
PERBEDAAN KADAR *NITRIC OXIDE* SALIVA PADA PEREMPUAN PENYIRIH SUKU KARO DENGAN DAN TANPA PINANG SEBAGAI POTENSIAL KARSINOGENIK

(COMPARATIVE STUDY OF SALIVARY NITRIC OXIDE LEVEL ON KARONESE FEMALES'S BETEL QUID CHEWER WITH AND WITHOUT ARECA NUT AS POTENTIAL CARCINOGENIC)

Sondang Pintauli*, Rehulina Ginting**, Desy Purnama Sari*

*Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Pencegahan/Kesehatan Gigi Masyarakat

**Departemen Biologi Oral

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Sumatera Utara

Jl. Alumni no.2 Kampus USU Medan 20155

E-mail: sondangp@yahoo.com

Abstract

The aim of this study was to measured salivary nitric oxide (NO) level correlated to betel quid chewing (BQC) habit with and without areca nut (AN) on Karonese females. The study used cross-sectional design that involved 22 female betel quid chewers aged between 30-60 years old in Pancur Batu subdistrict, consist of 11 chewers with AN and 11 without AN. The saliva collected for stimulated saliva and salivary NO level measured by spectrophotometer using griess reaction method. The datas was analyzed by paired t-test to analyze the difference of salivary NO level from group with and without AN, pearson correlation to analyze the correlation of BQC habit with salivary NO level and the mass of AN with salivary NO level. Hence, multiple linear regression using stepwise method to analyze the most affected factor of BQC habit to salivary NO level. Mean of the salivary NO with AN $287.61 \pm 158.31 \mu\text{M}$ and without AN $184.87 \pm 59.42 \mu\text{M}$. Analyzed result showed that there was significant differential correlation of salivary NO level with and without AN ($p=0.077$). On group with AN, salivary NO level had strong correlation with exposure ($r=0.736$), frequency ($r=0.796$) and duration of BQC ($r=0.814$). Furthermore, group without AN also had strong correlation with exposure ($r=0.929$), frequency ($r=0.906$) and duration of BQC ($r=0.935$). Multiple linear regression analysis revealed that duration was the most affected to the increasing of salivary NO with AN $y=-30.479+33.009x$ and without AN $y=20.949+17.172x$. In conclusion, increasing salivary NO level with areca nut were more significant than without areca nut.

Key words: betel quid chewing, *areca nut*, *nitric oxide*, *griess reaction*

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengukur kadar NO saliva pada perempuan penyirih suku Karo yang menggunakan dan tidak menggunakan pinang dihubungkan dengan perilaku menyirih. Penelitian ini menggunakan desain *cross-sectional* yang dilakukan pada 22 orang perempuan penyirih Suku Karo berusia 30-60 tahun di Kecamatan Pancur Batu, terdiri atas 11 kelompok penyirih yang menggunakan pinang dan 11 tanpa pinang. Pengumpulan saliva yaitu saliva yang distimulasi dan pengukuran kadar NO saliva dilakukan dengan spektrofotometer menggunakan metode *griess reaction*. Data dianalisis dengan uji t berpasangan untuk mengetahui perbedaan kadar NO saliva pada kelompok yang menggunakan dan tidak menggunakan pinang, uji korelasi Pearson untuk melihat hubungan perilaku menyirih dengan kadar NO saliva dan hubungan berat pinang dengan kadar NO saliva. Sedangkan regresi linear berganda dengan metode *stepwise* digunakan untuk menganalisis perilaku kebiasaan menyirih yang paling berpengaruh terhadap kadar NO saliva. Rerata kadar NO saliva pada kelompok yang menggunakan pinang $287,61 \pm 158,31 \mu\text{M}$ dan tidak menggunakan pinang $184,87 \pm 59,42 \mu\text{M}$. Hasil analisis data menunjukkan perbedaan kadar NO saliva yang signifikan antara kelompok yang menggunakan dengan tidak menggunakan pinang ($p=0,077$). Pada kelompok yang menggunakan pinang, peningkatan kadar NO saliva memiliki korelasi yang kuat terhadap lama kebiasaan ($r=0,736$), frekuensi ($r=0,796$) dan lama paparan menyirih ($r=0,814$). Demikian juga pada kelompok yang tidak menggunakan pinang, peningkatan kadar NO saliva memiliki korelasi yang kuat terhadap lama kebiasaan ($r=0,929$), frekuensi ($r=0,906$) dan lama paparan menyirih

($r=0,935$). Hasil analisis regresi linear berganda menunjukkan bahwa faktor yang sangat berpengaruh terhadap peningkatan kadar NO saliva adalah lama paparan menyirih dengan persamaan $y=-30,479+33,009x$ pada kelompok yang menggunakan pinang dan $y=20,949+17,172x$ tidak menggunakan pinang. Sebagai kesimpulan, peningkatan kadar NO saliva pada kelompok yang menggunakan pinang lebih signifikan dibandingkan kelompok yang tidak menggunakan pinang.

Kata kunci: kebiasaan menyirih, pinang, *nitric oxide*, *griess reaction*

PENDAHULUAN

Kebiasaan menyirih merupakan suatu tradisi turun-temurun yang telah berlangsung semenjak berabad-abad yang lalu dan sulit untuk ditinggalkan. Secara global, hampir 600 juta individu (diperkirakan sebanyak 10% dari total penduduk dunia) mengunyah sirih. Berdasarkan Laporan Profil Provinsi Sumatera Utara tahun 2013, proporsi Kabupaten/Kota dengan penduduk yang memiliki perilaku menyirih setiap hari tertinggi adalah Karo (17,5%), diikuti Nias (17,1%), Nias Selatan (14,4%), Nias Barat (12,5%) dan Nias Utara (10,3%). Kebiasaan menyirih merupakan kebiasaan yang sudah menjadi tradisi, khususnya di Kabupaten Karo. Sirih yang lebih sering disebut dengan “belo” sangat identik dengan kebudayaan Karo yang hanya dilakukan oleh wanita khususnya yang telah berumah tangga dibandingkan pria, sebab pada upacara-upacara adat Karo pria lebih sering disuguhkan rokok.¹⁻³

Hasil studi meta-analisis menyatakan bahwa kebiasaan menyirih berisiko menyebabkan terjadinya morbiditi kanker rongga mulut dan bahkan mortaliti.⁴ Meskipun kebiasaan menyirih diketahui sebagai faktor predisposisi terjadinya kanker rongga mulut tetapi kebiasaan ini sangat sulit untuk ditinggalkan, sebab komponen menyirih yaitu pinang diklaim sebagai zat paling psikoaktif keempat di dunia, setelah kafein, alkohol dan nikotin yang dapat menimbulkan rasa ketagihan dan euforia. Pinang sebagai salah satu komposisi bahan menyirih diketahui memiliki senyawa alkaloid yang dapat memicu pembentukan *nitric oxide* (NO) sebagai potensial karsinogenik.^{4,5}

NO merupakan gas radikal bebas yang relatif stabil dan mudah berdifusi ke dalam membran sel serta mudah bereaksi dengan molekul biologis lainnya. Beberapa studi menyatakan bahwa kadar NO dalam jumlah yang banyak dapat bereaksi menjadi komponen toksik dan mengarah pada kondisi prekanker, seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Panjwani pada tahun 2013 yang menunjukkan bahwa kadar NO dalam saliva pada kelompok subjek yang disertai *Oral Lichen Planus* (OLP) adalah 20-90 μM , lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok subjek normal dan sehat yaitu sebesar 5-13 μM .⁷

Kadar NO juga mengalami peningkatan yang signifikan pada subjek dengan kebiasaan tertentu, se-

perti pada penelitian yang dilakukan oleh Wadhwa et al. menunjukkan bahwa kadar NO mengalami peningkatan pada kelompok subjek yang merokok disertai dengan periodontitis yaitu $153,84 \pm 44,04 \mu\text{M}$ dibandingkan kadar NO pada subjek sehat yang tidak merokok yaitu $27,70 \pm 8,04 \mu\text{M}$,⁸ sehingga dengan jumlah NO yang semakin meningkat dapat dijadikan sebagai prediktor (*messenger of death*) terjadinya keadaan patologis dan bahkan kematian.⁶ Walaupun demikian, penelitian mengenai kadar NO dalam saliva khususnya pada komunitas penyirih masih jarang dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kadar NO saliva dan keterkaitannya dengan perilaku menyirih, oleh karena peningkatan kadar NO berpotensi memicu pembentukan *nitrosamine* yang akan meningkatkan risiko terjadinya kanker rongga mulut.^{6,8}

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada 22 perempuan penyirih Suku Karo berusia 30-60 tahun di Kecamatan Pancur Batu menggunakan desain *cross-sectional* yang terdiri atas 11 kelompok penyirih yang menggunakan pinang dan 11 tidak menggunakan pinang. Data karakteristik responden diperoleh melalui pengisian kuesioner. Pengumpulan saliva menggunakan saliva *stimulated*, selanjutnya pengukuran kadar NO saliva dilakukan dengan spektrofotometer menggunakan metode *griess reaction*. Data dianalisis dengan uji t berpasangan untuk mengetahui perbedaan kadar NO saliva pada kelompok yang menggunakan dan tidak menggunakan pinang, uji korelasi Pearson untuk melihat hubungan perilaku menyirih dengan kadar NO saliva dan hubungan berat pinang dengan kadar NO saliva. Sedangkan untuk menganalisis perilaku kebiasaan menyirih yang paling berpengaruh terhadap kadar NO saliva menggunakan regresi linear berganda dengan metode *stepwise*.

HASIL

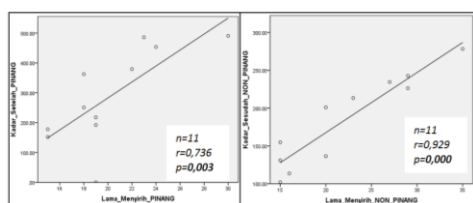
Tabel 1 menunjukkan rerata kadar NO dalam saliva pada kelompok perempuan penyirih yang menggunakan pinang yaitu $287,61 \pm 158,31 \mu\text{M}$ dan tidak menggunakan pinang $184,87 \pm 59,42 \mu\text{M}$. Hasil analisis data menunjukkan perbedaan kadar NO da-

lam saliva yang signifikan pada kelompok perempuan penyirih yang menggunakan dan tidak menggunakan pinang ($p=0,077$).

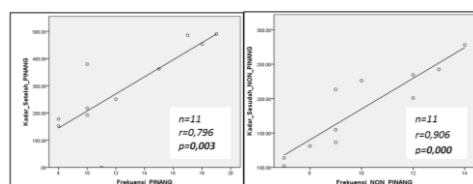
Tabel 1. Perbedaan kadar NO saliva pada perempuan penyirih suku Karo yang menggunakan dan tidak menggunakan pinang

Kelompok perempuan penyirih	Kadar NO dalam saliva Mean \pm SD (μ M)	Nilai p
Menggunakan pinang	287,61 \pm 158,31	0,077
Tidak menggunakan pinang	184,87 \pm 59,42	

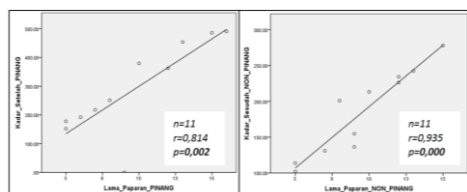
Berdasarkan Gambar 1-3 diperoleh data bahwa pada kelompok perempuan penyirih yang menggunakan pinang, peningkatan kadar NO saliva memiliki korelasi yang kuat terhadap lama kebiasaan ($r=0,736$), frekuensi ($r=0,796$) dan lama paparan menyirih ($r=0,814$). Demikian juga pada kelompok yang tidak menggunakan pinang bahwa peningkatan kadar NO saliva memiliki korelasi yang kuat terhadap lama kebiasaan ($r=0,929$), frekuensi ($r=0,906$) dan lama paparan menyirih ($r=0,935$).



Gambar 1. Hubungan lama menyirih dengan kadar NO dalam saliva pada perempuan penyirih suku Karo yang menggunakan dan tidak menggunakan pinang



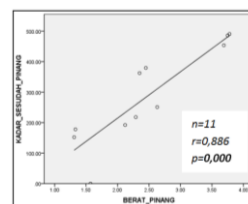
Gambar 2. Hubungan frekuensi menyirih dengan kadar NO dalam saliva pada perempuan penyirih suku Karo yang menggunakan dan tidak menggunakan pinang



Gambar 3. Hubungan lama paparan menyirih dengan kadar NO dalam saliva pada perempuan

penyirih suku Karo yang menggunakan dan tidak menggunakan pinang

Hasil uji normalitas data menunjukkan data terdistribusi normal, sehingga analisis kekuatan hubungan antara berat pinang dengan kadar NO dalam saliva pada kelompok perempuan penyirih yang menggunakan pinang dilakukan menggunakan uji korelasi Pearson. Gambar 4 menunjukkan korelasi yang sangat kuat ($r=0,886$) antara berat pinang terhadap kadar NO, sehingga dapat diinterpretasikan bahwa dengan semakin berat pinang yang digunakan pada saat menyirih maka kadar NO dalam saliva juga akan semakin meningkat.



Gambar 4. Hubungan berat pinang dengan kadar NO dalam saliva pada perempuan penyirih suku Karo yang menggunakan pinang

Hasil analisis regresi linear berganda menunjukkan bahwa faktor yang sangat berpengaruh terhadap peningkatan kadar NO dalam saliva adalah lama paparan menyirih, dengan persamaan $y=-30,479+33,009x$ pada kelompok yang menggunakan pinang dan $y=20,949+17,172x$ pada kelompok yang tidak menggunakan pinang.

Tabel 2. Hasil analisis regresi linear berganda variabel perilaku menyirih terhadap kadar NO dalam saliva pada perempuan penyirih suku Karo yang menggunakan dan tidak menggunakan pinang

Kelompok perempuan penyirih	Kadar NO dalam saliva			
	a	b	R ²	p
Menggunakan pinang	-30,479	33,009x	0,663	0,002
Tidak menggunakan pinang	20,949	17,172x	0,875	0,000

*x=lama paparan menyirih; $p<0,05$

PEMBAHASAN

Penelitian yang bertujuan untuk mengetahui hubungan perilaku menyirih terhadap kadar NO saliva pada kelompok dengan dan tanpa pinang ini merupakan penelitian pertama yang dilakukan di Pancur Batu, Sumatera Utara. Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar NO dalam saliva perempuan penyirih yang menggunakan pinang lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak menggunakan pinang. Selanjutnya, Gambar 3 juga menunjukkan bahwa dengan semakin banyak pinang yang digunakan dalam me-

nyirih maka kadar NO dalam saliva perempuan penyirih yang menggunakan pinang juga semakin tinggi. Hal ini mungkin disebabkan karena pinang mengandung senyawa alkaloid diantaranya *arecoline*, *arecaidine*, *guvacoline* dan *guvacine* yang merupakan suatu reaktan dalam reaksi nitrosasi. Campuran nitrosasi yang terbentuk pada saat berlangsungnya kegiatan menyirih selanjutnya akan diekspos menuju lambung sehingga memicu pelepasan nitrat, selain itu aktivitas mikroorganisme dalam rongga mulut juga mempercepat terjadinya reaksi nitrosasi sehingga membentuk *Nitric oxide* dengan jumlah yang banyak di dalam saliva.⁸⁻¹⁰

Saliva pada dasarnya dapat meminimalisir terjadinya peningkatan kadar NO, namun pada penelitian ini kadar NO dalam saliva baik pada kelompok perempuan penyirih yang menggunakan pinang maupun tidak menggunakan pinang justru mengalami peningkatan.¹⁰ Hal ini mungkin disebabkan karena seiring dengan meningkatnya lama menyirih, frekuensi dan lama paparan menyirih secara tidak langsung juga dapat meningkatkan komponen ion *thiocyanate* (SCN^-) di dalam saliva, sehingga saliva tidak mampu memainkan fungsinya secara sempurna sebagai protektor dan kapasitas buffer dalam menghambat reaksi nitrosasi yang membantu mengurangi potensial ke arah keganasan pada rongga mulut.^{10,11} Selain itu, enzim peroksidase (produk reaktif oksidase) yang seharusnya melindungi rongga mulut justru berperan sebagai agen mutagenik bahkan karsinogenik dalam beberapa kondisi lingkungan rongga mulut, khususnya pada penyirih. Oleh karena, enzim peroksidase dapat mengkatalis oksidasi SCN^- menjadi *hypothio-cyanite* (OSCN) dan juga produk reaktif oksidase lainnya dan selanjutnya bereaksi dengan nitrit, sehingga memudahkan terjadinya proses nitrosasi dan memicu pembentukan NO.^{9,12,13}

Sejak adanya *systematic review* oleh Choudari pada tahun 2012, diketahui bahwa NO selain berperan positif ternyata juga berdampak negatif sebagai potensial karsinogenik, salah satunya disebabkan oleh kebiasaan menyirih seperti lama, frekuensi dan durasi menyirih. Tabel 2 menunjukkan bahwa faktor yang paling mempengaruhi kadar NO sesudah me-

nyirih pada kelompok yang menggunakan dan tidak menggunakan pinang adalah lama paparan menyirih. Sehingga dapat diinterpretasikan bahwa semakin lama paparan menyirih, maka kadar NO saliva juga akan semakin meningkat, dan apabila kadar NO saliva juga meningkat maka insidensi potensial ke arah keganasan rongga mulut juga semakin meningkat.^{6,14}

Hal ini didukung oleh sejumlah penelitian yang menyatakan bahwa adanya hubungan antara peningkatan kadar NO terhadap perubahan-perubahan rongga mulut ke arah keganasan dikaitkan dengan perilaku menyirih, seperti penelitian yang dilakukan oleh Supadminidevi et al. yang menyatakan bahwa kelompok dengan kebiasaan menyirih lebih dari 5 tahun memiliki potensial peningkatan stadium *Oral Submucous Fibrosis* (OSMF).¹⁵ Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Ali et al. menyatakan bahwa subyek yang menyirih selama ≤ 18 tahun dengan frekuensi menyirih >10 paket per hari, dan lama paparan menyirih >10 menit, lebih berisiko sebanyak 15,2 % menderita *Oral Potentially Malignant Disorder* (OPMD).¹⁶ Hal ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Amarasinghe et al. bahwa lama menyirih >20 tahun sebesar 18,6 kali lebih berisiko menderita OPMD, frekuensi menyirih 6-10 kali per hari dapat meningkatkan sebesar 75,5 kali risiko terjadinya OPMD.¹⁷

Namun, pada penelitian ini tidak dijumpai lesi yang mengarah pada keganasan lainnya, hal ini mungkin disebabkan karena sampel yang digunakan pada penelitian ini sedikit dan dapat juga disebabkan oleh pola hidup responden yang sangat sering mengonsumsi sayuran hijau. Daun sirih yang mengandung *beta-caroten* terbukti mampu menetralkan radikal bebas yang dilepaskan oleh pinang, sehingga peluang lesi mengalami keganasan, persentasenya menjadi sedikit.¹⁶ Disimpulkan bahwa peningkatan kadar NO dalam saliva pada kelompok perempuan penyirih suku Karo yang menggunakan pinang lebih signifikan dibandingkan kelompok yang tidak menggunakan pinang.

DAFTAR PUSTAKA

1. Flora MS, Mascie-Taylor CGN, Mahmudur R. Betel quid chewing and its factors in Bangladeshi adult. WHO South-East Asia J Public Health, 2012; 169-181.
2. Jalilvand M, Nikmanesh Z, Kazemi Y, Emamhadi MA. Smokeless tobacco use among university students: a cross-sectional study in Sistan Baluchestan Province. Iranian J Psychiatry and Behavioral Sciences, 2010; 23-29.
3. Pattidar KA, Parwani R, Wanjari SP, Patidar AP. Various terminologies associated with areca nut and tobacco chewing: A review. J Oral and Maxillofacial Pathology, 2015; 69-77.
4. Gupta B, Johnson NW. Systematic review and meta-analysis of association of smokeless tobacco and of betel quid without tobacco with incidence of oral cancer in South Asia and the Pacific. Plos One, 2014; 1-12.
5. Yamada T, Hara K, Kadowaki T. Chewing betel quid and the risk of metabolic disease, cardiovas-

- cular disease, and all-cause mortality: a meta-analysis. *Plos One*, 2013; 1-10.
6. Choudhari SK, Chaudhary M, Bagde S, Gadbail AR, Joshi V. *Nitric oxide* and cancer: a review. *World J Surgical Oncology*, 2013; 1-11.
 7. Panjwani S, Bagewadi A, Keluskar V, Malik M, Rai S, Misra D. Estimation and comparison of levels of salivary NO in patients with oral lichen planus and controls. *Int J Prev Med*, 2013; 4(6): 710-715.
 8. Wadhwa D, Bey A, Hasija M, Moin S, Kumar A, Aman S, Sharma VK. Determination of level nitric oxide in smoker and non smoker patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Implant Sci*, 2013; 215-220.
 9. Shah G, Chaturvedi P, Vaishampayan S. Arecanut as an emerging etiology of oral cancers in India. *Indian J Medical and Paediatric Oncology*, 2012; 71-78.
 10. Srimany. Developmental patterning and segregation of alkaloid in areca nut (seed of *Areca catechu*) revealed by magnetic resonance and mass spectrometry imaging. *Phytochemistry*, 2016; 1-8.
 11. Shende V, Biviji AT, Akarte N. Estimation and correlative study of salivary nitrate and nitrite in tobacco related to oral squamous carcinoma and sub-mucous fibrosis. *J Oral and Maxillofacial Pathology*, 2013; 381-385.
 12. Nagler R, Dayan. The dual role of saliva in oral carcinogenesis. *J Oncology*, 2006; 10-17.
 13. Hemant S, Vijayalaxmi, Ena M, Mansi C. Estimation of salivary nitrosamines in oral submucous fibrosis patients. *National Research Denticon*, 2014; 1-6.
 14. Chaudhari SK, Sridharan, Gadbail A, Poornima V. Nitric oxide and oral cancer: A review. *Oral Oncology*, 2012; 475-483.
 15. Supadminidevi G, Jayanthi K, Shah B, Kamala R. Evaluation between betel quid and pan masala/gutkha habitual chewers with OSMF. *World J Dent*, 2012; 37-40.
 16. Ali FM, Aher V, Prasant, Bhushan P, Mudhol A, Suryavanshi H. Oral Submucous Fibrosis: comparing clinical grading with duration and frequency of habit among areca nut and its products chewers. *J Cancer Research and Therapeutics*, 2013; 471-476.
 17. Amarasinghe HK, Usgodaarachchi US, Johnson NW, Lalloo R, Warnakulasuriya S. Betel-quid chewing with or without tobacco is a major risk factor for oral potentially malignant disorders in Sri Lanka: a case-control study. *Oral Oncology*, 2010; 297-301.