

## The relationship of *Streptococcus mutans spaP* gene presence to dental caries severity on children in Denpasar City

Hubungan keberadaan gen *spaP Streptococcus mutans* terhadap tingkat keparahan karies gigi anak di Kota Denpasar

Ni Putu Tania Chintya Dewi Karima

Unit Kesehatan, Politeknik Transportasi Darat Bali  
Denpasar Bali, Indonesia

Corresponding author: Ni Putu Tania Chintya Dewi Karima, e-mail: karimaslaluw@gmail.com

### ABSTRACT

Oral health problems, especially dental caries, are the most common health problems experienced by children in Indonesia. *Streptococcus mutans* as the main causative agent of dental caries has the *spaP* gene which plays a role in the initial process of bacterial invasion. Performing PCR on children's dental plaque samples can determine the presence of the genes *spaP S. mutans*. Then, the existing data were statistically analyzed using the logistic regression method to assess the relationship of the genes *spaP S. mutans* to the severity of dental caries. From the research results, 54 samples contained the *spaP* gene of *S. mutans*. The prevalence of gene *S. mutans spaP* in dental plaque in children aged 3-5 years in Denpasar City was 69.2%. The statistical analysis results revealed that the *spaP* gene of *S. mutans* ( $p=0.016$ ) had a  $p<0.05$ . It is concluded that the variable presence of the *S. mutans spaP* had a significant relationship with the severity of dental caries on children aged 3-5 years in Denpasar City.

**Keywords:** *Streptococcus mutans*, gene *spaP*, and dental caries in children

### ABSTRAK

Masalah kesehatan rongga mulut khususnya karies gigi merupakan masalah kesehatan yang paling sering dialami anak-anak di Indonesia. *Streptococcus mutans* sebagai agen penyebab utama terjadinya karies gigi memiliki gen *spaP* yang berperan dalam proses awal invasi bakteri. Keberadaan gen *spaP S. mutans* didapatkan dengan melakukan PCR pada sampel plak gigi anak. Kemudian dilakukan analisis statistik dengan metode regresi logistik untuk mengetahui hubungan gen *spaP S. mutans* terhadap tingkat keparahan karies gigi. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan 54 sampel terdapat gen *spaP S. mutans*. Prevalensi gen *spaP S. mutans* pada plak gigi anak usia 3-5 tahun di Kota Denpasar sebesar 69,2%. Hasil analisis statistik diketahui gen *spaP S. mutans* ( $p=0,016$ ) memiliki nilai  $p\text{-value} < 0,05$ . Hasil penelitian menunjukkan variabel keberadaan gen *spaP S. mutans* memiliki hubungan yang signifikan terhadap tingkat keparahan karies gigi anak usia 3-5 tahun di Kota Denpasar.

**Kata kunci:** *Streptococcus mutans*, gen *spaP*, dan karies gigi anak

Received: 10 January 2023

Accepted: 1 June 2023

Published: 1 August 2023

### PENDAHULUAN

Masalah kesehatan rongga mulut khususnya karies gigi merupakan masalah kesehatan yang paling sering dialami anak-anak di Indonesia; bahkan merupakan masalah utama dalam kesehatan gigi dan mulut baik bagi anak-anak maupun dewasa.<sup>1</sup> Kesehatan rongga mulut pada anak usia 3-5 tahun memerlukan perhatian khusus karena merupakan satu-satunya jalan masuk bagi makanan dan minuman yang dibutuhkan oleh tubuh.

Penyebab utama kerusakan gigi pada anak adalah plak yaitu sisa-sisa makanan yang melekat erat pada permukaan gigi. Plak mengandung organisme mikro kariogenik salah satunya bakteri *Streptococcus mutans*. *S. mutans* sebagai agen penyebab utama terjadinya karies gigi memiliki beberapa faktor virulensi yang berperan penting dalam proses invasi bakteri, salah satunya gen *spaP* yang berperan dalam adhesi *S. mutans* pada komponen pelikel enamel gigi.<sup>2</sup>

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui prevalensi keberadaan gen *spaP S. mutans* di dalam plak gigi anak usia 3-5 tahun di Kota Denpasar dan hubungan antara keberadaan gen *spaP S. mutans* terhadap tingkat keparahan karies gigi anak usia 3-5 tahun.

### METODE

Rancangan penelitian yang digunakan adalah analitik observasi dengan pendekatan *cross-sectional* untuk mengetahui hubungan antara keberadaan gen *spaP S. mutans* terhadap tingkat keparahan karies pada anak usia 3-5 tahun di Kota Denpasar. Penentuan sampel dibagi menurut kriteria inklusi antara lain anak usia 3-5 tahun dengan karies gigi; terdapat plak gigi di dalam rongga mulut anak; dan orang tua atau wali bersedia ikut dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*. Sedangkan kriteria eksklusi yaitu anak sedang mengonsumsi obat antibiotika; mengalami gangguan *temporomandibula joint* (TMJ) selama waktu pengambilan sampel; dan anak tidak kooperatif.

Sampel diambil secara random satu TK di setiap kecamatan di Kota Denpasar. Dari setiap TK diambil sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Penentuan jumlah sampel dilakukan dengan rumus dari Araooye:  $n = \frac{Z\alpha^2 \times P \times Q}{d^2}$

$n$  = jumlah sampel

$Z\alpha$  = tingkat kemaknaan 95% ( $Z\alpha = 1,96$ )

$P$  = proporsi gen *spaP* pada *S. mutans* (0,74)

$Q = 1 - P$

$d$  = derajat kesalahan yang masih dapat diterima (0,1)

sehingga diperoleh 81 sampel untuk mewakili jumlah populasi anak usia 3-5 tahun di Kota Denpasar.

Variabel bebas yaitu gen *spaP S.mutans* sedangkan variabel terikat yaitu tingkat keparahan karies gigi. Sampel plak gigi dianalisis menggunakan metode PCR untuk mengetahui keberadaan bakteri *S. mutans* dan gen *spaP S.mutans*. Sampel plak gigi anak yang telah diambil dengan ekskavator, disimpan dalam tube yang telah berisi cairan *phosphate buffer saline* (PBS).

Bakteri *S.mutans* merupakan bakteri utama penyebab karies gigi. Keberadaan *S.mutans* diidentifikasi dengan metode PCR dengan mengamplifikasi gen *htrA* yang mengkode *serin protease* dengan menggunakan Primer forward *S.mutans*: 5' TCG CGA AAA AGA TAA ACA AAC A 3', primer reverse *S.mutans*: 5' GGC CCT TCA CAG TTG GTT AG 3'. Amplifikasi kontrol positif (*S.mutans* ATCC 35668) dengan menggunakan primer di atas akan menghasilkan pita amplicon berukuran 466 bp. Hasil positif (ada *S.mutans*) bila ditemukan pita amplicon yang sejajar dengan kontrol positif. Hasil negatif (tidak ada *S.mutans*) bila tidak ditemukan pita amplicon sejajar dengan kontrol positif.<sup>3</sup>

Gen *spaP S.mutans* merupakan protein yang berhubungan dengan permukaan (*surface-associated Protein P1* atau *spaP*) yang merupakan faktor utama dalam proses awal invasi *S.mutans* ke email gigi.<sup>5</sup> Keberadaan gen *spaP S.mutans* diidentifikasi dengan pemeriksaan PCR menggunakan primer forward 5' AAC GAC CGC TCT TCA GCA GAT ACC '3 dan primer reverse: 5' AGA AAG AAC ATC TCT AAT TTC TTG 3'. Amplifikasi kontrol positif (*S.mutans* ATCC 35668) dengan menggunakan primer di atas akan menghasilkan pita amplicon berukuran 192 bp. Hasil positif (ada gen *spaP S.mutans*) bila ditemukan pita amplicon yang sejajar dengan kontrol positif. Hasil negatif (tidak ada gen *spaP S.mutans*) bila tidak ditemukan pita amplicon sejajar dengan kontrol positif.<sup>3</sup>

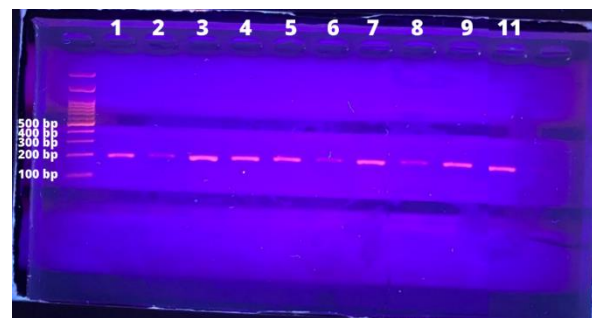
Tingkat keparahan karies gigi dikategorikan dengan menggunakan rumus *decayed extracted filled tooth* (def-t) dari WHO. Pada penelitian ini tingkat keparahan karies gigi dibagi menjadi 2 yaitu tingkat keparahan karies tinggi apabila skor *def-t*  $\geq 4,5$  dan tingkat keparahan karies rendah-sedang apabila skor *def-t*  $\leq 4,4$ . Data dianalisis dengan statistik bivariat antar variabel bebas dan variabel terikat dianalisis dengan menggunakan uji *chi-square*.

## HASIL

Sebanyak 81 sampel telah dilakukan PCR, didapatkan hasil 78 sampel dengan hasil positif *S.mutans* dan 3 sampel hasil negatif *S.mutans*. Dari 78 sampel positif *S.mutans*, didapatkan hasil 54 sampel dengan hasil positif gen *spaP S.mutans* dan 24 sampel dengan negatif gen *spaP S.mutans*.

**Tabel 1** Hasil PCR *S.mutans* dan gen *spaP S.mutans* pada sampel plak gigi anak usia 3-5 tahun di Kota Denpasar

No	Hasil PCR	Jumlah
1	<i>S.mutans</i>	
	Positif	78
	Negatif	3
	Gen <i>spaP S.mutans</i>	
2	Positif	54
	Negatif	24



**Gambar 1** Salah satu hasil elektroforesis gen *spaP* dari *S.mutans*

Prevalensi gen *spaP S. mutans* pada plak gigi anak usia 3-5 tahun di Kota Denpasar yaitu:

$$\text{Prevalensi} = \frac{\text{jumlah sampel yang positif gen spaP S.mutans}}{\text{jumlah sampel yang positif S.mutans}} \times 100\% \\ = \frac{54}{78} \times 100\% = 69,2\%$$

Artinya dalam satu populasi anak usia 3-5 tahun terdapat gen *spaP S.mutans* sebesar 69,2%.

## Hubungan gen *spaP S.mutans* terhadap tingkat keparahan karies gigi

Penelitian ini menggunakan analisis bivariat *chi-square* yang tidak dapat menganalisis lebih dari dua kategori pada variabel terikat, sehingga kategori tingkat keparahan karies gigi yang awalnya rendah, sedang, dan tinggi dibagi menjadi dua kategori, yaitu rendah-sedang dan tinggi. Perubahan ini dinilai dari tingkat perawatan yang diberikan pada pasien dilihat dari keparahan karies gigi yang dialami. Tingkat keparahan karies gigi dibagi menjadi 2 yaitu tingkat keparahan karies rendah-sedang apabila skor *def-t*  $\leq 4,4$  dan tingkat keparahan karies tinggi apabila skor *def-t*  $\geq 4,5$ .

**Tabel 2** Hasil analisis bivariat antara keberadaan gen *spaP S.mutans* terhadap tingkat keparahan karies gigi

Variabel Bebas (Independent)	Tingkat Keparahan Karies Gigi				Jumlah	p- value
	Rendah-Sedang		Tinggi			
	n	%	n	%		
Gen <i>spaP S.mutans</i>						
Tidak ada	16	19,8%	11	13,6%	81	0,016*
Ada	16	19,8%	38	46,9%		

Tabel 2 menunjukkan bahwa keberadaan gen *spaP S.mutans* memiliki hubungan yang signifikan dengan tingkat keparahan karies gigi pada anak usia 3-5 tahun di Kota Denpasar dengan *p-value*  $0,016 < 0,05$ .

## PEMBAHASAN

Dari hasil PCR pada sampel plak gigi diketahui 54 sampel terdapat gen *spaP S.mutans* di dalam rongga mu-

lut anak usia 3-5 tahun di Kota Denpasar dengan prevalensi sebesar 69,2%. Hasil uji bivariat menunjukkan variabel keberadaan gen *spaP S. mutans* memiliki nilai  $p < 0,016 < 0,05$  yang artinya terdapat hubungan yang signifikan terhadap tingkat keparahan karies gigi anak usia 3-5 tahun di Kota Denpasar.

Penyebab utama kerusakan gigi pada anak adalah plak yang melekat erat pada permukaan gigi, mengandung organisme mikro kariogenik, salah satunya *S. mutans*. *S. mutans* sebagai agen penyebab utama karies gigi memiliki gen *spaP S. mutans* yang berperan penting dalam proses invasi bakteri. Perkembangan biofilm di dalam rongga mulut di mulai saat *S. mutans* melekat pada permukaan email gigi yang merupakan proses awal terbentuknya plak. Adesin permukaan *S. mutans* berinteraksi dengan  $\alpha$ -galactosides dari saliva membentuk struktur pelikel.<sup>6,7</sup>

Perlekatan awal *S. mutans* pada email gigi melibatkan protein permukaan yaitu gen *spaP* atau yang disebut dengan antigen I/II. Gen *spaP S. mutans* merupakan suatu adhesin multifungsi yang berperan dalam perlekatan *S. mutans* pada komponen pelikel email gigi.<sup>8</sup> Perlekatan awal diawali proses mekanisme *adhesi sucrose-independent* terhadap komponen saliva. Gen *spaP* merupakan faktor utama dalam proses awal invasi bakteri *S. mutans* ke email gigi.<sup>5</sup>

Selain gen *spaP*, juga terdapat faktor virulensi lain yang berperan dalam terjadinya karies gigi, antara lain *glucan-binding protein* (Gbp), *fructosyltransferase* (Ftf), *fructanase* (FruA), dan juga *extracellular dextranase* (DexA) yang berperan dalam meningkatkan virulensi *S. mutans*.<sup>8</sup> Bakteri *S. mutans* mempunyai kemampuan menghasilkan asam yang sangat cepat sehingga menyebabkan penurunan pH rongga mulut dan perubahan flora normal. Tingginya jumlah gen *spaP S. mutans* yang memfasilitasi perlekatan bakteri *S. mutans* pada permukaan gigi menyebabkan meningkatnya proses demineralisasi. Asam yang bereaksi dengan kristal apatit akan melepaskan ion hidrogen sehingga kristal apatit melarut dan merusak struktur permukaan email gigi. Infiltrasi bakteri *aciduric* dan *acidogenic* ke dalam permukaan dentin menyebabkan dekalsifikasi.<sup>9</sup> Terpaparnya gigi dengan pH asam yang terus menerus dalam waktu yang lama akan menyebabkan demineralisasi gigi terus menerus dibandingkan proses remineralisasi.<sup>7</sup> Hal ini dapat menyebabkan terjadinya karies gigi.

Disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan terhadap tingkat keparahan karies anak usia 3-5 tahun di Denpasar. Gen *spaP S. mutans* merupakan suatu adhesin multifungsi yang berperan dalam adesi *S. mutans* pada komponen pelikel email gigi.<sup>8</sup> Gen *spaP S. mutans* pada plak gigi dapat memengaruhi keparahan karies.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Norfai, Rahman E. Hubungan pengetahuan dan kebiasaan menggosok gigi dengan kejadian karies gigi di SDI Darul Mu'Minin Kota Banjarmasin Tahun 2017. *Dinamika Kesehatan* 2017; 8(1): 212-8
2. Fatmawati DWA. Hubungan biofilm *S. mutans* terhadap resiko terjadinya karies gigi. *JKG UNEJ: Stomatognatic* 2016; 8(3)
3. Galaviz LAA, García ICE. Detection of a *spaP* sequence of *Streptococcus mutans* in dental plaque using polymerase chain reaction. *Revista de la Asociación Dental Mexicana* 2003; 60(5):180-4.
4. Galaviz LAA, Aceves Medina MDC, Estrada García I. Detection of potentially cariogenic strains of *Streptococcus mutans* using the polymerase chain reaction. *J Clin Pediatr Dent* 2003; 27(1): 47-51.
5. Fatmawati DWA. Hubungan biofilm *Streptococcus Mutans* terhadap resiko terjadinya karies gigi. *Stomatognatic-Jurnal Kedokteran Gigi* 2015; 8(3):127-30.
6. Babu N, Aravindha, Malathi L, Karthick R, Sankari S, Leena. Immunology of dental caries. *Biomed & Pharmacol J* 2016; 9(2): 823-6
7. Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33:499-515.
8. Banas JA. Virulence properties of *Streptococcus mutans*. *Front Biosci* 2004; 9(10): :1267-77.
9. Bowen WH, Koo HJCR. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries Res* 2011; 45(1):69-86.
10. Cameron AC, Widmer RP. *Handbook of pediatric dentistry*. 3<sup>rd</sup> Ed. Sydney: Mosby; 2008.
11. Kidd EA, Bechal SJ. *Dasar-dasar karies penyakit dan penanggulangan*. Jakarta: EGC; 2013.p.98-118.