

## GAMBARAN *METHICILIN RESISTANT Staphylococcus aureus* (MRSA) PADA SALIVA PEROKOK TEMBAKAU

Bintari, N.W.D<sup>1\*</sup>, Parwati, P.A<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Diploma Tiga STIKes Wira Medika Bali

<sup>2</sup> Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Sarjana Terapan STIKes Wira Medika Bali  
Jl. Kecak No. 9A Gatot Subroto, Denpasar 80239.

\*Email: desibintari@gmail.com

### Abstrak

Rongga mulut merupakan reservoir potensial bagi bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Pada perokok aktif resiko kolonisasi bakteri tersebut di dalam rongga mulut menjadi lebih tinggi. Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan mikrobiologi dengan tujuan untuk mengetahui gambaran MRSA pada saliva perokok tembakau yang merupakan pasien konseling di Klinik Berhenti Merokok Puskesmas 1 Denpasar Utara. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi STIKes Wira Medika Bali. Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik purposive, dimana terdapat 14 responden yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Saliva pasien dikumpulkan dengan metode spitting kemudian dikultur pada media selektif. Bakteri dilakukan identifikasi secara biokimiawi dan diuji resistensinya dengan teknik difusi cakram Kirby-Bauer. Hasil penelitian menunjukkan bakteri *S. aureus* dapat diisolasi dari 11 sampel. Sebanyak 7 isolat *S. aureus* masih sensitive terhadap lima jenis antibiotik. Tidak ditemukan adanya bakteri MRSA pada sampel, namun 4 isolat merupakan *Methicilin-Intermediate Resistant S. aureus*. Antibiotik dengan daya hambat intermediate adalah Ciprofloxacin 5 µg dan Oxacilin 1 µg.

**Kata kunci:** Ciprofloxacin, Kirby-bauer, Oxacilin, Rokok

### 1. PENDAHULUAN

Perilaku merokok hingga saat ini masih menjadi permasalahan kesehatan di masyarakat. Konsumsi rokok tembakau merupakan penyebab utama kanker paru, penyakit pernafasan kronis dan pemicu penyakit kardiovaskuler (Mattias, 2011). Meskipun menimbulkan berbagai penyakit, perilaku merokok pada masyarakat masih tinggi. Di Indonesia pada tahun 2018 prevalensi perokok dilaporkan sebanyak 28,8%, dimana sebanyak 9,1% nya merupakan perokok dengan usia muda (Risksdas, 2018).

Rongga mulut merupakan organ yang paling beresiko terkena dampak merokok. Kondisi kesehatan mulut yang menurun berpengaruh terhadap kondisi mikrobiota di dalamnya. Merokok dapat menurunkan jumlah bakteri flora normal dan meningkatkan jumlah bakteri potensial patogen (Yu *et al.*, 2017). Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa merokok dapat meningkatkan faktor resiko kolonisasi *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Durmaz *et al.* (2001) menyatakan dari 91 responden perokok yang diteliti sebanyak 33% dapat diisolasi bakteri *S. aureus* dari usap nasofaring dimana 20% diantaranya teridentifikasi sebagai MRSA. Hasil ini juga didukung oleh Abdella *et al.* (2010) yang melaporkan sebanyak 45,5% pasien dengan hasil usap nasofaring positif MRSA merupakan perokok aktif. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa paparan rokok berpengaruh dalam mendukung kolonisasi bakteri patogen MRSA di rongga hidung.

Secara normal kulit dan hidung manusia akan terkolonisasi oleh bakteri *S. aureus*. *Methicilin Resistant S. aureus* merupakan strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik yang secara umum digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh kelompok *Staphylococcal*. Pada kondisi tertentu MRSA dapat menyebabkan infeksi berat dan fatal (Clinical Effectiveness Committee, 2013). Bakteri MRSA diantaranya menyebabkan bakteremia, endokarditis, pneumonia, infeksi pada kulit dan jaringan lunak lainnya (Turner *et al.*, 2019). Screening MRSA sebagian besar dilakukan pada mukosa hidung dan kulit. Namun screening pada rongga mulut juga penting mengingat droplet saliva yang mengandung MRSA dapat tersebar ke lingkungan atau orang lain (Cruz *et al.*, 2011). Berdasarkan latar belakang tersebut pada penelitian ini dilakukan screening MRSA untuk mengetahui gambaran kolonisasinya pada saliva perokok tembakau.

## 2. METODOLOGI

### Jenis, lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang didefinisikan sebagai prosedur pemecahan masalah yang diselidiki dengan menggambarkan keadaan subjek atau objek berdasarkan atas fakta-fakta yang ada. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi STIKES Wira Medika Bali pada bulan Januari- Mei 2020.

### Populasi dan sampel penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah perokok tembakau (*non-elektrik*) yang secara aktif melakukan konseling di Klinik Berhenti Merokok (KBM) Puskesmas 1 Denpasar Utara. Teknik sampling yang digunakan adalah *purposive sampling*. Responden yang digunakan adalah responden yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi diantaranya 1) Responden merupakan perokok aktif hingga pengambilan sampel dilakukan; 2) Merokok aktif minimal 1 tahun; 3) Masih secara aktif mengikuti konseling di KBM 1 Denpasar hingga tahun 2019. Kriteria eksklusi diantaranya: 1) Responden sedang mengkonsumsi antibiotik; 2) Responden sedang menjalani pengobatan atau perawatan gigi dan mulut.

### Pengumpulan spesimen

Pengambilan sampel memperhatikan *universal precaution* atau kewaspadaan universal untuk mencegah terjadinya penularan. Responden diberikan lembar *informed consent*, data terkait identitas serta pernyataan lainnya yang diperlukan untuk melengkapi data sesuai dengan kriteria pemilihan sampel. Pengumpulan spesimen dilakukan dengan metode spitting, dilakukan pukul 09.00-11.00 WITA. Responden diminta berkumur dengan air kemudian diminta mengumpulkan saliva di ujung lidah. Saliva ditampung pada pot steril setiap 1 menit selama 5 menit dan diberikan label identitas. Spesimen disimpan menggunakan cooling box (2-8°C) dan ditransport ke laboratorium untuk pemeriksaan (Savita *et al.*, 2017; Bellagambi *et al.*, 2020).

### Isolasi dan identifikasi bakteri

Spesimen saliva dikultivasi pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) Merck™ kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh dilakukan pengamatan secara makroskopis dan dilakukan reisolasi untuk mendapatkan *stock culture*. Isolat selanjutnya dilakukan pengujian secara biokimiawi untuk identifikasi *S. aureus* yang meliputi pengecatan Gram, uji hemolisa, uji katalase, uji koagulase, uji oksidase dan uji fermentasi gula. Isolat yang teridentifikasi *S. aureus* selanjutnya dilakukan pengujian sensitivitas antibiotik untuk *screening* bakteri MRSA.

### Screening bakteri MRSA

Screening bakteri MRSA dilakukan dengan metode kultur dengan teknik kertas cakram (Kirby-Bauer). Isolat *S. aureus* dikultur pada media *Trypticase Soy Broth* Merck™ selama 24 jam pada suhu 37°C. Kepadatan populasi bakteri *S. aureus* untuk uji adalah  $1 \times 10^8$  CFU/mL atau setara dengan standar kekeruhan McFarland 0,5. Bakteri diinokulasi pada permukaan media Muller Hinton Agar dengan menggunakan swab steril hingga tersebar merata, ditunggu 3-5 menit hingga usapan kering. Cakram antibiotik selanjutnya diletakkan pada permukaan media. Media selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adapun jenis antibiotik yang digunakan untuk uji diantaranya Ciprofloxacin 5 µg, Oxacillin 1 µg, Cefoxitin 30 µg, Vancomycin 30 µg dan Ampicillin 10 µg. Diameter hambatan yang terbentuk oleh masing-masing cakram antibiotik dilakukan pengukuran setelah 24 jam inkubasi dan dinyatakan dalam satuan mm. Zona hambatan diinterpretasikan ke dalam kategori sensitif (S), intermediat (I) dan resisten (R).

### Analisa data

Data yang diperoleh pada penelitian ini dikelompokkan berdasarkan tujuan dan jenis data. Data disajikan dalam bentuk tabel dan diuraikan secara deskriptif.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Responden pada penelitian ini adalah perokok yang hingga tahun 2019 masih aktif melakukan konseling di Klinik Berhenti Merokok (KBM) Puskesmas 1 Denpasar Utara. Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *purposive sampling*, dimana jumlah responden yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi berjumlah 14 responden. Karakteristik responden pada

penelitian ini dikelompokkan berdasarkan lama merokok tembakau, usia dan penggolongan tipe perokok berdasarkan jumlah konsumsi rokok perhari (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik Responden

No.	Karakteristik	Frekuensi	Persentase
1.	Responden berdasarkan lama merokok		
	Lama merokok > 1 tahun	14	100 %
	Lama merokok < 1 tahun	0	0 %
2.	Responden berdasarkan usia		
	Usia < 25 tahun	4	28 %
	Usia 25-50 tahun	8	57 %
	Usia > 50 tahun	2	15 %
3.	Responden berdasarkan tipe perokok		
	Perokok sedang (11-20 batang/ hari)	6	42 %
	Perokok berat (> 20 batang/hari)	8	58 %

Berdasarkan data pada Tabel 1. responden pada penelitian ini keseluruhan telah merokok lebih dari 1 tahun (100%) dengan rata-rata usia perokok kurang dari 25 tahun sebanyak 28%, usia 25-20 tahun sebanyak 57% dan diatas 50 tahun sebanyak 15%. Berdasarkan tipe perokoknya sebanyak 42% merupakan perokok sedang yang mengkonsumsi 11-20 batang rokok/ hari dan perokok berat yang mengkonsumsi lebih dari 20 batang rokok/ hari sebanyak 58%.

Pengambilan sampel saliva untuk identifikasi bakteri dilakukan dirumah masing-masing responden. Pengumpulan spesimen dilakukan dengan *spitting method*. Menurut Yamachika (2012) metode spitting baik digunakan untuk koleksi spesimen saliva dengan atau tanpa simulasi. Nogourani (2012) menyatakan pengumpulan spesimen saliva dengan metode spitting dengan interval waktu yang teratur dapat menghasilkan laju alir saliva yang tinggi. Penelitian oleh Putri *et al.* (2015) melaporkan bahwa volume saliva yang didapatkan pada metode spitting lebih banyak jika dibandingkan dengan metode draining.

Pemeriksaan terhadap *S. aureus* dilakukan dengan menginokulasikan spesimen pada media selektif MSA. Pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada media MSA dicirikan dengan pertumbuhan koloni bakteri berwarna kuning. Bakteri *S. aureus* yang tumbuh pada MSA akan menunjukkan perubahan indikator warna phenol red pada media dari merah menjadi kuning disekitar koloni (Radji, 2013). Identifikasi *S. aureus* secara biokimia selanjutnya dilakukan dengan pengujian Gram, katalase, koagulase, oksidasi, hemolisa dan fermentasi manitol. Berdasarkan hasil uji biokimia (Tabel 2.) diketahui dari 14 sampel yang diperiksa dapat diisolasi bakteri *S. aureus* dari 11 sampel. Karakteristik dari bakteri *S. aureus* tersebut diantaranya bersifat Gram positif dengan sel berbentuk bulat bergerombol, katalase positif, koagulase positif, oksidase negatif, hemolisa  $\beta$  dan fermentasi manitol positif.

Tabel 2. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Kode sampel	MSA	Bentuk	Gram	Katalase	Koagulase	Oksidase	Hemolisa	Fermentasi manitol	Spesies
1.	SA1	+	Kokus	+	+	+	-	$\beta$	+	<i>S. aureus</i>
2.	SA2	+	Kokus	+	+	+	-	$\beta$	+	<i>S. aureus</i>
3.	SA3	+	Kokus	+	+	+	-	$\beta$	+	<i>S. aureus</i>
4.	SA4	+	Kokus	+	+	+	-	$\beta$	+	<i>S. aureus</i>
5.	SA5	+	Kokus	+	+	-	-	$\beta$	+	<i>Stap. koagulase -</i>
6.	SA6	+	Kokus	+	+	+	-	$\beta$	+	<i>S. aureus</i>
7.	SA7	+	Kokus	+	+	+	-	$\beta$	+	<i>S. aureus</i>
8.	SA8	+	Kokus	+	+	+	-	$\beta$	+	<i>S. aureus</i>
9.	SA9	+	Kokus	+	+	+	-	$\beta$	+	<i>S. aureus</i>
10.	SA10	+	Kokus	+	+	+	-	$\beta$	+	<i>S. aureus</i>
11.	SA11	+	Kokus	+	+	+	-	$\beta$	+	<i>S. aureus</i>
12.	SA12	+	Kokus	+	+	+	-	$\beta$	+	<i>S. aureus</i>
13.	SA13	+	Kokus	+	+	-	-	$\alpha$	+	<i>Stap. koagulase -</i>
14.	SA14	+	Kokus	+	+	-	-	$\alpha$	+	<i>Stap. koagulase -</i>

Pada individu sehat bakteri *S. aureus* merupakan salah satu flora dari rongga mulut disamping *S. mutans/ viridans*, *Lactobacillus* sp., dan *Pseudomonas aeruginosa*. Namun pada kondisi tertentu keberadaan normal flora ini dapat berubah menjadi patogen karena faktor predisposisi atau perubahan kondisi rongga mulut (Jawetz, 2010). Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif patogen yang dihubungkan dengan berbagai sindrom klinis. Bakteri ini dapat melakukan invansi ke dalam berbagai organ atau jaringan tubuh dengan menimbulkan inflamasi, nekrosis dan abses (Sitepu, 2011). Smith *et al.* (2001) menyatakan bahwa oral *Staphylococcus* merupakan salah satu sumber pemicu infeksi sistemik. Infeksi endokarditis yang disebabkan oleh *Staphylococcus* sering dilaporkan berasosiasi dengan kejadian infeksi bakteri tersebut pada rongga mulut. Infeksi mukosa mulut (mukositis) oleh *S. aureus* dicurigai sebagai penyebab terjadinya infeksi sistemik pada pasien geriatri. Kejadian endokarditis oleh *Staphylococcus lugdenensis* dilaporkan dipicu oleh adanya infeksi pada aktivitas pencabutan gigi. Bakteri yang pada awalnya berada pada rongga mulut, selanjutnya masuk ke dalam aliran darah setelah aktivitas pencabutan gigi dan menyebabkan endokarditis.

Pada penelitian ini dapat diisolasi 11 isolat bakteri *S. aureus* yang selanjutnya dilakukan pengujian sensitivitas antibiotik untuk screening keberadaan *S. aureus* resisten metisilin atau dikenal dengan MRSA. *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang bersumber dari oral saat ini dikhawatirkan dapat berperan sebagai reservoir untuk rekolonisasi bakteri pada bagian tubuh lainnya atau infeksi silang ke individu lain (Smith *et al.*, 2001). Altieri *et al.* (2013) menyatakan MRSA dapat tumbuh membentuk struktur biofilm pada permukaan mukosa mulut dan gigi. Biofilm yang dibentuk bakteri tersebut dapat dilepaskan ke dalam cairan rongga mulut dan memicu infeksi sistemik seperti pneumonia aspirasi. Penelitian oleh Diana (2009) menunjukkan bahwa MRSA mampu menempel pada berbagai macam substrat termasuk permukaan akrilik gigi tiruan. Dengan demikian gigi tiruan juga dapat berperan sebagai reservoir patogen ini dan mendukung kolonisasi oral MRSA. Mikroorganisme ini akan membentuk biofilm yang memiliki dampak klinis penting karena lebih tahan terhadap respon imun inang dan lebih banyak intoleran terhadap antimikroba.

Berdasarkan hasil uji kepekaan antibiotik dari 11 isolat yang diuji tidak ditemukan adanya bakteri yang resisten terhadap kelima jenis antibiotik uji yaitu ciprofloxacin 5 µg, oxacillin 1 µg, cefoxitin 30 µg, vancomycin 30 µg dan ampicilin 10 µg (Tabel 3). Keseluruhan isolat masih bersifat sensitive terhadap cefoxitin 30 µg, vancomycin 30 µg dan ampicilin 10 µg. Terdapat 4 isolat yaitu SA2, SA7, SA8 dan SA9 yang memiliki daya hambatan intermediate terhadap antibiotik ciprofloxacin 5 µg, oxacillin 1 µg yang dikategorikan sebagai *Methicilin-Intermediate Resistant Staphylococcus aureus*. Sedangkan sebanyak 7 isolat lainnya bersifat sensitive terhadap ciprofloxacin 5 µg, oxacillin 1 µg. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pada penelitian ini tidak ditemukan adanya bakteri MRSA pada saliva perokok tembakau yang merupakan pasien konseling di KBM Puskesmas 1 Denpasar.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan resistensi antibiotik bakteri *S. aureus*

No.	Kode isolat	Hasil sensitivitas (mm)				
		Ciprofloxacin 5 µg	Oxacillin 1 µg	Cefoxitin 30 µg	Vancomycin 30 µg	Ampicillin 10 µg
1.	SA1	22,0	17,66	20,0	15,0	20,0
2.	SA2	17,0 ●	11,75 ●	20,66	15,16	21,0
3.	SA3	22,0	18,33	22	17,33	20,0
4.	SA4	23,33	18,6	18,6	16,5	18,33
5.	SA5	21,33	18,83	20,0	15,67	19,66
6.	SA6	22,33	16,5	18,33	15,0	19,66
7.	SA7	16,6 ●	11,16 ●	19,66	15,83	20,0
8.	SA8	18,33 ●	11,83 ●	19,66	17,16	20,0
9.	SA9	17,0 ●	11,83 ●	20,66	17,16	21,0
10.	SA10	22,66	18,5	21,0	17,33	19,67
11.	SA11	20,67	18,0	19,67	15,0	20,0

Keterangan :

● Daya hambat intermediate

Penelitian terkait hubungan aktivitas merokok tembakau dengan resiko kolonisasi bakteri MRSA belum banyak dilaporkan. Namun menurut Kulkarni *et al.* (2012) terdapat hubungan epidemiologis yang kuat antara paparan asap rokok dengan terjadinya peningkatan virulensi bakteri di dalam saluran pernafasan dan rongga mulut. Bakteri MRSA menurut Wertheim *et al.* (2005) lebih banyak mengkolonisasi nasofaring. Hal ini dipengaruhi karena nasofaring terpapar oleh udara dan partikel luar yang dihirup termasuk asap rokok. Meskipun demikian aktifitas menghisap rokok juga akan mempengaruhi kondisi bakteriologis rongga mulut perokok. Bakteri dari nasofaring dan rongga mulut sangat potensial mengalami predisposisi ke paru-paru sehingga menyebabkan pneumonia, atau ke kulit yang dapat menimbulkan ulcers, lecet atau luka tergantung pada jalur masuk patogen. Selain itu perokok menurut Durmaz *et al.* (2001) diketahui memiliki tingkat kolonisasi persisten yang lebih tinggi pada nasofaring oleh MRSA dibandingkan individu sehat. Lebih lanjut Kulkarni *et al.* (2012) menyatakan perubahan fenotif pada *S. aureus* yang diinduksi oleh paparan asap rokok secara *in vitro* mendukung kolonisasi persisten melalui peningkatan adhesi bakteri ke sel inang dan pembentukan biofilm. Faktor tersebut nantinya akan mempengaruhi kemampuan sel efektor imun sel inang untuk mencegah dan membatasi kolonisasi bakteri lebih lanjut.

Asap rokok dapat menginduksi terjadinya perubahan muatan permukaan dan hidropobisitas dinding sel *Staphylococcus*. Perubahan ini dilaporkan berkaitan dengan mekanisme timbulnya resistensi terhadap peptida antimikrobal (AMP) yang berperan dalam peningkatan virulensi bakteri (McEachern *et al.*, 2015). Asap rokok dapat menimbulkan stres pada sel bakteri yang memicu terjadinya peningkatan laju mutasi genetik bakteri. Mutasi tersebut diduga menyebabkan peningkatan kemampuan resistensi bakteri terhadap antibiotik (Lacoma *et al.*, 2019). Pada penelitian ini dapat diisolasi bakteri *Methicilin-Intermediate Resistant S. aureus* dari saliva perokok tembakau. Temuan ini mendukung penelitian terkait oleh Lacoma *et al.* (2019) dan Ogba *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa aktivitas merokok dapat mempengaruhi kemampuan resistensi bakteri dan ragam kolonisasi mikroorganisme di dalam rongga mulut. Merokok diduga mampu mengubah akuisisi dan kolonisasi mikrobiota pada mukosa mulut yang mendukung terjadinya infeksi periodontal dan infeksi rongga mulut lainnya. Sehingga anjuran atau kampanye anti rokok khususnya pada anak di bawah umur perlu dirancang lebih persuasif sehingga masyarakat dapat memahami lebih jauh terkait bahaya merokok khususnya bagi keberadaan mikroorganisme pada rongga mulut.

#### 4. KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tidak ditemukan bakteri MRSA pada sampel saliva perokok tembakau yang merupakan pasien konseling di KBM Puskesmas 1 Denpasar Utara. Sebanyak 7 isolat *S. aureus* masih sensitive terhadap lima jenis antibiotik uji. Terdapat 4 isolat merupakan *Methicilin-Intermediate Resistant S. aureus*. Antibiotik dengan daya hambat intermediat terhadap 4 isolat tersebut adalah Ciprofloxacin 5 µg dan Oxacillin 1 µg.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abdella, H.M., W.K. Zaki., M.K. Elnaggar, (2010), Risk of Colonization of Methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in *Tropical Medicine Department* in Ain Shams University Hospitals, *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, 19(2), pp: 95-102.
- Altieri, K.T., P. V. Sanita., A. L. Machada., E. T. Giampaolo., A. C. Pavarina., J. H. Jorge., C. E. Vergani, (2013), Eradication of a Mature Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Biofilm From Acrylic Surfaces, *Brazilian Dental Journal*, 24(5), pp: 487-491.
- Bellagambi, F.G., T. Lomonaco., P. Salvo., F. Vivaldi., M. Hangouet., S. Ghimenti., D. Biagini., F.D. Francesco., R. Fuoco., A. Errachid, (2020), Saliva Sampling : Methods and Devices. An Overview, *Trends in Analytical Chemistry*, 124, pp: 1-15.
- Clinical Effectiveness Committee, (2013), *Prevention and Control Methicillin –Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), Irelandia. Department of Health, pp. 5-8.
- Cruz, E.D.d.A., F.C. Pimenta., M. Hayashida., M. Eid., E. Gir, (2011), *Staphylococcus aureus* detection in the mouth of housekeepers, *Rev. Latino-Am.Enfermagem*, 19(1), pp: 90-96.

- Diana, L., J. Howlett., J. Pratten., N. Mordan., A. McDonald., M. Wilson., D. Ready, (2009) Susceptibility of MRSA biofilms to denture-cleansing agents, *FEMS Microbiol Lett*, 291(2), pp: 241-246.
- Durmaz R., Tekerekoglu M., Kalcioğlu T., Ozturan O, (2001), Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among smokers and cigarette factory workers, *New microbial*, 24, pp: 143-147.
- Jawetz, Melnick and Adelberg's, (2010), *Medical Microbiology*. Edisi 23, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Kulkarni, R., S. Antala., A. Wang., F.E. Amaral., R. Rampersaud., S.J. LaRussa., P.J. Planet., A.J. Ratner, (2012), Cigarette Smoke Increases *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation via Oxidative Stress, *Infect Immun*, 80(11), pp: 3804-3811.
- Lacoma, A., Edwards, AM., Young, BC., Domínguez, J., Prat, C., and Laabei, M, (2019) Cigarette smoke exposure redirects *Staphylococcus aureus* to a virulence profile associated with persistent infection, *Scientific Reports*, 9(1), pp: 1–15
- Mattias O., M.S. Jaakkola., A. Woodward., a. Peruga., A.P. Ustin, (2011), Worldwide burden of disease from exposure to second handsmoke : a retrospective analysis of data from 192 countries, *Lancet*, 377, pp: 139-146.
- McEachern, EK., Hwang, JH., Sladewski, KM., Nicatia, S., Dewitz, C., Mathew, DP., Nizet, V., and Alexander, CLE, (2015), Analysis of the effects of cigarette smoke on staphylococcal virulence phenotypes. *Infection and Immunity*, 83(6), pp : 2443-2452.
- Nogourani, M.K., M. Janghorbani, R. K. Isfahan, M. H. Beheshti, (2012), Effects of Chewing Different Flavored Gums on Salivary Flow Rate and pH, *International Journal of Dentistry*, 8(Suppl 1), pp: S71-5.
- Ogba, O.M., J. J. Ewa., O.A Olorode., M. Mbah, (2017), Effect of Tobacco on Oral Microbial Flora and the Relationship with Oral Health in Calabar, Nigeria, *International Journal of Biomedical Laboratory Science*, 6(1), pp: 1-5.
- Putri, F.M., N. Kusuma., M. Ramadani, (2015), Perbandingan Draining Method Dengan Spitting Method Terhadap Volume Saliva Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas Angkatan 2011 Dengan Stimulasi Aroma Makanan, *Andalas Dental Journal*, 3(1), pp: 50-57.
- Radji, M, (2011), *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Riskesdas, (2018), Hasil Utama Riskesdas 2018, Kementerian Kesehatan RI, pp: 137-140 (<https://www.kemkes.go.id>)
- Savita, A., S. Sungkar., S. Chismirina, (2017), Perbandingan Laju Aliran Saliva Sebelum dan Sesudah Mengunyah Permen Karet *Nonxylitol* dan *Xylitol* pada Anak Usia 10-12 Tahun (Studi pada Murid Sekolah Dasar Negeri 57 Banda Aceh), *Journal Caninus Dentistry*, 2(2), pp: 65-70.
- Sitepu, J, (2011), Perbandingan Efektivitas Daya Hambat Terhadap *Staphylococcus aureus* Dari Berbagai Jenis Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*), Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara, Medan, pp: 26-27.
- Smith, A.J., M.S. Jackson., J. Bagg, (2001), The Ecology of *Staphylococcus* Species in the Oral Cavity, *J. Med. Microbiol*, 50, pp: 940-946.
- Turner, N.A., B.K.S Sharma-Kuinkel, S.S. Maskarinec., E.M. Eichenberger., P.P. Shah., M. Caragati., T.L. Holland., V.G. Fowler, (2019), Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus*: an Overview of Basic and Clinical Research.
- Wertheim, H.F.L., D.C. Melles., M.C. Vos., W. Leeuwen., A. Belkum., H.A. Verbrugh., J.L. Nouwen, (2005), The Role of Nasal Carriage in *Staphylococcus aureus* Infection, *Lancet Infect Dis*, 5(12), pp.751-762.
- Yamachika, S., K. Yamamoto., Y. Nomura., H.Yamada., I. Saito., Y. Nakagawa, (2012), Clinical Factors Influencing the Resting and Stimulated Salivary Flow, *Open Journal of Stomatology*. 2, pp: 103-109
- Yu, G., Phillips, S., Gail, M.H., Goedert, J.J., Humphrys, M.S., Ravel, J., Ren, Y. and Caporaso, N.E., (2017), The effect of cigarette smoking on the oral and nasal microbiota. *Microbiome*, [online] 5(1), pp.1–6.