

BAKTERI DALAM PLAK GIGI DAN SALIVA PENDERITA DIABETES TIPE 2, DAN HUBUNGANNYA DENGAN STATUS AGREGASI TROMBOSIT

Y Kemal, H Sunarto, SL Chaidar, Y Syafril¹, S Mangundjaja²
M Oemardi³, A Suwanto⁴

¹Bagian Periodontologi FKG UI, ²Bagian Biologi Oral FKG UI,
³Bagian I. Peny. Dalam FK UI, ⁴Biologi Molekular Seameo Biotrop

Y Kemal, H Sunarto, SL Chaidar, Y Safril, S Mangundjaja, M Oemardi, A Suwanto. Bakteri Dalam Plak Gigi dan Saliva Penderita Diabetes Tipe 2, dan Hubungannya dengan Status Agregasi Trombosit. Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. 2000; 7 (Edisi Khusus): 702-708

Abstract

The occurrence of coronary atherosclerosis, and acute myocardial ischemia due to the hyperaggregation of platelets, caused the death of 75-80% of type 2 diabetics. In an invitro study, the aggregation of platelets was induced by the "Platelet Aggregation Associated Protein" on the surface of dental plaque bacteri, *S. sanguis*. The aim of the study was to identify bacteria in the supragingival plaque and saliva of type 2 diabetics, and their relationship to the aggregation of platelets. Dental plaque and salivary samples from 5 type 2 diabetics were diluted serially, and inoculated in Mitis Salivarius medium. The morphology of the Colony Forming Units (CFU) Growth were analysed, and identified phisiologically and biochemically with Api 20 Strep substrates. Aggregation of platelets of the blood were analysed with Adenosin Di Phosphate. The result of the study showed 22 colonies (CFU), in 6 morphology types. Three morphology types were identified as *A. viridans*; the other 3 as *Str. acidominimus*, *Lc.lactis lactis*, and *E.avium*. One morphology type of *A. viridans*, *Str. acidominimus*, *Lc.lactis lactis*, and *E.avium* were found in subjects with hypoaggregation; 2 morphology types of *A. viridans* were found in subjects with normal aggregation. It is presumed that type 2 diabetics with *Str. acidominimus*, *Lc.lactis lactis*, *E. avium*, and certain morphology type of *A. viridans* in their dental plaque and saliva, have hipoaggregation of platelets; diabetics with two morphology types of *A. viridans* have normal aggregation of platelets.

Abstrak.

Penyebab kematian 75-80% penderita diabetes melitus tipe 2 adalah aterosklerosis koroner, disertai iskemia miokardial akuta karena meningkatnya agregasi trombosit. Suatu penelitian invitro membuktikan, dinding membran *Str.sanguis* mengandung "Platelet Aggregation Associated Protein", yang dapat meningkatkan agregasi trombosit. Penelitian bertujuan mengidentifikasi bakteri dalam plak gigi supragingiva dan saliva penderita diabetes tipe 2, dan hubungannya dengan status agregasi trombosit. Plak gigi dan saliva 5 penderita diabetes dilarutkan bertahap dan ditanam dalam perbenihan Mitis Salivarius. Setiap unit koloni yang tumbuh dianalisa morfologinya, dan diidentifikasi spesiesnya dengan 20 substrat fisiologis dan biokimia Api 20 Strep. Agregasi trombosit dalam darah dianalisa dengan Adenosin Di Phosphat. Hasil penelitian didapatkan 22 unit koloni bakteri dengan 6 tipe morfologi. Tiga tipe morfologi teridentifikasi sebagai *A.viridans*, ketiganya mempunyai profil fisiologis dan biokimia yang berbeda. Tiga tipe lainnya sebagai *Str.acidominimus*, *Lc.lactis lactis*, dan *E.avium*. Satu tipe *A.viridans*, *Str.acidominimus*, *Lc.lactis lactis*, dan *E.avium* ditemukan pada penderita dengan hipoagregasi, dua tipe lain *A.viridans* ditemukan pada penderita dengan agregasi trombosit normal. Diasumsikan bahwa penderita diabetes melitus tipe 2 dengan *Str.acidominimus*, *Lc.lactis lactis*, *E.avium*, dan tipe morfologi tertentu *A.viridans* didalam plak gigi dan salivanya, mempunyai agregasi trombosit hipo; penderita dengan dua tipe morfologi *A.viridans* mempunyai agregasi trombosit normal.

Pendahuluan

Diabetes Melitus adalah penyakit gangguan metabolisme karbohidrat karena defisiensi insulin, yang ditandai dengan meningkatnya kadar gula dalam darah. Ada dua macam Diabetes Melitus, yaitu tipe 1, disebut juga Insulin Dependen Diabetes Melitus (IDDM), dan tipe 2 disebut juga Non Insulin Dependen Diabetes Mellitus (NIDDM). Tipe 1 terjadi defisiensi insulin yang absolut, karena kerusakan sel-sel beta Langerhans, ditemukan pada pasien muda usia. Tipe 2 terjadi resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif, dan merupakan 99% penderita diabetes di Indonesia.¹ Penderita diabetes tipe 2 sering mengalami komplikasi penyakit lain, antara lain aterosklerosis, penebalan dinding intima arteri oleh pertumbuhan jaringan ikat yang fibrous dan akumulasi lipid, terutama pada dinding arteri koroner. Keadaan ini disebabkan karena fungsi insulin untuk memecah simpanan lemak /trigliserid berkurang, sehingga jumlah lemak bebas yang beredar meningkat.²

Trombosit atau disebut juga platelet, adalah sel-sel darah yang berperan dalam sistem pembekuan darah, berfungsi menyumbat dinding pembuluh yang rusak dengan cara

beragregasi/berkumpul. Trombosit dapat beragregasi melebihi keadaan normal, dan menyebabkan trombosis, pembentukan massa solid trombus didalam pembuluh darah yang dapat menyumbat aliran darah, dengan risiko terjadinya iskhemia. Keadaan ini dapat melanjut menyebabkan nekrotik jaringan atau infark, dan membentuk jaringan parut yang fibrous.² Lebih dari 50% penderita diabetes tipe 2 mempunyai nilai agregasi trombosit melebihi normal.³ Aterosklerosis koroner disertai iskemia miokardial akuta karena meningkatnya agregasi trombosit merupakan penyebab kematian 75-80% penderita diabetes tipe 2.^{2,4}

Penelitian terdahulu terhadap penderita diabetes tipe 2 di RSUPN Cipto-Mangunkusumo, akumulasi plak gigi pada penderita ini relatif lebih tinggi dibandingkan non diabetes.⁵ Plak gigi adalah deposit lunak pada permukaan gigi yang mengandung berbagai koloni bakteri yang dapat menyebabkan peradangan jaringan periodontium.⁶ Koloni bakteri ini dapat masuk aliran darah melalui sulkus gingiva, atau terlepas dari permukaan gigi masuk kedalam cairan ludah atau saliva. Sejumlah ahli menginformasikan adanya kecenderungan penyakit periodontal sebagai faktor risiko terjadinya aterosklerosis dan

penyakit jantung koroner.⁶ Hasil penelitian invitro Herzberg dan Meyer, didapatkan bahwa dinding membran *Streptococcus sanguis*, salah satu bakteri yang sering terdapat didalam plak gigi, mengandung *Platelet Aggregation Associated Protein*, protein yang mempunyai efek meningkatkan agregasi trombosit.⁷

Penelitian ini bertujuan menganalisa koloni bakteri didalam plak gigi dan saliva penderita diabetes tipe 2 yaitu mengidentifikasi spesiesnya, dan menganalisa morfologinya; serta mengkaji hubungannya dengan status agregasi trombosit penderita tersebut. Bila hasil penelitian menunjukkan adanya hubungan bermakna, tindakan pembersihan plak pada permukaan gigi penderita diabetes bukan saja mencegah terjadinya peradangan jaringan periodontium, tetapi juga mempunyai efek mencegah meningkatnya agregasi trombosit yang dapat menyebabkan iskemia miokardial akuta.

Bahan dan cara kerja

Koloni bakteri diambil dari plak gigi dan saliva 5 penderita diabetes tipe 2 yang dikonsul dari bagian Penyakit Dalam ke bagian Gigi Mulut RSCM. Plak gigi supra gingiva gigi anterior rahang bawah diambil sebanyak kurang lebih 10 mg; koloni bakteri dari saliva diambil dengan cara subjek disuruh mengunyah parafin steril untuk mendapatkan jumlah saliva yang cukup banyak. Kerokan plak kemudian dilarutkan kedalam 1 ml larutan garam faal steril, dan diencerkan sampai 10^5 ; yang berasal dari saliva diambil 1 ml kemudian diencerkan 10^6 Pada tabung pengenceran terakhir diambil 0,1 ml dan ditanam tuang kedalam lempeng media Mitis salivarius⁸, kemudian dieram secara anaerobik dengan gas pack suhu 37 derajat Celsius selama 72 jam. Pada lempeng agar akan terlihat beberapa unit koloni yang berbeda. Tiap unit koloni dibenihkan lagi, kemudian diidentifikasi spesiesnya berdasarkan reaksi fisiologis dan biokimia dengan

menggunakan 20 macam substrat standard produk Api 20 Strep Biomerieux⁹, selain itu ditanam tuang pada lempeng agar Mitis salivarius untuk dianalisa morfologinya melalui mikroskopstereo. Didalam plak gigi dan saliva setiap penderita dapat ditemukan sejumlah unit koloni bakteri dari berbagai spesies, spesies yang berbeda mempunyai morfologi koloni yang berbeda, spesies yang sama dapat mempunyai morfologi koloni yang berbeda. Unit koloni dengan morfologi sama dikelompokkan kedalam 1 tipe morfologi koloni. Pada akhir penelitian dari 5 penderita diabetes dapat ditemukan sejumlah unit koloni bakteri dengan beberapa tipe morfologi, setiap tipe morfologi akan teridentifikasi nama spesiesnya dengan status identifikasi tertentu.^{*1}

Status agregasi trombosit darah dilakukan dibagian Makmal FKUI dengan metode standard dengan Adenosin Di Phosphat.

Catatan:

*1 Status identifikasi bakteri dengan 20 substrat standard fisiologis dan biokimia Api 20 Strep Biomerieux:

Identifikasi baik: Profil reaksi biokimia serupa dengan >90% profil spesies yang sama pada data base.

Identifikasi diterima: Profil reaksi biokimia serupa dengan >80% profil spesies yang sama pada data base.

Identifikasi tidak valid: Profil reaksi biokimia serupa dengan <80% profil spesies yang sama pada data base. Untuk menentukan kemungkinan spesiesnya diperlukan uji biokimia tambahan.

Diskriminasi rendah: Profil reaksi biokimia mendekati profil lebih dari 1 macam spesies. Untuk menentukan spesiesnya diperlukan uji biokimia tambahan.

Profil tidak dapat diterima: Profil reaksi biokimia tidak mendekati profil spesies tertentu yang dapat diidentifikasi dengan Api 20 Strep Biomerieux

Hasil

Tabel 1. Koloni bakteri dalam plak gigi dan saliva 5 penderita diabetes tipe 2.

No. Subjek	No. Kode koloni	Profil reaksi fisiologis dan biokimia	Status identifikasi Nama spesies % identifikasi
1.	1.1. Sur P/7S	7006510	Identifikasi diterima <i>Aerococcus viridans</i> (80.3%)
	1.2. Sur S/7S	7047510	Diskriminasi rendah <i>Lc.lactis lactis</i> 86.6%
	1.3. Sur P/2P	7045650	Profil tidak dapat diterima
	1.4. Sur 3P	7217550	Identifikasi tidak valid <i>E. faecium</i> 79.7%
2.	2.1. Net P/7S	6063450	Profil tidak dapat diterima
	2.2. Net S/7S	6270010	Identifikasi diterima <i>Str. acidominimus</i> 83.1%
	2.3. Net S/2P	6260440	Profil tidak dapat diterima
	2.4. Net 3P	7007510	Identifikasi diterima <i>Lc.lactis lactis</i> 86.4%
3.	3.1. Skm 4P	6044170	Profil tidak dapat diterima
	3.2. Skm 7S	7044750	Identifikasi baik <i>Enterococcus avium</i> 98.2%
	3.3. Skm 1P	6044140	Profil tidak dapat diterima
	3.4. Skm 5S	6046750	Diskriminasi rendah <i>E. avium</i> 70%
	3.5. Skm 3	7216750	Diskriminasi rendah
	3.6. Skm 2P	7257550	Profil meragukan
4.	4.1. Wid 3P	7107550	Diskriminasi rendah <i>Enterococcus faecium</i> 78.6%
	4.2. Wid 1S	6004541	Identifikasi baik <i>A. viridans</i> (99.4%)
	4.3. Wid 7S	6006150	Identifikasi baik <i>A. viridans</i> (98.9%)
	4.4. Wid 2S	6266750	Profil tidak dapat diterima
	4.5. Wid 3S	6006150	Identifikasi baik <i>A. viridans</i> (98.9%)
	4.6. Wid 7P	6046170	Identifikasi baik <i>A. viridans</i> (99.1%)
5.	5.1. Jaf P	7377771	Profil meragukan
	5.2. Jaf S	7103450	Identifikasi tidak valid <i>Lc.lactis lactis</i> 45.3%

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari plak gigi supragingiva dan saliva 5 penderita diabetes tipe 2, didapatkan 22 unit koloni bakteri; 5 koloni dengan identifikasi baik; 3 koloni dengan identifikasi dapat diterima; 2 koloni dengan identifikasi tidak valid dan 4 koloni dengan diskriminasi rendah, untuk menentukan spesiesnya diperlukan uji fisiologis dan biokimia tambahan; 6 koloni profil tidak dapat

diterima, berarti tidak mendekati profil spesies yang dapat diidentifikasi dengan Api 20 Strep; 2 koloni dengan profil meragukan (tabel 1).

Delapan koloni dengan identifikasi baik dan dapat diterima 5 koloni teridentifikasi sebagai *A. viridans*, 3 koloni lainnya teridentifikasi sebagai *Str. acidominimus*, *Lc. lactis lactis*, dan *E. avium* (Tabel 1).

Tabel 2. Berbagai tipe morfologi koloni bakteri dalam plak gigi supragingiva dan saliva penderita diabetes tipe 2, dan status agregasi trombosit subjek yang bersangkutan.

Tipe	Morfologi koloni	Profil fisiologis dan biokimia/ Nama spesies berdasarkan reaksi fisiologis dan biokimia/ No.subjek pada tabel 1 dan status agregasi trombosit
I	bentuk tidak teratur, ukuran 0.1-1um, elevasi menonjol, permukaan kasar, tepi menggigi belalang, hitam keperakan, keruh, tidak lengket, sukar larut dalam air.	7006510: <i>Aerococcus viridans</i> Ditemukan pada subjek no.1 dengan hipoagregasi
II	bentuk hampir membulat tetapi terbagi 4 seperti bunga, ukuran 1-2 um, cembung, licin dan suram, tepi menggelombang, putih susu dengan inti merah muda, keruh, lengket, larut dalam air.	6004541: <i>Aerococcus viridans</i> Ditemukan pada subjek no.4 dengan agregasi normal
III	tanda-tanda warna coklat kehitaman, tepi licin, inti tidak sama besar.	6006150: <i>Aerococcus viridans</i> Ditemukan pada subjek no.4 dengan agregasi normal
IV	bentuk bulat, ukuran 0.5 um, cembung, licin mengkilat, tepi rata, hitam keperakan, keruh, tidak lengket, sukar larut dalam air	6270010: <i>Streptococcus acidominimus</i> Ditemukan pada subjek no.2 dengan hipoagregasi
V	bentuk membulat teratur, ukuran 1-2um, menonjol, kasar, tepi menggelombang, bening dengan inti perak, lengket, sukar larut dalam air.	7007510: <i>Lactobacillus lactis lactis</i> Ditemukan pada subjek no.2 dengan hipoagregasi
VI	bentuk bulat, ukuran 1-2um, cembung, licin, suram, tepi menggelombang, putih susu dengan inti merah muda, keruh, lengket, dan larut dalam air.	7044750: <i>Enterococcus avium</i> Ditemukan pada subjek no.3 dengan hipoagregasi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 22 unit koloni bakteri yang berasal dari plak gigi supra gingiva dan saliva 5 penderita diabetes tipe 2, ditemukan 6 tipe morfologi koloni yang berbeda. Tiga tipe morfologi teridentifikasi sebagai *A.viridans*, ketiganya mempunyai profil fisiologis dan biokimia yang berbeda. Tiga tipe morfologi lainnya teridentifikasi sebagai *Str.acidominimus*, *Lc.lactis lactis*, dan *E.avium* (Tabel 2).

Subjek dengan plak gigi supragingiva dan saliva yang mengandung koloni *Str.acidominimus*, *Lc.lactis lactis*, *E.avium*, dan 1 tipe *A.viridans* mempunyai status agregasi trombosit hipo; subjek yang mengandung 2 tipe lain *A.viridans* mempunyai status agregasi trombosit normal (Tabel 2).

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan 3 tipe morfologi bakteri teridentifikasi sebagai *A. viridans*, ketiganya mempunyai profil fisiologis dan biokimia yang berbeda. Hasil penelitian ini sesuai dengan daftar spesies Api 20 Strep Biomerieux, bahwa ada 3 subspecies *A. viridans*, yaitu *A. viridans* 1, 2, dan 3.

Tidak teridentifikasi adanya koloni *S. sanguis* pada semua koloni bakteri yang diperiksa, sedangkan sejumlah peneliti menyatakan *S. sanguis* seringkali ditemukan didalam plak gigi dan saliva. Kemungkinan yang terjadi adalah bahwa *S. sanguis* memang tidak selalu ditemukan dalam plak gigi dan saliva penderita diabetes tipe 2; atau mungkin karena subjeknya terlalu sedikit; dapat juga karena *S. sanguis*, seperti pendapat beberapa ahli, terutama ditemukan dalam plak gigi yang berumur muda. Kemungkinan lain karena perbenihan yang digunakan kurang spesifik untuk *S. sanguis*, walaupun berdasarkan literatur perbenihan tersebut dapat digunakan untuk kelompok spesies *Streptococcus viridans* termasuk *S. sanguis*. Kemungkinan lain bahan standard Api 20 Strep kurang sesuai untuk *S. sanguis*, atau adanya perbedaan penggunaan istilah "viridans". Api 20 Strep Biomerieux menggunakannya sebagai nama spesies yaitu *A. viridans* 1, *A. viridans* 2, *A. viridans* 3. Sejumlah peneliti menggunakan istilah "viridans" sebagai nama group spesies, yaitu group spesies *Streptococcus viridans* yang terdiri dari *S. sanguis* 1, *S. sanguis* 2, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. mitior* atau *S. mitis* dan *S. milleri* atau *intermedius*, *S. uberis*, *A. anginosus*, *S. morbillorum*, *S. acidominus*.¹⁰

Subjek dengan koloni *Str. acidominimus*, *Lc. lactis lactis*, *E. avium*, dan tipe morfologi tertentu *A. viridans* mempunyai status agregasi trombosit hipogregasi; subjek dengan 2 tipe lain *A. viridans* mempunyai status agregasi trombosit normal. Pada penelitian ini bakteri didalam plak gigi supragingiva dan

saliva penderita diabetes dengan status agregasi trombosit hipo mempunyai koloni bakteri yang berbeda dengan penderita diabetes dengan status agregasi trombosit normal.

Disimpulkan bahwa pada penelitian ini hasil pemeriksaan 22 koloni bakteri yang berasal dari plak gigi dan saliva 5 penderita diabetes tipe 2, dengan perbenihan padat Mitis salivarius dan uji fisiologis dan biokimia Api 20 Strep Biomerieux, teridentifikasi dengan baik dan dapat diterima 3 tipe morfologi koloni *Aerococcus viridans*, dan masing-masing 1 tipe morfologi koloni *Enterococcus avium*, *Lactobacillus lactis lactis*, dan *Streptococcus acidiminimus*. Koloni *E. avium*, *Lc. lactis lactis*, *Str. Acidiminimus* dan 1 tipe morfologi *A. viridans* ditemukan pada penderita diabetes tipe 2 dengan agregasi trombosit hipoagregasi. 2 tipe morfologi *A. viridans* lainnya yang mempunyai profil fisiologis dan biokimia berbeda ditemukan pada penderita diabetes dengan agregasi trombosit normal. Pada penelitian ini bakteri didalam plak gigi supragingiva dan saliva penderita diabetes dengan status agregasi trombosit hipo mempunyai koloni bakteri yang berbeda dengan penderita diabetes dengan status agregasi trombosit normal.

Analisa statistik belum dapat dilakukan karena jumlah sampel terlalu sedikit.

Ucapan terima-kasih

Para peneliti mengucapkan terima kasih kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Dept. Kesehatan RI yang telah memberikan dana untuk penelitian ini; Lembaga Biologi Molekular Eijkman dan para pembimbing atas kesempatan dan bimbingan yang diberikan; bagian Biologi Oral FKGUI, Lab. Biologi Molekular Scameo Biotrop Bogor, bagian Makmal FKUI atas kerja samanya sehingga penelitian ini dapat terselenggara.

Daftar Pustaka

1. Perkumpulan Endokrinologi Indonesia. Konsensus Pengelolaan Diabetes Melitus di Indonesia 1998: 8.
2. Williams GH, Lilly LS, Seely EW. The Heart in Endocrine and Nutritional Disorders Heart Disease- Braunwald 1997: 1901-3.
3. Karim AS. Faktor yang mempengaruhi hemostasis pada diabetes mellitus tipe 2. Program studi Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia 1998: 14.
4. Turtle JR, Kaneko T, Osato S. The epidemiologi of Diabetes in Japan. Diabetes in the New Millenium 1999: 25-6
5. Kemal Y, Oemardi M, Sumarto H, Chaidar S, Safril Y, Prihastini F. Penyakit periodontal pada penderita diabetes melitus tipe 2. Pertemuan Ilmiah Perkumpulan Endokrinologi Indonesia 2000 .
6. Kinane DF. Periodontal Disease Contribution to Cardiovascular Disease: An overview of Potential Mechanism . Annal of Periodontology. 1997 Sunstar Chapel Hill Symposium: 140.
7. Herzberg MC, Meyer MW. Dental plaque, Platelets, and Cardiovascular Diseases. Annals of Periodontology. 1997 Sunstar Chapel Hill Symposium: 151-8.
8. Rosan B. Antigens of Streptococcus sanguis. Infection and Immunity, Feb.1973. 205-211.
9. Biomerieux. Api 20 Strep. Identification system for Streptococci.
10. Joklik WK, Willet HP, Amos DB. Schema for Biochemical Speciation of Viridans Streptococci. Zinsser Microbiology, Appleton Century Crofts, 1988. 365-66.