

Deteksi gen Gtf-B *Streptococcus mutans* dalam plak dengan gigi karies pada siswa di SD N 29 Dangin Puri



I Gusti Agung Dyah Ambarawati^{1*}, I Dewa Made Sukrama²,
I Wayan Putu Sutirta Yasa²

ABSTRACT

Background: Bacteria situated in the formation of dental plaque as a leading cause of caries is *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* use glycosyltransferase enzymes to convert saccharose saliva into an extracellular polysaccharide (PSE) through glycosylation process. One of the virulence factors of *Streptococcus mutans* is the *gtf-B* gene.

Aim: This study aims to detect *gtf-B* gene in plaque with dental caries on students of SD Negeri 29 Dangin Puri.

Method: The design of the study was descriptive observational

research involved 51 carries children as a sample in SD Negeri 29, Dangin Puri. Bacterial culture was applied to detect colonies of *Streptococcus*. Additional gram staining and catalase test were also conducted to distinguish *Streptococcus* against *Staphylococcus*. After it revealed negative catalase test, PCR was continued optimally about 517 bp in size and 585 bp *gtf B* gene in size.

Result and Conclusion: *Streptococcus mutans* are as many as 19 samples from 51 samples (37.25%). Three samples from 19 isolates of *Streptococcus mutans* were detected by *gtf-B* gene (16%).

Keywords: Plaque, dental caries, *Streptococcus mutans*, PCR *gtf-B* gene

Cite This Article: Ambarawati, I.G.A.D., Sukrama, I.D.M., Yasa, I.W.P.S. 2020. Deteksi gen Gtf-B *Streptococcus mutans* dalam plak dengan gigi karies pada siswa di SD N 29 Dangin Puri. *Intisari Sains Medis* 11(3): 1049-1055. DOI: 10.15562/ism.v11i3.337

ABSTRAK

Latar Belakang: Bakteri yang berperan penting dalam pembentukan plak gigi sebagai penyebab karies adalah *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* memiliki enzim glikosiltransferase yang dapat mengubah sakarosa saliva menjadi polisakarida ekstraseluler (PSE) melalui proses glikosilasi. Salah satu faktor virulensi bakteri *Streptococcus mutans* sebagai penyebab karies gigi adalah *gengtf-B Streptococcus mutans*.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi gen *gtf-B Streptococcus mutans* dalam plak dengan gigi karies pada anak di SD Negeri 29 Dangin Puri.

Metode: Penelitian ini menggunakan 51 sampel anak di SD Negeri 29 Dangin Puri yang mengalami karies. Kultur bakteri digunakan untuk mendeteksi koloni *Streptococcus Sp.* kemudian dilakukan pengecatan gram, uji katalase untuk membedakan *Streptococcus* dengan *Staphylococcus*. Hasil uji katalase negatif dilakukan proses PCR *Streptococcus Mutans* dengan ukuran 517 bp dan gen *gtf B Streptococcus mutans* dengan ukuran 585 bp.

Hasil dan Simpulan: ditemukan bakteri *streptococcus mutans* sebanyak 19 sampel dari 51 sampel (37,25%). Tiga sampel dari 19 isolat bakteri *streptococcus mutans* terdeteksi gen *gtfB streptococcus mutans* (16%).

Kata kunci: Plak, Karies Gigi, PCR *Streptococcus mutans*, PCR gen *gtf-B Streptococcus mutans*

Sitasi Artikel ini: Ambarawati, I.G.A.D., Sukrama, I.D.M., Yasa, I.W.P.S. 2020. Deteksi gen Gtf-B *Streptococcus mutans* dalam plak dengan gigi karies pada siswa di SD N 29 Dangin Puri. *Intisari Sains Medis* 11(3): 1049-1055. DOI: 10.15562/ism.v11i3.337

PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut, menjadi perhatian yang sangat penting dalam pembangunan kesehatan yang salah satunya disebabkan oleh rentannya kelompok anak usia sekolah terhadap gangguan kesehatan gigi. Masalah terbesar yang dihadapi penduduk Indonesia seperti juga di negara-negara berkembang lainnya di bidang kesehatan gigi dan mulut adalah penyakit jaringan keras gigi (*caries dentis*) di samping penyakit gusi. *Karies* merupakan

suatu penyakit jaringan keras gigi yaitu email, dentin dan sementum yang disebabkan oleh aktivitas jasad renik dalam suatu karbohidrat yang dapat diragikan. Tandanya adalah demineralisasi jaringan keras gigi yang kemudian diikuti oleh kerusakan bahan organiknya. Kerusakan seperti ini akan berakibat terjadi invasi bakteri dan kematian pulpa serta penyebaran infeksi periapiks yang dapat menyebabkan rasa nyeri. Proses terjadinya karies melibatkan sejumlah faktor yang saling berinteraksi satu sama lain yaitu gigi dan saliva

¹Program Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

*Korespondensi:

I Gusti Agung Dyah Ambarawati;
Program Magister Ilmu Biomedik,
Fakultas Kedokteran Universitas
Udayana;
agungdyah81@gmail.com

Diterima: 28-10-2020
Disetujui: 03-10-2020
Diterbitkan: 01-12-2020

(host), mikroorganisme, substrat dan waktu.^{1,2,3}

Indeks *karies* digunakan untuk mengukur pengalaman seseorang terhadap *karies*. *Karies* dapat dideteksi dengan visual atau menggunakan sonde dan dihitung dengan menggunakan indeks *karies* Klein yaitu DMF-T.² Kecenderungan terjadinya *karies* merupakan ciri-ciri nyata anak dengan kondisi *oral hygiene* buruk, sering dijumpai penumpukan *plak* dan deposit-deposit lainnya pada permukaan gigi. Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesda) Departemen Kesehatan Republik Indonesia tahun 2007 melaporkan di Indonesia penyakit gigi dan mulut yang bersumber dari *karies gigi* menjadi urutan tertinggi yaitu 46,5% menunjukkan bahwa masyarakat Indonesia rata-rata memiliki sekitar lima gigi *karies* setiap orangnya.

Bakteri yang berperan penting dalam pembentukan *plak* gigi adalah bakteri dari genus *Streptococcus*, yaitu bakteri *Streptococcus mutans* yang ditemukan dalam jumlah besar pada penderita *karies*. Bakteri *Streptococcus mutans* memiliki enzim *glikosiltransferase* yang dapat mengubah sakarosa saliva menjadi *polisakarida ekstraseluler* (PSE) melalui proses *glikosilasi*. *Polisakarida ekstraseluler* ini akan membentuk suatu matriks di dalam *plak* dimana bakteri dapat melekat. Bakteri yang memiliki toleransi tinggi terhadap asam (*aciduric bacteria*), yang juga mampu memproduksi asam dalam jumlah besar, dapat tumbuh dalam *plak supra gingival*.⁴

Salah satu faktor virulensi dalam *karies* adalah *gen gtf B Streptococcus mutans*. Ekspresi *gen gtf B* adalah *glukosil transferase* merupakan salah satu gen yang mengkode enzim yang bertanggung jawab untuk sintesis glukukan yang tidak larut dalam air yang dikenal sebagai *IG (insoluble glukukan)*. *Gen gtf B* berperan sebagai salah satu faktor virulensi, sifat kariogenik dari gen ini menyebabkan terjadinya *karies gigi*.^{5,6}

Sejak tahun 1951 pemerintah Indonesia mengupayakan usaha peningkatan pengetahuan kesehatan gigi anak usia sekolah dasar melalui Usaha Kesehatan Gigi Sekolah (UKGS). Program UKGS tersebut merupakan upaya menjaga kesehatan gigi dan mulut pada anak Sekolah Dasar (SD) yang menitik beratkan pada upaya penyuluhan dan gerakan sikat gigi masal, serta pemeriksaan kesehatan gigi dan mulut pada setiap murid.^{7,8} Data triwulan terakhir dari Dinas Kesehatan Kota Denpasar menunjukkan bahwa prevalensi *karies* pada anak di Puskesmas Denpasar Timur 1 masih tinggi, terutama di SD Negeri 29 Dangin Puri yang mencapai 90%. Tingginya prevalensi *karies* di SD Negeri 29 Dangin Puri dan belum tersedianya data mengenai penyebab *karies*, perlu dilakukan

penelitian apakah penyebab *karies* tersebut disebabkan oleh *gen gtf B Streptococcus mutans*.

METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian *deskriptif observasional* yang dilaksanakan pada Juli – Januari 2014. Untuk sampel *plak* gigi pada *karies* anak dilakukan di SD Negeri 29 Dangin Puri, keperluan kultur bakteri *Streptococcus mutans* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Denpasar, dan pemakaian PCR *gen gtf B Streptococcus mutans* dilakukan di Laboratorium Biomol Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Denpasar. Sampel penelitian adalah 51 siswa dengan *plak* gigi di SD Negeri 29 Dangin Puri yang berusia 6-12 tahun dengan keluhan *karies* selama periode pengambilan sampel, tidak mengkonsumsi obat antibiotika, serta mereka bersedia ikut penelitian dengan menandatangani lembar persetujuan mengikuti penelitian (*informed consent*).

Plak gigi adalah hasil kerokan yang di ambil pada bagian bukal di sekitar kavitas gigi dengan menggunakan *excavator*, yang diukur dengan menggunakan indeks *plak* menurut Sillness & Loe dengan pemberian disclosing solution dan dicocokkan dengan tabel indeks *plak* gigi.⁹

$$\text{Plak indeks} = \frac{\text{Jumlah Penilaian}}{\text{Jumlah gigi yang diperiksa}}$$

Dengan kriteria penilaian: baik (0–1,2), sedang (1,3–3,0), jelek (3,1– 6,0). Bila penilaian skor *plak* 0, diartikan tidak ada *plak*; nilai 1 terdapat selapis tipis *plak* yang hanya dapat dilihat dengan bantuan sonde atau disclosing solution; nilai 2 terdapat lapisan *plak* dengan akumulasi sedang, yang dapat dilihat dengan mata telanjang; dan nilai 3 terdapat *plak* dengan akumulasi banyak dari bahan lunak yang mengisi celah antara tepi gingiva dan permukaan gigi.

Karies gigi adalah penyakit jaringan keras gigi yaitu email, dentin dan sementum yang disebabkan oleh aktivitas jasad renik dalam suatu karbohidrat yang dapat diragikan. Tandanya adalah demineralisasi jaringan keras gigi yang kemudian diikuti oleh kerusakan bahan organiknya pada anak usia 6-12 tahun dengan indeks *karies* (DMF-T) ringan sampai tinggi di SD N 29 Dangin Puri. *Decay* berarti Jumlah gigi *karies* yang tidak ditambal / yang masih dapat ditambal. *Missing artinya* jumlah gigi yang indikasi untuk dicabut / gigi yang telah hilang karena *karies*. *Filling berarti* jumlah gigi yang telah ditambal dan masih baik. Kategori DMF-T menurut WHO meliputi: 0,0 – 1,1 (sangat rendah), 1,2 – 2,6 (rendah), 2,7 – 4,4 (sedang), 4,5

– 6,5 (tinggi), dan > 6,6 yang berarti sangat tinggi. Rumus yang digunakan untuk menghitung DMF-T: DMF-T = D + M + F

$$\text{DMF-T rata-rata} = \frac{\text{Jumlah D + M + F}}{\text{(Jumlah orang yg diperiksa)}}$$

Streptococcus mutans positif bila hasil PCR dengan primer forward *S. mutans* : 5' GGT CAG GAA AGT CTG GAG TAA AAG GCT 3' dan primer reverse *S. Mutans* : 5' GGT TTA TTA CCG GCA GTC TCG 3' menunjukkan amplicon berukuran 517 bp (Barrientos.dkk,2011; Bowen ,Koo.2011). Gen *gtf B Streptococcus mutans* positif bila hasil PCR dengan primer forward:5' ACT ACA CTT TCG GGT GGC TTG 3' dan primer reverse : 5' CAG TAT AAG CGC CAG TTT CAT 3' menunjukkan amplicon berukuran 585 bp.^{10,11}

Bahan plak gigi yang mengandung koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang diisolasi disekitar kavitas gigi yang karies digunakan pada penelitian ini. Selain itu digunakan pula: mediatranspor *Tryptone Soya Broth* (CM0129B) bermerek Oxoid, agar darah untuk isolasi dan numerisasi, pengecatan Gram 1 set, H₂O₂ 3%, 8-10 koloni *Streptococcus Sp.*, primer forward *S. mutans* :5' GGT CAG GAA AGT CTG GAG TAA AAG GCT 3', primer reverse *S. Mutans* : 5' GGT TTA TTA CCG GCA GTC TCG 3', primer spesifik gen *glukosil transferase-B (gtfb)* *S. mutans* dengan primer forward:5'ACT ACA CTT TCG GGT GGC TTG dan primer reverse : CAG TAT AAG CGC CAG TTT CAT 3', agarosa 1,5%, dan *etidium bromida*.

Sampel gigi yang terpilih diisolasi dengan menggunakan gulungan kapas, dikeringkan dan diolesi alkohol 70% untuk mencegah kontaminasi saat pengambilan sampel. Sampel plak gigi diambil dengan menggunakan ekskavator pada daerah di sekitar gigi yang karies kemudian dimasukkan ke media *TSB (Trypticase soya broth)*, dikirim ke Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan menggunakan ice box dilengkapi dengan *cold pack* untuk menjaga suhu ideal sampel 2°-8°C. Sampel pada media *TSB (Trypticase Soya Broth)* di inkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Media *TSB* diambil dengan ose dengan ke dalaman kira-kira 1.5cm, ujung ose digoreskan ke media agar darah dan di inkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Terdapat pertumbuhan beberapa jenis koloni bakteri dan dipilih koloni tersangka dengan ciri: kecil, besar, bening halus α hemolisis, β hemolisis, non hemolisis. Koloni tersangka di subkultur ke media *Mueller-Hinton Blood Agar* dan di inkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Identifikasi pengecatan *Gram* (gention kristal violet selam 1-3 menit, larutan lugol selama 1/2-1 menit, alkohol 96% selama ¼-1/2 menit, air fuchsin

selama 1-2 menit). Hasil pengecatan *Gram* positif berwarna ungu, kemudian dikeringkan dan dilihat dibawah mikroskop dengan bentuk bulat berantai.

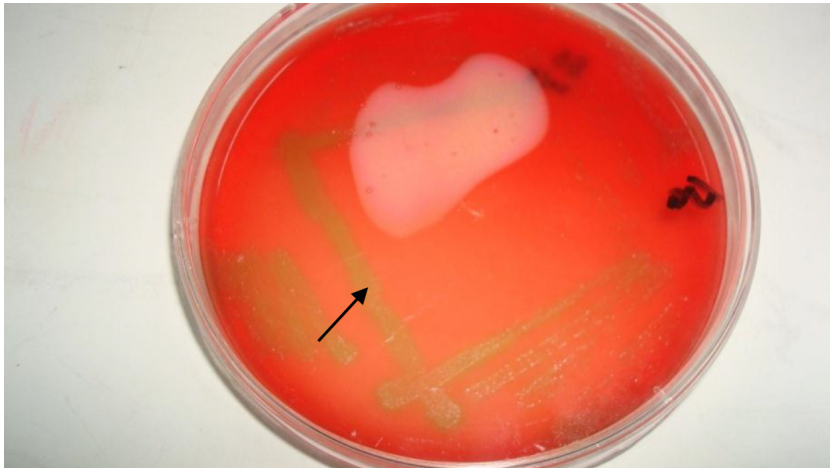
Uji katalase dengan menggunakan 1 tetes H₂O₂ 3% yang diambil dengan menggunakan pipet pasteur yng ditaruh pada objek glass. Koloni tersangka diambil menggunakan ose steril dan dihomogenkan. Diamati adanya gelembung untuk hasil positif dan apabila tidak ada gelembung menunjukkan hasil negatif. Uji katalase dengan hasil negatif menunjukkan adanya koloni *Streptococcus sp.* Hasil uji katalase di sub kultur pada media *Mueller hinton blood agar*, diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam, kemudian ditumbuhkan pada media *TSB (Trypticase soya broth)* dilanjutkan pada gliserol 32% dan disimpan pada suhu -80°C.

Kultur bakteri *Streptococcus mutans* dimurnikan dan dimasukkan kedalam Eppendorf 1,5 ml yang telah ditambah dengan PBS (*Phospat Buffer Saline*) 1x sebanyak 200 µl. Isolasi DNA bakteri menggunakan *High Pure PCR Preparation Kit (ROCHE)* 8-10 koloni dimasukkan kedalam 200 µl PBS konsentrasi 1 kali selanjutnya ditambahkan 5 µl *Lisozyme* di inkubasi 15 menit pada suhu 37° C selanjutnya ditambahkan 200 µl *binding buffer* dan 40 µl *proteinase K*. Inkubasi 10 menit pada suhu 70° C. Ditambahkan 100 µl *isopropanol* kemudian dimasukkan kedalam *colection tube* yang sudah berisi *filter tube* kemudian di *centrifuge* selama 1 menit 8000 rpm. *Colection tube* dibuang dan diganti yang baru, selanjutnya ditambahkan *inibitor removal buffer* sebanyak 500 µl. *centrifuge* kembali selama 1 menit 8000 rpm. *Colection tube* dibuang dan diganti yang baru kemudian ditambahkan 500 µl *wash buffer*, di *centrifuge* 8000 rpm selama 1 menit. *Colection tube* dibuang dan diganti yang baru kemudian ditambahkan 400 µl *was buffer*, di *centrifuge* 8000 rpm selama 1 menit. *Colection tube* di buang dan diganti dengan *centrifuge tube* 1,5 ml kemudian di *centrifuge* 8000 rpm selama 1 menit. *Centrifuge tube* di buang dan diganti yang baru, selanjutnya tambakan *elution buffer* sebanyak 50 µl ke dalam *tube* tersebut dan di *centrifuge* 8000 rpm selama 1 menit. *Filter tube* dibuang kemudian *centrifuge tube* yang berisi DNA disimpan di -80° C sampai digunakan.

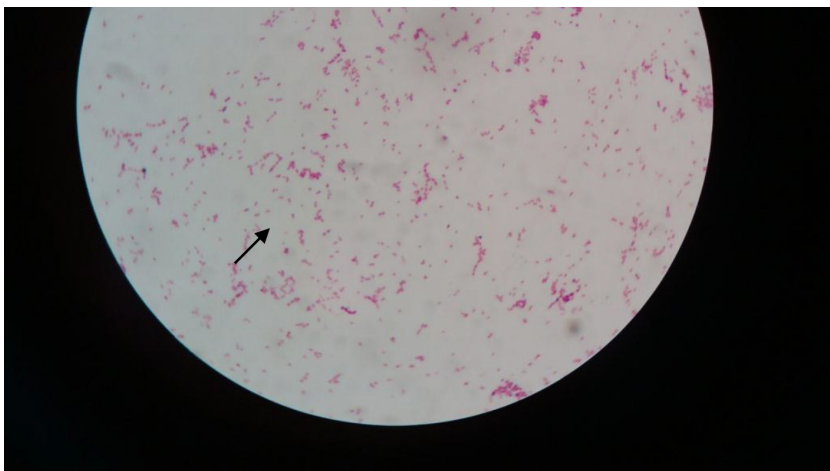
Identifikasi *S. mutans* menggunakan PCR dengan target gen 16S RNA. PCR yang dilakukan menggunakan Master Mix (Promega) sebanyak 5 µl, primer forward *S. mutans* (10 µM), primer reverse *S. Mutans* dengan konsentrasi akhir 0,5 µl (10 µM), *Template/DNA* sebanyak 3 µl, ddH₂O/*RNAse free water* sebanyak 1 µl. PCR gen *glukosil transferase-B (gtfb)* *S. mutans* dengan primer forward dan primer reverse. Urutan gen digunakan diperoleh dari GenBank tersebut, nomor akses M17361 untuk

Tabel 1. Karakteristik dan indeks plak sampel anak dengan karies di SD Negeri 29 Dangin Puri.

Umur	Jenis Kelamin(n%)		Indeks plak(n%)				Indeks karies				Jumlah
	Laki-laki	Perempuan	Baik	Sedang	Jelek	Sangat rendah	Rendah	Sedang	Tinggi	Sangat tinggi	
6-9 tahun	16(55,17)	13(44,83)		29(56,86)		25(49,02)	4(7,84)				29(56,86)
10-13 tahun	12(54,54)	10(45,45)		22(43,18)		17(33,33)	5(9,80)				22(43,18)
Jumlah	28(54,90)	23(45,10)		51(100)		42(82,35)	9(17,65)				51 (100)



Gambar 1. Hasil penanaman pada media blood agar. Tanda panah menunjukkan koloni bening halus yang dicurigai *Streptococcus* sp.



Gambar 2. Bakteri coccus gram positif

gft B. Denaturasi awal dilakukan pada suhu 95° C selama 5 menit, selanjutnya dilakukan amplifikasi 35 siklus: denaturasi 95° C selama 1 menit, Annealing 60° C selama 1 menit Elongasi 72° C selama 1 menit, diakhiri dengan Elongasi akhir 72° C selama 7 menit. Elektroforesis menggunakan agarosa 1,5%, tegangan diatur 60 volt, dilakukan selama 35 menit. Hasil pengamatan difoto dengan kamera digital yang

dihubungkan dengan komputer, visualisasi dengan *etidium bromida*.

HASIL

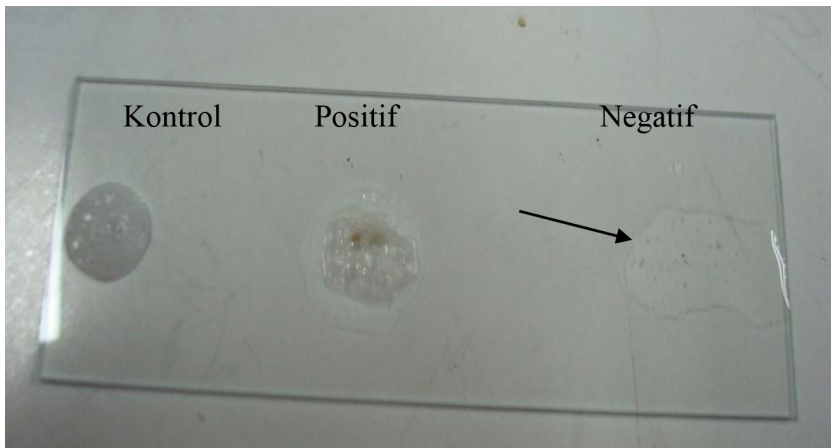
Sampel pada penelitian ini lebih banyak pada jenis kelamin laki-laki yaitu 28 orang dari 51 sampel anak dengan karies (54,90 %) dibanding dengan anak perempuan yaitu sebesar 23 orang dari 51 sampel anak dengan karies (45,10 %). Berdasarkan karakteristik umur semua sampel paling banyak sampel berasal dari kisaran umur 6-9 tahun yaitu 29 orang dari 51 sampel anak dengan karies (56,86%), dari 29 sampel tersebut yang berjenis kelamin laki-laki sebanyak 16 orang (55,17 %) dan yang berjenis kelamin wanita sebanyak 13 orang (44,83 %). Pada golongan umur 10-13 tahun sampel karies terbanyak berjenis kelamin laki-laki sebanyak 12 orang (54,54 %) dan yang berjenis kelamin perempuan 10 orang (45,45 %).

Penanaman pada Media Blood agar

Hasil penelitian menunjukkan 51 sampel yang ditempatkan pada media *Trypticase soya broth* (TSB) dan diinkubasi selama 18-24 jam menunjukkan warna kekeruhan yang menandakan adanya bakteri pada ke 51 sampel penelitian. Sampel pada media TSB hasil inkubasi, ditanam pada media blood agar untuk mengisolasi bakteri coccus gram positif salah satunya bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil kultur pada media blood agar menunjukkan koloni yang kecil halus dan bening serta menunjukkan gambaran α , β dan ϵ hemolisa, dari 51 sampel ditemukan 49 sampel dicurigai merupakan coccus gram positif, sedangkan 2 sampel lainnya dicurigai merupakan coccus gram negatif.

Pengecatan Gram

Identifikasi selanjutnya dilakukan dengan pewarnaan Gram pada bakteri. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa seluruhnya merupakan coccus gram positif yang ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada sel bakteri. Gambaran mikroskop morfologi memperlihatkan coccus gram positif ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 3. Uji katalase negative (tidak terdapat gelembung)



Gambar 4. Contoh elektroforesis hasil PCR sampel anak dengan karies gigi di SD Negeri 29 Daging Puri Denpasar. Elektroforesis hasil PCR sampel nomor 6-33 dengan primer *Streptococcus mutans* tampak pita dibawah 600 bp.

Uji katalase

Hasil penelitian ini menunjukkan 48 sampel merupakan katalase negatif, sedangkan satu isolat memberikan hasil katalase positif yang berarti bakteri tersebut adalah *Streptococcus* ditunjukkan pada Gambar 3.

PCR *Streptococcus mutans*

Seluruh sampel dengan hasil katalase negative dilakukan uji PCR dengan primer spesifik untuk *Streptococcus mutans*, selanjutnya proses PCR dimulai dari tahap ekstraksi DNA, amplifikasi dengan PCR, deteksi DNA dengan elektroforesis. Pembacaan hasil PCR dilakukan dengan menggunakan elektroforesis gel agarose 1,5 %. Hasil positif *Streptococcus mutans* bila ditemukan band terbesar 517 bp, yang ditampilkan dalam Gambar 4.

Hasil PCR gen *gtf-B Streptococcus mutans*

Sembilan belas sampel yang positif hasil PCR *Streptococcus mutans*, di lakukan identifikasi

menggunakan PCR dengan primer spesifik gen *gtf-B Streptococcus mutans* yang memberikan hasil dibawah sinar UV short wave. Hasil PCR *Streptococcus mutans* dari 19 sampel ternyata hanya 3 sampel (15,79%) yang positif gen *gtf*. Tiga sampel yang terdeteksi gen *gtf B* termasuk dalam klasifikasi karies media.

Hasil sequencing untuk konfirmasi gen *gtf-B Streptococcus mutans*

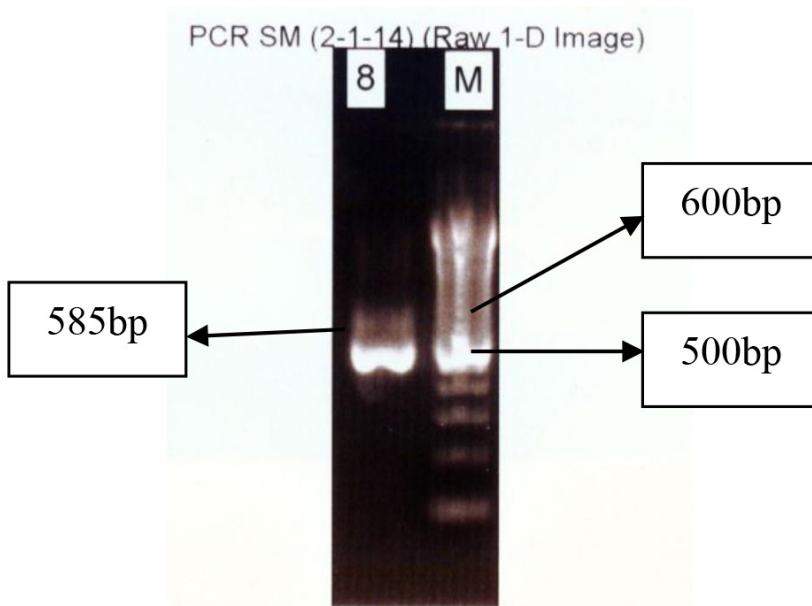
Sequencing dilakukan pada band positif dari 1 sampel, dengan tujuan untuk memastikan gen *gtf B*. Hasil 1 isolat yang sequencing, dicocokkan dengan Gen Bank dengan hasil 99,9% kecocokan gen *gtf-B Streptococcus mutans*. Kecocokan ini menandakan hasil positif gen *gtf-B Streptococcus mutans* pada sampel no 8 yang menunjukkan amplicon berukuran 585 bp.

DISKUSI

Secara klinis tiga sampel yang teridentifikasi gen *gtf B Streptococcus mutans* termasuk karies media sedangkan 16 sampel tanpa gen *gtf B* merupakan karies superficial. Karies media merupakan karies yang sudah mengenai bagian dentin, tetapi belum melebihi setengah dentin atau belum mengenai pulpa gigi. Sampel yang teridentifikasi gen *gtf B S. mutans* tidak berpengaruh pada indeks karies tetapi pengaruh pada klasifikasi karies atau kedalaman karies.

Berdasarkan gambaran penelitian ini terdapat perbedaan hasil prevalensi *Streptococcus mutans* dengan penelitian lain. Perbedaan ini dipengaruhi oleh klasifikasi karies, indeks karies yang rendah sehingga berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *streptococcus mutans*. Menurut WHO, 2003 semakin tinggi indeks karies semakin tinggi pertumbuhan koloni *Streptococcus mutans*. Terjadinya perbedaan prevalensi *Streptococcus mutans* sebagai penyebab karies gigi pada penelitian di Indonesia disebabkan adanya perbedaan demografi yang berpengaruh pada pola makan, kebiasaan, dan kebersihan rongga mulut.^{12,13}

Jenis makanan dan kebiasaan berkumur pada siswa di Sekolah Dasar Negeri 29 Daging Puri mempengaruhi proses pembentukan biofilm sehingga berpengaruh terhadap koloni bakteri *Streptococcus mutans*. Sekolah Dasar 29 Daging puri melarang siswanya untuk jajan diluar sekolah karena sekolah sudah menyiapkan 3 kantin yang minimal memenuhi standar makanan sehat, sehingga pola makan siswa menjadi lebih baik. Sekolah ini juga menyediakan *washtafel* yang dipasang masing-masing di depan kelas, untuk keperluan cuci tangan dan berkumur. Kebiasaan cuci tangan dan berkumur setelah makan disekolah



Gambar 5. Hasil PCR gen *gtf-B* pada sampel anak dengan *karies gigi* di Denpasar. Elektroforesis hasil PCR gen *gtf-B Streptococcus mutans* sampel no 8 dengan *line 1*: 600bp, *line 2*: 585 bp.

Tabel 2. Nomor sampel yang menunjukkan hasil positif PCR sesuai dengan primer gen *gtf-B Streptococcus mutans* dan primer spesifik *Streptococcus mutans*.

No	Nomor Sampel	Hasil PCR <i>Streptococcus mutans</i>	Hasil PCR <i>gtf-B Streptococcus mutans</i>
1	3	Positif	Negatif
2	6	Positif	Negatif
3	8	Positif	Positif
4	11	Positif	negatif
5	14	Positif	negatif
6	15 α	Positif	negatif
7	16	Positif	negatif
8	18	Positif	negatif
9	19	Positif	negatif
10	20	Positif	positif
11	25	Positif	negatif
12	33 β	Positif	negatif
13	33 α	Positif	negatif
14	34	Positif	negatif
15	35	Positif	negatif
16	46	Positif	negatif
17	48	Positif	negatif
18	50	Positif	negatif
19	51	Positif	positif

diperoleh dari puskesmas yang datang setahun sekali untuk melakukan penjangkaran imunisasi dan penyuluhan termasuk penyuluhan kesehatan gigi.

Peningkatan faktor virulensi pada bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan pembentukan biofilm, sehingga terjadi penurunan pH. Komponen utama biofilm yang terbentuk pada permukaan gigi meliputi: glukosa 10-20%, fruktosa 1-2%, dan protein 40%. Berbeda dengan air liur yang komposisinya terdiri dari lipid, kalsium, magnesium, fluorin, dan fosfor.¹⁰

Pembentukan dental *plak* sebagai biofilm berhubungan dengan pertumbuhan biofilm. Faktor yang berhubungan dengan pertumbuhan biofilm adalah kemampuan adesi, aliran nutrisi, dan koagregasi. Proses pembentukan oral biofilm pada jaringan keras gigi diawali oleh interaksi spesifik antara adesi pada permukaan bakteri rongga mulut dan reseptor antara host dan bakteri yang melapisi permukaan gigi.¹³

Koloni dan adesi *Streptococcus mutans* pada permukaan gigi melalui mekanisme *sucrose-independent* dan *sucrose-dependent*. Adesi *sucrose independent* terhadap komponen saliva dalam *acquired enamel pellicle* akan menyebabkan proses perlekatan awal. Akan tetapi, adesi *sucrose-dependent* bertanggung jawab pada pembentukan kolonisasi pada permukaan gigi. Kemampuan sintesis glukosa oleh *Streptococcus mutans* akan meningkat dengan adanya adesi dan perubahan proporsi *Streptococcus mutans* pada plak dental. Jadi, peran utama adesi *sucrose-dependent* adalah menciptakan ekologi plak yang dapat memicu *karies gigi*.¹¹

Adanya sukrosa, enzim glukotransferase B, C dan D menghasilkan polimer glukosa yang tidak larut air yang akan membentuk ikatan protein glukosa spesifik (glucan binding proteins/ GBPs). Hal ini berperan pada adesi dan akumulasi biofilm. Enzim glukotransferase pada *Streptococcus mutans* membuat enzim fruktosil transferase ikut berperan pada pembentukan polimer ekstraseluler. Secara umum, polimer fruktosa yang dihasilkan oleh enzim fruktosil transferase akan digunakan sebagai persediaan nutrisi dan kolonisasi *Streptococcus oral*.^{11,15} Selain itu, protein yang berhubungan dengan permukaan (*surface-associated protein P1/ SpaP*), atau disebut dengan antigen I/II or Pac, merupakan gen yang berhubungan dengan perlekatan *Streptococcus mutans* pada permukaan gigi yang dilapisi oleh saliva. SpaP merupakan adesi multi fungsional yang memfasilitasi ikatan bakteri pada komponen pelikel enamel gigi. Akan tetapi, SpaP *Streptococcus mutans* kurang menunjukkan kemampuannya dalam melekat pada hidroksiapatit yang terbungkus oleh saliva.¹⁵

Selain protein dan enzim pada adesi *sucrose-dependent*, ada beberapa protein yang terlibat pada metabolisme sukrosa, glukosa, dan karbohidrat.

Protein ini akan mempengaruhi tingkat virulensi dari *Streptococcus mutans*, yaitu *fructosyl transferase (Ftf)*, *fructanase (FruA)*, *extracellular dextranase (DexA)*, dan protein yang berperan pada akumulasi polisakarida intraseluler. Sukrosa dapat masuk pada *Streptococcus mutans* melalui 3 jalur berbeda. Sistem metabolisme gula multipel yang ditunjukkan adanya operon yang mengandung *sucrose phosphorylase (GtfA)* dan *intracellular dextranase (DexB)*. Sistem ini mempunyai kemampuan untuk mengangkut *isomaltosaccharides* yang dapat memicu aktivitas *extracellular dextranase DexA*. Dengan kata lain, *Ftf* dapat mensintesis fruktan dari *sukrosa* dan *FruA* akan membebaskan fruktosa untuk masuk kedalam sel.^{11,14}

Streptococcus mutans mengandung suatu jalur glikolitik yang kompleks dan dapat menghasilkan *laktat*, *format*, *asetat* dan *etanol* sebagai hasil fermentasi karbohidrat. Distribusi yang tepat dari hasil fermentasi tergantung pada kondisi pertumbuhan dengan laktat sebagai produk utama pada saat jumlah glukosa melimpah. Kekurangan dehidrogenase laktat strain (LDH) akan menyebabkan kemampuan kariogenik *Streptococcus mutans* berkurang. Tidak adanya LDH pada biofilm dapat mematikan *Streptococcus mutans*. Hal ini menjadi dasar pengembangan rekayasa genetika untuk mencegah adanya karies gigi.^{11,16}

SIMPULAN

Terdapat prevalensi bakteri *Streptococcus mutans* sebesar 37,25% pada 19 dari 51 sampel serta prevalensi *gen gtf-B Streptococcus mutans* 15,79% pada 3 dari 19 sampel.

DAFTAR PUSTAKA

1. Willett, N. P., White, R. R., and Rosen, W. 1991. *Essential Dental Microbiology*, International Edition, page 157, 327-328, 346-347, 355.
2. Kidd, A. M., Joyston., Bechal, S. 1992. *Dasar-Dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya*, Penerjemah : Narlan Sumawinata, EGC, Jakarta
3. Semaranayake, L.P. 2006. *Essential Microbiology for Dentistry*, 3rd Edition, Elsevier. P. 117-118.
4. Walsh, L J. 2005. Lifestyle impacts on oral health. In : Mount GJ, Hume WR (ed). *Preservation and Restoration of Tooth Structure*. Queensland : Knowledge Book and Software 2005, page 86.
5. Baker GC. 1999. Identification of Indonesian hyperthermophiles using 16 sr RNA Sequencing. Bandung: PPAU Bioteknologi ITB
6. Russel RRB, Ivic A. The use of DNA probes for the identification of oral Streptococci Caries. 1989; 23:110-2.
7. Departemen Kesehatan RI. 2005. *Survei Kesehatan Nasional. Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 2004*. Vol. 3. Jakarta : Badan Litbangkes.
8. Departemen Kesehatan. 2000. *Pedoman Upaya Pelayanan Kesehatan Gigi di Puskesmas*. Jakarta.
9. Carranza FA, Newman MG, Takei HH. *Clinical Periodontology 9th ed*. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2002, p.98-101.
10. Barrientos Silvia, Rodrigues, Adriana. 2011. Production of Glucosyltransferase B and Glucans by *Streptococcus mutans* strains isolated from carries-free individuals, *Colombia*. Vol.24, num 3.2011.p.258-264.
11. Bowen WH, Koo H. 2011. Biology of *Streptococcus mutans* -derived glucosyl transferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21346355> [Accessed on 2013, 15 April]
12. Kiswaluyo & Dwiatmoko. 'Keadaan gizi dan karies gigi pada anak usis 2-5 tahun di kecamatan Sumpasari Kabupaten Jember tahun 1997/1998', *Jurnal Endo Restorasi*, 1997; 3 (2).
13. Prasada, I Dewa Gede Bracika Damma. Gambaran Perilaku Menggosok Gigi pada Siswa SD Kelas Satu dengan Karies Gigi di Wilayah Kerja Puskesmas Rendang Karangasem Bali Oktober 2014. *Intisari Sains Medis*. 2016; 6 (1): 23-33
14. Gurenlian JoAnn R., R.D.H, PhD. The Role of Dental Plaque Biofilm in Oral Health. *Journal of Dental Hygiene*, 2007; 4-12.
15. Mahon connie R., Lehman Donald C., Manuselis. G, *Text Book of Diagnostic Microbiology 4th ed* Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2011, p330-339.
16. Bratthall, D. Dental caries. Faculty of Odontology Malmö University, Sweden, *Int Dent J* 2005; 50:378-384.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution