

## Kadar Deoksipiridinolin pada Saliva Wanita Usia Perimenopause (*Deoxyypyridinoline Levels in Saliva of Female in Perimenopause Age*)

Nanda Afnita<sup>1</sup>, M. Nurul Amin<sup>2</sup>, Agustin Wulan Suci Dharmayanti<sup>3</sup>  
<sup>123</sup>Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
e-mail korespondensi: [nandafnita@gmail.com](mailto:nandafnita@gmail.com)

### **Abstract**

*Perimenopause is transition period of normal ovulation cycle toward menopause. In this period will be occurred decreasing of estrogen. Estrogen is hormon that influenced in bone remodelling process. If there is decreasing of estrogen, there will be enhancing of osteoclastogenesis. Osteoclas is cell that played role in resorption process wich followed by bone matrix and type I collagen degradation. Type I collagen is reinforced by pyridinium cross link, one of them is deoxyypyridinoline. Deoxyypyridinoline is almost used as biologic marker in bone resorption process, because it will be degraded during bone resorption process. Deoxyypyridinoline will be excreted into urine, serum, and saliva. The aim of this study were to know deoxyypyridinoline level in perimenopause saliva and different of this level in productive and perimenopause women. This study was analitic observational with case control. Research subjects were consist 5 perimenopause women (40-55 years old) and 5 productive woman (30-35 years old). Oral examinations were undergone before saliva collecting into saliva pot. Deoxyypyridinoline levels in saliva were measured using Liquid Chromatography-tendem Mass Spectrometry (LC-MS/MS). Result showed that deoxyypyridinoline in perimenopause women higher than productive. Conclusion: It also showed that was not significant different between perimenopause and productive.*

*Keywords: deoxyypyridinoline, perimenopause, saliva*

### **Abstrak**

Perimenopause adalah masa transisi dari siklus ovulasi normal menuju menopause. Pada fase ini akan terjadi penurunan kadar hormon estrogen. Hormon estrogen merupakan hormon yang berpengaruh pada proses remodeling tulang. Jika terjadi penurunan hormon estrogen maka akan terjadi peningkatan osteoklastogenesis. Osteoklas merupakan sel yang bertugas pada terjadinya proses resorpsi yang diikuti dengan terdegradasinya matriks tulang dan kolagen tipe I. Kolagen tipe I diperkuat dengan suatu ikatan silang piridinium salah satunya yaitu deoksipiridinolin. Deoksipiridinolin telah banyak digunakan sebagai pertanda biologis pada proses resorpsi tulang karena deoksipiridinolin akan ikut terdegradasi saat terjadi resorpsi tulang. Deoksipiridinolin akan tersekresi melalui urin, serum, dan saliva. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar deoksipiridinolin pada saliva wanita usia perimenopause. Jenis penelitian ini adalah observasional analitik dengan pendekatan case control. Subjek penelitian terdiri dari wanita usia perimenopause dengan usia 40-55 sebanyak 5 orang dan wanita usia produktif dengan usia 30-35 sebagai kontrol sebanyak 5 orang. Pemeriksaan rongga mulut subjek penelitian dilakukan sebelum pengumpulan saliva pada pot obat. Pengukuran kadar deoksipiridinolin pada saliva diukur menggunakan *Liquid Chromatography-tendem Mass Spectrometry* (LC-MS/MS). Hasil penelitian menunjukkan terdapat kadar deoksipiridinolin pada saliva wanita usia perimenopause lebih tinggi dibandingkan dengan usia produktif. Kesimpulan: Terdapat perbedaan kadar deoksipiridinolin yang tidak signifikan pada saliva wanita usia perimenopause dan saliva wanita usia produktif.

**Kata kunci:** deoksipiridinolin, perimenopause, saliva

### **Pendahuluan**

Perimenopause adalah masa transisi dari siklus ovulasi normal menuju menopause [1].

Menurut Sperof *et al.* (1999), perimenopause merupakan suatu keadaan fisiologis wanita yang telah memasuki proses penuaan, yang ditandai dengan menurunnya produksi hormon estrogen

ovarium [2]. Selama perimenopause, seorang wanita akan mengalami perubahan yang berhubungan dengan menopause yang akan datang. Setiap wanita akan mengalami masa perimenopause dengan waktu yang berbeda. Liauw *et al.* (2007) menyebutkan juga bahwa fase perimenopause terjadi pada usia 40-55 tahun [3].

Prior (2005) menyatakan bahwa 20% wanita perimenopause beberapa akan mengalami gejala perimenopause dan membutuhkan pertolongan medis [4]. Gejala-gejala yang timbul pada masa perimenopause dapat diakibatkan karena terjadinya fluktuasi kadar hormon estrogen yang tidak menentu [5]. Fluktuasi yang tidak menentu dari hormon estrogen ini akan mengakibatkan densitas tulang pada wanita perimenopause akan berkurang sekitar 5-15% [6].

Hormon estrogen merupakan hormon yang sangat berpengaruh pada proses remodeling tulang [7]. Hormon estrogen mempunyai kemampuan menghambat aktivitas osteoklas dan mengaktifkan osteoblas, sehingga laju pergantian tulang menjadi seimbang [8]. Ketika terjadi penurunan estrogen, maka akan terjadi osteoklastogenesis dan berlanjut dengan kehilangan tulang. Osteoklas yang berperan pada resorpsi tulang juga akan mensekresi protease yang dapat melarutkan kolagen diantara matriks organik dan mineral tulang yang bebas [7].

Kolagen merupakan protein ekstraseluler yang terpenting dalam tubuh. Ada beberapa kolagen yang ditemukan dalam tubuh manusia yang selanjutnya dikelompokkan menjadi beberapa tipe [7]. Kolagen tipe I merupakan kolagen yang terbanyak pada tulang, jumlahnya sekitar 90-95% total protein tulang [9]. Struktur kolagen merupakan protein berbentuk *triple helix* yang terdiri dari rantai polipeptida [10]. *Triple helix* ini akan diperkuat dengan ikatan piridinium [7].

Ikatan piridinium merupakan kolagen yang matur [11]. Ikatan ini merupakan ikatan yang akan ikut terdegradasi ketika terjadi resorpsi tulang [7]. Ikatan piridinium terdiri dari piridinolin, deoksipiridinolin, N-telopeptida, dan C-telopeptida. Deoksipiridinolin lebih spesifik daripada piridinolin oleh karena konsentrasi tertinggi deoksipiridinolin terletak pada tulang dan dentin untuk resorpsi tulang. Deoksipiridinolin juga digunakan sebagai penanda degradasi pada kolagen tipe I [11]. Moreno *et al.*, (2012) menyatakan bahwa deoksipiridinolin terdegradasi pada serum, saliva, dan urin [12].

Kemajuan teknologi saat ini telah melahirkan metode yang mampu mendeteksi adanya kerusakan atau kelainan melalui cairan tubuh. Metode ini mulai berkembang untuk mendeteksi suatu penyakit lebih dini dibandingkan metode pemeriksaan lain yang masih sering digunakan [13].

*Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa 2014*

Sekarang sudah banyak penggunaan saliva sebagai pertanda biologis. Hal ini disebabkan saliva dapat diperoleh dengan mudah tanpa membutuhkan peratan khusus dan dapat diambil sewaktu-waktu. Selain itu, saliva lebih mudah, aman saat pengambilan sampel tanpa memerlukan keahlian khusus dan non-invasif. Komponen organik dalam saliva yang utama adalah protein. Protein saliva ini dinilai dapat menjadi biomarker yang akan mendeteksi tiga hal, yaitu patogenesis dari suatu inflamasi, degradasi kolagen dan resorpsi tulang [14]. Berdasarkan latar belakang diatas peneliti bermaksud untuk mengetahui kadar deoksipiridinolin pada saliva wanita usia perimenopause dan perbedaannya dengan usia produktif.

## Metode Penelitian

Tahap persiapan dimulai dengan pembuatan *ethical clearance* dari komisi etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Penelitian ini dilaksanakan di Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember. Pemilihan subjek penelitian dilakukan dengan pemberian kuesioner yang berkaitan dengan riwayat kesehatan subjek penelitian. Selanjutnya subjek penelitian diberi penjelasan mengenai maksud dan tujuan penelitian ini dan subjek mengisi dan menyetujui *informed consent*.

Subjek penelitian yang dipilih yaitu wanita usia perimenopause (40-55 tahun) dan sebagai kontrol dipilih wanita usia produktif (30-35 tahun). Kriteria subjek penelitian adalah tidak memiliki kebiasaan merokok dan minum alkohol, tidak menggunakan obat-obatan terapi hormon, tidak sedang hamil dan menstruasi, tidak memiliki penyakit sistemik, skor indeks periodontal [15] 0,5-2,0, dan indeks karies *International and Caries Detection Assessment System* (ICDAS) [16] maksimal sebesar 2.

Setelah subjek penelitian dipilih, dilakukan pengumpulan sampel saliva. Subjek diinstruksikan untuk mengeluarkan saliva pada wadah saliva (pot obat) yang telah disediakan dan ditutup. Alat penampung saliva dimasukkan dalam *ice box* dan disimpan dalam *deep freezer -30° C*.

## Kondisi *Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry* (LC-MS/MS)

Persiapan pada LC-MS/MS dimulai dengan pengaturan suhu, pada autoinjeksi diatur pada suhu 10°C. *Ultra High Performance Liquid Chromatography* (UHPLC) diatur pada reservoir dengan komposisi 30% *acetonitrile*, 0,1% *formic acid*, dan 70% H<sub>2</sub>O. Kecepatan diatur pada 300

$\mu\text{L}/\text{menit}$ . Kolom yang digunakan jenis *Hypersil Gold*. Ukuran panjang kolom ini adalah 10 cm. Suhu pada kolom dijaga sebesar  $40^\circ\text{C}$ . MS/MS *triple quadrupole* diatur dengan *scan* tipe SIM (*Selected Ion Monitoring*) dengan *scan time* 0,050 detik dan luas 0,010 m/z. Pengaturan Q1MS dengan *center mass* 429.2 m/z. Ionisasi dengan menggunakan *High Electro Spray Ionizer* (HESI) dengan kondisi *spray voltage* sebesar 3200 V, *vaporizer temperature* sebesar  $250^\circ\text{C}$ , *sheath gas pressure* sebesar 45, *aux gas pressure* sebesar 15, dan suhu kapiler sebesar  $200^\circ\text{C}$ .

### Persiapan Standard Deoksipiridinolin

Persiapan standar kalibrator deoksipiridinolin dengan konsentrasi 2.88 ppm. Larutan standard (A) diambil sebanyak 50  $\mu\text{L}$  lalu diencerkan menjadi 1 mL setara dengan 144 ng/mL. Larutan standard (B) diambil sebanyak 75  $\mu\text{L}$  diencerkan menjadi 1 mL setara dengan 216 ng/mL. Standard diinjeksikan melalui autoinjeksi dengan volume injeksi mulai dari 1  $\mu\text{L}$  sampai dengan 12  $\mu\text{L}$ .

### Preparasi Sampel

Preparasi sampel dimulai dengan pengambilan sampel. Sampel diambil sebanyak 50  $\mu\text{L}$  dan diencerkan menjadi 1 mL. Larutan tersebut disaring dengan menggunakan filter nylon 0,2  $\mu\text{L}$ . Sampel dianalisis dengan LC-MS/MS dengan volume injeksi 0,1  $\mu\text{L}$  sampai dengan 10  $\mu\text{L}$ .

### Analisis Kadar Deoksipiridinolin

Larutan sampel diambil sebanyak 50  $\mu\text{L}$  diencerkan menjadi 1 mL. Larutan tersebut disaring dengan menggunakan *filter nylon* 0,2  $\mu\text{M}$ . Penyaringan dengan *filter nylon* ini berfungsi untuk memisahkan senyawa-senyawa yang tidak digunakan dalam penelitian dan menyaring pengotor yang dapat mengganggu deteksi senyawa dalam UHPLC. Setelah selesai, sampel ditempatkan pada auto injeksi.

UHPLC terdiri dari 2 fase, fase gerak dan fase diam. Fase gerak diisi dengan 30% *acetonitrile*, 0,1% *formic acid*, dan 70%  $\text{H}_2\text{O}$ . Fase diam menggunakan kolom jenis *Hypersil Gold*. Larutan disiapkan dan disimpan dalam reservoir, kemudian fase gerak akan digerakkan oleh pompa masuk ke dalam pipa-pipa yang akan melewati tempat penyuntikan sampel. Sampel kemudian dianalisis dengan LC-MS/MS dengan volume auto injeksi 0,1  $\mu\text{L}$  sampai dengan 10  $\mu\text{L}$ . Sampel akan masuk kedalam aliran fase gerak selanjutnya menuju kolom.

Di dalam kolom LC-MS/MS senyawa akan dipisahkan. Senyawa yang dipisahkan kemudian di tembak ion (-) hingga senyawa menjadi pecah dan bermuatan positif. Senyawa bermuatan akan

*Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa 2014*

dibelokkan oleh magnet dan terpisahkan sesuai dengan berat molekul masing masing. Senyawa yang telah tersortir masuk ke ruang analisis dan kadar akan terlihat pada komputer dalam bentuk kromatogram. Menggunakan software LC Quan kromatogram tersebut dapat diubah menjadi satuan ppm.

## Hasil

Kadar deoksipiridinolin pada saliva wanita usia perimenopause pada penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar deoksipiridinolin pada saliva wanita usia produktif dan usia perimenopause (ppm).

	N	Mean
Usia Produktif	5	21.078
Usia Perimenopause	5	23,802

Keterangan :

N : Jumlah subjek penelitian

Mean : Rata-rata

Tabel 1 menunjukkan rata-rata kadar deoksipiridinolin pada wanita usia perimenopause dan wanita usia produktif sebagai kontrol. Kadar deoksipiridinolin pada saliva wanita usia produktif menunjukkan hasil yang lebih rendah dibandingkan dengan kadar deoksipiridinolin pada saliva wanita usia perimenopause. Semakin besar usia wanita maka semakin tinggi kadar deoksipiridinolin pada saliva.

Berdasarkan data yang diperoleh dari pengukuran kadar deoksipiridinolin pada saliva, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov*. Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan nilai signifikansi 0.999 ( $p>0,05$ ), maka diketahui bahwa data berdistribusi normal. Uji homogenitas menggunakan analisis *Levene* didapatkan nilai signifikansi 0.469 ( $p>0,05$ ), maka diketahui bahwa data bersifat homogen. Hasil penelitian selanjutnya dilakukan uji parametrik *Independent T-test* didapatkan nilai signifikansi 0.779 ( $p>0,05$ ) atau terdapat perbedaan yang tidak signifikan pada setiap kelompok.

## Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat kadar deoksipiridinolin pada saliva wanita usia perimenopause. Jika dibandingkan dengan usia produktif, maka terlihat adanya perbedaan kadar deoksipiridinolin. Kadar deoksipiridinolin pada saliva wanita usia perimenopause memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan kadar deoksipiridinolin

pada saliva wanita usia produktif.

Usia perimenopause dimulai pada awal usia 40 tahun. Fase perimenopause adalah suatu periode dimana mulai terjadi fluktuasi hormon dan penurunan fungsi ovarium. Periode ini terjadi kira-kira 6 tahun sebelum menopause. Penurunan fungsi ovarium dapat ditandai dengan berkurangnya jumlah folikel, penurunan hormon estrogen, dan meningkatnya pengeluaran gonadotropin [17].

Penurunan fungsi ovarium akan mempengaruhi hormon *Gonadotropin Releasing Hormon* (GnRH) yang memicu sintesis maupun pelepasan *Follicle Stimulating Hormon* (FSH) dan *Luteinizing Hormon* (LH). Ketika ovarium mengalami penurunan produksi estrogen, maka akan terjadi penurunan umpan balik kepada hipotalamus. Hal ini menyebabkan meningkatnya produksi FSH dan LH, tetapi FSH lebih terlihat meningkat dibandingkan LH [17].

Penurunan estrogen berpengaruh pada proses remodeling tulang. Hormon estrogen berpengaruh pada sel yang beraktivitas pada proses remodeling tulang, baik osteoblas maupun osteoklas [18]. Pada usia produktif, hormon estrogen masih bekerja secara baik, sehingga aktivitas osteoblas dan osteoklas pada proses remodeling tulang akan berjalan seimbang. Ketika memasuki usia perimenopause, hormon estrogen sudah mulai mengalami kelemahan. Ini mengakibatkan aktivitas osteoblas dan osteoklas tidak seimbang, sehingga resorpsi akan lebih banyak terjadi dibandingkan dengan aposisi [19].

Estrogen pada dasarnya akan membantu tersekresinya faktor penghambat osteoklastogenesis yang dikenal sebagai osteoprotegerin (OPG). OPG kemudian akan berikatan dengan RANK-L untuk menghambat osteoklastogenesis. Estrogen meningkatkan sekresi osteoprotegerin yang kemudian akan berikatan dengan RANK-L untuk kemudian dapat menghambat resorpsi tulang [20].

Ketika terjadi defisiensi estrogen maka produksi TGF- $\beta$  dan OPG akan berkurang, sehingga diferensiasi dari osteoklas meningkat [19]. Pada dasarnya, ketika osteoklas telah terbentuk, osteoklas akan melekat pada permukaan matriks tulang dan akan memulai tahap resorpsi. Proses resorpsi dimulai dengan osteoklas yang mensekresikan ion hidrogen yang dibentuk dari karbonik anhidrase. Selanjutnya disekresikan pula enzim lisosom terutama cathepsin K untuk mencerna matriks tulang sehingga kolagen dan seluruh komponen matriks tulang terdegradasi [21].

Resorpsi tulang dapat diketahui melalui terdegradasinya produk kolagen tipe I antara lain ikatan piridinium, salah satunya deoksipiridinolin. Deoksipiridinolin berfungsi memberikan kekuatan

dan kekerasan pada tulang. Pada saat terjadi resorpsi tulang, terjadi pula degradasi pada kolagen tulang yang matur dan deoksipiridinolin ikut terlepas masuk sirkulasi darah dan ginjal dan tersekresi melalui urin dan serum [20]. Selain itu, terdapat penelitian yang menyebutkan bahwa deoksipiridinolin dapat tersekresi melalui saliva [12].

Berdasarkan uji Independent T-test perbandingan kadar deoksipiridinolin pada saliva wanita usia perimenopause dengan wanita usia produktif menunjukkan adanya perbedaan yang tidak signifikan. Perbedaan yang tidak signifikan ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu usia, hormon, diet, aktivitas, kriteria indeks periodontal, dan jumlah subjek penelitian.

Faktor usia merupakan salah satu yang mempengaruhi hasil penelitian ini tidak signifikan. Tingginya kadar deoksipiridinolin wanita usia produktif diketahui akan terjadi pada usia 20-29 tahun. Diketahui juga bahwa tidak ditemukan perbedaan yang signifikan kadar deoksipiridinolin pada urin antara usia 30-50 tahun [22].

Penurunan hormon estrogen pada usia perimenopause diketahui akan menurun, tetapi penurunan itu akan terjadi pada perimenopause akhir sebelum menopause. Subjek yang digunakan pada penelitian ini merupakan subjek dengan usia perimenopause awal, sehingga hormon estrogen yang menurun belum tentu terjadi pada usia ini [2]. Selain itu, pada usia perimenopause diketahui dapat terjadi peningkatan FSH. Sun *et al.* (2006) menyebutkan bahwa FSH tidak hanya menargetkan sel gonad, tapi juga pada sel osteoklas untuk meresorpsi tulang. Jadi, FSH ini dimungkinkan juga menyebabkan terjadinya resorpsi tulang [23].

Selain itu, hasil yang tidak signifikan kemungkinan disebabkan oleh aktivitas fisik. Pada saat penelitian, peneliti tidak mengendalikan faktor aktivitas fisik subjek penelitian. Setiap subjek penelitian melakukan aktivitas yang berbeda, hal ini kemungkinan mempengaruhi perbedaan kadar deoksipiridinolin. Vesper menyatakan bahwa kadar deoksipiridinolin pada subjek dengan bed rest total lebih tinggi dibandingkan dengan subjek dengan aktifitas fisik [22].

Selain itu, konsumsi makanan kemungkinan menjadi penyebab hasil penelitian tidak signifikan. Konsumsi makanan setiap subjek pada penelitian ini tidak dikontrol. Konsumsi suplemen seperti vitamin D mempengaruhi kadar deoksipiridinolin. Diketahui bahwa defisiensi vitamin D akan menyebabkan terjadinya peningkatan kadar deoksipiridinolin [22].

Perbedaan yang tidak signifikan ini kemungkinan karena sedikitnya jumlah subjek penelitian. Jumlah subjek penelitian merupakan hal yang penting pada rancangan penelitian. Jumlah

subjek penelitian yang sedikit cenderung memiliki kesalahan sampling yang besar [24].

Berdasarkan hasil penelitian, pada subjek usia produktif terlihat bahwa subjek penelitian dengan skor indeks periodontal 1,21 memiliki kadar deoksipiridinolin lebih tinggi (35,83) dibandingkan dengan subjek yang memiliki skor indeks periodontal 1,91 (6,89). Pada subjek usia perimenopause juga menunjukkan subjek dengan skor indeks periodontal 1,41 memiliki kadar deoksipiridinolin lebih tinggi (47,22) dibandingkan dengan subjek yang memiliki skor indeks periodontal 1,92 (23,44). Hal ini dimungkinkan karena adanya korelasi antara kadar deoksipiridinolin dan kesehatan jaringan periodontal, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai korelasi antara kadar deoksipiridinolin dan skor indeks periodontal.

### Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat kadar deoksipiridinolin pada saliva wanita usia perimenopause dan terdapat perbedaan yang tidak signifikan antara kadar deoksipiridinolin pada saliva wanita usia perimenopause dengan usia produktif.

Saran dari penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kadar deoksipiridinolin dengan rentang usia yang lebih variatif dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yang mengontrol jumlah subjek penelitian, faktor diet, aktivitas, hormon, dan indeks periodontal. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai korelasi kadar deoksipiridinolin pada saliva dengan indeks periodontal.

### Daftar Pustaka

1. Frackiewicz EJ, Cutler NR. Women's Health Care During the Perimenopause. *J. AM Pharm Assoc.* 2000;40 (6).
2. Speroff L, Glass RH. & Kase NG. *Clinical Gynecological Endocrinology and Infertility.* 6th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 1999.
3. Liauw, Umar, Hendrianto, Idrus, Pinontoan, Widyahening, Adjie. Skoring Psikopatologi dan Faktor yang Berhubungan pada Perempuan Usia Perimenopause. *Maj Kedokt Indon.* 2007;57.
4. Prior JC. Clearing Confusion About Perimenopause. *BC Medical Journal.* 2005; 47 (10).
5. Zulkarnaen Y. Gejala-gejala Wanita Perimenopause. Referat III. Palembang: Universitas Sriwijaya. 2003.
6. Yuliana, Wiryanthini, Karmaya, Widarsa. Penurunan Osteoclast Epifysis Tulang Radius Mencit Perimenopause dengan Pemberian Estrogen dan Berenang. *Jurnal Veteriner.* 2012; 13(4): 440-444.
7. Morawati S. Kadar  $\beta$ -Cross-Links Telopeptide pada Wanita Postmenopause dengan Osteoporosis atau Osteopoeni. Tesis. Universitas Sumatera Utara. 2009.
8. Wardani K. Pengaruh Pemberian Vitamin E Terhadap Kadar Hormon Estrogen dan Gambaran Histopatologi Tulang Alveolar Mencit (*Mus musculus L.*) yang Melakukan Latihan Fisik Maksimal. Tesis. Universitas Sumatera Utara. 2011.
9. Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. *Biokimia Harper.* Jakarta: EGC. 2009.
10. Gelse K, Poschl E, Aigner T. Collagen-Structure, Function, and Biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Review.* 2003; 55: 1531-1546.
11. Toussiro, Richard-Blum, Dumoulin, Cedoz, Wendling. Relationship Between Urinary Pyridinium Crosslinks, Disease Activity and Disease Subsets of Ankylosing Spondylitis. *British Society for Rheumatology.* 1999; 38: 21-27.
12. Moreno, Restrepo, Guzman, Arroyave. Screening for Salivary Levels of Deoxyypyridinoline and Bone-specific Alkaline Phosphatase during Orthodontic Tooth Movement: a Pilot Study. *European Journal of Orthodontics.* 2012.
13. Fine, Daniel H., Furgang, David. Salivary Bioassay for Early Detection of Bone Loss. United States Patent. 2010.
14. Kathariya R, Pradeep AR.. Salivary Proteomic Biomarkers for Oral Diseases: A Review of Literature. *Archives of Oral Science and Research.* 2010; 1(1): 43-49.
15. Carranza, F.A. *Clinical Periodontology.* Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1990.
16. Braga MM, Mendes FM, Ekstrand KR. Detection Activity Assessment and Diagnosis of Dental Caries Lesions. *Dent Clin N Am.* 2010; 54: 479-493.
17. Wiknjastro H. *Ilmu Kandungan.* Yayasan Bina Pustaka Sarwono Pawirohardjo: Jakarta. 1999.
18. Sennang, Mutmainnah, Pakasi, Hardjoeno. Analisis Kadar Oseokalsin Serum Osteopenia dan Osteoporosis. *Indonesian Journal of*

- Pathology and Medical Laboratory. 2006; 12(2).
19. Kawiya IKS. Osteoporosis Patogenesis Diagnosis dan Penanganan Terkini. *J Peny Dalam*. 2009; 10(2).
  20. Vesper HW. Measurement of pyridinoline and deoxypyridinoline in metabolic bone disease. *CLI*. 2005.
  21. Mahmudati N. Kajian Biologi Molekuler Peras Estrogen/ Fitoestrogen pada Metabolisme Tulang Usia Menopause. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. 2011; 2(1).
  22. Vesper, Demers, Eastell, Garnero, Kleerekoper, Robins, et al. Assesment and Recommendations on Factors Contributing to Preanalytical Variability of Urinary Pyridinoline and Deoxypyridinoline. *Clinical Chemistry*. 2002; 48 (2): 220-235.
  23. Sun, Peng, Sharrow, Iqbal, Zhang, Papachristou, et al. FSH Directly Regulates Bone Mass. *J Cell*. 2006;125: 247-260.
  24. Morton RF, Hebel JR, McCarter RJ. *Epidemiologi dan biostatika Panduan studi*. Jakarta: EGC. 2008.