

## Kadar Fosfor (P) dalam Cairan Sulkus Gingiva pada Penderita Penyakit Periodontal

### *Phosphorus (P) Level of Gingival Crevicular Fluid of Periodontal Diseases*

Deasy Kusuma Ardiani<sup>1</sup>, Agustin Wulan Suci Dharmayanti<sup>2</sup>, Peni Pujiastuti<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Mahasiswa Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

<sup>2</sup> Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

<sup>3</sup> Bagian Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

Korespondensi: [deasy.ardiani@yahoo.com](mailto:deasy.ardiani@yahoo.com), [agtinwlan.fkg@unej.ac.id](mailto:agtinwlan.fkg@unej.ac.id)

#### Abstrak

**Latar Belakang.** Prevalensi penyakit periodontal mencapai 60% pada masyarakat di Indonesia. Periodontitis kronis merupakan penyakit periodontal yang sering diderita masyarakat Indonesia. Penyebab utama dari penyakit periodontal adalah bakteri plak. Perlekatan dan akumulasi bakteri plak akan mengakibatkan inflamasi dan kerusakan jaringan periodontal diikuti dengan peningkatan aliran cairan sulkus gingiva dan komponen cairan sulkus gingiva, salah satunya yaitu fosfor yang akan dikeluarkan melalui sulkus. Fosfor yang larut bersama aliran darah berasal dari cairan sulkus gingiva yang meningkat dan dikeluarkan melalui *sulcular epithelium*. **Tujuan.** Mengetahui kadar fosfor dalam cairan sulkus gingiva pada penderita periodontitis kronis. **Metode.** Subyek penelitian merupakan pasien yang datang ke RSGM Universitas Jember yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Subyek penelitian yang memiliki kriteria inklusi dibagi menjadi 2 kelompok berdasarkan hasil pemeriksaan intra oral, yaitu penderita gingivitis dan periodontitis kronis. Pengambilan sampel cairan sulkus gingiva dilakukan pada elemen gigi yang mengalami gingivitis atau periodontitis dengan *paperpoint*. Tahap pengukuran kadar fosfor menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 883 nm. Hasil penelitian dianalisis dengan uji *Mann-Whitney*. **Hasil.** Terdapat perbedaan yang signifikan kadar fosfor pada penderita penyakit periodontal. **Kesimpulan.** Kadar fosfor pada penderita periodontitis kronis lebih tinggi daripada penderita gingivitis.

**Kata kunci:** Cairan sulkus gingiva, fosfor, gingivitis, periodontitis kronis, penyakit periodontal

#### Abstract

**Background.** Periodontal disease prevalence is 60% of Indonesian. Chronic periodontitis is one of periodontal disease which affects Indonesian. The primary cause of periodontal disease is plaque bacterial. Adhesions and accumulation of plaque bacterial can cause inflammation and destruction of periodontal tissue following by increasing of gingival crevicular fluid flows and releasing of its components, one of the components is phosphorus that excreted from sulcular epithelium. Soluble phosphorus along blood stream is from gingival crevicular fluid which the flow is increased and excreted by sulcular epithelium. **Objective.** To know phosphorus levels in the gingival sulcus of periodontal diseases subjects. **Methods.** The subjects of the study were patients who came to the Dental Hospital University of Jember and occupied as inclusion and exclusion criteria. The subjects who had inclusion criteria were divided into 2 groups based intra-oral examination; gingivitis and chronic periodontitis. Gingival crevicular fluid sampling was taken from tooth with gingivitis or chronic periodontitis using *paperpoint*. Phosphorus level measurement used UV-Vis Spectrophotometer with a wavelength of 883 nm. The results were analyzed by Mann-Whitney test. **Results.** There was significant different between phosphorous level in gingival I crevicular fluid of periodontal diseases subjects. **Conclusion.** Phosphorus level in the gingival crevicular fluid of chronic periodontitis was higher than gingivitis.

**Keywords:** Chronic periodontitis, gingival crevicular fluid, gingivitis, periodontal disease, phosphorus

## Pendahuluan

Penyakit periodontal dan karies gigi merupakan penyebab utama kehilangan gigi. Prevalensi penyakit periodontal meningkat tiap tahunnya, berdasarkan hasil laporan Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) DEPKES RI 2008 menunjukkan prevalensinya sebesar 46% dari populasi Indonesia<sup>1</sup>, dan pada tahun 2011 meningkat menjadi 60% dari populasi masyarakat di Indonesia<sup>2</sup>. Penyakit periodontal terdiri dari gingivitis dan periodontitis. Gingivitis merupakan inflamasi pada jaringan lunak gingiva, apabila perluasan lesi sudah mencapai tulang alveolar disebut dengan periodontitis. Periodontitis kronis merupakan penyakit periodontal yang sering diderita masyarakat Indonesia. Periodontitis kronis merupakan bentuk umum dari penyakit periodontal destruktif pada orang dewasa yang meluas ke ligamen periodontal dan mengakibatkan kerusakan tulang<sup>3, 4</sup>.

Penyebab utama dari penyakit periodontal adalah bakteri plak. Plak adalah suatu lapisan lunak yang terdiri atas kumpulan mikroorganisme yang berkembang biak diatas suatu matriks yang terbentuk dan melekat erat pada permukaan gigi yang tidak dibersihkan. Plak akan melakukan kolonisasi dan multiplikasi pada gingiva sehingga mengakibatkan terjadinya inflamasi<sup>5</sup>. Perlekatan dan akumulasi bakteri plak akan mengakibatkan kerusakan jaringan periodontal tahap awal. Pada awal terjadinya inflamasi dan kerusakan jaringan periodontal diikuti dengan peningkatan aliran cairan sulkus gingiva dan komponennya<sup>6</sup>.

Cairan sulkus gingiva merupakan pertahanan lokal terpenting pada sulkus gingiva dan memiliki komponen imun yang

lebih kompleks (berasal dari *host* dan bakteri) bila dibandingkan dengan saliva. Saat terjadi peningkatan aliran cairan sulkus gingiva, komponen dari cairan ini juga mengalami peningkatan, salah satunya yaitu fosfor yang akan dikeluarkan melalui sulkus<sup>7</sup>. Dalam keadaan normal cairan sulkus gingiva mengandung fosfor kurang lebih  $1.3 \pm 1.0$  mmol/lit.

Cairan sulkus gingiva terdiri dari bahan serum, mediator inflamasi dan antibodi terhadap bakteri plak. Komposisi cairan sulkus gingiva merupakan hasil interaksi antara biofilm bakteri yang melekat pada permukaan gigi dan sel-sel jaringan periodontal<sup>9</sup>. Cairan sulkus gingiva lebih spesifik dan sensitif dibanding saliva karena tidak terpengaruh oleh kapasitas *buffer* sehingga bisa menjadi indikator yang berguna dalam menentukan kerusakan serta keparahan penyakit periodontal<sup>7, 10</sup>.

Fosfor yang larut bersama aliran darah berasal dari cairan sulkus gingiva yang meningkat dan keluar ke melalui *sulcular epithelium*. Mayoritas fosfor di dalam tubuh terdapat dalam bentuk ion fosfat ( $PO_4$ ) Fosfor berperan penting dalam proses remineralisasi tulang dan gigi serta menjaga keseimbangan asam basa<sup>6, 11</sup>. Fosfor dalam cairan sulkus gingiva tidak berbentuk bebas, tetapi berbentuk ikatan fosfat, kemungkinan ikatan fosfat di dalam cairan sulkus gingiva yaitu *alkaline phosphatase*. *Alkaline phosphatase* (ALP) di dalam cairan sulkus gingiva menunjukkan adanya kerusakan tulang yang berasal dari ligamen periodontal, tulang alveolar maupun sementum<sup>12</sup>. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar fosfor dalam cairan sulkus gingiva pada penderita penyakit periodontal.

## Metode Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Penelitian ini mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Subyek penelitian merupakan pasien yang datang ke RSGM Universitas Jember. Subyek penelitian harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi dalam penelitian yaitu subyek penelitian berusia antara 35-45 tahun, berjenis kelamin perempuan dan laki-laki, tidak sedang hamil atau menstruasi, tidak menggunakan gigi tiruan, tidak memiliki kelainan sistemik dan tidak merokok. Kriteria eksklusi meliputi subyek tidak bersedia untuk diikutsertakan dalam penelitian, terdapat karies pada gigi yang akan diambil cairan sulkus gingivanya, menggunakan obat kumur, antibiotik, atau obat-obatan minimal 6 bulan terakhir dan sedang dalam perawatan periodontal 6 bulan terakhir.

Subyek penelitian harus mengisi dan menyetujui *informed consent*. Subyek penelitian dilakukan pemeriksaan intra oral, yaitu menghitung jumlah gigi yang tersisa pada rongga mulut (minimal 20 gigi tersisa), mengukur derajat kehilangan perlekatan, perdarahan saat *probing*, kedalaman poket dan foto rontgen untuk mengetahui adanya resorpsi tulang alveolar. Penentuan tingkat keparahan penyakit periodontal yaitu gingivitis atau periodontitis kronis pada individu didasarkan pada Periodontal Indeks (PI) Modifikasi Russel.

Subyek penelitian yang memiliki kriteria inklusi dibagi menjadi 2 kelompok berdasarkan hasil pemeriksaan intra oral, yaitu penderita gingivitis dan periodontitis kronis. Kelompok gingivitis yaitu subyek

penelitian dengan skor Periodontal Indeks (PI) 0-0,7, tidak adanya poket periodontal, kedalaman *probing* tidak lebih dari 3 mm, tidak ada perdarahan saat *probing*, serta pada gambaran radiografis tidak ada resorpsi tulang alveolar. Kelompok periodontitis kronis yaitu subyek penelitian dengan skor Periodontal Indeks (PI) 0,7-8,0, kedalaman *probing* lebih dari 3 mm, adanya kehilangan perlekatan dan hasil radiografi terjadi resorpsi tulang alveolar.

Pengambilan sampel cairan sulkus gingiva dilakukan pada elemen gigi yang mengalami gingivitis atau periodontitis dengan *paperpoint*. Sebelumnya, gigi dibersihkan dengan *cotton roll* steril untuk menghilangkan plak supragingiva. *Paperpoint* steril dimasukkan ke dalam poket dan dibiarkan selama 60 detik. *Paperpoint* yang telah diaplikasikan dalam sulkus gingiva dimasukkan dalam *eppendorf tube* 0,5 mL dan ditutup serta diberi solatip paraffin dimasukkan dalam *ice box* dan disimpan dalam *deep freezer* dengan suhu  $-30^{\circ}\text{C}$  untuk siap diuji kadar fosfor.

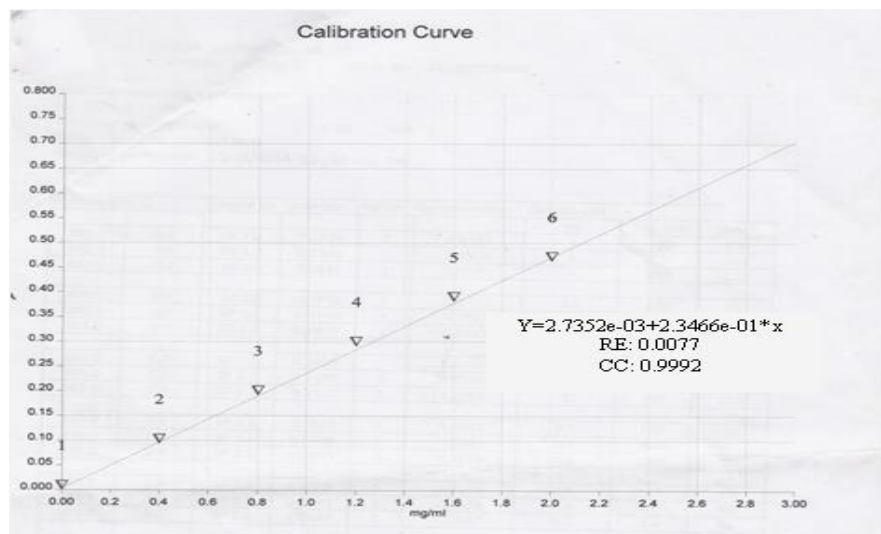
*Eppendorf tube* yang berisi *paperpoint* dikondisikan pada suhu ruang  $18-25^{\circ}\text{C}$ . *Eppendorf* disentrifugasi dengan kecepatan 2200 rpm selama 20 menit pada suhu ruang  $18-25^{\circ}\text{C}$ . Kemudian ujung *eppendorf* dilubangi dengan jarum spuit steril dan *eppendorf tube* tersebut dimasukkan pada *eppendorf* berukuran 1,5 mL. *Paperpoint* dalam *eppendorf tube* diberi 0,02 M PBS pH 7,0-7,2 sebanyak  $50\mu\text{L}$  dan diamkan 5 menit lalu disentrifugasi dengan kecepatan 2200 rpm selama 20 menit. Larutan yang tertampung pada *eppendorf* 1,5mL ditambah dengan  $100\mu\text{L}$  *distilled water*, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2200 rpm selama 20 menit.

Tahap pengukuran kadar fosfor menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 883 nm. Ada 2 tahap dalam pengukuran kadar fosfor yaitu pembuatan larutan standar fosfor dan penyiapan sampel untuk penentuan kadar fosfor. Dalam tahap pembuatan larutan standar fosfor yaitu larutan standard fosfor (Merck) masing-masing 0,2; 0,4; 0,6; 0,8;

dan 1 mL diletakkan ke dalam tabung reaksi kemudian mengencerkan sampai volume mencapai 10 mL. Setelah itu, larutan tersebut ditambahkan 1 mL larutan ammonium molibdat ( $H_24Mo_7N_6O_{24}$ ) dan 0,4 mL larutan timah klorida ( $SnCl_2$ ) 0,25%. Kemudian diukur absorbansi larutan standar untuk mendapatkan kurva standard (Tabel 1 dan Gambar 1).

**Tabel 1. Konsentrasi dan absorbansi larutan standard**

Panjang gelombang	Sample ID	Konsentrasi (mg/ml)	Nilai Ord.
883	Blk.	0.0000	-0.0000
883	Std1.	0.4000	0.0933
883	Std2.	0.8000	0.1924
883	Std3.	1.2000	0.2914
883	Std4.	1.6000	0.3821
833	Std5.	2.0000	0.4594



**Gambar 1.** Kurva Kalibrasi Larutan Standard

Keterangan

RE: Residual Error

CC: Correlation Coefficient

Dalam tahap persiapan sampel untuk penentuan kadar fosfor, semua sampel cairan sulkus gingiva ditambahkan dengan aquabides sampai volume 1,5 mL, kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex*. Larutan cairan sulkus gingiva tersebut diambil 1 mL, ditambah 4 mL aquadest steril dan 5 mL larutan pereaksi fosfor. Larutan pereaksi ini merupakan pewarna dari fosfor yang tersusun atas *arkorbit acid*,  $H_2SO_4$ , amonium molibdat ( $H_{24}Mo_7N_6O_{24}$ ) dan air. Kemudian larutan sampel dibiarkan selama 15 menit dalam suhu ruang dengan tujuan terjadi reaksi antara fosfor dengan ammonium molibdat membentuk asam fosfomolibdat yang bila terinduksi oleh timah klorida akan menghasilkan warna biru. Perubahan warna biru dari larutan sampel diperkirakan larutan mengandung fosfor, dimana intensitas perubahan warna biru tersebut berbanding

lurus dengan jumlah fosfor yang terkandung dalam larutan.

Larutan sampel yang berwarna biru dimasukkan ke dalam alat spektrofotometer untuk diukur kadar fosfornya sesuai dengan larutan standard. Spektrofotometer akan mengukur absorbansi dari perubahan warna biru dari larutan sampel tersebut. Spektrofotometer yang digunakan yaitu spektrofotometer UV/VIS 21D dengan panjang gelombang 883 nm. Nilai absorbansi yang keluar dimasukkan ke dalam persamaan linier yang diperoleh dari kurva kalibrasi larutan standard fosfor yaitu  $Y=2.7352e-03+2.3466e-01*x$ . Hasil yang diperoleh dari persamaan tersebut merupakan kadar fosfor dalam bentuk fosfat, untuk memperoleh nilai kadar fosfor hasil tersebut harus dikonversikan dengan persamaan  $P= 0,3261 PO_4$ . Hasil penelitian dianalisis dengan uji *Mann-Whitney U*.

## Hasil Penelitian

**Tabel 1. Rata-rata dan simpangan baku kadar fosfor dalam cairan sulkus gingiva pada penderita gingivitis dan periodontitis (ppm)**

Kelompok	N	Mean ± SD
Gingivitis	13	35,47 ± 21,29
Periodontitis	13	58,22 ± 13,41

Keterangan:

N : Jumlah sampel

Mean : Rata-rata

SD : Simpangan baku

**Tabel 2. Hasil uji statistik *Mann-Whitney U***

Kelompok	Mann-Whitney U	Sig.
Gingivitis dan Periodontitis	24,000	0,001

**Tabel 3. Data sampel penelitian**

Kode	Wave length	PD	PI Elemen	P	Kelompok
D5	883	1	2	61,3	Gingivitis
C10	883	1	2	28,98	Gingivitis
C5	883	3	2	30,01	Gingivitis
D4	883	2	1	28,82	Gingivitis
C3	883	3	2	6,75	Gingivitis
A3	883	1	2	23,11	Gingivitis
B3	883	2	2	6,55	Gingivitis
A10	883	3	2	56	Gingivitis
D3	883	2	2	3,76	Gingivitis
B2	883	1	1	54	Gingivitis
A11	883	2	2	54,6	Gingivitis
A13	883	3	2	54,6	Gingivitis
B7	883	2	2	54	Gingivitis
C1	883	3,5	4	38,19	Periodontitis
B8	883	4	6	67	Periodontitis
C8	883	3,5	4	30,92	Periodontitis
A5	883	4	6	70	Periodontitis
A9	883	4	4	70	Periodontitis
D10	883	5	6	67	Periodontitis
C4	883	5	6	64	Periodontitis
A8	883	3	4	63	Periodontitis
E11	883	4	6	65	Periodontitis
B6	883	3,5	4	65,6	Periodontitis
C12	883	3	4	39,12	Periodontitis
A6	883	3,5	4	64	Periodontitis
D2	883	3,5	4	53,03	Periodontitis

Hasil penelitian menunjukkan kadar fosfor dalam cairan sulkus gingiva pada penderita periodontitis kronis lebih tinggi dari pada penderita gingivitis (Tabel 1). Hasil uji statistik *Mann-Whitney* menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata kadar fosfor penderita periodontitis kronis dan gingivitis (Tabel 2).

### Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan kadar fosfor dalam cairan sulkus gingiva pada penderita periodontitis kronis lebih tinggi dari pada penderita gingivitis. Apabila dikonversikan dalam satuan mmol/lit, hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar fosfor penderita gingivitis dan penderita periodontitis lebih tinggi dari kadar fosfor normal di cairan krevikular gingiva yaitu 1,15 mmol/lit dan 1,88 mmol/lit, dimana kadar fosfat normal dalam cairan krevikular gingiva yaitu 1,3 mmol/lit atau kalau dikonversikan menjadi kadar fosfor yaitu 0,424 mmol/lit. Hal ini kemungkinan disebabkan karena pada periodontitis sudah mengalami kerusakan sampai jaringan keras tulang alveolar, sedangkan gingivitis hanya sebatas jaringan lunak gingiva. Kerusakan yang sudah mencapai tulang alveolar memicu kelarutan komponen anorganik lebih banyak, salah satunya fosfor yang akan dikeluarkan melalui sulkus<sup>13</sup>.

Hasil penelitian kadar fosfor pada gingivitis dan periodontitis menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa kadar fosfor pada periodontitis kronis lebih banyak dibandingkan dengan gingivitis akibat adanya kerusakan yang sudah mencapai tulang alveolar. Pada saat inflamasi, terjadi

pembesaran ruang antar kedua epitel yaitu *junctional* dan *sulcular epithelium*<sup>11</sup>. Komponen anorganik yang dikeluarkan menyebabkan kenaikan laju aliran cairan sulkus gingiva. Laju aliran cairan sulkus gingiva dapat meningkat 30 kali lipat pada penderita periodontitis dibandingkan dengan sulkus yang masih sehat<sup>7</sup>. Laju cairan sulkus gingiva berkaitan dengan tingkat inflamasi gingiva dan berkisar antara 0,05-0,20 mL per menit dan total aliran cairan sulkus gingiva adalah antara 0,5 dan 2,4  $\mu$ L per hari<sup>14</sup>.

Cairan sulkus gingiva merupakan cairan yang berasal dari pembuluh darah gingiva. Peningkatan volume cairan sulkus gingiva tersebut juga berhubungan dengan peningkatan permeabilitas pembuluh darah pada gingiva. Hal ini disebabkan produk bakteri yaitu lipopolisakarida berpenetrasi melalui *juntional ephitelium* yang kemudian memicu terbentuknya sitokin inflamasi seperti IL-1 dan PGE2 yang dapat meregulasi terjadinya inflamasi dan menyebabkan permeabilitas pembuluh darah meningkat sehingga cairan plasma berdifusi ke jaringan dan pada akhirnya menembus *sulcular epithelium* yang semipermeabel dalam jumlah yang banyak. Hal ini kemungkinan mengakibatkan cairan sulkus gingiva dan salah satu komponennya yaitu fosfor meningkat saat terjadi inflamasi, sehingga dapat dijadikan sebagai salah satu *diagnostic marker* penyakit periodontal<sup>11</sup>.

Hasil penelitian menunjukkan ion yang terdeteksi di spektrofotometer dalam bentuk ikatan fosfat (PO<sub>4</sub>). Untuk mendapatkan hasil dalam bentuk fosfor harus dikonversikan terlebih dahulu yaitu P= 0,3261 PO<sub>4</sub>. Fosfor dalam cairan sulkus gingiva kemungkinan tidak berbentuk bebas, tetapi berbentuk ikatan fosfat

diantaranya *acid phosphatase*, *alkaline phosphatase* dan *pyrophosphatase*. Data penelitian ini memiliki pH yang basa (data tidak dipublikasikan), sehingga kemungkinan ikatan fosfat yang dilepaskan adalah *alkaline phosphatase* (ALP). *Alkaline phosphatase* bekerja optimal pada pH yang basa karena terdapat gugus OH pada rantai kimianya. pH berkisar antara 8 sampai dengan 10, tetapi sel-sel hidup hanya mampu mencapai pH dibawah 8<sup>15</sup>. Kehadiran ALP dalam saliva dan cairan sulkus gingiva biasanya menunjukkan peradangan dan atau kerusakan jaringan periodontal yang berhubungan dengan kedalaman poket serta berperan penting dalam proses kalsifikasi. *Alkaline phosphatase* dalam saliva menunjukkan adanya kalkulus, sedangkan pada cairan sulkus gingiva menunjukkan adanya kerusakan tulang yang berasal dari jaringan periodontal<sup>12</sup>. Ishikawa dan Cimasoni menunjukkan bahwa tingkat enzim dalam cairan sulkus gingiva adalah 3 kali lebih tinggi daripada di serum dan korelasi yang signifikan ditunjukkan antara konsentrasi ALP di cairan sulkus gingiva dan kedalaman poket<sup>16</sup>.

Selain itu, hasil penelitian menunjukkan data tidak homogen. Hal ini kemungkinan karena waktu yang diperlukan *paperpoint* untuk menyerap cairan sulkus gingiva berbeda-beda. Setiap *paperpoint* ada yang mencapai titik puncak penyerapan ada yang tidak, hal ini nantinya akan mempengaruhi konsentrasi dari cairan sulkus gingiva.

Data yang tidak homogen bisa juga disebabkan karena ketidaktepatan alat ukur pada saat pengenceran yang disebabkan oleh pengkalibrasian alat yang tidak rutin dan berkala.

### Kesimpulan

Penelitian ini menunjukkan bahwa kadar fosfor pada penderita periodontitis kronis lebih tinggi dari pada gingivitis. Kadar fosfor dalam cairan sulkus gingiva penderita penyakit periodontal lebih tinggi dari pada kadar normal fosfor dalam cairan sulkus gingiva. Akan tetapi, penelitian perlu dilakukan kajian lebih lanjut mengenai pengambilan cairan sulkus gingiva dengan *paperpoint* guna mendapatkan volume yang sama sehingga hasil penelitian lebih seragam atau homogen.

### Daftar Pustaka

1. Suci, Dharmayanti, A. W., 2012. Deoxyripyridinoline Level in Gingival Crevicular Fluid as Alveolar Bone Loss Biomarker in Periodontal Disease. *Dental Journal*, 45(2): 102-106.
2. Petersen, P. E. Continuous improvement of oral health in the 21st century – the approach of the WHO Global Oral Health Programme. The World Oral Health Report 2003.
3. Albandar, J. M. dan Rams, T. E., 2000 2002. Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. *Periodontology*, 29(1): 7-10.



4. Dabra, Sarita., Singh, Preetinder. 2012. Evaluating the Levels of Salivary Alkaline and Acid Phosphatase Activities as Biochemical Markers for Periodontal Disease: a Case Series. *Dental Research Journal*, 9(1): 41-45.
5. Teughels, Wim., Durukan, Andaç., Ozcelik, Onur., Pauwels, Martine., Quirynen, Marc., Haytac, Mehmet Cenk. 2013. Clinical and microbiological effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *Journal of Clinical Periodontology*, 40(11): 1025-1035.
6. Newman, M. G., Takei, H. H., dan Carranza, F. A. *Carranza's Clinical Periodontology Ninth Edition*. Philadelphia. 2002.
7. Uitto, V. 2000 2003. Gingival Crevice Fluid— an Introduction. *Periodontology*, 31: 9-11.
8. Beltrami, D. Gingival Crevicular Fluid. 2007. (Online). (<http://flipper.diff.org/app/items/379>, diakses tanggal 12 September 2015)
9. Singh, Pritma., Gupta, Narender Dev., Bey, Afshan., dan Khan, Saif. 2014. Salivary TNF-alpha: A potential marker of periodontal destruction. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 18(3): 306-310.
10. Rahnama, Mansur., Czupkalo, Lukasz., Kozicka-Czupkalo, Maryla., Lobacz, Michal. 2014. Gingival Crevicular Fluid-Composition and Clinical Importance in Gingivitis and Periodontitis. *Journal Public Health*, 124(2): 96-98.
11. Reddy, S. *Essentials of Clinical Periodontology and Periodontics*. New Delhi: Jaypee Brothers Publishers. 2008.
12. Taba, M., Janet, Kinney., Amy, S., Kim, William., V, Giannobile. 2005. Diagnostic Biomarkers for Oral and Periodontal Diseases. *Dental Clinics of North America*, 49(3): 551-571.
13. Di Rienzo, J. M. dan McKay, T. L. Identification and Characterization of Genetic Cluster Groups of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Isolated from The Human Oral Cavity. 2014. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(1): 75-81.
14. Alfaqeeh, S. A. dan Anil, S. 2014. Gingival Crevicular Fluid Flow Rate and Alkaline Phosphatase Level as Potential Marker of Active Tooth Movement. *Oral Health Dental Manag*, 13(2): 458-63.
15. Pushparani, D. S. 2015. High Acid Phosphatase Level in the Gingival Tissues of Periodontitis Subjects. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 6(2): 59-63.
16. Usal, Berrin., Saygun, Isil., Daltaban, Ozlem., Bal, Belgin., dan Bolu, Erol. 2008. The Relationship between Periodontal Status and Alkaline Phosphatase Levels in Gingival Crevicular Fluid in Men with Hypergonadotropic Hypogonadism. *Yonsei Medical Journal*, 49(1): 71-78.