



**KADAR KALSIMUM (*Ca*) CAIRAN SULKUS GINGIVA PADA PENDERITA  
PERIODONTITIS KRONIS**

**SKRIPSI**

Oleh

**Ita Kurniawati  
NIM 111610101092**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**KADAR KALSIUM (*Ca*) CAIRAN SULKUS GINGIVA PADA PENDERITA  
PERIODONTITIS KRONIS**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh:  
Ita Kurniawati  
NIM 111610101092

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015

## **PERSEMBAHAN**

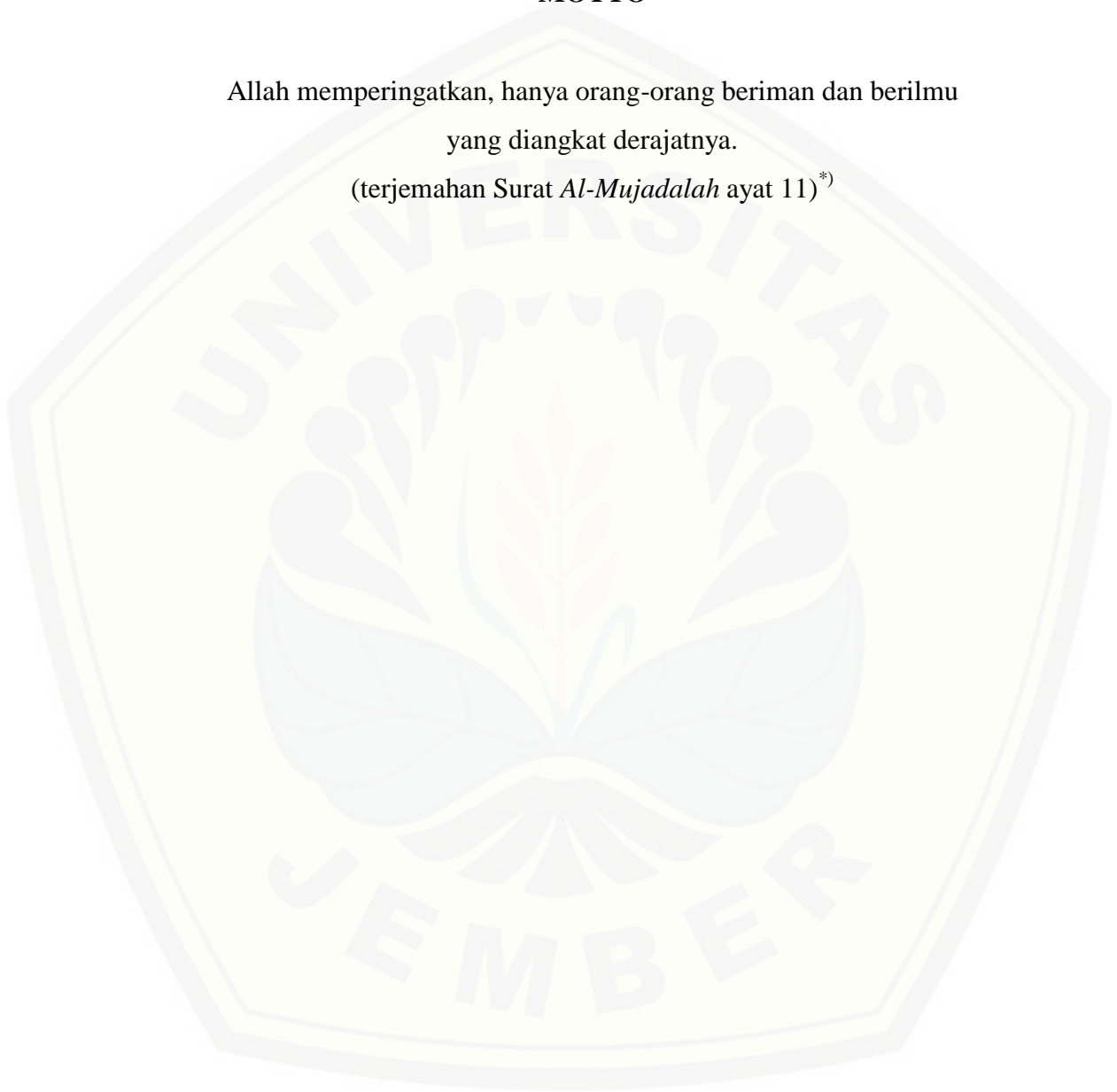
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua yang tersayang Ainul Rofiq dan Suciani serta kakakku Andy Nur Rohim, S.E dan adikku Anna Nadiatus Solichah.
2. Dosen-dosen yang telah mendidik dan membimbing dalam menjalani pendidikan.
3. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

**MOTTO**

Allah memperingatkan, hanya orang-orang beriman dan berilmu  
yang diangkat derajatnya.

(terjemahan Surat *Al-Mujadalah* ayat 11)<sup>\*)</sup>



---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ita Kurniawati

NIM : 111610101092

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Kadar Kalsium (*Ca*) Cairan Sulkus Gingiva pada Penderita Periodontitis Kronis” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 6 November 2015

Yang menyatakan,

Ita Kurniawati

NIM 111610101092

**SKRIPSI**

**KADAR KALSIUM (*Ca*) CAIRAN SULKUS GINGIVA PADA PENDERITA  
PERIODONTITIS KRONIS**

Oleh:

Ita Kurniawati

NIM 111610101092

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Peni Pujiastuti., M. Kes.

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Agustin Wulan Suci D., MDSc.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul berjudul “Kadar Kalsium (*Ca*) Cairan Sulkus Gingiva pada Penderita Periodontitis Kronis” telah diuji dan disahkan pada :

Hari : Senin

Tanggal : 16 November 2015

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Utama

Penguji Pendamping

Dr. drg. I.D.A. Susilawati, M. Kes.  
NIP. 196109031986022001

drg. Amandia Dewi P.S., M. Biomed.  
NIP. 198006032006042002

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

drg. Peni Pujiastuti, M. Kes.  
NIP. 196705171996012001

drg. Agustin Wulan Suci D., MDSc.  
NIP. 197908142008122003

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember,

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M. Kes., Sp. Pros.  
NIP.196901121996011001

## RINGKASAN

**Kadar Kalsium (Ca) Cairan Sulkus Gingiva pada Penderita Periodontitis Kronis;** Ita Kurniawati, 111610101092; 2015: 41 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Periodontitis kronis banyak diderita oleh manusia hampir seluruh dunia dan mencapai 50%. Periodontitis kronis diduga menyebabkan peningkatan GCF. GCF dapat menjadi indikator keparahan penyakit jaringan periodontal, namun belum banyak yang meneliti tentang komponen GCF yang dapat menjadi indikator penyakit periodontal, sehingga perlu dilakukan penelitian hubungan komponen GCF yaitu kalsium dengan periodontitis kronis. Pemilihan kalsium dalam GCF karena kalsium merupakan komponen terbanyak dalam GCF. Oleh karena itu peneliti mengukur kadar kalsium GCF pada penderita periodontitis kronis.

Jenis penelitian ini adalah observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Sampel penelitian adalah GCF penderita periodontitis kronis dan sebagai kontrol adalah GCF penderita gingivitis. Jumlah subyek periodontitis adalah 8 orang, dari 8 penderita tersebut diperoleh 13 sampel GCF (13 lokasi dari sulkus kedalaman >3,5 mm). Jumlah subyek gingivitis adalah 10 orang, dari 10 penderita tersebut diperoleh 13 sampel (13 lokasi dari sulkus kedalaman <3 mm). Kriteria gingivitis dan periodontitis kronis yang didasarkan pada Periodontal Indeks (PI) Russel yang dimodifikasi. Sampel GCF diambil menggunakan *paperstrip* steril ukuran 20 yang sudah ditandai sepanjang 5mm untuk menyeragamkan volume GCF. Kadar kalsium GCF dianalisa dengan AAS (*Atomic Absorption Spectrometry*). Data dianalisis dengan *Mann Whitney*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar kalsium GCF pada penderita periodontitis kronis secara signifikan ( $p < 0,05$ ) lebih tinggi ( $4,71 \pm 0,52$  ppm)



dibanding penderita gingivitis ( $2,81 \pm 1,39 \text{ ppm}$ ). Hal ini kemungkinan disebabkan terjadi kerusakan jaringan periodontal yang mengakibatkan kelarutan kalsium pada jaringan periodontal dan keluar bersamaan dengan GCF. Mineral-mineral pada jaringan periodontal akan terlarut bersamaan dengan GCF oleh karena adanya demineralisasi jaringan periodontal dan kerusakan jaringan periodontal akibat adanya peradangan jaringan periodontal. Pada penelitian ini terdapat limitasi yaitu tidak dapat mengukur volume yang terserap dalam *paperpoint*.

Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa kalsium GCF penderita periodontitis kronis mengalami peningkatan sehingga hal ini dapat digunakan sebagai indikator keparahan penyakit jaringan periodontal.

## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat, hidayah, serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Kadar Kalsium (*Ca*) Cairan Sulkus Gingiva pada Penderita Periodontitis Kronis”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat penyelesaian pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M. Kes., Sp. Pros., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Peni Pujiastuti, M. Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Agustin Wulan Suci D., MDSc, selaku Dosen Pembimbing Pendamping beserta Dosen Pembimbing Akademik, atas bimbingan, pengarahan, waktu, dan dukungannya selama ini, serta tak pernah bosannya mendengar keluh kesah kami;
3. Dr. drg. I.D.A. Susilawati, M. Kes., selaku Dosen Penguji Utama, dan drg. Amandia Dewi P.S., M. Biomed, selaku Dosen Penguji Pendamping, atas kritik, saran dan bimbingan hingga terselesainya skripsi ini;
4. Mas Erwan dan Mbak Azizah selaku staf Laboratorium *Bioscience* RSGM Universitas Jember, yang telah membantu saya selama penelitian sehingga penelitian dapat berjalan dengan lancar;
5. Bapak Sudjiran, kepala lab. Analisa Tanah PUSLITKOKA, terima kasih atas segala bentuk bantuan;
6. Kedua Orang Tua, Ainul Rofiq dan Suciani atas segala do'a dan kasih sayang yang tak pernah bisa terbalaskan;
7. Kakakku tersayang Andy Nur Rohim beserta adikku Anna Nadiatus Sholichah atas segala kasih sayang dan doa;

8. Sahabat-sahabatku : Deasy Kusuma, Dian Fajariani, Anggi Faradiba, Swesty Wulandari, Firna Prestisia yang telah memberikan motivasi, saran, serta bantuan untuk menyelesaikan skripsi ini;
9. Teman sepermainan : Ariska Cyntia, Fathimatus Zahro, Maharja Jathi, Mohammad Harish, Rhanifda Amvitasari, Asyiah Hamasah Izzati, Dwi Sri Lestari, Deo Agusta, Firda nindita, Hany Maghfiroh;
10. Teman-teman seperjuangan skripsi : Selvi Magdalena, Erfan Ramadana, Riangga, Aulia Mursyida, dan Alifah Sarah;
11. Semua teman-teman angkatan 2011 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
12. Semua pihak yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung yang turut mendukung dalam doa dan memberikan motivasi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, maka penulis menerima semua kritik dan saran yang membangun dari semua pihak untuk melengkapi dan menyempurnakan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan .....	2
1.4 Manfaat .....	2
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Periodontitis Kronis.....</b>	<b>3</b>
2.1.1 Definisi Periodontitis Kronis .....	3
2.1.2 Etiologi Periodontitis Kronis .....	3
2.1.3 Patogenesis Periodontitis Kronis .....	3
<b>2.2 Cairan Sulkus Gingiva .....</b>	<b>5</b>
2.2.1 Definisi Cairan Sulkus Gingiva .....	5

2.2.2 Fungsi Cairan Sulkus Gingiva .....	7
2.2.3 Komponen Cairan Sulkus Gingiva .....	7
<b>2.3 Ion Kalsium .....</b>	<b>7</b>
<b>2.4 Atomic Absorption Spectrometry (AAS).....</b>	<b>9</b>
<b>2.5 Kerangka Konsep .....</b>	<b>13</b>
<b>2.6 Hipotesis.....</b>	<b>13</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>14</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian .....</b>	<b>14</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>14</b>
3.3.1 Waktu penelitian .....	14
3.3.2 Tempat penelitian.....	14
<b>3.3 Identifikasi Variabel.....</b>	<b>14</b>
3.4.1 Variabel Bebas .....	14
3.4.2 Variabel Terikat .....	14
3.4.1 Variabel Terkendali .....	14
<b>3.4 Definisi Operasional .....</b>	<b>14</b>
3.5.1 Penderita Periodontitis Kronis .....	14
3.5.2 Kadar Kalsium .....	15
3.5.3 Cairan Sulkus Gingiva .....	15
<b>3.5 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>15</b>
3.6.1 Alat Penelitian.....	15
3.6.2 Bahan Penelitian .....	16
<b>3.6 Subyek Penelitian .....</b>	<b>16</b>
3.6.1 Kriteria Inklusi .....	16
3.6.2 Kriteria Eksklusi .....	17
<b>3.7 Sampel Penelitian .....</b>	<b>19</b>
<b>3.8 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>19</b>
3.8.1 Persiapan Subyek Penelitian .....	19
3.8.2 Pemeriksaan Jaringan Periodontal .....	19

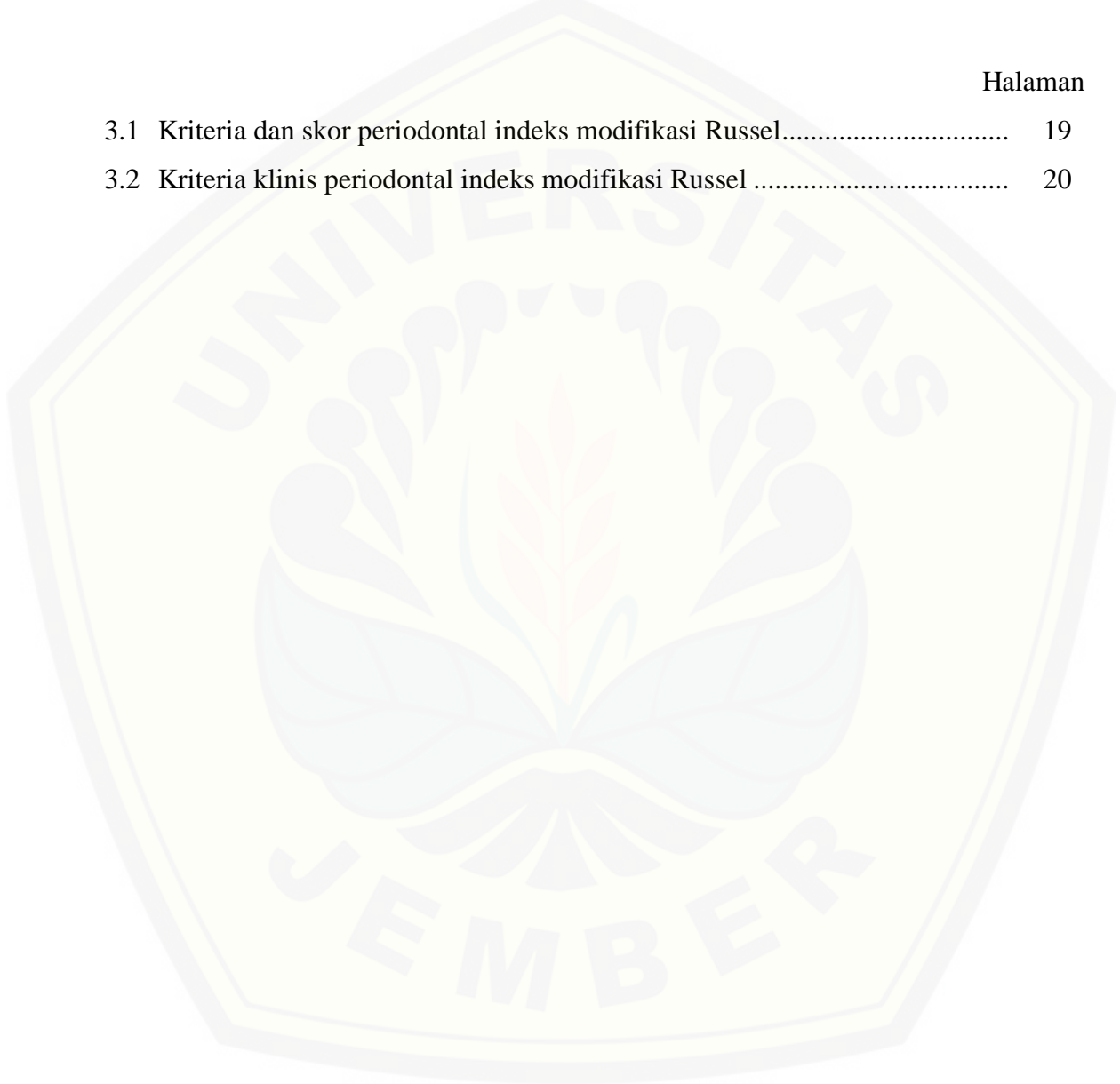
3.8.3 Pengambilan Sampel Cairan Sulkus Gingiva .....	20
3.8.4 Persiapan Sampel .....	21
3.8.5 Pengukuran Kadar Kalsium .....	21
<b>3.9 Analisis Data .....</b>	<b>22</b>
<b>3.10 Alur Penelitian .....</b>	<b>23</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>24</b>
<b>4.1 Hasil Penelitian.....</b>	<b>24</b>
<b>4.2 Analisis Penelitian .....</b>	<b>25</b>
<b>4.3 Pembahasan.....</b>	<b>25</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>28</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>28</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>28</b>
<b>DAFTAR Pustaka .....</b>	<b>29</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>32</b>

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Penempatan Strip Pada Sulkus Gngiva .....	6
2.2 Skema Alat AAS .....	10
2.3 Skema Kerangka Konsep .....	13
3.3 Bagan Alur Penelitian .....	23
4.1 Diagram Batang rata-rata kadar kalsium dengan satuan ppm pada kelompok gingivitis dan periodontitis kronis .....	25

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
3.1 Kriteria dan skor periodontal indeks modifikasi Russel.....	19
3.2 Kriteria klinis periodontal indeks modifikasi Russel .....	20





**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Ethical Clearance .....	32
B. <i>Inform Consent</i> .....	33
C. Penghitungan Sampel .....	34
D. Data Hasil Penelitian .....	35
E. Uji Normalitas dan Uji Homogenitas .....	36
F. Analisa Data .....	37
G. Foto Penelitian .....	38

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Periodontitis kronis banyak diderita oleh manusia hampir seluruh dunia dan mencapai 50% (Newman dkk, 2002). Menurut hasil survei kesehatan gigi dan mulut di Jawa Timur tahun 1995 penyakit periodontal terjadi pada 459 orang diantara 1000 (Departement Kesehatan RI, 1996). Di Asia dan Afrika prevalensi dan intensitas penyakit periodontitis kronis lebih tinggi dengan menduduki urutan ke dua (Teronen dkk, 1997). Di Indonesia prevalensi penyakit periodontitis mencapai 96,58% (Asmawati, 2003). Penyakit ini merupakan penyakit yang serius dan apabila tidak dilakukan perawatan yang tepat dapat mengakibatkan kehilangan gigi.

Periodontitis kronis menyebabkan peningkatan aliran GCF (*Gingival Crevicular Fluid*). Peningkatan aliran GCF disebabkan adanya inflamasi, semakin parah inflamasi semakin meningkat aliran GCF. Keadaan inflamasi dapat meningkatkan permeabilitas pembuluh darah pada gingiva dan terjadi pembesaran ruang *junctional* dan *sulcular epithelium* (Reddy dkk, 2008).

Selain itu, periodontitis kronis ditandai dengan adanya destruksi tulang. Destruksi tulang ini diduga menyebabkan demineralisasi tulang alveolar. Demineralisasi tulang alveolar menyebabkan mineral-mineral tulang alveolar dapat terlarut bersamaan dengan GCF. Mineral tersebut kemungkinan adalah kalsium (Smitti dkk, 2013). Kalsium merupakan mineral mikro yang paling banyak dijumpai di dalam tubuh manusia. Lebih dari 90% kalsium ditemukan pada jaringan keras yaitu tulang dan gigi (Guyton dan Hall, 2006). Kalsium juga terdapat dalam saliva (Chiappin dkk, 2007), darah, dan jaringan periodontal.

Berdasarkan uraian diatas, kalsium GCF dapat menjadi indikator penyakit periodontal belum banyak diteliti. Sehingga perlu dilakukan penelitian hubungan kalsium GCF dengan periodontitis kronis. Pemilihan kalsium GCF dikarenakan

kalsium merupakan komponen mineral terbanyak dalam GCF. Oleh karena itu peneliti mengukur kadar kalsium GCF pada penderita periodontitis kronis.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas, masalah yang dapat dirumuskan dalam penelitian ini adalah apakah terdapat peningkatan kadar kalsium GCF pada penderita periodontitis kronis?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kadar kalsium GCF pada penderita periodontitis kronis.

### **1.4 Manfaat**

1. Dapat memberikan informasi mengenai kadar kalsium GCF pada penderita periodontitis kronis.
2. Kadar kalsium GCF dapat digunakan sebagai indikator keparahan penyakit periodontal.
3. Kadar kalsium GCF dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut tentang kalsium GCF.

## **BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Periodontitis Kronis**

#### **2.1.1 Definisi Periodontitis Kronis**

Periodontitis kronis adalah penyakit inflamasi pada jaringan periodontal yang disebabkan oleh bakteri pada subgingiva yang dapat menimbulkan respon inflamasi dan berlanjut ke struktur jaringan penyangga gigi yaitu sementum, ligamen periodontal, dan tulang alveolar. Keadaan ini mengakibatkan hilangnya tulang dan ligament periodontal, pembentukan poket periodontal, serta kegoyangan gigi yang dapat berakibat tanggalnya gigi pada orang dewasa (Newman dkk, 2002).

#### **2.1.2 Etiologi Periodontitis Kronis**

Etiologi penyakit periodontal pada umumnya adalah faktor lokal dan diperparah dengan keadaan sistemik yang kurang menguntungkan dan memungkinkan terjadinya keadaan yang progresif. Faktor lokal merupakan penyebab utama periodontitis kronis yaitu bakteri plak subgingiva yang meliputi bakteri anaerob gram negatif seperti *Porphiromonas gingivalis* (*P.gingivalis*), *Prevotella intermedia* (*P.intermedia*) dan *Actinomycetemcomitans*. Faktor lainnya adalah kebiasaan merokok karena merokok telah terbukti dapat meningkatkan keparahan dan menambah luasnya penyakit periodontal, sedangkan faktor sistemik meliputi pengaruh hormonal pada masa pubertas, kehamilan, diabetes mellitus dengan adanya bakteri plak (Newman dkk, 2002)

#### **2.1.3 Patogenesis Periodontitis Kronis**

Penyakit periodontal diawali dari perlekatan bakteri yang berlebih dan menimbulkan akumulasi plak. Akumulasi plak akan menyebabkan inflamasi.

Inflamasi gingiva merupakan perubahan patologis pada gingiva yang berhubungan dengan adanya mikroorganisme pada sulkus gingiva.

Tahap *initial lesion*, akumulasi plak akan mengakibatkan terjadinya perubahan vaskuler yang meliputi dilatasi kapiler dan peningkatan aliran darah. Perubahan inflamasi awal ini terjadi karena adanya respons aktivasi mikroba oleh leukosit dan kemudian stimulasi dari sel endotel. Secara mikroskopis gambaran klasik dari radang akut terlihat pada jaringan ikat di bawah *junctional epithelium* (Newman dkk, 2002). Peningkatan migrasi leukosit terlihat melalui *junctional epithelium* dan eksudat cairan jaringan dari leher gingiva. Tahap ini terjadi dalam 4 hari setelah akumulasi plak dimulai dan belum tampak gejala klinis dari peradangan yang nampak.

Tahap selanjutnya adalah *early lesion*, tahap ini terjadi 7 hari setelah akumulasi plak dan dapat menetap untuk waktu yang lama. Pada tahap ini, *bleeding on probing* dapat terlihat jelas. Pemeriksaan mikroskopis memperlihatkan adanya infiltrasi leukosit pada jaringan ikat dibawah *junctional epithelium* yang mengandung sebagian besar limfosit tetapi masih terdapat migrasi neutrophil, makrofag, sel plasma dan sel mast (Newman dkk, 2002).

Tahap *established lesion* berlangsung 2-3 minggu. Secara mikroskopis sel-sel plasma terlihat mendominasi. Limfosit masih tetap ada dan jumlah makrofag meningkat. Pada tahap ini, *junctional epithelium* dan epitel sulkus banyak terinfiltrasi oleh PMN. Secara klinis, gingiva terlihat kemerahan dan kebiruan. Hal ini disebabkan oleh ekstravasasi dari sel darah merah ke jaringan ikat dan pecahan hemoglobin masuk ke komponen pigmen, sehingga dapat menggelapkan warna dari radang gingiva yang kronis (Newman dkk, 2002). Tahap *advanced lesion* merupakan tahap yang biasanya terjadi periodontitis karena pada tahap ini lesi sudah mengalami kerusakan periodontal.

## 2.2 Cairan Sulkus Gingiva (Gingival Crevicular Fluid/GCF)

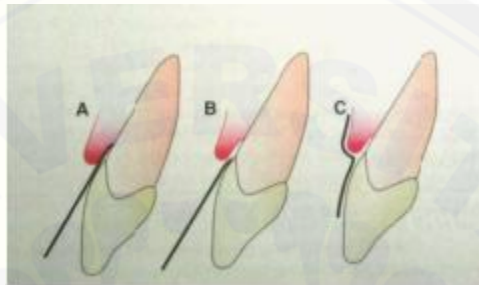
### 2.2.1 Definisi GCF

GCF merupakan suatu produk filtrasi fisiologis dari pembuluh darah yang sudah termodifikasi. GCF berasal dari serum darah yang terdapat dalam sulkus gingiva, baik gingiva sehat maupun terinflamasi. Dalam GCF yang terinflamasi, terdapat peningkatan jumlah PMN leukosit, makrofag, limfosit, monosit, ion elektrolit, protein plasma dan endotoksin bakteri, tetapi jumlah ureanya menurun. Komponen seluler dan humoral darah dapat melewati epitel perlekatan yang terdapat pada celah gingiva dalam bentuk GCF. Pada keadaan normal, GCF yang banyak mengandung leukosit ini akan melewati epitel perlekatan menuju ke permukaan gigi. Aliran cairan ini akan meningkat bila terjadi gingivitis dan periodontitis. GCF bersifat alkali sehingga dapat mencegah terjadinya karies pada permukaan email dan sementum. Sifat alkali GCF menunjang netralisasi asam yang terbentuk dalam proses karies di area tepi gingiva (Newman dkk, 2002).

Produksi cairan gingiva telah ditunjukkan oleh Egelberg bahwa, produksi cairan sulkus terkait dengan peningkatan permeabilitas yang mendasari *junctional* dan *sulcular epithelium*. Menurut Pashley, cairan awal yang diproduksi hanya bisa menjadi cairan interstitial, yang saat perjalanan melalui *junctional* dan *sulcular epithelium* kehilangan beberapa komponen aktif dalam jaringan dan cairan ini berubah menjadi eksudat (Reddy, 2008). GCF dapat berasal dari jaringan gingiva yang sehat, melalui mekanisme perubahan tekanan osmosis. Kehadiran plak di dalam sulkus gingiva cenderung menimbulkan pembentukan tekanan osmosis sepanjang cairan berjalan dan muncul sebagai transudat/eksudat pada sulkus gingiva (Velli, 2003).

Hal yang sulit dalam mendapatkan GCF adalah karena jumlahnya yang terbatas. Metode untuk mendapatkan GCF adalah menggunakan *paperstrip* yang dapat ditempatkan di dalam sulkus gingiva (intrasulkuler) atau pada permukaan sulkus gingiva (ekstrasulkuler). Pada teknik Brill, *paperstrip* dimasukkan ke dalam sulkus sampai terdapat tahanan, namun penggunaan metode ini dapat menyebabkan iritasi

epitel sulkus yang akan menyebabkan mengalirnya cairan ini. Cara meminimalisasinya, Loe dan Holm Pedersen menempatkan *paperstrip* pada permukaan sulkus atau luar sulkus sehingga cairan akan terserap tanpa mengiritasi epitel sulkus (Newman dkk, 2002).



Gambar 2.1. Penempatan strip pada sulkus gingiva, A. Metode intrasulkuler, B. Metode Ekstrasulkuler (Sumber: Newman dkk, 2002).

Pada gingiva normal, tidak terdapat atau sedikit diproduksi cairan sulkus, namun jumlah cairan sulkus akan meningkat jika terdapat inflamasi dan bergantung besarnya inflamasi tersebut. Jumlah cairan sulkus tidak bertambah jika terdapat trauma oklusi, namun bertambah jika mengunyah makanan yang keras, menyikat gigi dan pemijatan gingiva, penggunaan kontrasepsi hormonal, merokok, dan kehamilan. Terdapat peningkatan jumlah cairan sulkus pada pukul 06.00-10.00 pagi, kemudian menurun setelahnya. Hormon pada wanita meningkatkan aliran cairan sulkus karena meningkatkan permeabilitas vaskular.

Pada keadaan inflamasi, terjadi pembesaran ruang antar kedua epitel yaitu *junctional* dan *sulcular epithelium* yang bisa menyebabkan salah satu bakteri memperoleh jalan masuk pada jaringan pendukung. Pembesaran ruang antar sel membuat komponen GCF lebih mudah masuk sehingga akan larut bersama aliran darah dan dikeluarkan melalui *sulcular epithelium* (Imamura, 2003). Peningkatan permeabilitas *junctional epithelium* disebabkan oleh berbagai enzim seperti hyaluronidase dan kolagenase. Kekurangan nutrisi seperti asam askorbat juga bisa

mengubah permeabilitas *sulcular epithelium* dan memungkinkan lewatnya zat dari sulkus gingiva ke jaringan ikat gingiva ataupun sebaliknya dari jaringan ikat gingiva ke sulkus gingiva, seperti histamin, leusin, timidin, fenitoin, peroksidase, albumin, dextran, partikel karbon, endotoksin dan lain-lain (Reddy, 2008).

### 2.2.2 Fungsi GCF

GCF mempengaruhi ekosistem jaringan periodontal. Fungsi cairan ini sebagai pertahanan jaringan periodontal, seperti dapat membersihkan material dan bakteri dari daerah sulkus gingiva. Selain mengandung bahan antimikroba, mempunyai aktifitas *antibody* sebagai alat pertahanan gingiva (Newman dkk, 2002).

Fungsi GCF menurut Manson dan Elley (2002) adalah sebagai pembersih sel-sel epitel yang lepas, leukosit, dan bakteri, membantu perlekatan epitel dan gigi dengan adanya kandungan protein plasma pada GCF, lisozim dalam GCF dapat digunakan imunitas gigi dan jaringan periodontal karena terdapat leukosit PMN, makrofag, IgG, IgM, IgA. Selain itu, GCF sebagai indikator jalannya penyakit (Gupta, 2012).

### 2.2.3 Komponen GCF

Komponen GCF saat ini ditemukan lebih dari 40 komponen yang kemungkinan berasal dari organisme atau diproduksi oleh bakteri pada sulkus gingiva. Komponen ini diantaranya pada konsentrasi elektrolit adalah sodium, potassium, dan kalsium. Asam laktat, hidrosiprolin, prostaglandin, dan urea merupakan produk metabolisme dan bakteri. Pada GCF juga terdapat elektrolit-elektrolit yaitu sodium, potassium, dan kalsium. Sedangkan bahan organik pada GCF adalah karbohidrat, protein, dan lipid (Reddy, 2008).



### 2.3 Ion Kalsium

Kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) adalah mineral makro yang berperan sangat penting di dalam tubuh. Lebih dari 99% kalsium ditemukan pada jaringan keras yaitu tulang dan gigi manusia dalam bentuk kalsium fosfat (Guyton dan Hall, 2006). Besar kalsium dalam GCF adalah  $5.0 + 1.8$  mmol/liter.

Kalsium mempunyai peranan penting dalam adesi sel, karena adesi sel sebagian besar dimediasi oleh kalsium. Sinyal kalsium intraseluler juga sangat penting untuk memediasi penyusunan ulang aktin, yaitu sebuah proses yang diperlukan dalam pembentukan adheren. Pembentukan adheren terjadi pada fibroblas. Fibroblas ini menyediakan kalsium intraseluler untuk melihat konsentrasi ion kalsium intraseluler sel (Aurora, 2001).

Homeostasis kalsium dalam tubuh harus selalu terjaga. Konsentrasi kalsium sekitar 99% terdapat pada tulang dan gigi, sedangkan sisanya berada pada cairan intraseluler maupun ekstraseluler (Winarno, 2008). Pada kondisi konsentrasi kalsium cairan ekstraseluler di bawah normal, sistem endokrin akan bekerja untuk mempertahankan homeostasis kalsium. Pelepasan hormon paratiroid bertujuan untuk mempertahankan konsentrasi kalsium, dan akan bekerja langsung pada tulang dan gigi dengan cara meningkatkan resorpsi mineral tulang dan gigi. Hal ini menyebabkan pelepasan sejumlah kalsium ke dalam cairan ekstraseluler untuk mengembalikan kadar kalsium seperti semula (Greenspan dan Baxter, 2000). Apabila keadaan ini terjadi secara terus menerus, maka konsentrasi kalsium pada tulang dan gigi akan terganggu. Konsentrasi kalsium cairan ekstraseluler yang terus menurun dalam jangka waktu yang panjang akan menimbulkan gangguan pada tulang dan gigi (Guyton dan Hall, 2006). Kadar normal kalsium dalam GCF adalah  $5.0 + 1.8$  mmol/liter.

Menurut Mount dan Hume (2005), jika kadar keasaman pada suatu gigi berada di bawah pH 5,5 akan terjadi peruraian ion kalsium dan fosfat dari gigi ke dalam

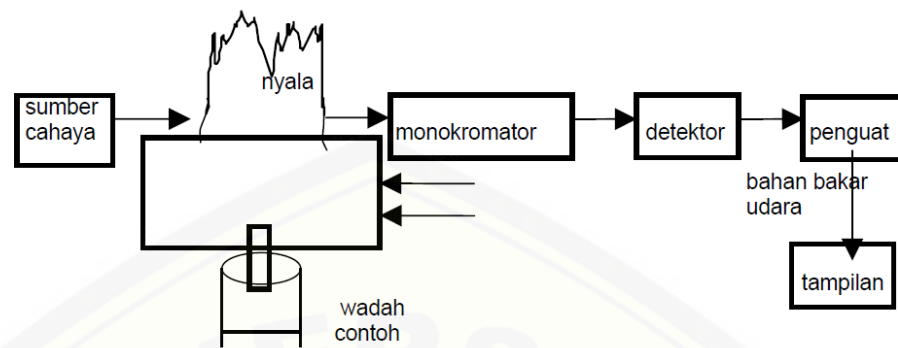
saliva dan meninggalkan matriks kolagen yang mengalami demineralisasi. Besarnya nilai kalsium dinyatakan dalam ppm (*part per million*).

#### 2.4. Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS)

Spektrofotometer serapan atom atau Atomic Absorption Spectrophotometer atau AAS adalah salah satu metode analisis yang dapat digunakan untuk penentuan konsentrasi semua logam dan semilogam dengan kepekaan yang tinggi. AAS ini untuk menganalisa kandungan logam berat antara lain: Pb, Cd, Cu, Cr, Fe, Zn, Mn, Ni, dan lain-lain, baik berupa sampel padat, cair, gas maupun makanan dan tanaman.

Radiasi dari sumber cahaya (*hollow cathode lamp*) dengan energi yang sesuai dengan energi yang dibutuhkan oleh atom-atom dari unsur yang diperiksa untuk melakukan transisi elektronik, dipancarkan melalui nyala. Pada nyala tersebut, atom-atom dari zat yang diperiksa akan meresap radiasi tadi sesuai dengan konsentrasi zat tersebut yaitu sesuai dengan populasi atom-atom pada level energi terendah (*ground state*). AAS tidak tergantung dari suhu, sedangkan pada FES di mana jumlah atom yang tereksitasi yang menentukan intensitas emisi berubah-ubah secara eksponensial sesuai dengan temperatur. Di samping itu juga terdapat perbedaan pada bentuk (*design*) dari pembakar (*burner*) dan pada AAS radiasi lampu ditahan-diteruskan berganti-ganti menggunakan “chopper” untuk membedakannya dengan radiasi yang dipancarkan oleh nyala api. Konsentrasi pengukuran biasanya ditentukan dengan kurva.

Sensitivitas dan batas deteksi merupakan 2 parameter yang sering digunakan dalam AAS. Sensitivitas didefinisikan sebagai konsentrasi suatu unsure dalam larutan air ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) yang mengabsorpsi 1 % dari intensitas radiasi yang datang. Sedangkan batasan deteksi adalah konsentrasi suatu unsure dalam larutan yang memberikan sinyal setara dengan 2 kali deviasi standar dari suatu seri pengukuran standar yang konsentrasinya mendekati blangko atau sinyal latar belakang.



Gambar 2.2 Skema alat AAS

Instrumen untuk AAS mempunyai komponen dasar yang terdiri atas:

1. Sumber Cahaya

Sumber cahaya yang digunakan dalam alat AAS ialah lampu katoda berongga (*hollow cathode lamp*). Lampu ini terdiri dari suatu katoda dan anoda yang terletak dalam suatu silinder gelas berongga yang terbuat dari kwarsa. Katoda terbuat dari logam yang akan dianalisis. Silinder gelas berisi suatu gas lembam pada tekanan rendah. Ketika diberikan potensial listrik maka muatan positif ion gas akan menumbuk katoda sehingga terjadi pemancaran spektrum garis logam yang bersangkutan.

2. Monokromator dan Sistem Optik

Berkas cahaya dari lampu katoda berongga akan dilewatkan melalui celah sempit dan difokuskan menggunakan cermin menuju monokromator. Monokromator dalam alat AAS akan memisahkan, mengisolasi dan mengontrol intensitas energi yang diteruskan ke detektor. Monokromator yang biasa digunakan ialah monokromator difraksi *grating*.

3. Detektor dan Sistem Elektronik

Energi yang diteruskan dari sel atom harus diubah ke dalam bentuk sinyal listrik untuk kemudian diperkuat dan diukur oleh suatu sistem pemroses data. Proses pengubahan ini dalam alat AAS dilakukan oleh detektor. Detektor yang biasa digunakan ialah tabung pengganda foto (*photomultiplier tube*), terdiri dari

katoda yang dilapisi senyawa yang bersifat peka cahaya dan suatu anoda yang mampu mengumpulkan elektron. Ketika foto menumbuk katoda maka elektron akan dipancarkan, dan bergerak menuju anoda. Antara katoda dan anoda terdapat dinoda-dinoda yang mampu menggandakan elektron. Sehingga intensitas elektron yang sampai menuju anoda besar dan akhirnya dapat dibaca sebagai sinyal listrik. Untuk menambah kinerja alat maka digunakan suatu mikroprosesor, baik pada instrumen utama maupun pada alat bantu lain seperti *autosampelr*.

#### 4. Kompresor

Kompresor merupakan alat yang terpisah dengan main unit, karena alat ini berfungsi untuk mensuplai kebutuhan udara yang akan digunakan oleh AAS, pada waktu pembakaran atom. Kompresor memiliki 3 tombol pengatur tekanan, dimana pada bagian yang kotak hitam merupakan tombol ON-OFF, spedo pada bagian tengah merupakan besar kecilnya udara yang akan dikeluarkan, atau berfungsi sebagai pengatur tekanan, sedangkan tombol yang kanan merupakan tombol pengaturan untuk mengatur banyak/sedikitnya udara yang akan disemprotkan ke *burner*. Bagian pada belakang kompresor digunakan sebagai tempat penyimpanan udara setelah usai penggunaan AAS. Alat ini berfungsi untuk menyaring udara dari luar, agar bersih. Posisi ke kanan, merupakan posisi terbuka, dan posisi ke kiri merupakan posisi tertutup.

#### 5. Burner

*Burner* merupakan bagian paling terpenting di dalam unit, karena *burner* berfungsi sebagai tempat pencampuran gas asetilen, dan aquabides, agar tercampur merata, dan dapat terbakar pada pemantik api secara baik dan merata. Lubang yang berada pada *burner*, merupakan lubang pemantik api, dimana pada lubang inilah awal dari proses pengatomisasian nyala api. Perawatan *burner* yaitu setelah selesai pengukuran dilakukan, selang aspirator dimasukkan ke dalam botol yang berisi aquabides selama  $\pm 15$  menit, hal ini merupakan proses pencucian pada aspirator dan *burner* setelah selesai pemakaian. Selang aspirator digunakan untuk menghisap larutan sampel dan standar yang akan diuji. Selang aspirator

berada pada bagian selang yang berwarna oranye di bagian kanan *burner*. Sedangkan selang yang kiri, merupakan selang untuk mengalirkan gas asetilen. Logam yang akan diuji merupakan logam yang berupa larutan dan harus dilarutkan terlebih dahulu dengan menggunakan larutan asam nitrat pekat. Logam yang berada di dalam larutan, akan mengalami eksitasi dari energi rendah ke energi tinggi. Nilai eksitasi dari setiap logam memiliki nilai yang berbeda-beda. Warna api yang dihasilkan berbeda-beda bergantung pada tingkat konsentrasi logam yang diukur. Bila warna api merah, maka menandakan bahwa terlalu banyaknya gas. Dan warna api paling biru, merupakan warna api yang paling baik, dan paling panas.

#### 6. Buangan pada AAS

Buangan pada AAS disimpan di dalam drigen dan diletakkan terpisah pada AAS. Buangan dihubungkan dengan selang buangan yang dibuat melingkar sedemikian rupa, agar sisa buangan sebelumnya tidak naik lagi ke atas, karena bila hal ini terjadi dapat mematikan proses pengatomisasian nyala api pada saat pengukuran sampel, sehingga kurva yang dihasilkan akan terlihat buruk. Tempat wadah buangan ditempatkan pada papan yang juga dilengkapi dengan lampu indikator. Bila lampu indikator menyala, menandakan bahwa alat AAS atau api pada proses pengatomisasian menyala, dan sedang berlangsungnya proses pengatomisasian nyala api.

#### 7. Tabung Gas

Tabung gas pada AAS yang digunakan merupakan tabung gas yang berisi gas asetilen. Gas asetilen pada AAS memiliki kisaran suhu  $\pm 20000\text{K}$ , dan ada juga tabung gas yang berisi gas  $\text{N}_2\text{O}$  yang lebih panas dari gas asetilen, dengan kisaran suhu  $\pm 30000\text{K}$ . Regulator pada tabung gas asetilen berfungsi untuk pengaturan banyaknya gas yang akan dikeluarkan, dan gas yang berada di dalam tabung. Spedometer pada bagian kanan regulator. Merupakan pengatur tekanan yang berada di dalam tabung.

## 2.5 Kerangka Konsep



Gambar 2.3 Skema Kerangka Konsep

Keadaan periodontitis kronis ditandai dengan adanya kerusakan jaringan periodontal yaitu pengikisan tulang alveolar (resorpsi tulang) dan diikuti dengan dekalsifikasi mineral jaringan periodontal. Kerusakan jaringan periodontal akan menyebabkan aliran GCF meningkat beserta komponennya yang salah satunya kalsium. Kalsium meningkat kemungkinan juga disebabkan adanya kelarutan cairan ekstraselluler dari proses resorpsi tulang.

## 2.6 Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, diduga terdapat peningkatan kadar kalsium GCF pada penderita periodontitis kronis.

## **BAB 3. METODE PENELITIAN**

### **3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian observasional analitik dengan rancangan *cross sectional* yaitu peneliti melakukan pengamatan terhadap kadar kalsium GCF pada penderita periodontitis kronis dan penderita gingivitis.

### **3.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – Maret 2015. Penelitian ini dilakukan di RSGM Universitas Jember, Lab Bioscience FKG Universitas Jember, dan Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia di Jember.

### **3.3. Identifikasi Variabel**

#### **3.3.1. Variabel Bebas**

Penderita Periodontitis Kronis.

#### **3.3.2. Variabel Terpengaruh**

Kadar Kalsium GCF.

#### **3.3.3. Variabel Terkendali**

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Kriteria subyek penelitian
- b. Teknik pengambilan sampel saliva
- c. Prosedur penelitian

### **3.4. Definisi Operasional**

#### **3.4.1 Periodontitis Kronis**

Periodontitis kronis adalah penyakit inflamasi pada jaringan penyangga gigi yang ditandai dengan perubahan pada gingiva, *probing depth* lebih dari 3,5 mm, dan resorpsi tulang.

#### 3.4.2 Kadar Kalsium

Kadar kalsium adalah besar kandungan kalsium yang terdapat dalam GCF yang diukur dalam satuan mMol/L dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA).

#### 3.4.3 GCF

GCF adalah cairan yang diambil di sulkus gingiva dari penderita periodontitis kronis dan penderita gingivitis dengan menggunakan *paperpoint* selama 60 detik.

### 3.5 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.5.1 Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Handscoon (*maxter*)
- b. Masker (*evo*)
- c. Kaca mulut (*stainless*)
- d. Excavator (*stainless*)
- e. Sonde (*schwert*)
- f. Pinset (*dentica*)
- g. Probe periodontal WHO (*osung*)
- h. Neerbecken
- i. *Ice box*
- j. *Deep freezer -30°C*
- k. *Atomic absorption spectrometry (AAS)*
- l. *Eppendorf tube 0,5 ml steril*
- m. Stopwatch
- n. Kertas label



- o. Mikropipet (*human*)
- p. *Disposable tube*
- q. Tabung falkon
- r. *Vortex*
- s. Rak eppendorf

### 3.5.2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut

- a. Cairan krevikular gingiva
- b. *Distilled water*
- c. Cotton roll steril
- d. Alkohol 70%
- e. Cotton pellet
- f. Aquadest
- g. *Paperpoint* steril ukuran 20

### 3.6. Subyek Penelitian

Subyek penelitian dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok gingivitis (G) dan kelompok periodontitis kronis (P).

#### 3.6.1 Kriteria Inklusi

- a. Usia subyek antara 35 – 45 tahun
- b. Subyek berjenis kelamin perempuan dan laki-laki
- c. Subyek tidak sedang hamil atau menstruasi bagi perempuan.
- d. Subyek tidak menggunakan gigi tiruan.
- e. Subyek tidak memiliki kelainan sistemik
- f. Subyek tidak merokok

### 3.6.2 Kriteria eksklusi

- a. Subyek tidak bersedia
- b. Subyek menggunakan obat kumur, antibiotik, atau obat-obatan minimal 6 bulan terakhir.
- c. Subyek sedang dalam perawatan periodontal 6 bulan terakhir.

Sampel penelitian adalah GCF penderita periodontitis kronis dan sebagai kontrol adalah GCF penderita gingivitis. Jumlah subyek periodontitis adalah 8 orang, dari 8 penderita tersebut diperoleh 13 sampel GCF (13 lokasi periodontitis). Jumlah subyek gingivitis adalah 10 orang, dari 10 penderita tersebut diperoleh 13 sampel (13 lokasi gingivitis).

Besar sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 13 sampel tiap kelompok. Adapun besar sampel didapat dari perhitungan rumus sebagai berikut (Levy dan Lemeshow, 2008): (Lampiran C)

$$n = 2 \left[ \frac{(z\alpha + z\beta) s}{d} \right]^2$$

keterangan:

$$\alpha = 0,05 \quad z\alpha = 1,960$$

$$\beta = 0,10 \quad z\beta = 1,28$$

$$d = \text{selisih rerata kedua kelompok} = X_1 - X_2 = 0,3778$$

$$S = \text{simpang baku untuk kedua kelompok} = 0,285729265$$

N = jumlah sampel tiap kelompok

$$n = 2 \left[ \frac{(z\alpha + z\beta) s}{d} \right]^2$$

$$\begin{aligned}n &= 2 (2,450404496)^2 \\ &= 2 (6,004482194) \\ &= 12,0089 \\ &= 13\end{aligned}$$

Berdasarkan rumus di atas, jumlah sampel minimum yang harus digunakan adalah 13 sampel untuk masing-masing kelompok. Pada penelitian ini menggunakan 10 penderita gingivitis dan 8 penderita periodontitis kronis.

Subyek penelitian ini terdiri dari subyek gingivitis dan subyek periodontitis kronis, dengan kriteria sebagai berikut:

a. Kelompok Gingivitis

1. Kelompok gingivitis adalah subyek dengan gingivitis yang diperoleh dari pasien yang datang ke RSGM Universitas Jember.
2. Gingivitis diukur menggunakan Periodontal Indeks (PI) dengan skor 0-0,7.
3. Kriteria kelompok gingivitis adalah poket tidak terdapat di daerah *cementoenamel junction* (CEJ), sulkus gingiva tidak lebih dari 3,5 mm, tidak ada perdarahan saat *probing*, serta pada gambaran radiografi tidak ada resorpsi tulang alveolar.

b. Kelompok Periodontitis Kronis

1. Kelompok periodontitis kronis adalah subyek dengan periodontitis kronis yang diperoleh dari pasien datang ke RSGM Universitas Jember.
2. Periodontitis kronis diukur menggunakan Periodontal Indeks (PI) dengan skor 0,7-8,0.
3. Kriteria kelompok periodontitis kronis adalah *probing depth* (PD) >3,5 mm, kehilangan tulang > 3 mm dan terjadi resorpsi tulang alveolar pada gambaran radiografi.

### 3.8. Prosedur Penelitian

#### 3.8.1. Persiapan Subyek Penelitian

Untuk melakukan penelitian, dilakukan persiapan *ethical clearance* dari komisi etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada. Subyek penelitian harus mengisi dan menyetujui *informed consent*.

#### 3.8.2. Pemeriksaan Jaringan Periodontal

Subyek penelitian dilakukan pemeriksaan intra oral, yaitu menghitung jumlah gigi yang tersisa pada rongga mulut, mengukur derajat kehilangan perlekatan, perdarahan saat probing, dan kedalaman poket. Penentuan tingkat keparahan periodontitis kronis didasarkan pada Periodontal Indeks (PI) Modifikasi Russel.

Tabel 3.1. Kriteria dan skor Periodontal Indeks modifikasi Russel (Newman dkk, 2002)

Skor	Kriteria dan Skor PI	Hasil Radiografi
0	Negatif. Tidak ada inflamasi atau gangguan fungsi yang disebabkan oleh kerusakan jaringan periodontal.	
1	Gingivitis ringan. Terdapat inflamasi pada margin gingiva, tetapi tidak mengelilingi gigi	Tulang alveolar normal
2	Gingivitis. Inflamasi pada gingiva yang mengelilingi gigi, tetapi tidak terjadi kerusakan perlekatan epitel	
4		Resorpsi pada puncak alveolar
6	Gingivitis dengan pembentukan poket. Terjadi kerusakan perlekatan epitel, terdapat poket, tetapi tidak terjadi gangguan fungsi	Resorpsi tulang secara horizontal meliputi puncak alveolar hingga setengah panjang akar gigi

	pengunyahan dan gigi tidak miring	
8	Kerusakan lanjut disertai gangguan fungsi mastikasi	Resorpsi tulang meliputi lebih dari setengah panjang akar atau adanya poket infraboni dengan perluasan ligamen periodontal, resorpsi akar maupun apeks

Skor periodontal indeks (PI) tiap individu adalah sebagai berikut:

$$PI = \frac{\text{Jumlah skor indeks periodontal per gigi}}{\text{Jumlah gigi yang diperiksa}}$$

Tabel 3.2. Kriteria klinis Periodontal Indeks modifikasi Russel (Newman dkk, 2002)

Kondisi Klinis	Skor PI	Kriteria Penyakit
Normal	0 – 0,2	Normal
<i>Simple</i> gingivitis	0,3 – 0,9	
Awal penyakit periodontal destruktif	0,7 – 1,9	<i>Reversible</i>
Penyakit periodontal destruktif	1,6 – 5,0	
Akhir penyakit periodontal	3,8 – 8,0	<i>Irreversible</i>

### 3.8.3 Pengambilan Sampel GCF

Pengambilan sampel dilakukan pada gigi yang mengalami periodontitis kronis dengan *probing depth* (4 - 6mm) serta gingivitis dengan *probing depth* (2 - 3mm). Sebelumnya, gigi dibersihkan terlebih dahulu dengan *cotton roll* steril untuk menghilangkan plak supragingiva. *Paperpoint* steril ditandai terlebih dahulu sepanjang 5 mm dengan spidol kemudian dimasukkan kedalam poket dan ditunggu

sampai meresap mencapai tanda spidol tadi. Setelah itu *paperpoint* dimasukkan dalam *epENDORF tube* 0,5 ml dan ditutup serta diberi kertas label dimasukkan dalam *ice box* dan disimpan dalam *deep freezer*  $-30^{\circ}\text{C}$  untuk diuji kadar kalsium (Suci, 2012)

#### 3.8.4 Persiapan Sampel

Sampel dimasukkan ke dalam suhu ruang  $18-25^{\circ}\text{C}$ . Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 2200rpm selama 20 menit pada suhu ruang  $18-25^{\circ}\text{C}$ . Kemudian ujung *epENDORF* dilubangi dengan jarum spuit steril dan masukkan pada *epENDORF* yang ukurannya lebih besar. Sampel dilarutkan dengan 0,02 M PBS dengan pH 7,0 sebanyak 50  $\mu\text{L}$ . Diamkan 5 menit lalu disentrifugasi 2200rpm selama 20 menit. *Eppendorf* yang berisi *paperpoint* dikeluarkan. *Eppendorf* yang berisi larutan ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  *distilled water*. Kemudian disentrifugasi 2200 rpm selama 20 menit.

#### 3.8.5 Pengukuran Kadar Kalsium Menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS).

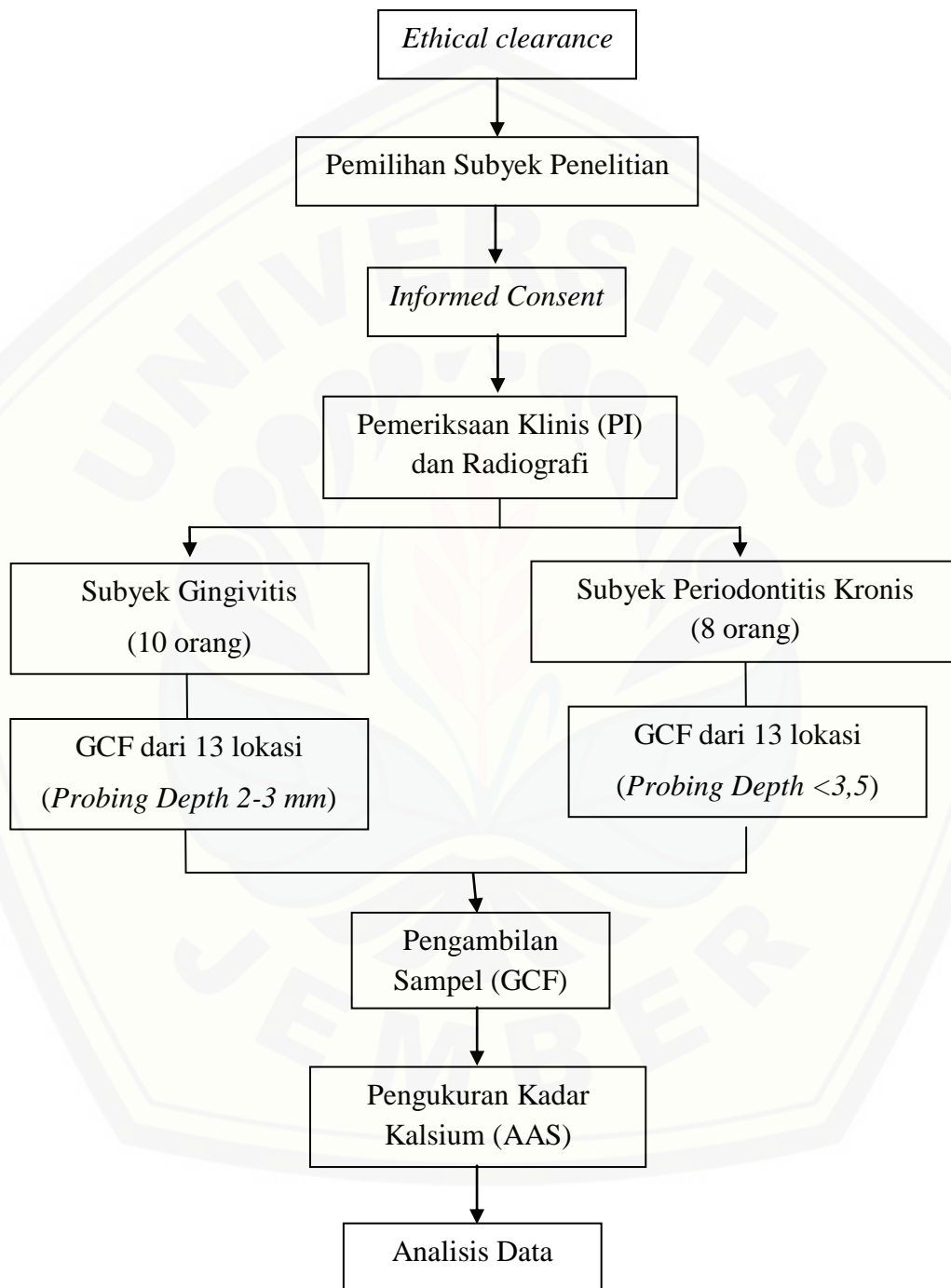
Pengukuran kadar kalsium pada GCF seluruh sampel dilakukan dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS). Menurut Dikri dkk. (2003) pengamatan kadar kalsium dengan AAS dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

- a. Membuat larutan standart yang konsentrasinya diketahui dengan pasti dengan cara mengencerkan larutan standart pekat.
- b. Mengukur absorbansi larutan standart dan sampel dengan AAS
- c. Membuat grafik hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi (kurva kalibrasi)
- d. Membaca konsentrasi sampel pada kurva kalibrasi yang sudah dibuat

### 3.9. Analisis Data

Data hasil penelitian yang didapatkan dilakukan uji normalitas dan homogenitas dengan menggunakan uji *Kolmogorof Smirnov* dan uji *Levene*. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan uji non parametric *Mann-Whitney* untuk menguji perbedaan antara kelompok gingivitis dan kelompok periodontitis kronis.



**3.10. Alur Penelitian**

Gambar 3.3 Bagan Alur Penelitian