

# Identifikasi epitop dari *Streptococcus mutans* terhadap sekretori Immunoglobulin A saliva

(The identification of *Streptococcus mutans* epitopes to secretory Immunoglobulin A saliva)

Anita Yuliati

Bagian Ilmu Material dan Teknologi Kedokteran Gigi  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga  
Surabaya - Indonesia

## ABSTRACT

*S. mutans* is one of the etiology agent of dental caries, these bacteria have a surface protein of about 185 kDa named Ag I/II. The secretory of sIgA saliva to Ag I/II of *S. mutans* has shown to be able to prevent colonization in human oral cavity. Peptides derived from the 824 to 853 residues of the P region of antigen I/II *S. mutans* related to the pathogenesis of dental caries. The aim of this study was to identify the overlapping sequence of amino acids (epitope) derived from the 624 to 853 residues of P of antigen I/II *S. mutans* to sIgA saliva on caries and caries-free subject in a observational cross sectional study. The P region of antigen I/II *S. mutans* was cut into 22 peptides of 9 mer sequences with an overlapping of 8 mer and an offset of 1 mer, synthesized on polyethylene pins and tested for the reactivity with an ELISA indirect method to sIgA saliva on caries and caries-free subject. The results of this study showed that amino acid sequences with TPPVKP (832–837) and TAPTKPTY (838–845) were reactive to sIgA saliva on caries and caries-free subject. The conclusion of this study was that the overlapping common sequence of amino acid (epitopes) corresponding to TPPVKP (832–837) and TAPTKPTY (838–845) was identified as caries marker epitopes in human.

**Key words:** sIgA saliva, caries and caries-free subject, caries marker epitopes, antigen I/II *S. mutans*

Korespondensi (correspondence): Anita Yuliati, Bagian Ilmu Material dan Teknologi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Jln. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo No. 47 Surabaya 60132, Indonesia.

## PENDAHULUAN

Karies gigi pada manusia merupakan penyakit infeksi menyerang jaringan keras rongga mulut yaitu gigi, yang melibatkan bakteri. *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) adalah agen etiologi sebagai penyebab utama. Secara umum bakteri *S. mutans* dan *Sterptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*) sering diisolasi dari rongga mulut manusia.<sup>1</sup> *S. mutans* telah disepakati sebagai agen utama etiologi karies gigi pada manusia dan binatang coba, karena bakteri ini ditemukan pada populasi yang mempunyai prevalensi karies tinggi, rendah dan paling rendah.<sup>2</sup> Di antara serotipe *S. mutans* yang ada, serotipe c predominan ditemukan pada plak dan saliva. Bakteri ini secara struktural dan antigenetik mengekspresikan protein permukaan yang disebut antigen I/II, B, Sr dan PAc yang mempunyai berat molekul 185 kDa. Antigen ini oleh para peneliti ditetapkan berperan dalam patogenesis karies gigi, dan efektif sebagai vaksin dalam pencegahan karies gigi.<sup>3,4</sup> Antigen I/II *S. mutans* ini mempunyai sifat adhesif, pada saat bakteri tersebut melekat pada komponen inangnya selama berkolonisasi dan infeksi sehingga menjadi fokus sejumlah peneliti.<sup>1</sup> Antigen protein permukaan ini berpengaruh dalam perlekatan *S. mutans* dengan *acquired pellicles* pada permukaan gigi.<sup>5</sup>

Antibodi dalam sistem imun lokal maupun sistemik terhadap *S. mutans* ikut berperan dalam proteksi terhadap karies gigi. Sistem imun saliva lokal diperankan oleh sekretori IgA (sIgA). Sekretori IgA (sIgA) saliva dapat berikatan secara spesifik dengan adesin atau epitop dari bagian antigen I/II *S. mutans*, sehingga adesin ini tidak dapat berikatan lagi dengan pelikel saliva dan *S. mutans* tidak akan berkolonisasi pada permukaan gigi.<sup>4</sup>

Urutan lengkap nukleotida dari gen protein antigen I/II *S. mutans* serotipe c telah berhasil ditentukan. Gen ini terdiri dari 4,695 bp, mengkode protein dengan berat molekul 170.773 Da. Sekuen nukleotida gen *S. mutans* berperan dalam identifikasi terpenting bagian fungsional dan antigenisitas epitop molekul antigen I/II.<sup>6,7</sup> Karakteristik molekul gen dari antigen I/II *S. mutans* serotipe c yang terlibat dalam karies gigi berada pada residu asam amino 824–853. Residu asam amino tersebut masih mengandung banyak epitop yang antigenik.<sup>8</sup> Dalam urutan asam amino yang begitu panjang ada satu atau dua (sikuen) epitop dengan sikuen asam amino tertentu yang paling dominan dalam proses karies gigi.

Metode mutakhir yang digunakan untuk mengidentifikasi suatu epitop dari protein yang telah diketahui urutan asam amino secara linier, adalah *epitope scanning*. Metode ini telah banyak digunakan oleh peneliti di

mancanegara. Metode *epitope scanning* ini membutuhkan pengetahuan tentang sikuen protein untuk mensintesis sejumlah peptida kecil, yang pada umumnya tumpang-tindih dalam sikuen asam amino (*overlapping common sequence*). Peptida kecil ini kemudian diuji dengan sistem asai sehingga epitop yang spesifik dapat ditentukan.<sup>9</sup>

Oleh karena urutan asam amino pada regio P (824–853) antigen I/II *S. mutans* telah diketahui, maka residu urutan asam amino tersebut dapat dibuat secara sintetik dan dapat mengidentifikasi epitop dari antigen tersebut terhadap respons imun saliva lokal sIgA dengan metode *epitope scanning*. Permasalahan penelitian ini adalah terletak pada urutan residu asam amino atau *overlapping common sequence* asam amino (epitop) manakah dari regio P (824–853) antigen I/II *S. mutans* yang reaktif terhadap sIgA saliva pada subyek karies dan bebas karies. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi urutan residu asam amino atau *overlapping common sequence* asam amino (epitop) yang reaktif terhadap sIgA saliva pada subyek karies dan bebas karies. Manfaat penelitian ini adalah dengan teridentifikasinya epitop terhadap sIgA saliva dapat digunakan sebagai petanda (*marker*) untuk sarana diagnostik karies gigi.

#### BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah observasional. Penelitian dilakukan di Laboratorium Ilmu Material dan Teknologi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya dan Laboratorium A. 470 *Institute of Postgraduate Studies and Research (IPSP)* University Malaya Kuala Lumpur.

Bahan yang digunakan untuk penelitian dibuat terlebih dahulu dalam bentuk kit dengan cara, residu asam amino pada regio P (824–853) antigen I/II *S. mutans*, dimasukkan dalam komputer dengan *software antibody epitope scanning kit* dengan program GNET, dipotong menjadi 9 mer dengan tumpang-tindih 8 dan *offset* 1. Hasil dari pemotongan residu asam amino dibuat secara sintetik dalam bentuk potongan peptida. Kemudian potongan peptida tersebut dikonjugasikan pada permukaan pin yang terbuat dari *polyethylene*. Prosedur tersebut merupakan metode pembuatan *epitope scanning kit* yang dikerjakan oleh *Chiron Technologies* Australia. *Sodium dodecyl sulphate (Merck)*, *2-mercaptoethanol (Merck)*, *methanol (BDH)*, fosfat bufer salin, konjugat *anti human IgA* berlabel HRP, ABTS (*Sigma*, A-1888), hidrogen peroksidase (*Merck*).

Alat yang digunakan dalam penelitian, *sonication bath*, *waterbath*, *shaker*, lempeng *micro-ELISA* dengan dasar datar (*Maxisorp, NUC*), mikro pipet, *micro-ELISA reader (Dynex Technologies)*.

Sampel penelitian subyek karies dan bebas karies diambil dari mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga dengan kriteria penerimaan subyek

karies adalah umur 17–25 tahun, lahir di Surabaya, DMFS subyek karies 8–12, keadaan umum sehat, *detro-malay*, etnik Jawa, pola makan sama, kesehatan rongga mulut baik. Kriteria penerimaan subyek bebas karies sama dengan subyek karies, hanya DMFS subyek karies 0 atau 1.<sup>10</sup> Kriteria penolakan subyek karies dan bebas karies adalah; subyek penelitian sedang menjalani pengobatan dengan kortikosteroid atau immunosupresif yang lain dalam satu bulan terakhir, malnutri berat, penyakit sistemik yang dapat mengganggu sistem imunologis humoral dan mukosal, kesehatan rongga mulut jelek. Jumlah sampel untuk subyek karies dan bebas karies masing-masing 15 orang.

Pengambilan sampel saliva pada subyek karies dan bebas karies dilakukan dengan cara, subyek diinstruksikan untuk menggosok gigi dan makan pagi, selanjutnya tidak boleh makan dan minum selama 2 jam. Subyek disuruh meludah pada wadah yang steril sebanyak 5 ml. pelaksanaan pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari antara jam 9.00–10.00. Saliva yang diperoleh disentrifus dengan kecepatan 12.000  $\gamma$  selama 10 menit pada suhu 4° C. Supernatan diambil, dan dibagi dalam beberapa *aliquot* dan disimpan dalam –20° C sampai dilakukan pengujian.

Pengujian sampel dari subyek bebas karies dan karies dilakukan sebagai berikut, kit yang telah dipesan dimasukkan dalam larutan *pre-coat buffer* sebanyak 30 ml dalam kotak kecil dan digoyang di atas *shaker* selama 30 menit. Pin dicuci sebanyak 3 kali dengan 0,01M PBS. Kemudian ke dalam larutan *pre-coat buffer* tersebut dimasukkan sampel saliva dengan pengenceran 1:10, digoyangkan di atas *shaker* selama 30 menit. Pin dicuci kembali sebanyak 3 kali dengan 0,01M PBS. Tahap berikutnya, dimasukkan konjugat *goat anti-human IgA* dalam dengan pengenceran 1 : 3.000 dalam 30 ml pelarut konjugat, dan diinkubasi di atas *shaker* selama 30 menit. Pin dicuci kembali seperti cara di atas. Pada sumuran lempeng *micro ELISA* dimasukkan 100  $\mu$ l larutan substrat yang telah ditambahkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, kemudian pin dimasukkan dalam sumuran dan diinkubasi di atas *shaker* selama 20 menit sampai terjadi perubahan warna hijau. Bila sudah terjadi perubahan warna pin diambil, adanya perubahan warna dibaca dengan *micro ELISA reader* pada  $\lambda$  405 nm. Peptida yang reaktif dengan sampel sIgA subyek bebas karies dan karies dinyatakan dengan absorben. Nilai absorben menandakan kereaktifan peptida yang diuji terhadap sIgA. Pin yang telah digunakan untuk pengujian tidak boleh langsung digunakan lagi, apabila akan digunakan lagi untuk pengujian berikutnya maka harus dilakukan pembersihan atau *distruption* dan *sonication* (pencucian) terlebih dahulu.

Penentuan interpretasi hasil *ELISA* menggunakan cara *plot algorithm*, yaitu rerata dari setengah absorben terendah ditambah tiga kali standar deviasi.<sup>11</sup> Nilai tersebut sebagai ambang atas nilai rujukan (*cut-off value*). Nilai absorben di atas nilai rujukan dinyatakan signifikan.<sup>12,13</sup>

**HASIL**

Hasil pemotongan residu asam amino (824–853) antigen I/II *S. mutans* dengan program komputer GNET diperoleh dua puluh dua peptida dengan sikuen asam amino yang saling tumpang-tindih, seperti yang terlihat pada tabel 1. Selanjutnya, ke dua puluh dua peptida tersebut yang telah dikongjugasikan pada permukaan pin diuji reaktivitasnya terhadap sIgA saliva subyek karies dan bebas karies. Hasil reaktivitas setiap peptida ditentukan nilai rujukannya. Peptida yang mempunyai rerata dari setengah absorben terendah ditambah tiga kali standar deviasi dinyatakan di atas nilai rujukan. Hasil nilai rujukan dari setiap sampel subyek karies dan bebas karies terhadap kedua puluh dua peptida yang diuji dapat dilihat pada tabel 2.

Penentuan epitop dilakukan dengan cara, urutan asam amino setiap peptida dijabarkan dan dikelompokkan dengan nomer peptida yang berdekatan. Pengelompokkan

berdasarkan pada setiap *overlapping common sequence* asam amino (epitop) minimal 6 mer dengan rentangan paling banyak *offset* 4. Penentuan cara epitop ini mengacu pada peneliti sebelumnya.<sup>14</sup> Presentase atau frekuensi dari setiap kelompok sampel yang diuji dilakukan uji statistik uji Z dengan  $\alpha = 0,05$  dan Z tabel = 1,96. Diperoleh perbedaan yang bermakna antara sIgA saliva subyek bebas karies dan karies terhadap epitop urutan asam amino TPPVKPT (832–837) dan TAPTKPTY (838–845).

**PEMBAHASAN**

Walaupun diketahui bahwa suatu molekul besar merupakan imunogen, tetapi hanya bagian tertentu dari molekul saja yang terlibat dalam ikatan dengan antibodi yang ditimbulkan. Bagian tersebut selain menentukan spesifitas reaksi antigen-antibodi juga sebagai penentu timbulnya respons imun. Bagian ini dapat diikat dengan

**Tabel 1.** Dua puluh dua urutan asam amino antigen I/II *S. mutans* regio P (824–853) setelah dipotong dengan program komputer GNET

No.	Nomer peptida	Urutan asam amino	No.	Nomer peptida	Urutan asam amino
1.	Peptida 1	PKVTKEKPT (824–832)	12.	Peptida 12	VKPTAPTKP (835–843)
2.	Peptida 2	KVTKEKPTP (825–833)	13.	Peptida 13	KPTAPTKPT (836–844)
3.	Peptida 3	VTKEKPTPP (826–834)	14.	Peptida 14	PTAPTKPTY (837–845)
4.	Peptida 4	TKEKPTPPV (827–835)	15.	Peptida 15	TAPTKPTYE (838–846)
5.	Peptida 5	KEKPTPPVK (828–836)	16.	Peptida 16	APTKPTYET (839–847)
6.	Peptida 6	EKPTPPVKP (829–837)	17.	Peptida 17	PTAPTKPTE (840–848)
7.	Peptida 7	KPTPPVKPT (830–838)	18.	Peptida 18	TAPTKPTEK (841–849)
8.	Peptida 8	PTPPVKPTA (831–839)	19.	Peptida 19	APTKPTEKP (842–850)
9.	Peptida 9	TPPVKPTAP (832–840)	20.	Peptida 20	PTKPTEKPL (843–851)
10.	Peptida 10	PPVKPTAPT (833–841)	21.	Peptida 21	TKPTEKPLK (844–852)
11.	Peptide 11	PVKPTAPTK (834–842)	22.	Peptide 22	KPTEKPLKP (845–853)

**Tabel 2.** Reaktivitas ke dua puluh dua peptida yang memberikan absorben di atas *cut-off value* terhadap sIgA saliva subyek karies dan bebas karies

Subyek bebas karies			Subyek karies		
No. sampel	<i>Cut-off value</i>	Nomer peptida di atas <i>cut-off value</i>	No. sampel	<i>Cut-off value</i>	Nomer peptida di atas <i>cut-off value</i>
1.	0,093	8,10	1.	0,129	-
2.	0,192	20	2.	0,115	3,7,14,15
3.	0,182	2,3	3.	0,120	3,10,14
4.	0,067	2,7,10	4.	0,109	3,6,7,8,9,14,15
5.	0,20	2,9,15,21	5.	0,111	3,7,14,15
6.	0,185	3	6.	0,118	7,10,13,14
7.	0,073	6,7,8,9,14	7.	0,114	3,8,9,15
8.	0,063	14	8.	0,117	7,9,20,21
9.	0,183	20	9.	0,091	2,5,7,9,10,11,13,15
10.	0,224	9,21	10.	0,129	7,9,14,20,21
11.	0,087	7,9,11,12,13,20,21	11.	0,154	14,20,21,22
12.	0,187	20	12.	0,195	7,9,10,20,21,22
13.	0,090	7,9,12,13,14,20	13.	0,10	7,9,10,11,12,14
14.	0,063	3,6,7,8,9,10	14.	0,204	7,9,20,21,22
15.	0,062	10,14	15.	0,160	14,20,21,22

spesifik oleh reseptor pada limfosit. Bagian dari molekul yang terdapat pada permukaan ini disebut determinan antigenik atau epitop.<sup>15,16</sup>

Epitop merupakan bagian dari molekul yang secara spesifik dikenali oleh paratop atau *binding sites* dari molekul antibodi. Pada antigen protein, epitop ditentukan oleh beberapa residu asam amino yang akan dikenali oleh antibodi yang disebut kontak residu. Kontak residu harus terbuka dan bebas tanpa ditutupi oleh rangkaian asam amino lainnya atau lipatan asam amino.<sup>17</sup> Pada penelitian ini, prasyarat tersebut telah terpenuhi karena menggunakan protein yang telah diketahui struktur primernya untuk menentukan suatu epitop. Konsep lain yang ditetapkan oleh beberapa peneliti menyebutkan bahwa suatu epitop membutuhkan dua sifat yaitu reaktivitas dan imunogenesitas.<sup>18</sup>

Hasil keseluruhan dari penelitian ini, seperti yang ditampilkan pada tabel 3 menunjukkan bahwa ada epitop yang hanya reaktif terhadap antibodi dalam saliva subyek karies, dan saliva subyek bebas karies, tetapi frekuensi antibodi antara kedua kelompok tersebut berbeda. Pada perhitungan uji statistik proporsional didapatkan perbedaan yang bermakna dengan  $Z$  hitung  $> Z$  tabel. Dengan demikian, ada 2 epitop yaitu: *overlapping common sequence asam amino* (epitop) TPPVKPT (832–837) yang reaktif terhadap antibodi yang terdapat pada 78,6% saliva subyek karies dan hanya 40% saliva subyek bebas karies. *Overlapping common sequence asam amino* (epitop) TAPTKPTY (838–845) yang reaktif terhadap antibodi yang terdapat pada 71,4% saliva subyek karies dan hanya 26,6% saliva subyek bebas karies. Kedua epitop tersebut disebut epitop marka karies. Istilah epitop marka karies tidak pernah ditemukan dalam literatur. Peneliti sendiri yang memperkenalkan istilah epitop marka karies dengan alasan, epitop ini hanya reaktif terhadap antibodi dalam hal ini sIgA saliva yang terdapat pada sebagian besar sampel subyek karies dan sebagian kecil pada subyek bebas karies. Kemungkinan keadaan tersebut disebabkan oleh karena, antibodi dalam saliva subyek bebas karies maupun subyek karies mempunyai kadar sIgA yang sama tinggi, sehingga kedua kelompok tersebut derajat kereaktivannya sama terhadap 22 peptida yang diuji. Hal ini tidak sesuai dengan suatu hipotesis yang menyatakan bahwa respons antibodi saliva meningkat terhadap bakteri kariogenik pada individu yang resisten karies, dan observasi ini tidak menambah atau membedakan secara kualitatif dari antibodi spesifik dalam subyek yang resisten karies dibandingkan dengan subyek yang peka karies. Lebih lanjut dikatakan bahwa, korelasi antara karies positif dan level antibodi sIgA terhadap *S. mutans* masih menjadi perdebatan yang besar.<sup>19</sup>

Antibodi dalam saliva pada subyek bebas karies masih mampu mengikat epitop dari antigen I/II *S. mutans*, khususnya pada regio asam amino 824–853, sehingga *S. mutans* masih tetap berakumulasi pada permukaan gigi. Perlu diperhatikan, saliva yang digunakan dalam penelitian ini adalah total saliva, yang dapat berasal dari saliva dan

cairan ginggiva, meskipun dikatakan konsentrasi IgA tertinggi di saliva. Konjugat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *anti human* IgA bukan *anti human* sIgA, karena tidak ada perusahaan yang memproduksi konjugat *anti human* sIgA yang berlabel enzim. Keterangan perusahaan mengatakan kesukaran dalam pemurnian sIgA dan bila ada konjugat dalam bentuk sIgA mudah terjadi kerusakan karena sifatnya yang tidak stabil selama penyimpanan. Oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan sIgA bukan IgA saliva, karena IgA total dalam saliva 90–95% berbentuk sIgA,<sup>20</sup> atau molekul yang diproduksi dalam kelenjar ludah 98% berbentuk sIgA.<sup>21</sup> Penggunaan saliva secara keseluruhan pada penelitian ini lebih mencerminkan keadaan rongga mulut sebenarnya.

Tampaknya kedua epitop marka karies TPPVKPT dan TAPTKPTY tersebut dapat membentuk ikatan terhadap antibodi spesifik yang tidak protektif. Epitop tersebut dapat berinteraksi dengan salah satu reseptor saliva yang berada dalam rongga mulut terutama pada permukaan gigi. Dengan demikian *S. mutans* akan tetap *adherence* dan berkolonisasi di permukaan gigi. Adanya bakteri yang *adherence* pada permukaan gigi terutama pada permukaan halus dan fisura gigi atau bagian gigi lainnya merupakan proses awal karies gigi. Residu asam amino 832–845 dari antigen I/II *S. mutans* merupakan daerah fungsional untuk perlekatan dengan salah satu komponen IgA sekretori. Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh peneliti sebelumnya, residu asam amino 39–864 dari molekul PAC berperan penting dalam perlekatan protein terhadap komponen saliva. Lebih lanjut dikatakan pemotongan yang pendek pada molekul PAC yaitu fragmen PAC-5, pada residu asam amino 828–1000 (regio P) dari *S. mutans* yang diuji dengan *sandwich ELISA* memperlihatkan bahwa fragmen tersebut melekat pada komponen saliva oleh karena pada regio tersebut juga mempunyai daerah fungsional untuk perlekatan saliva.<sup>22</sup>

Bila dilihat dari segi susunan atau urutan residu asam aminonya, kedua epitop yang terdeteksi merupakan epitop *continous epitope* dengan rentangan pendek kurang dari 10 residu asam amino dari sikuen yang sesuai dengan fragmen peptida dari protein yang secara antigenik berhubungan dengan protein induknya. *Continous epitope* mungkin hanya merupakan salah satu bagian dari suatu epitop *discontinous* yang lebih luas.<sup>23,24</sup> Bila tidak ada penjelasan yang lebih lanjut, istilah epitop biasanya dipakai untuk epitop sel B, bagian antigen yang dikenal oleh reseptor sel B dan antibodi. Tak ada suatu tolok ukur kimia fisik yang unik sebagai sifat yang khas dari epitop sel B. Suatu sifat yang penting dari epitop adalah asesibilitas yang diperlukan untuk dikenali oleh reseptor sel B dan oleh antibodi, adalah hal yang amat penting bagi para peneliti untuk menentukan sikuen yang spesifik pada protein (epitop) yang dikenali oleh antibodi atau oleh sel T.<sup>24</sup> Epitop marka karies yang terdeteksi pada penelitian ini terdiri dari enam dan tujuh mer urutan asam amino. Hasil ini sesuai dengan pernyataan peneliti sebelumnya, oktamer adalah panjang minimal yang dibutuhkan untuk

**Tabel 3.** Frekuensi, persentasi dan nilai Z dari epitop yang ditemukan dengan sIgA saliva terhadap subyek bebas karies dan karies

EPITOP	Saliva subyek penelitian						Kemaknaan
	Bebas karies			Karies			
	Fre	%	n	Fre	%	n	
VTKEKPTP	5	33,3	15	6	42,8	15	Zhit = 0,53 < 1,98
TPPVKPT	6	40	15	11	78,6	15	Zhit = 2,11 > 1,98 *
PVKPTAP	10	66,6	15	8	57,1	15	Zhit = 1,41 < 1,98
TAPTKPTY	4	26,6	15	10	78,4	15	Zhit = 2,41 > 1,98 *
TYETEKPL	7	46,6	15	6	42,8	15	Zhit = 0,21 < 1,98

Keterangan: Fre = Frekwensi; n = Jumlah sampel tiap kelompok; \* = Berbeda bermakna

mendeteksi seluruh epitop antibodi sel B linier.<sup>25</sup> Epitop marka karies hanya mempunyai arti sebagai marka adanya karies gigi dan tidak mempunyai arti dalam mencegah karies, sebab antibodi terhadap epitop ini tidak protektif. Epitop ini mungkin hanya mempunyai nilai sebagai salah satu sarana diagnostik dari karies, atau sebagai landasan untuk pembuatan kit uji serologis guna mendeteksi adanya karies gigi pada stadium dini.

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah *overlapping common sequence* asam amino (epitop) TPPVKPT (832–837) dan TAPTKPTY (838–845) dari antigen I/II *S. mutans* merupakan epitop marka karies terhadap sIgA saliva.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Chia JS, You CM, Hu CY, Chiang BL, Chen JY. Human T-cell responses to the glucosyltransferases of streptococcus mutans. Clin Diagn Lab Immunol 2001; 8(2):441–5.
- Ethesis. Review of literature. General bacteriological aspects of mutans streptococci. 2004. Available: <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/laa/hamma/vk/gronross/ch2.htm>. Accessed March 28, 2004.
- Brady LJ, van Tilburg MLJA, Alford CE, Mc Arthur WP. Monoclonal antibody-mediated modulation of humoral immune response against mucosally applied streptococcus mutans. Infect Immun 2000; 68:1796–05.
- Lehner T, Russell MW, Caldwell J. Immunisation with a purified protein from Streptococcus mutans against dental caries in rhesus monkeys. Lancet 1980; 10:995–6.
- Peterson FC, Assey S, van der Mei HC, Busscher HJ, Scheide AA. Functional variation of the antigen I/II surface protein in streptococcus mutans and streptococcus intermedius. Infect Immun 2002; 70(1):249–56.
- Kelly C, Evans P, Bergmeier L, Lee SF, Proguiske-Fox A, Harris AC, Aitken A, Bleiweis AS, Lehner T. Sequence analysis of the cloned streptococcal cell surface antigen I/II. FEBS LETTER 1989; 127–32.
- van Dolleweerd CJ, Chargelegue D, Ma JKC. Characterization of the conformational epitope of Guy'13, a monoclonal antibody that prevents streptococcus mutans colonization in humans. Infect Immun 2003; 71(2):754–65.
- Okahashi N, Sasakawa C, Yoshikawa M, Hamada T, Koga T. Mucelucar characterization of a surface protein antigen gene from serotype c streptococcus mutans, implicated in dental caries. Mol Microbiol 1989; 3:673–8.
- Worthington J, Morgan K. Epitope mapping using synthetic peptides. Peptide Antigen. A practical approach. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1994. p. 181–217.
- Perrone M, Gfell LE, Fontana M, Gregory RL. Antigenic characterization of fimbria preparations from Streptococcus mutans isolates from caries-free and caries-susceptible subjects. Clin Diagn Lab Immunol 1997; 4:291–6.
- Stren PS. Predicting antigenic sites on proteins. TIBTECH 1991; 9:163–9.
- Lachumanan R, Devi S, Cheong YM, Rodda SJ, Pang T. Epitope mapping of the Sta58 major outer membrane protein of Rickettsia tsutsugamushi. Infect Immun 1993; 61:4527–31.
- Panchanathan V, Naidu BR, Devi S, DiPasquale A, Mason T, Pang T. Immunogenic epitopes of Salmonella typhi GroEL heat shock protein reactive with both monoclonal antibody and patient sera. Immunology Letter 1998; 62:105–9.
- Tam JP. Immunization with peptide-carrier complexes: traditional and multiple-antigen peptide systems. Peptide antigen. A practical approach. Oxford, New York: Wisdom GB IRL PREESS; 1994. p. 84–115.
- Goer J. Immunochemical techniques laboratory manual. San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto: Academic Press. Harcourt Brace Jovanovich, Publisher; 1993. p. 126–33.
- Baratawidjaya KG. Immunologi dasar. Edisi ke-4. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2000. p. 22–32.
- Sosroseno W. Pedoman kuliah. Dasar-dasar imunologi untuk kedokteran gigi. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada; 1993. h. 3–5.
- Van Regenmortel MHV. The concept and operational definition of protein epitopes. Phil Trans R Scot Lond 1989; 323:451–66.
- Hocini H, Iscaki S, Bouvet JP, Pillot J. Unexpectedly high level of some presumably protective secretory immunoglobulin A antibodies to dental plaque bacteria in salivas of both caries-resistant and caries-susceptible subjects. Infect Immun 1993; 61:3597–604.
- Challacombe SJ, Shirlaw PJ. Immunology of diseases of the oral cavity. Handbook of mucosal immunology. San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto: Academic Press Inc; 1994. p. 607–24.
- Amerongen AN. Ludah dan kelenjar ludah arti bagi kesehatan gigi. Yogyakarta: Gajah Mada University Press; 1992; h. 43–124.
- Nakai M, Okahashi N, Ohta H, Koga T. Saliva-binding region of streptococcus mutans surface protein antigen. Infect Immun 1993; 61:4344–9.
- Lane DP, Stephen CW. Epitope mapping using bacteriophage peptide libraries. Current Opinion in Immunology 1993; 5:268–71.
- Pellequer JI, Westhof E, van Regenmortel HV. Epitope predictions from the primary structure of proteins. Peptide antigen. A practical Approach. Oxford New York Tokyo: Wisdom GBIRL PRESS Oxford University Press; 1994. p. 7–25.
- Tribbick G. Antibody epitope mapping with multipin™ peptides. Immunology method manual. Clayton, Victoria, Australia: Chiron Mimotopes Pty Ltd; 1997. p. 818–25.