

KESAMAAN TIPE STRAIN MUTANS STREPTOKOKUS PADA ANAK BALITA DI TEMPAT PENITIPAN ANAK

Udijanto Tedjosongko¹, Katsuyuki Kozai²

¹Laboratorium Kedokteran Gigi Anak Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga

² Department of Pediatric Dentistry Faculty of Dentistry, Hiroshima University

Udijanto Tedjosongko, Katsuyuki Kozai : Kesamaan Tipe Strain Mutans Streptokokus pada Anak Balita di Tempat Penitipan Anak. Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. 2000; 7 (Edisi Khusus): 151-155.

Abstract

Mutans streptococci (MS) are considered as major bacteria in human dental caries. Many studies on transmission of MS in children have adapted mother as the main source of infection. So far there are still few reports on transmission in a group of children such as in nursery. The purpose of this study is to determine the transmission of MS in children at day nursery. Samples are the isolate of MS from 19 children in range of age 0-5 years old, 14 pairs of parents and 6 nursery caretakers of a day nursery in Hiroshima City, Japan. The transmission of MS is determined by comparing the chromosomal DNA fingerprint of MS using restriction endonuclease *EcoRI* and *HaeIII*. The similarity of strain type of MS found between child and mother 33.3%, child and father 8.3% and child and others 58.4% including among the children. This study shows that in day nursery beside mother, the source of MS transmission could be the person surround the child. The environment of bringing up children also play role on transmission of MS beside the oral condition of the children.

Abstrak

Mutans Streptococci (MS) adalah bakteri utama penyebab karies gigi pada manusia. Penelitian terhadap transmisi MS telah banyak dilakukan dengan hasil bahwa ibulah yang menjadi sumber utama infeksi MS pada anak balita. Penelitian-penelitian tersebut hanya memfokuskan subjek penelitian pada lingkungan keluarga. Masih belum banyak dilakukan penelitian tentang hal ini pada sekelompok anak balita, seperti pada tempat penitipan anak. Penelitian ini bertujuan mengetahui transmisi MS pada anak-anak di suatu tempat penitipan anak. Sampel adalah isolat MS dari 19 anak berusia 0-5 tahun, 14 orang tua, dan 6 orang guru pengasuh pada suatu penitipan anak di Kota Hiroshima Jepang. Transmisi MS ditentukan dengan membandingkan *fingerprint* dari kromosom DNA MS melalui analisis endonuklease restriksi (*EcoRI* dan *HaeIII*). Kesamaan tipe strain MS ditemukan antara ibu dan anak 33.3%, ayah dan anak 8.3% dan selain

orang tua dan anak 58.4%. Penelitian ini menunjukkan bahwa pada tempat penitipan anak, selain dari ibu, transmisi MS dapat bersumber dari orang-orang disekeliling anak. Lingkungan anak dibesarkan turut berperan padat transmisi MS disamping kondisi rongga mulut anak.

Pendahuluan

Mutans Streptococci (MS) adalah bakteri penyebab utama karies gigi pada manusia.¹ Untuk dapat membentuk koloni yang stabil dalam rongga mulut, kuman ini membutuhkan adanya gigi atau permukaan yang permanen.² Oleh karena itu, bakteri ini hanya ditemukan pada anak-anak setelah gigi sulung erupsi.

Bakteri ini dapat menular melalui saliva.^{3,4} Banyak penelitian dilaporkan bahwa ibu adalah sumber utama penularan MS pada anaknya.⁵⁻⁸ Hal ini didasarkan pada kesamaan tipe strain MS antara ibu dan anak. Rute transmisi lain yang pernah dilaporkan adalah antara ayah dan anak, antara pasangan suami-istri, dan transmisi yang berasal luar keluarga.⁹⁻¹¹ Penelitian-penelitian tersebut lebih memfokuskan subjek penelitian pada lingkungan keluarga.

Perkembangan zaman telah mengubah pola hidup keluarga terutama di kota-kota besar. Kehadiran tempat penitipan anak telah dirasakan sebagai suatu kebutuhan. Raitio et al¹² melaporkan bahwa tempat penitipan anak adalah tempat yang potensial untuk berkembangnya suatu penyakit. Namun bagaimana pengaruhnya terhadap penularan MS masih belum banyak diteliti. Penelitian ini bertujuan mengetahui transmisi MS pada anak-anak di tempat penitipan anak dengan menggunakan analisis endonuklease restriksi (*EcoRI* dan *HaeIII*). Metode ini dilaporkan paling efektif untuk meneliti transmisi MS.¹³

Usia anak pada awal ditemukannya koloni MS di rongga mulut, berkaitan dengan resiko terjadinya karies gigi. Semakin dini usia anak mempunyai koloni MS, maka akan semakin tinggi pula resiko terjadinya karies pada anak tersebut.^{3,14} Dengan mengetahui sumber-sumber dari transmisi MS, diharap

kan bisa dilakukan usaha untuk mengurangi atau menunda terjadinya infeksi MS selama mungkin pada anak-anak, sehingga resiko karies pun dapat dikurangi.

Bahan dan Cara Kerja

Jenis penelitian ini adalah observasional analitik dengan pendekatan analisis endonuklease restriksi.¹³ Sampel penelitian ini adalah 19 anak berusia 0-5 tahun, 14 orang tua, dan 6 orang guru pengasuh pada suatu penitipan anak di Kota Hiroshima Jepang. Kriteria sampel anak adalah mereka yang berada di tempat penitipan anak setiap hari kerja dari pukul 08.00 sampai dengan 17.00, belum ditemukan MS dalam rongga mulutnya, dan pada pemeriksaan klinis tidak ditemukan adanya karies.

Bahan yang digunakan adalah plak yang dikumpulkan dengan cara menyikat gigi. Sampel plak anak diambil rutin satu bulan sekali selama dua setengah tahun, sedang sampel plak orang tua dan guru pengasuh diambil satu kali.

Isolasi *Mutans Streptococcus*

Semua sikat gigi yang mengandung plak diletakkan dalam media transport 3 ml *Buffered Glycerol Saline Solution* (NaCl, K₂HPO₄, KH₂PO₄, glycerin, distilled water), dan diproses dalam jangka waktu 30 menit setelah pengambilan sampel. Sampel divorteks selama 30 detik. Enam puluh µl *solution* diokulasikan pada media spesifik agar *Mitis Salivarius* (Difco, Detroit, Mich., USA) dan diinkubasi an

aerob 37°C selama 48 jam. Enam belas koloni MS diambil dari tiap sampel, masing-masing diinokulasi pada media *brain heart infusion broth* (BHI, Difco) dan diinkubasi. Kultur MS kembali diinokulasi pada media Mitis Salivarius dan proses yang sama diulang sampai didapatkan isolat MS. Isolat MS diuji dengan tes fermentasi menggunakan mannitol, sorbitol dan tes sintesa *insoluble glucan*.

Persiapan DNA Kromosom

Untuk mempersiapkan sel, 0,5 ml kultur MS yang telah diinkubasi semalam, diinokulasikan dalam 4,5 ml BHI broth dan di-inkubasi 37°C pada waterbath. Setelah pertumbuhan MS mencapai densitas optimum 0,4 pada pengukuran dengan spectrophotometer (550 nm) (Spectronic 21, Milton Roy Co., Rochester, Minn.,USA), 0,25 gr glycine ditambahkan pada kultur kemudian diinkubasi kembali selama 45 menit. Sentrifuse dilakukan pada 3000 rpm selama 15 menit dan supernatan dibuang. Sel dicuci dengan 0,75 ml 0,1 M/liter Tris-HCl (pH 8,0) (Trizma base, Sigma Chemical Co., St.Louis, Mo.,USA) dan dimasukkan dalam ependorf. Sentrifuse dilakukan pada 15000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan sel disimpan dalam suhu - 20°C. *Lysis buffer* 0,15 ml ditambahkan ke ependorf yang berisi sel dan dilakukan sonikasi selama 5 detik. Kemudian ditambahkan 0,141 ml *lysis buffer* yang mengandung lysozyme dan dilanjutkan inkubasi 37°C selama 30 menit pada waterbath. Sembilan µl 5 M *Sodium Fluoride* ditambahkan dan dilakukan vorteks. Setelah penam-bahan 0,15 ml 10% SDS, ependorf di tapping perlahan. Tube dibiarkan dalam suhu kamar selama 10 menit. Phenol-chloroform sebanyak 0,45 ml ditambahkan dan di vorteks. Sentrifuse pada 15.000 rpm selama 10 menit, supernatan diambil secara hati-hati dan dipin-dahkan ke ependorf baru. Ethanol dingin sebanyak 0,9 ml ditambahkan dan di sentri-fuse pada 15000 rpm selama 10 menit.

Supernatan diambil, ethanol dingin ditambahkan lagi sebanyak 0,75 ml. Suspensi di sentrifuse selama 10 menit dan supernatan dibuang. *Ultra-pure water* ditambahkan sebanyak 0,1 ml pada endapan yang mengandung DNA kromosom dan disimpan dalam suhu -20°C sampai saat digunakan.

Pemotongan DNA dan Elektroforesis

Tujuh µl DNA kromosom, 11µl *incubation buffer* dan 2µl enzim endonuklease restriksi dicampur. Penelitian ini menggunakan enzim *EcoRI* dan *HaeIII*. Proses pemotongan DNA dilakukan pada suhu 37°C dalam *dry thermo unit* selama 6 jam. Lima µl *loading buffer* ditambahkan pada tiap sampel dan diletakkan kembali pada *dry thermo unit* pada suhu 55°C selama 5 menit. Elektroforesis dilakukan pada 0,7% gel agarose dalam *Tris-borate-EDTA (TBE) buffer*. Elektroforesis dijalankan pada 33 volt selama 16 jam pada suhu kamar, dengan menggunakan *submarine-type apparatus*. Gel dicat dengan ethidium bromide selama 1 jam dan dicuci dengan *ultra-pure water* selama 1 jam. Gel difoto di bawah sinar ultra violet, dengan menggunakan kamera Polaroid MP3 dan film Polaroid 667. Perbandingan band hasil elektroforesis dilakukan pada gel yang sama. Hal ini dilakukan beberapa kali dengan berbagai kombinasi sampel dan dilakukan oleh dua orang operator secara visual.

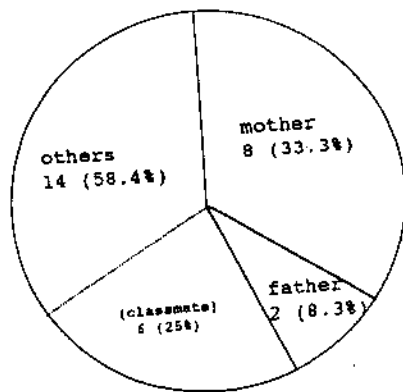
Hasil

Kesamaan tipe strain MS ditemukan antara ibu dan anak 33,3% (8 anak), ayah dan anak 8,3% (2 anak). Kesamaan tipe strain MS antara anak dan orang selain orang tua 58,4% (14 anak), termasuk didalamnya enam anak yang mempunyai tipe strain sama dengan teman sekelasnya (Gambar 1). Sumber transmisi MS bervariasi pada tiap anak. Tabel 1 menunjukkan seorang anak mendapatkan MS dari ibu, saudara kandung

dan teman sekelas. Seorang anak mendapatkan MS dari kedua orang tuanya. Tujuh anak mendapatkan MS dari sumber yang belum diketahui. Ibu masih terlihat sebagai sumber utama transmisi, 8 dari 19 sampel anak mempunyai tipe strain MS yang sama dengan ibunya.

Tidak ditemukan bukti adanya transmisi MS antara anak dan guru pengasuh. Gambar 2 menunjukkan *fingerprint* pemotongan kromosom DNA isolat MS dengan enzim endonuklease restriksi *EcoRI* dari 6 orang sampel anak yang menunjukkan kesamaan tipe strain MS (jalur 1-6). Marker yang digunakan adalah lambda *HindIII* (jalur 7).

Gambar 1. Kesamaan tipe strain MS anak dengan ibu, ayah, teman dan sumber lain

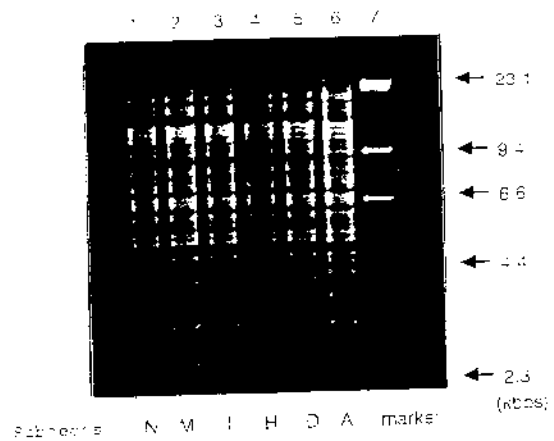


Tabel 1. Distribusi sumber strain MS pada sampel anak

Number of children	Sources of MS strains								
	Mother	Father & Mother	Others	Mother & Classmate	Mother's Others	Mother & Classmate	Mother, Sibling & Classmate	Caretaker	
	3	1	1	3	7	1	2	1	0
Σ	16	5	5	16	37	5	11	5	0

(n=19)

Gambar 2. *Fingerprint* dari pemotongan kromosom DNA isolat MS dengan enzim endonuklease restriksi *EcoRI* dari 6 orang sampel anak yang menunjukkan kesamaan tipe strain (jalur 1-6). Jalur 7 adalah marker (lambda *HindIII*)



Diskusi

Karies gigi adalah penyakit gigi yang disebabkan oleh mutans streptococcus, oleh karena itu transmisi dan kolonisasi MS di rongga mulut menjadi faktor penting untuk program pencegahan. Transmisi MS terjadi melalui saliva, baik melalui kontak langsung ataupun tidak langsung. Kontak tidak langsung melalui media sendok, sikat gigi, pasta gigi maupun media lain yang terkontaminasi oleh saliva.^{4,15,16} Faktor-faktor yang dilaporkan dapat mempengaruhi transmisi MS antara lain adalah *serotype* bakteri,¹³ jumlah MS yang dimiliki oleh sumber penular, jumlah bakteri yang berpindah setiap kali terjadi kontak dan frekuensi kontak, faktor diet dan status *immune* dari anak.^{4,17,18} Penelitian ini menggunakan metoda pemeriksaan *fingerprint* pemotongan kromosom DNA dengan enzim endonuklease restriksi. Metode ini dilaporkan sebagai cara yang efektif untuk menganalisis transmisi MS.^{7,13}

Peneliti terdahulu^{5,8} telah melaporkan bahwa kesamaan tipe strain antara ibu dan anak paling sering ditemukan. Hal ini menunjukkan bahwa transmisi MS dalam keluarga lebih bersumber pada ibu. Menurut Kozai et al¹³ ayah berpotensi sebagai sumber

transmisi MS dalam keluarga, dan tidak tertutup kemungkinan sumber transmisi dari orang di luar keluarga. Penelitian Redmo et al¹¹ menunjukkan bahwa anak bisa terinfeksi MS dari transmisi di dalam dan di luar keluarga. Hasil penelitian ini mendukung pernyataan kedua peneliti tersebut, dengan ditemukannya bukti adanya kesamaan tipe strain antara anak dan ayah, serta juga ditemukannya tipe strain MS dari sumber selain orang tua.

Yang menarik adalah adanya transmisi MS di kalangan anak-anak sendiri. Hal ini dimungkinkan karena mereka menghabiskan sebagian besar waktunya di tempat yang sama dengan tidak jarang berbagi alat permainan atau alat makan yang telah tercemari oleh MS dari teman bermainnya. Tidak ditemukannya bukti transmisi MS dari guru pengasuh, kemungkinan karena para guru pengasuh tersebut telah paham bagaimana mendidik dan mengawasi anak-anak dengan tanpa melakukan kontak sedemikian rupa yang memungkinkan terjadinya transmisi MS.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa orang yang dekat dengan anak pada masa usia rawan terinfeksi MS, mempunyai potensi yang besar sebagai sumber infeksi. Dengan mengetahui sumber infeksi MS, usaha untuk mencegah atau menunda transmisi MS selama mungkin dapat dilakukan. Hal tersebut diharapkan akan dapat menurunkan resiko terjadinya karies pada anak-anak. Penelitian ini menyimpulkan bahwa disamping kondisi rongga mulut anak, lingkungan anak dibesarkan turut berperan pada transmisi MS.

Daftar Pustaka

1. De Soet JJ, de Graaff J. Microbiology of Carious Lesions. *Dent Update*. 1998; 25: 319-24
2. Berkowitz RJ, Turner J, Green P. Primary oral infection of infants with Streptococcus Mutans. *Archs oral Biol*. 1980; 25: 221-4
3. Alaluusua S. Transmission of mutans streptococci. *Proc Finn Dent Soc*. 1991; 87(4): 443-7
4. Newbrun E. Preventing Dental Caries: Breaking the chain of transmission. *JADA*. 1992; 123: 55-9
5. Davey AL, Rogers AH. Multiple types of the bacterium streptococcus mutans in the human mouth and their intra-family transmission. *Archs oral Biol*. 1984; 29(6): 453-60
6. Berkowitz RJ, Jones P. Mouth-to-mouth transmission of the bacterium streptococcus mutans between mother and child. *Archs oral Biol*. 1985; 30(4): 377-9
7. Kulkarni GV, Chan KJI, Sandham HJ. An Investigation into the Use of Restriction Endonuclease Analysis for the Study of Transmission of Mutans Streptococci. *J Dent Res*. 1989; 68(7): 1155-61
8. Li Y, Caufield PW. The fidelity of Initial Acquisition of Mutans Streptococci by Infants from Their Mothers. *J Dent Res*. 1995; 74(2): 681-5
9. Saarela M, von Troil-Linden B, Torkko H et al. *Oral Microbiol Immunol*. 1993; 8: 349-54
10. Redmo EI, Wang X. Demonstration of identical strains of mutans streptococci within Chinese families by genotyping. *Eur J Oral Sci*. 1998; 106: 788-94
11. Redmo EI, Li I, Bratthall D. Genotyping shows different strains of mutans streptococci between father and child and within parental pairs in Swedish families. *Oral Microbiol Immunol*. 1998; 13: 271-7
12. Raitio M, Mottonen M, Uhari M. Tooth-brushing and the Occurrence of Salivary Mutans Streptococci in Children at Day Care Centers. *Caries Res*. 1995; 29: 280-4
13. Kozai K, Nakayama R, Tedjosasongko U et al. Intrafamilial Distribution of Mutans Streptococci in Japanese Families and Possibility of Father-to-Child Transmission. *Microbiol Immunol*. 1999; 43(2): 99-106
14. Kohler B, Andreen I, Jonsson B. The earlier the colonization by mutans streptococci, the higher the caries prevalence at 4 years of age. *Oral Microbiol Immunol*. 1988; 3: 14-17
15. Kohler B, Bratthall D. Intrafamilial levels of Streptococcus mutans and some aspects of the bacterial transmission. *Scand J Dent Res*. 1978; 86: 35-42
16. Svanberg M. Contamination of toothpaste and toothbrush by Streptococcus mutans. *Scand J Dent Res*. 1978; 86: 412-4
17. van Houte J, Green DB. Relationship Between the Concentration of Bacteria in Saliva and the Colonization of Teeth in Humans. *Infect Immun*. 1974; 9(4): 624-30
18. Germaine GR. Infant infection with Streptococcus Mutans: Source and Prevention. *Northwest Dent*. 1984; 63: 18-20