

**Identifikasi Warna Koloni Bakteri Anaerob Pada  
Gingival Crevicular Fluid Pasien Gingivitis  
dan Periodontitis Kronis  
(Identification of Anaerobic Bacteria Colonies Color  
In Gingival Crevicular Fluid Of Gingivitis  
and Chronic Periodontitis Patients)**

Yusnida Furoida<sup>1</sup>, Banun Kusumawardani<sup>2</sup>, Tantin Ermawati<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

<sup>2,3</sup>Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember  
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121

e-mail korespondensi: [nidayusnida@gmail.com](mailto:nidayusnida@gmail.com)

**Abstract**

*Periodontal disease is an inflammatory disease in tooth supporting tissues. This severity is characterized by loss of periodontal attachment and alveolar bone resorption. Anaerobic bacteria are the main etiology of periodontal disease that have different prevalence in various geographic and racial or ethnic groups. The purpose of this study was to determine the differences in the number of colonies of anaerobic bacteria based on colony color and the most dominant color of the anaerobic bacteria colony in GCF gingivitis and chronic periodontitis patients. GCF samples were obtained from 12 gingivitis patients and 12 chronic periodontitis patients. This study showed that the number of black pigmented colonies were significantly different ( $p < 0.05$ ) on gingivitis (1,95%) and chronic periodontitis (43,89%) groups, whereas the grey, yellow, and white colonies were not significantly different ( $p > 0.05$ ) on both groups. Conclusion of this study that the number of anaerobic bacteria colonies based on colony color in GCF gingivitis patients were different with chronic periodontitis patients. The color of anaerobic bacteria colony in GCF of chronic periodontitis and gingivitis patients were mostly grey.*

**Keywords:** Anaerobic bacteria, chronic periodontitis, colony color, gingival crevicular fluid, gingivitis

**Abstrak**

Penyakit periodontal adalah penyakit inflamasi pada jaringan penyangga gigi. Keparahan penyakit periodontal ditandai dengan hilangnya perlekatan periodontal serta resorpsi tulang alveolar. Bakteri anaerob sebagai penyebab utama pada penyakit periodontal memiliki prevalensi yang berbeda berdasarkan faktor geografis dan ras/kelompok etnis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan jumlah koloni bakteri anaerob berdasarkan warna koloninya, dan untuk menentukan warna koloni bakteri anaerob yang paling dominan pada GCF pasien gingivitis dan periodontitis kronis. Sampel GCF diambil dari 12 pasien gingivitis dan 12 pasien periodontitis kronis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah koloni bakteri anaerob yang berwarna hitam berbeda secara bermakna ( $p < 0,05$ ) pada kelompok gingivitis (1,95%) dan periodontitis kronis (43,89%), sedangkan koloni bakteri berwarna abu-abu, putih dan kuning tidak ada perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ) pada kedua kelompok tersebut. Kesimpulan penelitian ini adalah jumlah koloni bakteri anaerob berdasarkan warna koloninya pada GCF pasien gingivitis berbeda dengan pasien periodontitis kronis. Warna koloni bakteri anaerob yang paling dominan pada GCF pasien periodontitis kronis dan gingivitis adalah berwarna abu-abu.

**Kata kunci:** Bakteri anaerob, *gingival crevicular fluid*, gingivitis, periodontitis kronis, warna koloni

## Pendahuluan

Penyakit periodontal masih merupakan penyakit rongga mulut dengan prevalensi tinggi di Indonesia. Penyakit periodontal memiliki prevalensi sebesar 96,58 % pada kelompok umur 15-65 tahun [1] dan menduduki urutan kedua dari masalah penyakit rongga mulut setelah karies gigi [2].

Penyakit periodontal adalah penyakit inflamasi yang terjadi pada jaringan penyangga gigi dan bila tidak dirawat dapat mengakibatkan tanggalnya gigi. Penyakit periodontal dimulai dari gingivitis dan kemudian berkembang menjadi periodontitis. Keparahan ini ditandai dengan adanya kerusakan jaringan pendukung periodontal berupa kerusakan fiber, ligamen periodontal dan tulang alveolar [2,3]. Bakteri anaerob merupakan penyebab utama pada perkembangan penyakit periodontal destruktif [4].

Bakteri anaerob lebih banyak ditemukan pada pasien periodontitis kronis dibandingkan pada gingivitis. Bakteri anaerob terlibat sebagai patogen yang berhubungan dengan inisiasi dan perkembangan periodontitis [4]. Bakteri tersebut menyebabkan perubahan patologi pada jaringan periodontal sehingga respon imun baik seluler maupun humoral diaktifkan untuk mengontrol terjadinya infeksi. Salah satu pengontrol terhadap adanya infeksi dalam rongga mulut adalah cairan sulkus gingiva [5].

Cairan sulkus gingiva atau *gingival crevicular fluid* (GCF) merupakan pertahanan lokal terpenting pada poket periodontal. GCF ini memiliki komponen imun yang lebih kompleks bila dibandingkan dengan saliva sehingga aliran cairannya berkontribusi sebagai pengontrol kolonisasi bakteri. Pada periodontal yang sehat, GCF mengandung eksudat yang berasal dari serum dan diekskresikan dalam jumlah kecil. Namun, ketika terjadi peningkatan keparahan inflamasi periodontal, maka jumlah ekskresi GCF meningkat secara signifikan [5]. Kandungan dalam GCF ternyata berfungsi sebagai nutrisi yang dapat mendukung perkembangan berbagai macam bakteri [6]. Berbagai macam keluarnya nutrisi seperti protein maupun hemin yang dihasilkan dari efek inflamasi akan menciptakan suatu kultur lingkungan dan menyebabkan kolonisasi yang cepat dari mikroorganisme yang ada dalam sulkus gingiva [7]. Sehingga, GCF sebagai media perkembangan bakteri sangatlah berperan dalam identifikasi berbagai koloni bakteri.

Morfologi koloni bakteri berguna dalam identifikasi awal spesies bakteri. Koloni bakteri tumbuh dari sebuah sel tunggal dan terdiri dari jutaan sel. Setiap koloni memiliki perbedaan dalam hal ukuran, bentuk, tepi, tekstur, tingkat opasitas dan warna [8]. Berbagai macam warna pigmentasi koloni yakni hitam, abu-abu, kuning, putih, merah muda,

dan jingga dapat ditemukan pada media kultur. Berdasarkan warna koloni bakteri anaerob yang paling banyak dapat tumbuh pada GCF yang berasal dari pasien periodontitis kronis adalah berwarna koloni kehitaman atau *black pigmented* [9].

Bakteri dengan warna koloni hitam diidentifikasi sebagai kelompok bakteri dari *Bacteriodes* spp. [10]. Bakteri dari genus *Bacteriodes* menjadi penyebab utama pada penyakit periodontal dan memiliki persentase yang berbeda-beda pada setiap populasi orang Asia. Di Thailand, prevalensi dari *Porphyromonas gingivalis* (95 %), *Tannerella forsythia* (95 %), *Treponema denticola* (80 %), dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (35 %). Hasil yang berbeda ditunjukkan pada prevalensi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dimana pada populasi orang Jepang didapatkan 10 % sedangkan orang Korea 85 % [11].

Adanya perbedaan pada faktor geografis dan ras/kelompok etnis dari subyek yang akan diteliti sangat berpengaruh pada distribusi dari spesies bakteri [12]. Faktor-faktor tersebut nantinya akan menentukan metode terapi yang paling efektif untuk masing-masing populasinya [11]. Penelitian mengenai identifikasi warna koloni bakteri penyakit periodontal di Indonesia masih belum ada. Oleh karena itu, penelitian ini sangat diperlukan dan dapat dijadikan sebagai penelitian pendahuluan yang berguna untuk identifikasi awal spesies bakteri penyebab penyakit periodontal pada populasi orang Indonesia.

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti ingin mengetahui warna koloni bakteri anaerob pada GCF pasien gingivitis dan periodontitis kronis sehingga dapat membantu dalam menentukan terapi pengobatan penyakit periodontal secara lebih tepat dan efektif.

## Metode Penelitian

Sebelum melakukan penelitian, dilakukan perijinan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada. Jenis penelitian ini adalah deskriptif analitik dengan pengambilan data secara *cross sectional*. Penelitian ini dilaksanakan di Bagian Biomedik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada bulan Oktober-Desember 2013. Jumlah sampel pada penelitian ini adalah 24 sampel GCF yang diambil dari 12 pasien gingivitis dan 12 pasien periodontitis kronis.

Subyek penelitian yang layak (*eligible*) harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dan diminta untuk mengisi dan menyetujui *informed consent*. Untuk kriteria inklusi, masing-masing subyek laki-

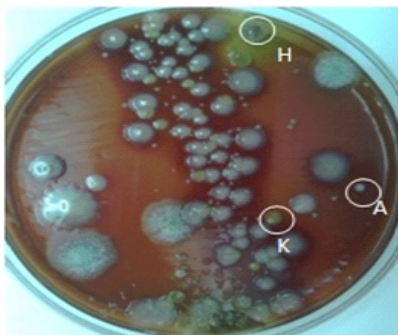
laki berusia 25-55 tahun dan gigi yang tersisa minimal 20 gigi. Pada kelompok gingivitis dengan skor *Periodontal Index* (PI) 0,3-0,9, terdapat inflamasi pada gingiva dan kedalaman *probing*  $\leq$  3 mm, Sedangkan pada subyek periodontitis kronis dengan skor PI 1,6-5,0, terdapat kehilangan perlekatan  $>$  5 mm, mempunyai kedalaman *probing*  $>$  3 mm dan adanya resorpsi tulang alveolar.

Untuk kriteria eksklusi, yakni merokok, mempunyai penyakit sistemik, menggunakan obat kumur dan mengkonsumsi obat yang dapat menimbulkan gangguan metabolisme, misal obat-obatan untuk diabetes melitus dan antibiotik dalam 6 bulan terakhir.

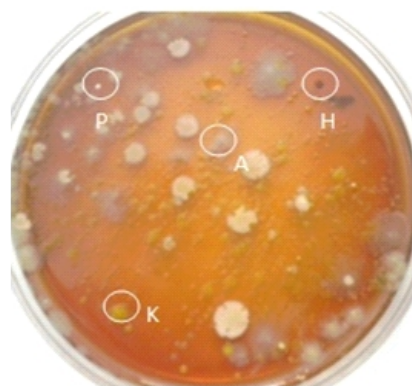
Semua alat dan bahan dipersiapkan, termasuk media kultur (TSA dengan 5 % *sheep blood*) dan media transport (3 ml PBS). Subyek diinstruksikan menyikat gigi terlebih dahulu serta tidak makan dan minum minimal 60 menit sebelum pengumpulan GCF. Subyek penelitian diperiksa kondisi intra oralnya, mengukur derajat kehilangan perlekatan, dan kedalaman poket. Selain itu, untuk mengetahui adanya resorpsi tulang alveolar, dapat dilakukan foto periapikal. Pengambilan sampel GCF dikoleksi dengan 2 *paper point* steril yang diinsersikan satu per satu secara bergantian pada area subgingiva yang sama dengan skor PI tertinggi dan didiamkan selama 20 detik. Ujung *paper point* yang telah diaplikasikan dari rongga mulut dipotong secukupnya sampai terserapnya cairan GCF dan langsung dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 3 ml PBS. Sampel dalam tabung reaksi digetarkan dengan *centrifuge* (10.000 rpm) selama 30 detik, kemudian 1 ml sampel diencerkan dengan 9 ml larutan aquadest sampai mencapai  $10^{-5}$  dan dilakukan inokulasi pada media kultur. Media kultur diinkubasi dalam desikator selama 14 hari. Setelah itu, dilakukan identifikasi warna koloni bakteri yang tumbuh.

### Hasil Penelitian

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil sebagai berikut:



Gambar 1. Variasi warna pada pasien gingivitis, ditemukan koloni warna hitam (H), abu-abu (A), dan kuning (K).



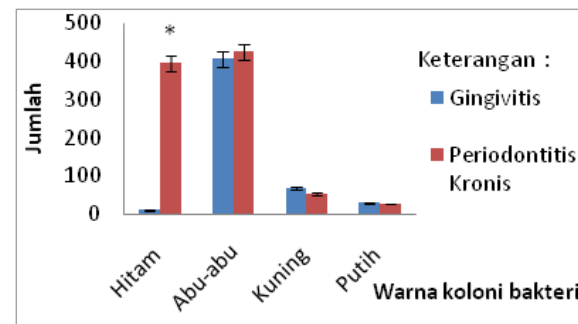
Gambar 2. Pada pasien periodontitis kronis, ditemukan koloni warna hitam (H), abu-abu (A), kuning (K) dan putih (P).

Terlihat bahwa warna koloni abu-abu paling dominan pada kelompok gingivitis dan periodontitis kronis. Persentase jumlah koloni tiap warna pada gingivitis dan periodontitis kronis dapat dilihat pada Tabel 4.1. dan hasil Uji dapat dilihat pada Gambar 3.

Tabel 1. Persentase jumlah warna koloni pada GCF kelompok gingivitis dan periodontitis kronis

Warna Koloni	Gingivitis		Periodontitis Kronis	
	N	%	N	%
Hitam	10	1,95	395	43,89
Abu-abu	407	79,49	424	47,11
Kuning	67	13,09	54	6
Putih	28	5,47	27	3

N = jumlah warna koloni pada seluruh media (12 subyek)



Gambar 3. Jumlah warna koloni bakteri pada sampel GCF. Diagram batang tersebut menggambarkan jumlah warna koloni bakteri dan SEM (*Standart Error of Mean*). Terdapat perbedaan yang bermakna (\*Sig.,  $p < 0,05$ ) pada kelompok gingivitis dan periodontitis kronis yang ditunjukkan pada warna hitam dengan menggunakan uji *Mann-Whitney*.

## Pembahasan

Penyakit periodontal sampai saat ini masih menjadi penyakit rongga mulut yang memiliki prevalensi terbesar di masyarakat, yakni gingivitis dan periodontitis kronis. Gingivitis merupakan awal dari proses inflamasi pada jaringan periodontal, namun tidak sampai pada resorpsi tulang alveolar. Periodontitis kronis didefinisikan sebagai penyakit destruktif yang disebabkan adanya inflamasi dalam jaringan pendukung gigi. Hal ini ditandai dengan pembentukan poket periodontal dan resorpsi tulang alveolar. Gingivitis maupun periodontitis bisa dialami oleh semua kelompok usia, tetapi paling umum terjadi pada orang dewasa. Prevalensi dan keparahan penyakit meningkat dengan bertambahnya usia. Hal ini tidak lepas dari peranan bakteri sebagai etiologi utama dari penyakit periodontal. Tidak hanya satu spesies, tetapi kombinasi yang berbeda dari multibakteri diperlukan untuk bisa menyebabkan perkembangan dari gingivitis ke periodontitis destruktif [13].

Keberadaan bakteri pada plak atau kalkulus subgingiva menyebabkan bakteri anaerob menjadi etiologi utama dalam perkembangan penyakit periodontitis kronis. Bakteri anaerob biasanya dominan ditemukan pada periodontitis kronis dibanding gingivitis, baik itu Gram-negatif maupun Gram-positif, seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella melanogenica*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides* spp., *Selenomonas* spp., *Veillonella* spp., *Peptostreptococcus micros*, *Peptostreptococcus productus*, *Streptococcus intermedius*, *Actinomyces viscosus*, dan *Eubacterium lentum* [14]. Kelompok bakteri tersebut masuk dalam klasifikasi *red cluster* dan *orange cluster* dengan sedikit *yellow cluster*, dimana kelompok tersebut berhubungan dengan peningkatan indeks periodontal dan terdeteksi dalam poket dengan kedalaman *probing* > 4 mm yang disertai perdarahan [13].

Kelompok *red cluster* menjadi sorotan utama dalam penyakit destruktif dan menjadi ciri khas kelompok Gram-negatif anaerob berpigmen hitam (*black pigmented*). Kelompok spesies ini memiliki

ciri pigmen coklat kehitaman pada media kultur *blood agar*. Pigmen ini adalah produk metabolisme dari hemin yang terdapat pada *blood agar* dan berfungsi sebagai pertahanan untuk melindungi sel bakteri dari oksigen [4].

Penelitian ini menunjukkan terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri anaerob berdasarkan warna koloninya pada GCF pasien gingivitis dan periodontitis kronis. Warna koloni bakteri anaerob yang paling banyak ditemukan pada GCF pasien gingivitis dan periodontitis kronis adalah berwarna abu-abu. Koloni bakteri berwarna hitam atau *black pigmented* ditemukan lebih banyak pada pasien periodontitis kronis dibandingkan gingivitis. Sedangkan koloni bakteri berwarna kuning dan putih tidak ada perbedaan antara pasien gingivitis dan periodontitis kronis karena rata-rata memiliki jumlah yang sama.

Perbedaan warna ini diseragamkan untuk bentuk koloni yang bulat. Hal ini dimaksudkan karena kelompok bakteri anaerob Gram-negatif berpigmen hitam yang biasa ditemukan pada penyakit periodontitis destruktif memiliki ciri warna koloni bakteri berpigmen hitam dengan bentuk bulat [9].

Adanya berbagai faktor seperti suhu, pH, karbondioksida, oksigen, dan mineral sangat mempengaruhi dalam pertumbuhan bakteri, khususnya pada fase-fase pertumbuhannya [15]. Dengan menggunakan media kultur TSA dengan 5 % *sheep blood* yang diinkubasi pada desikator dengan suhu ruang sebesar 25-30 °C dimungkinkan mengalami perlambatan dalam pertumbuhannya, yang normalnya 2-4 hari [10] menjadi 14 hari. Seperti pada bakteri *Tannerella forsythia*, spesies ini sulit untuk berkembang dan membutuhkan waktu hingga 14 hari bagi koloni untuk berkembang optimal [16].

Faktor pertumbuhan lain yang mempengaruhinya adalah suhu. Setiap spesies bakteri memiliki waktu untuk tumbuh, pada suhu minimum, optimum, dan maksimum. Bakteri anaerob yang berada pada rongga mulut atau tubuh manusia, dikultur pada suhu optimal yakni 37 °C. Bakteri ini termasuk pada klasifikasi bakteri *mesophiles* (*moderate-loving*), yang pertumbuhannya berada pada suhu 25-40 °C [15]. Kondisi ini berbeda ketika kultur bakteri berada pada wadah toples. Toples yang digunakan diganti dengan desikator dan diinkubasi pada suhu ruang 25-30 °C. Suhu ini berada pada rentang suhu minimal, yakni suhu terendah di mana spesies akan tumbuh. Hal ini mempengaruhi waktu metabolisme dari enzim bakteri sehingga menyebabkan fase-fase pertumbuhannya menjadi lebih lambat.

Nutrisi juga ikut berperan dalam pertumbuhan bakteri. Kultur bakteri anaerob sangat cocok menggunakan media kultur TSA dengan 5 % *sheep blood* [17]. Kandungan dari TSA dengan 5 % *sheep blood* yakni kedelai, agar, kasein, NaCl, dan mineral [18]. Peranan dari kandungan tersebut sangat besar untuk metabolisme pertumbuhan bakteri, sebagai pembentukan asam amino, kofaktor dan koenzim [16].

Dari hasil pengamatan warna koloni bakteri pada media kultur bakteri didapatkan warna hitam, abu-abu, kuning dan putih. Pada penelitian lanjutan dengan pengecatan Gram pada warna koloni bakteri tersebut yang dilakukan oleh rekan peneliti lainnya didapatkan hasil identifikasi bentuk bakteri yang paling banyak terdapat pada pasien gingivitis adalah bentuk *staphylococcus* Gram-positif sedangkan pada pasien periodontitis kronis adalah bentuk basil Gram-negatif.

Koloni bakteri berwarna hitam yang diidentifikasi lebih lanjut dengan pewarnaan Gram didapatkan bentukan basil Gram negatif yang diduga mengandung bakteri anaerob Gram-negatif seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Tannerella forsythia*. Perbedaan pada warna hitam pada media kultur penelitian, *P. gingivalis* coklat kehitaman sedangkan spesies dari *Prevotella* berwarna hitam pekat dengan bentuk sama yakni bundar dan elevasi cembung. Selain itu, koloni bakteri berwarna hitam diduga juga mengandung bakteri *Tannerella forsythia* (sebelumnya *Bacteroides forsythus*). Bakteri ini tumbuh dan meningkat bersama dengan *Fusobacterium nucleatum* [16].

Koloni bakteri berwarna abu-abu yang diidentifikasi lebih lanjut dengan pewarnaan Gram didapatkan bentukan basil Gram-negatif dan *staphylococcus* Gram-positif yang diduga mengandung bakteri seperti *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, dan *Fusobacterium nucleatum* [3]. *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* (sekarang *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) memiliki karakteristik koloni berwarna abu-abu bulat cembung dengan bentukan bintang di tengah [19]. *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter* sp., *Streptococcus* sp. juga diduga memiliki warna putih keabu-abuan [20]. Warna putih keabu-abuan atau bening juga bisa diduga pada bakteri *Moraxella* sp., *Eikenella corrodens*, dan *Kingella kingae* [21].

Koloni bakteri berwarna kuning yang diidentifikasi lebih lanjut dengan pewarnaan Gram didapatkan bentukan basil Gram-negatif dan *staphylococcus* Gram-positif yang diduga mengandung *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* spp. dan genus *Capnocytophaga*. Genus

*Capnocytophaga* seperti spesies *Capnocytophaga ochracea*, *Capnocytophaga sputigena*, *Capnocytophaga gingivalis* juga bisa masuk kriteria, karena memiliki karakteristik fakultatif anaerob dengan koloni tidak hanya berwarna kuning, tetapi juga bisa putih atau merah muda. *Staphylococcus aureus* yang memiliki karakteristik bulat dengan warna kuning emas [16].

Sedangkan koloni bakteri berwarna putih yang diidentifikasi lebih lanjut dengan pewarnaan Gram didapatkan bentukan *streptococcus* Gram-positif diduga mengandung bakteri seperti *Streptococcus* sp., *Actinomyces* spp. [16]. Pada *Micrococcus* spp. juga bisa diduga ada karena karakteristiknya mirip dengan *Staphylococcus* biasanya mereka tumbuh sebagai warna koloni putih meskipun beberapa spesiesnya juga bisa ditemukan warna merah muda, *orange* atau kuning [16]. Sedangkan pada *Streptococcus* sp. terlihat memiliki beberapa variasi karena adanya reaksi hemolitik, seperti  $\alpha$ -hemolisis,  $\beta$ -hemolisis, dan  $\gamma$ -hemolisis. *Streptococcus viridans* memiliki  $\alpha$ -hemolisis dengan zona sempit hemolisis parsial dan perubahan warna hijau di sekitar koloni. *S. pyogenes* memiliki  $\beta$ -hemolisis dengan zona tembus lengkap hemolisis sekitar koloni. Sedangkan *Enterococcus* sp. tidak ada hemolisis ( $\gamma$ -hemolisis) dengan warna koloni putih keabu-abuan [21]

Koloni bakteri dengan pigmen hitam menjadi pokok permasalahan dari perkembangan penyebab penyakit periodontitis destruktif. Namun, hasil penelitian ini ternyata tidak sesuai dengan hipotesis tersebut, ditemukan warna abu-abu paling banyak ditemukan pada GCF pasien gingivitis dan periodontitis kronis. Warna koloni abu-abu diduga adalah bakteri *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter* sp., *Streptococcus* sp. (*Streptococcus intermedius*), yang ternyata kelompok bakteri tersebut memiliki peranan sebagai penyebab periodontitis destruktif [13].

Keberadaan kelompok bakteri tersebut diawali dari peranan *Fusobacterium nucleatum* dan *Streptococcus sanguis* yang mampu membentuk sebuah jembatan perlekatan antara bakteri awal, yaitu *Streptococcus* spp. dengan kelompok bakteri anaerob [13]. Oleh karena itu, ketika kolonisasi dari bakteri *Fusobacterium nucleatum* dan *Streptococcus intermedius* semakin banyak, maka ikatan koagregasi dengan bakteri anaerob juga semakin banyak, khususnya bakteri dengan koloni berpigmen hitam, yang ternyata terbukti lebih banyak ditemukan pada GCF pasien periodontitis kronis.

Kelompok bakteri genus *Bacteroides* yang dominan berpigmen hitam adalah *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Tannerella forsythia*. Dalam

perkembangannya di rongga mulut membutuhkan waktu yang lama untuk mendukung suasana lingkungan yang optimal, seperti dibutuhkannya kelompok bakteri yang mampu sebagai jembatan untuk melekatkan diri, dan kebutuhan oksigen yang sangat rendah untuk mengkondisikan suasana yang anaerob. Bakteri anaerob gram negatif terus berkolonisasi dan berkoagregasi dengan faktor-faktor virulensinya, seperti fimbria, kolagenase, endotoksin dan enzim-enzim lisis lainnya [22].

Bakteri-bakteri patogen yang ada di rongga mulut bisa dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti keparahan perdarahan, kedalaman *probing*, kehilangan perlekatan, hingga letak gigi seperti insisif, premolar atau molar. Sebagian besar bakteri patogen dengan pigmen hitam ditemukan lebih banyak pada gigi molar (posterior) dengan tingkat keparahan perdarahan dan kedalaman *probing* yang besar [23]. Ini juga terbukti dari hasil data pemeriksaan PI pada subyek penelitian, bahwa rata-rata penyakit destruktif ini terjadi pada gigi posterior dengan skor PI sebesar 3-4.

Keberadaan bakteri pada daerah subgingiva juga didukung dengan nutrisi yang ada pada lingkungannya, seperti adanya nutrisi pada plak atau kalkulus supragingiva maupun subgingiva dan cairan GCF yang berupa karbon, nitrogen, mineral dan vitamin [13]. Kelompok bakteri anaerob gram negatif membutuhkan peptida dan hemin untuk tumbuh sehingga kandungan pada cairan GCF sangat cocok untuk nutrisi metabolismenya [22].

Dengan adanya identifikasi warna koloni bakteri anaerob pada GCF pasien gingivitis dan periodontitis kronis ini, didapatkan bahwa penyebab dari perkembangan penyakit periodontal dari gingivitis ke periodontitis kronis berasal dari infeksi multibakterial yang teridentifikasi pada warna koloni hitam, abu-abu, kuning dan putih. Hasil identifikasi koloni berwarna abu-abu dan hitam dapat digunakan sebagai penanda adanya penyakit periodontal destruktif. Perbedaan hasil dengan hipotesis tidak terlepas dari adanya perbedaan pada faktor geografis dan ras/kelompok etnis dari subyek yang diteliti sehingga mempengaruhi pada distribusi dari spesies bakteri. Selanjutnya, penelitian pendahuluan tentang warna koloni bakteri anaerob pada GCF pasien gingivitis dan periodontitis kronis ini dapat ditindak lanjuti dengan penelitian lanjutan yang mengidentifikasi bakteri anaerob berdasarkan fenotip dan genotipnya.

### Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa warna koloni bakteri anaerob yang paling banyak ditemukan pada

GCF pasien gingivitis dan periodontitis kronis adalah berwarna abu-abu. Terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri anaerob berdasarkan warna koloninya pada GCF pasien gingivitis dan periodontitis kronis.

Saran dari peneliti adalah perlu dilakukan penelitian dalam jangka waktu yang bertahap, mulai pengamatan hari ke-1 sampai ke-14 untuk mengetahui proses pertumbuhan bakteri anaerob secara lebih detail, dan penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya yang mengidentifikasi bakteri anaerob berdasarkan fenotip dan genotipnya.

### Daftar Pustaka

- [1] Tampubolon NS. Dampak Karies Gigi dan Penyakit Periodontal Terhadap Kualitas Hidup. Pidato Pengukuhan Guru Besar FKG Universitas Sumatera Utara. Medan: FKG USU; 2005.
- [2] Wahyukundari MA. Perbedaan Kadar Matrix Metalloproteinase-8 Setelah Scaling dan Pemberian Tetrasiklin pada Penderita Periodontitis Kronis. J PDGI. 2009. 58 (1): 1-6.
- [3] Newman MG, Takey HH, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology. 11th ed. St. Louis: Saunders; 2012.
- [4] Soukos NS, Som S, Abernethy AD, Ruggiero K, Dunham J, Lee C, Doukas AG, Goodson JM. Phototargeting Oral Black-pigmented Bacteria. Antimicrob Agents Chemother. 2005. 49 (4): 1391-1396.
- [5] Ebersole JL. Humoral immune responses in gingival crevicular fluid: local and systemic implications. Periodontol 2000. 2003. 31: 135-166.
- [6] Mohamad MM. In vitro investigations into the antimicrobial and microecological effects of selected anti-plaque agents. Thesis. England: The University of Manchester for The Degree of Doctor of Philosophy in The Faculty of Medical and Human Sciences; 2011.
- [7] Lamont RJ, Jenkinson HF. Life below the gum line: Pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. Microbiol & Mol Biol Rev. 1998. 62 (4): 1244-1263.
- [8] Christopher K, Bruno E. Identification of bacterial species. Proceedings of the 24th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE). 2003. 24: 103-130.
- [9] Shah HN, Collins MD. Proposal for reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides endodontalis* in new genus, *Porphyromonas*. Int J Syst Bacteriol. 1988. 38 (1): 128-31.

- [10] Duerden BI. Pigment Production by *Bacteroides* species with Reference to Sub-classification. J Med Microbiol. 1975. 8: 113-125.
- [11] Wara-Aswapati N, Pitiphat W, Chanchaimongkon L, Taweechaisupapong S, Boch JA, Ishikawa I. Red Bacterial Complex is Associated with the Severity of Chronic Periodontitis in a Thai Population. Oral Diseases. 2009. 15: 354–359.
- [12] Lopez N. J. Occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Prevotella intermedia* in Progressive Adult Periodontitis. Periodontol. 2000. 71 (6): 948-954.
- [13] Dumitrescu AL. Etiology and Pathogenesis of Periodontal Disease. London: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2010.
- [14] Mane AK, Karmarkar AP, Bharadwaj RS. Anaerobic Bacteria in Subjects with Chronic Periodontitis and In Periodontal Health. J Oral Health Comm Dent. 2009. 3 (3): 49-51.
- [15] Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Microbiology: an introduction. 10th ed. San Fransisco: Pearson Benjamin Cummings; 2010.
- [16] Samaranayake L. Essential Microbiology for Dentistry. 4th ed. Edinburg: Churchill Livingstone Elsevier; 2012.
- [17] Behbehani MJ, Jordan HV, Santoro DL. Simple and convenient method for culturing anaerobic bacteria. Appl Environ Microbiol. 1982. 43 (1): 255-256.
- [18] Pronadisa. Microbiology Culture Media Manual. Mic & Mol Biol. [www.condalab.com](http://www.condalab.com); 2010.
- [19] Lindhe J, Karring T, Lang NP. Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 4th ed. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2003.
- [20] Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Sommers HR. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 2nd ed. Pennsylvania: Lippincott Company; 1983.
- [21] Maza LM, Pezzlo MT, Baron E. Color Atlas of Diagnostic Microbiology. USA: Mosby; 1997.
- [22] Lamont RJ, Jenkinson HF. Life Below the Gum Line: Pathogenic Mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. Microbiol & Mol Biol Rev. 1998. 62 (4): 1244-1263.
- [23] Mombelli A, McNabb H, Lang LP. Black-pigmenting Gram-negative Bacteria Periodontal Disease. I. Topographic Distribution in the Human Dentition. J Periodont Res. 1991. 26: 301-307.