**UJI DIABETES MELITUS SECARA NON-INVASIF BERBASIS KADAR DAN PROFIL PROTEIN SALIVA**

Brian Umbu Rezi Depamede, Ni Nyoman Geriputri, I Gede Yasa Asmara

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS MATARAM

**Abstract**

**Background** : Diabetes is a metabolic disease characterized by hyperglycemia state. It takes a healthy lifestyle and regular checks of blood glucose. Blood glucose tests is performed using blood. It is an invasive procedure which provokes pain, so it requires a non-invasive procedures such as salivary examination. This study was conducted to determine the differences levels and profiles of salivary protein in healthy and diabetics individuals.

**Method** : This study was an comparative study. The sample was the saliva of 20 people that was divided into 2 groups. Groups of diabetics (D), and a group of normal individuals (N). The collected saliva was centrifuged and the supernatant was taken, and measurement process of the saliva protein levels was conducted using NanoDrop spectrophotometer. Salivary protein profiles were analyzed using SDS-PAGE. Statistical test between the healthy and diabetes individuals saliva protein levels was performed by Independent Sample T-test.

**Result** : The average amount of saliva protein levels in group of patients with diabetes was 2932±526μg/ml and in group of non-diabetic individuals was 2005±253μg/ml. The increase was not statistically significant (P> 0.05). In the salivary protein profiles there was 3 peptide band with a molecular weight between 25-35kDa in diabetic individuals.

**Conclusion** : There was a tendency for increased levels of salivary proteins in the diabetic group. However, this increase was not statistically significant. There was a differences of salivary peptide band between diabetic and normal individuals.

**Keywords** : Diabetic, Saliva, Protein Levels, Protein Profiles, Non-invasive Test.

**Abstrak**

**Latar belakang** : Diabetes merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan keadaan hiperglikemia. Diperlukan pola hidup sehat dan pemeriksaan rutin gula darah. Pemeriksaan glukosa darah dilakukan dengan proses pengambilan darah. Cara ini merupakan tindakan invasif yang memprovokasi nyeri, sehingga diperlukan prosedur non-invasif lainnya seperti pemeriksaan saliva. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan kadar dan profil protein saliva pada individu sehat dan penderita diabetes.

**Metode** : Penelitian ini merupakan studi komparatif. Sampelnya adalah saliva yang berasal dari 20 orang dan terbagi menjadi 2 kelompok. Kelompok penderita diabetes (D), dan kelompok individu normal (N). Saliva yang terkumpul disentrifugasi dan diambil supernatannya, lalu dilakukan proses pengukuran kadar protein saliva menggunakan *spectrophotometer NanoDrop*. Profil protein saliva dianalisis menggunakan SDS-PAGE. Uji statistik kadar protein saliva antara individu sehat dan penderita diabetes dilakukan dengan uji *Independent Sample T-test.*

**Hasil** : Jumlah rata-rata kadar protein saliva pada kelompok penderita diabetes sebesar 2932±526μg/ml dan kelompok individu non-diabetes 2005±253μg/ml. Secara statistik peningkatan tersebut tidak signifikan (P>0,05). Pada profil protein saliva ditemukan 3 *band* peptida dengan berat molekul antara 25-35kDa pada penderita DM.

**Simpulan** : Terdapat kecenderungan adanya peningkatan kadar protein saliva pada kelompok DM. Namun, secara statistik peningkatan tersebut tidak signifikan. Pada profil protein ditemukan adanya perbedaan *band* peptida saliva antara penderita DM dan individu normal.

**Kata kunci** : Diabetes, Saliva, Kadar dan Profil Protein, Uji Non-Invasif.

**PENDAHULUAN**

Perubahan gaya hidup masyarakat pada zaman modern ini menyebabkan semakin meningkatnya risiko terserangnya penyakit degeneratif dan penyakit tidak menular (*non-communicable disease*), seperti penyakit jantung koroner (PJK), hipertensi, diabetes, dan hiperlipidemia.1 Diabetes merupakan sekelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan keadaan hiperglikemia akibat gula dalam darah yang tidak dapat gunakan oleh tubuh dan ketidakmampuan organ pankreas dalam memproduksi hormon insulin dalam jumlah yang cukup, serta bisa juga disebabkan karena tubuh tidak dapat menggunakan insulin secara efektif.2

Indonesia merupakan negara dengan jumlah pasien diabetes tertinggi ketujuh di dunia. Pada tahun 2012 prevalensi penderita DM relatif rendah (4,8%), namun diprediksi akan meningkat menjadi 21,3 juta penderita diabetes pada tahun 2030. 3,4

Perkembangan ilmu dan teknologi kedokteran telah banyak menyelamatkan nyawa manusia. Perkembangan tersebut terjadi dalam penegakkan diagnosis hingga proses terapeutik. Penegakkan diagnosis dini dengan mencari faktor risiko melalui skrining atau tes penyaring dapat berdampak pada prognosis yang lebih baik serta biaya medis yang lebih rendah. Pemeriksaan penyaring dapat dikerjakan dengan pemeriksaan glukosa darah puasa atau sewaktu atau tes toleransi glukosa oral (TTGO).5 Pemeriksaan glukosa darah tersebut dilakukan dengan proses pengambilan darah. Cara ini merupakan tindakan invasif yang memprovokasi nyeri atau rasa tidak nyaman pada pasien. Prosedur lain yang dapat digunakan sebagai pemeriksaan non-invasif penyaring DM adalah *urine dipstick*, dan pemeriksaan saliva yang merupakan metode baru yang sedang berkembang dan dalam *trend* penelitian terkini.6,7

Saliva adalah cairan kompleks yang berperan sangat penting dalam rongga mulut, yang dihasilkan oleh kelenjar saliva mayor dan minor pada kavitas oral. Komponen utama saliva terdiri atas 99% air. Komponen lainnya terdiri dari elektrolit, mukus, protein, enzim, serum albumin, dan beberapa asam amino. Saliva juga mengandung imunoglobulin.8,9

Saliva dapat digunakan untuk mendiagnosis penyakit sistemik, pemantauan kesehatan umum, dan sebagai indikator risiko untuk penyakit yang berhubungan erat dengan kesehatan mulut.8 Terdapat berbagai penelitian yang menganalisis komponen-komponen yang berbeda dalam saliva sebagai pemeriksaan penyaring DM seperti membandingkan saliva pasien diabetes dengan kontrol menggunakan subjek penelitian ras Asia dan Arab, yang menunjukkan bahwa senyawa 1,5 anhidroglusitol dalam saliva merupakan marker yang spesifik untuk diabetes.10 Beberapa penelitian lainnya menganalisis hubungan konsentrasi glukosa serum dengan konsentrasi glukosa saliva, menghitung kadar protein, asam sialik, serta melihat konsentrasi DNA dan RNA antara pasien diabetes dan pasien non-diabetes.7,8

Terdapat data yang berbeda dalam literatur mengenai konsentrasi total protein dalam saliva pasien dengan diabetes. Penelitian yang menunjukkan bahwa konsentrasi total protein dalam saliva penderita diabetes lebih rendah adalah empat penelitian, sementara yang meningkat secara signifikan sebanyak lima penelitian, dan yang menunjukkan tidak ada perbedaan antara penderita dengan yang normal sebanyak empat penelitian. Informasi ini menunjukkan bahwa penelitian tentang kadar protein pada saliva penderita diabetes masih perlu dikaji terus secara intensif.11

Dari beberapa hasil penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa saliva mempunyai potensi sebagai alternatif spesimen pengujian non-invasif yang praktis. Di Indonesia, informasi tentang penggunaan saliva untuk pengujian pasien diabetes masih terbatas. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian uji diabetes secara non-invasif berbasis kadar dan profil protein saliva.

**METODOLOGI PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan studi komparatif. Sampelnya adalah saliva yang berasal dari 20 orang dan terbagi menjadi 2 kelompok, kelompok penderita diabetes (D) dan kelompok individu normal (N) yang diambil dari Instalasi Rawat Jalan Rumah Sakit Umum Provinsi NTB. Pengambilan sampel dilakukan secara *simple random sampling*. Variabel dalam penelitian ini meliputi variabel bebas yakni kadar protein saliva dan profil protein saliva, serta variabel terikat yakni Diabetes Melitus.

Prosedur penelitian terdiri dari beberapa tahap yakni pengambilan sampel sebanyak 2 ml dari setiap individu*.* Sampel kemudian dibawa ke Laboratorium Imunologi Fakultas MIPA Universitas Mataram dan dianalisis pada hari yang sama atau dalam waktu 24 jam. Sampel diambil sebanyak 0,5 ml, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 8.000 rpm selama 5 menit dan setelah itu supernatan yang terkumpul dihitung kadar protein saliva menggunakan spektrofotometer “nanodrop” pada OD280. Profil protein saliva diperiksa menggunakan SDS-PAGE. Uji statistik dilakukan dengan uji *Independent Sample T-test.*

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Hasil Penelitian**

Data demografi dari sampel penelitian disajikan dalam Tabel 1 dan 2.

Tabel 1 Distribusi pasien berdasarkan jenis kelamin.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Jenis kelamin** | **Jumlah (Orang)** | **Persentase (%)** |
| Laki-laki | 5 | 25,0 |
| Perempuan  | 15 | 75,0 |
| **Total**  | **20** | **100,0** |

Dari Table 1, terlihat bahwa pasien perempuan (75,0%) lebih banyak dibandingkan dengan laki-laki (25,0%).

Tabel 2 Distribusi pasien berdasarkan kelompok umur. 12

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Umur****(Tahun)** | **Jumlah (Orang)** | **Persentase (%)** |
| 20-29 | 8 | 40,0 |
| 30-39 | 2 | 10,0 |
| 40-49 | 5 | 25,0 |
| 50-59 | 5 | 25,0 |
| **Total** | **20** | **100** |

Dari Table 2, mengggambarkan ditribusi umur sampel terbanyak yaitu kelompok umur 20-29 tahun (40,0%) dan kelompok usia terendah yaitu kelompok umur 30-39 tahun (10,0%).

Parameter yang digunakan peneliti dalam penelitian ini adalah kadar dan profil protein saliva. Berikut hasil pengukuran kadar protein saliva individu normal (N) dan penderita diabetes (DM) dengan metode spektrofotometer “nanodrop” pada OD280 disajikan pada Grafik 1.



Grafik 1 Data Rerata Protein Saliva

Dari Grafik 1 tersebut dapat dilihat bahwa rerata kadar protein saliva dari masing-masing kelompok berdasarkan 10 sampel menunjukkan pada kelompok DM yaitu sebesar 2932±526 μg/ml. Rerata kadar protein pada kelompok Non-DM sebesar 2005±253 μg/ml.

Hasil pengamatan profil saliva individu normal (N) dan penderita diabetes (DM) menggunakan metode gel elektroforesis (SDS-PAGE) disajikan pada Gambar 1a dan 1b.





Gambar 1a dan 1b Gambaran Profil Protein Menggunakan SDS-PAGE

Berdasarkan Gambar 1a dan 1b, terlihat bahwa pada profil protein saliva kelompok DM memiliki 3 *band* peptida pada daerah berat molekul dengan kisaran 25-35 kDa (tanda panah) yang tidak terdapat pada kelompok non DM.

Dari hasil uji statistik menggunakan uji *Shapiro Wilk* didapatkan bahwa data kedua kelompok memiliki distribusi normal. Oleh karena itu untuk uji hipotesis yang digunakan adalah uji parametric *Independent-Samples T Test*. Dari hasil uji hipotesis didapatkan nilai sig 0,13 (p>0,05). Hal inimenunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar protein saliva pada kelompok DM dengan kelompok non DM.13

**Pembahasan**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan tujuan utama untuk mengkaji kemungkinan penggunaan kadar dan profil protein saliva sebagai bahan uji non-invasif pada penderita diabetes melitus. Pada penderita DM terjadi keadaan hiperglikemi kronik yang mengganggu metabolisme karbohidrat, lemak dan protein.14

Terdapat data yang berbeda dalam literatur mengenai kadar total protein dalam saliva pasien dengan diabetes. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kadar total protein dalam saliva penderita diabetes lebih rendah, ada yang meningkat secara signifikan, atau tidak adanya perbedaan dengan kelompok normal.11

Kumar8, melaporkan kadar protein saliva penderita DM rata-rata lebih rendah (1,9433 mg/ml) dibandingkan saliva subjek sehat (2,4460 mg/ml). Prathibha *et al.*15, menemukan bahwa kadar total protein pada saliva pederita DM (877,29±603,84 g/l) lebih tinggi dibandingkan yang Non-DM (424,46±237,34 g/l). Pada penelitian Hasan *et al.*16, yang dilakukan di Baghdad, Iraq, mereka membandingkan kadar protein antara kelompok DM tipe 1, DM tipe 2, dan normal. Ditemukan bahwa kadar protein pada kelompok DM tipe 1 (5,850±0,391 g/dl) dan tipe 2 (5,745±0,262 g/dl) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok normal (7,680±0,557 g/dl).

Pada penelitian Mussavira *et al.*14, ditemukan total protein pada pasien DM (26 mg/dL) lebih tinggi dibandingkan dengan yang normal (14,7 mg/dL). Penelitian Lasisi dan Fassanmade17 mengenai perbedaan kadar glukosa dan elektrolit pada individu dengan periodontitis, menunjukkan bahwa penderita DM dengan periodonitis (1,4±0,8 mg/dl) memiliki kadar protein total lebih tinggi dibandingkan yang Non-DM (1,1±0,8 mg/dl). Sedangkan penderita DM tanpa periodonitis (1±0,9 mg/dl) tidak memiliki perbedaan signifikat kadar protein yang Non-DM.

Pada penelitian ini berdasarkan data pada Grafik 1, terlihat bahwa nilai kadar protein saliva pada kelompok DM lebih tinggi dibandingkan pada kelompok non DM. Jumlah rata-rata kadar protein saliva pada kelompok penderita diabetes sebesar 2932±526 μg/ml dan kelompok individu non-diabetes 2005±253 μg/ml. Berdasarkan nilai rerata kedua kelompok tersebut, terdapat kecenderungan adanya peningkatan kadar protein saliva pada kelompok DM. Namun, secara statistik peningkatan tersebut tidak signifikan (P>0,05). Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Busato *et al.*18, Lasisi dan Fasanmade17, Prathibha *et al.*15, Mussavira *et al*14.

Peneliti menduga beberapa hal yang menyebabkan terjadinya perbedaan hasil pengukuran kadar protein saliva, yaitu bahwa penelitian dilakukan pada berbagai tahap penyakit dan jenis diabetes. Salah satunya komplikasi kesehatan mulut seperti pada penelitian Lasisi dan Fasanmade17, ditemukan bahwa penderita DM dengan periodonitis memiliki kadar protein total lebih tinggi dibandingkan yang Non-DM. Sedangkan, penderita DM tanpa periodonitis tidak memiliki perbedaan signifikat kadar protein yang Non-DM. Menurut Vukosavljevic *et al.*19, terdapat hubungan antara penyakit DM dengan kesehatan mulut. Penderita diabetes memiliki resiko 2-3 kali lebih tinggi untuk mengalami komplikasi kesehatan mulut dibandingkan individu normal. Rongga mulut memiliki ekosistem mikroba dimana terdapat lebih dari 700 spesies bakteri yang berperan dalam menjaga kesehatan mulut. Pada penyakit DM terjadi peningkatan bakteri patogen yang menyebabkan proses adhesi mikroba yaitu kolonisasi bakteri dan pembentukkan biofilm yang memicu timbulnya komplikasi kesehatan mulut. Saliva memiliki komponen protein yang berperan dalam mengendalikan proses adhesi mikroba tersebut.19 Kadar protein saliva juga dipengaruhi oleh jenis dan metode pengumpulan saliva, metode stimulasi, aliran, pengukuran, variasi diurnal, kecepatan dan durasi sentrifugasi.11

Selain menilai kadar protein saliva, pada penelitian Kumar8 juga dilakukan pemeriksaan profil protein saliva antara penderita DM dengan yang Non-DM menggunakan SDS-PAGE. Kumar8 menemukan *band* peptida pada berat molekul lebih dari 97,4 kDa pada individu sehat yang tidak ditemukan pada penderita DM. Sedangkan, dari penelitian oleh Hoe *et al.*20 dan Huang21 yang dikutip Kumar8 disebutkan terdapat *band* peptida pada wilayah berat molekul dibawah 56 KDapada penderita DM yang tidak ditemukan pada individu normal. Berdasarkan adanya kecenderungan meningkatnya kadar protein total dalam saliva penderita DM, maka peneliti melakukan analisis lebih lanjut terhadap profil protein menggunakan SDS-PAGE.

Pada penelitian ini ditemukan bahwa terdapat 3 *band* peptida pada wilayah berat molekul 25-35 kDa pada semua sampel DM yang tidak ditemukan pada individu normal. Protein dengan berat molekul rendah tersebut mendukung hasil penelitian yang dilakukan oleh Hoe *et al.*20 dan Huang21 yang dikutip Kumar8, tetapi terdapat perbedaan ukuran berat molekul. Sejauh ini belum ada laporan khusus mengenai peptida dengan berat molekul 25-35 kDa pada saliva penderita DM. Ukuran yang mendekati berat molekul tersebut dilaporkan oleh Chauhan *et al.*22, pada serum pasien penderita DM tipe II, sebagai peptida novel dengan berat 43 kDa. Lebih lanjut Chauhan *et al.*22, melaporkan bahwa protein 43 kDa ditemukan pada ekstrak hati tikus yang diinduksi diabetes menggunakan *alloxen,* sementara pada tikus sehat (kontrol) tidak ditemukan. Protein tersebut memiliki sifat-sifat antara lain aktivitas protease, antiproliferasi sel, dan menekan enzim-enzim oksidatif. Apakah peptida yang ditemukan pada saliva dalam penelitian ini serupa dengan protein yang dilaporkan oleh Chauhan *et al.*22, diperlukan penelitian lebih lanjut. Karena pengukuran berat molekul menggunakan metode SDS-PAGE memberikan hasil dengan ukuran relatif.

**SARAN DAN KESIMPULAN**

 Berdasarkan penelitian tentang uji diabetes berbasis kadar dan profil protein saliva didapatkan hasil bahwa terdapat kecenderungan adanya peningkatan kadar protein saliva pada kelompok DM. Namun, secara statistik peningkatan tersebut tidak signifikan.

 Selain itu, penelitian ini menemukan adanya 3 *band* peptida dengan berat molekul antara 25-35 kDa pada saliva kelompok DM.

 Berdasarkan hasil penelitian uji diabetes berbasis kadar dan profil protein saliva maka disarankan dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan metode dan teknologi yang lebih sensitif seperti Polymerase Chain Reaction (PCR). Serta, diharapkan penelitian ini dapat menjadi salah satu sumber dan metode baru dalam pemeriksaan non invasif pada pasien DM.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Suyono S, *et al*. *Diagnosis dan Klasifikasi Diabetes Melitus.* Dalam: Sudoyo WA, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, editor. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid III (Edisi V). Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2009. Hal. 1873-9.
2. ADA. *Diagnosis and classification of diabetes mellitus.* Diabetes Care, 2014, *37*(Supplement 1), S81-S90.

3. Soewondo P, *et al*. *Challenges in diabetes management in Indonesia: a literature review.* Global Health, 2013, 9.1: 63.

4. Anani S, *et al*. *Hubungan Antara Perilaku Pengendalian Diabetes dan Kadar Glukosa Pasien Rawat Jalan Diabetes Melitus (Studi Kasus di RSUD Arjawinangun Kabupaten Cirebon).* Jurnal Kesehatan Masyarakat, 2012, Volume 1, Nomor 2, Halaman 466-478.

5. Purnamasari D. *Diagnosis dan klasifikasi diabetes melitus.* Dalam: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Marcellus SK, Siti Setiati, editor. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam, 2009. Jilid, 3.

6. Wei OY, Teece S. *Best evidence topic report. Urine dipsticks in screening for diabetes mellitus*. Emerg. Med. J., 2006, 23, p. 138.

7. Gupta S, *et al*. *Comparison of Salivary and Serum Glucose Levels in Diabetic Patients.* Journal of diabetes science and technology, 2014, 1932296814552673.

8. Kumar J. *Saliva – a maker for the diabetic: a comparative study of healthy and the diabetic individuals.* Indian J. Innovations Dev., 2012, Vol. 1, No. 2. ISSN 2277-5390.

9. Benn AML, Thomson WM. *Saliva: an overview.* The New Zealand dental journal, 2014, 110(3), 92-96.

10. Mook-Kanamori DO, *et al*. *1,5-anhydroglucitol in saliva is a noninvasive marker of short-term glycemic control*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2014, 99.3 : E479-E483.

11. Anđjelski-Radičević B, *et al.*. *Biochemical markers in saliva of patients with diabetes mellitus.* Stomatoloski glasnik Srbije, 2012, 59.4 : 198-204.

12. Charvat H, *et al*. *Impact of population aging on trends in diabetes prevalence: A meta‐regression analysis of 160,000 Japanese adults.* Journal of Diabetes Investigation, 2015.

13. Dahlan MS. *Besar Sampel Dan Cara Pengambilan Sampel dalam Penelitian Kedokteran dan Kesehatan.* Penerbit Salemba Medika, 2010. ISBN: 978-602-8570-36-7

14. Mussavira S, Dharmalingam M, and Sukumaran BO. *Salivary glucose and antioxidant defense markers in type II diabetes mellitus.* Turkish journal of medical sciences, 2015, 45(1), 141-147.

15. Prathibha KM, *et al*. *Evaluation of salivary profile among adult type 2 diabetes mellitus patients in South India.* Journal of clinical and diagnostic research, 2013: *JCDR* 7.8: 1592.

16. Hasan HR, Abdulsattar A. *Influence of diabetes disease on concentration of total protein, albumin and globulins in saliva and serum: A comparative study.* Iraqi National Journal of Chemistry Journal, 2015.

17. Lasisi TJ, Fasanmade AA. *Comparative analysis of salivary glucose and electrolytes in diabetic individuals with periodontitis.* Annals of Ibadan Postgraduate Medicine, 2012, 10(1), 25-30.

18. Busato IMS, *et al*. *Impact of clinical status and salivary conditions on xerostomia and oral health‐related quality of life of adolescents with type 1 diabetes mellitus.* Community dentistry and oral epidemiology, 2012, 40.1: 62-69.

19. Vukosavljevic D, *et al*. *Salivary proteins as predictors and controls for oral health.* Journal of cell communication and signaling, 2011, 5(4), 271-275.

20. Hoe AZ, *et al*. *Preliminary study on saliva from diahetic and non-diahetic individuals by polyacrylamide gel electrophoresis*. Annals Dent. Univ Malaya, 1997; 4: 7-8.

21. Huang CM. *Comparitive proteomic analysis of human whole saliva.* Archives of Oral Biology, 2004, 49, 951-962.

22. Chauhan SD, *et al*. *Identification of a novel 43-kDa protein in serum-circulating immune complex of type 2 diabetic patient.* Int J Diabetes Dev Ctries, 2007, 27 : 81-6.