



Original Article

Pengaruh Merokok terhadap Frekuensi Pembentukan Mikronukleus pada Mukosa Mulut

Husein Ahmad*, Restadiamawati**

*Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

**Staf pengajar Bagian Ilmu Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

Abstrak

Latar belakang : Merokok dapat menyebabkan kerusakan genetik pada mukosa rongga mulut dan meningkatkan resiko kanker mulut. Mikronukleus merupakan salah satu penanda kerusakan genetik, pengukuran frekuensi mikronukleus pada mukosa mulut dapat menjadi salah satu usaha untuk mendeteksi sejauh mana efek genotoksik merokok. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh merokok terhadap frekuensi pembentukan mikronukleus pada mukosa mulut penggunaannya.

Metode : Penelitian belah lintang yang membandingkan jumlah mikronukleus pada perokok ($n=32$) dan bukan perokok ($n=30$), serta korelasi antara lama paparan dan frekuensi batang rokok per hari terhadap frekuensi mikronukleus perokok. Preparat diambil dari hapusan mukosa bukal dan dicat dengan metode modifikasi reaksi *Feulgen-Rossenbeck*. Mikronukleus dihitung per 1000 sel tiap preparat.

Hasil : Hasil penelitian tidak didapatkan perbedaan bermakna jumlah mikronukleus kelompok perokok dan kelompok kontrol ($p=0,70$) dengan rata-rata jumlah mikronukleus 5,28 pada kelompok perokok dan 4,3 pada kelompok kontrol. Frekuensi mikronukleus pada kelompok perokok tidak dipengaruhi oleh lama merokok ($p=0,304$) maupun frekuensi batang rokok per hari ($p=0,117$). Pada kedua kelompok ditemukan korelasi bermakna antara usia dan frekuensi mikronukleus ($p=0,042$).

Simpulan : Tidak terdapat pengaruh merokok terhadap frekuensi pembentukan mikronukleus pada mukosa mulut kelompok perokok.

Kata kunci : Merokok, mikronukleus, mukosa mulut

Effect of Smoking on The Frequency of Micronuclei in Oral Mucosa

Abstract

Background : Smoking causes genetic damage in oral cavity mucosa and increase the risk of oral cancer. Because micronucleus is a marker of genetic damage, measuring its frequency might detect the genotoxic effects of smoking. The aim of this study was to measure the effect of smoking on frequency of micronucleus in oral mucosa.

Methods : Micronucleus frequencies of smoker ($n=35$) and non-smoker groups ($n=35$) were compared from mucosal swab of oral mucosa. A modification of Feulgen-Rossenbeck staining has performed. Micronuclei were measured per 1000 cells. Correlation between exposure time and frequency of smoking per day on micronucleus frequency was further investigated in smoker group.

Results : Mean frequencies of micronucleus in smoking and non-smoking group were 5.28 and 4.3, respectively. There was no significant difference of micronucleus count from smoking and non-smoking group ($p=0.70$). Neither exposure time nor frequency of smoking per day was an independent predictor of micronucleus ($p=0.304$ and 0.117). Age was the only predictor showing a significant correlation in micronucleus frequency ($p=0.042$)

Conclusion : From these results, there is no relationship between smoking and the frequency of micronucleus in oral mucosa.

Keywords : Smoking, micronucleus, oral mucosa

PENDAHULUAN

Asap rokok merupakan klastogen yang dapat menyebabkan rusaknya kromosom.¹ Asap rokok mengandung berbagai senyawa genotoksik seperti *polycyclic aromatic hydrocarbons* (PAH) yang berasal dari

tar, acrolein, nitrosamine, dan benzopyrene. Perokok akan menghisap dan mengeluarkan asap rokok sepanjang jalur pernapasan, sehingga asap rokok beserta senyawa genotoksik yang terkandung di dalamnya akan terlibat kontak langsung dengan epitel saluran napas seperti mukosa rongga mulut, hidung, nasofaring hingga paru

dan menjadikan kebiasaan merokok sebagai salah satu faktor resiko kanker saluran pernafasan dan kanker mulut.² Salah satu deteksi dini dari kanker mulut adalah ditemukannya mikronukleus pada sel epitel mukosa mulut.³

Pembentukan mikronukleus diawali dengan terpaparnya jaringan tubuh dengan bahan mutagen.⁴ Mikronukleus adalah bangunan kecil di luar inti yang terdapat dalam sitoplasma yang berasal dari kromosom atau pecahannya yang tidak bermigrasi secara normal pada fase anafase.

Berdasarkan hubungannya dengan penyimpangan kromosom, pemeriksaan mikronukleus telah digunakan sejak tahun 1937 sebagai indikator paparan genotoksik radiasi oleh Brenneke dan Mather. Hubungan antara terbentuknya mikronukleus dan kerusakan genom dapat digunakan sebagai dasar bahwa pemeriksaan mikronukleus cukup efektif sebagai *biomarker* yang relevan terhadap karsinogenesis kanker mulut.⁵

Kanker mulut termasuk dalam 8 besar kanker penyebab kematian di seluruh dunia. Sekitar 5 juta kasus baru kanker mulut dan faring ditemukan setiap tahun, dimana 75% ditemukan di negara berkembang.⁶ Di Indonesia frekuensi relatif diperkirakan 1,5-5% dari seluruh kanker.⁷ Angka ini meningkat seiring dengan meningkatnya kebiasaan masyarakat yang berpotensi menyebabkan kanker, seperti merokok. Dari 177.926 responden di Indonesia yang terdiri dari 86.493 pria dan 91.433 wanita, ditemukan 28,2% merupakan perokok aktif setiap hari, 37,3% berusia 25-34 tahun.⁷ Prevalensi jumlah perokok muda yang tinggi di Indonesia serta angka kejadian kanker mulut yang cukup tinggi pula menunjukkan bahwa hubungan antara keduanya perlu diteliti.

Pada perokok berat (≥ 30 batang/hari) ditemukan peningkatan signifikan terhadap kerusakan genotoksik.⁸ Penelitian Oliveira LU dkk (2012) tidak menemukan adanya hubungan merokok dan konsumsi alkohol dengan peningkatan pembentukan mikronukleus.⁹ Di Indonesia, penelitian hubungan pembentukan mikronukleus dengan agen genotoksik lain seperti emisi kendaraan bermotor yang mengandung timbal (Pb) sudah pernah dilakukan dan menunjukkan perbedaan signifikan antara yang terpapar dan tidak terpapar.¹⁰

Penelitian tentang hubungan pembentukan mikronukleus dengan kebiasaan merokok belum pernah dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui seberapa besar pengaruh kebiasaan merokok terhadap pembentukan mikronukleus pada mukosa mulut.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian belah lintang yang dilakukan di kota Yogyakarta pada bulan Maret-April 2013. Jumlah sampel yang ditentukan adalah 29 tiap

kelompok. Peneliti membandingkan jumlah mikronukleus pada perokok ($n=32$) dan bukan perokok ($n=30$), serta korelasi antara lama paparan dan frekuensi batang rokok per hari terhadap frekuensi mikronukleus perokok. Seluruh sampel berjenis kelamin laki-laki dan memiliki rentang usia 20-40 tahun serta memiliki Indeks Massa Tubuh Ideal. Sampel telah merokok jenis kretek selama minimal 3 tahun dengan frekuensi minimal 5 batang per hari. Preparat diambil dari hapusan mukosa bukal dan dicat dengan metode modifikasi reaksi *Feulgen-Rossenbeck*. Mikronukleus dihitung per 1000 sel tiap preparat. Status kebersihan mulut ditentukan dengan menggunakan nilai OHI-s (*Simplified Oral Hygiene Index*) dan hanya memasukkan sampel dengan nilai OHI-s cukup yaitu hasil penjumlahan debris indek dan calculus indek sebanyak 1,3-3.

Uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* ($n < 50$). Uji *t* test dilakukan untuk melihat perbedaan frekuensi mikronukleus antara kelompok perokok dan bukan perokok. Uji korelasi dan regresi dilakukan pada kelompok terpapar. Uji tersebut dilakukan untuk mengetahui hubungan antara frekuensi merokok, lama merokok, dan usia terhadap pembentukan mikronukleus pada kelompok tersebut. Batas kemaknaan atau signifikansi ditentukan $p \leq 0,05$ dengan interval kepercayaan 95%.

HASIL

Karakteristik dan Distribusi Responden

Didapatkan 70 preparat, terdiri dari 32 preparat perokok dan 30 preparat bukan perokok yang dianalisis. Sebanyak 8 preparat masuk kriteria *drop out* karena tidak memenuhi kriteria 1000 sel. Uji normalitas data dilakukan dengan Uji *Saphiro-Wilk*. Didapatkan nilai signifikansi pada kelompok perokok adalah 0,169 dan pada kelompok bukan perokok adalah 0,078. Sehingga dapat disimpulkan bahwa distribusi data adalah normal ($p > 0,05$).

Rata-rata frekuensi mikronukleus pada kelompok perokok adalah 5,28 (SD=2,01) dan pada kelompok bukan perokok sebanyak 4,3 (SD=2,16). Hasil uji *t* tes independen didapatkan nilai signifikansi 0,70 ($p > 0,05$) yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna antara rerata frekuensi mikronukleus kelompok perokok dan bukan perokok.

Hubungan lama merokok, frekuensi merokok per hari, usia dengan frekuensi pembentukan mikronukleus didapatkan nilai korelasi antara lama merokok dengan frekuensi mikronukleus adalah 0,188 dengan signifikansi 0,304 ($p > 0,05$). Nilai korelasi frekuensi merokok per hari dengan frekuensi mikronukleus adalah 0,283 ($p = 0,117$).

Nilai korelasi usia dengan frekuensi mikronukleus adalah 0,259 ($p = 0,042$). Hal ini menunjukkan bahwa lama merokok dan frekuensi rokok per hari tidak berkorelasi secara signifikan terhadap

frekuensi pembentukan mikronukleus. Usia memiliki korelasi yang signifikan terhadap frekuensi pembentukan mikronukleus.

Koefisien R digunakan untuk mengetahui tingkat korelasi ganda variabel usia, lama merokok, dan frekuensi batang rokok per hari secara serentak terhadap variabel frekuensi mikronukleus. Nilai R yang diperoleh adalah 0,662 yang menunjukkan adanya korelasi positif yang kuat antara variabel usia, lama merokok, dan frekuensi batang rokok per hari secara serentak terhadap variabel frekuensi mikronukleus.

Koefisien R² digunakan untuk mengetahui prosentase sumbangan pengaruh variabel usia, lama merokok, dan frekuensi batang rokok per hari secara bersama-sama terhadap variabel frekuensi mikronukleus. Koefisien ini menunjukkan seberapa besar prosentase variasi variabel independen yang digunakan dalam model mampu menjelaskan variasi variabel dependen. Berdasarkan tabel 3 diperoleh nilai R² sebesar 0,439 yang berarti variabel usia, lama merokok, dan frekuensi batang rokok per hari secara bersama-sama memiliki pengaruh sebesar 43,9% terhadap frekuensi pembentukan mikronukleus.

PEMBAHASAN

Di negara Eropa dan Amerika telah dilakukan penelitian hubungan antara frekuensi mikronukleus dengan paparan zat genotoksik termasuk asap rokok.³ Gabriel dkk melaporkan adanya peningkatan dua kali lipat pada frekuensi mikronukleus individu perokok,¹¹ namun sebagian besar peneliti melaporkan bahwa hubungan antara aktivitas merokok tidak menunjukkan hubungan yang bermakna terhadap frekuensi pembentukan mikronukleus.^{12,13} Penelitian di negara-negara maju tersebut dilakukan pada perokok jenis *mild* / rokok putih yang memiliki kandungan tar dan nikotin lebih rendah daripada kandungan tar dan nikotin rokok kretek di Indonesia.

Maison mengemukakan bahwa rokok kretek memiliki beberapa kriteria yang berpotensi untuk menimbulkan efek toksik lebih tinggi daripada rokok putih biasa. Di samping kandungan zat anestesi eugenol yang tidak terdapat pada rokok putih, rokok kretek memiliki lama waktu rata-rata untuk dikonsumsi lebih panjang daripada rokok biasa. Hal lain seperti rasa yang lebih mantap dan aroma yang lebih sedap memberikan kecenderungan untuk menambah frekuensi merokok pada generasi muda.¹⁴

Variabel lama merokok menunjukkan berapa lama seseorang sudah secara rutin terpapar asap rokok secara aktif dalam satuan tahun. Gama melaporkan dalam penelitiannya di Yogyakarta bahwa terdapat pengaruh yang signifikan antara lama paparan terhadap frekuensi mikronukleus pada mekanik bengkel motor yang terpapar emisi gas buang kendaraan.¹⁰ Namun

TABEL 1
Frekuensi mikronukleus

Variabel	n	Rerata ± SD	p
Perokok	32	5,285 ± 2,01	0,070
Bukan perokok	30	4,30 ± 2,16	

TABEL 2
Lama Merokok, Frekuensi Merokok dan Usia dengan Frekuensi Mikronukleus

Variabel	Lama merokok	Frekuensi Mikronukleus	p
Lama merokok	1	0,188	0,304
Frekuensi rokok	1	0,283	0,117
Usia	1	0,259	0,042

TABEL 3
Tingkat korelasi ganda

Variabel bebas	Koefisien R	Koefisien R ²
Frekuensi rokok per hari, usia dan lama merokok	0,662	0,439

dalam penelitian ini tidak ditemukan hubungan yang bermakna antara frekuensi mikronukleus dengan lama seseorang terpapar senyawa genotoksik rokok kretek.

Frekuensi batang rokok yang dikonsumsi per hari awalnya diasumsikan memberikan pengaruh yang cukup signifikan terhadap frekuensi mikronukleus. Meskipun berkorelasi positif (0,283), namun pengaruh yang diberikan terhadap frekuensi mikronukleus dianggap tidak signifikan ($p=0,117$) sehingga disimpulkan tidak ada pengaruh bermakna antara frekuensi batang rokok yang dikonsumsi per hari terhadap frekuensi pembentukan mikronukleus.

Beberapa variabel perancu yang terdapat dalam penelitian ini seperti tingkat kebersihan mulut dan usia, telah disetarakan untuk memperkecil kesalahan. Tingkat kebersihan mulut mungkin dapat mempengaruhi hasil penelitian karena individu dengan kebersihan mulut yang buruk akan berpotensi mengalami kerusakan sel karena banyaknya flora pada mulutnya sehingga penyebab kerusakan intisel yang terlihat menjadi rancu.¹⁰ Peneliti mengukur tingkat kebersihan mulut dengan kriteria *Oral Hygiene Index* (OHI-s) dan hanya memasukkan sampel yang memiliki nilai OHI-s cukup.

Variabel jenis kelamin dan usia juga memiliki peran cukup penting dalam memberikan interpretasi yang salah terhadap jumlah mikronukleus. Orta dan Günebakan melaporkan bahwa di atas usia 50 tahun, individu akan mengalami kerusakan kromosom bifasik dan akan mengakibatkan penurunan jumlah mikronukleus.¹⁵ Milosevic-Djordjevic dalam penelitiannya terhadap populasi di Yugoslavia melaporkan bahwa penurunan jumlah mikronukleus terjadi setelah usia 40 tahun.¹⁶ Dalam penelitian ini dilakukan pengambilan sampel laki-laki pada rentang usia 20–40 tahun. Penelitian ini juga mendukung beberapa penelitian di atas dengan menunjukkan adanya korelasi yang signifikan antara usia dengan jumlah mikronukleus pada rentang usia 20–40 tahun.

Dari analisa regresi dapat disimpulkan bahwa variabel usia, lama merokok, dan frekuensi batang rokok per hari memiliki pengaruh sebesar 43,9% terhadap frekuensi pembentukan mikronukleus.

Hasil penelitian ini menguatkan pendapat bahwa aktivitas merokok pada sebagian besar individu di Indonesia tidak secara signifikan berpengaruh terhadap frekuensi pembentukan mikronukleus. Hal ini mungkin disebabkan karena faktor lain seperti faktor keturunan, pola makan dapat berpengaruh terhadap pembentukan mikronukleus pada mukosa mulut.

SIMPULAN

Hasil penelitian menyimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada frekuensi pembentukan mikronukleus antara kelompok perokok dan bukan perokok, kebiasaan merokok tidak memiliki pengaruh signifikan terhadap frekuensi mikronukleus, lama merokok dan frekuensi batang rokok yang dikonsumsi per hari tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap frekuensi pembentukan mikronukleus. Disarankan untuk dilakukan penelitian tentang dampak paparan asap rokok pada perokok pasif dan penelitian mengenai pengaruh zat-zat yang terkandung dalam setiap jenis rokok dalam hubungannya dengan pembentukan mikronukleus.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lu FC, Kacew S. Basic toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk Assessment. 1st ed. New York. Hemisphere; 1991.
2. Baca CT, Yahne CE. Smoking cessation during substance abuse treatment: What you need to know. *Journal of Substance Abuse Treatment*.2009;36(2):205–219.
3. Holland N, Bolognesi C, Bonassi S, Zeiger E, Fenech M, Knasmueller S, dkk. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*.2008;659(1-2):93–108.
4. Jois HS, Kale AD, Kumar M. Micronucleus as Potential Biomarker of Oral Carcinogenesis. *Indian Journal of Dental Advancement*.2010;02(02):197–202.
5. Pawitan JA, Suryono IA. Sensitivity and specificity of the micronucleus test in hypotonic-swollen mononuclear leukocytes compared to the micronucleus test in binucleated lymphocytes to assess chromosomal breaks. *Anal Quant Cytol Histol*.2006;28(3):175–180.
6. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. *Globocan 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10* [Internet].2010 [cited on 01/02/2013]; Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <http://globocan.iarc.fr>.
7. Riset Kesehatan Dasar. Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Depkes. (2010).
8. Bonassi S, Znaor A, Norppa H, Hagmar L. Chromosomal aberrations and risk of cancer in humans: an epidemiologic perspective. *Cytogenet Genome Res*.2004;104(1-4):376–382.
9. Oliveira LU, Lima CF, Salgado MA, Balducci I, Almeida JD. Comparative study of oral mucosa micronuclei in smokers and alcoholic smokers. *Anal Quant Cytol Histol*.2012;34(1):9–14.
10. Mahardika PG. Pengaruh paparan emisi kendaraan bermotor terhadap frekuensi pembentukan mikronukleus di mukosa rongga mulut pada mekanik bengkel motor. *Media Medika Muda*.2012.
11. Gabriel HE, Crott JW, Ghandour H, dkk. Chronic cigarette smoking is associated with diminished folate status, altered folate form distribution, and increased genetic damage in the buccal mucosa of healthy adults. *Am J Clin Nutr* 2006;83:835–41.
12. Bagwe AN, Bhisey RA. Occupational exposure to tobacco and resultant genotoxicity. *Mutat Res*.1993;299(2):103–109.
13. Demarini, DeMarini DM. Genotoxicity of tobacco smoke and tobacco smoke condensate: a review. *Mutat Res*.2004;567(2-3):447–474.
14. Maison JL, Lee EM. Clove cigarette smoking : biochemical, physiological, and subjective effects. *Pharmacol Biochem Behav*.2003;74(3):739–745.
15. Orta T, Günebakan S. The effect of aging on micronuclei frequency and proliferation in human peripheral blood lymphocytes. *Indian J Hum Genet* 2012;18:95–100.
16. Milosevic-Djordjevic. Micronuclei and ageing in a sample of Yugoslavian population. *Russian J of Gene*. 2002;38(2). 201–204