

IDENTIFIKASI *S.MUTANS* DAN *S.SOBRINUS* DENGAN MORFOLOGI KOLONI DAN ANALISA BIOKIMIA

Sutadi Heriandi*, Yuke Heriandi**

*Departemen IKGA Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

**Departemen IKGA Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti

Sutadi Heriandi, Yuke Heriandi. Identifikasi *S. Mutans* dan *S.Sobrinus* dengan morfologi koloni dan analisa biokimia. Indonesian Journal of Dentistry 2004; 11(3): 109-109.

Abstract

Mutans streptococci are considered as major bacteria in human dental caries, and *S. mutans* and *S. sobrinus* are the ones most commonly found in humans. It has been shown from previous study that the numbers of *S. sobrinus* in oral samples are usually underestimated, and the *S. sobrinus* colonies are often misidentified as *S. mutans*. The aim of this study was to identify *S. mutans* and *S. sobrinus* from dental plaque of children. Dental plaque samples were collected using sterile cotton swabs from first and second upper deciduous molars from 3 children. Samples of dental plaque were inoculated onto MSB-0.5 % yeast extract-20% sucrose. Identification of *S.mutans* and *S. sobrinus* was performed using examination of colony morphology and biochemical analysis with inulin and raffinose. Identification results were then documented as digital images with Olympus Digital BX 51. *S. mutans* forms convex, translucent colonies with rough margins, while the *S. sobrinus* colonies are translucent, circular, with pinpoints and smooth margins. Agglutinating bubble often accumulates on top of the colony when excessive glucan is synthesized from sucrose. Biochemical analysis had showed positive reaction on *S. mutans*, and negative on *S. sobrinus*. From this study it can be concluded that *S. mutans* and *S. sobrinus* could be identified clearly with examination of colony morphology and biochemical analysis.

Keywords: Identification, *S.mutans* and *S.sobrinus*

Pendahuluan

Karies merupakan masalah utama dalam bidang kedokteran gigi. Terjadinya karies merupakan interaksi antara bakteri, karies, makanan, serta adanya gigi geligi dalam mulut. Salah satu faktor untuk terjadinya karies gigi adalah bakteri terutama streptokokus. Berdasarkan strain yang di

temukan pada manusia sampai saat ini yaitu *Streptokokus mutans* (*S.mutans*) strain c,e,f dan *Streptokokus sobrinus* (*S.sobri-nus*) strain d,g. Pada umumnya dari beberapa literatur kedua bakteri ini sulit dibedakan karena mempunyai sifat yang hampir sama.^{1,2,3,4}

Hasil penelitian terdahulu menyatakan bahwa *S.mutans* merupakan bakteri penyebab karies gigi

paling dominan dibandingkan dengan *S.sobrinus*. Akan tetapi pendapat tersebut masih menimbulkan kontroversi, karena masih adanya perdebatan antara peran *S.mutans* dan *S.sobrinus* dalam memproduksi asam penyebab demineralisasi email gigi sebagai awal terjadinya lesi karies gigi. Adanya kontroversi ini seperti dikemukakan oleh de Soet⁵ yang menyatakan tidak ada hubungan antara jumlah *S.mutans* dengan terjadinya karies gigi. Begitu pula halnya dengan keberadaan *S.sobrinus* yang sampai saat ini belum dapat teridentifikasi dengan baik sehingga sulit dibedakan dengan *S.mutans*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi *S.mutans* dan *S.sobrinus* dengan cara pemeriksaan morfologi koloni dan analisa biokimia.

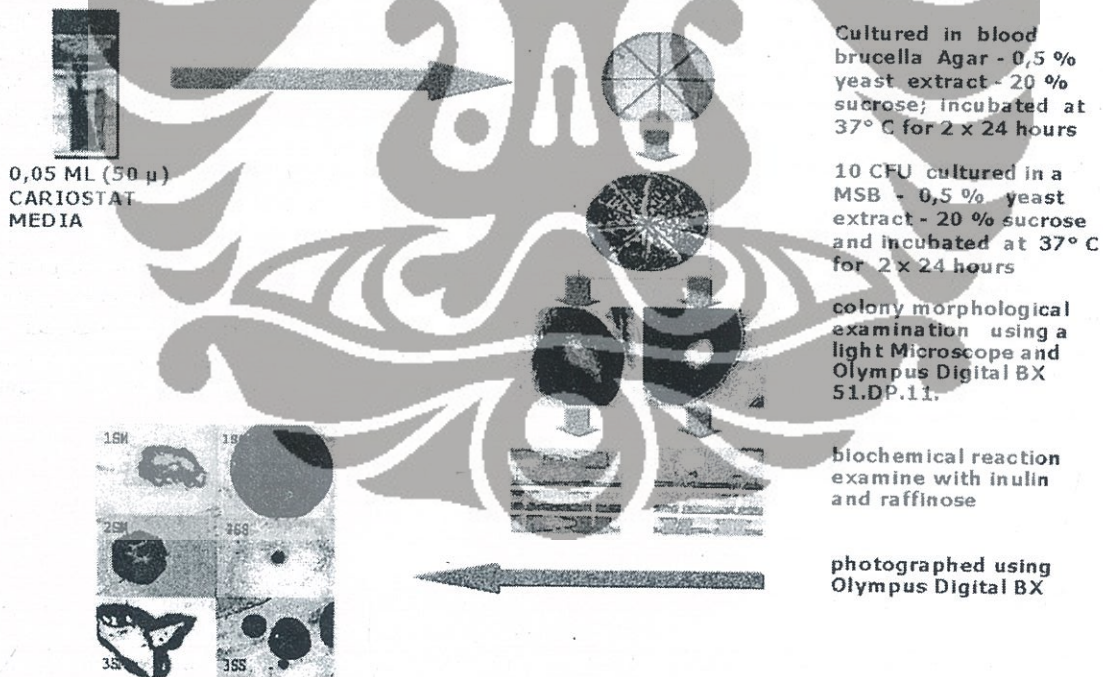
Bahan dan Cara Kerja

Identifikasi *S.mutans* dan *S.sobrinus*, dilakukan dari plak 3 sampel anak. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara pengambilan plak dari

permukaan bukal gigi molar sulung pertama dan kedua rahang atas kiri dan kanan, dilakukan dengan menggunakan *cotton swab* steril. Setelah itu *cotton swab* dimasukkan ke dalam ampul berisi media transport Cariostat,^{6,7,8} dan selanjutnya dibawa ke laboratorium (Gambar 1).

Di laboratorium, setelah cairan media Cariostat disonifikasi, diambil 0,05 ml (50 µ) untuk dibiakkan dalam lempeng agar *brucella* darah dengan komposisi ekstrak ragi 0,5 % serta sukrosa 20 %, selanjutnya diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37 derajat Celcius. Selanjutnya 10 CFU bakteri diambil dan dibiakkan dalam media lempeng agar *Mittis Salivarius Bacitracin* (MSB) dengan komposisi ekstrak ragi 0,5 % dan sukrosa 20 % yang dibagi menjadi 10 bagian dan diberi penomoran. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37^o C selama 2 x 24 jam. Hasil biakkan selanjutnya dilakukan pemeriksaan morfologinya. Pemeriksaan morfologi koloni untuk identifikasi dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya biasa dan difoto dengan Olympus Digital BX 51 (Gambar 1).

Selanjutnya dilakukan pemeriksaan reaksi



Gambar 1: Bahan dan cara identifikasi *S.mutans* dan *S.sobrinus* dengan cara pemeriksaan morfologi biokimia dan reaksi biokimia

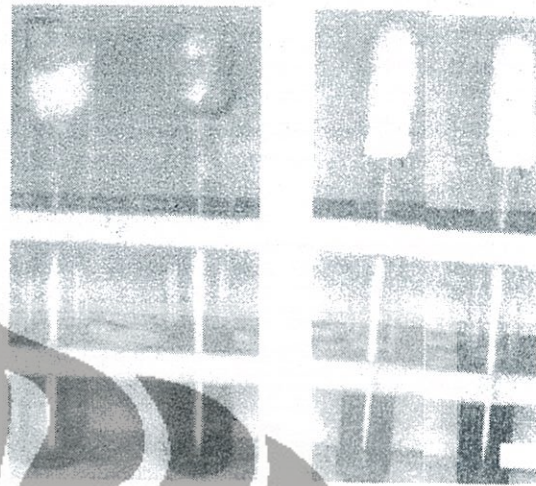
biokimia dengan menggunakan gula Inulin dan Rafinosa. Gula Inulin dan Rafinosa secara literatur telah memperlihatkan adanya reaksi yang khas antara *S.mutans* dan *S.sobrinus*. Sampel diambil dari 10 CFU hasil biakan yang telah teridentifikasi secara morfologi koloni sebagai *S.mutans* dan *S.sobrinus*. *S.mutans* dan *S.sobrinus* yang telah teridentifikasi baik dengan morfologi koloni dan analisa reaksi biokimia, kemudian dibuat foto dokumentasinya dengan Olympus Digital BX 51.

Hasil

Hasil pemeriksaan morfologi koloni *S mutans* ditemukan konveks, tranluscen dengan tepi yang kasar, sedangkan *S sobrinus* translusen, bulat berbentuk titik dengan bentuk koloni yang halus, (Gambar 2). Hasil pemeriksaan analisa biokimia memperlihatkan *S.mutans* bereaksi positif dengan Inulin dan Rafinosa, sedangkan *S.sobrinus* negatif, lihat Gambar 3.



Gambar 2. Hasil identifikasi *S.mutans* (kiri) dan *S.sobrinus* (kanan) dengan cara pemeriksaan morfologi koloni.



Gambar 3. Hasil analisa biokimia *S.mutans* (kiri) dan *S.sobrinus* (kanan)

Pembahasan

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa identifikasi *S.mutans* dan *S.sobrinus* dapat dilakukan dengan morfologi koloni yaitu pemeriksaan biakan dengan menggunakan mikroskop biasa dengan peninaran alami (*day light*). Hasil morfologi terlihat jelas perbedaannya seperti yang terlihat pada Gambar 2.

Sedangkan untuk mempertegas identifikasi apakah *S.mutans* berbeda dengan *S.sobrinus* dapat dilakukan analisa reaksi biokimia, dari hasil penelitian yang telah dilakukan terlihat jelas bahwa *S.mutans* memberikan reaksi yang positif terhadap gula inulin dan rafinosa. Hasil penelitian ini menunjukkan apabila kita menggunakan cara yang tepat dengan dua metode yang berbeda maka akan terlihat jelas perbedaannya.

Hasil penelitian di atas mendukung hasil penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa cara termudah untuk identifikasi *S.mutans* dan *S.sobrinus* adalah dengan pemeriksaan morfologi koloni yang dibiakkan dalam media selektif *Mittis Salivarius Baci-tracin* (MSB) dengan komposisi 0,5 % ekstrak ragi dan 20 % sukrosa yang dilihat dengan mikroskop biasa dengan peninaran alami. Sedangkan untuk mempertegas perbedaan dapat digunakan reaksi biokimia⁹.

Walaupun demikian ada bermacam tehnik lain dan tentu pula yang membutuhkan ketrampilan khusus yaitu : *Immuneblotting Technique* (IBT) yang

dikombinasikan dengan *Monoclonal antibodies* (Mabs). Selain itu pula dapat menggunakan teknik *Tryptone-Yeast extract Cystine-Sucrose-Bacitracin* (TY-CSB).¹⁰ Kedua teknik di atas dalam mengidentifikasi *S.sobrinus* akan memberikan hasil yang lebih akurat. Akan tetapi penggunaan bahan kedua teknik di atas sangat mahal.

Kesimpulan

S.mutans dan *S.sobrinus* yang ditemukan mempunyai tipe gambaran morfologi yang berbeda, akan tetapi keduanya dapat teridentifikasi dengan jelas bila menggunakan pemeriksaan morfologi dan analisis biokimia. Kedua teknik ini memerlukan ketelitian yang cukup walaupun sederhana dan biaya yang murah bila dibandingkan dengan teknik lainnya.

Kepustakaan

1. Macfarlane TW, Samaranayake LP. *Clinical Oral Microbiology*. Ed.1., Wright London 1989: 35-50.
2. De Soet JJ, Van Steenberghe, de Graaff J. a. *Streptococcus Sobrinus and Dental Caries*. GPM-Design 1990: 10-20.
3. Lindquist B. *Mutans streptococci in Human Dentition. Some factors Influencing Colonization and Distribution*. Departement of Cariology Faculty of Odontology University of Goteborg Sweden 1991: 7-28.
4. Marsh P, Martin, MV. *Oral Microbiology*. Ed. 4. Wright Oxford 2000: 83-103.
5. De Soet JJ, Holbrook WP, Amerongen WE, Van Schipper E, Homburg CHE, Graaf J. b. *Prevalence of S. sobrinus in Relation to Dental Caries in Children from Iceland and The Netherlands*. GPM- design. 1990: 56-65.
6. Shimono T, Mizuno J, Nono-mura E. Studies on A Simple New Colorimetric Method (Cariostat) for Determining the Caries Activity. Comparison with An Improved Snyder test. *Jpn Ped Dent J*, 1976; 14: 6
7. Shimono T, Sobue S. Utilization of Caries Activity Test. *Textbook of New Dental Clinic*. Ishiyaku Shuppan 1978: 4.
8. Shimono T, Matsumura S, Heriandi S. A New Colorimetric Method For Caries Diagnosis (Cariostat). Dalam: *Kursus Penyegar dan Penambah Ilmu Kedokteran Gigi VII*. Jakarta. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. 1986: 520-33.
9. Indrawati R, Sidarningsih. Pola Elektroporesis dari Protein Streptokokus mutans pada Penderita Karies dan Bebas Karies dalam Satu Keluarga. *JKGUI*; 2000; 7 (Edisi khusus): 45-9.
10. Sanches-Perez L, Acosta-Gio E. Caries Risk Assessment from Dental Plaque and Salivary *Streptococcus mutans* Count on Two Culture Media. *Archives of Oral Biology*; 2001; 46: 49-55.