

## HASIL PENELITIAN

# PENGARUH LEVEL HbA1C TERHADAP FUNGSI FAGOSITOSIS NEUTROFIL (PMN) PADA PENDERITA PERIODONTITIS DIABETIKA

Ahmad Syaify

Bagian Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

### ABSTRAK

**Latar belakang.** Diabetes Mellitus (DM) merupakan penyakit sistemik yang sangat terkait dengan meningkatnya keparahan penyakit periodontal. Pada penderita DM diduga kuat bahwa keparahan periodontitis disebabkan oleh gangguan fungsi leukosit. Sel neutrofil (PMN) diketahui berperan besar di dalam sistem pertahanan jaringan periodontal. Kontrol glikemik pada penderita DM dapat diketahui dengan pemeriksaan level HbA1c. **Tujuan.** Penelitian ini untuk mengetahui pengaruh level HbA1c pada penderita periodontitis diabetika terhadap fungsi fagositosis sel PMN. **Bahan dan Cara.** Sel PMN dari darah tepi 15 pasien periodontitis terdiri 5 periodontitis tanpa DM, 5 periodontitis diabetika terkontrol (HbA1c<7) dan 5 periodontitis diabetika tidak terkontrol (HbA1c>7) diuji aktivitas fagositosisnya dengan partikel lateks. Fungsi fagositosis dihitung dengan rumus indeks fagositosis (IF). **Hasil.** Terdapat perbedaan significant IF sel PMN subyek periodontitis diabetika tidak terkontrol (HbA1c>7) dengan periodontitis non DM. IF tertinggi pada subyek periodontitis non DM dan tertinggi pada periodontitis diabetika tidak terkontrol (HbA1c>7). **Kesimpulan.** Level HbA1c berpengaruh terhadap fungsi fagositosis sel PMN yang dilihat dari indeks fagositosis (IF). *Maj Ked Gi*; Desember 2012; 19(2): 93-97

**Kata kunci:** periodontitis diabetika, sel PMN, fungsi fagositosis

### ABSTRACT

**Background.** Diabetes mellitus is a systemic condition that has long been associated with an increased and severity of periodontal disease. The severity of periodontitis in diabetic patients was thought caused by decreation of leukocytes function. Polymorphonuclear leukocytes (PMN) play a key role in the maintenance of gingival and periodontal health. Hyperglycemic condition on diabetes patient could be evaluated by hemoglobin glycosilate (HbA1c) level. **Aims.** the objective of this study was to analyse the influence of HbA1C level to fagositosis index on diabetic periodontitis patients. **Material and Methods.** PMN were taken from peripheral blood of 15 periodontitis patients consisted of 5 subject with uncontrolled DM (HbA1c>7), 5 subject with controlled DM (HbA1c<7), and 5 subject non DM as control. Phagocytosis function were determined using latex particle and counted by phagocytosis index (PI). **Results.** These analysis revealed a significant ( $p<0.05$ ) different of PI between diabetic periodontitis who have HbA1c >7 and periodontitis non diabetic subjects. The highest PI was on diabetic periodontitis with HbA1c level >7 and the lowest PI was on non diabetic subjects. **Conclusion.** Level of HbA1c on diabetic periodontitis patient influence to phagocytosis function of PMN. *Maj Ked Gi*; Desember 2012; 19(2): 93-97

**Key words:** diabetic periodontitis, PMN cell, phagocytosis function

### LATAR BELAKANG

Diabetes Mellitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai terjadinya hiperglikemi akibat defisiensi produksi insulin atau gangguan aksi insulin<sup>1</sup>. Penderita DM sebagian besar adalah tipe 2 yaitu Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM) yang peningkatan prevalensinya sangat tajam. Di Indonesia jumlah penderita DM tipe 2 pada tahun 2000 sebanyak 8,4 juta orang, dan tahun 2030 nanti diperkirakan meningkat menjadi sekitar 21,3 juta orang<sup>2</sup>.

Kecenderungan meningkatnya prevalensi DM tipe 2 perlu mendapat perhatian pula dari para dokter gigi, karena DM dapat menimbulkan komplikasi di rongga mulut. Salah satu komplikasi utama DM di dalam rongga mulut adalah periodontitis, yaitu inflamasi

kronis pada jaringan periodontal yang menimbulkan kerusakan pada junctional epithellium sehingga terbentuk poket<sup>3</sup>. Jika tidak mendapatkan perawatan yang tepat, periodontitis akan berlanjut sampai terjadi kerusakan tulang alveolar sehingga gigi menjadi goyah dan bahkan terlepas.

Periodontitis pada pengidap DM umumnya lebih parah dibandingkan pasien non DM meskipun bakteri penyebab periodontitis pasien DM sama dengan pasien tanpa DM, yaitu *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, dan *Prevotella intermedia*<sup>5</sup>. Diabetes juga dikenal sebagai faktor risiko yang penting bagi periodontitis yang lebih parah dan progresif, serta destruksi puncak tulang alveolar<sup>6</sup>.

Meningkatnya keparahan periodontitis pengidap DM dipengaruhi oleh respon imun pasien dia-

betes<sup>7</sup>. Pada penderita DM terjadi penurunan fungsi neutrofil (PMN) dan monosit, daya kemotaksis, diapedesis, dan daya fagositosisnya<sup>8</sup>. Fagositosis merupakan proses penelanan dan penghancuran mikroorganisme dan benda asing yang masuk ke dalam tubuh oleh sel-sel sel fagosit polimorfonuklear/neutrofil maupun sel fagosit mononuklear yaitu monosit/makrofag<sup>9</sup>. Agar terjadi fagositosis maka sel-sel fagosit harus berada dalam jarak sangat dekat dengan partikel bakteri, sehingga partikel tersebut menempel pada permukaan sel fagosit. Untuk mencapai hal ini maka fagosit harus bergerak menuju target melalui proses kemotaksis<sup>10</sup>.

Proses fagositosis dapat berlangsung melalui 4 tahap yaitu: (1) tahap perlekatan (*attachment*) bakteri atau benda asing pada membran sel fagosit, (2) tahap penelanan (*ingestion*), yang diawali invaginasi membran plasma dari sel fagosit, sehingga partikel yang akan difagosit masuk ke dalam sitoplasma yang kemudian ditutup oleh vakuola (*fagosom*). Selanjutnya terjadi fusi antara lisosom dengan fagosom membentuk *fagolisosom*, (3) tahap pembunuhan (*killing*) yang dalam prosesnya bisa tergantung oksigen maupun tidak tergantung oksigen, (4) tahapan penghancuran (*digestion*)<sup>11</sup>.

Fungsi fagositosis PMN merupakan mekanisme sistem imun tubuh secara sistemik, dan secara klinis penting untuk menilai daya tahan terhadap infeksi. Pada penderita DM diketahui bahwa kadar gula darah yang tinggi akan menyebabkan kondisi hiperglikemik dalam waktu lama sehingga terbentuk AGEs (*Advance Glycosilation End product*) yang akan menurunkan fungsi PMN<sup>12</sup>. Kontrol glikemik pada penderita DM dapat dievaluasi dengan mengukur kadar gula darah dan hemoglobin glikosilat<sup>13</sup>. Nilai hemoglobin glikosilat (HbA1c) diakui paling akurat untuk menentukan status gula darah penderita DM karena mencerminkan status glikemik selama 2 – 3 bulan terakhir<sup>14</sup>. Penelitian ini untuk mengetahui pengaruh level HbA1c pada penderita periodontitis diabetika terhadap fungsi fagositosis PMN dengan parameter indeks fagositosis.

## METODE PENELITIAN

Subjek penelitian berjumlah 15 orang terdiri penderita periodontitis diabetika dengan kadar gula darah tidak terkontrol (HbA1c > 7) sebanyak 5 orang, kadar gula terkontrol (HbA1c < 7) sebanyak 5 orang dan non DM 5 orang. Sel PMN yang telah diisolasi dari sampel darah tepi subjek pasien dikultur pada sumuran mikroplate 24 yang dilapisi *cover slips* bulat, setiap sumuran berisi 200  $\mu$ l ( $5 \times 10^5$  sel). Diinkubasikan ke dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% pada suhu 37°C selama 30 menit, lalu ditambahkan medium RPMI komplet menjadi 1 ml setiap sumuran dan diinkubasikan lagi selama 24 jam. PMN yang sudah diinkubasi kemudian dicuci dengan RPMI 2 kali, kemudian dita-

mbahkan suspensi lateks dalam PBS sebanyak 200  $\mu$ l ( $5 \times 10^6$ ) atau kepadatan lateks dalam 1 ml =  $2,5 \times 10^7$ . Diinkubasikan dalam inkubator CO<sub>2</sub> selama 60 menit, kemudian dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali dan dikeringkan pada suhu ruang. Dilanjutkan fiksasi dalam metanol absolut selama 30 detik lalu dibuang metanolnya dan ditunggu sampai kering, lalu dilakukan pengecatan dengan Giemsa 20% selama 15 menit dan dicuci dengan akuades. Sampel diangkat dari sumuran kultur dan dikeringkan pada suhu ruang dan dilakukan pengamatan dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali.

Perhitungan aktivitas fagositosis dengan cara menghitung indeks fagositosis (IF) dari Wagner<sup>14</sup> yang diformulasikan sebagai berikut.

$$\text{Indeks fagositosis (IF)} = \frac{(a) \times (b)}{(c)}$$

Keterangan:

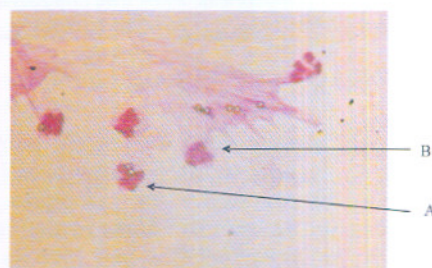
(a): jumlah bakteri yang difagosit oleh satu makrofag

(b): jumlah makrofag yang memfagositosis

(c): jumlah makrofag dalam sediaan

## HASIL PENELITIAN

Aktivitas fagositosis sel PMN diamati dengan melakukan uji fagositosis yang menggunakan partikel lateks. Ke dalam sediaan kultur neutrofil ditambahkan partikel lateks, selanjutnya dilakukan pengecatan dengan Giemsa 20% dan diteruskan dengan pengamatan di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali, sehingga tampak sejumlah sel neutrofil yang memfagosit lateks dan sebagian terdapat pula sel PMN yang tidak memakan partikel lateks. Contoh sediaan sel PMN yang memfagosit partikel lateks dan tidak memfagosit ditampilkan dalam gambar 1 berikut.

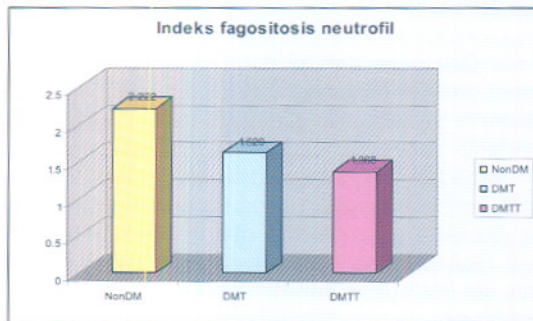


**Gambar 1.** Gambaran mikroskopik cahaya sel PMN yang memfagosit partikel lateks (A) dan yang tidak memfagosit (B) dengan pembesaran 400 kali.

Hasil pengukuran rerata indeks fagositosis (IF) sel PMN darah tepi pasien periodontitis non DM, periodontitis dengan DM terkontrol (HbA1c < 7), dan periodontitis DM tidak terkontrol (HbA1c > 7) dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 2 sebagai berikut :

**Tabel 1.** Hasil rerata dan standar deviasi indeks fagositosis (IF) sel PMN periodontitis non DM, periodontitis DM dengan HbA1c<7, periodontitis dengan HbA1c >7

Kelompok	Rerata ± SD
Periodontitis non DM	2.222 ± 0.692
Periodontitis dengan HbA1c < 7	1.620 ± 0.416
Periodontitis dengan HbA1c > 7	1.368 ± 0.527



**Gambar 2.** Diagram indeks fagositosis (IF) sel PMN pasien periodontitis non DM, periodontitis dengan HbA1c <7, dan periodontitis dengan HbA1c >7

Tabel 1 dan gambar 2 menunjukkan kecenderungan indeks fagositosis (IF) sel PMN penderita periodontitis dengan DM tipe 2 tidak terkontrol (HbA1c>7) mengalami penurunan dibandingkan periodontitis dengan DM terkontrol (HbA1c<7) maupun periodontitis non DM. Indeks fagositosis tertinggi yaitu pada penderita periodontitis tanpa DM, terendah pada penderita periodontitis dengan DM tipe 2 tidak terkontrol (HbA1c>7). Untuk mengetahui perbedaan IF antar kelompok maka dilakukan uji statistik *Oneway ANOVA* yang hasilnya seperti tabel 3 sebagai berikut.

**Tabel 2.** Hasil uji *Oneway ANOVA* indeks fagositosis (IF) sel-sel PMN pasien periodontitis non DM, periodontitis dengan HbA1c<7, dan periodontitis dengan HbA1c>7.

	Indeks fagositosis neutrofil				
	Jumlah kuadrat	Db	Mean kuadrat	F	p
Antar kelompok	1.923	2	0.962	3.099	0.041**
Dalam kelompok	3.724	12	0.310		
Total	5.648	14			

Hasil uji *Oneway ANOVA* menunjukkan tingkat kemaknaan untuk IF adalah 0.041 atau  $p < 0.05$  yang berarti terdapat perbedaan bermakna IF sel PMN antara kelompok periodontitis non DM, periodontitis dengan DM terkontrol (HbA1c<7), dan periodontitis dengan DM tidak terkontrol (HbA1c>7). Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan pada masing-masing kelompok maka dilakukan uji statistik LSD yang hasilnya terangkum dalam tabel 3 berikut.

**Tabel 3.** Rangkuman hasil uji LSD indeks fagositosis (IF) sel-sel PMN antara periodontitis Non DM, periodontitis dengan HbA1c<7, dan periodontitis dengan HbA1c>7

	p
Non DM - DM (HbA1c<7)	0.113
Non DM - DM (HbA1c>7)	0.032*
DM (HbA1c<7) - DM (HbA1c>7)	0.490

Hasil tabel 3 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna indeks fagositosis (IF) sel PMN antara kelompok periodontitis non DM dan periodontitis DM tidak terkontrol (HbA1c>7) dengan nilai p sebesar 0.032 ( $p < 0.05$ ). Adapun IF sel PMN kelompok periodontitis non DM dan periodontitis DM terkontrol (HbA1c<7), dan antara periodontitis DM terkontrol (HbA1c<7) dan periodontitis DM tidak terkontrol (HbA1c>7) tidak terdapat perbedaan yang bermakna ( $p > 0.05$ ). Dapat disimpulkan bahwa pada periodontitis diabetika dengan HbA1c >7 terjadi penurunan kemampuan sel PMN dalam aktivitas fagositosis dibandingkan periodontitis diabetika dengan HbA1c<7 maupun periodontitis non DM.

## PEMBAHASAN

Pada penelitian ini didapatkan indeks fagositosis (IF) sel PMN penderita periodontitis diabetika dengan nilai HbA1c >7 (DM tidak terkontrol) mengalami penurunan dibandingkan periodontitis dengan DM terkontrol (HbA1c<7) maupun periodontitis non DM. Indeks fagositosis PMN tertinggi yaitu pada penderita periodontitis non dan terendah pada periodontitis diabetika dengan nilai HbA1c>7 (tabel 1). Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan signifikan indeks fagositosis antara periodontitis non DM dan periodontitis diabetika dengan nilai HbA1c>7DM (tabel 3).

Fagositosis merupakan awal mekanisme pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme dan benda asing lainnya. Pada manusia, fagositosis terutama dilakukan oleh fagosit mononuklear (monosit) dan polimorfonuklear leukosit (neutrofil). Fagositosis yang efektif pada invasi dini bakteri akan dapat mencegah timbulnya infeksi. Dalam kerjanya fagosit juga berinteraksi dengan sistem komplemen dan sistem imun spesifik. Penghancuran bakteri dalam proses fagositosis terjadi dalam beberapa fase yaitu: kemo-taksis, menangkap, memakan, fagositosis, memusnahkan dan mencerna<sup>9</sup>.

Sel PMN bergerak cepat dan sudah berada di area infeksi dalam 2 hingga 4 jam untuk sampai tempat tujuan. Ini berbeda dengan monosit bergerak lebih lambat dan memerlukan waktu sekitar 7 hingga 8 jam. Destruksi mikroba intraseluler terjadi oleh karena di dalam sel PMN terdapat berbagai bahan antibakterial seperti lisosom, hidrogen peroksida

( $H_2O_2$ ), mieloperoksidase<sup>9</sup>, dan terutama calprotectin yang merupakan protein sitosol paling dominan di dalam sel PMN, diketahui memiliki fungsi ekstraseluler sebagai bahan antibakterial melalui mekanisme non oksidatif. Mekanisme kontrol bakteri dengan cara non oksidatif tidak memerlukan oksigen dan melibatkan komponen sitosolik terutama calprotectin, serta beberapa komponen granula lainnya seperti defensin, laktoferin, kobalofilin, katepsin G, dan elsatase<sup>15</sup>.

Salah satu penjelasan mengapa pada penelitian ini indeks fagositosis (IF) penderita periodontitis diabetika tidak terkontrol (HbA1C>7) paling rendah dan berbeda secara signifikan dengan IF penderita periodontitis non DM, karena terkait dengan kemungkinan adanya gangguan dalam fungsi *intracellular killing* pada proses fagositosis. Tahapan penting dalam mekanisme fagositosis ialah fase 5 yaitu penghancuran dan pemusnahan bakteri di dalam sel-sel fagositik. Pada fase ini dibutuhkan banyak NADPH (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphat*) untuk keberlangsungan reaksi *respiratory burst* yang menghasilkan radikal bebas oksigen ( $RBO=O_2$ ) dan hidrogen peroksidase ( $H_2O_2$ ) guna proses *intracellular killing*. Pada kondisi hiperglikemia (pengidap DM) maka glukosa akan diubah menjadi sorbitol oleh enzim *aldose reductase* (AR) yang dalam prosesnya membutuhkan banyak NADPH, sehingga sel akan mengalami kekurangan NADPH untuk membentuk radikal bebas oksigen serta hidrogen peroksidase. Pada penelitian ini terjadi penurunan indeks fagositosis sel PMN penderita periodontitis diabetika tidak terkontrol (HbA1c>7) yang disebabkan oleh menurunnya fungsi *intracellular killing*. Hasil ini sesuai dengan pernyataan bahwa gangguan *intracellular killing* akan lebih parah apabila regulasi DM memburuk<sup>16</sup>. Diabetes dapat meningkatkan kepekaan terhadap infeksi oleh karena kondisi hiperglikemia kronis yang ditandai meningkatnya level HbA1c akan mengganggu aktivitas sel-sel fagositik mononuklear maupun polimorfonuklear (PMN), terutama pada proses intraseluler yaitu *respiratory burst* untuk membunuh mikroorganisme yang telah berada di dalam monosit dan neutrofil. Gangguan proses intraseluler ini terjadi karena adanya aktivasi *polyol pathway* atau jalur *polyol*<sup>16</sup>.

Faktor lain yang perlu dipertimbangkan untuk menjawab fenomena rendahnya indeks fagositosis penderita periodontitis diabetika seperti ditemukan pada penelitian ini, yaitu adanya keterkaitan antara kondisi hiperglikemia dengan mekanisme kemotaksis. Dikemukakan obahwa kadar glukosa darah yang tinggi pada pengidap DM diduga kuat memegang peranan penting dalam reaksi kemotaksis yang menyimpang<sup>17</sup>. Kandungan glukosa yang tinggi dapat menginduksi chemokin proinflamatori CCL2 dan CCR2 pada sel monosit dan sel PMN, dimana dari pasien yang memiliki riwayat hipoglikemia, kemungkinan terjadi penyimpangan menuju CCL2. Faktor

peningkatan kadar kalsium di dalam sitosol juga memungkinkan terjadinya penurunan respon imun seluler pada pengidap DM. Kondisi hiperglikemia pada pengidap DM akan mempengaruhi *influks* kalsium ke dalam sel. Hal ini menyebabkan peningkatan kadar  $Ca^{++}$  pada sitosol sehingga akan terjadi disfungsi neutrofil dan menyebabkan penurunan fungsi fagositosis sel PMN<sup>18</sup>.

## KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terjadi penurunan fungsi fagositosis sel PMN pada penderita periodontitis diabetika. Level HbA1c pada penderita periodontitis diabetika terbukti berpengaruh terhadap fungsi fagositosis sel PMN. Semakin buruk kontrol hiperglikemik pada penderita periodontitis diabetika yang ditandai dengan makin tingginya level HbA1c, maka semakin rendah indeks fagositosis sel PMS yang berarti terjadi penurunan fungsi fagositosis.

## Ucapan terima kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Eijkman Jakarta dan Balitbang Departemen Kesehatan RI yang memberikan banyak dukungan untuk terselenggaranya penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alpagot T, Silverman S, Lundergan W, Bell C, & Cambers DW: Crevicular Fluid Elastase in Relation to Periodontitis and Metabolic Control of Diabetes, *J. Periodont. Res*, 2001, 36 : 169-174.
- Perkeni: *Konsensus Pengelolaan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia*, Jakarta, 2006, 1-42.
- Newman MG, Takei HH, & Carranza FA : *Clinical Periodontology*, 9<sup>th</sup> ed, WB Saunders Co, Philadelphia, 2000.
- Graves DT, Liu R, Alikhani M, Al-Mashat H, & Trackman PC: Diabetes-anhanced Inflammation and Apoptosis : Impact on Periodontal Pathology. *J.Dent Res*, 2005. 85 (1) : 15-21.
- Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Robertson DC, Ho AW, Dunford RG, & Genco RJ: Treatment of Periodontal Disease in Diabetics Reduces Glycated Hemoglobin. *J. Periodontol*, 1997, 68 : 713 – 719.
- Southerland JH, Taylor GW, Offenbacher S: Diabetes and Periodontal Infection Making the Connection. *Clinical Diabetes*. 2005, 23 (4) : 171-178
- Miller LS, Manwell MA, & Newbold D: The Relationship between Reduction in Periodontal Inflammation and Diabetes Control: a Report of 9 Cases. *J. Periodontol*, 1992, 63 (10) : 843 - 848.
- Clement S, Braithwaite SS, Magee MF, Ahmann A, Smith EP, Schafer RG, & Hirsch IB: Management of Diabetes and Hyperglycemia in Hospitals, *Diabetes Care*, 2004, 27 (2) : 553-591
- Karnen GB, Iris Rengganis: *Imunologi Dasar*. Edisi ke-4, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 2009.

10. Roitt MI & Delves PJ: *Essential Immunology*. Tenth Edition, Blackwell Science, Oxford, USA, 2001.
11. Seymour GJ, Savage NW, Walsh LJ: *Immunology an Introduction for the Health Sciences*, McGraw-Hill Book Company, Australia. 1995.
12. Fokkema SJ: *Susceptibility to Destructive Periodontal Disease*. Dalam: Ponsen & Susceptibility to Periodontitis; Studies with LPS-Stimulated Looijen BV, Whole Blood Cell Cultures. Wageningen, 2002, 10-14.
13. Oliver RC, Ternoven T, Flynn DG, & Keenan KM: Enzym Activity in Crevicular Fluid in Relation to Metabolic Control of Diabetes and Other Periodontal Risk Factors, *J.Periodontol*, 1993, 5: 358-361
14. Wagner H: Search for plant derived natural products with immune stimulatory activity, *Pure and Appl Chem.*, 1990, 62 : 1217-1222
15. Miyasaki KT, Bodeua AM, Shafer WM, Pohl J, Murthy RK, & Lehrer RI: New Ideas about Neutrophil Antimicrobial Mechanisms: Antibiotic Peptides, Postphagocytic Protein Processing, and Cytosolic Defense Factors, dalam *Molecular Pathogenesis of Periodontal Disease*. American Society for Microbiol, 1994, Washington D.C., 1994, 321 – 335.
16. Tjokroprawiro A & Adi S: Infections in Diabetes Mellitus, Introduction with Echinacea and Zn-Piconilate. *Simpodium Konas Petri VIII*, 2001, 2-4.
17. Bouma G, Coppens JMC, Lam-Tse WK, Luini K, Sintnicolaas K, Levering WH, Sozzani S, Drexhage HA, & Versnel MA: An increased MRP8/14 expression and adhesion, but a decreased migration towards proinflammatory chemokines of type 1 diabetes monocytes, 2005, [www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2249.2005.02865.x](http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2249.2005.02865.x) (diunduh pada 31 November 2010)
18. Santoso O: *Uji Diagnostik dan pengaruh pembersihan plak dan karang gigi terhadap status periodontal, respon imun dan kadar glukosa darah penyandang DM tipe 2*. Ringkasan Disertasi, 2004, FKG UI.

\_OO\_