

PENGARUH JUMLAH KOLONI BAKTERI PLAK SUBGINGIVA TERHADAP JUMLAH TOTAL LEUKOSIT SELAMA KEHAMILAN

Depi Praharani

Bagian Periodonsia

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Abstract

Gingivitis can occur during pregnancy. It is caused by subgingival plaque bacterial. They can enhance because level of estrogen and progesterone are elevated during pregnancy. At patient gingivitis showed that total count of leucocyte is bigger than patients with normal periodontal tissues. The objective of this study was to investigate the influence of the number of subgingival plaque bacterial colonies to total count of leucocyte in blood periphery. Subgingival plaque samples were collected from buccal surface of maxillary first molar. Hereinafter blood taken away from vein periphery and counted by total count leucocyte. The obtained data were analyzed with linear regression test. Statistical analysis showed that the influence of the number of subgingival plaque bacterial colonies to total count of leucocyte in blood periphery was found to be significant ($P < 0.05$). The conclusion is that the number of subgingival plaque bacterial colonies can increase total count of leucocyte in blood periphery.

Key words: *subgingival plaque bacterial, leucocyte, pregnancy*

Korespondensi (correspondence) : Depi Praharani, Bagian Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember Jl. Kalimantan 37 Jember 68121, Indonesia, Telp.(0331)333536

PENDAHULUAN

Kehamilan merupakan proses alamiah dimana terjadi perubahan keseimbangan hormon yang dapat menyebabkan perubahan pada seluruh organ tubuh manusia. Masa kehamilan terbagi menjadi tiga periode yaitu kehamilan trimester pertama, kehamilan trimester kedua dan kehamilan trimester ketiga.¹ Pada pertengahan trimester pertama, estrogen dan progesteron tidak dihasilkan lagi oleh korpus luteum gravidatis, melainkan oleh plasenta. Produksi estrogen meningkat perlahan-lahan dan mencapai puncaknya pada akhir kehamilan.² Progesteron adalah hormon yang penting untuk kehamilan, selain disekresi dalam jumlah sedang oleh korpus luteum pada permulaan kehamilan, progesteron juga disekresi dalam jumlah sangat besar oleh plasenta, kadang-kadang sebanyak 1 gram/hari menjelang akhir kehamilan.³

Pada masa kehamilan insiden gingivitis bertambah parah hingga bulan kedelapan kemudian menurun. Gingivitis merupakan peradangan pada gingiva, dengan faktor penyebab primernya adalah bakteri plak terutama plak subgingiva. Sedangkan faktor sekundernya dapat lokal atau sistemik. Faktor sistemik adalah faktor yang mempengaruhi tubuh secara keseluruhan, misalnya: faktor genetik, nutrisi, hormonal dan hematologi.⁴

Pada penderita gingivitis jumlah total leukosit lebih besar daripada penderita dengan jaringan periodontal normal. Leukosit atau sel darah putih mempunyai peranan yang sangat penting pada respons peradangan karena sel ini menyediakan pertahanan yang cepat dan kuat terhadap setiap bahan infeksius yang mungkin ada.³

Leukosit mengalami peningkatan apabila kelenjar adrenal dirangsang, baik secara farmakologis maupun sebagai respons terhadap kebutuhan fisiologis. Peningkatan leukosit juga dapat terjadi akibat infeksi bakteri maupun mikroba lain yang infeksius dan toksik.⁵

Adanya peningkatan insiden gingivitis pada masa kehamilan tersebut yang melatarbelakangi tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh jumlah koloni bakteri plak subgingiva sebagai faktor primer penyebab peradangan gingiva terhadap jumlah total leukosit sebagai respons terhadap peradangan yang terjadi selama kehamilan.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian adalah observasional dengan rancangan *kohort*, dilakukan pada ibu hamil yang datang di Puskesmas Kaliwates (Kecamatan Kaliwates-Kabupaten Jember) pada bulan Januari 2007 dan memenuhi kriteria yang sudah ditentukan yaitu: umur 23-35 tahun, usia kehamilan trimester I, tidak memakai gigi tiruan/piranti ortodontia, tidak mempunyai kelainan sistemik, tidak mempunyai kebiasaan buruk, gigi tidak malposisi, tidak menggunakan antibiotik/obat kumur minimal 6 bulan sebelum penelitian dan menandatangani *informed consent*. Jumlah subyek penelitian sebanyak 10 orang yang dipilih dengan metode *purposive sampling*. Subyek penelitian diikuti dari usia kehamilan trimester I sampai trimester III.

Prosedur penelitian meliputi:

Pengambilan sampel bakteri plak subgingiva

Satu jam sebelum pengambilan sampel bakteri plak subgingiva, subyek

diinstruksikan untuk tidak menyikat gigi dan tidak makan/minum. Plak supragingiva pada permukaan bukal molar pertama rahang atas dibersihkan, kemudian dilakukan pengambilan sampel bakteri plak subgingiva pada permukaan gigi tersebut menggunakan *excavator*. Sampel yang sudah didapat dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 0,5 ml larutan PZ dan divibrasi selama 15 detik. Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai 10^{-2} dan diambil sebanyak 0,1 ml untuk ditanam pada media TSA dengan *pour plate technique*. Media biakan tersebut kemudian dimasukkan *desicator* dan dieramkan dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C . Setelah 24 jam dilakukan penghitungan jumlah koloni menggunakan *colony counter*.

Pengambilan darah vena

Torniquet dipasang pada lengan atas, kemudian kulit didesinfeksi dengan alkohol 70% dan dikeringkan menggunakan kapas steril. Menegangkan kulit pada bagian distal dari vena untuk fiksasi vena dengan bantuan ibu jari kiri. Selanjutnya jarum ditusukan perlahan-lahan dengan lubang jarum menghadap ke atas. Setelah terlihat darah memasuki jarum, pengambilan dilanjutkan dengan menarik sempritnya. Apabila pengambilan darah sudah cukup, *torniquet* dilepaskan dan sepotong kapas steril diletakkan pada tempat tusukan bersamaan dengan dikeluarkannya jarum secara perlahan-lahan. Subyek diminta untuk menekan kapas tadi selama 1-2 menit sambil mengangkat lengannya ke atas. Darah yang sudah terambil dimasukkan perlahan-lahan ke dalam botol dengan melepas jarum dari sempritnya supaya tidak timbul buih. Kemudian ditambahkan antikoagulan (EDTA) dan darah segera dikocok perlahan-lahan dengan gerakan melingkar di atas meja supaya tercampur merata.

Pengisian pipet leukosit

Darah yang sudah dicampur antikoagulan dihisap ke dalam pipet sampai tepat pada garis tanda 0,5. Kelebihan darah yang melekat pada ujung pipet dihapus. Ujung pipet dimasukkan dalam larutan *Turk* sambil menahan darah pada garis tanda tadi. Pipet dipegang dengan sudut 45° dan larutan *Turk* dihisap perlahan-lahan

sampai garis tanda 11. Setelah itu pipet diangkat dari cairan, ujung pipet ditutup dengan ujung jari dan karet penghisap dilepas. Pipet kemudian dikocok selama 15-30 detik.

Pengisian kamar hitung.

Kamar hitung yang bersih diletakkan dengan kaca penutupnya yang terpasang mendatar di atas meja. Pipet yang sudah diisi dikocok terus menerus selama 3 menit. Semua cairan yang ada di dalam batang kapiler pipet dibuang (3 atau 4 tetes) dan segera ujung pipet disentuh dengan sudut 30° pada permukaan kamar hitung dengan menyinggung pinggir kaca penutup. Kamar hitung dibiarkan terisi cairan perlahan-lahan dengan daya kapilaritasnya sendiri dan dibiarkan selama 2 atau 3 menit supaya leukosit-leukosit dapat mengendap.

Penghitungan jumlah total leukosit

Kamar hitung dengan bidang bergarisnya diletakkan di bawah lensa obyektif (pembesaran 10x) dengan posisi meja mikroskop datar dan diafragma dikecilkan. Fokus mikroskop diarahkan pada garis-garis bagi tersebut agar leukosit-leukosit jelas terlihat dan dihitung semua leukosit yang terdapat dalam keempat "bidang besar" pada sudut-sudut "seluruh permukaan yang dibagi". Jumlah semua leukosit yang dihitung dalam keempat bidang itu dibagi 4 yang menunjukkan jumlah leukosit dalam $0,1 \mu\text{l}$ darah. Angka tersebut dikalikan dengan 10 (untuk tinggi) dan 20 (untuk pengenceran) agar didapat jumlah leukosit dalam $1 \mu\text{l}$ darah. Secara singkat, jumlah leukosit yang dihitung dikalikan 50 = jumlah leukosit per μl darah. Semua prosedur di atas dilakukan pada trimester I, II dan III.

HASIL

Hasil penelitian jumlah koloni bakteri plak subgingiva menunjukkan rerata tertinggi pada usia kehamilan trimester ketiga sebesar 303,3 yang diikuti usia kehamilan trimester kedua dengan rerata sebesar 197,1 dan terendah pada usia kehamilan trimester pertama dengan rerata sebesar 178,4 (Tabel 1).

Tabel 1 Rerata jumlah koloni bakteri plak subgingiva (*cfu*) selama kehamilan

| | Trimester I | Trimester II | Trimester III |
|------|-------------|--------------|---------------|
| Mean | 178,4 | 197,1 | 303,3 |
| SD | 9,64 | 12,99 | 14,7 |

Mean : Rerata

SD : Standart Deviasi

Sedangkan hasil penelitian jumlah total leukosit menunjukkan bahwa rerata tertinggi pada usia kehamilan trimester ketiga sebesar 9610, diikuti usia kehamilan trimester

kedua dengan rerata sebesar 8810 dan terendah pada usia kehamilan trimester pertama dengan rerata sebesar 7360 (Tabel 2).

Tabel 2 Rerata jumlah total leukosit (*cmm*) selama kehamilan

| | Trimester I | Trimester II | Trimester III |
|------|-------------|--------------|---------------|
| Mean | 7360 | 8810 | 9610 |
| SD | 377,7124 | 392,8528 | 268,5351 |

Mean : Rerata
Sd : Standart Deviasi

Hasil uji ANOVA untuk jumlah koloni bakteri plak subgingiva adalah 393,718 dengan probabilitas 0,000 (Tabel 3) dan untuk jumlah total leukosit adalah 199,232 dengan probabilitas 0,000 (Tabel 4).

Tabel 3 Hasil uji ANOVA satu arah terhadap jumlah koloni bakteri plak subgingiva

ANOVA

Jml Koloni

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | 156420.9 | 3 | 52140.292 | 393.718 | .000 |
| Within Groups | 4767.500 | 36 | 132.431 | | |
| Total | 161188.4 | 39 | | | |

Tabel 4 Hasil uji ANOVA satu arah terhadap jumlah total leukosit

ANOVA

Jml Leukosit

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | 69698000 | 3 | 23232666.67 | 199.232 | .000 |
| Within Groups | 4198000 | 36 | 116611.111 | | |
| Total | 73896000 | 39 | | | |

Untuk membedakan lebih lanjut dan menentukan kelompok yang berbeda bermakna maka dilakukan uji *Least Standart Deviation* (LSD).

Tabel 5 Hasil uji LSD terhadap jumlah koloni bakteri plak subgingiva

| | Trimester I | Trimester II | Trimester III |
|---------------|-------------|--------------|---------------|
| Trimester I | - | 0,001* | 0,000* |
| Trimester II | - | - | 0,000* |
| Trimester III | - | - | - |

Hasil uji LSD pada tabel 5 menunjukkan nilai probabilitas untuk jumlah koloni bakteri plak subgingiva adalah 0,000 dan 0,001 ($P < 0,05$); sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar trimester kehamilan.

Tabel 6 Hasil uji LSD terhadap jumlah total leukosit

| | Trimester I | Trimester II | Trimester III |
|---------------|-------------|--------------|---------------|
| Trimester I | - | 0,000* | 0,000* |
| Trimester II | - | - | 0,000* |
| Trimester III | - | - | - |

Hasil uji LSD pada tabel 6 menunjukkan nilai probabilitas untuk jumlah total leukosit adalah 0,000 ($P < 0,05$); sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar trimester kehamilan.

Tabel 7 Hasil uji model *summary* jumlah koloni bakteri plak subgingiva terhadap jumlah total leukosit

Model Summary

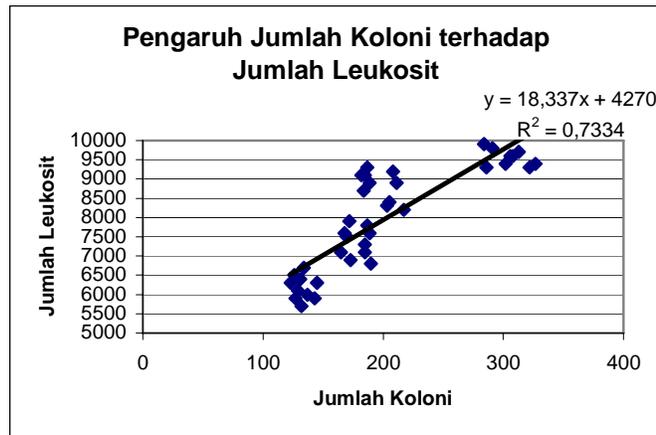
| Model | R | R Square | Adjusted R Square | Std. Error of the Estimate |
|-------|-------------------|----------|-------------------|----------------------------|
| 1 | .856 ^a | .733 | .726 | 33.62720 |

a. Predictors: (Constant), Jml Koloni

Hasil uji model *summary* pada tabel 7 menunjukkan koefisien determinasi sebesar 0,856 yang artinya pengaruh jumlah koloni bakteri plak subgingiva terhadap jumlah total leukosit adalah 85,6% dan sisanya 14,4% dipengaruhi oleh faktor lain.

Dari hasil uji regresi linier didapatkan persamaan regresi $y=18,337x + 4270$; dimana y =jumlah total leukosit dan x =jumlah koloni bakteri plak subgingiva. Konstanta sebesar 4270 mempunyai arti bahwa jika tidak ada kehamilan jumlah total leukosit adalah 4270. Penambahan konstanta menunjukkan pengaruh yang nyata ($p<0,05$). Koefisien

regresi x sebesar 18,337 mempunyai arti bahwa setiap peningkatan jumlah koloni bakteri plak subgingiva akan meningkatkan jumlah total leukosit sebesar 18,337; dimana pengaruh jumlah koloni bakteri plak subgingiva sangat nyata terhadap jumlah total leukosit ($p<0,05$). Grafik pengaruh jumlah koloni bakteri plak subgingiva terhadap jumlah total leukosit dapat dilihat pada Gambar 1. Grafik ini menunjukkan bahwa semakin meningkat jumlah koloni bakteri plak subgingiva, maka jumlah total leukosit juga akan semakin meningkat.



Gambar 1 Grafik pengaruh jumlah koloni bakteri plak subgingiva terhadap jumlah total leukosit

DISKUSI

Awal masa kehamilan trimester pertama, estrogen dan progesteron dihasilkan oleh korpus luteum. Namun pada pertengahan trimester pertama estrogen dan progesteron tidak dihasilkan oleh korpus luteum melainkan oleh plasenta. Produksi estrogen meningkat perlahan-lahan dan mencapai puncaknya pada akhir kehamilan. Kadar estrogen yang dibentuk oleh plasenta dapat mencapai 40 ng sehari.² Progesteron mencapai 100 ng/ml, sepuluh kali fase puncak luteal menstruasi. Konsentrasi yang tinggi dari hormon seksual selama kehamilan juga ditemukan pada jaringan gingiva, saliva, serum dan cairan krevikular.⁶ Menurut Vittiek *et al.* gingiva manusia mempunyai reseptor-reseptor untuk progesteron dan estrogen; oleh karena itu ketika hormon-hormon tersebut meningkat dalam plasma, terjadi juga meningkatannya dalam jaringan gingiva.⁷

Hasil penelitian ini memperlihatkan jumlah koloni bakteri plak subgingiva dan

jumlah total leukosit meningkat dari trimester I sampai trimester III. Estrogen berperan dalam mengatur proliferasi seluler, diferensiasi dan keratinisasi; sedangkan progesteron merubah kecepatan dan pola produksi kolagen, meningkatkan kerusakan folat yang dibutuhkan dalam pemeliharaan jaringan⁶ serta meningkatkan aliran cairan krevikular gingiva.⁸ Cairan krevikular adalah cairan yang selalu membasahi sulkus gingiva dan mengandung banyak substansi terutama karbohidrat dan protein yang dibutuhkan bakteri anaerob untuk pertumbuhannya.⁹ Konsentrasi hormon seksual yang meningkat dalam cairan krevikular selama kehamilan juga menyediakan nutrisi bagi pertumbuhan bakteri tersebut.⁶ Bakteri anaerob merupakan bakteri patogen periodontal yang banyak dijumpai pada plak subgingiva, seperti: *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*,

Peptostreptococcus micros, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*. Hasil beberapa penelitian terdahulu melaporkan *P. intermedia* meningkat secara signifikan sesuai dengan kenaikan estradiol dan progesteron. Hal ini disebabkan estradiol atau progesteron dapat menggantikan *menadione* (vitamin K) yang merupakan faktor pertumbuhan yang esensial untuk *P. intermedia*. *P. gingivalis* selama minggu ke-21 sampai minggu ke-27 juga mengalami peningkatan meskipun tidak signifikan secara statistik. Peningkatan ini diduga disebabkan adanya peningkatan hormon seksual yang menyediakan *naphthoquinon* bagi pertumbuhan spesies ini.^{6,7,9} Hasil ini sesuai dengan pernyataan Slots dan Taubman bahwa hormon seksual yang diproduksi selama kehamilan mempengaruhi jumlah dan macam bakteri pada plak subgingiva.¹⁰

Progesteron diketahui juga mempengaruhi vaskularisasi gingiva dan merubah permeabilitas kapiler,^{8,11} sehingga adanya akumulasi bakteri plak subgingiva meskipun sedikit sudah dapat mengakibatkan respons peradangan pada jaringan periodontal.¹² Pada respons peradangan yang mempunyai peranan penting adalah leukosit karena sel darah putih ini menyediakan pertahanan yang cepat dan kuat terhadap setiap bahan infeksius yang mungkin ada.³

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa jumlah bakteri plak subgingiva mempengaruhi jumlah total leukosit sebesar 85,6%. Jadi dengan meningkatnya jumlah bakteri plak subgingiva juga akan meningkatkan jumlah total leukosit. Faktor lain yang mempengaruhi jumlah total leukosit sebesar 14,4% mungkin disebabkan adanya penyakit-penyakit infeksi lain pada wanita hamil yang tidak terdeteksi oleh peneliti. Peningkatan leukosit dapat dijumpai pada infeksi bakteri maupun mikroba lain yang infeksius dan toksik.³ Selain itu bakteri plak dapat menyebar melalui peredaran darah sebagai akibat dari perlukaan pada gingiva saat aktivitas penyikatan gigi dan/atau pengunyahan makanan.^{13,14,15} Apabila bakteri plak masuk ke pembuluh darah dan ikut dalam sirkulasi darah, maka dapat menyebabkan penyebaran infeksi kemana-mana. Leukosit mengalami peningkatan apabila kelenjar adrenal dirangsang, baik secara farmakologis maupun sebagai respons terhadap kebutuhan fisiologis seperti olahraga atau pemaparan terhadap suhu yang ekstrim.¹⁴ Kemungkinan juga dengan adanya janin pada rahim wanita hamil dapat dianggap sebagai benda asing yang menyebabkan peningkatan leukosit.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut: jumlah koloni bakteri plak subgingiva mempengaruhi jumlah total leukosit yaitu dengan meningkatnya jumlah koloni bakteri

plak subgingiva, maka jumlah total leukosit juga akan meningkat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mansjoer, Arif. Kapita Selekta Kedokteran I. Edisi 3. Jakarta: Media Aesculapius Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2001.
2. Prawiroharjo, Sarwono. Ilmu Kandungan. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka. 1999.
3. Guyton, Arthur & John Hall. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 9. Terjemahan Irawati Setiawan dari Text Book of Medical Physiology. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 1997.
4. Eley B.M. and J.D. Manson. Periodontics. 5th edition. Edinburgh: Wright. 2004.
5. Newman. M.G., Takei, H.H., Klokkevold, P.R., Carranza, F.A. Carranza's Clinical Periodontology. 10th edition. St. Louis: Saunders Elsevier. 2006.
6. Preckshot, John. Women Oral Health, is There Hormonal Link? International Journal of Pharmaceutical Compounding. 2004; 8(1): p.10-4.
7. Wilson, T.G., Kornman. Fundamental of Periodontics. London: Quiescence Book. 1996.
8. Muramatsu, Y & Takaesu, Y. Oral Health Status Related to Subgingival Bacterial Flora and Sex Hormones in Saliva during Pregnancy. Bull Tokyo Dent Coll. 2001; 35; p.139-51.
9. Slots & Taubman. Contemporary Oral Microbiology and Immunology. Missouri: Mosby Year Book Inc. 1992.
10. Davenport, E.S., Wiliam, C.E., Sterne, J.A. The East London Study of Maternal Chronic Periodontal Disease and Preterm Low Birth Weight Infant: Study Design and Prevalence Data I. Ann Periodontol. 1998; 3; p.213-23.
11. Picard, D. Periodontal Disease: Prevention en Practique Medicale. 2003. <http://www.santepub-mtl.qc.ca/>.
12. Silver, J.G., Martin, A.W., McBride, B.C. Experimental Transient Bacteremias in Human Subjects with Varying Degrees of Plaque Accumulation and Gingival Inflammation. J Clin Periodontol. 1977; 4; p.92-9.
13. Widman, F.K. Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Edisi 9. Terjemahan Bagian Patologi Klinik

FKUI/RSCM dari Clinical Interpretation of Laboratory Test. Jakarta: EGC. 1995.

14. Sabine O.G., *et al.* Systemic Release of Endotoxins Induced by Gentle Mastication: Association with Periodontitis Severity. J Periodontol. 2002; 73: p.73-8.
15. Offenbacher, S., *et al.* Potential Pathogenic Mechanism of periodontitis Associated Pregnancy Complications. Ann Periodontol. 1998; 3: p.233-50.