Edisi Cetak Dentika Dental Journal, Juli 2011 (ISSN: 1693-671X)

PENGARUH MEROKOK TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI STREPTOCOCCUS MUTANS DALAM SALIVA

(EFFECT OF CLOVE CIGARETTES ON THE GROWTH OF SALIVARY STREPTOCOCCUS MUTANS)

Evy Tri Utami*, Juni Handajani **, Tetiana Haniastuti **

* Program Studi Kedokteran Gigi
** Bagian Biologi Mulut
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada
Jl. Denta Sekip Utara Yogyakarta 55281
email: junihandajani@yahoo.com

Abstract

Smoking may increase dental caries prevalence, meanwhile dental caries is primarly caused by *Streptococcus mutans*. The aim of this research was to investigate the effect of clove cigarette smoking on the growth of salivary *Streptococcus mutans*. In this cross-sectional study, twenty healthy male subjects aged 17 to 25 years was volunteered to join this study. Those subjects were divided into smoking and non-smoking group. Subjects in the smoking group had smoked regularly 6 to 9 clove cigarettes per day for 25 to 35 months. Both groups were asked not to brush their teeth at night before sample was taken. Before having breakfast in the early morning, unstimulated saliva was collected into a tube. The collected saliva was diluted using potassium phosphate buffer and then cultured on spesific *S. mutans* media agar (TYS20B agar). *Streptococcus mutans* colonies were identified as milky white colonies. After three days of anaerobic incubation at 37ºC, the *S. mutans* colonies were counted. Data was analyzed using unpaired student's t test. The result showed that *S. mutans* colonies in the smoking group was significantly higher than the non-smoking group ($p<0,05$). This study indicated that smoking could increase the growth of *S. mutans* in saliva. In conclusion, smoking increase the growth of salivary streptococcus mutans.

Key words: *Streptococcus mutans*, clove cigarette, smoking, saliva

PENDAHULUAN

Merokok adalah aktivitas ketika seseorang memiliki rokok pada mulutnya dan bernapas melalui asap rokok yang dihasilkan.[1] Perokok dapat diklasifikasikan berdasarkan banyaknya konsumsi rokok, yaitu bukan perokok, perokok ringan, sedang, dan berat.[2] Seseorang yang mengonsumsi satu hingga 10 batang rokok per hari tergolong perokok ringan. Seseorang yang mengonsumsi 10 batang hingga satu pak rokok tergolong perokok sedang. Seseorang yang dapat mengonsumsi satu hingga dua pak atau lebih per hari termasuk perokok berat.[3]

Indonesia merupakan negara ke-5 di dunia dengan konsumsi rokok terbanyak mencapai 182 milyar batang pada tahun 2002. Selama tahun 1995-2001 terjadi peningkatan prevalensi merokok pada berbagai rentang usia. Peningkatan prevalensi merokok tertinggi terjadi pada usia 15-19 tahun yaitu 13,7% pada tahun 1995 menjadi 24,2% pada tahun 2001, atau terjadi peningkatan sebanyak 77%. Pada tahun 2001, prevalensi merokok usia dewasa masih didominasi oleh kelompok pria yaitu sebesar 62,2%, sedangkan kelompok wanita sebesar 1,3%. Prevalensi merokok pada pria dan wanita pada tahun 2001 sebesar 31,5%.[4] Pada tahun 1996, masyarakat Indonesia mengkonsumsi rokok kretek sebanyak 78 miliar batang atau 86% dari jumlah konsumsi rokok. Konsumsi tembakau berupa rokok kretek filter menduduki peringkat pertama di Indonesia pada tahun 1996 yaitu sebesar 0,538 batang/kapita/hari.[5]

Menurut penelitian Campus pada sekelompok pelajar pria di akademi militer Italia diketahui bahwa seseorang yang merokok memiliki prevalensi karies gigi lebih tinggi dibandingkan yang tidak merokok. Kelompok orang yang tidak merokok dengan kelompok orang yang merokok menunjukkan perbedaan yang signifikan untuk skor *decayed surfaces* (DS), *decayed missing filled surfaces* (DMFS). Berdasarkan analisis regresi, keparahan karies secara

Edisi Cetak Dentika Dental Journal, Juli 2011 (ISSN: 1693-671X)

signifikan terkait dengan kebiasaan merokok. [6]

Karies gigi terutama disebabkan oleh *Streptococcus mutans*. Terdapat korelasi positif antara proses terbentuknya lesi karies dengan jumlah *S. mutans*. Jumlah *S. mutans* yang terdapat di saliva dan plak terkait dengan prevalensi dan insidens karies.[7] Penelitian Koga-Ito menunjukkan bahwa pada kelompok anak dengan gigi-geligi yang mengalami karies mempunyai konsentrasi *S. mutans* lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok anak tanpa karies. [8] Hal ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Hedge yang menemukan bahwa subjek dengan skor *decayed missing filled teeth* (DMFT) tinggi memiliki jumlah *S. mutans* yang banyak dalam saliva. [9]

Streptococcus mutans merupakan bakteri penanda karies gigi dan biasanya ditemukan pada karies oklusal, permukaan halus, dan pada semua kedalaman dentin.[10] Ketika permukaan gigi telah dilapisi oleh mikroorganisme, maka bakteri yang berasal dari saliva seperti *Streptococcus gordonii*, *S. oralis*, dan *S. mitis* akan melekat pada gigi. Perlekatan tersebut akan memicu perlekatan bakteri lain termasuk *S. mutans* dan *S. sobrinus*.[11,12]

Streptococcus mutans memanfaatkan sukrosa untuk melekat secara ireversibel pada permukaan gigi dengan cara membentuk glukan.[13] Hasil metabolisme akhir *S. mutans* adalah asam laktat yang berperan dalam pengasaman terhadap ruang mikroorganisme hidup atau habitat (*local niche*/rongga mulut) mikroorganisme sehingga karies gigi dapat terjadi.[14] *Streptococcus mutans* dapat diisolasi dari plak maupun saliva.[15] Bila diperoleh jumlah *S. mutans* di atas 10^6 CFU/mL dari saliva total, maka hal tersebut menunjukkan aktivitas yang karies tinggi. Bila jumlah *S. mutans* di bawah 100.000 CFU/mL, hal tersebut menunjukkan aktivitas karies yang rendah.[7] Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai efek merokok terhadap kondisi saliva.

BAHAN DAN METODE

Dua puluh subjek pria berusia 17-25 tahun secara volunteer ikut dalam penelitian ini. Subjek tersebut dibagi atas dua kelompok, yaitu kelompok perokok dan bukan perokok. Kelompok perokok terdiri atas sepuluh subjek dengan frekuensi merokok 6-9 batang per hari dan durasi merokok selama 17-25 bulan. Kriteria pemilihan subjek dan prosedur pe-nelitian telah mendapat persetujuan dari Komisi Etika Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta melalui Surat Keterangan Kelaikan Etik (*Ethical Clearance*) No. KE/FK/183/EC tanggal 23 Februari 2011.

Pada pagi hari sebelum makan pagi dan menyikat gigi, subjek diminta untuk meludah pada tabung dengan metode tanpa stimulasi. Saliva yang telah terkumpul tersebut dilarutkan ke dalam *potassium phosphate buffer* 40mM hingga mencapai pengenceran 10^{-6}. Dari pengenceran tersebut diambil 1 mL larutan yang kemudian dibiakkan pada media agar TYS20B. Biakan tersebut diinkubasi selama 3 hari dalam inkubator anaerobik bersuhu 37°C. Setelah diinkubasi, media agar TYS20B yang sudah ditumbuhi koloni *S. mutans* dihitung menggunakan *Quebec colony counter*. Kriteria koloni yang diamati adalah koloni yang mampu tumbuh dalam plat sebanyak 30 hingga 300 koloni agar akurasi dan reliabilitas terjamin. Konsentrasi *S. mutans* pada sampel plak diketahui dengan mengalikan konsentrasi koloni bakteri yang terhitung dengan faktor pengenceran. Hasil hitung angka bakteri sebagai berikut :

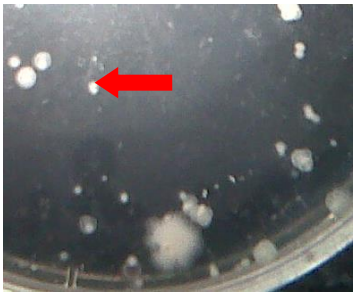
Konsentrasi bakteri: Z x 10 x 10^4 x 0,1 mL

10^4 = Faktor pengenceran
0,1 mL = Volume yang dibiakkan
Z = Konsentrasi koloni terhitung

Hasil penghitungan konsentrasi bakteri dianalisis menggunakan analisis uji t tidak berpasangan.

HASIL

Koloni *Streptococcus mutans* yang tumbuh pada media agar TYS20B dari sampel saliva kelompok perokok maupun kelompok bukan perokok disajikan pada Gambar 1. Pertumbuhan mikroba ini ditandai dengan koloni yang berwarna putih susu.



Gambar 1. Koloni *Streptococcus mutans* (tanda panah) pada media agar TYS20B

Hasil penelitian ini menunjukkan rerata jumlah koloni *S. mutans* dalam saliva pada kelompok perokok 174,76 ± 97,07 lebih banyak dibanding ke-

Edisi Cetak Dentika Dental Journal, Juli 2011 (ISSN: 1693-671X)

lompok bukan perokok 28,89 ± 18,57.

Hasil uji normalitas Saphiro-Wilk untuk kelompok perokok dan bukan perokok menunjukkan signifikansi sebesar 0,261 dan 0,394 yang menandakan bahwa kedua kelompok data tersebut terdistribusi normal. Data yang telah diuji normalitasnya dilanjutkan dengan uji varians (*Levene's test*) dengan signifikansi sebesar 0,000 yang berarti bahwa data tersebut memiliki data yang tidak homogen.

Hasil uji t tidak berpasangan diperoleh signifikansi sebesar 0,001. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa kebiasaan merokok mempengaruhi peningkatan jumlah bakteri *S. mutans* dalam saliva.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kebiasaan merokok selama 25-35 bulan dengan konsumsi 6-9 batang per hari menyebabkan peningkatan jumlah bakteri *S. mutans* dalam saliva. Hasil penelitian ini mendukung penelitian yang telah dilakukan oleh Avsar[16] yaitu pada anak-anak *passive smoking* menunjukkan kolonisasi *S. mutans* dan *lactobacilli* yang lebih tingg dibanding kelompok kontrol.

Paparan rokok memberikan dampak yang cukup besar terhadap sistem imun tubuh. Kandungan rokok seperti nikotin, serta asap rokok dapat menghambat sekresi laktoferin dan lizosim, menurunkan *secretory* IgA dan IgG dalam saliva, dan penurunan aktivitas *salivary peroxidase*.[17-19] Menurut Gregory dan Gfell[17] kandungan nikotin pada rokok dapat menghambat sekresi laktoferin dan lizosim pada sel epitel adenokarsinoma kolon. Hal yang sama dapat terjadi pada sekresi laktoferin dan lizosim di dalam rongga mulut yang berperan sebagai antimikroba. Laktoferin bersifat bakteriostatik dan bakterisida. Fungsi bakteriostatik laktoferin terjadi dengan cara membuat bakteri kekurangan zat besi sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat. Kemampuan bakterisida laktoferin karena laktoferin tersebut akan berikatan erat dengan amplop bakteri sehingga menyebabkan kerusakan membran sitoplasma akibat peroksidasi lipid.[20] Maka, peningkatan jumlah bakteri *S. mutans* pada perokok kemungkinan diakibatkan oleh penurunan sekresi laktoferin.

Nikotin rokok juga dapat menurunkan sekresi lizosim yang berfungsi dalam pertahanan tubuh. Lizosim dapat membunuh bakteri *S. mutans* dengan beberapa cara yaitu dengan merusak membran sel melalui tekanan osmotik atau dengan mengeluarkan zat autolisin untuk merusak dinding sel.[20] Penurunan sekresi lizosim pada perokok akan berdampak pada ketahanan rongga mulut melawan bakteri, termasuk *S. mutans* sehingga jumlah *S. mutans* dalam saliva akan meningkat.

Paparan rokok atau nikotin pada kelompok perokok berdampak pada penurunan *secretory* IgA dan serum IgG.[18] Nikotin dapat diabsorpsi melalui mukosa bukal, pH basa dari tembakau dapat mempercepat absorpsi nikotin.[21] Nikotin dapat menghambat langsung aksi sel T dan sel B yang akan menghasilkan imunoglobulin, termasuk IgG dan IgA.[22,23] *Secretory IgA* merupakan antibodi polireaktif di dalam saliva yang dapat berikatan dengan beragam bakteri dan antigen pejamu sebagai bentuk respon imun.[20] Serum IgG dapat ditemukan dalam cairan krevikular gingiva yang akan bergabung dengan saliva menjadi saliva total. Serum IgG berfungsi mencegah perlekatan bakteri dan mengaktifkan komplemen.[24,25] Pada perokok ditemukan serum IgG lebih rendah dibandingkan bukan perokok.[26] Oleh karena itu, pada perokok akan terjadi penurunan S-IgA dan serum IgG yang berakibat terhadap peningkatan *S. mutans.*

Menurut Hirsch, *S. mutans* memiliki reseptor *b2 nicotinic.* Reseptor tersebut dapat berikatan dengan nikotin sehingga terjadi peningkatan pertumbuhan bakteri *S. mutans*.[27] Hal tersebut kemungkinan yang dapat menyebabkan pada perokok dapat ditemui kenaikan jumlah *S. mutans.*

Hal lain yang dapat mempengaruhi jumlah *S. mutans* pada perokok adalah penurunan aktivitas *Salivary peroxidase* yang merupakan antioksidan dalam pertahanan tubuh.[28] *Salivary peroxidase* berperan dalam katalisis tiosianat dan halida oleh hidrogen peroksidase sehingga terbentuk *hypothiocyanate* ($OSCN^-$) yang berperan dalam menghambat pertumbuhan dan produksi asam bakteri, termasuk bakteri *Streptococcus*.[20] Pada waktu terjadi penurunan aktivitas *salivary peroxidase* pada perokok, pertumbuhan dan produksi asam bakteri, termasuk *S. mutans* akan meningkat.

Pada waktu merokok, akan dihasilkan asap rokok. Menurut Zonus,[29] asap rokok yang dihasilkan dapat mempengaruhi pertumbuhan *S. mutans*. *Streptococcus mutans* yang hidup di pada lingkungan asap rokok menunjukkan rerata diameter koloni lebih besar dibanding *S. mutans* yang hidup dalam udara biasa. Bahkan bakteri *S. mutans* yang dipindahkan dari lingkungan asap rokok dan dibiarkan tumbuh dalam udara biasa menunjukkan penurunan rerata diameter koloni. Rokok yang dibakar akan mengkonsumsi oksigen dan menghasilkan karbondioksida. Peningkatan tekanan karbondioksida akan meningkatkan pertumbuhan *S. mutans*, maka diduga pula asap rokok dapat meningkatkan jumlah *S. mutans* di dalam saliva perokok. Dapat disimpulkan bahwa merokok dapat meningkatkan jumlah *S. mu-*

Edisi Cetak Dentika Dental Journal, Juli 2011 (ISSN: 1693-671X)

tans dalam saliva.

Daftar Pustaka

1. Allen R, Delahunty A. Oxford Primary Dictionary. Oxford: Oxford University Press, 2006: 391.
2. Vingerhoets A. Assessment in behavioral medicine. New York: Brunner-Routledge, 2001: 267.
3. Lopez LFP, Beldia MD, Pangan RJ, Dagoon JD. Physical education, health, and music III. Manila: Rex Bookstore Inc., 2000: 138.
4. Badan Litbangkes. Konsumsi rokok dan prevalensi merokok.<http://www.litbang.depkes.go.id/tobaccofree/media/TheTobaccoSourceBook/BukuTembakau/ch.1-march.ino_SB1.mar04.pdf. 2004> (15/01/11).
5. Sitepoe M. Kekhususan rokok Indonesia. Jakarta: PT. Grasindo, 2000: 23, 32.
6. Campus G, Cagetti MG, Senna A, Blasi G, Mascolo A, Demarchi P, et al. Does smoking increase risk for caries? A cross-sectional study in an Italian Military Academy. Caries Res 2011; 45: 40-6.
7. Samaranayake LP. Essential microbiology for dentistry. Edinburgh: Churcill Livingstone, 2002: 217, 269.
8. Koga-Ito CY, Martins CAP, Balducci I, Jorge AOC. Correlation among mutans Streptococcus counts, dental caries, and IgA to *Streptococcus mutans* in saliva. Braz Oral Res 2004; 18(4): 350-5.
9. Hedge PP, Ashok KBA, Ankola VA. Dental caries experience and salivary levels of *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli* in 13-15 years old children of Belgaum City, Karnataka. J Indian Soc Pedo Prev Dent 2005; 23-6.
10. Saraf S. Textbook of oral pathology. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers, 2006: 162-5.
11. Bhatia R, Ichhpujani RL. Microbiology for dental students, 3rd ed., New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers, 2003: 254, 259.
12. Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ. Prescott's principles of microbiology. New York: McGraw-Hill, 2008: 743.
13. Quivey Jr RG. Caries, In. Lamont RJ, Burne RA, Lantz MS, Leblanc DJ. Oral microbiology and immunology, Washington DC: ASM Press, 2006; 235.
14. Cossart P, Boquet P, Normark S, Rappuoli R. Celullar microbiology, Edisi 2, Washington DC: ASM Press, 2005: 51.
15. Baca P, Castillo AM, Baca AP, Lie'bana MJ, Junco P, Lie'bana J. Genotypes of *Streptococcus mutans* in saliva versus dental plaque, Arch Oral Biology 2008; 53: 751-4.
16. Avsar A., Darkab Ö, Topaloğlua B., Bekc Y. Association of passive smoking with caries and related salivary biomarkers in young children, Arch Oral Biology 2008; 53(10): 969-74.
17. Gregory RL, Gfell LE. Effect of nicotine on secretory component synthesis by secretory epithelial cells, Clin Diagn Lab Immunol 1996: 3: 578-83.
18. Johnson GK, Hill M. Cigarette smoking and the periodontal patient. J Periodontal 2004; 75 (2): 196-209.
19. Goi N, Hirai Y, Harada H, Ikari A, Ono T, Kinae N, et al. Comparison of peroxidase response to mental arithmetic stress in saliva of smokers and non-smokers. J Toxiccol Sci 2007; 32(2): 121-7.
20. Cole MF, Lydyard PM. Oral microbiology and the immune response, In: Lamont RJ, Burne RA, Lantz MS, LeBlanc DJ. Oral Microbiology and Immunology. Washington DC: ASM Press, 2006: 211-13.
21. Flomenbaum N, Goldfrank LR, Hoffman RS, Howland MA, Lewin NA, Nelson LS. Goldfrank's toxicological emergencies, 8th ed. New York: McGraw Hill, 2006: 1223.
22. Cho C-H, Purohit V. Alcohol, tobacco and cancer, Basel: Karger, Basel, 2006: 263.
23. Kresno SB. Imunologi: Diagnosis dan prosedur laboratorium. Jakarta: Balai Penerbit FKUI 2000: 16.
24. Marsh P, Martin MV. Oral microbiology, Edisi 4. Oxford: Wright, 2005: 17.
25. Pawliszyn J. Sampling and sample preparation for field and laboratory. Amsterdam: Elsevier, 2002: 787.
26. Al-Ghamdi H, Anil S. Serum antibody levels in smoker and non-smoker Saudi subjects with chronic periodontitis, J Periodontol 2007; 78: 1043-50.
27. Hirsch H. b2 Receptor Activation of *Streptococcus mutans*, <http://iadr.confex.com/iadr/2011sandiego/preliminary program/abstract_145300.htm. 2011> (25/04/11).
28. Reznick AS, Klein I, Eiserich JP, Cross CE, Nagler RM. Inhibition of oral peroxidase activity by cigarettte smoke: In vivo and In vitro Studies. Free Radic Biol Med 2003; 34(3): 377-84 (*Abstrak)*.
29. Zonus AT, Rahmati A, Mortazavi H, Khashabi E, Farahani RM. Effect of cigarette smoke exposure on the growth of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*: An In Vitro Study. Nicotine and tob Res 2008; 10 (1): 63-7.