

**KEBERADAAN BAKTERI – BAKTERI PEMBAWA GEN *gtf* B/C YANG  
MENGEKSPRESIKAN ENZIM GLUKOSILTRANSFERASE PADA ANAK  
RAMPAN KARIES**

**THE EXISTENCE OF CARRIED OUT-BACTERIA *gtf* B/C GENE THAT AS  
THE EXPRESION OF GLUCOSYLTRANSFERASE ENZIME IN BOTH  
CHILDREN WITH RAMPANT CARIES**

Oleh  
Yetty Herdiyati



**Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Padjadjaran  
Bandung  
2007**

**KEBERADAAN BAKTERI PEMBAWA GEN *gtf* B/C YANG  
MENGEKSPRESIKAN GLUKOSILTRANSFERASE  
PADA ANAK RAMPAN KARIES**

**ABSTRAK**

*Streptococcus mutans* (*S. mutans*) pada umumnya selalu disebut bakteri spesifik yang dominan penyebab terjadinya karies gigi. Sifat kariogenik *S. mutans* selalu dikaitkan dengan keberadaan enzim GTF B/C yang dapat mengubah sukrosa menjadi glukosa tidak larut. Glukosa jenis ini berfungsi sebagai media perlekatan dan kolonisasi bakteri, serta menjadi sumber cadangan polisakarida ekstraseluler yang dibutuhkan bakteri, sehingga pada tahap selanjutnya dapat memfasilitasi terbentuknya karies. Penelitian dilakukan untuk menemukan enzim GTF B/C yang diekspresikan oleh adanya gen *gtf* B/C pada bakteri yang diisolasi dari plak gigi anak rampant karies, sehingga keberadaannya dapat dikaitkan dengan proses terjadinya karies. Penelitian secara observasi dilakukan terhadap 96 isolat bakteri yang tumbuh pada media yang mengandung sukrosa dan basitrasin, isolat *S. mutans* INA 99, *S. mutans* EU3, *S. mutans* EU7, *S. mutans* EU10a dan *S. mutans* 10b. Teknik amplifikasi untuk gen *gtf* B/C menggunakan teknik PCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gen *gtf* B/C ditemukan pada *S. mutans*, *S. constellatus*, *S. bovis*, *S. anginosus*, *L. fermentum*, *L. salivarius*, dan *Klebsiella oxytoca*. Maka disimpulkan bahwa enzim *gtf* B/C tidak hanya terdapat pada *S. mutans*, tetapi juga pada bakteri lain, yang berarti bakteri-bakteri tersebut juga memiliki salahsatu sifat kariogenik dan berpotensi menyebabkan karies.

**Kata Kunci:** Bakteri Kariogenik, *S. mutans*, Glukosiltransferase

**ABSTRACT**

*Streptococcus mutans* (*S. mutans*) is generally known as specific bacteria which dominantly cause the dental caries. Cariogenic characteristic of *S. Mutans* always related to the GTF B/C that can change sucrose into insoluble glucan. This type of glucan is function as an attachment media and bacteria colonization, and also as a source of extracellulair polysacharide which is needed for the bacteria, which may facilitate to the caries formation. Studies have been done to find out the GTF B/C that is expressed due to the exceeded *gtf* B/C gene in a bacteria that isolated from dental plaque of rampant caries. This is an observational study to 96 bacteria isolate which grows in a media containin sucrose and bacitracin, isolate *S mutans* INA 99, *S. Mutans* EU3, *S.mutans* EU7, *S.EU10a*, and *S.mutans* 10b. Amplification technique for *gtf* B/C using PCR technique. The result showed that *gtf* B/C gene is found in *S. mutans*, *S. constellatus*, *S. bovis*, *S. anginosus*, *L. fermentum*, *L. salivarius*, and *Klebsiella oxytoca*. It is concluded that the *gtf* B/C enzyme is not only found in *S. Mutans*, but also in other bacteria.

**Keywords:** cariogenic bacteria, *S.mutans*, glucocyltransferasi

## PENDAHULUAN

Penyakit karies bukan penyakit baru yang hingga saat ini masih diidentifikasi sebagai masalah yang cukup penting di berbagai belahan dunia, terutama di negara berkembang. Penyakit ini telah menjadi fokus penelitian para ahli sejak lama dan jauh sebelum akhir abad ke-19 para peneliti telah mencoba untuk mengidentifikasi bakteri yang bertanggung jawab atas terbentuknya penyakit tersebut.

Peneliti terdahulu mengidentifikasi bahwa *L. achidophilus* dan *S. mutans* adalah kariogen spesifik penyebab karies gigi. Kedua jenis bakteri ini merupakan genera utama, dalam kategori bakteri, yang dinamakan sebagai bakteri asam laktat<sup>1</sup>. Spesies mikroba dari dua genera tersebut dianggap sebagai agen spesifik penghasil asam yang bersifat primer untuk karies gigi<sup>2,3</sup>.

Untuk memastikan keterlibatan *Lactobacillus* terhadap terjadinya karies, hasil penelitian Byun R dkk<sup>4</sup> menunjukkan bahwa peningkatan jumlah *Lactobacillus* korelatif dengan peningkatan karbohidrat yang tertahan pada gigi dan spesies *L. gasei* dan *L. ultunensis* mempunyai jumlah rata-rata lebih tinggi dibandingkan dengan spesies *lactobacillus* lainnya.

Pengamatan lain menunjukkan bahwa *S. mutans* diidentifikasi sebagai faktor utama penyebab karies, karena beberapa sifatnya yang dapat dikaitkan dengan proses awal karies gigi yaitu selain dapat mengubah sukrosa menjadi glukukan ikatan  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 3) yang tidak larut di dalam air dan mampu memproduksi asam laktat dengan homofermentasi, *S. mutans* juga dapat membentuk koloni pada permukaan gigi dan lebih asidurik dari pada Streptokokus lain. Sehingga *S. mutans* dianggap sebagai organisme etiologi utama karena bersifat virulen dalam hal potensinya yang dapat mengakibatkan karies<sup>5</sup>.

Munson dkk<sup>6</sup> secara akomodatif membagi peran *S. mutans* dan *lactobacillus* dalam proses karies, akan tetapi beliau tetap menekankan bahwa *S. mutans* bertanggung jawab pada inisiasi lesi karies dengan cara perlekatan pada permukaan gigi dengan bantuan produksi glukukan atau dengan retensi mekanis pada pit dan fisur.

Secara medis, pandangan mengenai kariogen spesifik penyebab karies yang kurang tepat dapat menimbulkan dampak pada penanganan penyakit yang kurang tepat pula. Maka untuk menghindari hal tersebut, penelitian dan peninjauan ulang, secara terus menerus mengenai hal ini perlu dilakukan.

Berdasarkan alasan tersebut, harus dikatakan bahwa seluruh bakteri mulut berpotensi menyebabkan karies, hanya saja kadar potensinya tersebut masih perlu diteliti lebih lanjut. Jika peneliti terdahulu telah mengidentifikasi bahwa *S. mutans* bersifat kariogenik, maka keberadaan sifat-sifat tersebut harus ditinjau pula pada bakteri lain sehingga benar-benar terbukti bahwa bakteri yang paling kariogenik adalah bakteri yang mempunyai kelebihan tertentu dalam hal potensi kariogeniknya dibandingkan dengan bakteri lainnya.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Organisme**

Sampel plak diperoleh dari Klinik Mahasiswa Bagian Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran Bandung, TK dan SD Bale Endah Kabupaten Bandung, SD Sukasari I dan SD Sukasari II Kabupaten Bandung. Sampel isolat *S. mutans* diperoleh dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti Jakarta dan Laboratorium Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya.

Penulis telah meneliti 96 strain bakteri yang dipisahkan dari bahan berupa plak dan 5 strain bakteri yang sudah diidentifikasi sebagai *S. mutans* yaitu *S. mutans* INA 99, *S. mutans* UE3, *S. mutans* EU7, *S. mutans* EU10a, dan *S. mutans* EU10b. Pemisahan diidentifikasi dengan menggunakan uji pada media MSA, TYCSB, pewarnaan Gram, dan Biokimia. Karakteristik diambil berdasarkan morfologi *Streptococcus*, Gram positif, manitol positif, sorbitol positif, eskulin positif, erginin negatif, melibiose positif, dan rafinose positif.

### **Biokimia dan karakteristik fenotip**

Penulis menggunakan lempeng MSA (*Mitis Salivarius Agar*) yang diinkubasi secara anaerob selama 2 x 24 jam. Strain bakteri yang tumbuh umumnya terlihat membentuk koloni berwarna biru dan diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, kemudian dilihat morfologinya di bawah mikroskop. Dengan pewarnaan Gram, *Streptococcus* akan terlihat berwarna ungu pada pemeriksaan mikroskopik. Jika pada pewarnaan Gram dan identifikasi morfologi sesuai dengan sifat *Streptococcus*, yaitu Gram positif berbentuk kokus berpasangan atau berantai.

Setelah dilakukan inkubasi selanjutnya pada media TYCSB dengan menggunakan 15 g/l Bacto-Casitone (Difco), 5 g/l Yeast extract (Difco), 0,2 g/l L-cystine, 0,1 g/l Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, 1 g/l NaCl, 2 g/l Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12 Aq, 2 g/l NaHCO<sub>3</sub>, 20 g/l Na-acetaat, 15 g/l Bacto agar, koloni akan tampak berwarna putih dengan ukuran sekitar 0,5 mm-1,0 mm.

Identifikasi dilanjutkan dengan melihat sifat biokimianya dengan cara memasukkan sedikit biakan bakteri menggunakan ose yang sudah dipanaskan di atas nyala api, ke dalam tabung reaksi yang masing-masing berisi larutan arginin, eskulin, sukrosa, laktosa, manitol, sorbitol, inulin, rafinosa dan melibiosa dengan kadar 1%. Karakteristik *S. mutans* diketahui memfermentasi manitol, sorbitol, eskulin, melibiose, dan rafinose, serta tidak memfermentasi aginin.

### **Teknik Pengambilan DNA Bakteri**

Isolasi DNA bakteri anerob dilakukan menggunakan *Wizard DNA Isolation Purification Kit*, dengan komposisi setengah reaksi. Sel terlebih dahulu disentrifugasi dari kultur 10 ml, kemudian dilarutkan dengan 240 ml, 50 mM EDTA, dan 60 ml lysozim 10 µg/ ml, lalu diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 30 – 60 menit dan disentrifugasi 13.000 rpm. selama 2 menit.

Setelah itu ditambahkan 300 ml Nuklei Lysis Solusin, buang supernatan dan diinkubasi pada suhu 80<sup>0</sup> C selama 5 menit, kemudian didiamkan pada temperatur kamar, ditambahkan 1,5 ml RNase, dan diinkubasi kembali pada 37<sup>0</sup> C selama 30 – 60 menit.

Tambahkan 100 ml protein presifitasi vaskor selama 20 menit, diamkan 5 menit, dan disentrifugasi 13.000 rpm selama 5 menit. Kemudian diambil supernatan di masukkan ke dalam tabung eppendorf yang telah mengandung isopropanol 300 ml secara bolak-balik, lalu disentrifugasi 13.000 rpm selama 2 menit. Setelah itu supernatan dibuang dan pellet dicuci dengan menggunakan etanol 70%. Selanjutnya, dilakukan kembali proses sentrifugasi, lalu supernatan dibuang sedangkan DNA dikeringkan dengan konsentrator. Setelah DNA benar-benar kering, pada tahap terakhir DNA dilarutkan dengan 50 ml DNA rehydration.

### **Amplifikasi Gen 16s rDNA**

Amplifikasi menggunakan Primer universal gen *16s rDNA* dilakukan pada kondisi: denaturasi awal 94°C selama 2 menit, denaturasi 94°C selama 1 menit, annealing 48°C selama 1 menit, elongation 72°C selama 1 menit, dan pasca elongation 72°C selama 10 menit, serta siklus amplifikasi sebanyak 30 siklus.

Primer yang digunakan adalah:

*Forward* : 5' AGAGTTTGATC(A/C)TGGCTAC3' (19 pasang basa)

*Reverse* : 5' GGTTC(G/C)TTGTTACGACTT3' (18 pasang basa)

### **Amplifikasi Fragmen Gen Pengkode Glukosiltransferase (gtf)**

Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan primer gen gtf B/C:

*Forward* : 5' AGATTT CCGT CCCTT ACTG 3'

*Reverse* : 5' ATCA TATTTGT CGCCAT CATA 3'

dan *Tegenerated Primer*<sup>6</sup>. Kedua primer ini digunakan pada kondisi denaturasi awal 94°C selama 2 menit, siklus reaksinya terdiri dari denaturasi pada 94°C selama 1 menit penempelan primer pada 50°C selama 1 menit dan pemanjangan pada 72°C selama 1 menit sebanyak 35 kali siklus. Pada siklus terakhir pemanjangan dilakukan pada 72°C selama 10 menit. Optimasi PCR dilakukan dengan mengatur konsentrasi templat PCR, konsentrasi magnesium klorida, konsentrasi primer, suhu penempelan primer, dan konsentrasi dNTP. Berdasarkan optimasi yang dilakukan diperoleh komposisi yang sesuai untuk PCR yaitu 40 cetakan, 20 primer forward, 20 primer reverse, 9 µL magnesium klorida 25 mM, 5 µL dapar Tag polimerase, 1 µL enzim Tag polimerase dan 1 µL dNTP. Terakhir ditambahkan aquabidest steril hingga volume 50 µL.

Produk PCR dikonfirmasi dengan elektroforesis gel agarosa 1% (b/v) dengan membandingkan marka DNA, kontrol positif, dan kontrol negatif. Gel agarosa 1% dibuat dengan melarutkan agarosa 400 mg dan 40 mL dapar TAE 1X ( Tris-base, EDTA 0.5 M (pH 8.0, asam asetat glasial dan natrium hidroksida). Elektroforesis dilakukan pada tegangan 90 Volt selama 45 menit. Setelah elektroforesis selesai, produk PCR diamati menggunakan transluminator UV.

### **Penentuan dan Analisis Hasil Penentuan Urutan Nukleotida**

Penentuan urutan nukleotida dilakukan berdasarkan metode dideoksi Sanger. Campuran untuk penentuan urutan nukleotida adalah produk PCR yang telah

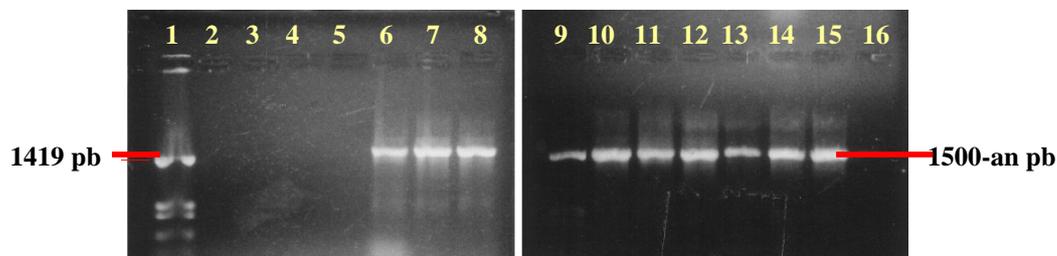
dimurnikan dengan 10 ng/3  $\mu$ L primer *foreward.*, dapat Tag polimerase 10X, enzim Tag polimerase, DNTP, ddTP dan *stop solution.*

Hasil penentuan urutan nukleotida dianalisis homologi dengan membandingkan hasil penentuan urutan nukleotida dengan urutan nukleotida gen *gtf* yang ada di *Gen Bank.*

## HASIL DAN PEMBAHASAN

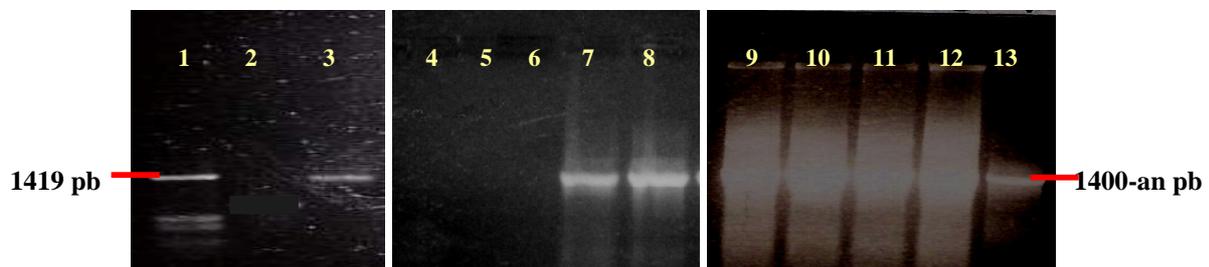
### Identifikasi Bakteri dengan Pendekatan *16s rDNA*

Berdasarkan penelitian melalui teknik PCR menggunakan Primer universal gen *16s rDNA* dengan marker DNA *pUC19/HinfI* dapat diketahui bahwa 18 sampel yang dapat diidentifikasi tersebut, memberikan pita DNA berukuran antara 1500 pb (gambar 1) dan 1400-an pb (Gambar 2).



**Gambar 1 Hasil amplifikasi gen *16s rDNA* dengan Panjang Pita 1500-an pb**

**Keterangan Produk PCR:**1. Marker *pUC-HinfI*; 2.Isolat BK48; 3. Isolat BK47; 4. Isolat K24; 5. Isolat K32; 6. Isolat BK42; 7. Isolat BK45; 8. Isolat BK43; 9. Isolat BK46; 10. Isolat K21; 11. Isolat K19; 12. Isolat K18; 13. Isolat BK44; 14. Isolat K20; 15. IsolatK17; 16. Isolat K16.



**Gambar 2 Hasil amplifikasi gen *16s rDNA* dengan Panjang Pita 1400-an pb**

**Keterangan Produk PCR:** 1. Penanda berat molekul *pUC-HinfI*; 2.Isolat K31; 3. Isolat K12; 4. Isolat 10aEU; 5. Isolat BK22; 6. Isolat BK25; 7. Isolat 7EU; 8. Isolat 3EU; 9. Isolat K39; 10. Isolat BK55; 11. Isolat K40; 12. Isolat K41; 13. Isolat BK54.

Hasil sekuensing menunjukkan bahwa bakteri yang diisolasi tersebut adalah *S. mutans*, *S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. bovis*, *L. salivarius*, *L. fermentum*, dan *K. oxytoca* (Tabel 1).

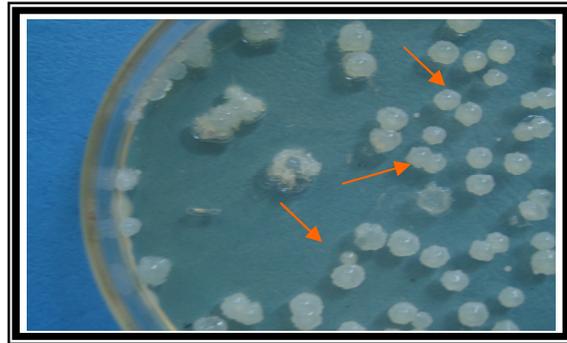
**Tabel 1 Hasil Identifikasi Bakteri dengan Pendekatan *16s rDNA***

No	Sampel	Kategori sampel	Nama Bakteri	Homologi (%)
1	K12		<i>Streptococcus mutans</i>	93%
2	K17		<i>Lactobacillus fermentum</i>	94 %
3	K18		<i>Klebsiella oxytoca</i>	96%
4	K19	Rampan karies	<i>Streptococcus anginosus</i>	97%
5	K20		<i>Streptococcus constellatus</i>	85%
6	K21		<i>Streptococcus Bovis</i>	96%
7	K39		<i>Streptococcus bovis</i>	85%
8	K40		<i>Streptococcus anginosus</i>	96%
9	K41		<i>Lactobacillus salivarius</i>	99%
10	7EU		<i>Streptococcus mutans</i>	100%
11	BK46		<i>Klebsiella oxitoca</i>	94%
12	BK54		<i>Streptococcus anginosus</i>	96%
13	BK55		<i>Streptococcus constellatus</i>	97%
14	BK42	Bebas karies	<i>Streptococcus anginosus</i>	99%
15	BK43		<i>Lactobacillus salivarius- subsp.</i>	99%
16	BK44		<i>Lactobacillus salivarius-subsp.</i>	95%
17	BK45		<i>Lactobacillus salivarius-subsp.</i>	95%
18	3EU		<i>Streptococcus mutans</i>	92%

**Keterangan: Bakteri-bakteri yang teridentifikasi dihomologikan dengan data bakteri yang ada pada *Gen Bank*, persentasi (%) menunjukkan tingkat homologinya.**

Berdasarkan hasil pada tabel di atas, *S. mutans* teridentifikasi hanya dari tiga sampel yaitu dua dari sampel plak gigi karies (K12 dan 7EU) dan satu dari sampel gigi bebas karies (3EU), padahal pada media perbenihan seluruh sampel memiliki ciri-ciri sebagaimana yang dimiliki *S. mutans*, yaitu pada media MSA tampak berwarna biru, mengkilat, melekat erat pada media perbenihan (lengket), dan memiliki diameter dengan ukuran sekitar 0,1 – 1 mm., bahkan ada yang mencapai berukuran lebih besar yaitu sekitar 1 – 1,5 mm.

Pada media TYCSB juga tampak berwarna putih, berkilat, dengan permukaan tidak rata, mengkilat, dan menyerupai bunga kol, dan melekat erat pada media (Gambar 3). Maka hal ini mengkonfirmasi pendapat-pendapat yang mengemukakan bahwa MSA dan khususnya TYCSB adalah media selektif bagi *S. mutans*, karena ternyata koloni yang tampak dengan ciri-ciri sebagaimana di atas, setelah dilakukan PCR dengan Primer gen *16s rDNA* dan sekuensing, ternyata bukan hanya dimiliki oleh *S. mutans*.



**Gambar 3 Koloni *S. mutans* pada Media TYCSB**

**Keterangan:** Koloni *S. mutans* pada media TYCSB, terlihat berwarna putih, berkilat, dengan permukaan tidak rata, mengkilat, dan menyerupai bunga kol, dan melekat erat pada media

Oleh sebab itu diduga bahwa media MSA dan TYCSB sudah tidak selektif lagi untuk pembiakan *S. mutans* dan diduga pula bahwa karakteristik sebagaimana disebutkan diatas, dihasilkan karena bakteri-bakteri tersebut menggunakan sukrosa sebagai substrat serta menghasilkan glukon, namun hal ini masih perlu diteliti lebih lanjut.

Sedikitnya jumlah *S. mutans* yang teridentifikasi juga dapat memberi masukan pada perkembangan Ilmu Mikrobiologi tentang karakteristik Biokimia bakteri. Dalam hal ini didapatkan jenis-jenis bakteri yang memiliki karakteristik membentuk amonia dari arginin, memfermentasi manitol, sorbitol, eskulin, melbiose, dan rafinose, sebagaimana karakteristik Biokimia *S. mutans*.

### **Identifikasi Bakteri Kariogenik melalui Amplifikasi Fragmen Gen *gtf* B/C**

Enzim yang berperan pada proses pembentukan karies adalah enzim GTF B/C. Sifat GTF B adalah mengekspreskan glukon yang tidak larut sedangkan gen *gtf* C mengekspresikan glukon larut dan tidak larut<sup>7,8</sup>. Enzim GTF B dan C memiliki

homologi yang tinggi, tersusun dalam bentuk operon yang memiliki promotor kuat pada daerah hulu GTF B, sedangkan GTF C terletak di bawah GTF C<sup>9</sup>.

Enzim GTF B/C pada *S. mutans* menghasilkan glukosa tidak larut yang bersifat patogen karena polimer glukosa yang dihasilkan oleh kedua enzim ini merupakan mediator agregasi bagi bakteri pada permukaan gigi<sup>10,11</sup>, karenanya dapat memberi kontribusi terhadap intensitas ketebalan dan integritas struktur plak gigi yang nantinya akan berkembang dan dapat menjadi karies<sup>12</sup>.

Keberadaan enzim GTF B/C pada bakteri diekspresikan oleh adanya gen *gtf* B/C yang mengkode kedua enzim tersebut. Gen *gtf* B/C dapat diamplifikasi dengan teknik PCR menggunakan Primer gen *gtf* B/C.

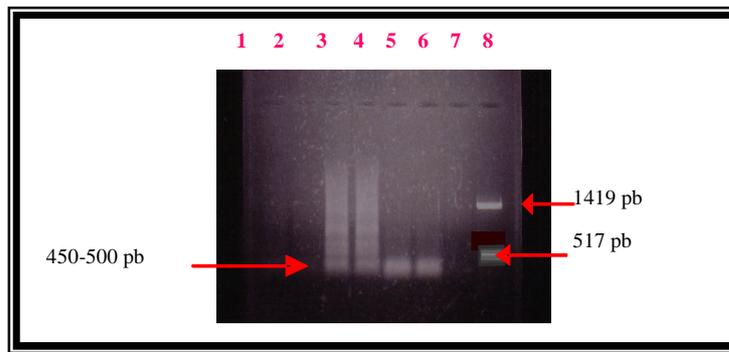
Pada penelitian ini hasil amplifikasi fragmen gen *gtf* B/C dengan menggunakan primer spesifik memberikan pita berukuran 600 pb (gambar 4) dan pita berukuran kurang dari 600 pb (Gambar 5).



**Gambar 4 Amplifikasi Fragmen Gen *gtf* B/C dengan Panjang Pita 600 pb**

**Keterangan Produk PCR:**

1. Produk PCR isolate K12, *S. mutans*; 2. Produk PCR isolate K18, *K. oxitoca*; 3. Produk PCR isolate K39, *S. Bovis*; 4. Penanda Molekul pUC-HinFI



**Gambar 5 Amplifikasi Fragmen Gen *gtf* B/C dengan Panjang Pita Kurang dari 600 pb**

**Keterangan Produk PCR:**

1. Isolat BK42 (tidak teramplifikasi); 2. Isolat BK55 (tidak teramplifikasi); 3. Produk PCR isolat K21 (*S. bovis*); 4. Produk PCR isolat K40 (*S. anginusus*); 5. Produk PCR isolat K46 (*K. oxitoca*); 6. Produk PCR isolat K46 (*K. oxitoca*); 7. Isolat 7EU (tidak teramplifikasi); 8. Penanda Molekul pUC-Hinfl

Hasil amplifikasi panjang pita gen *gtf* B/C secara keseluruhan dapat dilihat pada tabel 2 di bawah ini.

**Tabel 2 Hasil Amplifikasi Fragmen Gen *gtf* B/C**

No	Sampel	<i>16s rDNA</i>	Panjang Pita Teramplifikasi	Kategori sampel
1	K21	<i>Streptococcus mutans</i>	600 pb	
2	K17	<i>Lactobacillus fermentum</i>	700 pb	
3	K18	<i>Klebsiella oxytoca</i>	600 pb	
4	K19	<i>Streptococcus anginosus</i>	500 pb	Rampan karies
5	K20	<i>Streptococcus constellatus</i>	700 pb	
6	K21	<i>Streptococcus Bovis</i>	500 pb	
7	K39	<i>Streptococcus bovis</i>	600 pb	
8	K40	<i>Streptococcus anginosus</i>	600 pb	
9	K41	<i>Lactobacillus salivarius</i>	600 pb	
10	7EU	<i>Streptococcus mutans</i>	Tidak ada pita	
11	BK46	<i>Klebsiella oxitoca</i>	450 pb	
12	BK54	<i>Streptococcus anginosus</i>	600 pb	
13	BK55	<i>Streptococcus constellatus</i>	Tidak ada pita	Bebas
14	BK42	<i>Streptococcus anginosus</i>	Tidak ada pita	karies
15	BK43	<i>Lactobacillus salivarius</i> subsp.	Tidak ada pita	
16	BK44	<i>Lactobacillus salivarius</i> subsp.	Tidak ada pita	

17	BK45	<i>Lactobacillus salivarius</i> subsp.	Tidak ada pita
18	3EU	<i>Streptococcus mutans</i>	Tidak ada pita

**Keterangan: Panjang pita yang teridentifikasi menunjukkan gen *gtf* B/C teramplifikasi, sedangkan tidak ada pita menunjukkan bahwa gen *gtf* B/C tidak teramplifikasi**

Keberadaan enzim GTF B/C merupakan salahsatu ciri dan sifat bakteri kariogenik<sup>13,14</sup>. Berdasarkan hasil penelitian pada tabel di atas, jenis-jenis bakteri yang diisolasi dari plak gigi karies teridentifikasi memiliki gen *gtf* B/C. Dengan demikian, hipotesis **bakteri yang memiliki gen *gtf* B/C memiliki salahsatu sifat bakteri kariogenik** (Hipotesis I) **diterima**.

Hipotesis **selain *S. mutans*, bakteri mulut lainnya bila mengekspresikan enzim glukosiltransferase dapat berperan dalam proses terjadinya karies** (Hipotesis II) juga **diterima**, karena Berdasarkan hasil penditian dan pembahasan secara kualitatif menunjukkan bahwa keberadaan karies identik dengan keberadaan gen *gtf* B/C dimana gen *gtf* B/C merupakan salahsatu sifat yang dimiliki bakteri kariogenik. Hal ini menunjukkan bahwa keberadaan enzim glukosiltransferase diekspresikan oleh adanya gen tersebut.

## SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan data-data hasil penelitian dan pembahasan, dapat diambil kesimpulan umum dan kesimpulan khusus. Kesimpulan umum yang diperoleh yaitu:

1. Bakteri yang memiliki gen *gtf* B/C memiliki salahsatu sifat bakteri kariogenik
2. Selain *S. mutans*, bakteri mulut lainnya bila mengekspresikan enzim glukosiltransferase dapat berperan dalam proses terjadinya karies.

Sedangkan kesimpulan khusus yang dapat diidentifikasi yaitu:

3. Bakteri *S. mutans*, *S. anginosus*, *S. constellatus*, *L. Salivarius*, dan *K. oxytoca* terdapat pada anak rampan karies.
4. Semua bakteri ditemukan pada anak rampan karies yaitu *S. mutans*, *S. bovis*, *S. anginosus*, *S. constellatus*, *L. Salivarius*, *L. fermentum*, dan *K. oxytoca* mengandung gen *gtf* B/C
5. Ditemukan bakteri *S. mutans* yang tidak mengandung gen *gtf* B/C pada anak yang rapan karies.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Thylstrup A, Fejerkov O. Clinical and pathological features of dental caries. In: Thylstrup A, Fejerkov O, editors. Textbook of clinical. Copenhagen: Munkgaard, 1996: 111-15
2. VanHoute J, Lopman J, Kent R. The predominant cultivable flora of sound and carious human root surfaces. *J Dent Res* 1994; 73 (11):1727-17
3. Klein berg (ed.). A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to *S. mutans* and the specific-plaque hypothesis. *Crit Rec. Oral Biol Med* 2002; 13(2):108 – 12
4. Byun R, Nadkarni MA, Chhour KL, Martin FE. Quantitative analysis of diverse lactobacillus species present in advanced dental caries *J Clin Microbiol* 2004; 42(7):3128-31
5. Beighton D, Brailsford S, Samarayanake, LP, Brown JP, Ping FX, Mils DG, et al. A multi country comparison of caries associated microflora in demografihically diverse children. *Community Dental Healt* 2004; 21(suppl):96 – 1
6. Munson MA, Banerjee A, Watson TF, Wade WG. Molecular analysis of the microflora associated with dental caries. *J Clin Microbiol* 2004: 3023-30
7. Kralj S. Glucansucrase of Lactobacilli: Characterization of genes, enzymes, and products synthesized. Netherlands: Ponsen & Looijen BV, 2004: 466-89.
8. Burne RA, Chen YY, Penders. Analysis of gene expression in *S. mutans* in biofileus in vitro. *Adv Dent Res* 1997; 11(1):100-1
9. Kopec LK, et al. Influence of antibody on the structure of glucans. *Caries Research* 2002; 36:108-11
10. Hanada N, Kuramitsu HK. Isolation and characterization of the *Streptococcus mutans* gtf D gene, coding for primer-dependent soluble glucan synthesis. *Infect Immun* 1989; 57:2079-208
11. Yamashita Y, Bowen WH, Kuramitsu HK. Molecular analysis of a streptococcus mutans strain exhibiting polymorphism in the tandem gtf B and gtf C genes. *Infect Immun* 1992; 60(4):1618-16
12. Chia JS, Hsieh CC, Yang CS, Chen JY. Purification of glucosyltransferases (Gtf B/C and Gtf D) from mutant strains of *Streptococcus mutans*. Department of Bacteriology, College of Medicine, National Taiwan University 1995; 28(1):1-12
13. Jespersgaard C, Hajishengallis G, Russel MW, Michalek S. Identification and characterization of a nonimmunoglobulin factor in human saliva that inhibits streptococcus mutans glucosyltransferase. *Infect Immun* 2002; 70(3):1136-11
14. Newman MG, Nisengard R. Oral microbiology and immunology. Philadelphia: WB Saundersco, 1988: 117-25.
15. Stipp RN, Goncalves RB, Hofling JF, Smith DJ, Mattosgraner RO. transcription of gtfB/C, gbpB and regulatory genes in *Streptococcus mutans* Ernest & Morial Convention Center, 2007: 2276.

---