

Identifikasi gen kariogenik glukosiltransferase *Streptococcus mutans* pada pasien karies gigi

Rita Endriani^{1*}, Fajri Marindra Siregar², Elita Rafni³, Rahmat Azhari Kemal⁴, Jefrizal⁴

¹Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Indonesia

²Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Indonesia

³Poliklinik Spesialis Gigi dan Mulut Rumah Sakit Umum Daerah Arifin Achmad Riau, Indonesia

⁴Departemen Biologi, Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Indonesia

*Korespondensi: rita_endriani_fkunri@yahoo.com

Submisi: 4 November 2020; Penerimaan: 27 April 2021; Publikasi online: 30 April 2021

DOI: [10.24198/jkg.v33i1.30397](https://doi.org/10.24198/jkg.v33i1.30397)

ABSTRAK

Pendahuluan: *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) merupakan bakteri yang mempunyai glukosiltransferase surface (GTFs) yang berperan pada proses perlekatan dan virulensi bakteri pada permukaan gigi. Enzim GTFs terdiri atas tiga jenis enzim GTFs yaitu GTFB, GTFC dan GTFD dan masing-masing enzim ini dikode oleh gen *gtfB*, *gtfC* dan *gtfD* yang juga berperan sebagai prekursor dalam adhesi seluler plak gigi yang dapat menyebabkan karies gigi. Tujuan penelitian adalah mengidentifikasi gen *gtfC* dan *gtfD* *S. mutans* pada pasien karies gigi. **Metode:** Penelitian dilakukan dengan consecutive sampling. Sampel penelitian diambil dari kerokan jaringan karies gigi, diisolasi, dikultur, dan diidentifikasi di laboratorium Mikrobiologi dan Sentral FK UNRI. Identifikasi *S. mutans* dan gen kariogenik *gtfC* dan *gtfD* menggunakan metode Polymerase Chain Reaction (PCR). Data ditampilkan dalam bentuk tabel distribusi frekuensi dan dinyatakan dalam persentase **Hasil:** Dari 60 kerokan jaringan karies didapatkan *S. mutans* sebanyak 10 isolat, sedangkan gen *gtfC* dan gen *gtfD* didapatkan masing-masing 4 (40%) isolat. **Simpulan:** Gen kariogenik teridentifikasi gen *gtfC* dan *gtfD* pada isolat *S. mutans* dari pasien karies gigi sebanyak 40%.

Kata kunci: *gtfC*, *gtfD*, kariogenik glukosiltransferase *Streptococcus mutans*.

Identification of *Streptococcus mutans* cariogenic gene glucosyltransferase (*gtf*) in dental caries patients

ABSTRACT

Introduction: *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) is a bacterium with a glucosyltransferase (Gtfs) surface, which plays a role in the attachment process and bacteria virulence on the tooth surface. The Gtfs enzyme consists of three types of Gtfs enzymes, namely GtfB, GtfC, and GtfD. These enzymes are encoded by the GtfB, GtfC, and GtfD genes, which also act as precursors in the cellular adhesion of dental plaque that can cause dental caries. This study was aimed to identify the GtfC and GtfD of *S. mutans* in dental caries patients. **Methods:** This study was conducted with consecutive sampling. Research samples were taken from dental caries tissue scrapings, isolated, cultured, and identified in the Microbiology and Central Laboratory of the Faculty of Medicine University of Riau. Identification of *S. mutans* and GtfC and GtfD cariogenic genes using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The data was displayed in the form of a frequency distribution table and expressed as a percentage. **Results:** From 60 caries tissue scrapings, ten isolates were obtained, while the GtfC gene and GtfD gene were obtained 4 (40%) isolates each. **Conclusion:** Forty percents of *S. mutans* isolates from dental caries patients were identified as the GtfC and GtfD cariogenic genes.

Keywords: GtfC, GtfD, cariogenic, *Streptococcus mutans* glucosyltransferase.

PENDAHULUAN

Infeksi pada gigi disebut dengan karies gigi (*dental caries*). Karies gigi termasuk penyakit yang sering ditemukan di masyarakat, disebabkan oleh interaksi bakteri mulut, makanan, dan lingkungan serta faktor genetik.¹ Akumulasi bakteri, makanan dan produknya di mulut akan membentuk plak gigi yang menyebabkan terbentuknya karies gigi.² Berbagai bakteri dapat berintegrasi menyebabkan karies gigi tetapi yang paling dominan adalah *Streptococcus mutans*.^{1,2,3,4}

Streptococcus mutans merupakan bakteri bersifat non motil, anaerob fakultatif, coccus Gram positif tersusun seperti rantai dan memiliki berbagai protein dan enzim. Protein dan enzim ini berperan pada proses perlekatan dan virulensi bakteri pada permukaan gigi. Salah satu enzim yang dihasilkan adalah *glukosiltransferase surface* (GTFs).^{1,5,6,7,8}

Enzim *glukosiltransferase surface* pada *Streptococcus mutans* merupakan enzim yang berperan sebagai prekursor dalam perkembangan plak gigi namun tidak semua plak gigi dapat menyebabkan karies gigi. *Streptococcus mutans* memiliki tiga jenis enzim GTFs yaitu GTFB, GTFC dan GTFD dan masing-masing enzim ini dikode oleh gen *gtfB*, *gtfC* dan *gtfD* yang berperan penting dalam adhesi seluler plak gigi. Enzim GTFB dapat mengubah sukrosa menjadi glucan yang tidak larut dalam air. Enzim GTFC dapat mengekresikan glucan yang larut dan tidak larut. GTFD mengekresikan glucan yang larut dalam air. Pengikatan GTF dibantu oleh GTF *glucan binding protein* (GBPs). Enzim GTFB dan GTFC yang terdapat pada *Streptococcus mutans* mampu mengekresikan glucan yang tidak larut sehingga mampu menyebabkan terjadinya karies gigi.^{7,8,9,10}

Penelitian tentang gen pengkode *glukosiltransferase* ini masih sedikit. Nonong YH⁶ melaporkan dari 18 sampel karies yang diperiksa dapat diidentifikasi 3 sampel (16,67%) *S. mutans* dan dari 3 sampel tersebut hanya 1 (satu) sampel yang teridentifikasi adanya gen *gtf B/C*. Saleh RO *et al.*⁹ dapat mengisolasi *gtf D* dari *S. mutans*. Endriani dkk.¹¹ berhasil mengidentifikasi gen *gtfB* sebanyak 2 sampel (22,22%) dari 9 sampel *S. mutans*. Tujuan penelitian ini mengidentifikasi gen *gtfC* dan *gtfD* *S. mutans* pada pasien karies gigi.

METODE

Jenis penelitian deskriptif laboratorik. Data penelitian berasal dari data primer hasil identifikasi bakteri, identifikasi gen *gtf S. mutans* dan data sekunder dari rekam medik pasien karies gigi. Penelitian ini telah melalui prosedur kaji etik dan telah mendapat pernyataan lulus dari Unit Etik Penelitian dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Riau dengan Surat Keterangan Lulus Kaji Etik Nomor: 140/UN.19.5.1.1.8/UEPKK/2019

Populasi penelitian adalah pasien di poli gigi RSUD Arifin Achmad Provinsi Riau. Sampel penelitian adalah pasien yang didiagnosis karies gigi oleh dokter gigi di poli gigi RSUD Arifin Achmad Provinsi Riau yang memenuhi kriteria inklusi yaitu pasien yang datang untuk pertama kali, belum mendapat perawatan dan bersedia mengikuti penelitian ini selama periode penelitian dengan menandatangani *inform consent*. Pengambilan sampel dilakukan secara *Consecutive Sampling* selama periode penelitian (Mei-November 2019).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat untuk kultur dan identifikasi bakteri rutin di laboratorium Mikrobiologi serta alat-alat yang digunakan untuk identifikasi secara molekuler di laboratorium Sentral Fakultas Kedokteran Universitas Riau (FK UNRI) yaitu *centrifuge*, *waterbath*, PCR dan alat lainnya. Bahan yang digunakan adalah kerokan jaringan karies, *Tryptone Soya Broth* (OXOid, CM0129B) dan bahan-bahan lain yang digunakan untuk identifikasi bakteri rutin di laboratorium Mikrobiologi serta bahan-bahan untuk identifikasi bakteri *S. mutans* dan gen *glukosiltransferase* secara molekuler. Identifikasi *S. mutans* dengan primer *S. mutans*: (*forward*: 5' GGT CAG GAA AGT CTG GAG TAA AAG GCT 3', dan *reverse*: 5' GGT TTA TTA CCG GCA GTC TCG). Identifikasi gen *glukosiltransferase* dengan primer C236f (59-CTCAACCAACGCCACTGTT-39) dan C326r 59-GGTTAACGTAAAATTAGCTGTATTAGC-39 untuk *gtfC* dan D434f (59-CACAGGCAAAAGCTG AATTAACA-39) dan D514r (59-GAATGGCCGCTA AGTCAACAG-39) untuk *gtfD*. Elektroforesis dengan agarosa 1,5%, *ethidium bromide* dan Gel Doc XR.

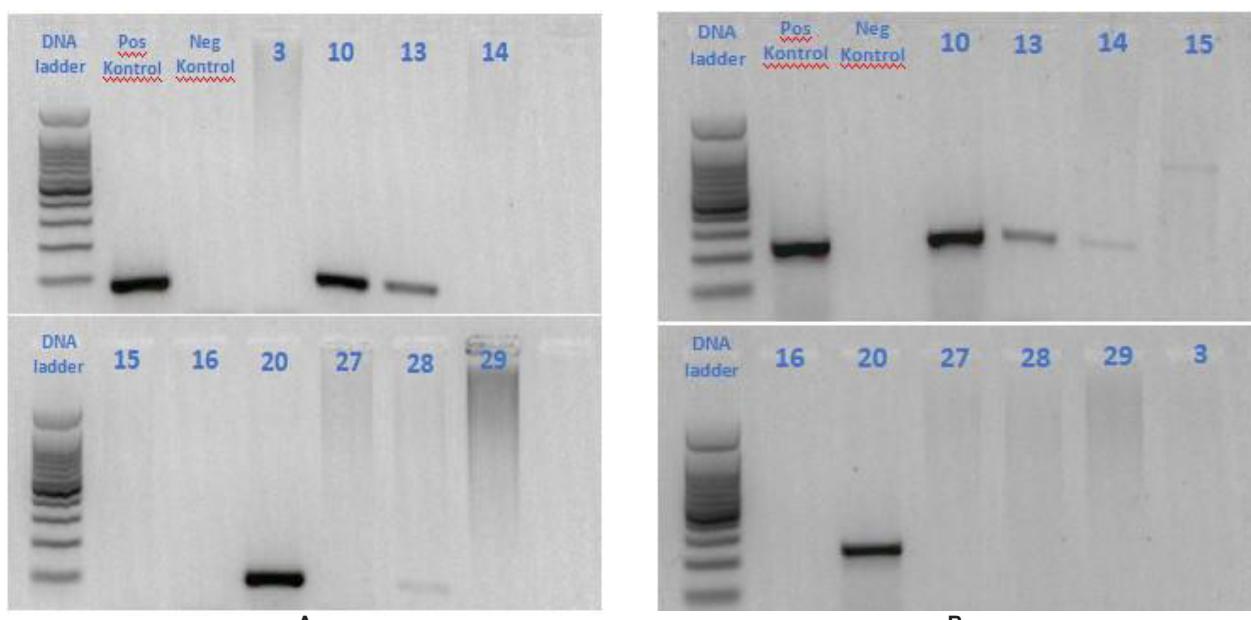
Jaringan karies diambil, dikultur pada media *Trypticase Soya Broth* (TSB), diidentifikasi koloni

secara makroskopis, mikroskopis dan katalase. Koloni *Streptococcus sp.* yang tumbuh dilakukan identifikasi gen 16S RNA *S. mutans* menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Bakteri *S. mutan* yang didapatkan dilakukan PCR untuk identifikasi gen *glukosiltransferase*. Kondisi PCR yang optimum adalah denaturasi awal suhu 95°C selama 5 menit, amplifikasi 35 siklus suhu 95°C selama 30 detik, *annealing* 55°C selama 30 detik, elongasi 72°C selama 30 detik, dan diakhiri dengan elongasi akhir 72°C selama 5 menit. Hasil PCR kemudian divisualisasi dengan elektroforesis. Elektroforesis menggunakan agarosa 2% ,tegangan diatur 60 volt, dilakukan selama 35 menit. Hasil pengamatan difoto dengan kamera digital yang dihubungkan dengan komputer, visualisasi dengan *ethidium bromide*. Identifikasi gen *glukosiltransferase* didapatkan

pita DNA tunggal untuk *gtfC* dengan ukuran 93 Kbp dan *gtfD* dengan ukuran 83 Kbp. Semua data penelitian yang diperoleh dilakukan pencatatan kemudian dilakukan pengolahan data dengan cara komputerisasi. Hasil penelitian ditampilkan dalam bentuk tabel distribusi frekuensi dan dinyatakan dalam persentase.

HASIL

Penelitian yang dilakukan terhadap 60 kerokan jaringan karies, didapatkan *Streptococcus sp* sebanyak 17 (28,33%) isolat dan berdasarkan hasil PCR didapatkan *Streptococcus mutans* sebanyak 10 (16,67%) isolat. Sepuluh isolat *S. mutans* tersebut selanjutnya dilakukan identifikasi gen *gtfC* dan *gtfD*. Hasil PCR dan elektroforesis untuk gen *gtfC* dan *gtfD* dapat dilihat di bawah ini.



Keterangan: Gambar (A)Atas (100 bp DNA ladder; Kontrol Positif; Kontrol Negatif; Sampel 3; Sampel 10; Sampel 13; Sampel 14); Bawah (100 bp DNA ladder; Sampel 15; Sampel 16; Sampel 20; Sampel 27; Sampel 28; Sampel 29) Gambar (B) Atas (100 bp DNA ladder; Kontrol Positif; Kontrol Negatif; Sampel 10; Sampel 13; Sampel 14; Sampel 15); Bawah (100 bp DNA ladder; Sampel 16; Sampel 20; Sampel 27; Sampel 28; Sampel 29; Sampel 3).

Gambar 1. Electropherogram gen pengkode GtfC dan GtfD isolat karies gigi

Tabel 1. Distribusi frekuensi gen *gtfC* dan *gtfD*

No	Jenis gen	N	%
1	<i>gtfC</i> (+)	4	40
2	<i>gtfC</i> (-)	6	60
	Total	10	100
1	<i>gtfD</i> (+)	4	40
2	<i>gtfD</i> (-)	6	60
	Total	10	100

Berdasarkan Tabel 1 di atas dapat dilihat bahwa gen *gtfC* yang positif sebanyak 40% dan gen *gtfD* yang positif juga sebanyak 40%.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan adanya bakteri *S. mutan* yang diisolasi dari karies gigi sebanyak 10

(16,67%) sampel. Hasil ini sama dengan Nonong YH⁶ melaporkan *S. mutans* bisa diidentifikasi sebanyak 3 dari 18 sampel (16,67%). Endriani R, dkk¹² dapat mengidentifikasi *Streptococcus mutans* pada karies gigi penderita diabetes melitus sebanyak 40%. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang menempel pada permukaan gigi yang merupakan patogen utama dalam pembentukan karies gigi.^{1,2,3,4,12,13,14,15} Selain itu *S. mutans* juga menghasilkan asam, menghasilkan bakteriosin, memiliki sistem asimilasi sumber karbon seperti *glucan* dan *fructan* dan dapat membentuk plak gigi yang sangat lengket.^{1,14}

Streptococcus mutans memiliki enzim *glukosiltransferase surface* (GTFs) yang dikode oleh gen *gtf*. Gen *gtf* terdiri dari gen *gtfB*, *gtfC* dan *gtfD* yang mengkode enzim yang merubah sukrosa menjadi *glucan*. *Glucan* yang terbentuk dapat dibagi dalam 2 jenis yaitu *glucan* yang tidak larut dalam air dan *glucan* yang larut dalam air.^{3,8,13,14,15}

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya gen *gtfC* yang positif sebanyak 40%. Gen *gtfC* merupakan gen yang mengkode enzim yang bertanggung jawab dalam mensintesis *glucan* yang tidak larut dalam air yang dikenal dengan *insoluble glucan* (IG). *Insoluble glucan* ini merupakan salah satu faktor virulensi *Streptococcus mutans* dalam menyebabkan karies gigi.⁹ Menurut kepustakaan sintesis *glucan* oleh *gtfC* sangat penting untuk pembentukan matriks yang dapat meningkatkan koherensi sel bakteri pada permukaan gigi sehingga menyebabkan pembentukan plak gigi.^{8,13}

Hasil identifikasi gen *gtfD* dengan PCR pada penelitian ini didapatkan gen *gtfD* yang positif juga sebanyak 40%. Hal ini berarti pada penelitian ini dari 10 pasien karies terdapat 4 pasien karies yang pembentukan kariesnya dipengaruhi oleh gen *gtfC* dan *gtfD* *S. mutan*. Flayyih et al.¹⁶ melaporkan dapat mengidentifikasi gen *gtfC* dan *gtfD* pada saliva dan dental plak pasien dengan karies aktif masing-masing sebanyak 100%. Hasil ini juga sama dengan hasil penelitian Saleh et al.⁹ yang dapat mengidentifikasi gen *gtfD* dari *swab* bukal gigi karies. Gen *gtfD* mengekresikan *glucan* yang larut dalam air, sehingga mempunyai afinitas yang rendah terhadap saliva tetapi dapat meningkatkan aktivitas bakteri dalam pembentukan plak gigi dan menyebabkan hidroksiapatit yang dapat menyebabkan terjadinya karies gigi.¹³

Hasil pada penelitian ini juga didapatkan gen *gtfC* dan *gtfD* yang negatif masing-masing sebanyak 60%. Hasil ini menunjukkan bahwa kemungkinan terdapatnya gen lain selain *gtfC* dan *gtfD* yang mengkode enzim GTFs pada *S. mutan*. Menurut kepustakaan gen *gtf* yang terdapat pada *S. mutan* ada 3 yaitu *gtfB*, *gtfC* dan *gtfD*.^{3,8,13,14,15} Gen *gtfB* berperan sebagai salah satu faktor virulensi yang dapat mensintesis *glucan* yang bersifat tidak larut dalam air dan sifat kariogenik menyebabkan terjadinya karies gigi.^{8,13} Peneliti lain melaporkan adanya gen *gtfB* dan *gtfC* hasil isolat *S. mutans* dari plak gigi anak.⁶ Endriani dkk.¹¹ berhasil mengidentifikasi gen *gtfB* sebanyak 2 sampel (22,22%) dari 9 sampel *S. mutans*.

Komposisi plak gigi terdiri dari *glucan* (10–20% berat kering plak gigi) dan fruktan (1–2%). Hal ini bervariasi tergantung pada durasi sejak asupan makanan terakhir. Selain itu plak gigi ini juga mengandung sekitar 40% protein berat kering (kebanyakan berasal dari bakteri dan saliva), jumlah variabel lipid, Ca, P, Mg dan F dibandingkan dengan saliva di sekitarnya.^{14,15} Protein pengikat *glucan* terkait permukaan (Gbps) terdiri dari GbpA, GbpB, GbpC, dan GbpD pada *S. mutans* juga membantu pembentukan plak gigi dan dapat meningkatkan daya rekatnya ke permukaan gigi sehingga memudahkan terjadinya karies gigi.^{8,15,17} Oleh karena itu diperlukan penghambatan aktivitas *gtf* (*gtf inhibitor*) dan sintesis polisakarida konsekuensial yang dapat mengganggu virulensi kariogenik sebagai strategi alternatif untuk mencegah terbentuknya plak gigi yang memudahkan terjadinya karies gigi.¹⁷

SIMPULAN

Gen kariogenik teridentifikasi gen *gtfC* dan *gtfD* pada isolat *S. mutans* dari pasien karies gigi sebanyak 40%.

DAFTAR PUSTAKA

- Yadav K, Prakash S. Dental caries: A Microbiological Approach. J Clin Infectious Diseases & Practice. 2017;2(1):1-15. DOI: [10.4172/2476-213X.1000118](https://doi.org/10.4172/2476-213X.1000118).
- Totora GJ, Funke BR, Case CL. Microbiology

- an Introduction 11th ed. Pearson Education; 2013. p. 705-8.
3. Inagaki S, Fujita K, Takashima Y, Nagayama K, Ardin AC, Matsumu Y, Nakano MM. Regulation of Recombination between *gtfB/gtfC* Genes in *Streptococcus mutans* by Recombinase A. *The Scien World J* 2013;405075:1-7. DOI: [10.1155/2013/405075](https://doi.org/10.1155/2013/405075)
 4. Caviglia I, Techera A, Gracia G. Antimicrobial therapies for odontogenic infections in children and adolescent. *J Oral Res.* 2014;4(1):50-6. DOI: [10.17126/joralres.2014.013](https://doi.org/10.17126/joralres.2014.013)
 5. Nonong YH, Pertiwi AZP. Inaktivasi glukosiltranferase sebagai pencegahan karies pada anak. prosiding: Pertemuan Ilmiah Nasional Ilmu Kedokteran Gigi Anak di Makassar. 2011. h. 7.
 6. Nonong YH, Satari MH, Sasmita IS. Role of *Streptococcus Anginosus* on the formation of dental caries. *Padjadjaran J Dent* 2011;23(3); 155-160. DOI: [10.24198/pjd.vol23no3.14031](https://doi.org/10.24198/pjd.vol23no3.14031)
 7. Xiao J, Koo H. Structural organization and dynamics of exopolysaccharide matrix and microcolonies formation by *Streptococcus mutans* in biofilms. *J Applied Microbiol* 2010;108(6):2103-13.
 8. Nakano MM. Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. *Japanese Dent Scie Rev* 2018;54:22-9. DOI: [10.1016/j.jdsr.2017.08.002](https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2017.08.002)
 9. Saleh RO, Mohammed TK, Abdulmuhsen AM, Jwad MA; Variation of *GTFD* Gene from *Streptococcus Mutans* Local Isolate from Iraqi Patients; *Indian J Pub Health Res Develop* 2019;10(8);188-93. DOI: [10.37506/ijphrd.v10i8.9593](https://doi.org/10.37506/ijphrd.v10i8.9593).
 10. Fauziah E, Sutadi H, Winiati E. Prediction of baby bottle tooth decay syndrome using the salivary mucin MG2. *Int J Clin Prevent Dent* 2013;9(4):211-4.
 11. Rita E, Marindra F, Rafni E, Sundari, Rosyidi I, Hikmawan R. Deteksi gen GTF B *Streptococcus mutans* pada pasien karies gigi di RSUD Arifin Achmad Provinsi Riau. Sysposium Book. 1st RIME:Riau Medical Scientific Expo. Pekanbaru: 2019.
 12. Endriani R, Rafni E, Siregar FM, Setiawan SA, Rasyid F. Pola bakteri pada karies gigi pasien diabetes mellitus. *J Ked Gi Unpad.* April 2020;32(1):34-40. DOI: [10.24198/jkg.v32i1.24692](https://doi.org/10.24198/jkg.v32i1.24692)
 13. Ren Z, Cui T, Zeng J, Chen L, Zhang W, Xu Xin, et al. Molecule Targeting Glucosyltransferase Inhibits *Streptococcus mutans* Biofilm Formation and Virulence. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60(1):126-35. DOI: [10.1128/AAC.00919-15](https://doi.org/10.1128/AAC.00919-15).
 14. Bowen WH, Koo H. Biology of *Streptococcus mutans*-Derived Glucosyltransferases: Role in Extracellular Matrix Formation of Cariogenic Biofilms. *Caries Res.* 2011;45(1):69-86. DOI: [10.1159/000324598](https://doi.org/10.1159/000324598).
 15. Senpuku H, Nakamura T, Iwabuchi Y, Hirayama S, Nakao R, Ohnishi M. Effects of Complex DNA and MVs with GTF Extracted from *Streptococcus mutans* on the Oral Biofilm. *Molecules* 2019;24(3131):1-16. DOI: [10.3390/molecules24173131](https://doi.org/10.3390/molecules24173131)
 16. Flayyih AS, Hassani H, Wali MH. Detection of Biofilm Genes (gtf) in *Streptococcus mutans* Isolated from Human Dental Caries. *Iraqi J Sci* 2016;57(1C);552-7.
 17. Ren Z, Chen L, Li Y. Inhibition of *Streptococcus mutans* polysaccharide synthesis by molecules targeting glycosyltransferase activity. *J Oral Microbiol* 2016;8:31095:1-9. DOI: doi: [10.3402/jom.v8.31095](https://doi.org/10.3402/jom.v8.31095)