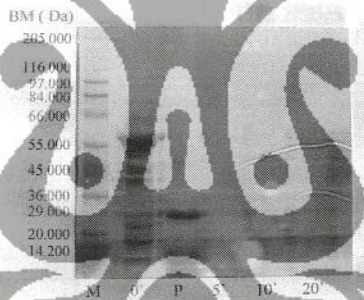


Tabel 2. Deskripsi rerata dan simpang baku persentase banyaknya plak yang terhidrolisis secara kumulatif oleh larutan papain berdasar dimensi waktu

Lama perendaman	Rerata	Simpang baku
1 menit 15 detik	7,50	0,64
2 menit 30 detik	38,20	2,24
5 menit	83,59	1,84
10 menit	100	0
20 menit	100	0



Gambar 1. Hasil pemeriksaan SDS PAGE I (Keterangan : M= protein marker, P= papain, BM= berat molekul, Da= Dalton)



Gambar 2. Hasil pemeriksaan SDS PAGE I (Keterangan : M= protein marker, P= papain, BM= berat molekul, Da= Dalton)

## Diskusi

Tabel 1 menunjukkan perbedaan sangat bermakna banyaknya protein plak yang terhidrolisis papain dan PBS. PBS adalah pelarut dari papain. Berdasarkan hal ini dapat disimpulkan bahwa papain yang digunakan menghidrolisis protein plak.

Analisis lebih lanjut dengan analisis varian 1 arah dan uji LSD menunjukkan bahwa perbedaan banyaknya protein plak yang terhidrolisis papain hanya terjadi

sampai dengan lama perendaman 10 menit. Pada lama perendaman di atas 10 menit banyaknya plak terhidrolisis tidak bermakna dengan lama perendaman 10 menit. Hal ini sesuai dengan tabel 2 dimana pada perendaman 10 dan 20 menit dalam larutan papain melepaskan plak 100%. Berdasarkan hasil ini dapat disimpulkan bahwa perendaman dalam larutan papain 15,66TU/mg selama 10 menit sudah efisien melepaskan plak. Jika dibandingkan dengan pembersih gigi tiruan alkalin peroksida yang membutuhkan

waktu 1 malam untuk membersihkan keseluruhan plak<sup>8</sup>, maka pemakaian papain lebih efisien.

Pemeriksaan SDS PAGE menunjukkan bahwa pada perendaman 1 menit 15 detik band tampak lebih tipis jika dibandingkan dengan band plak sebelum berkontak dengan papain. Band yang tebal, ketebalannya menjadi berkurang, dan band yang tipis semakin terlihat samara-samar. Papain tampaknya menghidrolisis semua protein plak. Hal ini berhubungan dengan sifat papain yang mempunyai variasi pemilihan substrat yang lebih luas dibandingkan dengan enzim proteolitik lain. Papain dapat memecah ikatan peptide hampir pada semua residu asam amino.

Pada perendaman 2 menit 30 detik band tampak semakin tipis. Band yang pada awalnya tebal (BM 61.407 Da) sama tipisnya dengan band yang lain. Hal ini berarti bahwa sampai dengan perendaman 2 menit 30 detik, plak dengan BM 61.407 Da paling banyak terhidrolisis. Band dengan BM 61.407 Da yang berada di daerah dekat albumin, diperkirakan mempunyai struktur yang mirip dengan albumin. Albumin mempunyai komposisi asam amino arginin sebanyak 26, lisin 60, dan fenilalanin 30. Komponen asam amino arginin, lisin, dan fenilalanin yang banyak pada albumin memungkinkan protein albumin terhidrolisis oleh papain karena papain bersifat memecah ikatan peptide terutama pada arginin, lisin, dan fenilalanin.

Pada perendaman 5 menit band tampak sangat tipis. Jika dihubungkan dengan tabel 2 tampak bahwa 84% plak sudah terlepas dan hanya tersisa 16%. Jumlah ini sangat sedikit sehingga tidak jelas terlihat pada pemeriksaan SDS PAGE. Pada perendaman 10 dan 20 menit band tidak tampak semuanya. Papain menghidrolisis semua protein plak sehingga struktur regular plak rusak dan plak terlepas dari permukaan gigitiruan. Meskipun demikian, tampak ada 1 band tersisa pada gel yaitu band dengan BM 23.419 Da. Band tersebut adalah band papain. Hal ini berarti ada papain yang melekat pada gigitiruan. Papain tersisa kemungkinan karena adanya sifat kekasaran permukaan gigitiruan, porositas plat, dan sifat plat resin akrilik

yang mempunyai gugus C=O (bermuatan parsial) yang dapat berikatan dengan gugus -NH dari protein papain dengan ikatan hidrogen.

## Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa dosis papain yang diperlukan untuk menghidrolisis protein plak yang melekat pada gigitiruan-24 jam adalah aktivitas papain 15,66TU/mg dengan lama perendaman 10 menit.

## Daftar Pustaka

1. Edgerton M and Levine MJ. Biocompatibility: its future in prosthodontics research. *J Prosthet Dent* 1993; 69:406-415
2. Nikawa H and Hamada T. Efficacy of commercial denture cleansers. *Maj Ked Gigi (Dent J)* 1997; 31:77-82
3. Jagger DC and Harrison A. Denture cleansing-the best approach. *Br Dent J* 1995; 178:413-417
4. Abelson DG. Denture plaque and denture cleanser. *J Prosthet Dent* 1981; 45:376-379
5. Sunarintyas S. Peran papain pada pelepasan plak gigitiruan serta sifat biokompatibilitas. Surabaya: disertasi Pascasarjana Unair. 2002; 129-130.
6. Sunarintyas S dan Wongsosupantio S. Akumulasi plak pada permukaan material gigitiruan resin akrilik. *Maj Ked Gigi (Dent J)* 2001; 34:125-129
7. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AF and Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-269
8. Shay K. Denture hygiene: a review and update. *J Contemp Dent Pract* 2000; 2:028-041
9. Palmer T. *Understanding enzymes*. 2<sup>nd</sup> ed. Chichester : Ellis Horwood Limited. 1985; 79-87