BAB IV
PROSES PEROLEHAN MIKROBIOTA MULUT, ADHESI SERTA METABOLISME YANG TERKAIT

Keragaman mikrobiota mulut berkembang mulai sejak lahir dan terus terjadi seiring dengan meningkatnya umur. Mikrobiota melekat dengan menggunakan molekul tertentu yang berinteraksi dengan komponen host yang berfluktuasi seiring dengan perubahan status metabolik host. Pada bab ini, akan dijelaskan terlebih dahulu mengenai proses perolehan dan kolonisasi cavitas oral oleh mikro-organisme.

Perolehan dan Kolonisasi Mukosa Oral oleh Mikroflora

Proses perolehan mikroflora oral bergantung pada transmisi mikroorganisme ke lokasi kolonisasi yang potensial. Pada awalnya, proses ini terjadi melalui proses inokulasi pasif dari ibu, dari orang lain di dekat bayi, dan dari susu serta air yang dicerna. Perolehan mikroorganisme seperti ragi dan lactobacilli juga terjadi melalui vagina namun bersifat sementara, tetapi peran air liur dalam proses perolehan dan kolonisasi telah dikonfirmasi melalui bukti-bukti ilmiah melaui teknik identifikasi strain. Hal ini diperkuat dengan bukti bahwa bakteri-bakteri dengan pola cerna medium yang sama yang kemungkinan merupakan satu klon, ditemukan pada satu keluarga dan tipe bakteri cenderung berbeda antara keluarga. Transmisi vertical antara ibu dan anak dibuktikan dengan fakta adanya kesamaan genotipe

streptokokus mutans antara ibu dan anak pada 71% dari 34 pasang ibu yang diperiksa. Hanya sedikit bukti yang menunjukkan adanya transmisi dari ayah (atau dari ayah-ibu) untuk streptokokus mutans yang diamati, meskipun transmisi horizontal antar pasangan, dan transmisi vertikal dalam unit keluarga, dapat terjadi dengan beberapa patogen periodontal, seperti *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Komunitas Mikroflora Perintis dan Suksesi Mikrobiota

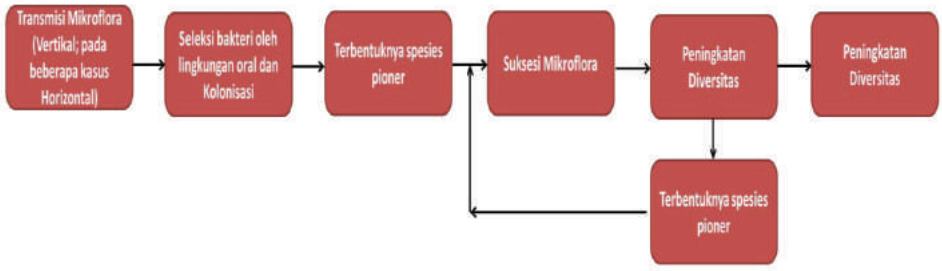
Mulut bersifat sangat selektif untuk mikroorganisme bahkan sejak beberapa hari pertama kehidupan. Sangat sedikit spesies bakteri dari rongga mulut orang dewasa dan lingkungan yang mampu mengkolonisasi mulut bayi yang baru lahir. Mikroorganisme pengkolonisasi pertama disebut spesies perintis dan membentuk komunitas pionir yang terus tumbuh dan berkoloni hingga keseimbangan homeostasis terbentuk (Gambar 4.1). Di dalam mulut, faktor fisik yang berperan diantaranya deskuamasi sel epitel dan gaya gesek dari penguyahan makanan dan aliran saliva. Faktor pembatas lain yang mempengaruhi kolonisasi adalah keterbatasan nutrisi, kondisi Eh atau pH yang tidak menguntungkan, dan sifat antibakteri saliva.

Pada pembentukan komuniatas perintis, satu genus atau spesies bakteri biasanya dominan.Organisme yang sering ditemui pada tahapan ini umumnya adalah genus streptococcus, khususnya *S. salivarius*, *S. mitis* dan *S. oralis*. Banyak dari spesies pionir memiliki aktivitas protease IgA1, yang memungkinkan organisme tersebut menghindari efek dari faktor pertahanan host. Seiring waktu, aktivitas metabolisme komunitas perintis memodifikasi lingkungan sehingga menyediakan kondisi yang cocok untuk terjadinya suksesi oleh spesies lain.

Perubahan lingkungan oral oleh spesies perintis terjadi karena beberapa hal. Kehadiran organisme perintis dapat memodifikasi atau memaparkan reseptor baru yang berperan dalam perlekatan bakteri pada permukaan mukosa. Selain itu, metabolsime bakteri juga mengubah pH lokal atau mengurangi kadar oksigen dan menurunkan potensi redoks dari lingkungan mikro mulut. Bakteri perintis jugamenghasilkan nutrisi tambahan

melalui produk akhir metabolisme (laktat, suksinat) atau menyediakan produk substrat (peptida, haemin) yang dapat digunakan oleh organisme lain sebagai bagian dari rantai makanan. Komunitas perintis berkembang dengan pesat hingga akhirnya menimbulkan suksesi yang menghasilkan komunitas klimaks dimana jumlah genus mikroba yang mengkolonisasi meningkat dengan pesat sehingga menghasilkan keragaman spesies yang tinggi. Suksesi dimungkinkan karena komunitas perintis menghasilkan banyak relung (*niche*) potensial yang dapat dikolonisasi dan cocok untuk perkembangan spesies-spesiesmikroba selanjutnya. Komunitas klimaks mencerminkan situasi yang sangat dinamis antara host, lingkungan dan mikroflora, dan tidak dapat dianggap sebagai keadaan statis.

Rongga mulut pada bayi baru lahir hanya mengandung permukaan epitel sebagai media kolonisasi. Populasi perintis utamanya terdiri dari spesies aerobik dan anaerobik fakultatif. Pada bayi cukup bulan, berbagai spesies streptokokus telah ditemukan selama beberapa hari pertama kehidupan, dan *S. oralis*, *S. mitis* biovar 1 dan *S. salivarius* merupakan spesies yang dominan. Keragaman mikroflora streptokokus oral meningkat seiring dengan berjalannya waktu; setelah satu bulan, semua bayi dikolonisasi oleh setidaknya dua spesies *Streptococcus*, dengan *S. salivarius* dan *S. mitis* biovar 1 sebagai spesies yang doninan. Sebaliknya, prevalensi *S. sanguinis* hanya meningkat setelah umur 12 bulan. *Actinomyces odontolyticus* dapat diisolasi dari permukaan mukosa mulut sejak bayi berumur dua bulan; *Naeslundii* umumnya hanya terdapat pada bayi yang berusia lebih tua (sekitar 12 bulan) terutama setelah tumbuhnya gigi.



Gambar 4.1. Proses kolonisasi dan suksesi mikroflora mulut

Keragaman komunitas oral perintis meningkat selama beberapa bulan pertama kehidupan, dengan kemunculan beberapa Gram negatif anaerob obligat. *Prevotella melaninogenica* adalah anaerob yang paling sering diisolasi yang ditemukan pada 76% bayi edentulosa (usia rata-rata = 3 bulan; kisaran: 1–7 bulan). Bakteri lain yang biasanya terisolasi adalah *Fusobacterium nucleatum* (ditemukan pada 67% bayi), Veillonella spp. (63%), dan Prevotella spp non-pigmen (62%), sementara *Eikenella corrodens* dan *Wolinella succinogenes* sangat jarang ditemukan. Jumlah anaerob yang berbeda dalam mulut yang sama bervariasi dari 0–7 spesies. Suksesi mikrobiota menjadi semakin cepat setelah terjadinya erupsi gigi diamana genera *Neisseria, Veillonella, Actinomyces, Lactobacillus,* dan *Rothia* sangat umum ditemukan terutama setelah erupsi gigi. Terjadi pula perkembangan bakteri anaerob patogenik yang berperan pada penyakit periodontal pada fase ini seperti *Porphyromonas gingivalis, Tannerella forsythia* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang terdeteksi pada sekitar 10-30% bayi berusia 18 bulan. Namun, populasi bakteri ini cenderung masih sangat rendah sehingga tidak berdampak secara klinis. Hanya pada saat-saat tertentu bakteri ini mengeksploitasi perubahan baik dalam kondisi lingkungan lokal atau penekanan pertahanan pejamu, untuk mengungguli spesies yang terkait dengan kesehatan mulut, sehingga meningkatkan predisposisi lokasi tersebut terhadap penyakit

Suksesi mikroba pada rongga mulut melibatkan dua jenis suksesi yang secara factorial berbeda. Dalam suksesi alogenik, faktor asal non-mikroba bertanggung jawab atas perubahan pola perkembangan komunitas mikroba seperti erupsi gigi, penggunaan gigi buatan, dan pemakaian agen antiseptik. Di lain pihak, suksesi autogenik adalah situasi di mana perkembangan komunitas mikro dipengaruhi oleh faktor mikroba itu sendiri seperti tingkat konsumsi O_2 yang menyediakan lingkungan anaerob, rantai makanan dimana produk metabolik dari satu jenis bakteri dapat dimanfaatkan sebagai substrat oleh spesies bakteri lainnya, dan tipe reseptor yang diekspresikan oleh bakteri (‘cryptitopes’).

Perubahan Mikroflora Oral pada Penuaan

Seperti yang dijelaskan di atas, proses perolehan dan suksesi mikroflora oral berlanjut seiring dengan bertambahnya usia. Hal ini terlihat dengan adanya perbedaan dari jenis-jenis mikrobiota yang diisolasi pada kelompok umur yang berbeda. Setelah erupsi gigi, frekuensi isolasi spirochaetes dan anaerob berpigmen hitam cenderung meningkat dan ditemukan pada 18 hingga 40% anak-anak berusia 5 tahun namun terisolasi pada lebih dari 90% remaja berusia 13–16 tahun. Peningkatan ini mungkin terjadi karena hormon memasuki celah gingiva dan bertindak sebagai sumber nutrisi baru. Perubahan status hormonal juga menjelaskan kenaikan *Prevotella intermedia* dalam plak selama trimester kedua kehamilan karena peningkatan kadar serum estradiol dan progesteron yang dapat memenuhi kebutuhan naftaquinon untuk pertumbuhan organisme ini. Hal serupa juga ditemukan pada wanita yang menggunakan kontrasepsi oral. Pada orang dewasa, populasi dan diversitas mikroflora cenderung stabil dan berada pada keadaan homeostasis yang dicapai melalui interasi antara interaksi mikroba dan faktor-faktor host. Umumnya, 50-100 spesies bakteri dapat ditemui pada individu dewasa sehat.

Penuaan mempengaruhi diversitas populasi mikroflora melalui efek langsung dan tidak langsung. Faktor-faktor yang berpengaruh secara langsung diantaranya dimediasi oleh penurunan imunitas seluler seiring dengan usia. Titer antibodi serum IgM untuk bakteri komensal oral dan usus juga lebih rendah pada subjek usia lanjut. Antibodi ini mewakili respons awal oleh inang terhadap infeksi dan penurunan titer tersebut dapat menjadi salah satu penjelasan untuk peningkatan kerentanan terhadap penyakit yang terlihat pada subjek yang lebih tua. Secara umum, aktivitas IgG spesifik dan antibodi IgM spesifik menurun pada lansia, sedangkan antibodi sIgA spesifik meningkat seiring bertambahnya usia. Efek tidak langsung dari penuaan umumnya terjadi oleh karena faktor-faktor eksternal. Penggunaan obat-obatan baik antibiotic dan kemoterapi meningkatkan populasi *Candida albicans* dan patogen oportunistik non-oral seperti enterobacteria (misalnya *Klebsiella spp., Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa*) dan *Staphylococcus aureus*. Penggunaan gigi palsu juga meningkat seiring bertambahnya usia

dan ini juga mendorong kolonisasi oleh *C. albicans*. Banyak lansia juga menggunakan berbagai macam obat, efek sampingnya dapat mengurangi aliran air liur dan dengan demikian mengganggu keseimbangan normal mikroflora mulut.

Akibat dari faktor-faktor di atas, tidak aneh jika insiden kandidosis oral cenderung lebih sering terjadi pada orang tua dan hal ini dikaitkan tidak hanya dengan peningkatan kemungkinan memakai gigi tiruan tetapi juga terhadap perubahan fisiologis pada mukosa mulut, malnutrisi, dan defisiensi unsur penting. Selain kandidosis, sering terjadi peningkatan populasi enterobacteria dari oropharynx lansia namun Nampak lebih terkait dengan kondisi fisiologis lansia tersebut. Perbedaan antara usia kronologis dan fisiologis juga menjadi penyebab bervariasinya populasi dan keragaman mikroflora oral pada lansia.

Gambar 4.2. Faktor-faktor yang mempengaruhi perubahan mikroflora terkait usia

Selain faktor-faktor di atas, kebiasaan sosial juga dapat mengganggu keseimbangan mikroflora oral. Asupan teratur dari diet karbohidrat dapat menyebabkan peningkatan mikro-organisme aciduric (asam-toleran) dan kariogenik seperti *mutans streptococci* dan *lactobacillus*. Penggunaan gigi palsu dapat menyebabkan peningkatan *mutans streptococci* dan *S. sanguinis*

dan hubungan kedua spesies ini dengan gigi palsu semakinjelas dengan hampir tidak terdeteksinya kedua spesies ini pada lansia yang tidak memakai gigi palsu. Merokok juga telah terbukti mempengaruhi jumlah bakteri, dan merupakan faktor risiko yang signifikan untuk penyakit periodontal.

Distribusi Mikroflora Oral

Bibir dan Palatum

Bibir merupakan batas antara mikroflora kulit (*staphylococci*, *micrococci* dan batang Gram positif seperti *Corynebacterium* dan *Propionibacterium spp*.) dan di mulut (umumnyaspesies Gram negatif dan beberapa organisme yang biasa ditemukan di permukaan kulit). Bibir umumnya dikolonisasi oleh Streptococci anaerob fakultatif. Jenis lain yang dapat ditemukan pada bibir adalah *Veillonella* dan *Neisseria*, *Streptococcus vestibularis*, anaerob berpigmen hitam, dan fusobakteria tetapi dalam jumlah yang sangat rendah (<1,0% dari total mikroflora). *Candida albicans* dapat mengkolonisasi mukosa bibir yang umumnya berawal dari sudut mulut ('angular cheilitis'). Terdapat pula spesies lain yang lebih jarang seperti berbagai jenis streptokokus terutama *S. mitis, S. oralis* dan *S. constellatus* (Tabel 4.1).

Tabel 4.1. Distribusi dan proporsi dari beberapa jenis mikroflora yang diketahui pada lingkungan oral

Spesies Bakteri	Saliva	Buccal	Dorsum Lidah	Plak Supraginggival
Streptococcus sanguinis	1	6	1	7
S. salivarius	3	3	6	2
S. oralis / S. mitis	21	29	33	23
mutans streptococci	4	3	3	5
Actinomyces naeslundii	2	1	5	5
A. odontolyticus	2	1	7	13
Haemophilus spp	4	7	15	7
Fusobacterium spp	1	<1	<1	<1
Anaerob berpigmen hitam	<1	<1	1	+*

*hanya terdeteksi pada beberapa kasus

Mikroflora dari palatum normal dapat menunjukkan variasi yang besar antar subjek. Perbadaan ini diduga merupakan akibat dari perbedaan teknik atau metode swab atau evaluasi mikroba yang dilakukan. Mayoritas bakteri pada lokasi ini adalah *streptococci* dan *actinomyces*; *veillonellae, haemophili* dan Gram negatif anaerob juga dapat ditemukan tetapi pada frekuensi yang rendah. Candida umumnya jarang ditemui dan hanya muncul pada keadaan patologis atau pada pemakaian gigi palsu.

Buccal

Kantong pipi atau area buccal umumnya dikolonisasi oleh genus *Streptococci* terutama anggota kelompok *S. mitis* dan *H. parainfluenzae*. Selain kedua spesies ini, *Simonsiella spp* juga dapat ditemukan dari sel-sel pipi manusia dan hewan. Anaerob obligat merupakan komunitas minor pada area ini meskipun spirochaeta dan organisme motil lainnya telah diamati dengan mikroskop. Keragaman genus bakteri pada area ini telah dikonfirmasikan melalui teknik biologi molekuler yang menunjukkan adanya populasi berbagai spesies streptokokus pada sel bukal, serta *Granulicatella* dan *Gemella spp*. Anaerob obligat lebih jarang terdeteksi meskipun *Veillonella* dan *Prevotella spp* terkadang ditemukan.

Adapun beberapa spesies yang berkontribusi terhadap penyakit periodontal pada area ini antara lain *A. actinomycetemcomitans, P. gingivalis, F. nucleatum, P. intermedia, T. forsythia*. Sel-sel pada area buccal tampaknya menyediakan lingkungan mikro yang cocok dan perlindungan terhadap spesies-spesies ini. Koagregasi antar bakteri juga dapat berkontribusi terhadap penyebaran spesies patogenik seperti pada kasus F. nucleatum yang dapat membawa spesies non-invasif, seperti S. cristatus, ke dalam sel epitel mulut manusia melalui koagregasi antar bakteri. *Streptococci* adalah organisme yang paling umum ditemukan pada kompartemen intrasel pada sekitar 30% sel epitel bukal, diikuti oleh *Granulicatella adiacens* dan *Gemella haemolysans*. Studi-studi ini menyiratkan bahwa sel-sel mukosa mulut dapat berfungsi sebagai reservoir untuk patogen periodontal.

Lidah

Bagian dorsum lari lidah menyediakan permukaan yang berigi dan berpapila yang mendukung terbentuknya komunitas mikroflora yang sangat beragam. Sekitar 20 spesies dapat ditemukan pada permukaan lidah pada sampel dari individu dewasa normal dengan *Streptococci* sebagai kelompok bakteri yang paling banyak (40% dari total mikroflora) yang umumnya didominasi oleh organisme salivarius dan mitis. Streptokokus anaerobik juga dapat ditemukan sementara *Rothia mucilagenosa* ditemukan hampir secara eksklusif di lidah. Kelompok utama lainnya dari bakteri adalah *Veillonella spp*. (16%), basilus Gram positif (16%) seperti *Actinomyces naeslundii* dan *A. odontolyticus,* dan *hemophili* (15%). Kedua jenis bakteri berpigmen (*Prevotella intermedia, P. melaninogenica*) dan anaerob non-pigmen dapat diisolasi dari lidah dan lidah dianggap sebagai reservoir potensial (bersama dengan tonsil) untuk beberapa organisme yang terlibat dalam penyakit periodontal. Organisme lain, termasuk *lactobacilli*, ragi, *fusobacteria*, *spirochaetes* dan bakteri motil lainnya, juga ditemukan dalam jumlah yang rendah (<1% dari total mikroflora) di lidah.

Bau mulut sangat berkaitan dengan mikroflora lidah. Hal ini umumnya disebabkan oleh populasi bakteri yang tinggi yang didominasi oleh anaerob Gram negatif (termasuk *Porphyromonas, Prevotella* dan *Fusobacterium spp*.). Memalui teknik analisis molekuler, populasi mikroflora yang lebih beragam umumnya ditemukan dengan beberapa spesies memiliki asosiasi yang kuat dengan halitosis seperti *Atopobium parvulum, Dialister spp., Eubacterium sulci, Solobacterium moorei, Streptococcus*, dan beberapa spesies yang belum dapat dianalisa, TM7. Aspek kimiawi dari timbulnya bau belum sepenuhnya dipahami, tetapi diduga diakibatkan oleh produksi senyawa sulfur volatil oleh mikroflora residen.

Saliva

Meskipun air liur mengandung hingga 10^8 mikroorganisme ml^{-1} namun saliva tidak dianggap memiliki mikroflora penduduk sendiri yang salah satu penyebabnya adalah aktivitas normal menelan yang menyebabkan bakteri

tidak dapat dipertahankan hanya dengan perkembangbiakan di saliva sendiri. Organisme yang ditemukan umunya berasal dari bagian lain dari mulut terutama dari dorsum lidah yang terlarut akibat dari faktor mekanik dan kimia dari mulut (aliran saliva dan GCF, mengunyah, serta kebersihan mulut). Profil mikroba saliva (khususnya *mutans streptococci* dan / atau *lactobacilli*) telah digunakan sebagai indikator kerentanan suatu individu terhadap karies dan dapat dievaluasi dengan menggunakan kit yang tersedia secara komersial. Orang-orang yang memiliki jumlah bakteri kariogenik yang tinggi dianggap 'berisiko' dan merupakan target dari intervensi kebersihan mulut yang intensif, terapi antimikroba dan konseling diet.

Gigi

Komunitas mikroba pada gigi umumnya berkaitan dengan pembentukan plak gigi dan komposisi dari mikroba ini cenderung bervariasi bergantung pada kondisi lingkungan setempat. Oleh karena itu, plak dideskripsikan berdasarkan dari tempat terbentuknya seperti plak pada permukaan halus, aproksimasi, fisura, atau plak celah gingiva, sedangkan istilah plak supragingiva dan subgingiva digunakan untuk menggambarkan sampel yang diambil di atas atau di bawah batas gusi. Karena gigi merupakan permukaan yang tidak terkikis, jumlah mikroorganisme tertinggi ditemukan di lokasi yang stagnan yang cenderung terlindungi dari cedera fisik dan dapat mengandung lebih dari 20 spesies bakteri. Plak gigi adalah contoh dari biofilm; Bakteri yang tumbuh di biofilm dapat menampilkan sifat baru, termasuk peningkatan toleransi terhadap agen antimikroba.

Basilus dan gram positif berfilamen (terutama spesies *Actinomyces*) adalah salah satu kelompok utama bakteri yang umum ditemukan pada plak. *Streptokokus mutans* dan anggota kelompok mitis dan *streptokokus anginosus* juga ditemukan dalam jumlah banyak pada gigi sedangkan *S. salivarius* merupakan komponen minor. Anaerob obligat dan spirochaeta ditemukan dalam jumlah tinggi terutama di celah gingiva. Evaluasi plak dengan menggunakan teknik FISH menunjukkan *streptococci* dan *Prevotella spp*. sebagai kelompok kecil multi-genera yang dapat membantu kelangsungan

hidup pathogen utama plak selama perkembangan biofilm awal. Fakta-fakta ini menunjukkan bahwa komposisi plak gigi berbeda secara kualitatif dan kuantitatif dari komunitas permukaan oral lainnya.

Faktor yang Mempengaruhi Sebaran Mikrobiota Oral

Kolonisasi kavum oris bergantung pada kemampuan perlekatan dan kolonisasi dari spesies-spesies bakteri secara individual. Tiap kelompok bakteri cenderung memiliki preferensi terhadap lokasi-lokasi permukaan oral yang berbeda yang dikenal sebagai tropisme. Komposisi komunitas akhir ditentukan dari kemampuan bakteri lainnya yakni pertumbuhan koloni dan persaingan dengan spesies-spesies lain.

Sebagaimana dibahas dalam Bab 2, tingkat anaerobiosis (potensi redoks; Eh) dan ketersediaan nutrisi akan menentukan apakah sel-sel yang melekat dapat tumbuh di suatu situs. Situs dengan Eh terendah (dan jumlah anaerob obligat tertinggi) adalah yang terkait dengan area stagnan pada gigi. Juga, dalam biofilm seperti plak gigi, konsumsi oksigen oleh organisme aerob dan anaerob fakultatif dapat menciptakan lingkungan anoxic (kekurangan oksigen) yang akan memfasilitasi pertumbuhan anaerob obligat. Peningkatan proporsi bakteri asaccharolytic dan proteolitik pada plak subgingival selama berbagai penyakit periodontal adalah karena tersedianya nutrisi tambahan (protein, glikoprotein) oleh GCF. Kehadiran beberapa spesies lain dapat dikaitkan dengan penyediaan nutrisi oleh bakteri mulut lainnya dalam rantai makanan.

Faktor Host dan Bakterial yang Berperan pada Adhesi/Perlekatan

Secara normal, mikroorganisme oral tidak dapat menempel pada permukaan polos. Namun, permukaan seperti ini jarang ditemukan. Tingkat adherensi pertama melibatkan interaksi awal antara permukaan eksternal dari kedua mikroba dan substrat. Adhesi bakteri-host dipengaruhi oleh sifat-sifat dari medium pensuspensi (saliva). Selanjutnya, adhesi berkembang dan melibatkan interaksi molekuler spesifik antara molekul komplementer pada

permukaan mikroba dan host. Secara umum, istilah 'adhesin' digunakan untuk menggambarkan komponen mikroba yang berperan dalam adhesi sementara faktor yang pada host dikenal sebagai 'reseptor'. Mikroba mengekspresikan beberapa jenis adhesin sementara permukaan host dapat mengandung beberapa kelas reseptor. Beberapa bakteri juga mengekspresikan reseptor yang berinteraksi dengan adhesins pada jenis mikroba lainnya pada proses koaggregasi atau koadhesi). Beberapa faktor host dan bakteri yang berperan dalam adhesi atau perlekatan diuraikan pada penjabaran di bawah.

1. *Reseptor Host*

Membran sel epitel, terutama epitel bukal, memiliki asam sialat yang dapat berinteraksi dengan adhesin pada bakteri seperti *S. mitis*. Jika residu asam sialic degradasi, maka residu lain seperti residu galactosyl dapat terekspos yang dikenali oleh *Actinomyces spp.*, dan bakteri Gram negatif termasuk *Fusobacterium nucleatum, Prevotella intermedia* dan *Eikenella corrodens*. Serat kolagen, yang merupakan komponen struktural utama dari jaringan ikat, juga dapat bertindak sebagai reseptor untuk streptokokus mutans tertentu (*S. cricetis, S. ratti*) dan *Porphyromonas gingivalis*, sementara domain spesifik untuk melekatnya streptococci atau spirochaetes dapat ditemukan pada fibronektin.

Pelikel dapat terbentuk pada semua permukaan mulut baik keras maupun lunak dan tidak identic satu dengan lainnya. Untuk membedakan perbedaan-perbedaan ini, istilah yang berbeda seringkali digunakan seperti pelikel enamel yang diperoleh atau pelikel sementum yang didapat, sedangkan pelikel yang terbentuk pada permukaan epitel disebut sebagai mantel lendir. Pelikel terbentuk segera setelah permukaan oral terkena air liur dan umumnya diperlukan waktu sekitar 90-120 menit guna terjadinya adsorpsi molekul yang efektif. Pellikel mengandung protein, lipid dan glikolipid dan sekali terbentuk, komposisi dan struktur pellikel akan berubah dan termodifikasi.

Dalam pelikel enamel, protein yang akya akan prolin dan statherin meningkatkan adhesi *Actinomyces naeslundii*, beberapa strain *S. mutans* dan anaerob berpigmen hitam. Amilase, lisozim, albumin dan imunoglobulin,

serta beberapa komponen bakteri, termasuk glucosyltransferases (GTFs) dan glukan, juga telah terdeteksi pada pelikel. Enzim yang teradsorpsi dalam pelikel masih dapat berfungsi dan glukan yang dihasilkan dapat berikatan dengan molekul (protein pengikat glukan) pada mutans streptococci, sehingga meningkatkan kemampuan kolonisasi. Polimer yang disintesis oleh GTF yang teradsorpsi pada permukaan gigi memiliki struktur kimia yang berbeda dengan yang dihasilkan oleh bakteri yang hidup bebas.

2. *Adhesin Bakterial*

Banyak adhesin bakteri merupakan residu lektin (protein pengikat karbohidrat) yang berikatan dengan reseptor karbohidrat di permukaan. Seringkali adhesins berhubungan dengan struktur permukaan yang disebut fibril atau fimbriae. Fibrils memiliki struktur yang pendek dan sempit sementara fimbriae memiliki struktur yang lebih lebar (3-14 nm) dan panjang yang bervariasi hingga 20 μm. Beberapa bakteri memiliki fibril dan fimbriae dan suatu strain dapat memiliki tipe fungsional yang berbeda dari setiap struktur. Sebagai contoh, *S. salivarius* memiliki mosaik fibrillar kompleks yang terdiri dari empat kelas fibril yang berbeda, masing-masing dengan panjang tertentu. *A. naeslundii* juga memiliki dua jenis fimbriae. Fimbriae tipe 1 memediasi pengikatan sel pada protein yang kaya proline yang teradsorpsi serta pada statherin dalam pelikel saliva pada enamel. Fimbriae tipe 2 berhubungan dengan lektin pengikat galaktosil yang memediasi perlekatan sel inang dan ke bakteri lain (koadesi atau koagregasi). Kehadiran fibril tidak terbatas pada bakteri oral Gram positif seperti pada kasus Strain *Prevotella spp.* yang memiliki fibril peritrichous. Morfologi, kepadatan dan panjang struktur tersebut dapat bervariasi secara nyata bahkan pada spesies yang sama.

Molekul adhesin yang berperan penting pada proses adhesi adalah antigen I / II famili dari polipeptida permukaan sel yang ditemukan pada kebanyakan streptokokus oral. Adhesin jenis ini merupakan polipeptida linier yang memiliki struktur kompleks multi-fungsi dengan beberapa situs pengikatan reseptor. Domain tertentu dalam peptida ini berikatan dengan glikoprotein saliva manusia (aglutinin), sel mikroba lain (koagregasi), dan kalsium. Area pada N-terminal secara eksklusif mengikat glikoprotein saliva

sementara separuh terminal-C mengandung urutan adhesi spesifik spesies yang mengikat hanya glikoprotein permukaan.

Adhesin bakteri lainnya adalah glucosyltransferases (GTFs) yang ditemukan pada permukaan beberapa streptokokus oral. Beberapa spesies menghasilkan lebih dari satu GTF dan dapat berinteraksi dengan reseptor dalam pelikel seperti dextrans dan glukan yang teradsorpsi. Glukan bereaksi dengan protein pengikat glukan yang diekspresikan oleh streptokokus lainnya. Polisakarida disintesis oleh GTFs membantu mengkonsolidasikan perlekatan bakteri ke permukaan keras di mulut dan berkontribusi pada matriks biofilm plak. GTF juga dapat disekresikan dan telah ditemukan baik pada pelikel dan pada permukaan bakteri dari jenis yang berbeda di mana molekul ini mempertahankan fungsi biologisnya. Dengan demikian, beberapa spesies dapat menghasilkan polisakarida ekstraseluler (EPS) dalam plak menggunakan enzim pengganti dari organisme lain. Banyak bakteri Gram positif oral bermuatan negatif karena penetrasi dinding sel oleh lipoteichoic acid (LTA). Polimer anionik ini terdiri dari gula fosfat, seperti gliserol dan ribitol fosfat yang berinteraksi dengan protein reaktif golongan darah dalam pelikel. Produksi molekul seperti peptidoglikan, LTA, polisakarida, protein dan lipoprotein dipengaruhi oleh lingkungan pertumbuhan yang dapat menginduksi modifikasi pola ekspresi gen sebagai bentuk penyesuaian diri dengan kondisi lingkungan yang baru.

Fungsi dari Komunitas Klimaks: Kolonisasi Resisten

Salah satu fungsi menguntungkan utama dari mikroflora residen adalah kemampuannya untuk mencegah kolonisasi oleh organisme eksogen yang seringkali bersifat patogen (resistensi kolonisasi). Contoh dari fenomena ini antara lain strain *S. salivarius* (strain TOVE) yang telah terbukti dapat menggantikan strain virulen S. mutans pada gigi. Strain lain dari *S. salivarius* menghasilkan inhibitor (disebut enocin atau salivaricin) yang dapat mencegah atau mengurangi kolonisasi oleh streptokokus grup A patogen Lancefield A (*S. pyogenes*) pada permukaan mukosa. Penggunaan probiotik oral dianggap mampu meningkatkan manfaat dari mikroflora

residen oral yang juga berdampak pada kesehatan lambung. Sifat-sifat dari beberapa strain streptokokus probiotik ini (mis. *S. salivarius* K12) mencakup penurunan regulasi respons proinflamasi terhadap bakteri residen oleh host.

Resistensi kolonisasi dapat terganggu oleh faktor-faktor yang membahayakan integritas pertahanan host atau mengganggu mikroflora residen. Faktor-faktor ini mencakup efek samping dari terapi sitotoksik atau penggunaan jangka panjang dari antibiotik spektrum luas. Fibronektin telah terbukti mencegah adhesi Pseudomonas aeruginosa pada sel epitel bukal dan kadar fibronektin pada orang dewasa yang sakit parah dan pada bayi cenderung lebih rendah dibandingkan orang dewasa sehat dan dapat menyebabkan tingkat kolonisasi yang lebih tinggi oleh basilus Gram negative.

Tabel 4.2 Fungsi Resistensi Kolonisasi dari Mikroflora Oral

Fungsi Resistensi Kolonisasi dari Mikroflora Oral
Kompetisi adhesi reseptor
Kompetisi terhadap nutrien esensial dan ko-faktor endogen
Modifikasi lingkungan mikro yang tidak sesuai dengan spesies eksogen
Produksi substansi inhibitor (bakteriosin, H_2O_2, Bakteriofag, dll)

Metabolisme Mikrobiota Oral

Persistensi mikroflora oral residen bergantung pada kemampuan organisme tersebut untuk mendapatkan nutrisi dan tumbuh di dalam mulut. Nutrisi terutama berasal dari metabolisme substrat endogen yang ada dalam saliva dan GCF. Komponen ini adalah nutrisi eksogen yang diberikan secara intermiten melalui diet dengan komponen yang paling signifikan adalah karbohidrat hasil fermentasi, pati dan kasein. Konsentrasi nutrisi akan mempengaruhi tingkat pertumbuhan dan fisiologi mikroflora, seperti halnya

perubahan pH yang dihasilkan dari metabolisme. Ekspresi gen mikroba akan bervariasi dengan perubahan kondisi lingkungan karena bakteri mampu mendeteksi perubahan lingkungan mereka melalui jalur transduksi sinyal dari komponen sensor histidin kinase dan pengatur respons. Sistem ini memungkinkan bakteri mendeteksi sinyal dan merespon perubahan lingkungan melalui aktivasi atau represi gen tertentu.

Metabolisme Karbohidrat

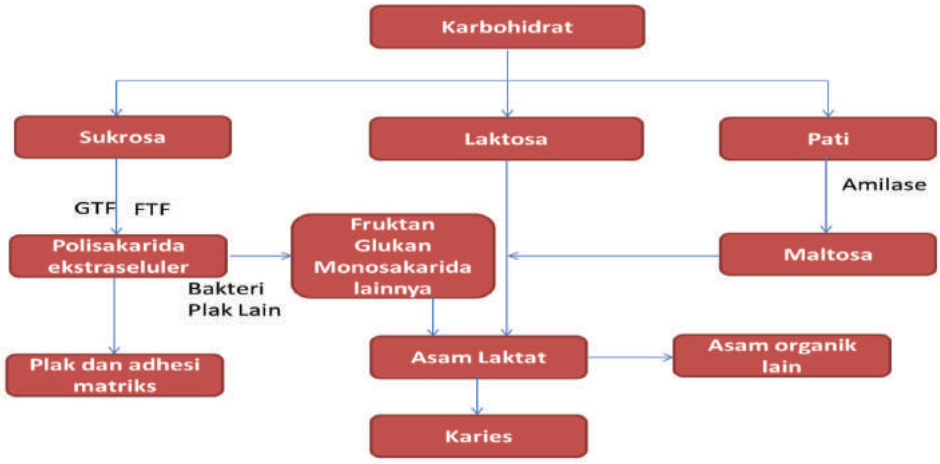
Karbohidrat merupakan substrat metabolik primer pada semua organisme termasuk bakteri. Metabolisme karbohidrat oleh mikroflora mulut berperan tidak hanya untuk menjaga higienitas oral namun juga pada proses patologis seperti pembentukan biofilm dan plak. Metabolisme karbohidrat secara sederhana diilustrasikan pada Gambar 4.3.

Secara umum, sukrosa (disakarida glukosa dan fruktosa) merupakan karbohidrat yang sering ditemukan pada makanan. Sukrosa yang tersisa pada mukosa oral dapat dimetabolisasi oleh mikroflora melalui beberapa jalur alternative seperti:

1. Dipecah oleh invertase bakteri ekstraseluler (α-glukosidase) dan glukosa yang dihasilkan dan molekul fruktosa diambil langsung oleh bakteri.
2. Diangkut utuh sebagai disakarida atau disakarida fosfat, dan dihidrolisis dalam sel oleh invertase intraseluler atau hidrolase sukrosa fosfat.
3. Digunakan secara ekstrasel oleh glikosiltransferase. Glucosyltransferases (GTF) menghasilkan glukan larut maupun tidak larut (dengan pelepasan fruktosa) yang penting dalam pembentukan plak dan dalam konsolidasi perlekatan bakteri ke gigi. Fructosyltransferases (FTF) menghasilkan fructans (dan membebaskan glukosa), beberapa di antaranya dapat dimetabolisme oleh organisme plak lainnya.

Pati yang mengandung campuran amilosa dan amilopektin dapat dipecah menjadi gula penyusunnya oleh amilase saliva dan bakteri. Beberapa *streptococci* (*S. gordonii, S. mitis*) mampu mengikat amylase sehingga mengoptimalkan metabolism karbohidrat organisme tersebut. *S.*

mutans memiliki spektrum enzim yang dapat memetabolisasi pati termasuk pullanase ekstraseluler sehingga menurunkan pullulan dan amilopektin serta amylase. Bakteri ini juga memiliki enzim endo-dextranase ekstraselular dan exo-dextranase intraseluler.



Gambar 4.3. Ilustrasi metabolism karbohidrat oleh mikroflora oral

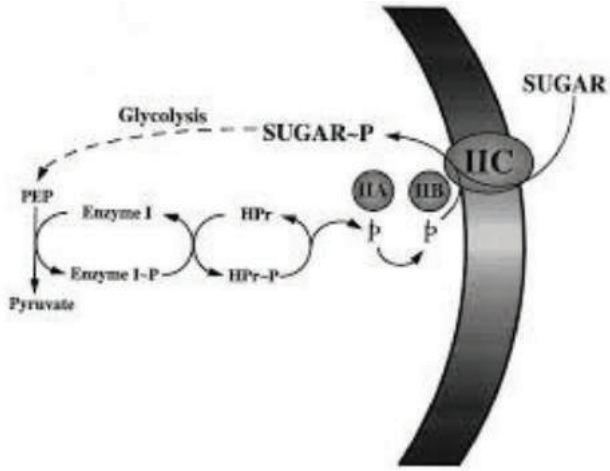
Transport Gula dan Produksi Asam

Karbohidrat ekstraseluler harus diangkut ke kompartemen intraselueler agar dapat digunakan untuk produksi biomassa atau sebagai sumber energi. Bakteri oral dapat mengangkut karbohidrat melalui tiga proses yang telah dikenal:

1. sistem transportasi phosphotroppyruvate-mediated phosphotransferase (PEP-PTS)
2. sistem metabolisme gula majemuk (Msm)
3. glukosa permease

Sistem yang paling penting dalam proses ini adalah PEP-PTS, yang merupakan sistem transportasi gula afinitas tinggi untuk mono dan disakarida pada bakteri mulut acidogenic (*Streptococcus, Actinomyces, Lactobacillus*). PEP-PTS adalah sistem translokasi kelompok pembawa-mediasi yang

melibatkan transfer fosforil dari PEP melalui dua protein sitoplasma non-spesifik yakni HPr dan enzim I (E1), ke kompleks enzim spesifik karbohidrat yang terikat membran (EII), yang mengkatalisis transport dan fosforilasi gula yang masuk (Gambar 4.4). Kelompok fosfat E1~P, yang dihasilkan dari PEP, ditransfer ke HPr, membentuk HPr~P, dan kemudian ke kompleks EII.



Gambar 4.4. Mekanisme transport karbohidrat melalui sistem PEP-PTS

PEP-PTS bersifat konstitutif untuk beberapa gula, seperti glukosa, manosa dan sukrosa, tetapi harus diinduksi untuk pengangkutan laktosa dan gula alkohol seperti mannitol dan sorbitol. Komponen yang diinduksi adalah enzim yang merupakan komponen kompleks EII serta enzim tambahan yang diperlukan untuk mengkonversi substrat ke komponen jalur glikolitik. Aktivitas PEP-PTS dalam streptokokus oral dimodulasi oleh kondisi lingkungan yang mengoptimalisasi penggunaan karbohidrat, pH netral dan tingkat pertumbuhan bakteri yang lambat. Sebaliknya, kompleks tersebut ditekan dalam kondisi kelebihan gula, pH rendah dan tingkat pertumbuhan tinggi. Umpan balik negative ini penting terutama pada bakteri-bakteri pada plak yang terus menerus terpapar pada kondisi pH rendah dan konsentrasi gula tinggi.

Banyak strain *S. mutans* memiliki sistem kedua untuk mengangkut gula ke dalam sel yakni metabolisme gula majemuk (Msm). Keberadaan

sistem ini disimpulkan sepenuhnya dari penemuan urutan homologi gen yang dikloning dari *S. mutans* dengan produk gen yang diketahui dari bakteri Gram negatif. Sistem Msm analog dengan sistem ikatan tergantung protein pada bakteri Gram negatif dan mampu mengangkut berbagai molekul gula umum termasuk sukrosa, serta melibiose, raffinose dan maltose. Namun, peranan pasti dari sistem ini dalam pathogenesis plak ebelum diketahui secara pasti, tetapi diasumsikan berperan dalam pengangkutan produk-produk degradasi polisakarida ekstraseluler.

Microflora oral residen juga dapat memperoleh karbohidrat dari katabolisme glikoprotein host yang ditemukan dalam air liur (seperti musin) dan di GCF (misalnya transferin). Bakteri menghasilkan berbagai glikosidase yang dapat menghilangkan gula secara berurutan dari rantai samping oligosakarida glikoprotein ini dan ini dapat diangkut oleh sistem transport seperti PEP-PTS. Umumnya, bakteri berinteraksi secara sinergis untuk sepenuhnya mendegradasi molekul-molekul ini karena antar spesies umumnya berinteraksi secara sinergistik dalam metabolism. Namun, produksi asam dari glikoprotein ini cenderung lebih lambat dan dengan konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan dengan gula eksogen sehingga tidak menyebabkan demineralisasi email yang signifikan.

Setelah gula telah diangkut ke dalam sel bakteri, gula dapat digunakan baik dalam jalur anabolik untuk menghasilkan biomassa atau katabolic yang memproduksi asam organik yang diekskresikan dan berperan dalam demineralisasi gigi. Gula yang memasuki jalur glikolisis diubah menjadi piruvat yang produksinya bergantung pada jenis mikroorganisme dan ketersediaan oksigen. Kebanyakan bakteri oral memetabolisme piruvat secara anaerobik menjadi asam organic yang terkadang dapat digunakan untuk mengidentifikasi genera tertentu. Sebagai contoh, *Streptococci* oral mengubah piruvat menjadi laktat yang dikatalisis oleh dehidrogenase laktat ketika gula berlebih, sementara format, asetat dan etanol adalah produk metabolisme oleh *mutans streptococci* dan *S. sanguinis* (tetapi bukan *S. salivarius*) di bawah batasan karbohidrat. Genus bakteri lainnya menghasilkan asetat, butirat, propionat, dan format sebagai produk utama metabolisme.

Mekanisme ekskresi asam laktat telah dikarakterisasi dengan baik pada *S. mutans*. Laktat dan proton ditranslokasi ke membran sel sebagai asam laktat dalam proses elektroneutral yang diperantarai oleh pembawa elektron. Transport substrat fermentasi ke lingkungan intraseluler menyebabkan akumulasi laktat dan proton dipompa keluar dari sel oleh ATP sintase (F1F0-ATPase). Hal ini menghasilkan gradien pH transmembran, yang kemudian digunakan sebagai kekuatan pendorong untuk mengangkut laktat sebagai asam laktat keluar dari sel. Memalui proses ini, ATP-sintase hanya diperlukan untuk mempertahankan gradien pH jika proton memasuki sel dengan kebocoran atau ko-transpor dengan substrat lain seperti asam amino. Dengan demikian, setelah proses ini dimulai tidak ada energi metabolik yang diperlukan dalam efluks laktat sehingga mengoptimalkan penggunaan ATP.

Spesies yang berbeda menghasilkan asam pada tingkat yang berbeda dan bervariasi dalam kemampuan untuk bertahan hidup dalam kondisi seperti itu. Umumnya, *mutans streptococci* menghasilkan asam pada tingkat tercepat sementara lactobacilli menghasilkan pH lingkungan terendah. Kedua kelompok juga bersifat aciduric dan dapat mentolerir kondisi keasaman yang dapat menghambat atau membunuh bakteri mulut lainnya. Variasi ditemukan dalam profil asam yang ditemukan dalam plak pada waktu dan kondisi yang berbeda. Asam asetat, succinic, propionic, valeric, caproic dan butyric ditemukan dalam sampel manusia setelah puasa semalam. Profil ini mencerminkan hetero-fermentasi dan katabolisme asam amino. Setelah terpapar pada sukrosa, konsentrasi asam volatil menurun sementara asam laktat menjadi produk fermentasi yang dominan dan kondisi ini cenderung mendorong terjadinya demineralisasi.

Toleransi Asam

Meskipun banyak bakteri sakcharolytic yang ditemukan di plak gigi dapat menghasilkan pH terminal rendah dari metabolisme gula, beberapa spesies dapat bertahan hidup pada kondisi seperti itu untuk periode yang lama. Salah satu ciri pembeda utama bakteri kariogenik seperti *mutans streptococci*

dan *lactobacilli* adalah kemampuan mereka untuk mentoleransi tekanan pH rendah. Keberadaan mikroba dalam lingkungan asam tergantung pada kemampuan sel untuk mempertahankan homeostasis pH intraseluler, suatu adaptasi yang dapat dicapai dengan cara:

1. Pemompaan aktif proton melalui protein transport membrane-ATP sintase (H + / ATPase)
2. Pemompaan/Efflux produk akhir yang ersifat asam.

Mekanisme ini memastikan homeostasis pH intraseluler yang tetap lebih tinggi dibandingkan dengan lingkungan eksternal selama produksi asam. Organisme yang toleran asam seperti *mutans streptococci* dan *lactobacilli* memiliki ekspresi dan tingkat aktivitas ATP synthase yang lebih tinggi dan pH optimum yang lebih rendah daripada spesies yang kurang toleran seperti *S. sanguinis atau A. naeslundii*. Streptococcus mutans mengalami perubahan spesifik dalam fisiologinya untuk bertahan hidup di lingkungan asam (Tabel 4.3) yang memberikan keunggulan kompetitif pada pH rendah dari organisme lain yang terkait dengan kesehatan enamel yang umumnya tidak memiliki respon ini seperti *S. sanguinis*. Spesies lain mengatasi tekanan pH lingkungan yang rendah melalui regulasi ekspresi gen-gen regulator yang terlibat dalam produksi substansi basa seperti peningkatan ekspresi gen urease oleh *S. salivarius*.

Tabel 4.3. Strategi adaptasi bakteri terhadap suasana asam. Dalam kasus ini dicontohkan *S. mutans*

Strategi Metabolik S. mutans pada pH Rendah
Peningkatan glikolisis
Penurunan permeabilitas membran terhadap proton dan glukosa
Penurunan beberapa komponen PEP-PTS
Peningkatan pemompaan proton melalui H+/ATP synthase
Peningkatan kapasitas regulasi potensial membran
Shifting ke tipe metabolisme homo-fermentatif
Produksi protein respon stress

Produksi Polisakarida

Bakteri di mulut menjadi sasaran siklus berkelanjutan dari proses 'pesta dan kelaparan' sehubungan dengan diet karbohidrat. Sebagai akibatnya, mikroflora residen telah mengembangkan strategi untuk menyimpan karbohidrat ini selama paparan singkat mereka pada substrat. Strategi ini membantu untuk menghindari efek letal dari pembentukan intermediet glikolitik intraseluler yang berlebihan dan tidak perlu serta menyediakan sumber karbon dan energi saat suplai substrat menurun. Strategi yang paling umum adalah untuk menyimpan karbohidrat ini sebagai polisakarida intraseluler (IPS) dan banyak spesies streptokokus oral dapat mensintesis polimer yang menyerupai glikogen (1,4-α-glukan). Metabolisme IPS merupakan faktor virulensi bagi *S. mutans* karena mutan yang memiliki kecacatan metabolik pada jalur ini berasosiasi dengan karies yang lebih sedikit pada model binatang.

Banyak spesies bakteri mulut juga mampu mensintesis polisakarida ekstraselular (EPS) dari karbohidrat terutama dari sukrosa. Polisakarida yang disintesis dapat bersifat larut atau tidak larut namun polisakarida larut cenderung bersifat lebih labil dan dapat dimetabolisme oleh bakteri lain sementara polisakarida tidak larut berkontribusi besar pada integritas struktural plak gigi (plak matriks) dan dapat mengkonsolidasikan perlekatan bakteri dalam plak. Sukrosa memiliki sifat unik sebagai substrat di bahwa ikatan antara glukosa dan fruktosa memiliki energi yang cukup untuk mendukung sintesis polisakarida. Polisakarida yang terbentuk adalah glukan atau fruktan yang dikatalisis oleh glukosiltransferase (GTFs) dan fruktosiltransferase (FTFs).

GTF dapat dibagi menjadi empat kelompok tergantung pada apakah mereka menghasilkan dekstran terlarut (enzim GTF-S mensintesis glukon α, 1-6) atau glukan yang tidak larut (enzim GTF-I mensintesis terutama α, 1-3 polimer) dan apakah enzim-enzim tersebut membutuhkan dekstran primer. *S. mutans* memiliki tiga GTF (dikodekan oleh gen gtfB, gtfC dan gtfD) yang mensintesis polimer glukan α, 1-3- dan α, 1-6-. Pada *S. mutans*, gen gtfB dan gtfC mengkode enzim yang menghasilkan glukan yang tidak larut dalam air yang terutama terdiri dari α, 1-3. Produk gen ini berkontribusi pada adhesi

sel serta pembentukan dan struktur plak. Molekul tersebut juga penting dalam inisiasi karies pada permukaan gigi yang halus pada model binatang. Sebaliknya, gen gtfD mengkodekan enzim yang bergantung pada primer untuk pembentukan glukan terutama dengan unit glukosa α, 1-6 yang jauh lebih larut dalam air.

Streptococcus mutans memiliki FTF tunggal (diproduksi oleh gen ftf) yang mengkatalisis penggabungan komponen fruktosa dari molekul sukrosa menjadi polimer fruktan dengan struktur tipe inulin yang tersusun terutama dari subunit β fruktosa 2-1 yang terkait. Fructan tidak terlibat dalam adhesi, dan tidak muncul untuk jangka waktu lama dalam plak. Molekul bertindak lebih sebagai senyawa penyimpanan karbohidrat ekstraseluler dalam biofilm plak yang dipecah menjadi fruktosa oleh hidrolase fruktan yang dihasilkan oleh berbagai bakteri mulut.

Streptococci lain memiliki jumlah gen GTF yang berbeda-beda. Empat tipe GTF telah terdeteksi pada *S. sobrinus* termasuk GTF-I yang bergantung primer yang mensintesis glukan dengan komposisi sebagian besar residu glukosa α, 1-3. Terdapat dua produk gen yang menghasilkan polimer dengan campuran molekul glukosa α, 1-3 dan α, 1-6, serta GTF-S primer yang menghasilkan glukan linear yang terdiri dari residu α, 1-6. *S. salivarius* juga menghasilkan empat GTF, meskipun sifat mereka berbeda dengan yang dijelaskan untuk *S. sobrinus*. Sebaliknya, *S. gordonii* hanya memiliki satu GTF, meskipun hal ini dapat membentuk glukan larut dan tidak larut bergantung pada kondisi lingkungan. produk *S. sanguinis* atau *S. oralis* masih belum diketahui secara pasti namun kemungkinan kedua spesies ini hanya mensintesis satu enzim. *Streptococcus salivarius* juga menghasilkan fructan yang berbeda dengan *S. mutans* yakni levan dengan karakteristik β, 2-6 linkage. FTF *S. salivarius* juga berbeda karena bersifat seluler dan tidak disekresikan.

Metabolisme Nitrogen

Selain kasein, hanya sedikit bukti yang menunjukkan penggunaan protein pada makanan oleh mikroflora mulut. Kasein sendiri dapat terintegrasi pada

plak gigi namun terdegradasi dengan mudah. *Streptococcus sanguinis* telah terbukti memiliki aktivitas endo dan exopeptidase (amino dan karboksi terminal) yang dapat memecah protein seperti kasein menjadi berbagai fragmen peptida. Aktivitas eksopeptidase terutama terkait sel dan diregulasi pada pH tinggi, sedangkan aktivitas endopeptidase bersifat ekstraseluler dan optimal pada pH netral. *Streptococcus sanguinis* dapat dengan cepat melepaskan arginin dari peptida C-terminal, mengubah arginin yang dilepas menjadi energi (dan karbamoil fosfat) melalui jalur arginine deiminase. Urea terdapat dalam konsentrasi yang relatif tinggi (200 mg / liter) dalam saliva oleh karena adanya aktivitas urease yang relative tinggi dari beberapa spesies oral (misalnya *A. naeslundii dan S. salivarius*). Pada pH asam, dekarboksilasi asam amino menghasilkan karbon dioksida dan amina, sedangkan pada pH tinggi, deaminasi menghasilkan asam amonia dan keto yang dapat diubah menjadi asam asetat, propionat, dan iso serta n-butirat. Sebagai contoh, beberapa patogen periodontal dapat mengubah histidin, glutamin atau arginin menjadi asetat dan butirat yang mungkin menjadi mekanisme penting dimana mikroorganisme oral melawan ekstrim pH yang disebabkan oleh katabolisme karbohidrat dan urea.

Asam amino esensial dapat diperoleh dari lingkungan atau disintesis oleh sel. Amonia dapat diubah menjadi sejumlah asam amino seperti alanine melalui oksidasi pyruvate yang diganbungkan dengan ammonia. Reaksi transaminasi lebih lanjut dapat memberikan asam amino esensial lainnya. Reaksi Stickland dapat terjadi pada plak gigi yang melibatkan reduksi oksidasi gabungan dari pasangan asam amino yang cocok dan merupakan mekanisme di mana berbagai proses biokimia dapat diimbangi dalam plak.

Pengangkutan asam amino seperti glutamat dan aspartat dalam *S. mutans* terjadi melalui sistem transportasi aktif sedangkan asam amino rantai cabang (seperti leusin) diambil melalui ko-transpor dengan memanfaatkan gradient proton. Asam amino esensial juga dapat berasal dari metabolisme peptida baik di dalam atau di luar sel. Baik *S. mutans* dan *S. sanguinis* dapat mengangkut tri-peptida (dengan struktur X-proline-Y) yang didegradasi dalam lingkungan intraseluler oleh dipeptidyl peptidase sitoplasma serta oleh enzim yang memecah dipeptida X-proline. Proses ini

sangat menguntungkan bagi sel karena semua asam amino yang ada dalam peptida dipecah dengan biaya energi yang sama dengan pengangkutan satu asam amino.

Banyak mikroorganisme dari kantong periodontal bersifat asaccharolytic (yaitu tidak mendapatkan energi dari konversi gula menjadi produk fermentasi asam) tetapi proteolitik dan pertumbuhan bakteri ini bergantung pada kemampuan untuk memanfaatkan nutrisi yang disediakan oleh GCF. Selama peradangan, banyak nutrisi baru yang tersedia seperti hemoglobin, transferin, haemopexin, haptoglobin yang berasal dari host yang berpotensi meningkatkan populasi patogen periodontal yang sangat proteolitik seperti *Porphyromonas gingivalis*. Molekul-molekul ini dapat menjadi sumber peptida dan asam amino, serta haeme, yang merupakan kofaktor penting bagi anaerob berpigmen hitam. Meskipun *P. gingivalis* dapat secara langsung mengangkut dan menggunakan beberapa asam amino, namun bakteri ini cenderung mengambil peptida pendek guna menghemat energi sintesis. Protease utama yang diproduksi oleh P. gingivalis merupakan keluarga proteinase sistein dengan spesifisitas terhadap residu arginin dan lisin dan disebut Arg-gingipain (RgpA dan RgpB) dan Lysgingipain (Kgp). RgpA dan Kgp memiliki domain adhesin C-terminal yang dapat mengikat molekul host. Sebagai contoh, *P. gingivalis* secara eksklusif menggunakan haemoglobin yang diturunkan yang diperoleh melalui kompleks ekstraseluler proteinase-adhesin RgpA-Kgp mengikat dan menghidrolisis hemoglobin serta melepaskan haeme pada permukaan sel. Kgp juga telah terbukti berperan penting dalam pembentukan pigmen hitam yang terkait dengan koloni P. gingivalis pada agar darah dimana pigmentasi terbentuk karena pengendapan haeme sebagai dimer μ-okso pada permukaan sel.

Selain memperoleh nutrisi penting dari GCF, banyak organisme subgingival juga mampu mendegradasi protein struktural dan glikoprotein yang berasal dari epitel. Produksi enzim seperti chondroitin sulphatase, hyaluronidase, dan collagenase berkontribusi pada kerusakan jaringan pada daerah ini. Arg-gingipain juga penting dalam virulensi organisme-organisme ini dan dapat menderegulasi serta menurunkan respon inflamasi host dengan mendegradasi molekul anti-inflamasi dan menyebabkan kerusakan

kolateral pada jaringan periodontal. PH optimum dari beberapa enzim ini adalah pH netral atau sedikit basa yang umum ditemukan pada kantong periodontal yang meradang.

Interaksi sinergis terjadi dalam pemecahan molekul host dan hubungan yang saling menguntungkan terjadi antara organisme dengan pola aktivitas enzim komplementer. Aktivitas endopeptidase *P. gingivalis* dapat memberikan peptida yang tepat dari katabolisme molekul host untuk pertumbuhan *F. nucleatum*. Demikian pula, *F. nucleatum* dapat mendukung pertumbuhan *P. gingivalis* di lingkungan beroksigen. Hal ini menjelaskan mengapa kedua spesies ini sering ditemukan bersama dalam kantong periodontal.

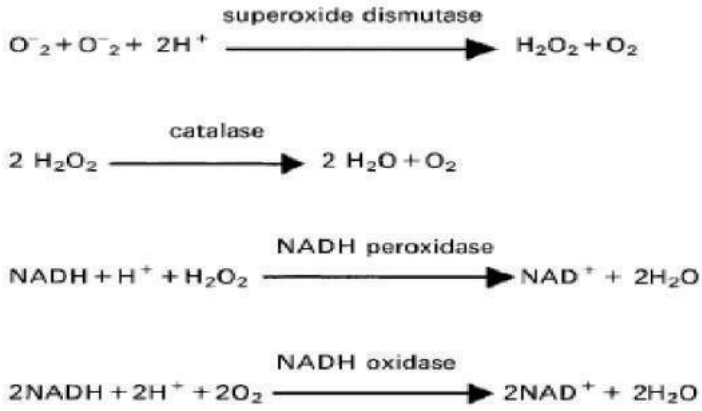
Secara kolektif, penjabaran ini menekankan pentingnya metabolisme nitrogen dalam ekologi mikroba oral. Host dan protease bakteri secara langsung dan tidak langsung terkait dengan kerusakan jaringan pada penyakit periodontal namun tidak begitu berdampak pada karies asam yang diproduksi dinetralisisr oleh produksi basa oleh bakteri pada plak.

Metabolisme Oksigen

Mulut adalah lingkungan yang sangat aerobik namun sebagian besar bakteri bersifat anaerob fakultatif atau anaerobik terutama pada plak gigi. Kolonisasi awal cenderung lebih toleran terhadap efek toksik dari metabolisme oksigen terutama terhadap produk oksidatif seperti hidrogen peroksida dan hypothiocyanite. Kolonisasi berikutnya tergantung pada interaksi metabolik antar spesies dalam struktur biofilm plak untuk mengatasi oksigen dan radikal oksidatif.

Semua bakteri plak, termasuk anaerob obligat, mampu memetabolisme oksigen, meskipun pada tingkat yang berbeda. Bakteri aerob (seperti *Neisseria spp*.) dapat menggunakan rantai transpor elektron yang mengandung cytochrome untuk reduksi oksigen dan sintesis ATP gabungan. Sebaliknya, spesies penghasil asam laktat anaerob fakultatif memiliki oksidase NADH yang mengandung flavin dan peroksidase NADH; Treponema denticola (yang sangat anaerobik) memiliki sistem yang serupa yakni NADH oksidase dan

peroksidase NADH yang memungkinkan spesies ini memanfaatkan kadar oksigen rendah di lingkungan subgingival. Beberapa reaksi metabolism oksigen diilustrasikan di bawah:



Gambar 4.5. Metabolisme oksigen oleh mikroflora oral

Meskipun oksigen itu sendiri tidak beracun namun produk metabolit oksigen seringkali bersifat sangat oksidatif dan toksik. Bakteri oral umumnya memiliki mekanisme pertahanan molekuler untuk mencegah atau mengurangi kerusakan oksidatif akibat produk ini. Mekanisme ini melibatkan produksi katalase, peroksidase, dan dismutase superoksida. Terdapat beragam kombinasi enzim-ensim tersebut yang ditemukan pada mikroflora oral. Sebagai contoh, *mutans streptococci* dan *Porphyromonas gingivalis* menghasilkan enzim superoksida dismutase, NADH peroksidase dan reduktase glutathione, sementara *P. gingivalis* memiliki superoksida dismutase, NADH oksidase dan NADH peroksidase. Aktivitas enzim-enzim ini meningkat ketika *P. gingivalis* terpapar oksigen. Pigmentasi warna hitam koloni *P. gingivalis* yang tumbuh pada agar darah juga dapat memberikan perlindungan terhadap kerusakan oksidatif melalui reaksi haeme dengan oksigen yang membentuk dimer yang terakumulasi pada permukaan *P. gingivalis*. Dimer agregat ini dapat bersifat antioksidan, membentuk penghalang fisik bagi oksigen, serta bertindak sebagai sistem penyangga untuk mengontrol kadar hidrogen peroksida yang didukung dengan aktivitas katalase.

Oral Malodour (Halitosis)

Malodour oral adalah kondisi yang relatif umum pada populasi individu dewasa dan berhubungan dengan metabolisme bakteri lidah. Individu dengan tingkat bau yang tinggi umumnya memiliki total bakteri yang lebih tinggi pada lidah dengan dominansi anaerob Gram negatif seperti *Porphyromonas*, *Prevotella, Fusobacterium* dan *Treponema spp*. Produksi bau juga sangat terkait dengan aktivitas proteolitik yang tinggi dan produksi senyawa sulfur volatil. Senyawa sulfur yang dominan adalah hidrogen sulfida [H2S] dan metil mercaptan [CH3SH] dengan konsentrasi dimetil sulfide [$(CH_3)_2S$] dan dimetil disulfida [$(CH_3)_2S$] yang lebih rendah. Hidrogen sulfida melalui katalisis reaksi oleh L-cysteine dehydrosulphatase pada L-cysteine sementara metil mercaptan (methanethiol) dihasilkan oleh oksidasi L-methionine. *Fusobacterium spp.* dan *Parvimonas micr*a mampu membentuk konsentrasi hidrogen sulfide yang tinggi dari glutathione (tripeptida: L-δ-glutamyl-Lcysteinylglycine) yang umum ditemukan pada sel-sel jaringan dan tersedia pada kantong periodontal. Keterkaitan mikroba pada halitosis terlihat pada fakta bahwa perawatan penyakit periodontal biasanya mengurangi halitosis.

Metabolisme dan Inhibitor

Agen antimikroba digunakan secara luas dalam pasta gigi dan obat kumur untuk membantu mencegah pembentukan plak gigi. Meskipun agen tersebut seringkali memiliki aktivitas antimikroba spectrum luas, konsentrasi pada mulut seringkali hanya berada pada level sub-letal dan dapat mengganggu metabolisme karbohidrat dan nitrogen. Sebagai contoh, chlorhexidine dapat menganggu aktivitas transportasi gula oleh PEP-PTS dan dengan demikian sangat mengurangi glikolisis serta menghambat ATP-sintase dan mempengaruhi pemeliharaan gradien ion dalam streptokokus. Chlorhexidine juga dapat mengganggu metabolisme nitrogen dengan menghambat arg-gingipain *P. gingivalis* dan serapan arginin oleh *S. sanguinis*.

DAFTAR PUSTAKA

Human Microbiome Project Consortium. 2012. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature; 486: 207-214. doi:10.1038/nature11234.

Kim JJ, Kim CJ, and Camargo PM. 2013. Salivary biomarkers in the diagnosis of periodontal diseases. J. Calif. Dent. Assoc.41(2): 119–124.

Li L, Redding S, Dongari-Bagtzoglou A 2007 Candida glabrata: an emerging oral opportunistic pathogen. J Dent Res 86:204-215.

Macuch PJ, Tanner AC 2000 Campylobacter species in health, gingivitis and periodontitis. J Dent Res 79:785-792.

Mahon CR. Lehman DC, Manusenis G. 2010. Textbook of diagnostic microbiology. 4th ed. Philadelphia, USA: Saunders.

Mark Welch JL, Utter DR, Rossetti BJ, Mark Welch DB, Eren AM, and Borisy GG. 2014. Dynamics of tongue microbial communities with single-nucleotide resolution using oligotyping. Front. Microbiol. 5: 568. doi:10.3389/fmicb.2014.00568.

Marsh PD, Martin MV, Lewis MA, and Williams D. 2009. Oral Microbiology E-Book. 5th ed. UK: Churchill Livingstone Inc, Elsevier health sciences.

Marsh PD. 2003. Are dental diseases examples of ecological catastrophes?. Microbiol; 149:279-294.

Marsh, P. and Martin, M. (2010). Oral microbiology. Edinburgh: Elsevier.

Nadell CD, Xavier JB, and Foster KR. 2009. The sociobiology of biofilms. FEMS Microbiol. Rev. 33(1): 206–224. doi:10.1111/j.1574-6976.2008.00150.x.

Nasidze I, Li J, Quinque D, Tang K, and Stoneking M. 2009. Global diversity in the human salivary microbiome. Genome Res. 19(4): 636–643. doi:10.1101/gr.084616.108.

Nelson-Filho P, Borba IG, Mesquita KS, Silva RA, Queiroz AM, and Silva LA. 2013. Dynamics of microbial colonization of the oral cavity in newborns. Braz. Dent. J. 24(4): 415–419. doi:10.1590/0103-6440201302266.

Park OJ, Yi H, Jeon JH, Kang SS, Koo KT, Kum KY, et al. 2015. Pyrosequencing analysis of subgingival microbiota in distinct periodontal conditions.

J. Dent. Res. 94(7): 921–927. doi:10.1177/0022034515583531.

Patil S, Rao RS, Amrutha N, Sanketh DS. 2013. Oral Microbial Flora in Human Health. World J Dent; 4(4): 262-266

Prince AL, Antony KM, Ma J, and Aagaard KM. 2014. The microbiome and development: a mother's perspective. Semin. Reprod. Med. 32(1): 14–22. doi:10.1055/s-0033-1361818.

Sakamoto M, Umeda M, Benno Y 2005 Molecular analysis of human oral microbiota. J Periodont Res 40:277-285.

Tanner ACR, Izard J 2006 Tannerella forsythia, a periodontal pathogen entering the genomic era. Periodontology 2000 42:88-113.

Wade W 2004 Non-culturable bacteria in complex commensal populations. Adv Appl Microbiol 54:93-106.

Williams DW, Lewis MA 2000 Isolation and identification of Candida from the oral cavity. Oral Dis 6:3-11.