

Peran **biomarker** saliva dalam deteksi penyakit mulut menggunakan nanoteknologi sebagai metode yang menjanjikan

Dewi Zakiawati^{1*}, Irna Sufiawati¹

¹Departemen Ilmu Penyakit Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran, Indonesia

*Korespondensi: e-mail: dewi.zakiawati@fkg.unpad.ac.id

Submisi: 30 Januari 2020; Penerimaan: 31 Agustus 2020; Publikasi online: 30 April 2021

DOI: [10.24198/pjdrs.v4i1.25998](https://doi.org/10.24198/pjdrs.v4i1.25998)

ABSTRAK

Pendahuluan: Saliva merupakan zat kaya *biomarker* yang sering digunakan sebagai indikator kesehatan tubuh. Saliva menunjukkan keadaan infeksi, status hormonal, imunologi, nutrisi, metabolisme, bahkan keganasan. Saat ini perkembangan alat diagnostik mengarah pada nanoteknologi, yang populer karena menawarkan prosedur non-invasif, akurat, dan efisien. Evaluasi terhadap deteksi penyakit mulut menggunakan saliva sebagai *biomarker*, khususnya yang menggunakan teknologi nano perlu dilakukan guna mengetahui sejauh mana metode tersebut membantu dalam ketepatan diagnosis penyakit mulut. Penelitian ini bertujuan untuk membahas peran *biomarker* saliva dalam mendeteksi penyakit mulut dengan metode nanoteknologi. **Metode:** Jenis penelitian *systematic review*. Pencarian *research gap* menggunakan strategi PICO. *PubMed database* digunakan untuk pencarian artikel penelitian, dan kata kunci yang digunakan berdasarkan MeSH. Pelaporan hasil riset *systematic review* menggunakan panduan PRISMA. Penilaian kualitas artikel dianalisis menggunakan QUADAS. **Hasil:** Deteksi penyakit mulut menggunakan *biomarker* saliva merupakan alternatif metode non-invasif, selain itu, dengan teknologi nano memperlihatkan hasil yang akurat dalam waktu singkat. Penyakit gigi dan mulut, baik kelainan genetik maupun patogenik, bersifat lokal maupun sistemik, dapat berkembang menjadi kelainan yang mengancam jiwa. Kondisi ini membutuhkan investigasi yang cepat, salah satu caranya adalah dengan mengoptimalkan peran pemeriksaan *biomarker* saliva menggunakan nanoteknologi. **Simpulan:** Penerapan nanoteknologi menggunakan *biomarker* saliva merupakan pilihan metode yang menjanjikan sebagai alat diagnostik baik di riset maupun klinis, khususnya dalam deteksi penyakit mulut.

Kata kunci: Alat diagnostik, *biomarker*, nanoteknologi, penyakit mulut, saliva.

Role of salivary biomarkers in the detection of oral diseases using nanotechnology as a promising method

ABSTRACT

Introduction: Saliva is a biomarker-rich substance often used as a health indicator of the human body. Saliva shows the state of infection, hormonal status, immunology, nutrition, metabolism, even malignancy. Currently, the development of diagnostic tools leads to nanotechnology, which is popular due to the non-invasive, accurate, and efficient procedures. Evaluation of the detection of oral diseases using saliva as a biomarker, especially those using nanotechnology, needs to be done to determine how this method helps in the accuracy of the diagnosis of oral diseases. This study was aimed to discuss the role of salivary biomarkers in the detection of oral diseases using nanotechnology methods. **Methods:** type of research is systematic review. Exploration for research gaps were using the PICO strategy, research articles were collected from Pubmed database, and keywords were determined based on MeSH. The results were reported using the PRISMA guidelines, and the quality of the articles was analysed using QUADAS. **Results:** Detection of oral diseases using salivary biomarkers was an alternative non-invasive method. Additionally, along with nanotechnology enable to show accurate results in a short time. Oral diseases, both genetic and pathogenic, occur locally or systemically and can develop into a life-threatening condition. This situation requires rapid investigation; one of the ways is by optimising the role of salivary biomarker assessment using nanotechnology. **Conclusion:** The application of nanotechnology using salivary biomarkers is a promising method option as a diagnostic tool in both research and clinical utility, especially in the detection of oral diseases.

Keywords: Diagnostic tools, *biomarker*, nanotechnology, oral disease, saliva.

PENDAHULUAN

Saliva merupakan salah satu cairan tubuh yang sering digunakan sebagai alat diagnostik. Berabad-abad yang lalu, penduduk Cina menggunakan saliva untuk menentukan apakah seseorang dinyatakan bersalah atau tidak atas dakwaan yang ditujukan kepadanya.¹ Terobosan penelitian mengenai saliva tercatat pada tahun 1960-an dimana peningkatan kadar kalsium terdeteksi melalui saliva pada pasien sistik fibrosis.² Sejak saat itu lah penggunaan saliva sebagai sumber biomaterial untuk diagnostik penyakit terus berkembang.

Kemajuan riset telah memperlihatkan bahwa saliva dapat menunjukkan kelainan metabolismik (contohnya diabetes tipe 2), serta berfungsi sebagai biomarker penyakit rongga mulut, seperti karies, penyakit periodontal, kondisi imunologi (pada kondisi autoimun, misalnya *Systemic Lupus Erythematosus* (SLE) dan sjogren sindrom),³ keadaan infeksi, contohnya pada HIV dan hepatitis, ataupun keganasan (misalnya kanker payudara dan kanker rongga mulut). Hal tersebut dikarenakan pada saliva dapat terdeteksi unsur-unsur penting di dalam tubuh, seperti hormon (kortisol, testosteron, progesteron), mikronutrien, seperti vitamin atau mineral, dan juga obat-obatan (antara lain antibiotik, antikonvulsan, dan steroid).^{4,5,6}

Sebagai material diagnostik, saliva menawarkan beberapa kelebihan dibandingkan dengan serum. Beberapa diantaranya mudah dilakukan tanpa memerlukan tenaga ahli, dan relatif lebih aman/tidak invasif. Abad ke-21 melahirkan kemutakhiran alat diagnostik menggunakan saliva yang mengarah pada teknologi nano. Metode ini populer karena menawarkan prosedur yang tidak hanya non-invasif, tetapi juga cepat dan akurat, sehingga baik untuk diagnosis dan monitoring penyakit.^{4,5,7} Walaupun teknologi nano sangat menjanjikan, dan semakin banyak penelitian di bidang tersebut, akan tetapi belum banyak dilakukan penilaian terhadap proses dan outputnya, serta belum disepakati standar alat maupun metodologinya, sehingga implikasi klinis dari berbagai temuan riset tersebut belum dirasakan di masyarakat.⁸

Evaluasi terhadap hasil pemeriksaan mineral menggunakan saliva dengan teknologi nano perlu dilakukan guna mengetahui sejauh mana hasil deteksi tersebut dapat dipertanggungjawabkan dan kemungkinan pengembangan metode tersebut di

masa depan perlu dilihat lebih lanjut. Penelitian ini bertujuan untuk membahas peran biomarker saliva dalam mendeteksi penyakit mulut dengan metode nanoteknologi.

METODE

Penelitian ini diawali dengan pencarian *research gap* yang disusun menggunakan strategi PICO (*Patient or Problem, Intervention, Control or comparison, and Outcome*).⁹ Artikel pada penelitian ini didapatkan dari portal PubMed database, menggunakan kata kunci yang terdapat dalam *Medical Subject Headings* (MeSH). Kata kunci yang digunakan adalah (((“nano”[Journal] OR “nano”[All Fields]) AND (((“technology”[MeSH terms] OR “technology”[All Fields]) OR “technologies”[All Fields]) OR “technology s”[All Fields])) AND (((((“mouth diseases”[MeSH terms] OR (“mouth”[All Fields] AND “diseases”[All Fields]))) OR “mouth diseases”[All Fields]) OR (“oral”[All Fields] AND “disease”[All Fields])) OR “oral disease”[All Fields])) AND (((((“saliva”[MeSH terms] OR “saliva”[All Fields]) OR “salivas”[All Fields]) OR “saliva s”[All Fields]) AND (((“biomarker s”[All Fields] OR “biomarkers”[MeSH terms]) OR “biomarkers”[All Fields]) OR “biomarker”[All Fields]))

Metode PRISMA¹⁰ digunakan untuk mengidentifikasi dan menyaring tulisan, serta melaporkan hasil penelitian *literature review* secara sistematis. Metode ini dilakukan untuk mendapatkan artikel yang sejalan dengan tujuan penelitian. Penilaian artikel dilakukan menggunakan instrumen evaluasi kualitas riset diagnostik yang disebut dengan *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies* (QUADAS),¹¹ karena akurasi dan efektifitas hasil pemeriksaan tersebut sangat penting dalam pengembangan alat saliva diagnostik—untuk deteksi penyakit mulut.

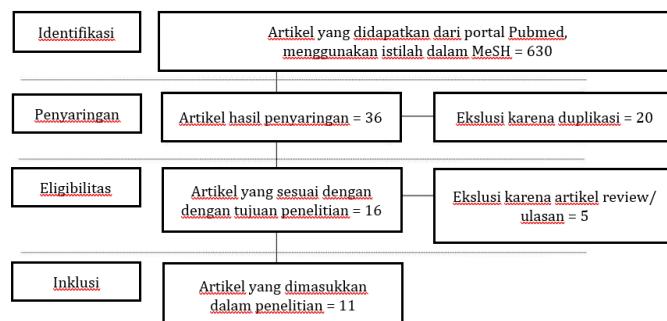
HASIL

Deskripsi lengkap mengenai metode PICO yang digunakan disajikan secara rinci pada Tabel 1. Artikel yang membahas mengenai deteksi penyakit mulut berjumlah 630, namun artikel yang melaporkan deteksi menggunakan saliva dan teknologi nano hanya berjumlah 36 artikel. Setelah duplikasi dan artikel yang bukan riset diagnostik di eksklusi, didapatkan 11 artikel yang dapat dilakukan penilaian (Gambar 1).^{12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22} Informasi mengenai

Tabel 1. Strategi Penyusunan Pertanyaan Penelitian Dengan Metode Pico

Akronim	Definisi	Penjelasan	Deskripsi pada penelitian ini
P	Pasien atau masalah	Dapat berupa pasien, kelompok pasien dengan kondisi tertentu atau permasalahan kesehatan	Penyakit rongga mulut semakin banyak ditemukan, dan dapat berkembang ke arah keganasan. Kebutuhan deteksi penyakit mulut juga semakin besar.
I	Intervensi	Merepresentasikan intervensi yang diinginkan, dapat berupa terapeutik (beberapa obat balutan), prefentif (vaksinasi), prognostik, administratif atau berhubungan dengan isu ekonomi	Menggunakan saliva yang merupakan zat kaya biomarker, dan kombinasi dengan teknologi nano, yaitu metode mutakhir yang dianggap menjanjikan sebagai cara deteksi penyakit.
C	Kontrol atau perbandingan	Standar intervensi, intervensi yang paling banyak dilakukan atau tidak ada intervensi	Tanpa menggunakan saliva, dan tanpa teknologi nano, seperti pemeriksaan darah (invasif) dan genetik (butuh waktu lebih panjang).
O	Hasil	Hasil yang diharapkan	Deteksi penyakit mulut yang lebih akurat, efisian (cepat), dan aman (non-invasif; tidak sakit)

Keterangan: Penjelasan mengenai strategi PICO disusun dari tulisan Santos *et al*⁹



Gambar 1. Flowchart penelusuran literatur

Tabel 2. Data Artikel Yang Digunakan Pada Penelitian Ini

Artikel No.	Penulis	Judul	Tahun Publikasi
1	Jou <i>et al.</i>	<i>S100A8 as potential salivary biomarker of oral squamous cell carcinoma using nanoLC – MS / MS</i>	2014
2	Jokerst <i>et al.</i>	<i>Biosensors and Bioelectronics Nano-bio-chips for high performance multiplexed protein detection : Determinations of cancer biomarkers in serum and saliva using quantum dot bioconjugate labels</i>	2009
3	Patrikidou <i>et al.</i>	<i>Introducing Cytology-Based Theranostics in Oral Squamous Cell Carcinoma : A Pilot Program</i>	2016
4	Zhou <i>et al.</i>	<i>AFM nanoindentation detection of the elastic modulus of tongue squamous carcinoma cells with different metastatic potentials. Nanomedicine Nanotechnology</i>	2013
5	Malhotra <i>et al.</i>	<i>Ultrasensitive Detection of Cancer Biomarkers in the Clinic using a Nanostructured Microfluidic Array</i>	2013
6	Weigum <i>et al.</i>	<i>Nano-bio-chip sensor platform for examination of oral exfoliative cytology</i>	2011
7	Caljon <i>et al.</i>	<i>Description of a Nanobody-based Competitive Immunoassay to Detect Tsetse Fly Exposure</i>	2015
8	Chen and Lin.	<i>Noninvasive measurement of smoking-associated N 3 -ethyladenine and N 7 -ethylguanine in human salivary DNA by stable isotope dilution nanoflow liquid chromatography – nanospray ionization tandem mass spectrometry</i>	2014
9	Tlili <i>et al.</i>	<i>Biosensors and Bioelectronics Label-free , chemiresistor immunosensor for stress biomarker cortisol in saliva</i>	2011
10	Guzman and Sakellari.	<i>High-throughput proteomic analysis of candidate biomarker changes in gingival crevicular fluid after treatment of chronic periodontitis</i>	2018
11	Nassar <i>et al.</i>	<i>Ala, F. Rapid label-free profiling of oral cancer biomarker proteins using nano-UPLC-Q-TOF ion mobility mass spectrometry</i>	2016

sejumlah 11 artikel yang dilibatkan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil penilaian kualitas artikel menggunakan protokol QUADAS seperti tampak pada Tabel 3.

Protokol ini terdiri dari 14 pertanyaan dengan pilihan jawaban yaitu Yes/No/Unclear, untuk diaplikasikan pada tiap artikel yang akan dianalisis.⁹ Instrumen ini merupakan adalaha hasil kolaborasi antara *the Centre for Reviews and Dissemination University of York*, dan *the Academic Medical Centre, University of Amsterdam*, yang telah digunakan

secara luas untuk menilai kualitas riset ulasan sistematik, khususnya untuk riset diagnostik, sejak tahun 2003.

Kualitas artikel yang baik ditentukan dengan adanya parameter jumlah total jawaban yaitu Yes (Y) lebih dari 9. Hasil analisis menunjukkan bahwa semua artikel menunjukkan kualitas yang baik, sejumlah

Tabel 3. Kualitas Artikel Berdasarkan Instrumen QUADAS

No	Penulis artikel	Item Pertanyaan QUADAS														Total jumlah 'Ya'
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
1	Jou <i>et al.</i>	Y	N	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	N	UC	10	
2	Jokerst <i>et al.</i>	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	UC	13	
3	Patrikidou <i>et al.</i>	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	14	
4	Zhou <i>et al.</i>	Y	UC	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	UC	12	
5	Malhotra <i>et al.</i>	Y	UC	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	UC	12	
6	Weigum <i>et al.</i>	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	14	
7	Caljon <i>et al.</i>	Y	Y	Y	UC	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	12	
8	Chen and Lin.	Y	Y	Y	UC	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	12	
9	Tlili <i>et al.</i>	Y	Y	Y	N	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	13	
10	Guzman and Sakellari.	Y	UC	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	13	
11	Nassar <i>et al.</i>	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	UC	Y	13	

2 artikel memenuhi semua item pertanyaan dalam QUADAS (artikel no. 3 dan 6), 4 artikel memiliki 13 jawaban "Y" (artikel no. 2, 9, 10, dan 11), 4 artikel memiliki 12 jawaban "Y" (artikel no. 4, 5, 7, dan 8), dan hanya 1 artikel memiliki 10 jawaban "Y" (artikel no. 1).

Pertanyaan yang rata-rata tidak dapat dipenuhi atau tidak disebutkan dengan jelas pada beberapa artikel, yaitu pertanyaan no. 2, 4, 12-14, secara berurutan mengenai kriteria seleksi, periode singkat antara standar referensi dan indeks hasil tes sehingga target tidak berubah kondisi, ketersediaan data klinis sebagai interpretasi hasil pemeriksaan, adanya keterangan mengenai hasil tes sementara ataupun yang gagal diinterpretasikan, serta penjelasan mengenai adanya subjek yang mengundurkan diri dari penelitian. Berdasarkan analisis yang dilakukan terhadap hasil penelitian pada

sebelas artikel yang dipaparkan di atas, dapat dilihat bahwa pemeriksaan nanoteknologi menggunakan *biomarker* saliva dapat direkomendasikan, serta teruji keilmiahannya. Dengan demikian deteksi penyakit mulut menggunakan *biomarker* saliva layak dikembangkan dalam bidang riset maupun diaplikasikan secara klinis.

Saliva mengandung *biomarker* yang bervariasi, sehingga menunjukkan sensitivitas dan spesifitas tinggi, serta menawarkan alternatif metode non-invasif. Pemeriksaan saliva dengan nanoteknologi juga berhasil memperlihatkan hasil yang akurat dalam waktu singkat. Tabel 4 menunjukkan tahap lanjutan penelitian, yaitu memaparkan hasil penelitian dan simpulan dari setiap artikel yang melakukan penelitian mengenai saliva sebagai *biomarker* penyakit mulut dan menggunakan nanoteknologi.

Tabel 4. Data Hasil Dan Simpulan Artikel Yang Meneliti Saliva Sebagai Biomarker Menggunakan Nanoteknologi

Artikel No.	Penulis	Institusi, Negara	Sumber sampel	Jumlah sampel	Nonoteknologi	Biomarker	Simpulan
1	Jou <i>et al.</i>	University of Texas, Amerika Serikat	OSCC, Saliva & serum; sensitivitas sama ($R^2 = 0.94$ and $R^2 = 0.95$)	Jumlah tidak disebutkan dengan jelas; <i>in vitro</i>	Nanoparticle quantum dots (QDs)	<i>Carcinoembryonic antigen</i> (CEA), <i>cancer antigen</i> 125 (CA125), dan Her-2/Neu (C-erbB-2)	Alat yang digunakan sensitif dan sangat penting dalam menunjang proses diagnostik dan prognostik.
2	Jokerst <i>et al.</i>	China Medical University Hospital, Taiwan	Karsinoma Sel skuamosa/Kanker rongga mulut (OSCC), Saliva	135 (35 pasien sehat dan 100 pasien OSCC)	NanoLC-MS/ MS	S100A8 (molekul cytokine-like) dan transcriptional factor-like yang memengaruhi ekspresi TNF- α , interleukin-1, dan MMP; disintesis dan disekresikan oleh granulosit, monosit, dan makrofag, menghambat fosforilasi PIKC-mediated pada p53, mengurangi aktivitas penekanan tumor dengan menekan aktivasi transkripsi <i>p53-dependent</i>)	Metode yang digunakan memberikan hasil yang spesifik dan sensitif sebagai marker untuk mendeteksi OSCC.
3	Patrikidou <i>et al.</i>	Department of Cytopathology Theagenio Cancer Hospital of Thessaloniki, Yunani	OSCC, Brush cytology	99	Nanoteranostik	7 buah marker (EGFR, c-erb-B2, COX-2, PDGF, VEGF, CD117/c-KIT, CD34)	Familii epidermal growth factor receptor (EGFR) dan angiogenic pathway pada OSCC secara signifikan dapat menjadi target terapi.
4	Zhou <i>et al.</i>	Sun Yat-Sen University, China	TSCC (OSCC pada lidah)	4	The Hertzian model untuk mengukur modulus elastisitas pada eksperimen Atomic Force Microscopy (AFM) nanoindentation	E-cadherin dan vimentin	Metode yang dilakukan berpotensi sebagai pengukur tingkat metastasis TSCC.
5	Malhotra <i>et al.</i>	University of Malaya, Malaysia	OSCC	78	<i>Nanostructured Microfluidic Array (Ultraselective electrochemical microfluidic array)</i>	IL-6, IL-8, VEGF dan VEGF-C	Teknologi yang digunakan berbiaya rendah dan mudah dibuat, serta memberikan pilhan tes serum yang cepat untuk diagnosis dan terapi khusus kanker mulut, namun dapat digunakan juga untuk diagnosis klinis kanker lainnya.
6	Weigum <i>et al.</i>	Rice University, Amerika Serikat	OSCC	41	<i>A Nano-Bio-Chip (NBC) sensor technique</i>	EGFR biomarker	Teknik NBC sensor menjalankan sebagai alat diagnostik dini untuk kanker rongga mulut, serta dapat meningkatkan perawatan dan angka harapan hidup pasien.

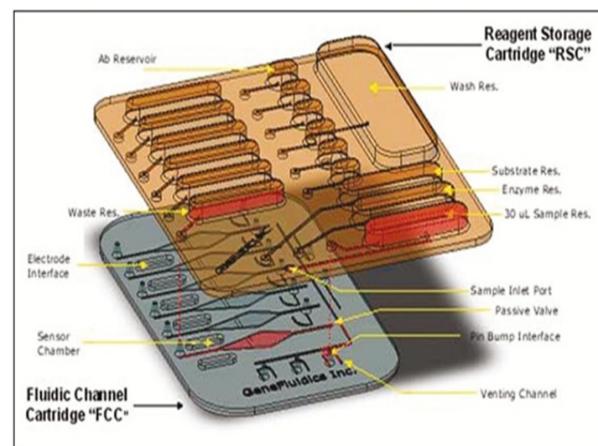
7	Caljon <i>et al.</i> Belgia	Institute of Tropical Medicine Antwerp (ITM),	Plasma dan saliva hewan yang terekspor lalat tsese sebagai vektor trypanosoma	15 plasma (5 kelinci, 10 babi) dan 300 pasang kelenjar saliva	<i>Nanobody-based Competitive Immunoassay</i>	Famili Nb (family III, TsalNb-05 and TsalNb-11)	Test yang digunakan dapat menjadi indikator serologis sederhana namun inovatif untuk deteksi antibodi, dan dapat diaplikasikan pada biomarker saliva lalat tsese lainnya untuk melakukan immunoprofiling pada host.
8	Chen and Lin. Taiwan	National Chung Cheng University,	Saliva subjek sehat perokok dan bukan perokok (<i>oral-rinse</i> dan <i>whole saliva</i> yang dikumpulkan tanpa stimulasi)	15 lelaki perokok dan 15 orang bukan perokok (13 pria dan 2 wanita)	Metode NanoLC-NSI/ MS/MS	<i>Asalivary 7-EtGua</i>	Tingkat salivary 7-EtGua berkorelasi signifikan dengan jumlah rokok yang dihisap per hari dan dengan indeks merokok. Larutan isotop nanoLC-NSI/MS/MS yang spesifik dan sensitif tersebut dapat mengukur 7-EtGua pada DNA saliva manusia dan bertindak sebagai biomarker noninvasif untuk melihat kerusakan DNA akibat merokok.
9	Tili <i>et al.</i>	University of California, CA, Amerika Serikat	Saliva buatan, Cortisol-3-CMO-NHS ester, dan monoclonal antibody anti-cortisol	Jumlah tidak disebutkan dengan jelas; in vitro	Nanotube immunosensor	Analog kortisol [cortisol-3-CMO-NHS ester] dan monoklonal anti-kortisol antibody yang cepat baik dalam dunia klinis maupun riset.	
10	Guzman and Sakellaris.	Texas A&M University, Amerika Serikat	Periodontitis kronis (GCF)	10	<i>Online liquid chromatography-nanoelectrospray-hybrid ion trap-Orbitrap mass spectrometer.</i>	Azurocidin, lysozyme C dan myosin-9	Metode yang digunakan dapat berkontribusi untuk terapi, namun memerlukan uji klinis lebih lanjut.
11	Nassar <i>et al.</i>	Yale university, Amerika Serikat	OSCC, cell lines [S7 [HN12], S8 [HN13], S9 [OSCC-3], S10 [Cal27]] dan sel kanker yang dimatiakan secara spontan serta sel epidermal keratinosit normal (S6 [HaCat])	Jumlah tidak disebutkan dengan jelas; in vitro	Nano-UPLC (<i>ultra-performance liquid chromatography</i>) yang dipasangkan dengan <i>hybrid Q-ToF ion-mobility mass spectrometry</i> (MS).	Metode yang digunakan layak untuk mengidentifikasi dan mengukur protein dalam sampel kompleks tanpa perlu pelabelan isotop yang stabil, serta signifikan untuk diagnosis dan prognosis OSCC.	

Tabel 5. Biomarker Pada Saliva

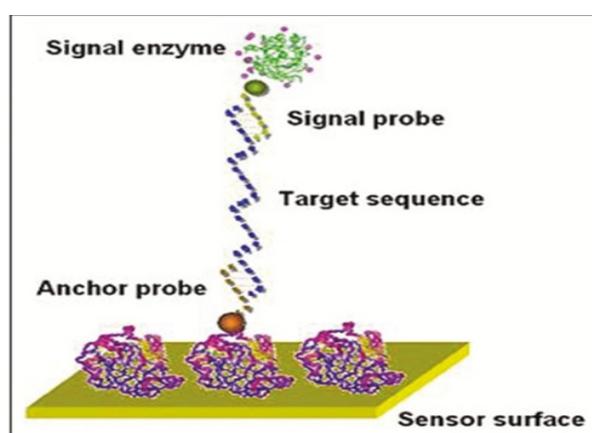
Dental biofilm	Inflamasi	Kerusakan kolagen	Remodeling tulang	Hormon steroid	Kanker Rongga Mulut	Substansi antimikroba	Stres
Immunoglo-bulin (IgA, IgM, IgG)	Beta-glucuronidase	Alpha2-makroglobulin	Alkalin fosfatase	Kortisol	M2BP	Systemic C-reactive protein	Kortisol
Musin	C-reactive protein	MMP-8	Osteoproteerin	Testosteron	MRP14	Salivary chaperon	Dopamin
Lisozim	IL-1 beta	MMP-9	Osteokalsin	DHEA-s	CD 59	H5p70	Nor-epinefrin
Lakoferin	IL-6	Aspartat aminotransferase	SPARC/Osteonektin	Progesteron	Profilin 1	Cystatin-C	Epinefrin
Histatin	MIP-1alpha	Alanin aminotransferase	RANKL	Estradiol	Katalase	Alfa-amilase	
Peroksidase	Tumor necrosis factor-alpha	TIMPs	Beta C-terminal tipe-1 kolagen C-telopeptida piridinolin cross-links dari kolagen tipe 1	Aldosteron		Kalprotektin	
						Protease inhibitor	
						SLPI	
						Defensin	
						Protein kaya prolin	



Gambar 2. Oral Fluid Nanosensor Test Milik University Of California Los Angeles. (Gambar Milik David Et Al.⁷)



Gambar 3. Oral Fluid Nanosensor Test (Ofnaset) Cartridge (Gambar Milik Daniel Et Al^[28])



Gambar 4. Cara Kerja Penanda Genetic Menggunakan Saliva (Gambar Milik Daniel Et Al^[28])

PEMBAHASAN

Sejarah saliva sebagai biomaterial diagnostik

Sejak berabad-abad yang lalu, saliva telah digunakan sebagai indikator kondisi tubuh manusia. Zaman Cina kuno diceritakan bahwa ketidakmampuan atau kesulitan seseorang dalam menelan nasi kering adalah indikasi dari rasa bersalah. Metode ini dikenal dengan sebutan "*The Rice Test*".¹ Hal ini didasari pada gagasan bahwa ketidakmampuan seseorang untuk membentuk bolus dari nasi kering yaitu akibat adanya kecemasan dan mungkin rasa bersalah. Kondisi ini kemudian menghambat produksi saliva yang diperlukan untuk pembentukan bolus makanan dan penelan.

Secara teori, laju aliran saliva pada kelenjar parotis tergantung pada faktor tertentu seperti tingkat kecemasan, kesadaran, kelihian, dan sifat introvert.¹ Dengan demikian, fenomena cerita rakyat ini tampak dari konsep lawas dimana perasaan bersalah merupakan manifestasi kegelisahan, yang sering ditandai oleh hiposalivasi (kondisi penurunan laju aliran saliva secara objektif) dan xerostomia (perasaan subjektif akan adanya kekeringan mulut).²³

Saliva sebagai biomarker

Pengertian saliva menurut *Taber's Cyclopedic Medical Dictionary* dan *Merriam-webster dictionary* adalah cairan semi alkali yang terdiri dari air, musin, protein, garam, dan enzim pemecah pati yang disekresikan ke dalam mulut oleh kelenjar ludah dan mukosa oral untuk fungsi lubrikasi, penelan, membantu pemecahan pati, dan pelarut untuk produk sisika ekskresi.^{24,25} Saliva juga mengandung unsur DNA yang dapat memperlihatkan profil bakteri rongga mulut, candidiasis oral, dan juga bahan identifikasi forensik.^{6,26} Lebih jauh lagi, saat ini fungsi saliva berkembang menjadi *oral fluid biomarker*, yaitu membantu merefleksikan kondisi kesehatan tubuh, seperti status emosional, status hormonal, nutrisi, dan metabolism, maupun untuk deteksi berbagai penyakit, seperti infeksi, autoimun, dan keganasan.^{1,3,4,13,26,27,28}

Manusia memproduksi saliva sekitar 600-1500 ml/hari.^{29,30,31} Walaupun 90% komposisinya adalah air, saliva memiliki komposisi lain yang cukup beragam, seperti buffer (HCO_3^-), sitokin (*proline rich protein*, *cyclic adenosine monophosphate-binding protein*), imunoglobulin (IgA, IgG, IgM), enzim (amilase, lisozim, peroksidase, *secretory leukocyte*

protease inhibitor, histatin, sistatin, defensin, laktiferin, *cathelicidin-LL37*, yang dapat digunakan untuk deteksi biofilm, hormon (kortisol, insulin, *epidermal growth factor*), produk sisika metabolisme (urea, glukosa, asam amino, asam urat, serum albumin, molekul lipid), elektrolit (Na^+ , K^+ , Cl^- , F^- , SCN^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , HPO_4^{2-}), serta mineral (kalsium, fosfat, fluorida).^{29,30,31} Protein saliva yang memiliki struktur unik, serta mRNA saliva berfungsi sebagai *biomarker* berbagai penyakit.^{3,4} Mediator inflamasi seperti interleukin, *C-reactive protein*, dan TNF-alfa juga ditemukan pada saliva. Variasi *biomarker* yang dapat dideteksi pada saliva guna melihat berbagai kondisi tubuh manusia, termasuk kanker rongga mulut dituangkan pada Tabel 5.²⁶

Deteksi penyakit mulut menggunakan saliva memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan pemeriksaan lain, seperti pemeriksaan darah, yaitu non-invasif, sehingga dapat dilakukan untuk pasien pediatrik. Metode ini juga lebih ekonomis dalam segi pengambilan sampel, pengiriman, dan penyimpanan, hasil *real-time*, mudah digunakan (tidak perlu staf medis terlatih/*phlebotomist*), beberapa sampel dapat diperoleh dengan mudah, pengumpulan dan penyaringan dapat dilakukan di rumah, risiko minimum kontaminasi silang, membutuhkan lebih sedikit manipulasi selama prosedur diagnostik, serta tes skrining tersedia di pasaran.^{3,4,7,12} Segala kelebihan tersebut mengindikasikan bahwa era penggunaan saliva sebagai *biomarker* penyakit dan monitor kondisi kesehatan sudah di depan mata.

Implementasi nanoteknologi pada sialokemistri

Kemutakhiran ilmu pengetahuan dan teknologi dalam pemanfaatan saliva mengantarkan dunia riset medis pada era nano teknologi. Perkembangan metode diagnostik saliva atau sialokemistri terus berjalan hingga abad ke-20. Abad ini kemudian dikatakan sebagai zaman modern diagnostik saliva.⁶

Berbagai metode dan teknik bermunculan, termasuk kolaborasi keilmuan berbagai bidang riset medis, seperti biologi, kimia, fisika, dan teknik tertentu dengan tujuan menciptakan temuan yang memiliki tingkat keakurasi tinggi, penggunaan otomatis dan portabel, murah, analisis biokimia yang lebih efisien, dan tentunya membutuhkan waktu singkat.⁴ Tahun 2002, *National Institute of Dental and Craniofacial Research* (NIDCR) di *University of California Los Angeles* (UCLA) memprakarsai suatu riset pengembangan alat komersial untuk diagnostik

kesehatan menggunakan saliva, yang disebut dengan *Oral Fluid Nanosensor Test/OFNASET* (Gambar 1).^{4,7,12} OFNASET didisain untuk pemakaian *portable*, otomatis, mudah digunakan, yang memungkinkan untuk melakukan deteksi simultan dan cepat dari beberapa protein saliva dan target asam nukleat.

Sumber *biomarker* pada alat ini yaitu protein dan RNA. Penemuan ini merupakan terobosan yang terjadi berdasarkan pengamatan klinis bahwa saliva mengandung *biomarker* proteomik dan genomik untuk deteksi penyakit mulut. Kelompok peneliti UCLA sampai saat ini telah mengidentifikasi 309 protein dalam saliva, dan melakukan translasi ke dalam proteom saliva untuk pasien kanker mulut dan sindrom Sjögren.⁴ Alat ini diharapakan dapat digunakan di tempat praktik dokter gigi ataupun penyedia layanan kesehatan lain untuk penyaringan dan deteksi penyakit mulut, dan akan dipasarkan secara komersial, sehingga menjangkau masyarakat luas.

Cara kerja *biomarker* saliva menggunakan teknologi nano

Untuk setiap *chip* 16 sensor hanya memerlukan sekitar 4 μL antibodi yang terbiotinilasi (12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) dalam larutan salin 1-fosfat dicampur dengan volume saliva yang sama. Campuran lisat antibodi-saliva diaplikasikan pada masing-masing sensor dan diinkubasi selama 30 menit untuk memungkinkan afinitas pengikatan antibodi terhadap analit dalam saliva. Pengukuran segera dan secara bersamaan diambil untuk semua 16 sensor. Seluruh protokol pengujian diprediksi selesai dalam waktu 45 menit sejak inisiasi pencampuran saliva (Gambar 2, 3, dan 4).¹⁷

Evaluasi riset diagnostik menggunakan *biomarker* saliva

Kondisi penyakit mulut yang dapat berkembang menjadi kondisi yang mengancam jiwa, tentunya membutuhkan investigasi yang cepat agar tidak berkembang semakin parah. Di sinilah deteksi kadar mineral melalui saliva menggunakan nanoteknologi sangat penting untuk dilakukan. Penentuan diagnosis tanpa evaluasi klinis dan pemeriksaan penunjang merupakan hal yang menantang. Bahkan dengan alat-alat laboratorium sekalipun, diagnosis yang tepat sering kali sulit ditegakkan.

Profesor Wong dari UCLA menuliskan bahwa terdapat tiga hal yang dapat mencegah realisasi

potensi diagnostik klinis, yaitu kurangnya protein penanda genetik terkait penyakit, tidak adanya metode pengambilan sampel yang mudah, murah, dan invasif minimal, serta kurangnya dasar ilmu diagnostik yang akurat, dapat diaplikasikan di berbagai tempat (*portable*), dan mudah digunakan.⁴ Berdasarkan Tabel 4 terlihat bahwa terdapat sebelas artikel yang memenuhi kriteria penelitian bersumber dari publikasi tahun 2009 hingga 2018. Tujuh di antaranya mengambil sampel OSCC, baik langsung dari pasien maupun menggunakan *cell lines* (sel kultur), sementara sisanya diambil dari pasien dengan periodontitis kronis (n=2), saliva hewan (n=1), saliva perokok dan bukan perokok (n=1), serta saliva buatan (n=1). Riset penggunaan teknologi nano tersebut dinyatakan berasal dari enam negara, yaitu Amerika Serikat (n=5), Taiwan (n=2), Belgia (n=1), Yunani (n=1), Cina (n=1), dan Malaysia (n=1).

Kesebelus artikel menggunakan teknologi nano yang berbeda dengan *biomarker* yang beragam, namun melaporkan hasil akhir serupa, yaitu nanoteknologi menggunakan *biomarker* saliva merupakan metode yang sensitif dan spesifik untuk deteksi kelainan penyakit mulut.^{12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22} Selain itu, para peneliti juga menambahkan bahwa saliva sebagai *biomarker* menawarkan suatu pendekatan yang lebih menguntungkan karena bersifat non-invasif, cepat pengumpulannya, mudah digunakan, serta memberikan hasil yang akurat. Evaluasi akurasi riset diagnostik merupakan bagian yang sangat penting dari penelitian dengan metode *systematic review*, karena memiliki tujuan untuk menentukan seberapa baik tes tertentu dalam mendeteksi kondisi target yang diinginkan.¹¹

SIMPULAN

Nanoteknologi yang diaplikasikan pada pemeriksaan *biomarker* saliva merupakan pilihan metode yang menjanjikan, baik dari segi akurasi, efektivitas, dan keamanan sebagai alat diagnostik, khususnya dalam mendeteksi berbagai kondisi kelainan mulut. Temuan ini dapat menjadi dasar landasan untuk pengembangan alat diagnostik saliva pada penelitian yang akan dilakukan untuk selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ogbureke K, Ogbureke EI. History of salivary diagnostics. Chapter : history of salivary

- proteomics. Publisher: springer press. 2015. p. 17–31. DOI: [10.1007/978-3-662-45399-5_2](https://doi.org/10.1007/978-3-662-45399-5_2)
2. Arunkumar S, Arunkumar JS, Burde KN, Shakunthala GK. Developments in diagnostic applications of saliva in oral and systemic diseases-A comprehensive review. *J Sci Innov Res.* 2014; 3(3): 372–87.
 3. Qin R, Steel A, Fazel N. Oral mucosa biology and salivary biomarkers. *Clin Dermatol.* 2017; 35(5): 477–83. DOI: [10.1016/j.cldermatol.2017.06.005](https://doi.org/10.1016/j.cldermatol.2017.06.005)
 4. Malathi N, Mythili S, Vasanthi HR. Salivary diagnostics: a brief review. *ISRN Dent.* 2014; 29: 158786. DOI: [10.1155/2014/158786](https://doi.org/10.1155/2014/158786).
 5. Zhang W, Du Y, Wang ML. On-chip highly sensitive saliva glucose sensing using multilayer films composed of single-walled carbon nanotubes, gold nanoparticles, and glucose oxidase. *Sens Bio-Sensing Res.* 2015; 4: 96–102. DOI: [10.1016/j.sbsr.2015.04.006](https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2015.04.006)
 6. Panat SR, Agarwal N, Kishore M, Alok a. Sialochemistry – an emerging oral diagnostic tool. *J dent sci oral rehabil.* 2013; 1(1): 1–3.
 7. Wang X, Kaczor-Urbanowicz KE, Wong DT. Salivary biomarkers in cancer detection. *Med Oncol.* 2017; 34(1): 7. DOI: [10.1007/s12032-016-0863-4](https://doi.org/10.1007/s12032-016-0863-4).
 8. Christodoulides NJ, Mcrae MP, Abram TJ, Simmons GW, Mcdevitt JT. Innovative programmable bio-nano-chip digitizes biology using sensors that learn bridging biomarker discovery and clinical implementation. *Front Public Heal.* 2017; 5(110): 1–7. DOI: [10.3389/fpubh.2017.00110](https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00110)
 9. Milner KA, Cosme S. The PICO Game: an innovative strategy for teaching step 1 in evidence-based practice. *Worldviews evid based nurs.* 2017; 14(6): 514–6. DOI: [10.1111/wvn.12255](https://doi.org/10.1111/wvn.12255).
 10. PRISMA [homepage on internet]. University : Oxford. 2015 [cited 2019 Jun 1]; [about 1 screens] Available from: <http://www.prisma-statement.org/>
 11. Roysri K, Chotipanich C, Laopaiboon V, Khiewyoo J. Quality assessment of research articles in nuclear medicine using stard and quadas-2 tools. *Asia Ocean J Nucl Med Biol.* 2014 ;2(2):120-6.
 12. Mohajeri N, Mostafavi E, Zarghami N. The feasibility and usability of DNA-dot bioconjugation to antibody for targeted in vitro cancer cell fluorescence imaging. *J Photochem Photobiol B.* 2020; 209: 111944. DOI: [10.1016/j.jphotobiol.2020.111944](https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111944).
 13. Jou YJ, Hua CH, Lin C Der, Lai CH, Huang SH, Tsai MH, et al. S100A8 as potential salivary biomarker of oral squamous cell carcinoma using nanoLC-MS/MS. *Clin Chim Acta.* 2014; 436: 121–9. DOI: [10.1016/j.cca.2014.05.009](https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.05.009)
 14. Nassar AF, Williams BJ, Yaworsky DC, Patel V, Rusling JF. Rapid label-free profiling of oral cancer biomarker proteins using nano-UPLC-Q-TOF ion mobility mass spectrometry. *Proteomics - Clin Appl.* 2016; 10(3): 280–9. DOI: [10.1002/prca.201500025](https://doi.org/10.1002/prca.201500025)
 15. Patrikidou A, Valeri RM, Kitikidou K. Introducing cytology-based theranostics in oral squamous cell carcinoma: a pilot program. *Pathol Oncol Res.* 2016; 22: 401–11. DOI: [10.1007/s12253-015-0017-6](https://doi.org/10.1007/s12253-015-0017-6)
 16. Zhou Z, Zheng C, Li S, Zhou X, Liu Z, He Q. Afm nanoindentation detection of the elastic modulus of tongue squamous carcinoma cells with different metastatic potentials. *Nanomedicine nanotechnology, Biol Med.* 2013; 9(7): 864–74. DOI: [10.1016/j.nano.2013.04.001](https://doi.org/10.1016/j.nano.2013.04.001)
 17. Malhotra R, Patel V, Chikkaveeraiah BV, Munge BS, Cheong CS, Zain RB, et al. Ultrasensitive detection of cancer biomarkers in the clinic using a nanostructured microfluidic array. *Ann Chem.* 2013; 84(14): 6249–55. DOI: [10.1021/ac301392g](https://doi.org/10.1021/ac301392g).
 18. Weigum SE, Floriano PN, Redding SW, Yeh C, Wetbrook SD, Mcguff HS. Nano-bio-chip sensor platform for examination of oral exfoliative cytology. *Cancer Prev Res (Phila).* 2010; 3(4): 518–28. DOI: [10.1158/1940-6207.CAPR-09-0139](https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-09-0139).
 19. Caljon G, Hussain S, Vermeiren L, Van Den Abbeele J. Description of a Nanobody-based Competitive Immunoassay to Detect Tsetse Fly Exposure. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015; 9(2): 1–18. DOI: [10.1371/journal.pntd.0003456](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003456)
 20. Chen HJC, Lin CR. Noninvasive measurement of smoking-associated N3-ethyladenine and N7-ethylguanine in human salivary DNA by stable isotope dilution nanoflow liquid chromatography-nanospray ionization tandem mass spectrometry. *Toxicol Lett.* 2014; 225(1): 27–33. DOI: [10.1016/j.toxlet.2013.11.032](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2013.11.032)
 21. Tlili C, Myung N V, Shetty V, Mulchandani A. Label-free, chemiresistor immunosensor for stress biomarker cortisol in saliva. *Biosens*

- Bioelectron. 2011; 26(11): 4382–6. DOI: [10.1016/j.bios.2011.04.045](https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.04.045)
22. Guzman YA, Sakellari D, Papadimitriou K, Floudas CA. High-throughput proteomic analysis of candidate biomarker changes in gingival crevicular fluid after treatment of chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2018; 53(5): 853–60. DOI: [10.1111/jre.12575](https://doi.org/10.1111/jre.12575).
23. Lecor PA, Ndiaye ML, Guirassy ML, Sall OH, Toure B. Burning mouth syndrome: pathophysiology , investigations and management- a review. *Sci Acta Sci Dent.* 2018; 2(4): 26–32.
24. Taber CW. Taber's cyclopedic medical dictionary. 22th ed. Philadelphia : F.A. Davis; 2017. p. 2846
25. Webster's M. Medical Dictionary. New Ed. Medical terms and abbreviations: merriam-webster medical dictionary. 2016. 275 pp.
26. Sindhu S, Jagannathan N. Saliva: a cutting edge in diagnostic procedures. *J Oral Dis.* 2014; vol. 2014(Article ID 168584). p. 1–8. DOI: [10.1155/2014/168584](https://doi.org/10.1155/2014/168584)
27. Malon RSP, Sadir S, Balakrishnan M, Córcoles EP. Saliva-Based Biosensors: Noninvasive Monitoring Tool for Clinical Diagnostics. *Biomed Res Int.* 2014; 2014(962903): 1–20. DOI: [10.1155/2014/962903](https://doi.org/10.1155/2014/962903)
28. Daniel GST, Thiruppatty M, Aswath N, Narayanan SR. Lab on a chip: conquer disease at the earliest. *J pharm bioallied sci.* 2018; 10(2): 106–8. DOI: [10.4103/JPBS.JPBS_210_17](https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS_210_17).
29. Nanci A. Ten cate's oral histology. 8th ed. Canada: Mosby Elsevier; 2012. 253–57 p.
30. Holsinger FC, Bui DT. Salivary gland disorders. 1st ed. Medical clinics of north america. Pittsburgh: Springer; 2014. p. 11–3. DOI: [10.1007/978-3-540-47072-4_1](https://doi.org/10.1007/978-3-540-47072-4_1)
31. Lamy E, Capela-Silva F, Tvarijonaviciute A. Research on saliva secretion and composition. *Biomed res int.* 2018; 26(2018): 7406312. DOI: [10.1155/2018/7406312.](https://doi.org/10.1155/2018/7406312)