

# CAIRAN SULCULAR

Nila Kasuma



# CAIRAN SULCULAR

**Penulis** : Nila Kasuma  
**Reviewer** : Prof. Dr. dr. Eryati Darwin, PA(K)  
**Desain Sampul** : Nila Kasuma  
**Tata Letak** : Tasha Octaricha  
Dyans Fahrezionaldo  
Ikhsanul Anwar  
Syamsul Hidayat  
**ISBN** : 978-602-6953-67-4  
**Ukuran Buku** : 23 x 15,5 cm  
**Tahun Terbit** : 2019  
**Cetakan** : Pertama  
**Anggota** : *Asosiasi Penerbit Perguruan Tinggi Indonesia (APPTI)*

**Dicetak dan diterbitkan oleh :**

*Andalas University Press  
Jl. Situjuh No. 1, Padang 25129  
Telp/Faks. : 0751-27066  
email : cebitunand@gmail.com*

**Hak Cipta Pada Penulis © 2019**

**Hak Cipta dilindungi Undang-Undang.**

*Dilarang mengutip atau memperbanyak sebahagian atau seluruh isi buku tanpa izin  
tertulis dari penerbit.*

## **PRAKATA**

Puji syukur penulis sampaikan kehadirat Allah SWT, karena berkah dan Rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan buku ini, dengan judul “Cairan Sulkular”. Buku ini membahas tentang penggunaan, metode pengumpulan, dan metode analisis cairan sulkular sebagai media diagnostik di rongga mulut. Berdasarkan pengalaman penulis dari tahun 2013 hingga saat ini, terdapat beberapa kesulitan yang ditemui, baik pada tahap pengumpulan cairan sulkular dan analisis di laboratorium. Penulis ingin membagikan pengalaman tentang kesulitan dan kesalahan yang akan ditemui pada saat meneliti.

Dalam proses pendalaman materi penulis mendapatkan bimbingan, arahan, koreksi dan saran dari reviewer, untuk itu rasa terima kasih penulis sampaikan kepada: Prof. Dr. dr. Eryati Darwin, PA(K) yang telah banyak membantu dalam penyusunan buku ini. Penulis berharap buku ini dapat bermanfaat bagi peneliti di bidang oral biologi – biomedik kedokteran gigi

Padang, 8 Mei 2019

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>PRAKATA</b>	iii
<b>DAFTAR ISI</b>	v
<b>BAB 1 CAIRAN SULKULAR SEBAGAI MEDIA DIAGNOSTIK PENYAKIT PERIODONTAL</b>	1
Latar Belakang	1
Sejarah Cairan Sulkular	2
Komposisi cairan Sulkular	4
<b>BAB 2 ANATOMI DAN HISTOLOGI DENTOGINGIVAL JUNCTION SEBAGAI LOKASI SEKRESI CAIRAN SULKULAR</b>	15
Faktor yang Mempengaruhi Produksi Cairan Sulkular	17
Vaskularisasi Gingiva dan Produksi Cairan Sulkular	17
Lipopolisakarida Bakteri dan Cairan Sulkular	18
<b>BAB 3 METODE PENGUMPULAN CAIRAN SULKULAR</b>	20
Metode Pengumpulan Cairan Sulkular Berdasarkan Cara dan Alat yang Digunakan	20
A. Absorbing paper strip	20
B. Mikropipet	22
C. Gingival washing	22
D. Plastic strip	23
Metode Pengumpulan Cairan Sulkular Berdasarkan Objek Penelitian	23
a. Tahapan Pengumpulan Sampel Cairan Sulkular pada Tikus	23
b. Tahapan Pengumpulan Sampel Cairan Sulkular pada Marmut	24
c. Tahapan Pengumpulan Sampel Cairan Sulkular pada Anjing	24

d. Tahapan Pengumpulan Sampel Cairan Sulkular pada Manusia	25
Cairan Sulkular Sebagai Indikator Imunitas Seluler dan Humoral	25
Metode Analisis Cairan Sulkular	26
ELISA Kit yang Dapat Dipergunakan Untuk Analisis Cairan Sulkular	27
1. Subjek Penelitian Manusia	27
2. Subjek Penelitian Tikus	28
3. Subjek Penelitian Marmut	28
4. Subjek Penelitian Anjing	28
Preparasi Cairan Sulkular Sebelum Analisis ELISA	29
Kesalahan dalam Proses Analisis ELISA	30
Cairan Sulkular Sebagai Diagnostik Biomarker Penyakit Periodontal	31
<b>KESIMPULAN</b>	38
<b>KEPUSTAKAAN</b>	39
<b>BIODATA PENULIS</b>	41
<b>INDEX</b>	43

## DAFTAR GAMBAR

### BAB 2

Gambar 1. Anatomi Dentogingival Junction	15
Gambar 2. Histologi Dentogingival Junction	16
Gambar 3. Aktivitas LPS Bakteri pada Jaringan Periodontal	18

### BAB 3

Gambar 1. Teknik <i>paper point</i>	20
Gambar 2. Alat ukur <i>paper point</i>	21
Gambar 3. Periotron 8000	21
Gambar 4. Teknik Mikropipet	22
Gambar 5. Teknik <i>Gingival Washing</i>	23
Gambar 6. ELISA Kit	27

## DAFTAR TABEL

### **BAB 1**

Tabel 1. Sejarah cairan sulkular sebagai cairan tubuh fisiologis untuk diagnostik 3

Tabel 2. Komposisi cairan sulkular 8

### **BAB 3**

Tabel 1. Suhu dan Waktu Penyimpanan Cairan Sulkular 29

## GLOSARIUM

- Attached gingiva : bagian gusi berkeratin yang mendukung resistensi gusi terhadap cedera eksternal serta berperan terhadap stabilisasi gusi
- Biomarker : molekul biologis yang terkandung di dalam darah, cairan fisiologis tubuh, atau jaringan dan merupakan penanda proses normal atau patologis, serta dapat digunakan untuk melihat respon tubuh terhadap perawatan yang telah dilakukan
- Bleeding on probing : merupakan indikator inflamasi jaringan terhadap bakteri patogen
- Centrifuge : instrumen laboratorium yang digunakan untuk memisahkan suspensi dan cairan dengan putaran kecepatan tinggi.
- Clinical attachment loss : manifestasi klinis penyakit periodontal yang ditandai dengan hilangnya perlekatan jaringan periodontal di sekitar gigi
- ELISA : Enzyme linked immunosorbent assay; merupakan prosedur analisis biokimia sebagai alat bantu diagnostik
- Gingival index : parameter yang digunakan untuk mengukur derajat inflamasi gingiva
- Gingivektomi : prosedur bedah gingiva untuk mengeliminasi poket gusi yang dalam akibat hilangnya perlekatan gusi dengan gigi
- HRP : horseradish peroxidase; metaloenzim yang dapat mengkatalis proses oksidasi substrat organik dari hidrogen peroksida
- IL-1 : Interleukin-1; salah satu sitokin proinflamasi yang berperan dalam aktivasi sel T dan respon imun fase-akut
- Inflamasi : Respon imun yang ditandai dengan kondisi tubuh mengalami kemerahan, bengkak, rasa panas dan nyeri, yang disebabkan oleh cedera ataupun infeksi.
- Kemokin : merupakan golongan dari sitokin yang memiliki fungsi penting dalam migrasi sel dari darah menuju ke jaringan serta menginduksi pergerakan sel yang distimulasi oleh stimulus kimia
- Kemotaksis : mekanisme pergerakan sel imun akibat stimulus kimia menuju area infeksi, cedera jaringan, dan reaksi imun.

Lipopolisakarida : merupakan endotoksin yang berasal membran bakteri gram-negatif, berperan dalam perlekatan bakteri pada host dan untuk integritas dinding sel

Makrofag : sel spesifik dalam proses deteksi, fagositosis, serta eliminasi bakteri dan organisme asing yang masuk ke dalam tubuh. Berperan juga dalam inisiasi inflamasi dengan melepaskan sitokin

Marginal gingiva : bagian gusi yang mengelilingi gigi namun tidak melekat pada gigi

Membran basalis : matriks ekstraseluler tipis yang terdiri dari glikoprotein, kolagen tipe IV, dan laminin yang disekresikan oleh sel epitel. Berperan untuk memodulasi perilaku sel dalam perkembangan, fungsi, dan perbaikan jaringan.

MMP : matriks metalloproteinase; golongan enzim yang berperan pada degradasi matriks ekstraseluler saat organogenesis dan perkembangan jaringan

Osmosis : proses perpindahan pelarut atau air dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah melalui membran plasma

Osteoklas : merupakan sel multinukleus yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi material organik dan anorganik pada tulang.

Plaque index : parameter yang digunakan untuk mengevaluasi derajat pembentukan plak di permukaan gigi

PMN : termasuk ke dalam golongan leukosit (sel darah putih) dan merupakan jenis sel imun bergranula yang dilepaskan saat terjadinya infeksi, reaksi alergi, dan asma. Neutrofil, basofil, dan eosinofil merupakan contoh dari PMN

Pola sirkadian : pola yang terdapat pada proses biologis tubuh seperti produksi hormon, regenerasi sel, serta aktivitas organ tubuh lainnya

Probing depth : pengukuran yang dilakukan untuk melihat kedalaman sulkus gingiva

RANKL : Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand; merupakan molekul yang berperan dalam proses resorpsi tulang dengan menstimulasi osteoklas

Scaling root planing : perawatan periodontal yang berfungsi menghilangkan plak dan kalkulus pada gusi dan jaringan periodontal

Sitokin : protein kecil yang dilepaskan oleh sel dan memiliki peran yang spesifik dalam interaksi dan komunikasi antar sel.

TMB : 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine; substrat yang akan berubah warna menjadi biru saat mendeteksi HRP dan berubah menjadi kuning saat mendeteksi asam fosforik atau asam sulfurik

TNF : Tumor necrosis factor; merupakan sitokin pro-inflamasi multifungsi yang berperan penting dalam proliferasi, diferensiasi, dan kematian sel.



## BAB 1

### Cairan Sulkular sebagai Media Diagnostik Penyakit Periodontal

#### Latar Belakang

Penyakit periodontal adalah infeksi multifaktorial yang dipengaruhi oleh interaksi berbagai jenis bakteri dengan sel dan jaringan yang menyebabkan pelepasan banyak sitokin dan kemokin yang menyebabkan kerusakan struktur periodontal. Penyakit periodontal yang paling umum terjadi adalah gingivitis dan periodontitis.

Gingivitis dan periodontitis ditandai oleh pembentukan poket gingiva atau poket periodontal. Poket terbentuk melalui degradasi progresif di perlekatan jaringan (*connective tissue attachment*) ke permukaan akar, kemudian diikuti dengan migrasi dan proliferasi sel-sel epitel ke arah akar gigi. Proses ini menyebabkan sulkus gingiva yang awalnya dangkal (normalnya 1-2 mm saja) menjadi lebih dalam bahkan sampai menyentuh puncak tulang alveolar (*alveolar crest*). Awal terjadi, proses, dan derajat keparahan penyakit gingivitis dan periodontitis bervariasi, dengan masa eksaserbasi yang singkat dan masa pasif yang lama.

Metode diagnosis harus menghasilkan informasi yang relevan untuk membedakan jenis penyakit periodontal, derajat kerusakan jaringan, dan prognosis penyakit. Metode dasar untuk mendiagnosis penyakit periodontal adalah berdasarkan pengukuran parameter periodontal seperti *plaque index* (PI), *clinical attachment loss* (CAL), *probing depth* (PD), *Gingival index* (GI), *bleeding on probing* (BOP), dan pemeriksaan radiografis. Tetapi, pemeriksaan parameter klinis hanya memberikan informasi tentang penyakit dan kerusakan yang telah terjadi, tidak dapat mendeteksi lokasi jaringan yang aktif untuk memprediksi kerusakan jaringan selanjutnya.

Uji diagnosis laboratorium di kedokteran gigi yang dilakukan oleh dokter gigi tidak lazim dilakukan. Pemeriksaan penunjang laboratorium hanya dilakukan pada kondisi rongga mulut yang diakibatkan oleh penyakit sistemik seperti penyakit autoimun yang merusak jaringan gingiva dan mukosa oral dengan *immunofluorescence staining* pada spesimen biopsi. Penyakit periodontal memiliki masa aktif yang singkat dan masa pasif yang lambat, sehingga dibutuhkan pemeriksaan penunjang lain yang dapat memeriksa masa aktif agar

perkembangan penyakit di lokasi jaringan tertentu (*active site*) dapat diprediksi.

Metode diagnostik untuk memprediksi aktivitas penyakit periodontal dilakukan melalui pemeriksaan cairan fisiologis tubuh. Terdapat 3 jenis cairan fisiologis di rongga mulut yaitu cairan sulkular, serum, dan saliva. Diantara ketiganya, yang paling sering diteliti adalah cairan sulkular, karena komposisi yang memiliki kemiripan dengan serum, serta produksi cairan sulkular yang setara dengan derajat inflamasi gingiva. Pengambilan sampel cairan sulkular relatif mudah dan non-invasif

### **Sejarah Cairan Sulkular**

Cairan sulkular adalah eksudat yang disekresikan oleh gingiva di daerah sulkus. Konsentrasi cairan ini biasanya rendah dan meningkat jika terjadi proses inflamasi di rongga mulut. Cairan Sulkular telah ditelusuri lebih dari 60 tahun. Cairan fisiologi oral ini dideskripsikan pertama kali pada tahun 1817 oleh Serres dan dilanjutkan oleh G.V. Black pada tahun 1920. Peran cairan sulkular mulai diteliti pada riset Waerhaug pada tahun 1952 dan Brill. Pemeriksaan produksi dan komposisi cairan telah dimulai pada akhir tahun 1950 oleh Brill dan Bjorn, kemudian diikuti oleh partner yang berbeda yaitu Krasse pada tahun 1958. Beberapa tahun pertama, riset tentang cairan sulkular hanya terfokus pada mekanisme produksi dan komposisi cairan sulkular. Saat itu belum ditemukan bahwa cairan sulkular juga berperan dalam mengukur progres penyakit periodontal karena belum ada protokol klinis dan studi tentang mediator kimia di cairan sulkular. Pada tahun 70an, subjek penelitian berupa hewan untuk periodontitis digunakan dalam mengevaluasi perkembangan penyakit pada studi Kennedy dan Polson tahun 1973, Schroeder dan Lindhe tahun 1975. Studi klinis oleh Goodson dan Hafajee pada tahun 1980 membuktikan terdapat hubungan cairan sulkular dengan *clinical attachment loss* di permukaan akar. Studi kohort dan *cross sectional* dengan subjek penelitian hewan dan manusia kini terus diteliti untuk mengevaluasi mediator kimia terhadap perkembangan penyakit periodontitis.

Tabel 1. Sejarah cairan sulkular sebagai cairan tubuh fisiologis untuk diagnostik

1950	Waerhaug memeriksa transformasi anatomi sulkus ke dalam saku.
1959	Brill dkk. Menemukan dasar memahami fisiologi pembentukan dan komponen cairan sulkular.
1965	Studi Loe dkk. menggunakan cairan sulkular sebagai indikator penyakit periodontal.
1970-an	Penelitian cairan sulkular semakin banyak, -Penggunaan cairan sulkular untuk mengidentifikasi enzim, elektrolit, ukuran kerusakan jaringan, dan mediator inflamasi.
1971	Studi Egelberg berfokus pada laju aliran cairan sulkular.
1970-2003	Goodson mempelajari laju alir cairan sulkular dan metode pengumpulannya.
1974	Keberadaan fungsi protein dalam penelitian cairan sulkular (Sueda, Bang, Cimasoni); prostaglandin E2 pertama kali diidentifikasi.
1975	Kolagenase dan elastase berasal dari sel manusia telah dikonfirmasi (Ohlsson, Golub, Uitto).
1976	Pashley mendefinisikan perbedaan antara transudat dan eksudat.
1982	Jablonski mendefinisikan cairan sulkular
1990	Percobaan longitudinal dimulai dan meningkat secara signifikan sekitar pergantian abad ini. Slide mikroskop elektron yang luar diciptakan (Schroeder dan Listgarten).
1992	Lamster menjalankan beberapa penelitian untuk melihat respons host pada cairan gingiva.
1992-sekarang	Penelitian semakin berkembang, dan pengujian cairan sulkular diupayakan berbentuk chairside agar lebih murah, mudah, nyaman dan cepat pengujiannya

## Komposisi Cairan Sulkular

Cairan sulkular terdiri dari 5 bagian yaitu komponen seluler, elektrolit, komponen organik, produk bakteri dan metabolik, serta enzim dan inhibitor enzim.

- A. komponen seluler terdiri dari sel epitel, PMN –polimorfonuklear leukosit, dan bakteri.
  1. Sel epitel diproduksi oleh *junctional* dan *sulcular epithelium* akan memberikan gambaran tentang aktivitas penyakit periodontal.
  2. Produksi sel leukosit oleh pembuluh dentogingival berfungsi untuk fagositosis dan membunuh mikroorganisme. Penelitian leukosit di dalam cairan sulkular memberikan gambaran positif pada beberapa kasus.
  3. Penghitungan jumlah bakteri di dalam cairan sulkular yang dibandingkan dengan parameter periodontal menunjukkan korelasi yang kurang.
- B. Elektrolit yang terdapat didalam cairan sulkular dihasilkan plasma dan cairan ekstraseluler berupa sodium, potassium, dan kalsium. Komponen elektrolit berfungsi dalam pembentukan plak, protein dan mukoprotein pada permukaan enamel. Sodium, potassium, dan kalsium menunjukkan korelasi positif dengan kondisi inflamasi pada penyakit periodontal. Khusus pada konsentrasi potassium sebanding dengan kedalaman poket gingiva.
- C. Ion organik terdiri glukosa, hexosamine, hexuronic acid, immunoglobulin, gammaglobulin 7,5 g/l, albumin 35 g/l, protein 70 g/l, komplemen, dan lipid.
  1. Lipid dalam cairan sulkular dihasilkan oleh serum.
  2. Konsentrasi glukosa yang dihasilkan oleh cairan ekstraseluler akan meningkat pada terjadi inflamasi pada jaringan gingiva
  3. Hexosamine dan hexuronic acid tidak memiliki korelasi dengan inflamasi gingiva.
  4. Protein berupa immunoglobulin dalam cairan sulkular dihasilkan secara lokal atau dapat berasal dari plasma, sedangkan komplemen hanya dihasilkan oleh darah. Immunoglobulin dan komplemen di dalam cairan sulkular berfungsi dalam kontrol reaksi inflamasi, eliminasi antigen, aktivasi sel yang mempersiapkan mikroba dan benda asing yang difagosit, dan respon imun. Kadar protein dalam cairan sulkular berkorelasi positif dengan inflamasi periodontal.

- D. Produk bakteri dan metabolik terdiri asam laktat, hydroxyproline, prostaglandin, urea, endotoksin, substansi sitotoksik seperti  $H_2S$ , dan faktor antibakteri.
1. Asam laktat berasal dari sisa degradasi jaringan dan menunjukkan korelasi positif terhadap derajat inflamasi secara klinis serta intensitas aliran cairan sulkular.
  2. Hydroxyproline berasal dari sisa jaringan kolagen. Korelasi positif akan meningkat satu bulan setelah terapi periodontal dan kembali ke normal.
  3. Prostaglandin disintesis oleh sebagian besar sel mamalia dan merupakan komponen dari reaksi inflamasi, berfungsi untuk vasodilatasi, resorpsi tulang, serta menghambat sintesis kolagen. Prostaglandin menunjukkan korelasi positif dengan aktivitas penyakit periodontal.
  4. Urea dihasilkan dari sisa produk bakteri yang berfungsi untuk meningkatkan pH plak supragingiva pada gingivitis dan periodontitis. Konsentrasi urea akan menurun pada saat inflamasi gingiva.
  5. Endotoksin merupakan lipopolisakarida yang berasal dari dinding sel bakteri gram negatif dan sangat toksik terhadap jaringan gingiva. Terdapat korelasi positif antara endotoksin dengan derajat inflamasi periodontal.
  6. Substansi sitotoksik seperti  $H_2S$  berasal dari bakteri dan memiliki korelasi positif dengan inflamasi gingiva.
  7. Faktor anti bakteri diproduksi oleh saliva dan berfungsi untuk mencegah pertumbuhan bakteri.
- E. Enzim dan inhibitor enzim terdiri dari acid phosphatase, alkaline phosphatase, pyrophosphatase,  $\beta$ -glucuronidase, lisozim, hyaluronidase, protease, dan lactic dehydrogenase.
1. Acid phosphatase berhubungan dengan katabolisme jaringan ikat dan menyerang teichoic acid yang merupakan komponen dari dinding sel bakteri. Komponen ini berasal dari PMN dan deskuamasi sel epitel. Acid phosphatase menunjukkan korelasi negatif dengan aliran cairan sulkular dan persentase kehilangan tulang.
  2. Alkaline phosphatase berasal dari PMN yang terdapat di dalam sulkus gingiva, dan menunjukkan korelasi positif dengan kedalaman poket.

3. Pyrophosphatase didapat dari plak dan bakteri, berperan dalam pembentukan kalkulus. Memiliki korelasi positif dengan aktivitas penyakit periodontal.
4.  $\beta$ -glucuronidase merupakan hydrolase yang ditemukan pada granula azurophilic PMN, plak, makrofag, fibroblas, dan sel endotel. Konsentrasi  $\beta$ -glucuronidase memiliki korelasi positif dengan daya alir cairan sulkulardan kedalaman poket periodontal
5. lisozim memiliki potensi bakterisidal tetapi juga memiliki efek lisis terhadap jaringan ikat yang akan menyebabkan pembentukan poket. Kerusakan periodontal yang parah memiliki korelasi yang positif dengan lisozim.
6. Hyaluronidase berasal dari serum dan berfungsi dalam pelebaran ruangan interseluler pada *junctional* epithelium. Terdapat peningkatan yang signifikan pada saat inflamasi.
7. Protease terdiri dari cathepsin-D, elastase, cathepsin-G, plasminogen activator (streptokinase, urokinase), collagenase, protease bakteri, dan serum proteinase inhibitor ( $\alpha_1$ antitrypsin dan  $\alpha_2$ macroglobulin).
  - Cathepsin-D menyerang berbagai komponen epitelium dan jaringan ikat. Kehancuran periodontal memiliki korelasi positif dengan konsentrasi cathepsin-D.
  - Elastase terdapat pada granula azurophilic PMN, aktif terhadap elastin, proteoglikan, hemoglobin, fibrinogen, dan kolagen. Elastase juga berperan pada degradasi membran basalis dan jaringan kolagen, sehingga berkorelasi positif terhadap perkembangan penyakit.
  - Cathepsin-G akan menguraikan hemoglobin, fibrinogen, casein, kolagen, dan proteoglikan. Aktivitas penyakit periodontal berkorelasi positif dengan cathepsin-G
  - Plasminogen activator berasal dari darah dan memiliki peranan dalam fibrinolysis, proses inflamasi, serta penting dalam proses penyembuhan luka. Konsentrasi plasminogen sebanding dengan derajat keparahan periodontitis.
  - Kolagenase berperan dalam penghancuran serabut kolagen dan memiliki konsentrasi tinggi pada inflamasi kronis gingiva

- Protease bakteri mengakibatkan kerusakan jaringan dan memiliki korelasi positif dengan aktivitas penyakit periodontal.
  - Serum proteinase inhibitor berfungsi dalam regulasi aktivitas protease jaringan dan memiliki korelasi positif dengan penyakit periodontal
8. Lactic dehydrogenase berasal dari bakteri yang berfungsi sebagai katalis pada proses reduksi piruvat menjadi laktat. Tidak ada korelasi yang signifikan terhadap aktivitas lactic dehydrogenase pada cairan sulkulardengan parameter klinis.

Tabel 2. Komposisi cairan sulkular

	<i>source</i>	<i>Action</i>	<i>Correlation with disease activity</i>
<b>a. Cellular elements</b>			
1.	<i>Epithelial cells</i>	<i>Junctional and sulcular epithelium</i>	<i>Positive correlation is found</i>
2.	<i>Leukocytes</i>	<i>Dentogingival crevice</i>	<i>Phagocytosis and killing of micro-organisms</i>
3.	<i>Bacteria</i>	<i>Oral cavity</i>	<i>Poor correlation between bacterial count in gingival fluid and periodontal parameters</i>

**b. Electrolyte**

1.	<i>Sodium</i>	<i>Plasma and extracellular fluid</i>	<p>F. <i>Genesis of plaque</i></p> <p>G. <i>Precipitation of proteins</i></p> <p>H. <i>Precipitation of mucoprotein along the enamel surface</i></p>	<i>Shows positive correlation significantly</i>
2.	<i>Potassium</i>	<i>Plasma and extracellular fluid</i>		<i>Positive correlation between potassium concentration and the average pocket depth</i>
3.	<i>Calcium</i>	<i>Plasma and extracellular fluid</i>		<i>Positive correlation</i>

c. *Organic*

*compounds*

1. *Carbo-  
hydrates  
(glucose,  
hexosamine  
and hex-  
uronic acid*

*Extracellu-  
lar fluid*

*Glucose con-  
centration is  
increased in  
inflamed tissues,  
hexosamine and  
hexuronic acid  
no correlation  
with variation  
in gingival infla-  
mation.*

2. *Protein*
  - a. *Immu-  
noglob-  
ulins*
  - b. *Comple-  
ment*

*Plasma or  
synthesized  
locally*

*Blood*

*Immune fucntion*

1. *control of  
inflammato-  
ry reaction*
2. *elimination  
of antigen*
3. *activation of  
cells*
4. *preparation  
of microbes  
and foreign  
particles for  
phagocyto-  
sis*
5. *play a role  
in immune  
response*

*Positive correla-  
tion*

3. *Lipids*

*serum*

*D. metabolic and bacterial products*

- |                                 |  |  |
|---------------------------------|--|--|
| <p>1. <i>lactic acid</i></p>    | <p><i>Breakdown product of tissue</i></p>  | <p><i>Positive correlation to both the clinical degree of inflammation and intensity of gingival fluid flow</i></p>  |
| <p>2. <i>hydroxyproline</i></p> | <p><i>Breakdown product of collagen</i></p>  | <p><i>In presence of inflammation, the correlation tends to increase 1 month after surgery and return to baseline level postoperatively</i></p>  |
| <p>3. <i>prostaglandins</i></p> | <ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Synthesized by most mammalian cells</i></li><li>• <i>Are component of inflammatory reaction</i></li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Vasodilatation</i></li><li>• <i>Bone resorption</i></li><li>• <i>Inhibition of collagen synthesis</i></li></ul> <p><i>It is positively correlated with disease activity</i></p> |

4. urea	<i>Breakdown product of bacteria</i>	<i>Elevates the pH of supragingival plaque in presence of gingivitis and periodontitis due to production of ammonia by micro-organisms</i>	<i>Urea concentration in gingival fluid decreases when gingival inflammation increases</i>
5. endotoxins	<i>These are lipopolysaccharides of cell wall of gram negative bacteria</i>	<i>Highly toxic to gingival tissue</i>	<i>Positively correlated with the presence of varying degree of periodontal inflammation</i>
6. cytotoxic substances (like H <sub>2</sub> S)	<i>Bacteria</i>	<i>Highly toxic metabolite (cytotoxic effect)</i>	<i>Positively correlated with gingival inflammation</i>
7. antibacterial factors	<i>saliva</i>	<i>Prevent growth of bacteria</i>	

*E. Enzyme and Enzyme inhibitors*

1. Acid phosphatase	<i>PMNLs and desquamating epithelial cells</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Associated with connective tissues catabolism</i></li> <li>• <i>Attacks teichoic acid, one of the components of bacterial cell wall</i></li> </ul>	<i>Negative correlation was found between the intercellular concentration of acid phosphatase and both the flow of gingival fluid and the percentage of bone loss</i>
2. Alkaline phosphatase	<i>In gingival sulcus it is found in PMNLs</i>	<i>Plays a role in calcification</i>	<i>Positively correlated with pocket depth</i>

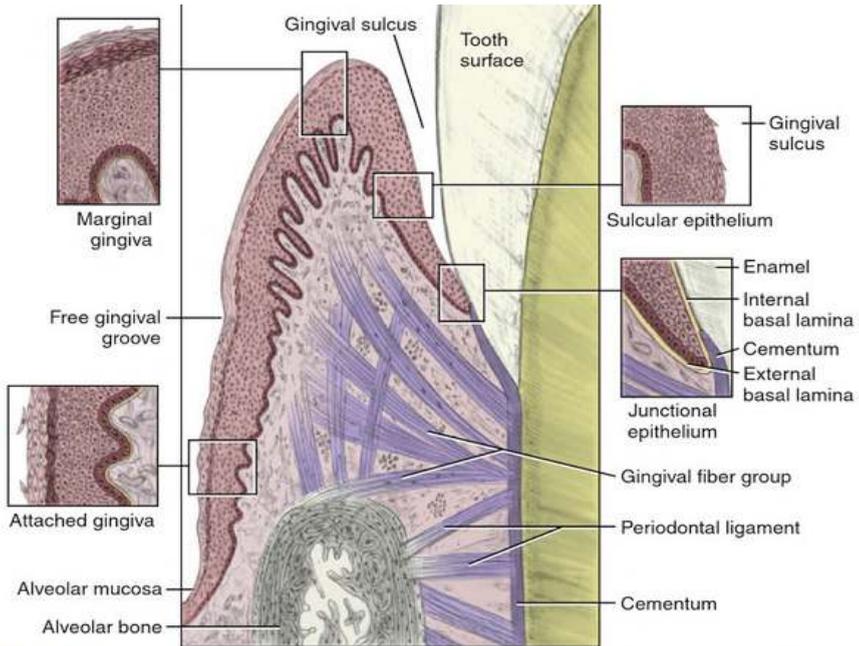
3. Pyrophosphatase	<i>Plaque and bacteria</i>	<i>Plays a role in calculus formation</i>	<i>Positive correlation</i>
4. <i>B-gluconidase</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>It is a hydrolase found in azurophilic granule of PMNLs</i></li> <li>• <i>Macrophage, fibroblast, endothelial cells</i></li> </ul>	<i>Used as lysosomal marker</i>	<i>Positive correlation between the concentration of <math>\beta</math>-gluconidase and the flow of gingival fluid and death of periodontal pocket</i>
5. <i>Lysozyme</i>	<i>PMNLs</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Bactericidal properties and also some detrimental effect upon epithelial cells</i></li> <li>• <i>Lytic effect of connective tissue, thereby contributing to formation of pocket</i></li> </ul>	<i>Positively correlated with the severe periodontal destruction</i>
6. <i>Hyaluronidase</i>	<i>Serum</i>	<i>Widening of intercellular space in junctional epithelium</i>	<i>Significantly increases in presence of inflammation</i>
7. <i>Mammalian proteases</i>			

a. <i>Cathepsin-D</i>	<i>Lysosomal enzyme seen in human mononuclear leukocytes</i>	<i>Attacks various components of epithelium and connective tissues</i>	<i>Its concentration is positively correlated with periodontal destruction</i>
b. <i>Elastase</i>	<i>Azurophilic granules of PMNLs</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Active upon elastin, proteoglycans, hemoglobin, fibrinogen, and collagen</i></li> <li>• <i>Widening of epithelial intercellular space, partial destruction of basal membrane and loss of collagen</i></li> </ul>	<i>Positively correlated with disease progression</i>
c. <i>Cathepsin-G</i>	<i>Serine endopeptidase contained in azurophilic granules of PMNLs</i>	<i>Hydrolyzes hemoglobin, fibrinogen, casein, collagen and proteoglycans</i>	<i>Positive correlation</i>
d. <i>Plasminogen activator (streptokinase, urokinase)</i>	<i>Blood</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Fibrinolysis</i></li> <li>• <i>Plays a role in inflammation</i></li> <li>• <i>Essential for wound healing</i></li> </ul>	<i>Concentration increases as severity of periodontitis increases</i>
e. <i>collagenase</i>	<i>Specific PMN's</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Collagenolytic activity</i></li> </ul>	<i>Higher concentration in chronically inflamed gingiva</i>

<i>f. bacterial proteases</i>	<i>Bacteria</i>	<i>Tissue damage</i>	<i>Positive correlation</i>
<i>g. serum proteinase inhibitor (<math>\alpha_2</math>macroglobulin and <math>\alpha_1</math>anti-trypsin)</i>	<i>Plasma</i>	<i>Modulates the activity of proteases in the tissue</i>	<i>Positive correlation</i>
<i>8. lactic dehydrogenase</i>	<i>bacteria</i>	<i>Catalyzes the reversible reduction of piruvate to lactate</i>	<i>No significant correlation between total activity of lactic dehydrogenase in gingival fluid flow and any of the clinical parameters</i>

## BAB 2

### Anatomi dan Histologi Dentogingival Junction sebagai Lokasi Sekresi Cairan Sulkular



**FIGURE 10-1** Gingival and dentogingival junctional tissue: marginal gingiva, attached gingiva, sulcular epithelium, and junctional epithelium.

Gambar 1. Anatomi Dentogingival Junction (Balogh dan Fehrenbach hal.123, 2011)

*Dentogingival junction* adalah pertemuan antara permukaan gigi dan jaringan gingiva yang dibentuk oleh *sulcular epithelium* dan *junctional epithelium*. *Sulcular epithelium* adalah epitel non keratin yang berpisah dari gigi membentuk sulkus gingiva yang digenangi oleh cairan sulkular yang berasal dari pembuluh darah di lamina propria. Laju alir cairan sulkular sangat lambat, normalnya sekitar 1-2 $\mu$ l per gigi per jam. Jumlah cairan sulkular sangat sedikit di keadaan sehat dan meningkat pada saat inflamasi.

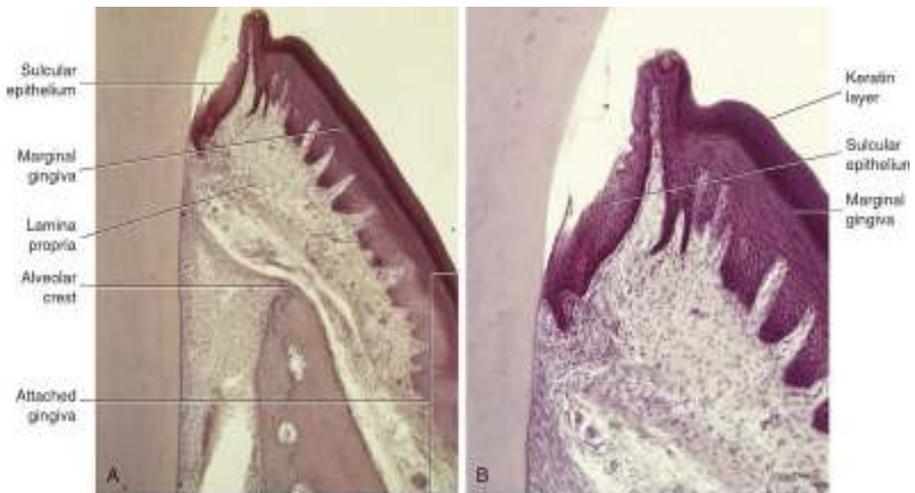


FIGURE 10-6 Photomicrographs of the sulcular epithelium. A: Deep to the sulcular epithelium is the lamina propria for both the marginal gingiva and the attached gingiva, as well as the alveolar crest. B: Close-up view showing the nonkeratinized epithelium. Note the relatively smooth interface between it and the lamina propria stained with the outer keratinized marginal gingiva, as compared with the other's strongly interdigitated interface. (Courtesy of James McIntosh, PhD, Assistant Professor Emeritus, Department of Biomedical Sciences, Baylor College of Dentistry, Dallas, TX)

Gambar 2. Histologi Dentogingival Junction (Balogh dan Fehrenbach hal 126, 2011)

Deskripsi mikroskopis lokasi produksi cairan sulkular pada daerah sulkus gingiva, menunjukkan lapisan lamina propria dan alveolar crest terletak di bawah margin gingiva dan attached gingiva.

Challacombe pada tahun 1980 mengukur volume cairan sulkulardengan menggunakan *isotope dilution method*. Rata-rata volume pada gigi molar adalah 0,43 – 1,56  $\mu$ l, dan 0,24 – 0,43  $\mu$ l pada gigi anterior. Dalam keadaan sehat , sebanyak 0,5 – 2,4 ml cairan sulkulardisekresikan setiap hari. Studi pada pola sirkadian cairan sulkularmengkonfirmasi bahwa terdapat peningkatan aliran cairan sulkular dari pukul 6 – 10 pagi, kemudian menurun setelahnya. Konsentrasi glukosa di Cairan Sulkular 3 – 4 kali lebih tinggi daripada di serum, namun total protein lebih sedikit daripada serum.

Studi yang dilakukan oleh Gunday et al pada tahun 2013 menyatakan volume cairan sulkular di pagi hari cenderung lebih tinggi dibandingkan cairan sulkular yang dikumpulkan pada siang hari, tetapi rerata volume cairan sulkular relatif stabil dari pukul 08.00 – 18.00 sehingga pola sirkadian tidak berpengaruh terhadap jumlah produksi cairan sulkular. Attar et al pada tahun 2018 menyatakan

bahwa volume cairan sulkular akan mengalami perbedaan pada gigi dengan indeks gingiva dan kedalaman probing yang berbeda.

### **Faktor yang Mempengaruhi Produksi Cairan Sulkular**

Selain pola sirkadian, faktor yang menyebabkan peningkatan jumlah dan aliran cairan sulkular adalah sebagai berikut,

1. Pada saat merokok aliran cairan sulkular akan meningkat dan akan kembali normal.
2. Cairan sulkular berhubungan dengan hormon seks pada wanita yaitu estrogen dan progesteron yang akan menyebabkan permeabilitas pembuluh darah meningkat, sehingga mengakibatkan peningkatan jumlah cairan sulkular.
3. Penderita diabetes menunjukkan membran basal pembuluh kapiler melebar sehingga menyebabkan peningkatan signifikan produksi cairan sulkular dan memiliki kandungan glukosa yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan individu yang sehat.
4. Secara mekanis, mengunyah makanan keras, menyikat gigi terlalu kuat, serta menekan gingiva akan meningkatkan produksi cairan sulkular di rongga mulut.
5. Setelah prosedur bedah periodontal dan masa penyembuhan jaringan jumlah cairan sulkular akan meningkat. Pada masa satu minggu setelah prosedur gingivektomi terjadi peningkatan cairan sulkular serta kembali secara perlahan dan berada pada jumlah minimal lima minggu setelah prosedur gingivektomi.

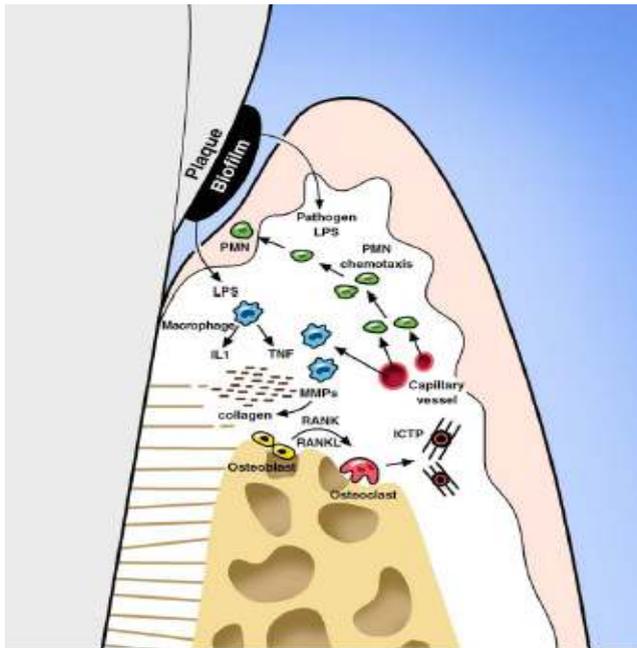
### **Vaskularisasi Gingiva dan Produksi Cairan Sulkular**

Pada keadaan normal, makromolekul yang berasal dari plak akan berdifusi secara interseleuler menuju membran basalis. Kondisi ini menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan osmosis dan cairan interstisial akan tertarik ke dalam sulkus.

Pada kondisi inflamasi, terjadi pelebaran pembuluh darah pada bagian epitel *sulcular* dan *junctional* gingiva, kondisi ini mengakibatkan vaskuler berada pada posisi yang superficial. Enzim seperti hyaluronidase dan kolagenase dapat mengganggu permeabilitas dari epitel, defisiensi nutrisi seperti vitamin C juga dapat mengakibatkan kondisi ini. Permeabilitas vaskuler gingiva yang terganggu menyebabkan masuknya mikroorganisme dari plak ke dalam jaringan ikat gingiva dan menumpuk di sulkus. Letak cairan sulkular yang

berada di dalam sulkus dan dekat dengan jaringan periodontal akan memperkecil kemungkinan adanya respon inflamasi lain yang akan menyebabkan terjadi bias di dalam penelitian.

### Lipopolisakarida Bakteri dan Cairan Sulkular



Gambar 3. Aktivitas LPS Bakteri pada Jaringan Periodontal (Taba et al hal 554, 2005)

Gambar di atas menunjukkan aktivitas lipopolisakarida bakteri terhadap jaringan periodontal. Terjadi kemotaksis PMN yang disebabkan oleh patogen di dalam plak. Sel monosit dan makrofag akan memberi respon terhadap endotoksin bakteri dengan melepas IL-1 dan TNF. Fibroblas akan melepaskan matriks metaloproteinase (MMP) dan PMN yang akan menyebabkan terjadinya degradasi kolagen. Jumlah TNF, IL-1 dan RANKL akan meningkat pada area yang terinfeksi dan menyebabkan terjadi resorpsi tulang dengan cara stimulasi osteoklas. Molekul degradasi jaringan seperti *pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide* yang terdapat pada kolagen

tipe I akan dilepas ke dalam cairan sulkular dan dapat dipergunakan sebagai *biomarker* pada penyakit periodontal.

## BAB 3

### Metode Pengumpulan Cairan Sulkular

#### Metode Pengumpulan Cairan Sulkular Berdasarkan Cara dan Alat yang Digunakan

##### A. *Absorbing paper strip*

- Teknik *intracrevicular* yaitu ujung *paper strip* diletakkan ke dalam poket sampai menyentuh dasar sulkus
- Teknik *extracrevicular* yaitu *paper strip* diletakkan menggantung di area sulkus, teknik ini jarang digunakan.



Gambar 1. Teknik *paper point*  
(Kasuma, 2019)

Pengumpulan cairan sulkular dapat diperiksa dengan melihat langsung dan dilakukan pewarnaan, cara ini dilakukan oleh Egelberg dan Attstrom. Strip diwarnai dengan ninhydrin konsentrasi 0,2% yang akan mengekspresikan warna biru atau ungu. Jika menggunakan metode pewarnaan dengan ninhydrin, penguapan sampel banyak terjadi sehingga hasil yang didapatkan kurang akurat. Area pewarnaan dapat diukur dengan *caliper*, *transparent scale*, atau *calibrated magnifying glass*



Gambar 2. Alat ukur *paper point* a: *Calibrated magnifying glass*, b: *transparent scale*, dan c: *digital caliper* (Hefei Fanyuan Instruments Co. Ltd, Cina).

*Paper strip* juga dapat dimasukkan ke dalam *microtube* sebelum dan setelah sampel cairan sulkular dikumpulkan. Penggunaan periotron merupakan metode standar untuk mengukur jumlah cairan sulkular yang terserap ke dalam *paper strip* atau *filtered paper*. *Paper strip* yang telah digunakan untuk mengumpulkan cairan sulkular diletakkan di antara penjepit, selanjutnya alat akan memberikan jumlah cairan sulkular pada layar periotron. Periotron merupakan alat elektronik yang sensitif dan berfungsi untuk mendeteksi jumlah cairan yang sangat kecil. Penggunaan periotron menguntungkan karena sedikitnya penguapan cairan sulkular yang terjadi sehingga pengukuran lebih akurat. Kerugian dari penggunaan periotron yaitu harus dilakukan pemeriksaan berkala dan *paper strip* harus diletakkan pada posisi standar untuk akurasi pembacaan.



Gambar 3. Periotron 8000 (Oraflow Inc., USA)

Keuntungan pengumpulan cairan sulkular dengan prosedur *paper strip* ialah proses yang dilakukan sederhana dan hasil langsung didapatkan. Jika setelah pengumpulan sampel akan dianalisis secara kimia, metode pengukuran di atas tepat untuk digunakan. Kerugian dari prosedur ini ialah kontaminasi dapat terjadi dari plak dan darah. Rentan untuk terjadi dislokasi strip pada saat pengumpulan cairan sulkular sehingga mengganggu integritas dari jaringan.

## B. Mikropipet

Teknik pengumpulan cairan sulkular dengan menggunakan mikropipet pertama kali dilakukan oleh Krasse dan Egelberg. Mikropipet diletakkan ke daerah sulkus dan dapat menyerap cairan sulkular dengan kapilaritas. Sampel kemudian diletakkan di dalam *micro tube*, disentrifugasi dan dilakukan analisis. Kerugian dari teknik ini karena viskositas cairan sulkular membuat aspirasi ke dalam mikropipet dan proses mengeluarkan cairan sulkular ke dalam mikro menjadi sulit.



Gambar 4. Teknik Mikropipet (Kasuma, 2018)

## C. *Gingival washing*

Tokamoli dan Oppenheim pertama kali melakukan teknik *gingival washing* dengan menggunakan alat akrilik individual. Keuntungan metode ini dapat dilakukan pada penelitian longitudinal. PMN dan sel epitel di area sulkus dapat dikumpulkan dengan cara ini. Integritas jaringan dapat dipertahankan dan kontaminasi dapat dikurangi dengan *gingival washing*. Kerugiannya prosedur yang dilakukan sulit dan cairan sulkular yang dikumpulkan sudah tercampur dalam larutan.

Skapski dan Lehner menggunakan teknik injeksi cairan ke dalam interdental dan reaspirasi (Gambar 4). Metode ini tepat digunakan untuk gingiva normal dan pada penelitian yang memerlukan data leukosit dan bakteri pada daerah sulkus. Kerugian metode Skapski dan Lehner tidak memberikan perhitungan kuantitatif yang mutlak karena faktor kelarutan cairan sulkular tidak bisa ditentukan. Metode Skapski dan Lehner menggunakan 2 jarum injeksi yang saling berhubungan, jarum 1 digunakan untuk injeksi larutan saline ke dalam dasar sulkus dan jarum 2 digunakan untuk reaspirasi cairan ke dalam tube sampel.



Gambar 5. Teknik *Gingival Washing*  
(Salonen et al, 1991)

#### D. *Plastic strip*

*Plastic strip* diletakkan sepanjang *axis* gigi atau ke dalam sulkus dengan sedikit tekanan.

### Metode Pengumpulan Cairan Sulkular Berdasarkan Objek Penelitian

#### a. Tahapan Pengumpulan Sampel Cairan Sulkular pada Tikus

1. Sampel cairan sulkular dikumpulkan pada minggu ke-2, ke-4 dan ke-6 setelah induksi periodontitis
2. Gigi tikus dikeringkan
3. Lepaskan perlekatan ligamen

4. Isolasi gigi tikus dengan menggunakan *cotton roll*
  5. Cairan sulkular dikumpulkan dengan menggunakan *paper point* tanpa menyentuh *margin gingiva*. Paper yang digunakan produksi dari: Beijing, Dayading Medical Apparatus and Instruments Co., Ltd.
  6. Setiap *sites* dilakukan 3 kali pengumpulan dengan menggunakan *7 paper point*
  7. *Paper point* ke-7 didiamkan selama 30 detik di dalam sulkus.
  8. Paper point harus langsung dipindahkan ke *vial* plastik yang berisi 20 $\mu$ L *sample diluent* (ambil di dalam kit ELISA)
  9. Simpan pada suhu -80°C
- b. Tahapan Pengumpulan Sampel Cairan Sulkular pada Marmut**
1. Gigi insisivus bawah dibersihkan dari plak supragingiva dengan menggunakan *cotton roll*
  2. Isolasi dan dikeringkan dengan *cotton roll*
  3. *Paper point* dimasukkan sekitar 1mm ke dalam sulkus selama 30 detik
  4. Berikan *interval* selama 90 detik kemudian dilanjutkan pengambilan pada *site* berikutnya.
  5. Siapkan tabung *ependorf* 1,5 ml yang berisi 350 mL cairan *saline* fisiologis
  6. Kemudian tabung disentrifugasi selama 5 menit dengan putaran 2000g untuk meluruhkan cairan sulkular dari *paper point*.
  7. Simpan sampel cairan sulkular pada suhu -80°C
- c. Tahapan Pengumpulan Sampel Cairan Sulkular pada Anjing**
1. Cairan sulkular dikumpulkan dari 6 buah gigi premolar mandibula
  2. Gigi dibersihkan dari plak supragingiva
  3. Gigi dan *margin gingiva* dikeringkan menggunakan semprotan angin yang lembut
  4. Kumpulkan cairan sulkular dengan menggunakan *filtered paper strip* yang diproduksi oleh Periopaper, Harco electronics, Winnipeg, MB, Canada
  5. Masukkan 1mm *paper strip* ke dalam sulkus selama 30 detik
  6. Segera lanjutkan dengan *paper strip* baru selama 30 detik

7. Volume cairan sulkular diukur dengan menggunakan Periotron 8000 – Ora Flow Inc., Smithtown, NY, USA. 1 unit pembacaan periotron setara dengan 0,005  $\mu$ l cairan sulkular.

**d. Tahapan Pengumpulan Sampel Cairan Sulkular pada Manusia**

1. Plak supragingival dibersihkan secara hati-hati dengan menggunakan *cotton pellet*
2. Isolasi gigi dengan menggunakan *cotton roll* dan keringkan dengan *3-way syringe* untuk menghindari kontaminasi dari saliva.
3. Cairan sulkular dikumpulkan dari 6-8 *sites* per pasien
4. dilakukan dengan menggunakan *paper strip* yang dimasukkan ke sulkus diantara gigi dan *margin gingiva*.
5. *Paper strip* dibiarkan selama 30 detik di dalam sulkus.
6. Strip diangkat dan ditempatkan di dalam *eppendorf*.
7. Eksklusi strip yang terkontaminasi oleh darah dan saliva
8. Cairan sulkular di dalam *strip* direndam ke dalam 100 $\mu$ L larutan *bidistilled water* dan dimasukkan kedalam *centrifuge*

**Cairan Sulkular Sebagai Indikator Imunitas Seluler dan Humoral**

Imunitas seluler dan humoral berperan penting dalam respon manusia terhadap mikroorganisme di dalam plak subgingival. Respon imun seluler di dalam cairan sulkular dapat diidentifikasi melalui sitokin dan perkembangan antibodi monoklonal. Berdasarkan penelitian Charon *et al* tahun 1982 dan Mergenhagen tahun 1984 menyatakan, ada aktivitas interleukin-1 di dalam cairan sulkular pada saat terjadi inflamasi gingiva.

Makrofag merupakan sumber utama mediator inflamasi di dalam cairan sulkular, yaitu TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 dan sitokin lainnya. IL-1 juga dihasilkan oleh sel epitel gingiva, sel endotel, limfosit B, fibroblast, dan PMN pada pasien yang telah melakukan perawatan periodontal seperti *scaling* dan *root planing*, jumlah IL-1 $\beta$  dan IL-1 $\alpha$  di dalam cairan sulkular berkurang secara signifikan. Berdasarkan penelitian oleh Geivelis *et al* tahun 1990, IL-6 memiliki korelasi terhadap kedalaman probing pada penyakit periodontal. Komposisi dari cairan sulkular terdiri dari kandungan enzim yaitu MMP-8 (collagenase-2), MMP-9 (gelatinase-B), alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase, aminotransferase, acid phosphate,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha_2$ -macroglobulin,

$\alpha_1$ -proteinase inhibitor, cysteine proteinase, serine proteinase, cathepsin-D, dan neutrofil elastase.

Cairan sulkular juga dapat menjadi *biomarker* terhadap proses pembentukan dan formasi tulang. *Marker* yang dapat diteliti pada proses pembentukan tulang adalah alkaline phosphatase, osteocalcin, dan protocollagen tipe 1. Pada proses resorpsi tulang, marker yang dapat diteliti adalah *pyridinium cross-link*, *pyridinium cross-linked collagen peptide fragment*, *tartrate resistant acid phosphatase* (TRAP), galactosyl hydroxylysine (GHYL), hydroxyproline, N-terminal osteocalcin fragment, dan glycosaminoglycan (GAG's)

### **Metode Analisis Cairan Sulkular**

Metode analisis cairan sulkular dapat dilakukan melalui *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), *polymerase chain reaction*, *capillary zone electrophoresis coupled with laser induced fluorescence detection* (CZE-LIFD), *Bradford method*, *quantitative time resolved immunofluorometric assay* (IFMA), *electrochemiluminescence technique*, *multiplexed bead immunoassay* (MPBI), *flow cytometry*, *western immunoblot*, *immunoturbidimetric analysis*, *high performance liquid chromatography* (HPLCG), *Erel's colorimetric method*.

Dalam penelitian yang menggunakan cairan sulkular sebagai sampel, pengumpulan menggunakan paper strips dan analisis menggunakan ELISA merupakan metode yang paling banyak digunakan. *Biomarker* yang lazim diteliti dengan menggunakan cairan sulkular yaitu IL-1 $\beta$ , MMP-8, dan TNF- $\alpha$

# ELISA Kit yang Dapat Dipergunakan Untuk Analisis Cairan Sulkular

## 1. Subjek Penelitian Manusia



Gambar 6. ELISA Kit (Sumber: Elabsience)

Tipe Assay	Sandwich
Jumlah <i>well</i>	96
Waktu Pengerjaan	4 jam 30 menit
Jumlah sampel yang dibutuhkan per <i>well</i>	100 $\mu$ l (0,10ml)
Tipe sampel/spesimen	Serum, plasma, dan cairan biologis tubuh lainnya
No. Katalog	E-EL-H1450

## 2. Subjek Penelitian Tikus

Tipe Assay	Sandwich
Jumlah <i>well</i>	96
Waktu Pengerjaan	4 jam 30 menit
Jumlah sampel yang dibutuhkan per <i>well</i>	100µl (0,10ml)
Tipe sampel/spesimen	Serum, plasma, dan cairan biologis tubuh lainnya
No. Katalog	E-EL-R0623

## 3. Subjek Penelitian Marmut

Tipe Assay	Sandwich, double antibody
Jumlah <i>well</i>	48 atau 96
Penyimpanan kit	4°C selama 6 bulan
Jumlah sampel yang dibutuhkan per <i>well</i>	100µl (0,10ml)
Tipe sampel/spesimen	Serum, plasma, dan cairan biologis tubuh lainnya
No. Katalog	EGP0035

## 4. Subjek Penelitian Anjing

Tipe Assay	Quantitative sandwich
Jumlah <i>well</i>	48, 96
Penyimpanan kit	2°-8°C
Jumlah sampel yang dibutuhkan per <i>well</i>	100µl (0,10ml)
Tipe sampel/spesimen	Serum, plasma, dan cairan biologis tubuh lainnya
No. Katalog	MBS010716

## Preparasi Cairan Sulkular Sebelum Analisis ELISA

Sampel yang dikumpulkan menggunakan *paper strip* atau *paper point* terlebih dahulu harus diluruhkan dengan menggunakan *centrifuge* putaran 2000g selama 5 menit. Sampel disimpan pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  dan dapat dianalisis paling lambat 3 bulan setelah penyimpanan. Perlu diperhatikan, jika sampel disimpan pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  maka analisis harus segera dilakukan paling lambat 7 hari setelah penyimpanan. Jika sampel disimpan pada suhu  $20^{\circ}\text{C}$  maka analisis harus dilakukan paling lambat 1 bulan setelah penyimpanan. Sampel hanya bisa digunakan untuk 1 kali analisis, dan tidak bisa dilakukan penyimpanan ulang

Tabel 1. Suhu dan Waktu Penyimpanan Cairan Sulkular

Suhu penyimpanan	Waktu penyimpanan
$-80^{\circ}\text{C}$	$\leq 3$ bulan penyimpanan
$-20^{\circ}\text{C}$	$\leq 1$ bulan penyimpanan
$4^{\circ}\text{C}$	$\leq 7$ hari penyimpanan

Sampel yang akan dianalisis didiamkan sampai mencapai suhu ruangan sekitar  $20^{\circ}$  -  $25^{\circ}\text{C}$ . Sampel dilakukan *centrifuge* putaran 1000g selama 20 menit. Periksa kembali jumlah sampel cairan sulkular yang akan dianalisis  $\pm 100\mu\text{l}$  per *well*, jika jumlah tidak mencukupi maka harus dilakukan proses pengenceran sesuai dengan petunjuk pabrik.

Teknik kerja ELISA dapat berupa teknik *sandwich*, *direct ELISA*, *indirect ELISA*, dan *competitive ELISA*. Setiap teknik analisis memiliki kelebihan dan kekurangannya masing-masing, *direct ELISA* memiliki waktu analisis yang lebih cepat serta sedikit kesalahan, tetapi kurang sensitif dalam mendeteksi protein secara spesifik. Teknik ini baik digunakan untuk analisis respon imun terhadap antigen.

*Indirect ELISA* lebih sensitif dibandingkan dengan *direct ELISA*, dengan biaya yang ekonomis. Fleksibilitas dari prosedur ini lebih baik dari *direct ELISA*. Kekurangan dari prosedur ini ialah waktu pengerjaan yang lama karena adanya tambahan langkah berupa tahapan inkubasi untuk antibodi sekunder. Teknik ini bisa digunakan untuk pemeriksaan konsentrasi total antibodi dalam sampel.

*Competitive* ELISA memiliki keuntungan berupa penggunaan sampel yang tidak murni dapat digunakan untuk analisis. Hasil yang didapatkan lebih konsisten. Teknik ini diindikasikan untuk analisis antigen yang tidak bisa berikatan dengan 2 antibodi berbeda.

*Sandwich* ELISA merupakan teknik yang lazim digunakan dan memiliki sensitivitas paling tinggi. Jika dibandingkan dengan teknik *direct* dan *indirect* ELISA, prosedur ini memiliki sensitivitas 2 sampai 5 kali lebih sensitif. Proses deteksi protein lebih spesifik serta merupakan proses yang fleksibel karena dapat dilakukan teknik *direct* ataupun *indirect*. Teknik ini membutuhkan penggunaan *kit* khusus dengan petunjuk yang spesifik tentang *sandwich* ELISA. Prosedur ini lazim digunakan untuk pemeriksaan sampel yang kompleks seperti mengukur jumlah sitokin dalam respon imun.

### **Kesalahan dalam Proses Analisis ELISA**

Prosedur ELISA tidak terhindar dari beberapa kelalaian yang akan mengakibatkan hasil analisis menjadi kurang akurat. Masalah yang terjadi seperti kerancuan kurva standar disebabkan oleh proses *pipetting* yang tidak akurat, proses pembuatan larutan dan perlakuan aspirasi pada *well* tidak sesuai petunjuk pabrik. Solusi yang dapat dilakukan adalah memeriksa ulang pipet, pastikan reagent standar telah tercampur dengan homogen, dan perlakuan aspirasi pada setiap tahapan sempurna dilakukan.

Hasil ELISA tidak terbaca oleh *reader* dikarenakan waktu inkubasi yang kurang, suhu ruangan saat dilakukan pemeriksaan ELISA tidak sesuai, jumlah reagent yang tidak cukup, proses pengenceran yang tidak tepat, HRP (Avidin-Horseradish Peroxidase) tidak aktif atau adanya kegagalan TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) pada kit ELISA. Hal yang harus diperhatikan untuk menghindari kesalahan yang disebutkan yaitu pastikan waktu inkubasi dan suhu sesuai dengan rekomendasi pabrik, dan campurkan HRP – TMB dan segera terjadi pewarnaan.

Jika pada saat analisis menunjukkan warna sampel yang pekat namun memiliki nilai yang rendah, hal ini disebabkan oleh pengaturan *reader* yang kurang optimal. Periksa kembali panjang gelombang pada *reader* atau buka *microplate reader* untuk dipanaskan sebelum digunakan.

Sensitivitas yang rendah juga menjadi salah satu permasalahan yang sering ditemukan oleh peneliti, ini disebabkan oleh penyimpanan *kit* pada cara dan suhu yang salah atau tidak menambahkan *stop solution* yang terdapat pada petunjuk kit. Untuk menghindari masalah ini, simpan seluruh reagent sesuai dengan instruksi pabrik, *kit* yang belum pernah digunakan dapat disimpan pada suhu 4°C selama 1 bulan atau sesuai dengan petunjuk pabrik. Jika *kit* tidak digunakan dalam waktu 1 bulan, maka penyimpanan setiap barang dilakukan secara terpisah sesuai dengan yang tertera di dalam buku petunjuk kit. Penambahan *stop solution* pada setiap *well* sebelum dilakukan pengukuran.

Akibat adanya kesalahan dalam pengumpulan cairan sulkular akan memengaruhi identifikasi cairan sulkular. Beberapa kesalahan tersebut adalah :

1. Kontaminasi cairan sulkular disebabkan oleh darah, saliva atau dental plak yang mempengaruhi keakuratan dalam penentuan volum dan komposisi dari cairan sulkular. Keberadaan saliva dalam cairan sulkular dikonfirmasi dengan keberadaan alpha-amylase.
2. Waktu pengambilan sample, lamanya waktu dalam mengumpulkan cairan sulkular akan mengakibatkan perubahan pada konsentrasi protein dalam cairan sulkular.
3. Perubahan volume cairan sulkular akibat penguapan juga dianggap sebagai masalah yang signifikan terjadi pada saat pengumpulan cairan sulkular. Jumlah volume cairan sulkular yang dikumpulkan sekitar 0,5-1 $\mu$ l. Jumlah ini merupakan angka yang sangat kecil sehingga adanya perubahan pada volum cairan sulkular yang dikumpulkan akan mempengaruhi adanya kesalahan pada cairan sulkular.

### **Cairan sulkular sebagai diagnostik biomarker penyakit periodontal**

Banyak sitokin yang dilepaskan dari sel epitel sulkular dan fungsional, sel dendritik, jaringan ikat fibrosa, makrofag, dan neutrofil. Selain itu, sejumlah enzim seperti matrix metalloproteinases, diproduksi oleh neutrofil, fibroblas dan osteoklas, yang dapat menyebabkan degradasi kolagen dan jaringan ikat tulang alveolar. Hingga saat ini, lebih dari

90 komponen berbeda pada cairan sulkular telah dievaluasi untuk membantu menegakan diagnosis periodontal. Pada tahap initial, aliran cairan sulkular (volume per unit waktu yang dikumpulkan) dapat mencerminkan kondisi klinis periodonsium. Aliran cairan sulkular gingiva meningkat dengan peningkatan keparahan peradangan gingiva. Dengan kemajuan teknik laboratorium, cairan sulkular telah dianalisis untuk menandakan kehadiran faktor respons host terhadap kondisi peradangan, termasuk molekul dari darah, jaringan inang lokal dan plak biofilm.

Cairan sulkular berpotensi sebagai biomarker untuk menentukan adanya penyakit periodontal secara umum dibagi menjadi tiga kategori, yaitu :

#### A. *Host-derived enzymes*

##### 1. *Aspartate aminotransferase (AST)*

AST adalah enzim *cytoplasmic* dan terdistribusi dalam jantung, hati dan muskulo skeletal. Pelepasan AST dari cairan ekstraseluler bersamaan dengan kerusakan dan kematian sel. Kandungan AST dalam cairan sulkular meningkat pada daerah yang memiliki periodontitis aktif.

##### 2. *Alkaline phosphatase (ALP)*

ALP adalah *membrane-bound glycoprotein* yang diproduksi oleh berbagai jenis sel seperti leukosit, osteoblas, makrofag, dan fibroblas yang terdapat pada jaringan periodonsium dan celah gingiva. Bakteri yang terdapat pada sulkus maupun pocket juga dapat memicu dihasilkannya ALP dan berkontribusi pada peningkatan level ALP dalam cairan sulkular. Peningkatan level ALP terjadi pada penderita gingivitis dan periodontitis.

##### 3. *Beta-glucuronidase*

*Beta-glucuronidase* adalah enzim lisosom yang diproduksi oleh makrofag, fibroblas, dan sel endotel yang sehat atau gingiva yang meradang secara kronis. Levelnya meningkat pada individu dengan *adult periodontitis* sebanyak enam kali lipat dibandingkan dengan individu yang sehat.

##### 4. *Neutrophil elastase*

*Neutrophil elastase (NE)* adalah *serine proteinase* yang dibatasi oleh *azurophilic granules* dari *polymorph neutrophils*. NE bertindak setelah elastin, proteoglikan, hemoglobin, fibrinogen dan kolagen.

Dalam cairan sulkular NE memberikan indikasi adanya aktivitas PMN *intracrevicular* dan kehilangan tulang alveolar.

5. *Cathepsin B*

*Cathepsin B* adalah enzim kelas *cysteine proteinases* yang diproduksi oleh makrofag. Levelnya meningkat pada pasien dengan penyakit periodontal dan akan terus mengalami peningkatan seiring dengan perkembangan penyakit periodontal. *Cathepsin B* digunakan sebagai indikator yang membedakan periodontitis dari gingivitis dan untuk merencanakan perawatan serta memantau perkembangan hasil perawatan.

6. *Trypsin-like enzymes*

*Porphyromonas gingivalis* adalah patogen utama yang menyebabkan adanya penyakit periodontal pada orang dewasa. Kehadiran *Trypsin-like enzymes* meningkatkan potensi *porphyromonas gingivalis* untuk menyebabkan kerusakan pada jaringan periodontal.

7. *Matrix metalloproteinases* (MMPs)

MMP-8 dan MMP-9 adalah *collagen-degrading enzymes* yang utama dalam cairan sulkular dan saliva. MMP-8 maupun MMP-9 dapat menyebabkan kolagen terdegradasi pada jaringan periodontal yang mengalami peradangan selama gingivitis dan periodontitis. MMP-8 dan MMP-9 bertindak sebagai indikator yang menandakan adanya peradangan pada jaringan periodontal.

8. TIMPs

MMPs dihambat oleh *Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinases* (TIMPs) dan dibatasi oleh kerusakan matriks ekstraseluler. Keseimbangan antara MMP dan TIMP memainkan peran penting dalam mempertahankan integritas jaringan periodontal. Dalam jaringan periodontal yang sehat kadar TIMP umumnya lebih tinggi daripada saat terdapat peradangan pada jaringan periodontal, sedangkan kadar MMP pada periodontitis melebihi level TIMP.

9. *Leptin*

*Leptin* adalah hormon polipeptida yang terlibat dalam *host-respon* dan merangsang sistem kekebalan dengan meningkatkan produksi sitokin proinflamasi dan fagositosis oleh makrofag. *Leptin* memiliki peran dalam perlindungan jaringan periodontal dan perkembangan penyakit periodontal, menyebabkan penurunan konsentrasi yang signifikan pada cairan sulkular

10. *Hepatocyte growth factor*

*Hepatocyte growth factor* merangsang proliferasi sel epitel secara berlebihan dan juga mencegah regenerasi jaringan ikat. Dengan demikian *hepatocyte growth factor* memainkan peranan penting dalam periodontitis. *Hepatocyte growth factor* dalam cairan sulkular pada penderita periodontitis ditemukan 10 kali lipat lebih tinggi daripada yang subjek sehat.

11. *Myeloperoxidase*

*Myeloperoxidase* (MPO) adalah konstituen *azurophilik granules* dari PMN yang mengoksidasi ion klorida menjadi asam hipoklorit dan merupakan oksidator bakterisida kuat. Selama periodontitis sejumlah besar neutrofil dihasilkan dari pembuluh darah dan terjadi peningkatan *myeloperoxidase*.

12. *Lactate dehydrogenase*

*Lactate dehydrogenase* (LDH) adalah enzim yang terdapat di dalam sitoplasma sel, mengkatalisis konversi piruvat menjadi laktat. LDH dilepaskan dari ekstraseluler hanya setelah kematian sel. Jadi, LDH merupakan penanda kematian sel dan kerusakan jaringan. Keberadaan LDH dalam cairan sulkular meningkat selama gingivitis dan periodontitis

13. *Aryl sulfatase*

*Aryl sulfatase* adalah enzim lisosom yang terlibat di dalamnya degradasi substansi jaringan ikat. *Aryl sulfatase* terlibat dalam degradasi proteoglikan melalui hidrolisis ester sulfat. Level meningkat pada penderita gingivitis dan periodontitis.

14. B-N-acetyl-hexosaminidase ( $\beta$ -NAH)

B-N-acetyl-hexosaminidase ( $\beta$ -NAH) adalah asam lisosomal hidrolase yang dilepaskan ke dalam cairan sulkular selama fagositosis neutrofilik dan lisis seluler. Keberadaannya meningkat pada pasien periodontitis

## B. *Inflammatory mediators and product*

### 1. *Interleukins*

*Interleukins* adalah sitokin yang dapat meresorpsi tulang dan ditemukan dalam dua bentuk aktif yaitu  $IL1\alpha$  dan  $IL1\beta$ . Setelah diproduksi  $IL1$  mengaktifkan limfosit, menstimulasi kemotaksis makrofag, memproduksi prostaglandin, dan merangsang osteoklast untuk meresorpsi tulang.  $IL1$ ,  $IL6$ , dan  $TNF\alpha$  ditemukan dengan konsentrasi yang signifikan dalam cairan sulkular dari jaringan periodontal yang sakit.

### 2. *RANTES*

*RANTES* adalah bagian dari superfamilia sitokin pro-inflamasi dan terlibat dalam pengembangan respon inflamasi gingiva dengan memediasi rekrutmen dan aktivasi leukosit. Levelnya adalah meningkat pada periodontitis.

### 3. *Prostaglandin E2*

*Prostaglandin* disintesis oleh sebagian besar sel mamalia. *Prostaglandin* menghasilkan vasodilatasi, menyebabkan resorpsi tulang, dan penghambatan sintesis kolagen. Levelnya meningkat dalam pengumpulan cairan sulkular dari jaringan periodontal yang mengalami sakit secara periodik.

### 4. *Leukotriene B4 (LTB4)*

$LTB4$  adalah membran mediator lipid yang diturunkan dari yang terbentuk asam arakidonat melalui enzim 5-lipoksigenase jalur, memiliki berbagai aksi biologis selama respon inflamasi. Tingkat  $LTB4$  yang meningkat dicatat dalam GCF situs yang sakit periodik.

### 5. *Substance P (SP)*

Zat P terlokalisasi pada saraf sensorik yang dipersarafi pembuluh darah. keberadaannya dalam cairan sulkular berkorelasi dengan peradangan periodontal.

### 6. *Monocyte chemo-attractant protein (MCP)*

$MCP-1$  bertindak sebagai mediator yang kuat untuk aktivasi monosit. Kehadiran  $MCP-1$  ditandai oleh berbagai jenis sel seperti monosit, sel endotel, fibroblas, dan sel-T, terutama pada lapisan basal jaringan epitel. Aktivasi  $MCP$  dalam cairan sulkular meningkat seiring dengan perkembangan periodontitis.

### C. *Tissue-breakdown product*

#### 1. *Glycosaminoglycans*

*Glycosaminoglycans* adalah polisakarida yang tersusun dari asam uronat dengan hexosamine, dan dikombinasikan dengan berbagai protein di berbagai organ dan jaringan ikat. Sejumlah besar glikosaminoglikan sulfat (SGAG), terutama kondroitin sulfat dengan non-sulfat hyaluronan, terdeteksi pada cairan sulkular pada jaringan periodontal dengan periodontitis.

#### 2. *Hydroxyproline*

*Hydroxyproline* adalah asam amino khas dari kolagen yang memungkinkan untuk memutar heliks kolagen. Setelah degradasi kolagen, *hydroxyproline* muncul pada cairan sulkular. *Hydroxyproline* bertindak sebagai biomarker untuk kerusakan periodontal.

#### 3. *Fibronectin fragments*

*Fibronectin* adalah komponen penting matriks ekstraseluler (ECM) dari jaringan periodontal. *Fibronectin* memiliki peran utama dalam proliferasi sel, yang menandakan adanya potensi regeneratif. Oleh karena itu, Kehadiran fragmen fibronektin dalam cairan sulkular menunjukkan kehancuran jaringan dan konsentrasi fibronektin meningkatkan penyakit periodontal.

#### 4. *Osteonectin*

*Osteonectin* adalah protein pengikat kalsium non-kolagen dan terkait dengan keberadaan matriks ekstraseluler. *Osteonectin* memiliki peran dalam perbaikan dan keberadaanya meningkat pada cairan sulkular di lokasi dengan periodontitis berat.

#### 5. *Osteocalcin (OC)*

*Osteocalcin* adalah protein matriks non-kolagen, diproduksi oleh osteoblas dan terkait dengan pembentukan tulang. Kadar *osteocalcin* meningkat dalam cairan sulkular pasien dengan periodontitis yang tidak diobati.

#### 6. *Type I collagen peptides*

Kolagen disintesis dalam bentuk yang mengandung terminal propeptida. Setelah pembelahan, peptida ini dihilangkan melalui sulkus gingiva dimana cairan sulkular dapat diukur. Peptida ini terdeteksi di cairan sulkular pasien dengan periodontitis

7. *Osteopontin*

*Osteopontin* adalah protein-adhesi sel-matriks ekstraseluler, disintesis oleh preosteoblas, osteoblas, dan osteoklas. keberadaannya dalam cairan sulkular meningkat seiring dengan perkembangan penyakit periodontal, dan karena itu dianggap sebagai penanda kerusakan tulang alveolar.

8. *Laminin*

*Laminin* adalah glikoprotein 900-kDa yang terlihat pada semua membrane dasar. Penyakit periodontal menyebabkan penghancuran yang meluas pada membran dasar. Karena itu, jumlah laminin yang terdeteksi pada cairan sulkular lebih tinggi pada pasien dengan periodontitis.

9. *Calprotectin*

*Calprotectin* bertindak sebagai protein proinflamasi untuk rekrutmen neutrofil dan aktivasi. *Calprotectin* diidentifikasi dalam cairan sulkular dan menemukan bahwa konsentrasi tingkat cairan sulkular pada pasien dengan periodontitis lebih tinggi daripada subyek sehat.

10. *Hemoglobin  $\beta$ -chain peptides*

Decapeptide dan dodecapeptide adalah dua turunan dari hemoglobin. Mereka bertindak sebagai mediator inflamasi dan juga sebagai substrat peptidase spesifik prolin. Tingkat peptida ini akan berkurang pada cairan sulkular setelah periodontal berhasil diterapi.

## KESIMPULAN

Beberapa penelitian penulis membuktikan bahwa cairan sulkular menunjukkan hasil yang signifikan, dengan kesimpulan sebagai berikut:

- Penurunan aktivitas ALP cairan sulkular pada 15 hari sesuai dengan penurunan tanda-tanda klinis inflamasi. Sebaliknya, peningkatan aktivitas ALP cairan sulkular pada 60 hari sesuai dengan peradangan subklinis rekuren atau penyembuhan dari jaringan periodontal. Oleh karena itu, ALP cairan sulkular mencerminkan fase penyembuhan periodontal / inflamasi rekuren jangka pendek pada pasien periodontitis kronis (Kasuma N et al., 2016).
- Kadar netrofil elastase yang diteliti diuji dengan menggunakan teknik ELISA. Kemudian dibandingkan kadar enzim netrofil elastase pada sampel sehat, gingivitis ringan dan periodontitis awal pada setiap kelompok hasilnya terdapat peningkatan kadar neutrofil elastase dalam cairan sulkular yang berhubungan dengan tingkat keparahan penyakit gingivitis dan periodontitis (Kasuma N., 2017).
- Hubungan antara MMP-8 pada cairan sulkular dan penyakit periodontal. Tingkat MMP-8 berbeda secara signifikan antara kelompok sehat dan kelompok gingivitis ringan, antara kelompok sehat dengan kelompok periodontitis ringan, dan juga antara kelompok dengan gingivitis ringan dan periodontitis ringan pada cairan sulkular yang diuji dengan menggunakan teknik ELISA (Kasuma N et al., 2018).
- Konsumsi zinc yang terdapat di dalam makanan masyarakat Minangkabau, Sumatera Barat, Indonesia dan hubungannya dengan aktivasi alkaline phosphate pada penderita gingivitis menunjukkan korelasi yang kuat dengan arah postitif. Alkaline phosphate pada penderita gingivitis diuji dengan menggunakan ELISA dan tingkat zinc di dalam makanan masyarakat Minangkabau diukur dengan *Food Frequency Questionnaire* atau FFQ (Kasuma N et al.,2019).

## KEPUSTAKAAN

- Attar N.B et al: Evaluation of Gingival Crevicular Fluid Volume in Relation to Clinical Periodontal Status with Periotron 8000. *International Journal of Applied Dental Sciences* 2018, 4(1): 68-71.
- Bath-Balogh M dan Fehrenbach MJ, 2011, *Illustrated Dental Embryology, Histology, and Anatomy*, Edisi 3, WB Saunders Company, Philadelphia, hal 122-127
- Garant P.R., 2003, *Oral Cells and Tissues*. Quintessence Publishing Co. Ltd., Surrey, UK, hal 136-38
- Guentsch A. et al: *Comparison of Gingival Crevicular Fluid Sampling Methods in Patients with Severe Chronic Periodontitis*. *J Periodontol* 2011 82(7): 1051-60.
- Gunday S et al: *Analysis of Daytime Variations in Gingival Crevicular Fluid: A Circadian Periodicity*. *Journal of Periodontology* 2013. 1-17
- Kasuma N et al : Correlation between Matrix Metalloproteinase 8 in Gingival Crevicular fluid and Zinc Consumption. *Pakistan Journal of Nutrition* 2016 15(1).
- Kasuma N et al : Hubungan Kadar Neutrofil Elastase dengan Kerusakan Jaringan Periodontal pada Gingivitis dan Periodontitis. *Dentika Dental Journal* 2017 20 (2).
- Kasuma N et al : The Analysis of Matrix Metalloproteinasi-8 in Gingival Crevicular Fluid and Periodontal Diseases. *Indian Journal of Dental Research* 2018 29(4) : 450 -454.
- Kasuma N et al : Zn as The Factor of Alkaline Phosphatase in Periodontal Patient Consuming Minangkabau Food, West Sumatera, Indonesia. *Bangladesh Journal of Medical Science* 2019. 8(2) 243-247.
- Khurshid Z et al: *Human Gingival Crevicular Fluids (GCF) Proteomics: An Overview*. *Dent J* 5(12): 2017.
- Koregol A.C et al: *Total Protein in Gingival Crevicular Fluid as Indicators of Periodontal Disease Activity: A Clinico Biochemical Analysis*. *Drug Development and Therapeutics* 6(1): 2015
- Kurdukar P.A et al: *Biomarkers in Gingival Crevicular Fluid*. *IOSR-Journal of Dental and Medical Sciences* 14(10): 2015.

- Koss M.A et al: *Enzymatic Profile of Gingival Crevicular Fluid in Association with Periodontal Status*. Lab Medicine 40(5): 2009.
- Lamster I.B dan M. John Novak: *Host Mediators in Gingival Crevicular Fluid: Implications for the Pathogenesis of Periodontal Disease*. Critical Review in Oral Biology and Medicine 3(1/2):1992
- Majeed Z.N et al: *Identification of Gingival Crevicular Fluid Sampling, Analytical Methods, and Oral Biomarkers for the Diagnosis and Monitoring of Periodontal Diseases: A Systematic Review*. Disease Markers 2016: 1-24.
- Newman M.G et al, 2015, *Carranza's Clinical Periodontology*, Edisi 12, Elsevier Saunders, Missouri, hal 92-93.
- Pudyani P.S et al: *Alkaline Phosphatase Expression During Relapse After Orthodontic Tooth Movement*. Dent J. (Maj. Ked. Gigi) 47(1):2014.
- Reddy S, 2011, *Essentials of Clinical Periodontology and Periodontics*. Edisi 3, Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd, New Delhi.
- Salonen JL, Paunio KU: *An intracrevicular washing method for collection of crevicular contents*. Scand J Dent Res 1991; 99: 406-12.
- Silvana P et al : *Gingival Crevicular Fluid as Source of Biomarkers for Periodontitis*. Periodontology 2000, 70 hal 53-56. 2016.
- Sucheta A et al : *Gingival Crevicular Fluid : A review of Literature*. Annals of dental Specialty 6(2) 2018.
- Taba, Jr. M et al: *Diagnostic Biomarkers for Oral and Periodontal Diseases*. Dent Clin N am 2005, 49: 551-571.
- Talwar, GP et al. 2015. *Textbook of Biochemistry, Biotechnology, Allied and Molecular Medicine*. New Delhi: Eastern Economy Edition.
- Zayed N.M et al : *Identification of Gingival Crevicular Fluid Sampling, Analytical Methods, and Oral Biomarkers for the Diagnosis and Monitoring of Periodontal Diseases: A Systematic Review*. Disease Markers, 1 – 23 : 2016.

Dr. drg. Nila Kasuma, M.Biomed

**BIODATA PENULIS**



Nama: Dr. drg. Nila Kasuma, M. Biomed

Tanggal Lahir: 20 Juli 1972

Email: [nilakasuma@dent.unand.ac.id](mailto:nilakasuma@dent.unand.ac.id)

Dr. drg. Nila Kasuma, M. Biomed adalah seorang dokter gigi alumni Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara tahun 1991-1996. Menyelesaikan studi S2 Biomedik di Universitas Andalas tahun 2008 – 2010. Meraih gelar doktor pada 16 Januari 2014 dengan predikat *cum laude* di S3 Biomedik Universitas Andalas. Penulis meneliti tentang:

1. Correlation between matrix metalloproteinase 8 in gingival crevicular fluid and zinc consumption. 2016. Pakistan Journal of Nutrition.
2. Analysis of breastfeeding pattern with early childhood caries. 2018. World Journal of Dentistry.
3. Immunogenicity analysis of triterpene glycoside from *holothuria atra* to detecting fas and BCL-2 protein on the SP-C1 cell of tongue carcinoma. 2018. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.

4. The analysis of matrix metalloproteinase-8 in gingival crevicular fluid and periodontal diseases. 2018. Indian Journal of Dental Research.
5. Estimating age of maxillary and mandibular third molar eruption in late adolescent age. Proceeding. AIPCPH Journal.
6. Morinda citrifolia extract mouthwash as antigingivitis. 2016. Dentika Dental Journal.
7. Relation of neutrophil elastase level with tissue destruction in gingivitis and periodontitis. 2018. Dentika Dental Journal
8. Comparison of caries occurrence between resin based and glass ionomer based pit and fissure sealants in young permanent molars after one year. 2018. Global Journal of Health Science.

Penulis telah memulai penelitian di bidang oral biologi- biomedik sejak tahun 2013-saat ini, dan saat ini bertugas sebagai dosen di FKG Universitas Andalas.

Penulis bertugas sebagai dosen di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas dari tahun 2008 – sekarang.

# Index

## Symbols

$\beta$ -glucoronidase 5, 6, 12, 25

## A

Acid phosphatase 5, 11

Alkaline phosphatase 5, 11

Anjing v, vi, 24, 28

Asam laktat 5

## B

Biomarker ix, 26

## C

Cairan sulkular 2, 4, 17, 24, 25,  
26

Calibrated magnifying glass 21

Centrifuge ix

Clinical attachment loss ix

Competitive ELISA 30

## D

Dentogingival vii, 8, 15, 16

## E

ELISA vi, vii, ix, 24, 26, 27, 29, 30

Endotoksin 5

## F

Fibroblas 18

## G

Gingival index ix, 1

Gingival washing v, 22

Gingivitis 1

## H

Hexosamine 4

Hyaluronidase 6, 12

Hydroxyproline 5

## I

IL ix, 18, 25, 26

IL-1 ix, 18, 25

Immunoglobulin 4

Indirect ELISA 29

Inflamasi ix

Ion organik 4

## K

Kolagenase 3, 6

Komposisi cairan sulkular viii, 8

## L

Lactic dehydrogenase 7

Lipid 4

Lipopolisakarida v, x, 18

## M

Makrofag x, 25

Marmut v, vi, 24, 28

Mikropipet v, vii, 22

MMP-8 25, 26

## **P**

Paper point 24  
Paper strip 21, 25  
Periodontitis 39  
Periotron vii, 21, 25, 39  
Plak 25  
Plaque index x  
PMN x, 4, 5, 6, 13, 18, 22  
Pola sirkadian x  
Potassium 8  
Probing depth x  
Prostaglandin 5  
Protease 6, 7  
Protein 4, 9, 39

## **S**

Sandwich ELISA 30  
Sejarah cairan sulkular viii, 3  
Serum 7, 12, 27, 28  
Sodium 4, 8

## **T**

Teknik extracrevicular 20  
Teknik intracrevicular 20  
Tikus v, vi, 23, 28  
TNF xi, 18, 25, 26

## **U**

Urea 5, 11