

# HUBUNGAN KADAR NEUTROFIL ELASTASE DENGAN KERUSAKAN JARINGAN PERIODONTAL PADA GINGIVITIS DAN PERIODONTITIS

(RELATION OF NEUTROPHYL ELASTASE LEVEL WITH TISSUE DESTRUCTION IN GINGIVITIS AND PERIODONTITIS)

DR. Drg. Nila Kasuma, M.Biomed  
Departemen Periodonsia  
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Andalas  
Jl. Perintis Kemerdekaan No.77, Padang-Sumatra Barat 25121

## Abstract

Penyakit periodontal terdiri dari gingivitis dan periodontitis, yang terjadi karena interaksi antigen bakteri dengan *host*-jaringan sehingga mengaktifasi neutrofil, produksi antibodi, dan resorpsi tulang. Perubahan enzimatik Periodontal yang memiliki skala ukur yang diharapkan dapat menjadi penanda pada penyakit Periodontal. Media biologis yang dipilih yaitu cairan sulkus gingiva (GCF).

Pada penelitian ini melibatkan 66 orang sampel dengan 22 orang sampel sehat, 22 orang sampel gingivitis ringan, 22 orang sampel periodontitis awal. Kadar enzim yang diteliti diuji dengan menggunakan teknik ELISA. Pada penelitian *cross sectional* membandingkan kadar enzim netrofil elastase pada sampel sehat, gingivitis ringan dan periodontitis awal pada setiap kelompok. Analisis data dilakukan dengan cara univariat untuk mendeskripsikan masing-masing variable, untuk melihat distribusi normal ( $p > 0.05$ ) dilakukan Kolmogorov Smirnof Test. Apabila terdistribusi normal dilakukan uji ANOVA. Rata-rata kadar NE berdasarkan kelompok PDI pada kelompok sehat dengan  $\pm$  SD 2,65 ng/dl  $\pm$  1,28 dan pada gingivitis ringan naik 2,5 kali dibanding kondisi sehat dengan  $\pm$  SD 6,27 ng/dl  $\pm$  1,13, sedangkan pada periodontitis ringan naik 3,7 kali  $\pm$  SD 9,42 ng/dl  $\pm$  1,06 .

Penelitian ini menyimpulkan bahwa peningkatan kadar neutrofil elastase dalam gingival crevicular fluid berhubungan dengan tingkat keparahan penyakit gingivitis dan periodontitis.

**Kata kunci :Gingivitis, Periodontitis, Neutrofil Elastase**

## ABSTRACT

### RELATION OF NEUTROPHYL ELASTASE LEVEL WITH TISSUE DESTRUCTION IN GINGIVITIS AND PERIODONTITIS

Periodontal disease consists of gingivitis and periodontitis, which occurs due to the interaction of bacterial antigens to the host then activates neutrophils, antibody production, and bone resorption. Periodontal enzymatic changes which have a measuring scale which is expected to be a marker on Periodontal disease. The selected biological media is gingival sulcus fluid(GCF).

In this study involving 66 people with a sample of 22 healthy samples , 22 samples of mild gingivitis , periodontitis initial 22 samples . Studied enzyme levels tested using ELISA technique . In a cross-sectional study comparing three levels of each enzyme to sample healthy , mild gingivitis and periodontitis early in each group . Data analysis was performed by means of univariate to describe each variable , Kolmogorov Smirnof Test is used to see a normal distribution (  $p > 0.05$ ). When normally distributed ANOVA test average levels of NE based on the PDI group healthy group with  $\bar{x}$   $\pm$ SD of 2.65ng/dl  $\pm$  1.28 and the mild gingivitis increased by 2.5 times compared with the healthy condition  $\bar{x}$   $\pm$ SD 6,27 ng/ dl  $\pm$  1,13, whereas the light peridontitis increase 3.7 times ( $\bar{x}$ )  $\pm$  SD 9.42ng/dl  $\pm$  1.06.

This study concluded that elevated levels of neutrophil elastase in the gingival crevicular fluid related to severity of gingivitis and periodontitis.

**Keywords :Gingivitis, Periodontitis, Neutrophyl Elastase.**

## Pendahuluan

Penyakit periodontal terjadi karena interaksi antigen bakteri dengan *host*-jaringan sehingga mengaktivasi neutrofil, produksi antibodi, dan resorpsi tulang<sup>1</sup>. Neutrophyl Elastase bekerja dengan menghancurkan elastin, pada jaringan pendukung elastin berguna untuk memberikan kemampuan jaringan untuk meregang dan mendukung kesehatan sel<sup>2</sup>.

Perubahan enzimatik Periodontal yang memiliki skala ukur yang diharapkan dapat menjadi penanda pada penyakit Periodontal. Pengukuran perubahan enzimatik karena peningkatan inflamasi pada penyakit periodontal ini dapat diukur untuk menegakkan diagnosa sesuai dengan tingkat keparahan penyakit dapat menunjukkan ada atau tidak adanya patogen periodontal, inflamasi gingiva dan periodontal, *host*-imun inflamasi respon terhadap spesies patogen tertentu, dan kerusakan jaringan periodontal. Media biologis yang dipilih yaitu cairan sulkus gingiva (GCF). GCF terdapat di sulkus gingiva yang berbentuk V dan dalam gusi manusia yang secara klinis dinyatakan sehat. Aliran GCF dan jumlah dari leukosit yang bertransmigrasi akan mencapai jumlah maksimum antara 6 sampai 12 hari setelah *Initial Lesion* gingiva<sup>3,4</sup>.

GCF atau *gingival crevicular fluid* mempunyai peranan sebagai mekanisme pertahanan yaitu aksi membilas, kandungan sel protektif dan memproduksi enzim. *Cytokines* pro-inflamasi dan anti-inflamasi ini diidentifikasi dalam GCF, yang mencerminkan respon *host* terhadap antigen *periodontopathogenic* bakteri dan perkembangan penyakit pada dasarnya tergantung pada respon *host*, pengukuran kadar enzim dalam GCF adalah metode yang baik untuk mendiagnosa risiko pasien menderita penyakit periodontal.

Penyakit periodontal melibatkan beberapa enzim yang dapat menghancurkan jaringan lunak yang

menyebabkan inflamasi pada gingiva hingga kehancuran tulang, salah satunya *Neutrophyl Elastase*. Kadar yang tinggi dari *Netrofil Elastase* pada saliva dikaitkan dengan kehilangan perlekatan periodontal aktif, dan *Netrofil Elastase* dapat memberikan tanda klinis yang jelas dari progres peradangan/penyakit<sup>4</sup>. *Neutrofil Elastase* merupakan indikator aktivitas *neutrofil* berupa proteinase yang dikeluarkan dari granula *azurophilic*. *Neutrofil Elastase* diinhibisi oleh *Serine Leucocyte Protease Inhibitor* (SLPI) yang ditemukan pada sekresi mucus dan glandula saliva mempengaruhi iaktivitas *Neutrofil Elastase* di sub dan supragingiva. Sel epithelial yang terdapat dalam GCF merupakan sumber utama SLPI sebagai inhibitor.<sup>6</sup>

Neutrofil elastase bekerja pada kolagen dengan mendegradasi serat-serat kolagen dan elastin. Elastin yang berfungsi untuk memberikan kemampuan jaringan untuk meregang dan mendukung kesehatan sel<sup>7,8</sup>. Pemeriksaan kadar NE berguna pada *early stage inflammation*, karena neutrofil merupakan sel mayor yang bermigrasi dari sirkulasi darah ketempat inflamasi<sup>8</sup>.

Tujuan penelitian untuk mengetahui hubungan kadar neutrofil elastase dengan kerusakan jaringan periodontal pada gingivitis dan periodontitis.

## BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Cross Sectional Comparative Study* dimana variabel dependen dan independen diperiksa dalam waktu bersamaan. Ada tiga kelompok dalam penelitian yaitu, pasien sehat, gingivitis ringan dan periodontitis ringan. Jumlah sampel adalah 66 orang, masing-masing kelompok berjumlah 22 orang. Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *consecutive sampling* sesuai dengan

kriteria eksklusi dan inklusi. Pemeriksaan pertama jaringan periodontal menggunakan *Periodontal Disease Index* menurut Russel. *Gingiva Crevicular Fluid* dikumpulkan menggunakan *Absorbent paper*, penyimpanan padasuhu  $-20^{\circ}\text{C}$ . Reagent yang digunakan *Elastase, Human, Kit*, HK319-02, *Product assays, quantity* 2x96 det, *standard range* 0.4-25 ng/ml, *detection* kadar 0.4ng/ml, *working volume* 100  $\mu\text{l/well}$ .

Pengumpulan *Gingival Crevicular Fluid* dilakukan pada pagi hari pukul 08.00 WIB sesuai dengan *Circadian Periodicty*. Area pengambilan GCF dibersihkan dari plak. Untuk menyamakan kondisi dan meminimalisasi keterlibatan bakteri oral pasien diinstruksikan berkumur menggunakan larutan 2% *chlorhexidin*. Kemudian bibir diretraksi dan diisolasi dengan menggunakan *coton roll*. *Absorbent paper* dimasukkan dengan menggunakan teknik dari superfisial intracrevicular dan dibiarkan selama 3 menit. *Absorbent paper* diambil, dan diletakkan dalam tabung eppendorf yang telah diisi oleh larutan bufer *Phosphate Buffer Solution*. Spesimen diberi label. Sampel yang diambil akan dianalisa menggunakan ELISA dan disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Data dianalisa menggunakan SPSS 17. Jumlah Neutrofil elastase ditabulasikan dan di verifikasi secara statistik menggunakan Kolmogorov Smirnof Test untuk menguji distribusi normal dari data, hubungan antara neutrofil elastase dan periodontal disease index digunakan uji ANOVA.

#### **Periodontal Disease Index**

Pemeriksaan dari gusi atau jaringan periodontal menggunakan instrument berupa periodontal probe. Alat ini digunakan untuk mengukur kedalaman saku gusi. Kedalaman normal dari saku gusi sekitar 0-3mm. Gingivitis atau periodontitis akan mengakibatkan peningkatan kedalaman sulkus dan membentuk saku. Semakin tinggi derajat keparahan dari penyakit, semakin dalam

saku yang terbentuk. Probe periodontal juga bisa digunakan untuk menilai keparahan pendarahan dari gusi. Pada subjek sehat tidak ada tanda inflamasi. Gingivitis ringan terdapat tanda gingivitis berwarna kemerahan, edema, dan mengkilat, serta pendarahan saat probing. Jika salah satu dari dua sisi diukur, dan melebihi 3 mm kedalaman sulkus gingiva, dan apikal dari *cemento enamel junction* maka merupakan periodontitis.

#### **HASIL**

Sampel yang berjenis kelamin perempuan adalah 65% dan laki-laki 35%, setiap kelompok terdiri dari sehat, gingivitis ringan dan periodontitis ringan. Rata-rata umur perempuan lebih tinggi daripada laki-laki yaitu  $23,39 \pm 4,39$  berbanding  $21,15 \pm 31,18$ . Perbedaan ini secara statistik tidak bermakna yang berarti umur pada laki-laki dan perempuan setara (tabel 1).

Tabel1 Rata-Rata Umur Subjek Penelitian Berdasarkan Jenis Kelamin

Umur	JenisKelami n	n	%	Rata- rata	SD	p
	Laki-laki	17	35%	21,50	3,18	0,14
	Perempuan	49	65%	23,39	4,39	

Terdapat perbedaan rata-rata kadar *Neutrophyl Elastase* berdasarkan kelompok PDI, yang tertinggi terdapat pada Periodontitis ringan dengan rata-rata =  $9,42 \pm 1,06\text{ng/dl}$  dan bermakna. Tabel diatas menunjukkan pada penderita gingivitis ringan berpeluang mengalami peningkatan kadar NE sebanyak 2,5 kali lipat dibanding kondisi sehat, sedangkan pada kondisi peridontitis ringan naik 3,7 kali lipat dibanding kondisi sehat (tabel 2).

Tabel.2 Perbedaan Rata-rata Kadar *Neutrophyl Elastase* (ng/dl) dalam *Gingival Crevicular Fluid* dengan Penyakit Periodontal Berdasarkan PDI

Jenis enzim	PDI	f	Rata-rata	Standar deviasi	p
Elastase	Sehat	22	2,65	1,28	0,00
	Gingivitis ringan	22	6,27	1,13	
	Periodontitis ringan	22	9,42	1,06	
Total		66	6,11	3,47	

Untuk melihat perbedaan antar kelompok maka dilanjutkan dengan uji Post-hoc Bonferroni. Terdapat perbedaan rata-rata *Neutrophyl Elastase* yang signifikan antara kelompok sehat dengan gingivitis ringan, kelompok sehat dengan periodontitis ringan, dan juga antara kelompok gingivitis ringan dengan periodontitis ringan ( $p < 0,05$ ) (tabel3).

Tabel3. Hasil Uji Post-Hoc Bonferroni Kadar Enzim *Neutrophyl Elastase* Antar Kelompok PDI

PDI	Kadar NE		
	Sehat	Gingivitis ringan	Periodontitis ringan
Sehat	-	0,000	0,000
Gingivitis ringan	0,000	-	0,000
Periodontitis ringan	0,000	0,000	-

### PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan hubungan yang bermakna antara kadar *Neutrophyl Elastase* dalam *Gingival Crevicular Fluid* dengan pada penyakit periodontal ( $p < 0,05$ ).

Sampel 66 orang dinyatakan terjadi peningkatan kadar neutrofil elastase pada lokasi inflamasi dibandingkan dengan subjek yang sehat. Ini mengindikasikan bahwa kadar neutrofil elastase pada GCF

merupakan factor resiko periodontitis yang lebih parah dan resiko peningkatan *alveolar bone loss* yang progresif<sup>9</sup>.

Aktivitas NE secara signifikan berhubungan dengan kedalaman probing. Kadar NE meningkat sejalan dengan peningkatan inflamasi. Hubungan antara kadar NE dengan kedalaman poket. Rata-rata kadar NE berdasarkan kelompok PDI pada kelompok sehat dengan  $\pm$  SD 2,65 ng/dl  $\pm$  1,28 dan pada gingivitis ringan naik 2,5 kali dibanding kondisi sehat dengan  $\pm$  SD 6,27 ng/dl  $\pm$  1,13, sedangkan pada periodontitis ringan naik 3,7 kali  $\pm$  SD 9,42 ng/dl  $\pm$  1,06 dibanding kondisi sehat. Terbukti ada hubungan yang bermakna antara kadar Neutrofil Elastase dengan penyakit periodontal.

Pengukuran kadar neutrofil elastase berfungsi pada *early stage inflammation*, neutrofil adalah sel mayor yang bermigrasi dari sirkulasi darah ketempat inflamasi. Elastase adalah proteinase yang dikeluarkan dari *granula azurophilic* yang merupakan indikator aktivitas neutrophyl. Gingiva yang inflamasi adalah sumber utama dimana elastase terdeteksi di rongga mulut (Cox, 2006).

Kesimpulan, peningkatan kadar neutrofil elastase dalam *gingival crevicular fluid* berhubungan dengan tingkat keparahan penyakit gingivitis dan periodontitis.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloprotease and TIMP. *Cardiovascular Research* 2006; 69(3):562-7. Novaes AB, Junior, Souza SL, Taba M, Jr, et al. Control of gingival inflammation in a teenager population using ultrasonic prophylaxis. *Braz Dent J.* 2004;15(1):41-5.
2. Uitto et al. Proteolytic Host Cell Enzymes In Gingival Crevice Fluid. *Periodontology* 2000. 2003, Vol 31, 77-104

3. Lindhe, J., Hamp, S.-E. and Löe, H. 1973. Experimental periodontitis in the Beagle dog. *Journal of Periodontal Research*, 8: 1–10.
4. Carcuac O, Abrahamsson I, Alboury J-P, Linder E, Larsson L, Berglundh T. 2013. Experimental periodontitis and peri-implantitis in dogs. *Clin. Oral Impl. Res.* 24, 363–371
5. Carranza FA. 2006. The periodontal pocket, In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA (eds), *Clinical Periodontology*, 10th edition, St. Louis, Saunders-Elsevier, p: 434-51.
6. [Cox SW](#), [Rodriguez-Gonzalez EM](#), [Booth V](#), [Eley BM](#). Secretory leukocyte protease inhibitor and its potential interactions with elastase and cathepsin B in gingival crevicular fluid and saliva from patients with chronic periodontitis. [J Periodontal Res.](#) 2006 Oct;41(5):477-85
7. Daamen WF, Verkamp JH, van Hest JCM, Kuppervelt TH .2007. Elastin as Biomaterial for Tissue Engineering . *Biomaterials*. 28; 4378-4398
8. Almine, J.F., Bax, D.V., Mithieux, S.M., Nivison-Smith, L., Rnjak, J., Waterhouse, A., Wise, S.G., and Weiss, A.S. .2010. Elastin-based materials. *Chem Soc Rev* 39, 3371-3379
9. Ramseier, C.A., J.S. Kinney, A.E. Herr, T. Braun, J.V, Sugai, C.A. Shelburne, L.A. Ray-burn, H.M. Tran, A.K. Singh, and W.V. Giannobile. Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. *J. Periodontol* 2009;80, 436-446.
10. Małgorzata Nędzi-Gora, Renata Gorska. Elastase Concentration in Saliva in Patients with Chronic Periodontitis. *Dent. Med. Probl.* 2011, 48, 4, 474–480