

The Isolation of Streptococcus sp on horse's dental caries in Aceh Tengah Regency

Darniati¹, Sagasia Ahmad², Erina¹, M. Daud AK¹, Darmawi¹, Fakhrurrazi¹, M.Isa³

¹Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

Email : Sagaciasahmad16@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this study was to detect the existence of the Streptococcus sp bacteria in the horses' dental caries in Aceh Tengah Regency. The caries samples used in this study were taken from 8 horses in Aceh Tengah Regency. The samples were collected using swab on the teeth and then put into Nutrient Broth (NB) media and further were cultured on selective media TSY20B. The bacteria identification was conducted by observing the bacteria's morphology, Gram staining and biochemical test. The eight samples of the horses' dental caries showed that Streptococcus sp bacteria could be isolated from all of the collected samples. From this research it could be concluded that Streptococcus sp bacteria was found in the horses' dental caries and it was one of the causes of the dental caries.

Key words: Aceh Tengah Regency, caries, horse, and Streptococcus sp.

PENDAHULUAN

Latar belakang

Kuda sudah lama dikenal dan dimanfaatkan oleh manusia sebagai sumber daging, alat transportasi dan kemudian berkembang menjadi hewan yang digunakan sebagai hobi serta sarana olahraga (Blakely dan Bade, 1994). Saat ini, populasi kuda di Indonesia telah mengalami penurunan. Salah satu faktor penyebabnya adalah penyakit, dan pengalihan fungsi kuda sebagai alat transportasi yang telah diambil alih oleh kendaraan bermotor sehingga berdampak pada penurunan populasi kuda (Parakkasi, 2006).

Soehardjono (1990) menyebutkan bahwa kuda lokal di Indonesia awalnya ada dua jenis, yaitu kuda Batak dan kuda Sandel (Sandelwood). Kuda batak hidup di dataran tinggi tapanuli (Sumatera Utara). Kuda sandel atau kuda timor terdapat di wilayah Indonesia bagian Timur. Kehadiran beberapa jenis kuda tertentu di Indonesia

sudah lama dan memiliki nama yang berbeda di berbagai daerah seperti kuda gajo, kuda batak, kuda briangan, kuda Jawa, kuda Sulawesi, kuda Sumbawa, kuda Flores, kuda sandel dan kuda Timor.

Kuda gajo merupakan kuda lokal yang terdapat di Kabupaten Aceh Tengah, Kuda gajo dimanfaatkan masyarakat sebagai kuda pacu. Permasalahan yang sering dihadapi oleh peternak kuda di kabupaten Aceh tengah adalah turunya produktivitas akibat berkurangnya nafsu makan pada kuda, salah satu penyebab berkurangnya nafsu makan tersebut dapat dikarenakan oleh adanya karies gigi akibat penumpukan sisa-sisa makanan pada gigi. Karies gigi tidak hanya menyebabkan berkurangnya nafsu makan, akan tetapi alat kekang yang dipasang dalam mulut dapat menyebabkan kuda kesakitan dan sangat mengganggu aktifitas kuda saat perlombaan pacuan kuda.

Bakteri yang sangat berperan pada proses terjadinya karies gigi adalah *Streptococcus*, *Staphylococcus*,

Lactobacillus. Mikroorganisme *Streptococcus* tersebut sering dapat diisolasi dari karies pada lesi yang dalam. Bakteri *Streptococcus* paling sering ditemukan di gigi sehingga dikatakan bahwa bakteri ini sangat berperan pada proses perusakan gigi. *Streptococcus* yang paling sering ditemukan adalah *Streptococcus mutans* (Nomura dkk, 2004).

Dari latar belakang tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk membuktikan keberadaan bakteri *Streptococcus* sp pada karies gigi kuda yang merupakan salah satu penyebab utama karies gigi.

MATERI DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala Banda Aceh pada bulan November sampai dengan Desember 2015.

Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah swab dari karies gigi yang diambil dari delapan kuda pacu, empat kuda dari Desa Blang Bebangka dan empat kuda di Desa One-one Kabupaten Aceh Tengah Kecamatan Lut Tawar. Masing-masing diambil dari dua kuda jantan dan dua kuda betina yang berumur di atas lima tahun. Menurut hasil survei yang dilaksanakan pada tanggal 17-20 Mei 2015, jumlah kuda pacu di Kabupaten Aceh Tengah Kecamatan Lut Tawar di desa Blang Bebangka adalah sebanyak 10 ekor, yang teridentifikasi mengalami karies sebanyak enam ekor, sedangkan di desa One-one yang mengalami karies yaitu sebanyak delapan ekor dari 15 ekor populasi kuda yang ada.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah masker, plastik steril, *gloves*, swab steril, termos, kulkas, inkubator 37°C (MettlerTM), mikroskop (OlympusTM), candle jar, cawan Petri (pyrex[®]), tabung reaksi (pyrex[®]), pipet tetes, objek glass, kapas, kamera digital, kertas label, spidol, buku, pulpen, kapas, kain lap, tisu.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah swab dari karies gigi, alkohol 96%, alkohol 70%, media TYS20B, Nutrient Broth (DifcoTM), bahan pewarnaan Gram (larutan kristal violet, larutan lugol, larutan safranin, alkohol) H₂O₂ 3%, Bacitracin, D-glukosa, TSB.

Metode Penelitian

Pengambilan Sampel Penelitian

Sampel diambil dengan menggunakan swab steril dan dimasukkan ke dalam media *Nutrient Bloth* (NB), setelah itu dimasukkan dalam termos dan dibungkus dengan plastik steril. Selanjutnya sampel dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala untuk dilakukan pemeriksaan.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Streptococcus sp

Isolasi bakteri

Isolasi bakteri *Streptococcus* sp mengikuti metode Carter. Sampel penelitian dimasukkan ke dalam *Nutrient Bloth* (NB) dan diinkubasikan selama ± 24 jam pada temperatur 37°C di dalam *candle jar*. Biakan bakteri yang tumbuh ditanam pada media TYS20B menggunakan goresan T serta diinkubasikan selama ± 48 jam pada temperatur 37°C. Koloni terpisah pada media diamati morfologinya.

Pewarnaan Gram

Koloni terpisah dari bakteri yang ditanam pada media TYS20B diambil dengan ose guna untuk dilanjutkan dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan dengan membuat sediaan bakteri pada objek glass, difiksasi diatas api kemudian diwarnai dengan kristal violet selama 3-5 menit, dicuci dengan air mengalir lalu digenangi dengan lugol selama 1 menit, dilunturkan zat warna tersebut dengan alkohol 96% selama 10 detik sampai zat warna hilang, dicuci lagi dengan air mengalir dan diwarnai dengan safranin selama 1 menit, dikeringkan preparat dan diberi sedikit minyak emersi lalu diamati dibawah mikroskop.

Uji Biokimia

Uji Katalase

Diteteskan larutan hidrogen peroksida 3% diatas objek glass lalu dengan kawat ose di ambil satu koloni dan disentuhkan pada cairan tadi, ditunggu dalam beberapa saat reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gelembung di sekitar kawat ose dan kumpulan koloni.

Uji Hemolisa

Dilakukan uji dengan memeriksa kemampuan hemolisa bakteri pada media agar darah. Sebanyak 5 ml darah segar domba steril dipipet kedalam labu Erlenmeyer yang berisi 100 ml media blood agar base kemudian dihomogenkan. Setelah itu tuang medium agar darah ke cawan petri steril hingga beku dan padat. Bakteri *Streptococcus* digores di atas media agar darah. Bakteri diinkubasi selama 1-2 hari pada suhu 37°C, cawan diperiksa zona hemolisisnya dan perubahan warna yang terbentuk dari aktivitas bakteri uji (Das dkk, 2008).

Analisis Data

Data hasil isolasi dan identifikasi bakteri dianalisa secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi dan identifikasi bakteri *Streptococcus Sp* dari 8 sampel karies gigi kuda di Aceh Tengah menunjukkan semua sampel sampel positif terinfeksi oleh bakteri *streptococcus sp*. Sampel karies diambil dari 4 ekor kuda desa Belang Bebangka dan 4 kuda dari desa One-one yang berumur diatas lima tahun, dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Asal dan umur kuda pacu yang akan diteliti di Desa Blang-Bebangka dan One-One, Kabupaten Aceh Tengah.

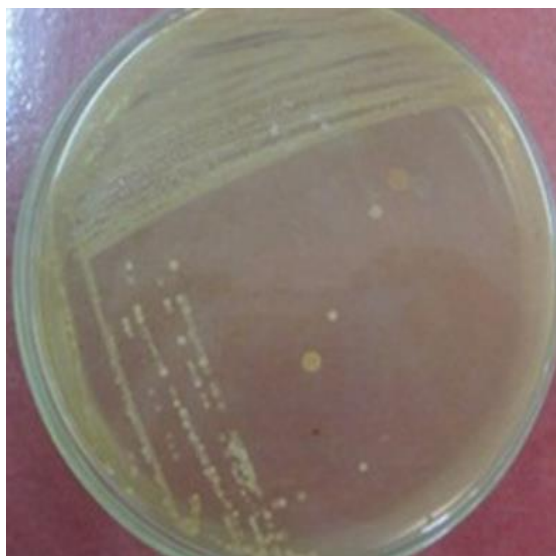
Umur	Asal kuda		Morfologi koloni pada media TYS20B				Keterangan
	BB	OO	Bentuk	Warna	Pinggiran	Permukaan	
5 tahun	♂		bulat	Krem, bening	Rata	Cembung	Isolat 1
7 tahun	♂		bulat	Krem, bening	Rata	Cembung	Isolat 2
8 tahun	♀		oval	Krem, bening	Rata	Cembung	Isolat 3
9 tahun	♀		oval	Krem, bening	Rata	Cembung	Isolat 4
5 tahun		♂	bulat	Krem, bening	Rata	Cembung	Isolat 5

7 tahun	♂	oval	Krem, bening	Rata	Cembung	Isolat 6
8 tahun	♀	bulat	Krem, bening	Rata	Cembung	Isolat 7
9 tahun	♀	oval	Krem, bening	Rata	Cembung	Isolat 8

Ket: ♂ (jantan), ♀ (betina).

Tabel 1 menunjukkan semua sampel dari kuda yang berumur di atas 5 tahun positif ditemukan bakteri *Streptococcus* sp pada karies gigi. Hal ini dapat disebabkan oleh faktor-faktor pembentukan karies seperti induk semang, agen substrat, waktu (Pintauli dan Hamada, 2008). Karies tidak akan bisa terbentuk dalam waktu singkat, tetapi memerlukan waktu yang lama sehingga terjadi pembentukan plak pada gigi. Karies gigi terbentuk karena bakteri *Streptococcus* sp menghasilkan asam laktat dari hasil metabolisme. Asam laktat ini akan

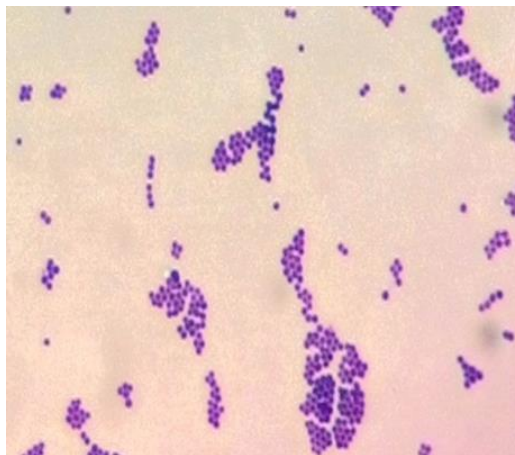
menurunkan pH mulut yang berakibat menghancurkan zat kapur fosfat pada email gigi dan mendorong pembentukan lubang dalam gigi. *Streptococcus* sp juga memiliki enzim glukosiltransferase yang dapat menyebabkan polimerasi glukosa pada sukrosa dengan pelepasan sukrosa. Akibat pembentukan rongga pada gigi dan penguraian gugus karbohidrat tersebut, dibentuk pilosakarida ekstraselluler yang menyebabkan pengikatan matriks plak gigi serta disolusi gigi (Kayser dkk, 2005).



Gambar 1. Morfologi koloni bakteri *Streptococcus* sp pada media TYS20B.

Koloni *Streptococcus* sp dapat tumbuh pada media selektif (TYS20B) pada semua sampel kuda menunjukkan koloni yang

berukuran 1-2 mm, berbentuk bulat dengan permukaan cembung, halus, pinggiran rata dan berwarna putih kekuningan (Gambar 1),



Gambar 2. Morfologi bakteri *Streptococcus* sp., dengan pewarnaan Gram (10x100)

Streptococcus sp merupakan jenis bakteri Gram positif, tidak berspora dan memiliki rantai atau berpasangan (Gambar 2). Hal ini disebabkan karena dinding sel bakteri terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga menghambat pelepasan zat warna saat dicuci dengan alkohol 96%. Smith dan Hussey (2012) menyatakan bahwa lapisan peptidoglikan yang tebal akan mengalami dehidrasi dan menyebabkan pori-pori dinding sel menutup sehingga mencegah keluarnya larutan Kristal violet saat dilakukan pencucian dengan alkohol

96% dan tidak dapat diwarnai lagi dengan safranin.

Hasil uji biokimia menggunakan H_2O_2 3% menunjukkan bahwa bakteri *Streptococcus* sp tidak memiliki enzim katalase sehingga tidak menguraikan dihidrogen peroksida menjadi H_2O dan O_2 . Hasil ini terlihat dengan tidak terbentuknya gelembung udara pada suspensi H_2O_2 dan bakteri *Streptococcus* pada objek *glass*. Hasil uji katalase dilakukan untuk membedakan bakteri *Streptococcus* dan *Staphylococcus* (Talaro, 2008).



Gambar 3. Morfologi koloni bakteri *Streptococcus* sp pada media Blood agar

Pada umumnya *Streptococcus* sp yang ditanam pada media Blood agar tidak menunjukkan adanya zona di sekeliling koloni (Gambar 3). Hal ini menjelaskan terjadinya hemolisis sebagian dari darah domba dalam media blood agar (hemolisis

α). Harvey dkk. (2007), menyatakan bahwa *streptococcus* penyebab karies gigi termasuk ke dalam kelompok *Streptococcus viridians* yang secara tipikal merupakan kelompok hemolisis α namun juga bisa non hemolysis.

Tabel 2. Hasil uji biokimia *Streptococcus* sp.

Umur-kuda	Pewarnaan Gram	Katalase	Hemolisa
Isolat 1	Positif	-	Y
Isolat 2	Positif	-	Y
Isolat 3	Positif	-	Y
Isolat 4	Positif	-	Y
Isolat 5	Positif	-	Y
Isolat 6	Positif	-	Y
Isolat 7	Positif	-	Y
Isolat 8	Positif	-	Y

Pembentukan karies dikaitkan dengan peningkatan konsumsi gula dan fermentasi karbohidrat oleh bakteri asidogenik (ArgimondanCaufield, 2011). Bakteri *Streptococcus* tidak tumbuh secara menyeluruh pada permukaan gigi, tetapi tumbuh pada area tertentu di permukaan gigi seperti dalam pit dan fisur, permukaan oklusal, area proksimal gigi, gingiva atau pada lesi karies gigi. Koloni bakteri memerlukan permukaan yang tidak deskuamatik, karena itu sering pertama kali ditemukan pada plak gigi. Jumlah populasi *Streptococcus* dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu: sukrosa, topical aplikasi fluor, penggunaan antibiotik, obat kumur dengan antiseptic dan *oral hygiene* (Nugraha, 2008).

Faktor utama pada karies gigi adalah agen, namun tanpa adanya faktor lain seperti sukrosa, bakteri ini tidak dapat

menyebabkan karies (Samaranayake, 2002). Enzim yang dihasilkan oleh bakteri pembentuk plak yaitu *glukosiltransferase* dan *fruktosiltransferase*. Enzim-enzim ini bersifat spesifik untuk substrat sukrosa yang digunakan untuk sintesa glukosa dan fruktan. Pada metabolisme karbohidrat, enzim *glukosiltransferase* menggunakan sukrosa untuk mensintesa molekul glukosa dengan berat molekul tinggi yang terdiri dari ikatan glukosa alfa (1-6) dan alfa (1-3) (Andrianto, 2012). Ikatan glukosa alfa (1-3) sangat pekat seperti lumpur, lengket dan tidak larut dalam air. Kelarutan ikatan glukosa alfa (1-3) dalam air berpengaruh terhadap pembentukan koloni bakteri pada permukaan gigi (Andrianto, 2012). Ikatan glukosa alfa (1-3) berfungsi membantu perlekatan koloni bakteri satu sama lain pada enamel yang erat kaitannya dengan

pembentukan plak dan terjadinya karies gigi (Samarayanake, 2002).

KESIMPULAN

Hasil dari penelitian yang dilakukan telah dapat diisolasi dan diidentifikasi adanya bakteri *Streptococcus* pada karies gigi kuda di Aceh Tengah. Bakteri ini diduga sebagai penyebab utama pembentukan karies pada gigi kuda.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriato, K. 2012. Efek Antibakteri Polifenol Biji Kakao pada *Streptococcus Mutans*. **Skripsi**. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Jember. Jember.
- Argimon, S., and P.W. Caufield. 2011. Distribution of putative virulence genes in *Streptococcus mutans* strains does not correlate with caries experience. **Journal of Clinical Microbiology**. 49 (3): 984-992.
- Blakely, J., and B.H. Bade. 1994. **Ilmu Peternakan**. Cetakan ke-I (Diterjemahkan oleh : B. Srigandono). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Das, P., S. Mukherjee., and R. Sen. 2008. Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans*. **J. Appl. Microbiol.** 104: 1675-1684.
- Harvey, R.A., Champe, P.C., and Fisher, B.D. 2007. **Lippincott's Illustrated Reviews: Microbiology**. 2nd ed. Lippincott William & Wilkins. New Jersey
- Kayser, F.H., Bienz, A.K., and Johannes. 2005. **Medical Microbiology**. Thieme Stuttgart
- Nomura, Y., H. Takeuchi., K. Matin., R. Iguchi., Y. Toyoshima., Y. Kono., T. Ikemi., S. Imai., T. Nishizawa., K. Fukushima., and N. Hanada. 2004. Feasibility of eradication of mutans streptococci from oral cavities. **J. of Oral Science**. 46(3): 179-183.
- Nugraha, A.W. 2008. **Streptococcus mutans, Si Plak Dimana-mana**. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Parakkasi, A. 2006. **Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak Monogastrik**. UI-Press. Jakarta.
- Pintauli, S., dan T. Hamada. 2008. **Menuju Gigi dan Mulut Sehat**. USU press. Medan.
- Samarayanake, L. P. 2002. **Essential Mikrobiologi for Dentistry**. 2nd. United States of America: Elsevier's Health Sciences Rights Departement. Philadelphia
- Smith, AC., and Hussey M.A. 2012. **Gram stain protocols**. <http://www.microbelibrary.org/component/resource/gram-stain/2886-gram-stain-protocols>. [20 Maret 2013].
- Soehardjono, O. 1990. **Kuda**. Yayasan Pamulang Equestrian Centre. Jakarta.
- Talaro, K.P. 2008. **Foundation in Microbiology**. Seventh edition.: McGrawHill. New York