

APLIKASI ISOLAT KASEIN FOSFOPEPTIDA DALAM KEJU SEBAGAI PENCEGAH KARIES GIGI

by Muhammad Muflih Fathulhuda

Submission date: 18-Jul-2019 08:50AM (UTC+0700)

Submission ID: 1152800953

File name: Artikel_Ilmiyah_Muhammad_Muflih_Fathulhuda_IPB_PKM-PE.doc (383K)

Word count: 2315

Character count: 14377

APLIKASI ISOLAT KASEIN FOSFOPEPTIDA DALAM KEJU SEBAGAI PENCEGAH KARIES GIGI

Muhammad Muflih Fathulhuda^{1,a)}, Cindy Caroline¹⁾, Shafwah Muthmainnah¹⁾,
Didah Nur Faridah²⁾

5

¹⁾Program Studi Teknologi Pangan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²⁾Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

a)Corresponding author: muflih.fathulhuda21@gmail.com

26

Abstract. Dental caries is an infectious disease that results from bacterial interactions with teeth. One effort that can be done to prevent dental caries is to consume foods containing bioactive compound casein phosphopeptide (CPP). Cheese is one of the food products that contain CPP bioactive compound. This study aims to measure the potential of CPP compounds obtained from cheese protein as a preventative for dental caries. The method used in this study is to measure the inhibition power of growth of bacteria causing dental caries (*Streptococcus mutans*) and measure the process of remineralization of teeth in vitro. The results showed the yield of crude CPP isolates obtained from commercial parmesan cheese was 16.65 ± 2.97 %. CPP isolates have inhibition on the growth of *S. mutans* at concentrations of 10 %, 15 %, and 20 % with inhibitory zone values of 1.22 ± 0.04 cm, 1.30 ± 0.00 cm, and 1.36 ± 0.08 cm, respectively. The application of 0.1 g CPP isolates to the tooth surface for 10 days was shown to increase tooth hardness by 28.36 %.

Keywords: Casein phosphopeptide, Cheese, Dental caries, Remineralization, *Streptococcus mutans*

4

Abstract. Karies gigi merupakan suatu penyakit infeksi yang dihasilkan dari interaksi bakteri dengan gigi. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mencegah karies gigi adalah mengonsumsi makanan yang mengandung senyawa bioaktif kasein fosfopeptida (CPP). Keju merupakan salah satu produk pangan yang mengandung senyawa bioaktif CPP. Penelitian ini bertujuan mengukur potensi senyawa CPP yang diperoleh dari protein keju sebagai pencegah karies gigi. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah mengukur daya hambat pertumbuhan bakteri penyebab karies gigi (*Streptococcus mutans*) dan mengukur proses remineralisasi gigi secara *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen isolat CPP kasar yang diperoleh dari keju parmesan komersial sebesar 16.65 ± 2.97 %. Isolat CPP memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans* pada konsentrasi 10 %, 15 %, dan 20 % dengan nilai zona hambat berturut-turut sebesar 1.22 ± 0.04 cm, 1.30 ± 0.00 cm, dan 1.36 ± 0.08 cm. Pengolesan isolat CPP sebanyak 0.1 g ke permukaan gigi selama 10 hari terbukti dapat meningkatkan kekerasan gigi sebesar 28.36 %.

Kata kunci: Karies gigi, Kasein fosfopeptida, Keju, Remineralisasi, *Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

1

Permasalahan terbesar yang dihadapi saat ini dalam bidang kesehatan gigi dan mulut adalah penyakit karies gigi. Menurut hasil Riskesdas (Riset Kesehatan Dasar) pada tahun 2007–2013 terjadi peningkatan prevalansi karies gigi di Indonesia dari 43.4 % pada tahun 2007 menjadi 53.2 % pada tahun 2013. Pada tahun yang sama, data WHO (*World Health Organization*) menunjukkan bahwa peningkatan terbesar terjadi pada usia 12 tahun sebanyak 13.7 % dan usia 65 tahun sebanyak 14.3 %. Penyebab teringginya prevalansi karies gigi adalah konsumsi makanan yang mengandung karbohidrat (terutama gula) dan pola hidup masyarakat yang kurang peduli terhadap masalah kesehatan gigi dan mulut. Karies merupakan suatu penyakit infeksi yang dihasilkan dari interaksi bakteri dengan gigi. Bakteri menggunakan sisa makanan sebagai substrat untuk proses fermentasi dan menghasilkan asam yang akan merusak enamel gigi dan menyebabkan gigi menjadi berlubang (Mustika *et al.* 2014).

Streptococcus mutans dan *Lactobacillus* dilaporkan sebagai bakteri utama penyebab terjadinya karies yang akan memfermentasi sukrosa (gula) menjadi senyawa asam (asam laktat) dan menyebabkan demineralisasi enamel gigi. Bakteri tersebut dapat membentuk plak pada permukaan gigi, di mana plak yang terbentuk melekat erat pada permukaan gigi dan tahan terhadap pelepasan dengan berkumur. Plak akan terbentuk pada permukaan gigi dan tambalannya. Perkembangan paling baik terdapat pada daerah yang sulit untuk dibersihkan, seperti daerah tepi gingival, permukaan proksimal, dan dalam fisur (Ramayanti dan Purnakarya 2013). Upaya yang dapat dilakukan dalam mencegah karies gigi adalah menggosok gigi dengan baik dan benar. Penggosokan gigi yang dilakukan dengan baik dapat menghilangkan sisa kotoran yang menempel pada gigi sehingga mencegah tumbuhnya bakteri penyebab karies gigi. Selain itu, karies gigi juga dapat dicegah dengan mengoleskan suatu bahan yang mengandung senyawa bioaktif tertentu, salah satunya adalah CPP. Pada penelitian Kanako *et al.* (2005) dan Maki *et al.* (2007) yang dilakukan terhadap gigi sapi, penggunaan pasta CPP terbukti dapat mencegah karies gigi dengan cara mencegah demineralisasi dan meningkatkan remineralisasi gigi.

CPP terdapat dalam jumlah yang cukup tinggi pada susu dan produk turunannya. Keju merupakan salah satu produk turunan susu yang dibuat dengan menggumpalkan kasein susu. Penggumpalan susu disebabkan oleh penambahan asam, enzim kimosin yang terdapat dalam rennet atau enzim proteolitik lain yang dihasilkan oleh bakteri. Penambahan asam dilakukan untuk menurunkan pH hingga mencapai 4.5–5.4 yang merupakan titik isoelektrik kasein susu. Penambahan rennet pada susu dilakukan ketika keasaman yang diinginkan telah tercapai sehingga enzim kimosin dapat bekerja secara optimal. Penambahan rennet bertujuan menggumpalkan susu sehingga terbentuk karakter curd yang diinginkan (Budiman *et al.* 2017; Gunawan 2017; Amanda dalam Sari *et al.* 2014; Sunarya 2016). Tahapan pembuatan keju terdiri dari pasteurisasi susu, penggumpalan kasein, pencacahan, pemasakan curd, pemisahan whey, penggaraman, pengepresan, dan aging (pemeraman). Selama proses pemeraman, aktivitas mikroba mengakibatkan terjadinya penguraian karbohidrat, protein, dan lemak sehingga terbentuk rasa, aroma, dan tekstur yang khas dan spesifik dari setiap keju yang dihasilkan (Sunarya 2016; Quarto *et al.* 2018). Penguraian protein oleh enzim proteolitik dari bakteri akan memecah molekul kasein susu menghasilkan berbagai peptida bioaktif, salah satunya adalah CPP. Keberadaan senyawa CPP dalam keju menyebabkan keju memiliki potensi sebagai pencegah karies gigi. CPP dilaporkan memiliki kemampuan dalam mencegah karies gigi melalui dua mekanisme, yaitu mencegah demineralisasi enamel gigi dan menghambat perlekatan bakteri penyebab karies pada gigi (Merrit *et al.* 2006; Sugito *et al.* 2008).

Tren konsumsi keju di Indonesia mengalami peningkatan dari 8000 ton per tahun (2002) menjadi sekitar 19000 ton per tahun (2013) (Rakhman dalam Nurhayati 2016). Dewasa ini banyak produk makanan maupun minuman di Indonesia yang berbahan dasar keju dan berpotensi tinggi digemari oleh seluruh kalangan masyarakat. Hasil survey Dinas Peternakan Jawa Barat menyatakan bahwa 52 % masyarakat sangat gemar keju sebagai produk olahan susu. Hal tersebut menunjukkan bahwa keju sangat berpotensi untuk dijadikan sebagai alternatif solusi pencegah karies gigi sehingga perlu dilakukannya penelitian terhadap senyawa CPP dalam keju untuk mengukur potensi keju sebagai pencegah karies gigi. Siregar (2011), Farooq *et al.* (2013), dan Divyapriya GK *et al.* (2016), melaporkan bahwa senyawa CPP pada produk susu memiliki efek sebagai pencegah karies gigi, akan tetapi belum ada penelitian lebih lanjut mengenai potensi senyawa CPP dalam keju. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengukur potensi senyawa CPP yang diperoleh dari protein keju sebagai pencegah karies gigi secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain keju parmesan komersial yang diperoleh dari Supermarket, kultur kering beku bakteri *Streptococcus mutans* (BCC 2760) yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor, serta gigi geraham yang diperoleh dari Klinik Gigi dan Mulut.

Isolasi Kasein Fosfopeptida

Isolasi CPP dilakukan mengacu pada metode Aranuchalam dan Raja (2010) dengan modifikasi. Suspensi keju 6% dibuat dengan cara melarutkan keju dalam akuades dan diaduk menggunakan magnetik stirrer. Larutan sampel dinaikkan pH-nya menggunakan NaOH 2 N hingga mencapai pH 7 kemudian disentrifuga dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Supernatan ditambahkan HCl 1 N hingga memiliki pH 4.6 kemudian

disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk menghilangkan protein dan peptida yang tidak memiliki gugus posfat. Supernatan hasil sentrifugasi diambil dan dilakukan penambahan larutan NaOH 2 N hingga pH larutan mencapai 7.0. Kalsium klorida 7 % ditambahkan ke dalam supernatan sampel diendapkan selama 10 menit pada suhu ruang. Setelah itu, sampel ditambahkan larutan etanol 50 % (V/V) dan disentrifugasi pada kecepatan 4500 rpm selama 15 menit. Endapan yang diperoleh merupakan senyawa CPP.

Uji Daya Hambat *Streptococcus mutans*

Pengujian daya hambat *S. mutans* dilakukan mengacu pada metode Mahmudah dan Atun (2017) dengan modifikasi. Sampel CPP dilarutkan dalam larutan buffer pH 4.6 pada berbagai konsentrasi (10 %, 15 %, 20 %). *Paper blank* direndam dalam masing-masing larutan sampel selama 10 menit kemudian diletakkan dalam media agar darah yang telah berisi biakan *S. mutans* dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk menggunakan penggaris secara horizontal dan vertikal. Ukuran yang diperoleh kemudian dirata-rata dan diameter zona hambat dinyatakan dalam satuan centimeter (cm).

Uji Remineralisasi Gigi

Pengujian remineralisasi gigi dilakukan mengacu pada metode Wiryani *et al.* (2016) dengan modifikasi. Sampel gigi (bagian geraham) disikat dan dibersihkan dengan merendam gigi dalam larutan desinfektan. Akar gigi dipisahkan dari mahkota gigi, kemudian mahkota gigi dipotong secara vertikal pada arah *mesiodistal*. Sampel gigi direndam dalam larutan berkarbonasi selama 3 hari untuk proses demineralisasi. Proses remineralisasi dilakukan dengan mengoleskan CPP sebanyak 0.1 g ke bagian permukaan gigi setiap 12 jam sekali selama 10 hari. Gigi yang telah dioleskan CPP direndam dalam saliva buatan (campuran 0.65 g kalium klorida, 0.058 g magnesium klorida, 0.165 g kalsium klorida, 304 g dikalium hidrogen posfat, 0.365 g kalium dihidrogen posfat, 2 g karboksimetil selulosa, dan 1 liter air). Kontrol positif yang digunakan adalah pasta gigi komersial sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah gigi tanpa perlakuan pengolesan CPP. Pengujian kekerasan gigi dilakukan sebelum dan setelah proses remineralisasi dengan menggunakan alat Vickers Hardness Tester (Future-tech FM-810) dengan beban uji 200gf selama 10 detik dan dilakukan sebanyak dua titik indentasi. Nilai kekerasan dihitung sesuai dengan rumus yang telah ditentukan dan dinyatakan dalam satuan Hardness Vickers (HV).

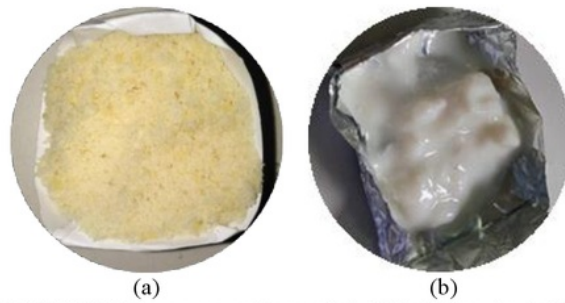
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat Kasein Fosfopeptida

Hasil isolasi CPP terhadap keju parmesan komersial diperoleh rendemen sebesar 16.65±2.97 %. Isolat yang diperoleh merupakan isolat kasar berwarna putih dan berbentuk pasta seperti yang ditampilkan dalam Gambar 1. CPP merupakan kelompok peptida yang berasal dari kasein, yang merupakan komponen penyusun protein terbesar pada susu. Kelarutan maksimum CPP terdapat pada pH 4.6 dan tidak dapat larut dengan baik pada pH 7 (Pinto *et al.* 2012). Sifat tersebut membedakan antara CPP dengan protein atau kelompok peptida lainnya yang terdapat pada keju.

Pada umumnya, CPP dihasilkan dengan cara hidrolisis enzimatis terhadap kasein (Pinto *et al.* 2012). Pada proses pengolahan keju, CPP terbentuk secara signifikan pada tahap pemeraman. Selama pemeraman, protein keju akan mengalami hidrolisis dan menghasilkan peptida-peptida bioaktif dengan bobot molekul yang kecil. Waktu pemeraman keju akan menentukan jumlah CPP yang terdapat dalam keju. Ketika keju diperam dalam waktu yang singkat maka akan menghasilkan CPP dalam jumlah yang sangat sedikit, sedangkan, ketika keju diperam cukup lama maka akan menghasilkan CPP dalam jumlah yang banyak (Korhonen 2009).

Berdasarkan waktu pemeraman, keju dibagi kedalam tiga jenis, yaitu *soft cheese*, *medium cheese*, dan *hard cheese*. Keju jenis *hard cheese* memiliki waktu pemeraman yang lebih lama sehingga memiliki kandungan CPP yang lebih tinggi dibandingkan dengan *soft cheese* dan *medium cheese*. Keju parmesan merupakan salah satu jenis *hard cheese* yang memiliki kandungan CPP cukup tinggi. Pinto *et al.* (2012) menyatakan bahwa terdapat 23 jenis CPP dalam keju parmesan dengan bobot molekul diantara 0.8–4 kDa.

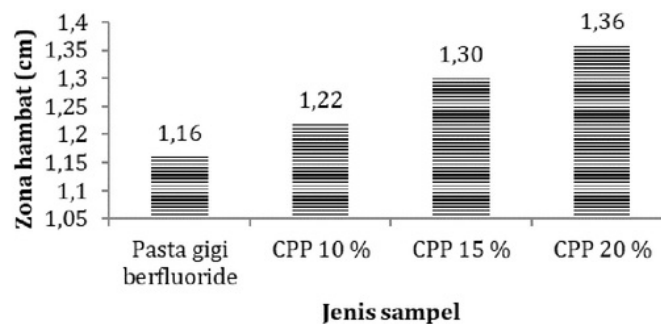


GAMBAR 1.(a) Keju parmesan komersial, (b) isolat kasein fosfopeptida

Daya Hambat *Streptococcus mutans*

Hasil uji daya hambat isolat CPP dan pasta gigi berfluoride terhadap bakteri *S. mutans* disajikan dalam Gambar 1. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat CPP mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Isolat CPP menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan pasta gigi berfluoride pada konsentrasi yang sama dengan nilai berturut-turut sebesar 1.22 ± 0.04 cm dan 1.16 ± 0.07 cm. Pasta gigi berfluoride menghambat pertumbuhan *S. mutans* dengan cara menghambat kerja enzim enolase dan enzim *active proton-transport ATP-ase*, di mana enzim tersebut bekerja dalam proses glikolisis. Terhambatnya kerja kedua enzim tersebut menyebabkan terganggunya aktivitas metabolisme secara keseluruhan dari bakteri (Sinaredi *et al.* 2014).

Semakin tinggi konsentrasi isolat CPP yang digunakan, semakin besar zona hambat yang dihasilkan. Isolat CPP dengan konsentrasi 15 % dan 20 % menghasilkan zona hambat berturut-turut sebesar 1.30 ± 0.00 cm dan 1.36 ± 0.08 cm. Menurut Zhao *et al.* (2016), CPP dapat berperan sebagai bakterisidal maupun bakteriostatik terhadap bakteri kariogenik terutama pada konsentrasi kalsium bebas yang tinggi. Mekanisme CPP dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans* diawali dengan interaksi elektrostatis antara molekul CPP dengan molekul anionik yang terdapat dalam membran sel bakteri *S. mutans*. Interaksi tersebut menyebabkan pertumbuhan bakteri *S. mutans* terganggu (Pinto 2009). Pada gigi, CPP berperan dalam mengurangi adhesi *S. mutans* dengan menghambat perlekatanannya ke permukaan gigi (Siregar 2011).



GAMBAR 2. Hasil pengukuran zona hambat *Streptococcus mutans*

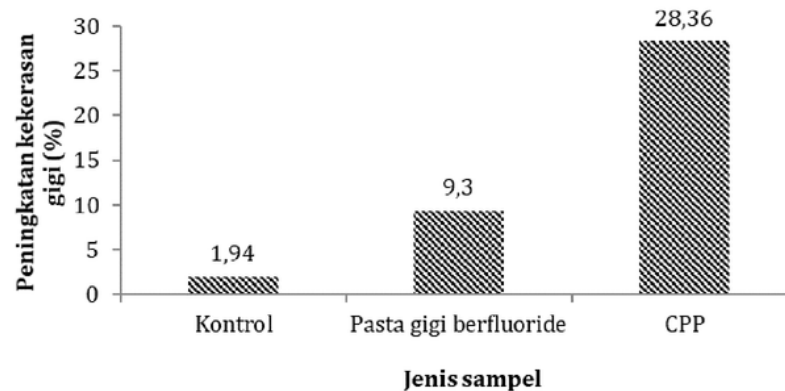
Remineralisasi Gigi

Hasil uji remineralisasi gigi disajikan dalam Tabel 1. Hasil pengujian kekerasan gigi menunjukkan bahwa sampel gigi tanpa perlakuan pengolesan dengan bahan apapun cenderung memiliki kekerasan yang sama sebelum dan sesudah mengalami proses remineralisasi, sedangkan gigi dengan perlakuan pengolesan isolat CPP dan pasta gigi berfluoride mampu meningkatkan kekerasan gigi. Penggunaan isolat CPP mampu meningkatkan kekerasan gigi tiga kali lipat lebih tinggi dibandingkan pengolesan dengan pasta gigi berfluoride pada jumlah sampel pengolesan yang sama, dengan peningkatan persentase kekerasan berturut-turut sebesar 28.36 % dan 9.30 % (Gambar 3). Hal

tersebut menunjukkan bahwa penggunaan isolat CPP lebih efektif dalam meningkatkan remineralisasi gigi dibandingkan penggunaan pasta gigi berfluoride. Hal ini terjadi karena CPP berperan dalam mencegah demineralisasi dan meningkatkan remineralisasi gigi. Pencegahan demineralisasi gigi oleh CPP dilakukan dengan cara menstabilkan *Amorph Calcium Phosphate* (ACP) membentuk sekuen *multiphosphoseryl*. CPP mengikat ACP dan mencegah pelarutan ion kalsium dan fosfor. CPP mengonsentrasikan ACP pada permukaan gigi dan dalam biofilm, sehingga dapat mempertahankan kejenuhan mineral gigi dan mencegah proses demineralisasi gigi (Thakkar et al. 2017; Zhao et al. 2016). Proses remineralisasi gigi oleh CPP dilakukan dengan cara melokalisasi ACP dari gigi dan meningkatkan konsentrasi kalsium dan fosfat, yang akan berubah menjadi reservoir ion kalsium dan fosfat yang bebas. Kondisi tersebut berfungsi untuk mempersiapkan enamel gigi dalam menerima ion kalsium dan fosfat sehingga dapat meningkatkan proses remineralisasi gigi (Siregar 2011; Walsh 2005).

Tabel 1. Peningkatan kekerasan gigi setelah perlakuan

Perlakuan	Kekerasan (HV)	
	Sebelum remineralisasi	Setelah remineralisasi
Tanpa perlakuan (kontrol)	325.3±17.1	331.6±36.8
Pengolesan dengan Pasta gigi	309.6±4.5	338.4±13.4
Pengolesan dengan CPP	307.1±0.3	394.2±43.7



GAMBAR 3. Persentase peningkatan kekerasan gigi

KESIMPULAN

Kasein fosfopeptida yang diperoleh dari keju parmesan komersial memiliki rendemen sebesar 16.65±2.97%. Isolat CPP yang diperoleh memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan salah satu bakteri utama penyebab karies gigi, yaitu *S. mutans*, dan memiliki kemampuan dalam meningkatkan remineralisasi gigi. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat CPP efektif dalam mencegah karies gigi.

APLIKASI ISOLAT KASEIN FOSFOPEPTIDA DALAM KEJU SEBAGAI PENCEGAH KARIES GIGI

ORIGINALITY REPORT

17%

SIMILARITY INDEX

13%

INTERNET SOURCES

4%

PUBLICATIONS

12%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Submitted to Universitas Muhammadiyah Surakarta Student Paper	2%
2	es.scribd.com Internet Source	1%
3	repository.usu.ac.id Internet Source	1%
4	ejournal.unsrat.ac.id Internet Source	1%
5	pt.scribd.com Internet Source	1%
6	jurnal.usu.ac.id Internet Source	1%
7	adln.lib.unair.ac.id Internet Source	1%
8	repository.maranatha.edu Internet Source	1%

9	Tiara Dwi Ayunani, Ines Tri Hastuti, Hery Muhammad Ansory, Anita Nilawati. "Pemisahan Senyawa 1,4-terpineol dan Safrol dari Minyak Atsiri Biji Pala (<i>Myristica Fragrans</i> Houtt) dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> ", <i>Jurnal Farmasi Indonesia</i> , 2019 Publication	1%
10	Submitted to Syiah Kuala University Student Paper	1%
11	Submitted to iGroup Student Paper	1%
12	biosains.mipa.uns.ac.id Internet Source	1%
13	Origenes Boy Kapitan, Laksmi Ambarsari, Syamsul Falah. "In Vitro Antibakteri Ekstrak Etanol Puni (<i>Zingiber zerumbet</i>) Asal Pulau Timor", <i>Savana Cendana</i> , 2017 Publication	<1%
14	vdocuments.site Internet Source	<1%
15	journal.unair.ac.id Internet Source	<1%
16	www.actasc.cn Internet Source	<1%
17	antariksa.lecture.ub.ac.id	

	Internet Source	<1%
18	de.scribd.com Internet Source	<1%
19	jurnal.fkip.uns.ac.id Internet Source	<1%
20	Submitted to Universitas Indonesia Student Paper	<1%
21	repository.ipb.ac.id Internet Source	<1%
22	www.scribd.com Internet Source	<1%
23	reniayuindoka.blogspot.com Internet Source	<1%
24	ar.scribd.com Internet Source	<1%
25	id.123dok.com Internet Source	<1%
26	anzdoc.com Internet Source	<1%
27	Submitted to Universitas Islam Indonesia Student Paper	<1%
28	"Abstracts", Public Health Nutrition, 2013 Publication	<1%

Exclude quotes On

Exclude bibliography Off

Exclude matches Off