

## Hubungan Ekspresi Osteocalcin dan Interleukin-1 $\beta$ dengan Status Inflamasi Periodontal

(The Relationship of Osteocalcin and Interleukin-1 $\beta$  Expression with Periodontal Inflammatory Status)

Rahmavidyanti Priyanto<sup>1</sup>, Malianawati Fauzia<sup>2</sup>, Ariyati Retno Pratiwi<sup>2</sup>, Neny Roeswahjuni<sup>3</sup>, Novi Khila Firani<sup>2,4,5</sup>

<sup>1</sup> Departemen Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya

<sup>2</sup> Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya

<sup>3</sup> Departemen Ortodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya

<sup>4</sup> Departemen Biokimia Biomolekular, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

<sup>5</sup> Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

### Abstrak

Periodontitis adalah inflamasi jaringan periodontal yang dapat mengakibatkan kerusakan pada gingiva, ligamen periodontal dan tulang alveolar. Aktivitas seluler dalam cairan krevikular gingiva diduga dapat menjadi penanda untuk mengetahui status inflamasi jaringan periodontal. Respon imunitas seluler menunjukkan peranan sitokin dalam patogenesis gingivitis dan periodontitis. Sitokin yang diamati pada penelitian ini adalah protein Osteocalcin dan Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) dalam cairan crevicular gingiva (GCF). Dalam penelitian ini, sejumlah 67 penderita diperiksa kondisi jaringan periodontalnya meliputi keparahan gingivitis dan probing periodontal. Kelompok gingivitis dibagi menjadi 4 kelompok yaitu normal, ringan, sedang dan parah. Sedangkan untuk probing periodontal, sampel dikelompokkan berdasarkan kedalaman poket menjadi 3 kelompok. Kelompok I (0-3 mm), kelompok II (3,1-5 mm) dan kelompok III (> 5 mm). GCF didapat dengan menggunakan paper point yang diletakkan dalam sulkus gingiva selama 30 detik. Kemudian paper point dimasukkan ke dalam tube cryovial lalu dikirim ke laboratorium untuk uji ELISA. Data pengamatan ekspresi Osteocalcin dan IL-1 $\beta$  kemudian dilakukan uji statistik. Ekspresi Osteocalcin dan IL-1 $\beta$  menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan derajat keparahan kasus gingivitis, namun tidak signifikan dengan besar kedalaman poket. Ekspresi Osteocalcin dan IL-1 $\beta$  berhubungan dengan derajat keparahan inflamasi pada gingiva.

**Kata kunci:** GCF, Gingivitis, Interleukin 1 $\beta$ , Osteocalcin, Periodontitis

### Abstract

Periodontitis is inflammation of the periodontal tissue that can cause progressive damage to the periodontal ligament and alveolar bone. Clinical examination to determine the degree of damage to the alveolar bone using a periodontal probe instrument or probing. Cellular activity in the gingival crevicular fluid is thought to be a biomarker to determine the inflammatory status of the periodontal tissue. Cellular immune responses suggest the role of cytokines in the pathogenesis of gingivitis and periodontitis. The cytokines observed in this study were the protein Osteocalcin and Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) in the gingival crevicular fluid (GCF). In this study, 67 patients were examined for the condition of their periodontal tissues including the severity of gingivitis and periodontal probing. The gingivitis group was divided into 4 groups, namely normal, mild, moderate, and severe. Meanwhile, for probing samples were grouped based on probing into 3 groups. Group I (0-3 mm), group II (3.1-5 mm) and group III (> 5 mm). GCF was obtained using paper points that were left in the gingival sulcus for 30 seconds. Then paper points are put into cryovial tubes which are sent to the laboratory for ELISA test. The observed data on the expression of Osteocalcin and IL-1 $\beta$  were then performed statistical tests. Osteocalcin and IL-1 $\beta$  expression showed a significant difference with the severity of gingivitis cases. In the other hand, it did not show a significant difference with difference of periodontal pocket depth. Osteocalcin and IL-1 $\beta$  expression associated with the severity of gingivitis cases.

**Keywords:** GCF, Gingivitis, Interleukin 1 $\beta$ , Osteocalcin, Periodontitis

**Korespondensi (Correspondence) :** Rahmavidyanti Priyanto. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya. Jl. Veteran, Malang 65145. Email: [rahmavid@ub.ac.id](mailto:rahmavid@ub.ac.id)

Periodontitis adalah peradangan pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme spesifik, antara lain *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Peptostreptococcus micros* dan *Streptococcus intermedius*. Pada penyakit periodontitis, ditemukan peningkatan cairan krevikular gingiva (GCF) pada sulkus gingiva. GCF mengandung eksudat ataupun transudat yang menunjukkan adanya aktivitas seluler dan humoral. Hal ini diduga dapat menjadi penanda sederhana untuk mengetahui status inflamasi jaringan periodontal. Respon imunitas seluler menunjukkan peranan berbagai sitokin dalam proses peradangan jaringan periodontal (periodontitis). Beberapa sitokin yang dikaitkan dengan periodontitis antara

lain interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), interleukin 8 (IL-8), prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), Osteocalcin, MMP-8 dan MMP-9. IL-1 $\beta$  adalah sitokin pro-inflamasi yang disekresi oleh sel-sel leukosit. Banyak studi klinis yang melaporkan ekspresi IL-1 $\beta$  yang berada dalam saliva berhubungan dengan penyakit periodontal. Sedangkan Osteocalcin adalah protein yang terlibat dalam regulasi osteoblas dan memiliki peran penting dalam resorpsi tulang serta mineralisasi. Sebagian besar osteocalcin disintesis oleh osteoblas.<sup>1,2</sup>

Periodontitis melibatkan inflamasi pada gingiva, sementum hingga tulang alveolar. Umumnya inflamasi berawal dari gingiva. Gambaran klinis inflamasi gingiva berupa perubahan tekstur, warna serta muncul pembengkakan. Bila inflamasi meluas hingga terjadi kerusakan tulang, dapat ditandai

dengan terjadinya pembentukan poket, hilangnya perlekatan tulang hingga kegoyangan gigi. Gambaran klinis tersebut menentukan tahap keparahan periodontitis.<sup>3</sup>

Penentuan keparahan inflamasi gingiva dapat menggunakan indikator *Modified Gingival Index* tanpa probing yang mengkategorikan keparahan inflamasi gingiva ringan, sedang dan parah. Pemeriksaan untuk mengetahui derajat kerusakan tulang alveolar dengan menggunakan *probe periodontal* atau *probing*.<sup>4</sup> Pada studi ini subyek penelitian adalah pasien dengan derajat kondisi inflamasi periodontal yang berbeda. Pengamatan terhadap beberapa tipe inflamasi gingiva dan kedalaman poket diharapkan dapat memberi gambaran hubungan ekspresi IL-1 $\beta$  dan Osteocalcin dengan status inflamasi jaringan periodontal.

## METODE

Penelitian ini adalah observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah *Gingival Crevicular Fluid* dari 67 pasien yang berkunjung ke Poli Gigi Puskesmas Janti, Malang selama tiga bulan. Dilakukan pemeriksaan riwayat medis dan gigi secara lengkap. Kriteria penderita: usia 20-60 tahun, tidak ada riwayat penyakit sistemik dan menerima antibiotik, pengobatan lain atau perawatan periodontal dalam tiga bulan terakhir. Setelah menerima penjelasan terkait penelitian, penderita menandatangani *Inform consent*. Derajat keparahan gingivitis ditentukan berdasarkan pemeriksaan dengan *Modified Gingival Index*, yang kemudian membagi subyek penelitian menjadi empat kelompok yaitu normal, ringan, sedang dan parah.

Penilaian dilakukan dengan menilai jaringan pada sisi marginal dan interproksimal pada seluruh gigi. Untuk menentukan derajat kerusakan tulang, dilakukan pemeriksaan probing menggunakan probe yang dimasukkan ke dalam sulkus gingiva untuk mengukur kedalaman poket. Kemudian dikelompokkan menjadi 3, yaitu Kelompok I (0-3 mm), kelompok II (3,1-5 mm) dan kelompok III (> 5 mm).

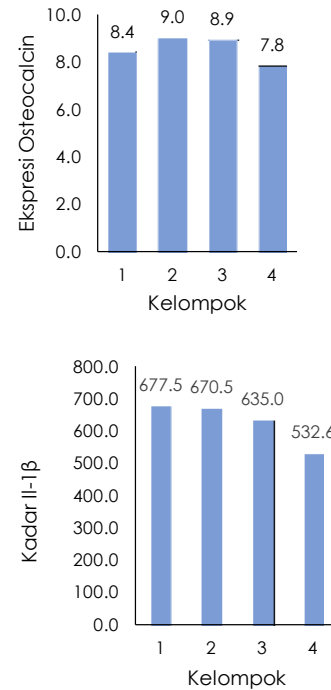
Pengambilan sampel GCF dilakukan pada gigi 16 atau 26 dengan alat bantu paper point steril. Pada daerah kerja dilakukan isolasi menggunakan cotton roll. Paper point steril ukuran 25 dijepit dengan pinset, dimasukkan ke dalam sulkus gingiva selama 30 detik tanpa menyentuh margin gingiva. Paper poin diambil dari sulkus kemudian dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf 1,5 ml yang berisi 0,5 ml *Phosphate Buffer Saline* (PBS). Selanjutnya, ekspresi Osteocalcin dan IL-1 $\beta$  diukur menggunakan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.

## HASIL

Pada penelitian ini diperoleh 67 sampel GCF dari penderita dengan rentang usia 20-50

tahun, yang dilakukan pengamatan ekspresi Osteocalcin dan IL-1 $\beta$  sebagai indikator inflamasi jaringan periodontal. Pengambilan sampel dilakukan pada gigi molar pertama rahang atas karena gigi tersebut adalah gigi permanen yang paling awal erupsi, sehingga memiliki resiko lebih besar mengalami kerusakan periodontal. Selain itu isolasi rahang atas cenderung mudah dilakukan. GCF diperoleh menggunakan metode absorpsi dengan cara memasukkan paper poin dimasukkan ke dalam sulkus, dan dibiarkan selama 30 detik untuk mengurangi resiko kontaminasi darah dan saliva.<sup>5</sup>

Pengamatan ekspresi Osteocalcin dan IL-1 $\beta$  dilakukan dengan metode ELISA. Rata-rata ekspresi Osteocalcin dan IL-1 $\beta$  tiap kelompok keparahan gingiva seperti pada gambar 1.



**Gambar 1.** Ekspresi Osteocalcin dan IL-1 $\beta$  pada kelompok derajat keparahan gingiva

Dari grafik tersebut, terlihat bahwa ekspresi Osteocalcin tertinggi terdapat pada kelompok 2, yaitu kelompok gingivitis ringan. Ekspresi terendah didapatkan pada kelompok gingivitis berat. Pola yang hampir sama terlihat juga pada pengamatan ekspresi IL-1 $\beta$ . Dari data tersebut dilakukan uji homogenitas dan didapatkan data berdistribusi homogen ( $p > 0.05$ ). Selanjutnya dilakukan uji ANOVA untuk melihat perbedaan ekspresi Osteocalcin dan IL-1 $\beta$  antar kelompok variasi keparahan gingiva.

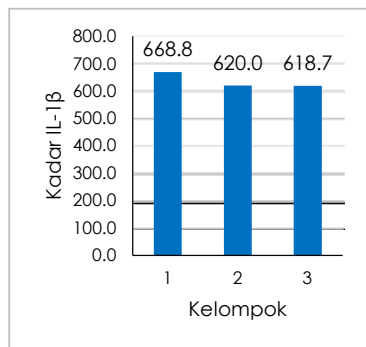
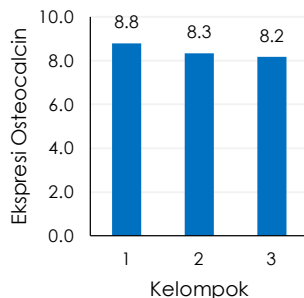
**Tabel 1.** Uji ANOVA Gingivitis kelompok derajat keparahan gingiva

	F	Sig.
Osteocalcin	3,119	0,032
IL-1 $\beta$	4,044	0,011

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa pada kasus gingivitis, didapatkan perbedaan yang signifikan antar rerata ekspresi Osteocalcin dan IL-1 $\beta$  seluruh kelompok (nilai signifikansi  $\leq 0,05$ ).

Penentuan gejala periodontitis salah satunya dapat diketahui dengan pemeriksaan *probing depth* atau mengukur kedalaman *probing*. Kedalaman *probe* ini diartikan dengan masuknya *probe* dalam sulkus gingiva. Semakin dalam *probe* yang masuk ke dalam sulkus, semakin banyak jaringan yang rusak. Kehilangan perlekatan dapat kita ketahui dari besaran *probe* yang dapat masuk ke dalam sulkus gingiva. Pada pasien yang sehat, *probe* dapat masuk ke dalam sulkus gingiva kurang dari 3 mm.

Hasil pemeriksaan ELISA tampak pada Gambar 2, menunjukkan rerata ekspresi Osteocalcin pada kelompok I (0-3mm) adalah 8,8, menurun pada kelompok kedalaman poket II (3,1-5mm) sebesar 8,3 dan menurun tipis pada kelompok kedalaman poket III (>5mm) sebesar 8,2. Pola serupa juga tampak pada ekspresi IL-1 $\beta$ . Ekspresi IL-1 $\beta$  terbesar yaitu pada kelompok I sebesar 668,8, dan semakin menurun pada kelompok II: 620 dan kelompok III: 618,7.

**Gambar 2.** Ekspresi Osteocalcin dan IL-1 $\beta$  pada kelompok variasi kedalaman poket

Dari data tersebut dilakukan uji homogenitas dan didapatkan data berdistribusi homogen ( $p > 0,05$ ). Selanjutnya dilakukan uji ANOVA untuk melihat perbedaan ekspresi Osteocalcin dan IL-1 $\beta$  antar kelompok variasi kedalaman poket.

**Tabel 2.** Hasil Uji ANOVA pada kelompok variasi kedalaman poket

	F	Sig.
Osteocalcin	1.560	.218
IL-1 $\beta$	1.537	.223

Berdasarkan tabel 2, diketahui nilai signifikansi lebih besar dari 0,05, sehingga diartikan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil pengamatan ekspresi Osteocalcin dan IL-1 $\beta$  pada kelompok variasi kedalaman poket.

## PEMBAHASAN

*Gingival Crevicular Fluid* (GCF) adalah eksudat inflamasi dari mikrosirkulasi gingiva yang berkaitan dengan peradangan jaringan periodontal. GCF mengandung zat dari host serta mikroorganisme dalam plak subgingiva dan supragingiva. Komponen seluler dari GCF adalah 70–80% granulosit, 10–20% monosit/makrofag, 5% sel mast dan 5% limfosit T. Pengumpulan sampel GCF dilakukan secara non-invasif dengan menggunakan *paper point* dari sulkus gingiva gigi. Di dalam GCF terdeteksi berbagai sitokin. Pada keadaan inflamasi, volume GCF mengalami peningkatan, yang diikuti oleh perubahan dari kadar sitokin.<sup>6</sup>

Interleukin (IL) adalah sitokin yang diekspresikan oleh limfosit dan diproduksi oleh berbagai sel tubuh, termasuk pada jaringan periodontal. Interleukin yang dominan dalam proses inflamasi adalah IL-1, IL-4 dan IL-6. Terdapat dua Interleukin 1, yaitu tipe Interleukin 1 alfa (IL-1 $\alpha$ ) dan Interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ). IL-1 $\beta$  adalah sitokin yang diproduksi oleh makrofag teraktivasi dan terlibat dari tahap awal kerusakan jaringan ikat dan dianggap berperan penting dalam patogenesis periodontitis.<sup>7,8</sup> Pada pengamatan terhadap saliva, kadar rata-rata IL-1 $\beta$  pasien dengan penyakit periodontal secara signifikan lebih tinggi dibandingkan pada kontrol sehingga memiliki korelasi dengan parameter klinis individu yang menunjukkan penyakit periodontal. Kadar IL-1 $\beta$  yang tinggi dalam saliva dikaitkan dengan peningkatan risiko onset periodontitis, progresi, dan keparahan. Hal ini menyebabkan peningkatan kadar IL-1 $\beta$  dapat digunakan sebagai biomarker diagnosis.<sup>2</sup>

Pada penelitian ini, yang mengamati ekspresi IL-1 $\beta$  pada GCF, baik dari kelompok variasi keparahan gingiva dan kedalaman poket menunjukkan pola serupa. Semakin parah gejala klinis inflamasi periodontal yang tampak, jumlah ekspresi IL-1 $\beta$  didapatkan semakin menurun. Penelitian yang dilakukan Hieda et al tahun 2017 menunjukkan bahwa

tindakan scaling berpengaruh terhadap turunnya ekspresi IL-1 $\beta$ . Pada penelitian ini, subyek penelitian tidak dilakukan perawatan dan tidak pernah melakukan perawatan periodontal baik scaling dan *root planning* selama kurun waktu tiga bulan sebelum pengambilan sampel. Namun sejalan dengan studi tersebut, level normal ekspresi IL-1 $\beta$  tiap individu berbeda, sehingga sulit diamati satu waktu.<sup>9</sup>

Level IL-1 $\beta$  dapat dipengaruhi oleh kondisi inflamasi jaringan. Sekresi IL-1 $\beta$  diinduksi segera setelah invasi mikroorganisme, yang kemudian menginduksi sitokin pro inflamatori lainnya yaitu IL-6, TNF $\alpha$ , PGE2 and matrix metalloproteinase (MMP) sehingga memperburuk kerusakan pada inflamasi kronis. Penderita periodontitis kronis menampilkan level IL-1 $\beta$  yang lebih tinggi dibandingkan periodontitis agresif.<sup>10,11</sup> Diduga level IL-1 $\beta$  yang besar pada derajat inflamasi periodontal yang ringan berhubungan dengan fungsi IL-1 $\beta$  sebagai induksi respon akut saat inflamasi terjadi dan cenderung menurun saat inflamasi berlanjut.

Osteocalcin adalah protein pengikat kalsium pada tulang, dan merupakan protein non kolagen yang paling melimpah dari jaringan termineralisasi. Osteocalcin sebagian besar disintesis oleh osteoblas, dan memiliki peran penting dalam resorpsi tulang dan mineralisasi. Osteocalcin berperan sebagai penanda aktivitas pergantian tulang (bone turnover) pada serum yang menjaga homeostasis selama proses remodeling tulang. Pada periodontitis, Osteocalcin tampak sebagai marker pada pembentukan tulang saat terjadi resorpsi tulang yang besar.<sup>1,12</sup> Hasil penelitian ini menunjukkan seiring dengan keparahan gingivitis dan meningkatnya kedalaman probing, ekspresi Osteocalcin tampak menurun. Hal ini berkaitan dengan pembentukan tulang yang abnormal seiring dengan meningkatnya keparahan gingivitis sejalan dengan studi yang dilakukan.<sup>13</sup>

Pemeriksaan ekspresi Osteocalcin yang diamati pada saliva, menunjukkan level ekspresi yang rendah berkaitan dengan penurunan kedalaman probing.<sup>14</sup> Bervariasinya ekspresi Osteocalcin ini memerlukan penelitian lebih lanjut mengenai jalur *signalling* Osteocalcin dan kaitannya terhadap inflamasi periodontal. Oleh karena penurunan level Osteocalcin antara orang sehat dan penderita periodontitis kurang berperan untuk menentukan keparahan penyakit periodontal. Kesimpulan penelitian ini, ekspresi Osteocalcin dan IL-1 $\beta$  berhubungan dengan derajat keparahan inflamasi pada gingiva, namun tidak signifikan dengan derajat kedalaman poket.

Keterbatasan dalam penelitian ini pengambilan sampel hanya dilakukan pada satu waktu. Untuk melihat gambaran yang jelas mengenai hubungan ekspresi osteocalcin dan interleukin-1 $\beta$  dengan status inflamasi periodontal sebaiknya dilakukan pengamatan longitudinal. Perlu ditambahkan juga variabel

gejala klinis inflamasi periodontal lainnya sebagai pendukung.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Moser SC, van der Eerden BCJ. Osteocalcin-A versatile bone-derived hormone. *Frontiers in Endocrinology*. 2019;10. doi:10.3389/fendo.2018.00794
2. Panezai J, Ghaffar A, Altamash M, Sundqvist KG, Engström PE, Larsson A. Correlation of serum cytokines, chemokines, growth factors and enzymes with periodontal disease parameters. *PLoS ONE*. 2017;12(11). doi:10.1371/journal.pone.0188945
3. Firani NK, Roeswahjuni N, Fauzia M, Pratiwi AR, Priyanto R. Biomarker Inflamasi Jaringan Periodontal. UB press; 2020.
4. Bessa Rebelo MA, de Queiroz AC. Gingival Indices: State of Art. In: *Gingival Diseases - Their Aetiology, Prevention and Treatment*. InTech; 2011. doi:10.5772/26236
5. Majeed ZN, Philip K, Alabsi AM, Pushparajan S, Swaminathan D. 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. doi:10.1155/2016/1804727
6. de Aguiar MCS, Perinetti G, Capelli J. The Gingival Crevicular Fluid as a Source of Biomarkers to Enhance Efficiency of Orthodontic and Functional Treatment of Growing Patients. *BioMed Research International*. 2017. doi:10.1155/2017/3257235
7. Kaneko N, Kurata M, Yamamoto T, Morikawa S, Masumoto J. The role of interleukin-1 in general pathology. *Inflammation and Regeneration*. 2019;39(1). doi:10.1186/s41232-019-0101-5
8. Yucel-Lindberg T, Båge T. Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. *Expert Rev Mol Med*. 2013;15. doi:10.1017/erm.2013.8
9. Hieda Y, Usui M, Nakamura T, et al. Decreased Ratios of Interleukin-1 $\beta$  and Intercellular Adhesion Molecule 1 in Gingival Crevicular Fluid after Scaling and Root Planing Associated with Periodontal Pocket Healing. *Open Journal of Stomatology*. 2017; 7(9): 361-76. doi:10.4236/ojst.2017.79031
10. Prahasanti C. Interleukin-1 $\beta$  expression on periodontitis patients in Surabaya. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 2010; 43(4).

11. de Mooij CEM, Netea MG, van der Velden WJFM, Blijlevens NMA. Targeting the interleukin-1 pathway in patients with hematological disorders. *Blood*. 2017; 129(24): 3155-64. doi:10.1182/blood-2016-12-754994
12. Shazam H, Shaikh F, Hussain Z, Majeed MM, Khan S, Khurshid Z. Evaluation of Osteocalcin Levels in Saliva of Periodontitis Patients and Their Correlation with the Disease Severity: A Cross-Sectional Study. *European Journal of Dentistry*. 2020;14(3): 352-9. doi:10.1055/s-0040-1710143
13. Kursunlu SF, Ozturk VO, Bas MZ. Gingival Crevicular Fluid Osteocalcin Levels in Elderly Patient with Periodontal Disease. *Balıkesir Health Sciences Journal*. 2013; 2(3): 175-8. doi:10.5505/bsbd.2013.35219
14. Becerik S, Afacan B, Öztürk VÖ, Atmaca H, Emingil G. Gingival crevicular fluid calprotectin, osteocalcin and cross-linked N-terminal telopeptid levels in health and different periodontal diseases. *Disease Markers*. 2011; 31(6): 343-52. doi:10.3233/DMA-2011-0849