

Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri Penghasil Hemolisin dari Penderita Gingivitis

Isolation, Characterisation, and Identification of Hemolysin-Producing Bacteria from Gingivitis-Diagnosed Patient

MICHELLIA SALMAA ASHILLA SUTANDI, SRI BUDIARTI*, JEPRI AGUNG PRIYANTO

Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

Diterima 7 Agustus 2024/Diterima dalam Bentuk Revisi 18 September 2024/Disetujui 23 September 2024

Gingivitis is a gum inflammation caused by pathogenic bacterial infection. One of the virulence factors of pathogenic bacteria is hemolysin which plays an important role in lysing the red blood cells. This study aimed to isolate, characterise, and identify hemolysin-producing bacteria from a gingivitis-diagnosed patient. Quantification of the bacterial growth in blood agar base media showed that the number of bacteria on the gums of gingivitis patient was 1.63×10^7 CFU/ml. Seven bacterial isolates with different colony and cellular morphology were selected. Of 7 isolates, 3 isolates were β hemolytic, 3 isolates α hemolytic, and 1 isolate non-hemolytic. Six isolates with hemolytic activity were selected for colony and cellular morphology characterisation. Based on Gram-staining procedure, all six isolates belong to bacilli Gram-positive bacteria. Molecular identification with 16S rRNA gene revealed that these isolates were closely related to *Bacillus* spp., such as *Bacillus cereus*, *Bacillus altitudinis*, and *Bacillus tequilensis*.

Key words: *Bacillus*, hemolysin, gingivitis, pathogenic bacteria

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia masih memiliki kesadaran yang rendah terhadap kesehatan gigi dan mulut. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Kementerian Kesehatan Tahun 2018, sebanyak 57,6% penduduk Indonesia memiliki masalah gigi dan mulut, tetapi baru sekitar 10,2% saja yang telah tertangani dengan baik oleh tenaga medis. Penyakit periodontal sendiri berada pada urutan ke-11 penyakit terbanyak di dunia dan menduduki urutan penyakit terbanyak ke-2 di Indonesia (Karnila *et al.* 2022). Tingginya masalah penyakit gigi dan mulut di Indonesia, utamanya disebabkan oleh kurangnya kesadaran seseorang untuk menjaga kebersihan gigi dan mulut. Hal tersebut dapat meningkatkan prevalensi penyakit periodontal di Indonesia, salah satunya adalah gingivitis.

Gingivitis terjadi karena adanya peradangan pada *gingiva* (gusi) yang ditandai dengan pembesaran *gingiva*, perubahan warna menjadi kemerahan atau merah-kebiruan, hingga pendarahan. Gejala-gejala tersebut disebabkan oleh inflamasi yang disebabkan oleh penumpukan plak gigi sehingga terbentuk

biofilm pada permukaan gigi. Plak gigi adalah lapisan tipis dan kuat yang berisi kumpulan mikroorganisme yang berada pada *gingival crevice* atau celah antara gigi dan gusi. Di dalam rongga mulut, terdapat lebih dari 700 spesies bakteri yang berkolonisasi pada biofilm kemudian membentuk plak (Kasuma 2016). Umumnya, bakteri penyebab gingivitis merupakan bakteri patogen Gram-negatif anaerobik *red complex* seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, dan *Fusobacterium nucleatum* dan juga bakteri patogen Gram-positif aerobik seperti *Streptococcus sanguinis*.

Bakteri patogen adalah bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia dengan mekanisme infeksi spesifik. Adanya infeksi dapat disebabkan oleh faktor virulensi yang dimiliki oleh bakteri, dimana bakteri dapat meningkatkan kapasitas patogen untuk menyebabkan penyakit sehingga mendorong kolonisasi bakteri patogen pada inang (Shantal *et al.* 2022). Bakteri patogen memiliki banyak jenis faktor virulensi, di antaranya adalah superantigen, kapsul, dan hemolisin (Casadevall dan Pirofski 2009). Hemolisin merupakan jenis protein toksin yang dapat melisis sel darah merah. Hemolisin telah ditemukan sebagai faktor virulensi penting dari banyak jenis bakteri patogen, termasuk bakteri-bakteri patogen penyebab gingivitis.

*Corresponding author:
E-mail: s_budiarti@yahoo.com

Karakter hemolisin menjadi salah satu faktor virulensi bakteri patogen yang mudah diamati sehingga dapat mempermudah isolasi bakteri patogen dari penderita gingivitis. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengarakterisasi, dan mengidentifikasi bakteri penghasil hemolisin pada pasien penderita gingivitis. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dilanjutkan untuk diteliti lebih lanjut terutama dalam penemuan agen anti-gingivitis baru.

BAHAN DAN METODE

Bahan. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah hasil swab jaringan *gingiva* penderita gingivitis di Poliklinik IPB Dramaga menggunakan alat microbrush steril yang diambil oleh dokter gigi.

Pengajuan Surat Kaji Etik. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (KEPK-UI) dengan nomor surat keterangan lolos kaji etik KET-1361/UN2.F1/ETIK/PPM.00.02/2023 yang berlaku hingga 13 Oktober 2024.

Pengambilan Sampel. Sampel diambil dari seorang pasien perempuan di poliklinik kampus IPB Dramaga. Pasien tersebut berusia 21 tahun dan tidak merokok. Sampel berupa swab dari gusi pasien dimasukkan ke dalam tabung ulir berisi 10 ml *phosphate buffered saline* (PBS) steril yang diberi label identitas pasien. Setelah pengambilan sampel, dilakukan sesi penjelasan penelitian oleh penulis dan penandatanganan lembar informed consent oleh pasien. Tabung ulir berisi sampel kemudian dipindahkan menggunakan *cool box* ke Laboratorium Penelitian Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

Isolasi dan Kuantifikasi Bakteri. Bakteri diisolasi dengan menggunakan metode *serial dilution*. Suspensi bakteri diencerkan pada larutan *phosphate buffered saline* (PBS) dari 10^{-1} hingga 10^{-5} . Sebanyak 100 μ L dari PBS tanpa pengenceran dan hasil pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , dan 10^{-4} disebar menggunakan metode spread plate pada media *blood agar*. Seluruh cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni bakteri yang tumbuh pada media *blood agar* dihitung. Kuantifikasi dilakukan dengan menghitung banyaknya bakteri yang tumbuh pada media *blood agar*, dibagi dengan volume suspensi biakan yang disebar pada media *blood agar*, lalu dikalikan dengan tingkat pengencerannya untuk mendapatkan jumlah koloni dalam satuan *colony forming unit* per mililiter (CFU/ml) (Supiana dan Shyntyta 2014).

Uji Hemolisis. Tujuh isolat yang memiliki morfologi koloni berbeda digores kembali pada media *blood agar* untuk mengkonfirmasi karakteristik hemolisisnya. Seluruh cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Buxton 2005). Aktivitas hemolisis ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. Berdasarkan karakter hemolisisnya, hemolisis pada bakteri terbagi menjadi 3 jenis, yaitu lisis sempurna (β -hemolisis), lisis sebagian (α -hemolisis), dan tidak lisis (γ -hemolisis).

Peremajaan Bakteri Terpilih. Enam isolat bakteri penghasil hemolisin yang telah digores ulang pada media *blood agar* diremajakan dengan metode kuadran pada media nutrient agar. Seluruh cawan kembali diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Buxton 2005).

Karakterisasi Morfologi Koloni. Keenam isolat terpilih pada media *nutrient agar* diamati karakter morfologinya, seperti warna koloni, bentuk, elevasi, tepian, karakteristik optik, dan jenis permukaan koloni.

Karakterisasi Morfologi Sel. Keenam isolat terpilih diwarnai dengan metode Pewarnaan Gram. Koloni tunggal isolat bakteri terpilih yang berusia 24 jam difiksasi pada kaca preparat, kemudian dilakukan pewarnaan dengan urutan kristal *violet* selama 1 menit, digenangi akuades, ditetaskan iodine selama 2 menit, digenangi akuades, digenangi alkohol 95%, ditetaskan pewarna safranin selama 30 detik, dan digenangi akuades kembali (Gephardt *et al.* 1981). Kaca preparat kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya (Olympus CX34). Karakter yang diamati meliputi reaksinya terhadap pewarnaan, bentuk sel, dan penataan sel.

Identifikasi Bakteri Berdasarkan Gen 16S rRNA. Keenam isolat bakteri terpilih dikulturkan pada media *nutrient broth* selama 24 jam pada suhu ruang ($\pm 28^{\circ}\text{C}$). Masing-masing kultur diambil sebanyak 1,5 ml menggunakan mikropipet, lalu dipindahkan ke dalam tabung *microcentrifuge* dan disentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit. Supernatan dibuang dan pelet digunakan untuk tahapan isolasi menggunakan Presto™ Mini gDNA Bacteria (Geneaid, Taiwan). Prosedur isolasi DNA dilakukan dengan mengikuti instruksi protocol kit. DNA hasil isolasi diukur konsentrasinya menggunakan Nanodrop MaestroGen. Selanjutnya PCR dilakukan pada volume total campuran sebanyak 50 μ L, yang terdiri dari 25 μ L 2X *GoTaq Green Master Mix*, 5 μ L *primer* 63F (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3') dan *primer* 1387R (5'-GGGCGWGTGTACAAGGC-3')

(10 μmol masing-masing primer) yang didesain oleh Marchesi *et al.* (1998), 1 μL DNA *template* (~250 ng/ μL), dan 14 μL *nuclease-free water*. PCR dilakukan sebanyak 35 siklus pada kondisi PCR denaturasi (94°C, 5 menit), *annealing* (55°C, 45 detik), *elongasi* (72°C, 1 menit), dan *post-elongasi* (72°C, 7 menit) (Hening *et al.* 2024). Produk PCR divisualisasikan menggunakan elektroforesis pada gel *agarose* 1,5%, 50 V, selama 50 menit. Produk PCR selanjutnya disekuensing oleh PT. Genetika Science Indonesia menggunakan gen 16S rRNA. Sekuens yang telah diperoleh kemudian diedit menggunakan aplikasi Seqtrace versi 0.9.0. dan dianalisis menggunakan BLAST-N <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> pada laman *National Center Biotechnology Information* (NCBI). Pohon filogenetik dikonstruksi menggunakan aplikasi MEGA (*Molecular Evolutionary Genetic Analysis*) versi X.

HASIL

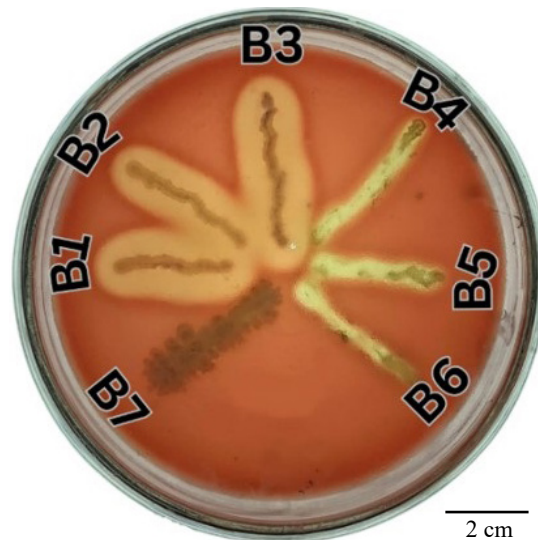
Jumlah Bakteri pada Gusi Penderita Gingivitis.

Jumlah bakteri yang diisolasi dari gusi penderita gingivitis yaitu sebanyak $1,63 \times 10^7$ CFU/ml. Bakteri-bakteri tersebut mampu tumbuh pada media *blood agar*.

Kemampuan Hemolisis Bakteri Terpilih.

Sebanyak tujuh isolat bakteri yang memiliki karakter morfologi koloni yang berbeda telah dikarakterisasi reaksi hemolisisnya. Reaksi positif hemolisis ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri (Gambar 1). Tiga isolat memiliki aktivitas hemolisis β (lisis sempurna), tiga isolat memiliki aktivitas hemolisis α (lisis sebagian), dan satu isolat tidak memiliki aktivitas hemolisis atau tergolong hemolisis γ (tidak lisis) (Tabel 1).

Morfologi dan Sel Bakteri Terpilih. Karakter morfologi koloni dan sel bakteri diamati secara makroskopik dan mikroskopik. Secara makroskopik, masing-masing isolat beragam dalam hal warna, bentuk, elevasi, tepian, karakteristik optik, dan karakteristik permukaan koloni (Tabel 2). Dua isolat (B1 dan B2) memiliki warna koloni putih bening, berbentuk *circular*, elevasi *pulvinate*, tepian *entire*, karakteristik optik translucent, dan permukaan koloni *smooth*. Empat isolat lainnya (B3, B4, B5, dan B6) memiliki warna koloni putih bening, elevasi *flat*, tepian *entire*, karakteristik optik *opaque*, dan permukaan koloni *smooth* (Gambar 2). Secara mikroskopik, keenam isolat (B1, B2, B3, B4, B5, dan B6) tergolong bakteri Gram-positif berbentuk basil (Tabel 3). Penataan sel tiga isolat (B1, B2, dan B3)



Gambar 1. Aktivitas hemolisis bakteri yang diisolasi dari gusi penderita gingivitis pada media *blood agar* yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam B1-B3: hemolisis- β , B4-B6: hemolisis- α , B7: hemolisis- γ (non-hemolisis)

Tabel 1. Kemampuan hemolisis isolat bakteri terpilih yang diisolasi dari gusi penderita gingivitis

Kode isolat	Karakter hemolisis*
B1	β
B2	β
B3	β
B4	α
B5	α
B6	α
B7	γ

α : lisis sebagian; β : lisis sempurna; γ : tidak lisis

adalah berantai, sementara tiga isolat lainnya (B4, B5, dan B6) memiliki penataan sel tunggal (Gambar 3).

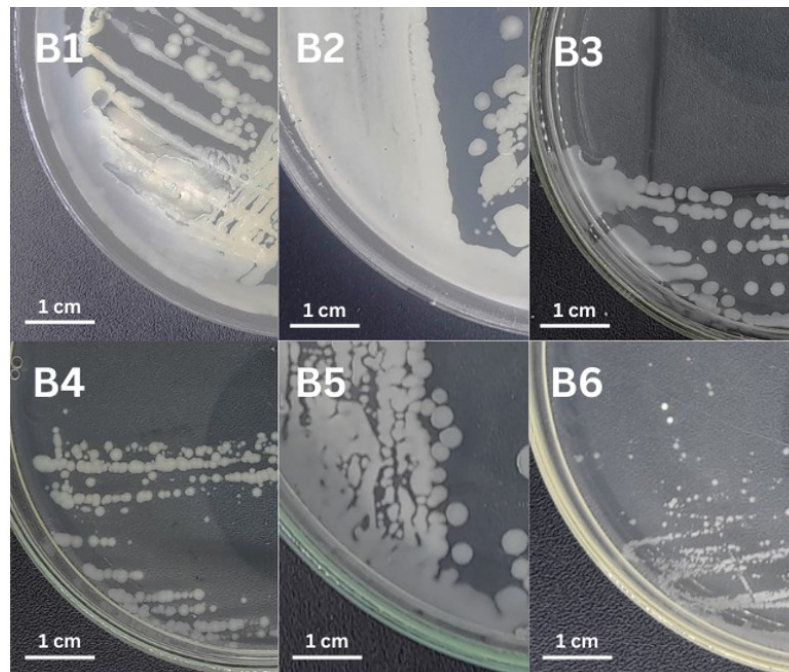
Identitas Molekuler Enam Isolat Bakteri Terpilih.

Amplifikasi gen 16S rRNA pada enam isolat bakteri patogen menghasilkan pita ampikon berukuran sekitar ~1300 pb (Gambar 3). Analisis sekuens menggunakan BLAST-N menunjukkan isolat B1, B2, B3, B4, B5 memiliki kemiripan $\geq 98\%$ dan isolat B6 memiliki kemiripan 96,45% secara berurutan dengan *Bacillus cereus* strain XJYC3-2, *Bacillus cereus* strain GT3, *Bacillus altitudinis* strain SOB 6, *Bacillus altitudinis* strain D1, *Bacillus tequilensis* strain N4-1, dan *Bacillus altitudinis* strain H31 (Tabel 4). Secara konsisten, hubungan kekerabatan masing-masing isolat dengan spesies dari *database* GenBank juga ditunjukkan pada pohon filogenetik (Gambar 4). Masing-masing isolat berada pada satu *clade* yang sama dengan spesies relatifnya (Gambar 5).

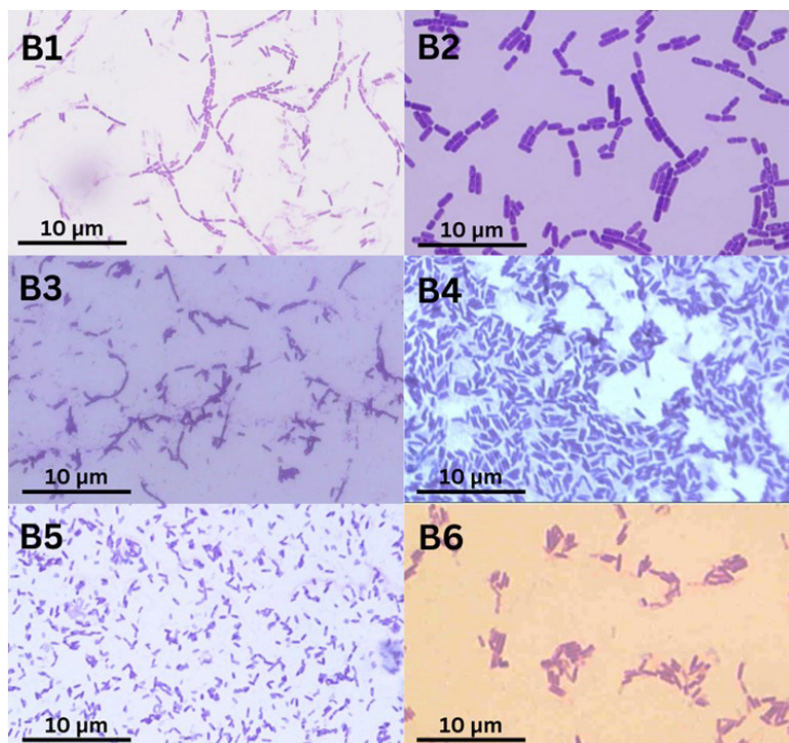
Tabel 2. Morfologi koloni bakteri penghasil hemolisin pada media *nutrient agar*

Kode isolat	Morfologi koloni					
	Warna koloni	Bentuk	Elevasi	Tepian	Karakteristik optik	Permukaan koloni
B1	Putih bening	<i>Circular</i>	<i>Pulvinate</i>	<i>Entire</i>	<i>Translucent</i>	<i>Smooth</i>
B2	Putih bening	<i>Circular</i>	<i>Pulvinate</i>	<i>Entire</i>	<i>Translucent</i>	<i>Smooth</i>
B3	Putih bening	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Entire</i>	<i>Opaque</i>	<i>Smooth</i>
B4	Putih bening	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Entire</i>	<i>Opaque</i>	<i>Smooth</i>
B5	Putih bening	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Entire</i>	<i>Opaque</i>	<i>Smooth</i>
B6	Putih bening	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Entire</i>	<i>Opaque</i>	<i>Smooth</i>

α : lisis sebagian; β : lisis sempurna; γ : tidak lisis



Gambar 2. Morfologi koloni isolat bakteri penghasil hemolisin



Gambar 3. Morfologi sel isolat bakteri penghasil hemolisin

PEMBAHASAN

Gingivitis terjadi akibat adanya kolonisasi bakteri pembentuk biofilm yang menumpuk sehingga membentuk plak gigi. Bakteri-bakteri yang telah dilaporkan menjadi penyebab langsung dari gingivitis adalah bakteri-bakteri normal pada mulut orang sehat yang merupakan bakteri patogen oportunistik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah bakteri *gingiva* yang diisolasi dari penderita gingivitis adalah sebanyak $1,63 \times 10^7$ CFU/ml. Jumlah tersebut selaras dengan laporan Genina *et al.* (2011) bahwa pada penderita gingivitis, jumlah bakteri *gingiva* dapat mencapai $7,6 \times 10^7$ CFU/ml. Sementara itu, jumlah bakteri normal pada rongga mulut orang sehat, termasuk pada plak gigi dan saliva, dapat mencapai 10^{11} CFU/ml (Sender *et al.* 2016). Bakteri normal berperan penting dalam menjaga homeostasis rongga mulut (Ling *et al.* 2010) dan mencegah terjadinya infeksi oleh bakteri patogen. Homeostasis rongga mulut dapat terganggu jika terjadi perubahan pada pertahanan tubuh atau komposisi asupan makanan (Kasuma 2016). Lingkungan rongga mulut dapat berubah menjadi kurang menguntungkan, sehingga bakteri normal dapat menjadi patogen oportunistik yang juga menyebabkan penyakit.

Salah satu faktor virulensi bakteri patogen adalah kemampuannya dalam melisis sel darah merah atau hemolisis. Oleh karena itu, salah satu metode yang dapat dilakukan untuk mengetahui patogenitas

bakteri adalah dengan menumbuhkannya pada media *blood agar*. Uji hemolisis bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam produksi hemolisin (Manu *et al.* 2019). Sebanyak tujuh isolat bakteri patogen telah dianalisis, tiga isolat tergolong hemolisis α , tiga isolat hemolisis β , dan satu isolat negatif hemolisis. Bakteri penyebab gingivitis seperti *Porphyromonas gingivalis* dan *Streptococcus mutans* telah dilaporkan memiliki aktivitas hemolisis α (Buxton 2005; Sandra dan Adolfo 2013). Sementara itu, beberapa bakteri penyebab gingivitis lainnya dilaporkan tidak memiliki aktivitas hemolisis, seperti *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, dan *Fusobacterium nucleatum* (Zhou dan Li 2015; Saroch 2019). Oleh karena itu, kemampuan hemolisis bukan merupakan satu-satunya faktor virulensi yang dimiliki oleh bakteri penyebab gingivitis. Beberapa faktor virulensi lainnya juga dapat berperan dalam menyebabkan gingivitis, antara lain adanya lipopolisakarida (umumnya dimiliki bakteri Gram negatif), gingipain, fimbrae, kolagenase, lektin, kapsul, protease, dan suproksida dismutase. Faktor-faktor tersebut dapat membantu bakteri patogen dalam menghindari sistem pertahanan inang dan merusak jaringan priodontal (Jia *et al.* 2019).

Enam isolat dengan aktivitas hemolisis sempurna (beta) dan hemolisis sebagian (alfa) telah diidentifikasi secara molekuler menggunakan gen 16S rRNA. Sekuens 16S rRNA isolat-isolat tersebut memiliki kemiripan tinggi dengan *Bacillus cereus* strain XJYC3-2, *Bacillus cereus* strain GT3, *Bacillus altitudinis* strain SOB 6, *Bacillus altitudinis* strain D1, *Bacillus tequilensis* strain N4-1, dan *Bacillus altitudinis* strain H31. Pada penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa *Bacillus* sp. juga ditemukan pada jaringan *gingiva* penderita penyakit periodontal (Jabuk *et al.* 2015) dan pada orang sehat dengan plak gigi (Kaligis *et al.* 2017). Selain itu, genus *Bacillus* merupakan salah satu dari bakteri flora normal mulut bersama dengan bakteri lainnya dari filum Firmicutes, Proteobacteria, dan Aktinomiset (Lu *et al.* 2019).

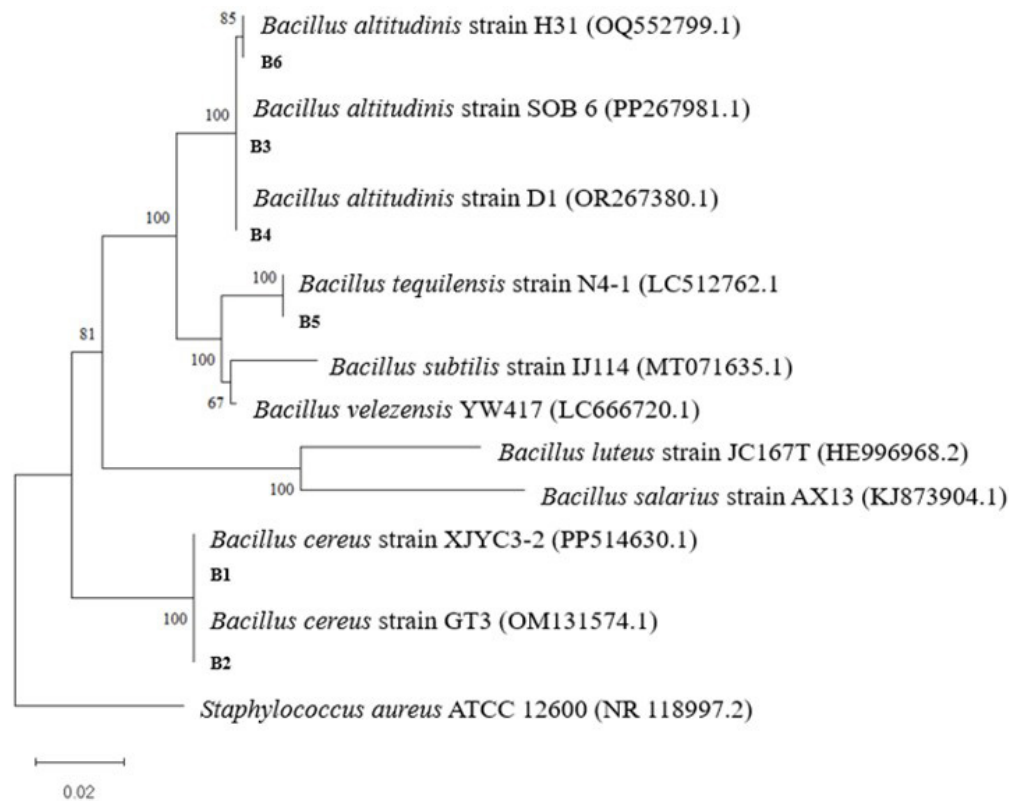
Tabel 3. Morfologi dan penataan sel bakteri penghasil hemolisin

Kode isolat	Morfologi koloni		
	Bentuk sel	Penataan sel	Gram
B1	Basil	Berantai	Positif
B2	Basil	Berantai	Positif
B3	Basil	Berantai	Positif
B4	Basil	Tunggal	Positif
B5	Basil	Tunggal	Positif
B6	Basil	Tunggal	Positif

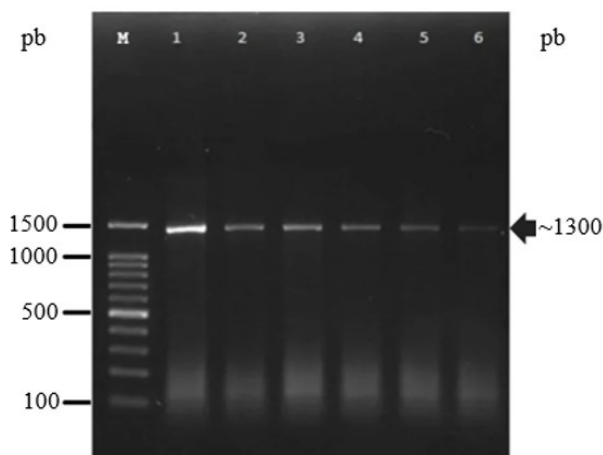
Tabel 4. Identitas isolat bakteri penghasil hemolisin dari penderita gingivitis berdasarkan gen 16S rRNA menggunakan program BLAST-N

Kode isolat	Spesies relatif terdekat	Panjang sekuens (pb)	Identity (%)/query cover (%)	Nomor akses
B1	<i>Bacillus cereus</i> strain XJYC3-2	1265	98.76/99	PP514630.1
B2	<i>Bacillus cereus</i> strain GT3	1278	98.75/99	OM131574.1
B3	<i>Bacillus altitudinis</i> strain SOB 6	1267	99.37/100	PP267981.1
B4	<i>Bacillus altitudinis</i> strain D1	1256	99.68/100	OR267380.1
B5	<i>Bacillus tequilensis</i> strain N4-1	1118	99.83/100	LC512762.1
B6	<i>Bacillus altitudinis</i> strain H31	1241	96.45/100	OQ552799.1

α : lisis sebagian; β : lisis sempurna; γ : tidak lisis



Gambar 4. Hubungan kekerabatan enam isolat bakteri penghasil hemolisin dari penderita gingivitis berdasarkan gen 16S rRNA



Gambar 5. Visualisasi pita gen 16S rRNA isolat bakteri penghasil hemolisin dari penderita gingivitis. (M) 100 pb DNA ladder, (1) isolat B1, (2) isolat B2, (3) isolat B3, (4) isolat B4, (5) isolat B5, dan (6) isolat B6

Bacillus sp. merupakan bakteri aerobik, Gram-positif, berbentuk basil yang umumnya ditemukan sebagai saprofit di tanah. Tidak semua spesies *Bacillus* merupakan patogen pada manusia, tetapi keenam isolat yang didapatkan pada penelitian ini menunjukkan zona bening hemolisin pada media *blood agar* yang menunjukkan bahwa keenam isolat tersebut diduga merupakan bakteri patogen. Beberapa penelitian sebelumnya juga mengkonfirmasi bahwa *Bacillus cereus*, *Bacillus altitudinis*, dan *Bacillus tequilensis*

memiliki kemampuan hemolisis β (lisis sempurna) (Sohail dan Jamil 2020; Sturmer *et al.* 2022; Abednego dan Silago 2023). Ketiga jenis *Bacillus* yang telah diperoleh dari penelitian ini kemungkinan berasosiasi dengan penyakit periodontal. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa *Bacillus cereus* ditemukan pada 20 penderita periodontitis (hasil penelitian di University of Oslo), *Bacillus altitudinis* ditemukan pada plak gigi seorang penderita penyakit periodontal di dr. HS Judge, Institute of Dental Sciences and Hospital, India, dan *Bacillus tequilensis* ditemukan sebagai salah satu penyusun struktur biofilm pada alat-alat kedokteran gigi di Kuwait University Dental Center (Helgason *et al.* 2000; Urvashi *et al.* 2020; Akbar *et al.* 2022).

Bacillus cereus adalah bakteri patogen oportunistik yang umumnya menyebabkan penyakit *foodborne diseases* seperti diare akibat keracunan makanan. *Bacillus cereus* mampu memproduksi toksin hemolisin, enterotoksin, dan toksin *emetic* (Drobniewski 1993). *Bacillus cereus* juga diasosiasikan dengan penyakit-penyakit berbahaya seperti *pneumonia*, *meningitis*, dan *endophthalmitis*. *B. altitudinis* adalah bakteri yang umumnya diisolasi dari tanah. Jenis bakteri lainnya yang juga ditemukan pada penderita gingivitis adalah *Bacillus altitudinis*. Patogenitas bakteri ini terhadap manusia belum banyak dilaporkan. Kemungkinan bakteri tersebut dapat berasal dari makanan. Sebagai contoh, *Bacillus altitudinis* yang mampu menghasilkan hemolisin ditemukan pada permukaan mentimun

mentah (Therese 2024). Jenis bakteri lainnya adalah *Bacillus tequilensis*. Bakteri ini dapat diisolasi dari banyak tempat seperti tanah, organisme laut, feses mamalia, hingga makanan fermentasi. Laporan terkait patogenisitas bakteri tersebut juga masih terbatas. Penelitian lain menunjukkan bahwa *B. tequilensis* memiliki bioaktivitas menguntungkan, seperti sebagai agen anti-fungi (Wang *et al.* 2023), agen biokontrol penggurunan pada lahan kering (Zhao *et al.* 2019), hingga probiotik pada makanan (Dabiré *et al.* 2022).

Ditemukannya *Bacillus cereus*, *Bacillus altitudinis*, dan *Bacillus tequilensis* pada makanan memperkuat dugaan bahwa keberadaan bakteri-bakteri tersebut kemungkinan berasal dari makanan yang kemudian melekat pada struktur biofilm plak gigi. Plak gigi akan mulai terbentuk tiga puluh menit setelah gigi dibersihkan dan mulai dikolonisasi oleh bakteri empat jam setelahnya (Nield-Gehrig & Willman 2003). Kolonisasi primer dilakukan oleh bakteri aerob, lalu kolonisasi sekunder terjadi ketika oksigen berkurang dan menyebabkan adanya dominasi bakteri anaerob. Plak muda (kolonisasi 1-2 hari) umumnya didominasi bakteri Gram-positif yang berbentuk kokus dan batang (Duggal dan Curson 2003). Jenis makanan yang dikonsumsi juga berpengaruh terhadap struktur dan keragaman bakteri pada rongga mulut. Konsumsi makanan dengan kandungan lemak jenuh berasosiasi dengan kelimpahan bakteri basil pada rongga mulut seseorang (Kato *et al.* 2017).

UCAPAN TERIMA KASIH

Seluruh penulis mengucapkan terima kasih kepada Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University yang telah memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abednego RN, Silago V. 2023. Antibacterial activity of soil-isolated *Bacillus altitudinis/pumilus* complex against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from Mwanza, Tanzania. *Afr J Lab Med* 12:1-5. <https://doi.org/10.4102/ajlm.v12i1.2167>
- Akbar JH, Behbehani A, Karched M. 2022. Biofilm growth and microbial contamination of dental unit waterlines at Kuwait university dental center. *Front Oral Health* 3:1-10. <https://doi.org/10.3389/froh.2022.1071018>
- Buxton R. 2005. Blood Agar Plates and Hemolysis Protocols. Washington: American Society for Microbiology Pr.
- Casadevall A, Pirofski LA. 2009. Virulence factors and their mechanisms of action: the view from a damage-response framework. *JOWH* 7:2-18. <https://doi.org/10.2166/wh.2009.036>
- Dabiré Y, Somda NS, Somda MK, Compaoré CB, Mogmenga I, Ezeogu LI, Traoré AS, Ugwuanyi JO, Dicko MH. 2022. Assessment of probiotic and technological properties of *Bacillus* spp. isolated from burkinabe Soumbala. *BMC Micro* 22:1-13. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02642-7>
- Duggal MS, Curson MEJ. 2003. Dental disease: etiology of dental caries. Dalam: Caballero B, Trugo LC, Finglas PM (eds). *ECFS*. Cambridge: Academic Pr. p 1746-1749. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00325-4>
- Drobniewski FA. 1993. *Bacillus cereus* and related species. *Clinic Micro Reviews* 6:324-338. <https://doi.org/10.1128/CMR.6.4.324>
- Genina EJ, Titorenko VA, Tuchin VV, Simonenko GV, Bashkatov AN, Shub GM, Lepilin AV, Yaroslavsky IV, Altshuler GB. 2011. Phototherapy of gingivitis: pilot clinical study. *JIOHS* 4:437-446.
- Gephardt P, Murray RG, Costilow N, Nester, Wood WA, Krieg NR, Phillips GB. 1981. Manual Methods for General Bacteriology. Washington: American Society for Microbiology Pr.
- Helgason E, Caugant DA, Olsen I, Kolstø AB. 2000. Genetic structure of population of *Bacillus cereus* and *B. thuringiensis* isolates associated with periodontitis and other human infections. *J Clin Microbiol* 38:1615-1622. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.4.1615-1622.2000>
- Hening EN, Priyanto JA, Prastya ME, Astuti RI, Hasidu LO, Jamilah. 2024. Soil bacteria from Muna Island, Southeast Sulawesi, Indonesia: antibacterial and antibiofilm activities, and the presence of antibiotic-biosynthetic genes. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 14:207-217. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2024.171508>
- Jabuk SI, Hussien R, Altaee ZM, Najam HM, Najji NM. 2015. Isolation and identification of bacteria and parasite from teeth caries and periodontal. *Adv in Enviro Bio* 9:50-53.
- Jia L, Han N, Du J, Guo L, Luo Z, Liu Y. 2019. Pathogenesis of important virulence factors of *Porphyromonas gingivalis* via toll-like receptors. *Front Cell Infect Microbiol* 9:1-14. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00262>
- Kaligis FR, Fatimawali, Lolo WA. 2017. Identifikasi bakteri pada plak gigi pasien di puskesmas Bahu dan uji resistensi terhadap antibiotik kloramfenikol dan linkosamida (klindamisin). *Pharmacon* 6:223-232.
- Karnila, Muchlis N, Rusydi AR. 2022. Faktor yang berhubungan dengan penyakit periodontal di puskesmas Sudiang Raya pada tahun 2022. *JMCH* 3:248-262.
- Kasuma N. 2016. Plak Gigi. Padang: Andalas Univ Pr.
- Kato I, Vasquez A, Moyerbrailean G, Land S, Djuric Z, Sun J, Lin HS, Ram JL. 2017. Nutritional correlates of human oral microbiome. *J Am Coll Nutr* 36:88-98. <https://doi.org/10.1080/07315724.2016.1185386>
- Ling Z, Kong J, Jia P, Wei C, Wang Y, Pan Z, Huang W, Li L, Chen H, Xiang C. 2010. Analysis of oral microbiota in children with dental caries by pcr-dgge and barcoded pyrosequencing. *Microb Ecol* 60:677-690. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9712-8>
- Lu M, Xuan S, Wang Z. 2019. Oral microbiota: a new view of body health. *FSHW* 8:8-15. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.12.001>
- Manu KR, Tangkonda E, Gelolodo MA. 2019. Isolasi dan identifikasi terhadap bakteri penyebab mastitis pada sapi perah di Desa Benlutu Kecamatan Batu Putih Kabupaten Timor Tengah Selatan. *JVN* 2:10-19.
- Marchesi JR, Sato T, Weightman AJ, Martin TA, Fry JC, Hiom SJ. 1998. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 64:795-799. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.2.795-799.1998>
- Nield-Gehrig JS, Willmann DE. 2003. Foundations of Periodontics for the Dental Hygienist. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Sandra M, Adolfo C. 2013. Functional differences of *Porphyromonas gingivalis* fimbriae in determining periodontal disease pathogenesis: a literature review. *Colombia Medica* 44:48-56. <https://doi.org/10.25100/cm.v44i1.800>
- Saroch N. 2019. Periobasics: A Textbook of Periondontics and Implantology 2nd ed. Solan: Sushrut.
- Sender R, Fuchs S, Milo R. 2016. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol* 14:1-14. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533>
- Shantal CJ, Juan CC, Lizbeth BU, Carlos HG, Estela GP. 2022. *Candida glabrata* is a successful pathogen: an artist manipulating the immune response. *Micro Res* 1:1-14. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127038>
- Supiana DN, Shyntyta D. 2014. Efektivitas pengenceran terhadap pertumbuhan koloni mikroba pada saus tomat. *J Saint* 11:65-68.
- Sohail R, Jamil N. 2020. Isolation of biosurfactant producing bacteria from Potwar oil fields: effect of non-fossil fuel based carbon sources. *Green Process Synth* 9:77-86. <https://doi.org/10.1515/gps-2020-0009>

- Sturmer FD, Moreira PR, Cargnelutti JF, Lopes LQ, Lorenzetti E, Burgo TA, Santos RC. 2022. Detection and characterization of *Bacillus cereus* isolated from the dialysis fluid. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 64:1-5. <https://doi.org/10.1590/s1678-9946202264067>
- Therese MM. 2024. Identifikasi bakteri patogen pada permukaan kulit mentimun (*Cucumis sativus*) dari tiga lokasi di Bogor [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Urvashi, Sharma D, Sharma S, Pal V, Lal R, Patil P, Grover V, Korpole S. 2020. Bacterial populations in subgingival plaque under healthy and diseased conditions: genomic insights into oral adaptation strategies by *Lactobacillus* sp. strain disk7. *Indian J Microbiol* 60:8-86. <https://doi.org/10.1007/s12088-019-00828-8>
- Wang R, Li H, Qin Z, Wang Y, Yang Q, Zhang H, Li M. 2023. Antifungal activity and application of *Bacillus tequilensis* A13 in biocontrol of *Rehmannia glutinosa* root-rot disease. *Chem Biol Technol Agric*. 10:1-12. <https://doi.org/10.1186/s40538-022-00376-2>
- Zhao L, Li X, Wang X, Qi J. 2019. A new strain of *Bacillus tequilensis* cgmcc 17603 isolated from biological soil crusts: a promising sand-fixation agent for desertification control. *Sustainability* 11:1-14. <https://doi.org/10.3390/su12010001>
- Zhou X, Li Y. 2015. Atlas of Oral Microbiology. Hangzhou: Zhejiang Univ Pr.