ANALISIS KADAR INTERLEUKIN- 8 PADA PERIODONTITIS AGRESIF

The Analysis of Level Interleukin-8 in Aggressive Periodontitis

Yanti Rusyanti
Universitas Padjadjaran
Email Korespondensi : yantirusyanti@yahoo.co.id

Abstrak

Etiopatogenesis Periodontitis Agresif berdasarkan penelitian klinis dan histopatologis telah banyak diungkapkan, namun secara biomolekular terutama yang berkaitan dengan fungsi kemotaksis sel Netrofil masih jarang diteliti. Interleukin-8 diketahui sebagai kemoatraktran fungsi kemotaksis sel Netrofil dan bertanggung jawab dalam mempertahanan tubuh dari paparan produk bakteri. Tujuan penelitian ini adalah mengukur dan membedakan kadar IL-8 pada periodontitis agresif dan non periodontitis agresif. Disain penelitian kasus-kontrol dengan *consecutive sampling* diperoleh 32 orang pasien Periodontitis Agresif dan 29 orang Non-periodontitis Agresif yang memenuhi kriteria inklusi.Penelitian dilakukan selama 20 bulan di klinik Periodontik, Rumah Sakit Gigi dan Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Padjadjaran., Laboratorium Biomedik Unit Penelitian Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung. Kadar Il-8 diukur dari cairan sulkus gusi dengan Metode ELISA, Uji chi-kuadrat digunakan untuk analisis perbedaan kadar IL-8 pada kedua kelompok. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar IL-8 pada Periodontitis Agresif adalah 0,07053 (0,48761) pg/µl dan pada non periodontitis agresif adalah 0,12938(0,113063) pg/µl Penelitian ini menyimpulkan Kadar IL-8 pada Periodontitis Agresif lebih rendah daripada non periodontitis agresif. (p=0,0001).

Kata kunci: Kadar IL-8, Periodontitis agresif, Non Periodontitis agresif

Abstract

The etiopathogenesis of Aggressive Periodontitis based on clinical and histopathological study had been investigated abundantly. Nevertheless, the biomolecular mechanism especially in neutrophil chemotactic function were rarely studied. Interleukin-8 as chemoattractrant of neutrophil chemotactic which responsibility to host defense. The objective of this study was to examine and tho compare the level of IL-8 in aggressive periodontitis and non aggressive periodontitis patient. The research methode was case control study with consecutive sampling, consist of 32 aggressive periodontitis and 29 non aggressive periodontitis patient. The study was conducted during 20 months in Periodontic Clinic Rumah Sakit Gigi dan Mulut, Faculty of Dentistry, Padjadjaran University, Genetica Moleculer Medical Laboratory of Research Institution Padjadjaran University Bandung.The level of IL-8 of gingival crevicular fluid was asses by ELISA methode, The statistic analysis was chi-kuadrat test. The result showed that the average of the level IL-8 of aggressive periodontitis patient was 0,07053 (0,48761) pg/µl and non aggressive periodontitis was 0,12938(0,113063) pg/µl In conclusion the level of IL-8 of aggressive periodontitis significant lower than non aggressive periodontitis patient.

Key words: *The level of IL-8, aggressive periodontitis, non aggressive periodontitis patient*

PENDAHULUAN

Periodontitis merupakan penyakit infeksi kronis pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh banyak faktor (*a multifaktorial disease*), manifestasi dari interaksi antara bakteri plak (faktor lokal) dengan sistem pertahanan inang (faktor internal) yang berakibat goyangnya gigi karena kehilangan perlekatan dan resorpsi tulang alveolar. Periodontitis agresif merupakan salah satu periodontitis dengan karakteristik tersendiri yaitu terjadi pada individu sehat usia muda <30 tahun dengan perjalanan penyakit yang progresif berupa kerusakan jaringan periodontal yang parah pada gigi molar dan/atau insisif, dapat terjadi menyeluruh jika terlambat dirawat, dan akan berakibat fatal, tanggalnya gigi.

Saat ini prevalensi Periodontitis Agresif memperlihatkan tendensi terjadi peningkatan di berbagai Negara didunia, salah satunya adalah hasil survey di FKG UNAIR prevalensi periodontitis agresif meningkat dari 9% tahun 1991 menjadi 13% tahun 2002, dan di FKG UNPAD selama 3 bulan ditahun 2010 jumlah kasus periodontitis agresif adalah sebanyak 3.13%. Tingkat keparahan yang tinggi pada periodontitis agresif, tidak sesuai dengan faktor lokal (bakteri plak) yang ada, dan beberapa penelitian berhasil mengidentifikasi adanya kelainan sistem pertahanan inang, antara lain fungsi PMN. Walaupun keberadaan bakteri pathogen spesifik pada periodontitis Agresif dapat dipergunakan sebagai indikator diagnosis periodontitis agresif, akan tetapi penemuan terbaru menyatakan bahwa serangan bakteri saja tidak cukup untuk merusak jaringan periodontal, adanya respon imun inang terhadap serangan bakteri tersebut membantu perusakan jaringan periodontal. Paradigma baru ini meng-ungkapkan adanya interaksi bakteri dengan respon inang yang bermanifestasi klinis sebagai inflamasi pada jaringan periodontal. Netrofil merupakan elemen sel kunci dari sistem i*mmune innate*, berfungsi sebagai penahan serangan bakteri. Jika mekanisme normal gagal, maka netrofil juga bertanggung jawab terhadap adanya jejas jaringan secara immunologik. Gangguan fungsi sel pada umumnya disebabkan oleh karena komunikasi interseluler terganggu oleh karena kerusakan sel yang dapat bermanifestasi perubahan jumlah sel, bentuk sel (apoptosis, nekrosis) juga meliputi reseptor yg berada dipermukaan sel yang berfungsi mendeteksi keberadaan stimulan dari eksogen maupun endogen. Kemotaksis Netrofil melibatkan stimulan endogen, Interleukin-8 yang dapat menaktivasi integrin pada sel

endotel sehingga sel netrofil dapat menempel (adhesi) pada sel endotel dan kemudian eksavasasi keluar pembuluh darah. Sampai saat ini belum ada yang meneliti kadar IL-8 yang dikaitkan dengan aktivitas kemotaksis netrofil. Dengan demikian, walaupun fungsi kemotaksis netrofil telah diuji berperan sebagai etiologi penyakit periodontal namun sampai saat ini belum jelas penyebabnya, bukti ini memberi peluang untuk meneliti adanya penurunan kadar IL-8 yang menyebabkan kelainan kemotaksis netrofil pada periodontitis agresif.

Rumusan Masalah

Uraian di latar belakang penelitian dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ada penurunan kadar Il-8 pada Periodontitis Agresif
2. Apakah ada perbedaan jumlah kadar Il-8 pada Periodontitis Agresif dan non Periodontitis Agresif

TUJUAN

Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis kadar Il-8 pada periodontitis agresif.

Tujuan Khusus, untuk :

1) Menentukan adanya penurunan kadar Il-8 pada penderita periodontitis agresif.
2) Manfaat Penelitian

   Penelitian ini diharapkan dapat mengungkapkan informasi yang bermanfaat seperti berikut:

   1.Kegunaan ilmiah

   Memberi kontribusi ilmiah mengenai patogenesis periodontitis agresif dalam kaitannya fungsi kemotaksis netrofil dengan memeriksa kadar IL-8

   2. Kegunaan Praktis
      1) Menentukan diagnosis dini Periodontitis Agresif
      2) Memprediksi tingkat keparahan penderita periodontitis agresif.
      3) Memberi pemahaman dan menambah pengetahuan mengenai hubungan kadar IL-8 terhadap fungsi netrofil penderita periodontitis agresif.
      4) Diharapkan dapat menjadi bahan pertimbangan dalam menyusun rencana perawatan yang berhubungan dengan kelainan fungsi netrofil, serta menyusun langkah-langkah penyuluhan bagi penderita periodontitis agresif.

KAJIAN PUSTAKA

Tinjauan Umum Penyakit Periodontal

Jaringan periodontal terdiri dari 4 komponen penting yaitu gingiva, ligamen periodontal, sementum, dan tulang alveolar. Setiap komponen ini berfungsi bersamaan sebagai satu kesatuan, oleh karena itu perubahan patologis, perbaikan, dan regenerasi yang terjadi pada salah satu komponen dapat mempengaruhi komponen periodontal lainnya. Berbagai perubahan patologis yang dapat terjadi pada jaringan periodontal antara lain inflamasi jaringan, pembesaran gingiva, hilangnya perlekatan klinis, pembentukan poket periodontal, dan destruksi tulang alveolar. Perubahan-perubahan tersebut dapat diakibatkan oleh banyak faktor antara lain infeksi bakteri, konsumsi obat-obatan, penyakit sistemik, neoplasma, traumatik oklusi, lingkungan dan genetik. Kerentanan individu yang melatar belakangi penyakit ini masih harus ditelusuri lebih mendalam dan meluas.

Infeksi pada jaringan periodontal dimulai oleh invasi bakteri patogen spesifik yang berkolonisasi membentuk biofilm plak. Kolonisasi serta invasi bakteri patogen dan produk-produknya pada sulkus gingiva merupakan tahap awal proses perkembangan penyakit. Mikroorganisme dapat menyebabkan destruksi jaringan secara langsung atau secara tidak langsung dengan menstimulasi respon pertahanan tubuh inang. Interaksi antara mikroorganisme dengan sistem pertahanan tubuh inang menimbulkan reaksi kompleks yang disebut inflamasi. Inflamasi merupakan respon protektif yang ditujukan untuk menghilangkan penyebab awal jejas sel serta membuang sel dan jaringan nekrotik yang diakibatkan oleh kerusakan awal. Produk-produk bakteri juga menstimulasi pelepasan mediator inflamasi dari sel-sel imun inang yang menyebabkan destruksi jaringan serta menghambat atau mengaktifkan sel-sel imun inang lainnya.

Interaksi antara mikroorganisme dan jaringan inang inilah yang menyebabkan perubahan jaringan, destruksi jaringan ikat, dan resorpsi tulang alveolar sehingga secara klinis terlihat sebagai penyakit periodontal. Destruksi jaringan juga secara tidak langsung terjadi melalui proses inflamasi yang dilakukan oleh sistem pertahanan tubuh inang. Respon imun yang pertama merupakan respon imun non-spesifik. Responnya cepat serta melibatkan proses fagositosis (penghancuran mikroorganisme) dan inflamasi akut. Komponen-komponennya antara lain *polymorphonuclear granulocytes* (PMN), monosit/ makrofag, *natural killer cells* (NK), komplemen, dan mediator inflamasi yaitu sitokin dan prostaglandin. Respon imun yang kedua merupakan respon imun spesifik. Komponen-komponennya antara lain limfosit T, limfosit B/sel plasma, dan immunoglobulin. PMN mengeliminasi bakteri pada sulkus gingiva melalui proses fagositosis dan disamping itu PMN juga melepaskan enzim yang dapat mendestruksi jaringan. Ketika PMN tidak mampu mencegah invasi bakteri dan pembentukan plak subgingiva maka komponen imun seperti limfosit dan makrofag yang menggantikannya sehingga penyebaran infeksi lokal menjadi sistemik dapat dicegah. Sel-sel makrofag memproduksi sitokin pro-inflamasi yaitu interleukin-1 (IL-1) dan *tumor necrosis factor* (TNF), enzim matriks metalloproteinase (MMP), prosta-glandin E2 (PGE_2), serta kemokin (IL-8). Adanya lipopolisakarida bakteri yang mengaktivasi fibroblas menyebabkan peningkatan produksi mediator-mediator inflamasi tersebut. Perubahan aktivitas fibroblas menyebabkan ketidakseimbangan antara sintesis dan resorpsi jaringan. Aktivitas destruksi yang lebih besar menyebabkan terjadinya migrasi apikal *junctional epithelium* yang menyebabkan pembentukan poket periodontal yang sebenarnya (*true pocket*). Mediator-mediator inflamasi di atas juga dapat menyebabkan resorpsi tulang alveolar. PGE_2 menstimulasi aktivitas osteoklas dan menyebabkan

resorpsi tulang secara langsung, sedangkan TNFα dan IL-1β menghambat aktivitas osteoblas. Ketidak-seimbangan antara aktivitas osteoblas dan osteoklas inilah yang menyebabkan destruksi tulang alveolar. Manifestasi klinis pada jaringan periodontal diawali dengan proses inflamasi pada gingiva, yaitu peningkatan cairan sulkus gingiva dan pendarahan ketika dilakukan pemeriksaan dengan probe (*bleeding on probing*). Pada gingivitis terjadi proliferasi *junctional epithelium*, pembentukan pseudopoket, dan kerusakan fibroblas yang disertai dengan degradasi kolagen, tetapi belum terjadi destruksi tulang alveolar.

Transisi dari gingivitis menjadi periodontitis disebabkan oleh perubahan kemampuan bakteri patogen pada plak disertai dengan ketidakmampuan respon imun inang terhadap invasi bakteri atau pembentukan plak subgingiva, dan adanya berbagai faktor risiko. Faktor risiko memudahkan terjadinya proses penyakit dan memiliki peranan penting dalam patogenesis periodontitis. Keparahan penyakit dapat meningkat atau menurun tergantung intensitas dan pentingnya faktor risiko tersebut. Faktor risiko diklasifikasikan menjadi 2, yaitu:

1. Faktor risiko yang dapat berubah (*alterable risk factors*).
   Faktor risiko yang dapat berubah dapat dibagi menjadi 2, yaitu lokal dan sistemik. Faktor risiko lokal antara lain kualitas dan kuantitas saliva, kebiasaan bernapas melalui mulut, iritan eksogen (bakteri), reaksi alergi, traumatik oklusi, bruxism, *crowding*, dan parafungsi. Faktor risiko sistemik antara lain penyakit sistemik (diabetes, HIV, atau ketidak-seimbangan hormon), kebiasaan merokok dan meminum alkohol, stres, efek samping dari obat-obatan yang dikonsumsi, kurangnya kesadaran dalam memelihara kebersihan mulut akibat pendidikan dan status ekonomi yang rendah, lingkungan yang buruk, dan faktor nutrisi.
2. Faktor risiko yang tidak dapat berubah (*non-alterable risk factors*).
   Faktor risiko yang tidak dapat berubah antara lain faktor genetik, defisiensi imun, ras, jenis kelamin, dan umur fungsi kemotaksis netrofil. Tonetti (1994) menyatakan bahwa pergerakan PMN kedaerah infeksi dibantu oleh kemokin (Il-8) yang pada periodontitis banyak ditemukan pada epitel junctional dekat dengan bakteri penyebab. Induksi pada FPR akan merangsang berbagai perubahan pada sel PMN meliputi pengaturan kembali sitoskeleton yang akan memfasilitasi migrasi sel dan sintesa Il-8., kadarnya menurun dibandingkan dengan keadaan sehat. Penurunan IL-8 yang diproduksi oleh PMN pada penderita Periodontitis progresif menunjukkan kemampuan bakterisidal PMN yang rendah menyebabkan jumlah bakteri subgingival meningkat, sedangkan peningkatan kadar IL-8 plasma berkontribusi mengawali perusakan pembuluh darah. Pada periodontitis agresif teridentifikasi adanya hiperresponsif dari PMN.

Periodontitis Agresif

Periodontitis Agresif menurut klasifikasi American Academy of Periodontology (AAP) pada *The International Workshop for a classification of Periodontal Diseases and conditions* 1999 adalah penyakit periodontal yang berkembang dengan cepat mengakibatkan terjadinya kehilangan perlekatan yang tidak sejalan dengan umur penderitanya, terjadi pada usia muda, sebelum atau setelah masa pubertas, yang secara umum sehat, dapat terjadi secara Lokalisata maupun Generalisata. Pada penyakit ini telah teruji adanya faktor virulensi dan antigen dari bakteri *A.Actinomycetemcomitans* yang menyebabkan respon inang memproduksi sitokin proinflamatori yang berlebihan disertai respon imun inang yang mengalami defisiensi seperti defek kemotaksis netrofil yang dipengaruhi oleh faktor genetik, lingkungan dan faktor keluarga. Jika kondisi lokalisata dan dirawat maka hasilnya bisa baik, akan tetapi jika kondisi berkembang menjadi lebih parah dan generalisata maka kondisi ini mempunyai risiko tinggi terjadinya kehilangan gigi.

Epidemiologi

Data epidemiologi Periodontitis agresif sangat sedikit dibandingkan dengan data periodontitis kronis. Prevalensi yang dilaporkan 20 tahun terakhir sangat bervariasi karena mungkin disebabkan oleh perbedaan cara pemeriksaan dan definisi penyakit.Topografi maupun faktor ras harus menjadi pertimbangan. Prevalensi yang dilaporkan pada umumnya berkisar dari 0,1% - 7,6%, yaitu 0,1% di Madras, dan 6,8% di Bombay. Di Eropa prevalensinya sangat rendah yaitu 0,1-0,2%. Di USA prevalensinya sangat fluktuatif antara 1- 10% tergantung Ras, dilaporkan 2,05% pada murid kulit hitam dan 0,13% murid kulit putih, Perbandingan wanita dengan pria 1:1.3 kulit putih dan 1:2.9% pada kulit hitam. Prevalensi relatif lebih tinggi terdapat di Amerika Selatan, Negara Afrika dan Asia. dilaporkan 0.1 – 15% di Caucasian, 0.12%-0.47% di China, dan prevalensi yang tinggi terdapat di India yaitu 22%, di Indonesia belum ada data pasti, salah satunya adalah hasil survei di FKG UNAIR prevalensi periodontitis agresif meningkat dari 9% tahun 1991 menjadi 13% tahun 2002 dan di FKG UNPAD selama 3 bulan tahun 2010 ditemukan sebanyak 3,13% kasus periodontitis agresif.

Etiologi Periodontitis Agresif

Faktor-faktor yang berperan pada Periodontitis Agresif

1) Mikrobiologik
   Actinobacillus Actinomycetemcomitans.
   Merupakan mikroorganisme yang bertanggung jawab atas kerusakan jaringan, karena mempunyai kemampuan mensekresikan beberapa toksin antara lain:
   Leukotoxin, Inhibisi kemotaksis, Endotoxin, Enzym-enzym yang mampu mendegradasi jaringan ikat periodontal: Fibroblast cytotoxicity, Polyclonal B lymphocyte activation
2) Imunologik
   1) Netrofil
      Merupakan salah satu sel daya pertahanan tubuh yang paling awal bereaksi terhadap infeksi bakteri. Setelah keluar dari pembuluh darah,

sel ini mengenali bahan kimia yang dikeluarkan oleh bakteri dan bermigrasi kearah bakteri atas tarikan fMLP (N-formyl-methionine-leucin-phenylalanine), yaitu rantai peptida yang diproduksi oleh beberapa bakteri.

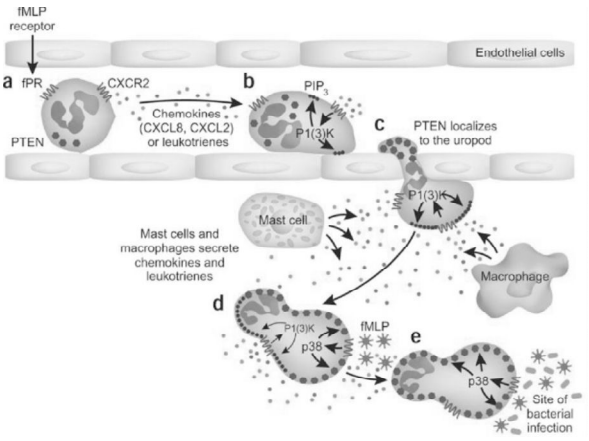
Fungsi Netrofil: Netrofil yang matang merupakan sel yang sangat spesial untuk memusnahkan mikroorganisme melalui tahapan aktifitas sebagai berikut: Adherence, Kemotaksis, Pagositosis, Aktifitas mikrobisidal

2) Interleukin 8 (IL-8)

IL-8 adalah kemokin yang di produksi oleh makrofag dan limfosit, netrofil, fibroblas dan sel epitel sebagai respon inflamasi, Juga di sintesa oleh sel endothelial, yang menyimpan Il-8 di dalam *the Weibel-Palade bodies*. Pada manusia protein Il-8 dikode oleh gen Il-8, merupakan mediator penting pada reaksi imun pada respon system imun bawaan.

Fungsi :

Fungsinya sebagai kemoatraktan dan juga factor angiogenik yang kuat. Secara in vitro, IL-8 mempengaruhi sistem penghancuran respirasi sel, pelepasan granula dan kemotaksis netrofil melalui matriks ekstraseluler Disamping itu, endogenous IL-8 yang disekresikan oleh lapisan sel endothelial membantu migrasi netrofil transendotelial. Fungsi utama Il-8 adalah menginduksi kemotaksis sel target (netrofil granulosit). Fungsi utama Il-8 adalah merekrut netrofil untuk fagositosis antigen yang menstimuli toll-like receptors.



Gbr 1. : Pathway kemotaksis Netrofil (a) Netrofil dalam pembuluh darah merespon stimulasi kemokin (CXCL8) dan menempel ke endotelium, fPR (formil peptide reseptor). (b) reseptor kemokin mengaktivasi PI(3)K menghasilkan PtdIns(3,4,5)P_3(PIP) ke sisi bagian depan dan PTEN ke bagian belakang sel.© Netrofil ekstravasasi kedalam jaringan terinfeksi dengan arahan dari PtdIns(3,4,5)P3.(d,e) Setelah memasuki jaringan terinfeksi netrofil kemotaksis kearah kemoatraktan target akhir (fMLP) dan mengabaikan sitokin dan leukotrienes disekitar daerah infeksi yang berasal dari mast sel dan makrofag. Stimulasi fPR mengaktivasi p38, mendistribusi ulang PTEN kembali ke dalam sel dan menghilangkan polaritas sel dari PtdIns (3,4,5)P3 dan mengembalikan arah netrofil ke infeksi bakteri.

Patogenesis Periodontitis Agresif

Patogenesis periodontitis menurut sistem biologis dapat dijelaskan dari berbagai aspek seperti Komponen bakteri, Faktor-faktor lingkungan, Hubungan Variasi genetik- inang dengan penyakit.

Biofilm plak dan respon tubuh yang terkait, bertanggung jawab terhadap pathogenesis periodontitis. Data terbaru menyatakan bahwa sekelompok bakteri Gram negative, anaerobik atau mikroerofilik didalam biofilm seringkali dikaitkan dengan inisiasi dan progesi periodontitis. Mikro-organisme yang erat dikaitkan sebagai etiologi adalah Porphyromonas gingivalis, *Actinobacillus actinomy-cetemcomitans*, *and Bacteroides forsythus*. Serangan bakteri berupa antigen, lipopolisakarida (LPS) dan faktor-faktor virulen lainnya merangsang respon tubuh mengakibatkan dimulainya penyakit yang terbatas pada gingiva disebut gingivitis sebagai awal dari periodontitis. Serangan bakteri ini di respon oleh tubuh yang bermaksud sebagai pertahanan, yang diawali dengan merekrut netrofil, produksi *antibody* dan sitokin anti inflamatori antara lain *transforming growth factor-β* (TGF-β), interleukin-4 (IL-4), IL-10, and IL-12.

Respon tubuh yang berkelanjutan disebabkan oleh karena serangan bakteri yang persisten mengacaukan mekanisme homeostatik sehingga dikeluarkan mediator-mediator sitokin pro-inflammatori (e.g., IL-1, IL-6, tumor necrosis factor-α [TNF-α]), proteases (e.g., matrix metalloproteinases), dan prostanoids (e.g., prostaglandin E2 [PGE2]) yang dapat meningkatkan destruksi matriks extraselular gingiva dan merangsang resorpsi tulang.

Kerangka Pemikiran

Kehadiran bakteri *Actinobacilus actinomi-cetemcomitans* (Aa) yang memproduksi metabolit formyl Methionyl Leucyl Phenylalanine (fMLP) yang merupakan chemoattractant kuat dan aktivator pagositosis PMN dan Monocuclear, akan direspon oleh reseptor formil peptide (FPR) pada membran sel PMN netrofil yang merupakan reseptor G protein-coupled yang memiliki tujuh transmembran hidrofobik, penempelan ligan (fMLP) pada FPR akan mengaktivasi berbagai ensim efektor dari hetero-trimetrik G-protein meliputi phospholipase C (PLC), katalisasi phosphatidylinositol 4,5-biphosphate menjadi messengers sekunder inositol 1,4,5-triphosphate dan diacylglycerol mengaktivasi protein kinase C (PI-3 kinase) dan membuka saluran calcium, yang diperlukan untuk aktivasi reseptor Il-8. Ligasi FPR juga memberi sinyal ke small G protein Cdc42 (GTPase dari Rho family) melalui pathway yang mengaktivasi Rac- dan ARP2/3 membuka jalan untuk nukleasi actin. Kulminasi dari sinyal-sinyal tersebut menstimulasi perubahan morfologik dan biokimiawik termasuk polarisasi sitoskeletal actin, aktivasi berbagai integrin dan mengarahkan migrasi. Sinyal FPR juga memicu produksi metabolit superoksid dan asam arakhidonat dan mempengaruhi degranulasi. Keadaan ini melancarkan daya pagositik lekosit ke arah lokasi sekuester dan merusak mikroorganisme yang berinvasi. Adanya polimorfisme gen FPR menyebabkan kemotaksis Netrofil PMN terganggu karena formil peptida yang jumlahnya akan bertambah banyak pada keadaan infeksi tidak direspon dengan baik, begitu pula sintesa kemokine Il-8 akan terganggu sehingga netrofil gagal mencapai tempat beradanya bakteri, dan -

inflamasi terus berlanjut. Pada saat bersamaan Lipopolisakarida (LPS) juga dilepaskan oleh bakteri Aa yang diperantarai oleh Lipopolisakarida Binding Protein (LBS) akan menempel pada reseptor CD14 menstimuli aktivitas makrofag untuk memproduksi berbagai sitokin (IL-1ß), prostanoid (PGE_2) dan Matriks Metalo Proteinase (MMPs) lebih banyak, sitokin-sitokin proinflamatori ini akan mengaktifasi osteoklas sehingga terjadi resorpsi tulang Alveolar dan juga destruksi jaringan ikat gusi sehingga terjadi kehilangan perlekatan epitel gusi. Disamping itu PGE2 mengatur permeabilitas pembuluh darah dan menghambat agregasi trombosit sehingga terjadi perdarahan gusi.

Berkurangnya kadar IL-8 akan mengacaukan komunikasi inter sel diawal proses inflamasi sehingga fungsi kemotaksis PMN terganggu dan akan berakibat proses inflamasi terus berlanjut, mempercepat terjadinya destruksi jaringan secara berlebihan pada periodontitis Agresif.

METODE

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik kasus-kontrol dengan variabel outcome numerik.

Identifikasi Variabel

Variabel Bebas : Kadar IL-8
Variabel Terikat : Periodontitis Agresif

Bahan/Subjek/Objek Penelitian

Populasi penelitian adalah seluruh subjek dengan gejala periodontitis agresif di kota Bandung, dan populasi terjangkau adalah pasien yang datang ke poliklinik gigi Rumah Sakit Gigi dan Mulut (RSGM) dan Rumah Sakit Hasan Sadikin (RSHS).

Sebelum penelitian di mulai, pada setiap pasien yang datang ke poli gigi RSGM dan RSHS yang berumur 14 – 40 tahun dilakukan pemeriksaan pendahuluan untuk menentukan diagnosa periodontitis agresif atau bukan periodontitis agresif, yang memenuhi kriteria penelitian, yang terdiri dari pemeriksaan klinis kehilangan perlekatan daerah proksimal gigi Insisif dan Molar pertama, dilanjutkan dengan pemeriksaan radiografik periapikal untuk menentukan resorpsi tulang alveolar pada regio tersebut. Subjek penelitian adalah pasien poliklinik RSGM dan RSHS dengan diagnosa Periodontitis agresif sebagai kasus penelitian dan bukan periodontitis agresif sebagai kontrol yang memenuhi kriteria inklusi dengan besar sampel minimal.

Kriteria Inklusi

Periodontitis Agresif:

1. Pasien umur 14-30 tahun
2. Terdapat Probing Depth (PD) ≥4mm di interdental (min 4 gigi termasuk gigi I dan M1)
3. Terdapat resorpsi arch shape tulang interdental regio I dan M
4. Kesehatan umum baik

Bukan periodontitis agresif

1. Pasien umur 20-40 tahun
2. Terdapat PD≥4mm pada gigi (regio gigi tidak spesifik)
3. Terdapat resorpsi horizontal tulang interdental
4. Kesehatan umum baik

Kriteria ekslusi

1) Menderita penyakit sistemik (DM, HIV, dll)
2) Wanita hamil/menyusui
3) Merokok
4) Mengkonsumsi obat-obatan dalam jangka panjang

Pemilihan sampel

Sampel penelitian adalah pasien-pasien periodontitis agresif yang berobat ke RSGM dan RSHS Bandung yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria ekslusi. Sampel penelitian diambil berdasarkan kedatangan pasien (*consecutive sampling from admissions*) sampai ukuran sampel terpenuhi.

Cara Kerja

1. Persiapan Penderita Sebelum Penelitian
   Sebelum melakukan penelitian, rancangan penelitian diajukan ke Komite Etik Penelitian Kesehatan (*Ethycal clearance*). Penderita yang memenuhi criteria inklusi dan telah menerima penjelasan dan menandatangani lembar *informed consent* dimasukkan dalam penelitian. Data yang dicatat meliputi nomor catatan medis, nama, usia, jenis kelamin, pekerjaan, alamat, kapan mulai timbulnya keluhan, ada tidak riwayat keluarga dengan keluhan yang sama, riwayat perawatan sebelumnya, alasan datang berobat. Dilanjutkan dengan pemeriksaan klinis Probing Depth, radiografis dental foto region yang terkena saja.
   Sampel penelitian diambil berdasarkan urutan kedatangan pasien (*concecutive sampling from admissions*) sampai ukuran sampel terpenuhi, kemudian dibagi kedalam dua kelompok yaitu:
   Kelompok I: Pasien dengan Periodontitis Agresif
   Kelompok II: Pasien dengan bukan Periodontitis gresif.

Prosedur pengambilan bahan penelitian

1. Pengambilan cairan sulkus gusi
   Pengambilan cairan sulkus gusidilakukan dengan cara memasukkan 8 buah paper point selama 20 detik kedalam sulkus gusi gigi yang dipilih, yang mempunyai PD ≥3mm untuk mengukur kadar IL-8 dengan Elisa
   1) Analisis kadarInterleukin-8
      Analisis kadar Interleukin-8menggunakan metode ELISA, dengan reagen Human Interleukin-8
      (1) Preparasi Reagen

      Wash Buffer (1x)
      » Siapkan wash buffer concentrate (20x) 25 ml
      » Tambahkan akuades 475 ml
      » Campur dengan baik (jangan sampai berbusa)

Assay Buffer (1x)
» Siapkan Assay buffer concentrate (20x) 5 ml
» Tambah akuades sampai 100 ml
» Campur dengan baik

Biotin-Conjugate
» Buat pengenceran 1: 100 dari cairan Biotin-Conjugate dengan assay buffer (1x)
» Ambil 0.06 ml Biotin-Conjugate
» Campurkan dengan 5.94 ml Assay Buffer (1x), lalu vortex

Streptavidin-HRP
» Buat pengenceran 1:200 dari cairan konsentrat Streptavidin-HRP dengan assay buffer(1x)
» Ambil 0.06 ml Streptavidin-HRP
» Campurkan dengan 11.94 ml Assay Buffer (1x), lalu vortex

(2) Pengenceran Human IL-8/NAP-1 Standar
Konsentrat Human IL-8/NAP-1 Standar diencerkan dengan Assay Buffer (1x) 1:50, dimana 20 ul konsentrat Human IL-8/NAP-1 Standar dilarutkan dengan 980 ul Assay Buffer, campurkan dengan pelan-pelan (Konsentrasi standar = 2000 pg/ml)

(3) Pembuatan Larutan standar
» Siapkan 7 tabung kosong dan beri label S1, S2, S3, S4, S5, S6, dan S7
» Siapkan pengenceran larutan 1:2 untuk kurva standar, sebagai berikut:
Pipet 225 ul Sampel diluen ke dalam setiap tube. Pipet 225 ul standar yang sudah diencerkan (kon4sentrasi = 2000 pg/ml) ke dalam tabung S1, lalu campur (konsentrasi standar 1 = 1000 pg/ml). Pipet 225 ul dari pengenceran tabung S1 ke dalam tabung kedua (S2), dan campurkan dengan baik sebelum dipindahkan ke tabung berikutnya.Ulangi urutan pengenceran sampai tabung S7 untuk membuat kurva standar.Sampel diluen digunakan sebagai blanko.

(4) Prosedur kerja:
1. Tentukan angka dari microwell strip yang disediakan
2. Cuci microwell strip dengan wash buffer sebanyak 2x
3. Pipet 100 ul larutan standar ke dalam microwell strip
4. Tambah 100 ul Sampel diluen, lakukan duplo. Untuk blanko well
5. Masukkan 50 ul Sampel diluen untuk sampel well, lakukan duplo
6. Siapkan Biotin-Conjugate
7. Tambah 50 ul Biotin-conjugate ke semua well
8. Tutup microwell strip, inkubasi selama 2 jam di suhu ruangan (180 – 250C)
9. Siapkan Streptavidin-HRP
10. Kosongkan dan cuci microwell strip sebanyak 3x dengan wash buffer
11. Tambah 100 ul Streptavidin-HRP yang telah diencerkan ke semua well
12. Tutup microwell strip, inkubasi selama 1 jam di suhu ruangan (180 – 250C)
13. Kosongkan dan cuci microwell strip sebanyak 3x dengan wash buffer
14. Tambah 100 ul TMB Substrat Solution ke semua well
15. Inkubasi microwell strip selama 10 menit di suhu ruangan (180 – 250C)
16. Tambah 100 ul Stop Solution ke semua well
17. Masukkan ke dalam microwell reader dan ukur intensitas warna pada 450 nm

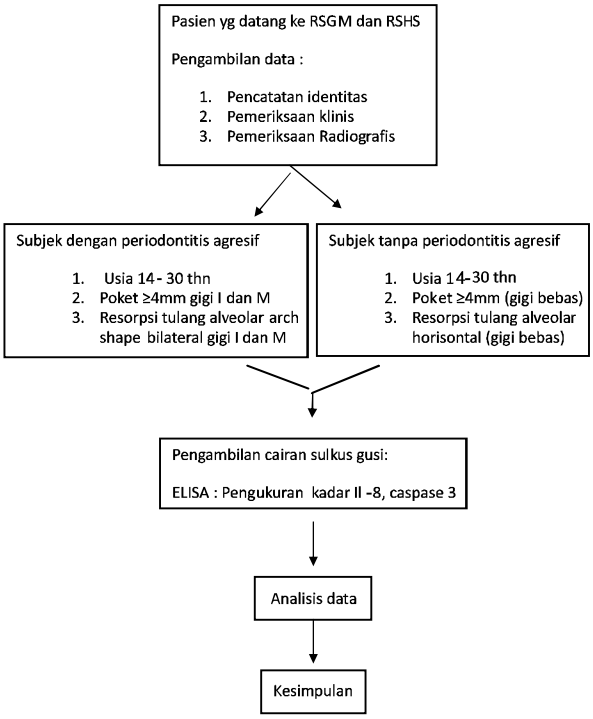
Rancangan analisis data

Uji Chi kuadrat : untuk menganalisis kadar IL-8 pada periodontitis agresif dan non periodontitis agresif. Kemaknaan hasil uji ditentukan berdasarkan nilai p <0,05.

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Rumah Sakit Gigi dan Mulut FKG UNPAD dan Rumah Sakit Hasan Sadikin, Laboratorium Unit Penelitian Kesehatan FKUP untuk pemeriksaan kadar IL-8.

Alur Kerja Penelitian



HASIL DAN PEMBAHASAN

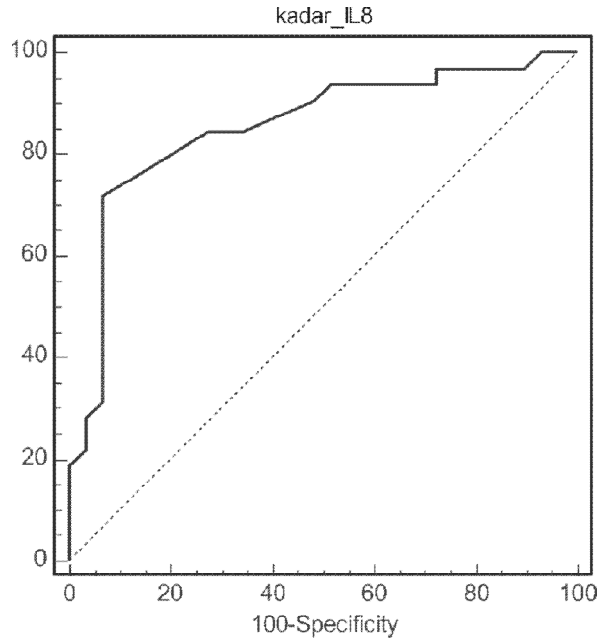
Tabel 4.1 Kadar Interleukin-8 (IL-8) Pada Kedua Kelompok Penelitian

VARIABEL	KELOMPOK PA (n= 32)	KELOMPOK NPA (n=29)	NILAI p*)
Kadar IL-8 (pg/µl)			<0,001
Rerata (SD)	0,07053 (0,48761)	0,12938(0,113063)	
Median	0,062	0,06900	
Rentang	0,051- 0,335	0,560- 0,476	

*Keterangan: PA-Periodontitis Agresif, NPA= Non Periodontitis Agresif *) dihitung berdasarkan uji Mann-Whitney*

Hasil analisis uji beda dengan Mann-Whitney menunjukkan ada perbedaan kadar IL-8 yang sangat bermakna antara kelompok PA dengan NPA (p<0,001); pada kelompok PA rata-rata maupun median kadar IL-8 nya lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok NPA.

Berdasarkan adanya perbedaan kadar IL-8 ini, dilakukan Uji diagnostik untuk menentukan odds ratio dan *Receiver Operating Characteristics* (ROC), maka diperoleh besarnya cut off berdasarkan kurva (ROC) untuk kadar IL-8 adalah ≤0,064 pg/µl (lihat kurva berikut)



Gambar 4.1. Titik Potong kadar Interleukin 8

Pada Gambar 1 tampak bahwa titik potong untuk kadar interleukin 8 pada kelompok penelitian ini adalah 0,064 pg/µl, hal ini berarti kadar IL-8 ≤0,064 pg/µl adalah keadaan tidak normal (*false negative*) dan kadar IL-8 ≥0,064 pg/µl adalah keadaan normal (*false positive*).

Tabel 4.2 Kadar Interleukin 8 (IL-8) Berdasarkan Nilai Titik potong

VARIABEL	KELOMPOK		NILAI p	OR (IK 95%)
	PA (n= 32)	NPA (n=29)		
Ka dar IL -8 (pg/µl)				
≤ 0,064	23	2	**<0,001**	34,5 (6,7 0 6 - 76,081)
> 0,064	9	27		

Keterangan: PA-Periodontitis Agresif, NPA= Non Periodontitis Agresif. Nilai p dihitung berdasarkan uji Chi-Kuadrat

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa jika terdapat kadar IL-8 ≤0,064 pg/µl maka Periodontitis Agresif terjadi 34,5 kalinya lebih sering daripada non Periodontitis Agresif.

Hasil analisis uji beda dengan Mann-Whitney menunjukkan ada perbedaan kadar IL-8 yang sangat bermakna antara kelompok PA dengan NPA (p<0,001); pada kelompok PA rata-rata maupun median kadar IL-8 nya lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok NPA.

Hasil penelitian analisis kadar IL-8 pada penelitian ini ditemukan kadar IL-8 yang rendah < 0,0064 pg/µl, secara signifikan berbeda antara penderita PA dan NPA (p=<0,001, OR= 34,5(6,760-176,081) dengan cut of point 0,064pg/µl. IL-8 merupakan salah satu kemoatraktran yang paling penting untuk kemotaksis netrofil. Pada proses kemotaksis ini, IL-8 diperlukan sebagai kemoatraktran endogenous. Zat ini disintesa oleh sel inflamasi dan non inflamasi inang sebagai respon terhadap berbagai rangsangan, sehingga kadarnya akan meningkat pada daerah yang terinflamasi. Kurva ROC untuk kadar IL-8 terlihat PA lebih banyak yang berada di bawah titik potong (23 dari 32 subjek), dan pada kelompok NPA banyak berada di atas titik potong (27 dari 29 subjek). Pada NPA banyaknya kadar IL-8 sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa proses inflamasi di mulai dengan kehadiran bakteri patogen yang berada pada sulkus gusi merangsang sel epitel gusi untuk memproduksi IL-8 sebagai kemoatraktan yang memicu netrofil untuk berkemotaksis ke arah daerah yang terinfeksi.

Selain itu IL-8 juga diproduksi oleh monosit dan makrofag sehingga kadar IL-8 berlimpah pada daerah infeksi. Seperti hasil penelitian Ertugrul 2012, yang menemukan kadar IL-8 yang lebih tinggi pada Periodontitis Agresif dibandingkan dengan periodontitis kronis dan sehat. Adapun penelitian Ladez 2014 menunjukkan kadar IL-8 pada Periodontitis Agresif tidak berbeda dengan pada periodontitis kronis maupun sehat.

Secara fungsional IL-8 dibagi menjadi dua, yaitu sebagai homeostatik dan inflamatori, oleh karena IL-8 bertindak sebagai pembawa pesan untuk proses2 biologik lainnya seperti angiogenesis, proliferasi sel, apoptosis, metastasis tumor dan pertahanan tubuh. Kadar IL-8 yang rendah pada Periodontitis Agresif ini diduga oleh karena keterlibatan bakteri Aa yang memproduksi leukotoxin yang dapat menyebabkan nekrosis atau apoptosis sel netrofil18, sejalan dengan proses ini netrofil akan memsekresikan Human Netrofil Elastase (HNE) sehingga pada daerah yang terinfeksi akan terjadi proteolisis yang diantaranya dapat mengubah molekul awal IL-8 menjadi fragmen-fragmen kecil yang tidak dapat dideteksi, disamping itu adanya keterlibatan bakteri p.gingivalis yang dapat menghambat sel epitel untuk memproduksi IL-8. Akan tetapi dengan mengamati hasil berbagai penelitian yang menyatakan bahwa IL-8 berperan sebagai kemoatraktran endogenous pada kemotaksis netrofil, dan .IL-8 merupakan sitokin kemotaktik yang mempunyai peranan penting dalam migrasi sel netrofil kearah daerah yang terinfeksi, maka hasil penelitian yang menunjukkan penurunan kadar IL-8 ini, sangat mendukung untuk membuktikan bahwa pada Periodontitis Agresif terjadi penurunan daya kemo-taksis netrofil.

SIMPULAN

1. Kadar IL-8 pada Periodontitis Agresif adalah 0,07053 (0,48761) pg/µl dan pada non periodontitis agresif adalah 0,12938(0,113063) pg/µl
2. Kadar IL-8 pada pada Periodontitis Agresif lebih -

rendah daripada non periodontitis agresif. (p= 0,0001)

SARAN:

Perlu kajian lebih lanjut mengenai efek penurunan kadar IL-8 ini terhadap fungsi kemotaksis netrofil melalui pemeriksaan daya kemotaksis netrofil.

DAFTAR PUSTAKA

Newman M T, HH., Klokkevold PR. *Carranza's Clinical Periodontology*. tenth ed. St.Louis Missouri: Saunders Elsevier; 2006.

Quirynen M TW HS, Newman MG. *Carranza's Clinical Periodontology*. 10th ed ed. St.Louis,Missouri: Saunders Elseiver; 2006.

Noack B H, T.. 2004;1(4):335-44. *Aggressive Periodontitis*. Perio 2004. 2004;1(4):335-44.

Setiawati E. *Efek sitoproteksi Minosiklin pada epitel gingiva yang dipicu toksin bakteri Actinobacillus Actinomycetemcomitans serotipe B(Penelitian eksperimental pada mencit Mus Musculus)*. in Post Graduate Airlangga University2009.

Rusyanti Y DD. *Gambaran Periodontitis Agresif di Klinik Kerja Mahasiswa FKG UNPAD Bandung*. Universitas Padjadjaran 2010.

Van Dyke T E, Hoop,G.A. *Neutrophyl function and oral disease*. CritRevOral BiolMed. 1990;1:117-30.

Van Dyke T LM, Tabak LL, Genco RJ. *Reduced chemotactic peptide binding in juvenile periodontitis: A model for neutrophyl function. Biochem Biophys Res Commun*. 1981;100:1278-84.

Page RCK KS. *The pathogenesis of human periodontitis: an introduction*. Periodontol 2000. 1997 Jun(14):9-11. Epub Epub 1997/06/01. eng.

Page RC OS, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. *Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions*. Periodontol 2000. 1997 Jun;14:216-48. Epub 1997/06/01. .

Kumar V A, A.K.,Fausto,N. *PATHOLOGIC BASIS OF DISEASE. dalam: Cotran Ra,* editor. Edisi 7th ed. Philadelphia, Pennsylvania: Elseiver Saunders; 2005.

Gainet J DP C-MS, Brion M, Sixou M, Hakim J, Gougerot-Pocidalo MA, Elbim C. *Neutrophil dysfunctions, IL-8, and soluble L-selectin plasma levels in rapidly progressive versus adult and localized juvenile periodontitis: variations according to disease severity and microbial flora*. Journal Of Immunology (Baltimore, Md: 1950). 1999 163(9):5013-9. Epub Nov 1.

Tsikitis VL aa. *Beta-glucan affect leukocyte navigation in a complex chemotactic gradient. Surgery*. 2004 Aug;136(2):384-9.

Kohidal L C, G. *Chemotaxis and chemotacticselection induced with cytokines (Il-8,RANTES and TNF alpha) in the unicelluler Tetrahymena pyriformis. Cytokine*. 1988;10(7):481-6.

MM T. *Early-onset periodontitis*. Ann Periodontol 1999;4:39-53.

I I. *Host responses in periodontal diseases: a preview*. Periodontol 2000. 2007;43:9-.

Ladez M, Fakour, SR., Karbasi M. *Evaluation of IL-8, 12 & 33 serum level in patient with chronic periodontitis, aggressive periodontitis and healthy subjects*. Life Science Journal 2014;9(4):111-7.

Cekici A, Kantarci,A., Hasturk,H., Van Dyke,T.E. *Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease*. Periodontology 2000. 2014;64:57-80.

lally ET HR, Kieba IR, Korostoff J. *The Interaction between RTX toxin and target cells. Trends Microbiol*. 1999;7:356-61.

Leavell KJ aa. *Human neutrofil elastase abolisehes interleukin-8 chemotactic activity*. J Leukoc Biol. 1997 Mar;61(3):361-6.