

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karsinoma Sel Skuamosa Rongga Mulut (KSSRM)

Sebanyak 91% dari seluruh kanker rongga mulut adalah KSSRM.⁽¹⁰⁾ KSSRM merupakan bagian dari kanker di daerah kepala dan leher dengan distribusi geografis yang luas dan secara signifikan menyebabkan morbiditas – mortalitas.⁽¹¹⁾ Berbagai literatur memperlihatkan variasi klasifikasi yang dipakai untuk menggambarkan kanker mulut sehingga menyulitkan untuk menginterpretasikan data epidemiologinya. Biasanya kanker mulut didefinisikan sebagai kanker yang berasal dari seluruh mukosa rongga mulut, tonsil, faring dan laring tetapi tidak termasuk kanker yang berasal dari bibir.

Kanker mulut termasuk di dalam sepuluh kanker yang paling sering terjadi di seluruh dunia⁽¹²⁾, dimana pada 2003 kanker mulut menempati peringkat ke-delapan. Prevalensi kanker mulut cenderung tinggi pada pria dan pada negara berkembang. Insidensi kanker mulut di Asia per 100.000 populasi mempunyai rentang antara 0,7 di China dan 12,6 di India.⁽¹³⁾

2.1.1 Etiologi

Insidensi KSSRM yang tinggi dan bervariasi di lokasi dan kelompok etnik yang berbeda⁽¹⁰⁾ berhubungan langsung dengan kebiasaan yang merupakan faktor resiko kanker mulut seperti penggunaan tembakau, menyirih dan konsumsi alkohol.⁽¹³⁾

Tembakau mengandung karsinogen yang potensial meliputi *nitrosamines (nicotine)*, *polycyclic aromatic hydrocarbons*, *nitrodicthanolamine*, *nitrosoproline*, dan *polonium*. Nicotine merupakan obat yang kuat dan membuat kecanduan. Asap tembakau mengandung karbonmonoksida, *thiocyanate*, *hydrogen cyanide*, *nicotine* dan metabolit dari kandungan ini.⁽¹⁴⁾ Sebanyak 80% pasien kanker mulut adalah perokok.⁽¹⁵⁾ Prevalensi konsumsi tembakau telah menurun di negara maju, namun pada negara dengan pendapatan rendah atau sedang pengonsumsi tembakau semakin meningkat, khususnya di antara remaja dan wanita.⁽¹³⁾ Lebih dari 250 juta penduduk Asia Tenggara

menggunakan *smokeless tobacco*; 95% berada di India dan Bangladesh (13%), sementara di Indonesia distribusi pengguna *oral tobacco* sebesar 0,8% dari 212 juta penduduk (WHO). Di India, jumlah diagnosa kanker yang berhubungan dengan penggunaan tembakau diperkirakan 250.000 kasus per 700.000 hingga 900.000 dari kanker yang terdiagnosa (2001).⁽¹⁵⁾

Semua bentuk alkohol dapat menyebabkan kanker mulut, termasuk alkohol yang terkandung di dalam *mouthwash*. Alkohol dapat berperan secara independen dan bereaksi sinergis dengan tembakau dalam karsinogenesis dengan cara memberikan efek dehidrasi pada mukosa sehingga meningkatkan permeabilitas mukosa yang terpajan bahan karsinogen yang terkandung di dalam alkohol dan rokok. Telah diperkirakan bahwa perokok yang menggunakan *mouthwash* lebih sering terjadi.⁽¹⁴⁾ Faktor lain yang juga berperan dalam terjadinya KSSRM meliputi kebiasaan menyirih, pajanan sinar UV, faktor nutrisi, faktor genetic, infeksi *Human Papilloma Virus*, *Herpes Simplex Virus* dan *Candida*.

2.1.2 Patogenesis

Karsinoma sel skuamosa rongga mulut terjadi akibat adanya proses perubahan sel yang bertahap dari normal menjadi lesi displastik hingga akhirnya menjadi karsinoma sel skuamosa. Lesi premalignansi atau prekanker didefinisikan oleh WHO sebagai jaringan yang berubah secara morfologis. Lesi yang termasuk dalam klasifikasi ini adalah leukoplakia dan eritroplakia, sedangkan lichen planus lebih diklasifikasikan sebagai suatu kondisi dengan potensi menjadi malignan.⁽¹¹⁾

Secara histopatologis, lesi premalignan dapat memperlihatkan adanya displasia dengan kategori dengan ringan, sedang dan berat. Berdasarkan kriteria histomorfologis displasia ringan memiliki sel displastik yang terbatas pada lapisan basal epitelium; sementara perubahan pada displasia sedang dan berat meliputi perubahan morfologi

seluler dan peningkatan ketebalan lapisan epitel sebanyak 2/3 sampai 3/4 ketebalan lapisan epitel. *Carcinoma in-situ* adalah lesi di mana sel abnormal meliputi seluruh epitel tanpa menginvasi membran dasar. Suatu KSSRM didiagnosis ketika terdapat kerusakan membran dasar dan invasi sel epitel displastik menuju jaringan ikat. Keberadaan dan keparahan displasia diperkirakan berhubungan dengan peningkatan resiko ke arah keganasan.⁽¹¹⁾

Karsinoma sel skuamosa rongga mulut dapat berkembang di tempat yang sebelumnya terdapat leukoplakia dan eritroplakia atau dapat berkembang secara *de novo*. Secara klinis, lesi ini tampak seperti lesi prakanker pada tahap awal karsinogenesis. Ketika telah menginvasi submukosa, KSSRM tampak sebagai ulserasi kronis yang ireguler dengan tepian yang meninggi dan terdapat indurasi.⁽¹¹⁾



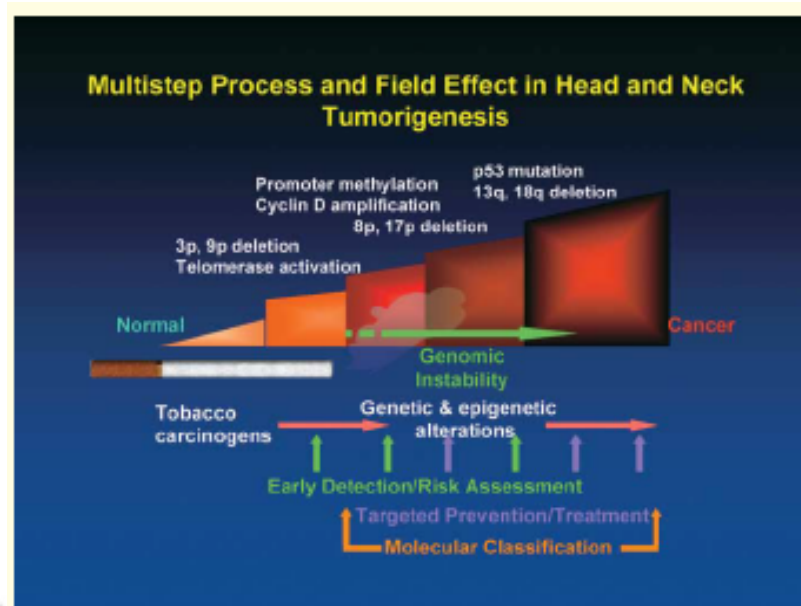
Gambar 2.1 Karsinoma sel skuamosa tahap lanjut pada lidah dan dasar mulut dengan metastasis mencapai nodus limfa regional (Gambar diambil dari: *Essential of Oral Medicine, 2001*)

Seperti kanker di tempat lain, KSSRM dikelompokkan secara klinis sebagai dasar pembuatan rencana perawatan. Sistem pengelompokkan yang digunakan merupakan klasifikasi tumor-nodemetastasis (TNM). Dimana T menunjukkan ukuran tumor, N menggambarkan ada atau tidaknya lesi yang bermetastasis ke nodus limfa dan M menunjukkan ada atau tidaknya metastasis yang jauh ke beberapa organ atau lokasi, lokasi yang paling sering terkena yaitu paru-paru.⁽¹¹⁾

2.1.3 Aspek Molekuler pada Karsinogenesis KSSRM

Karsinogenesis merupakan proses genetik yang memicu perubahan morfologi dan tingkah laku seluler. Analisis perubahan di tingkat molekuler dapat menjadi alat diagnosis utama dan pemandu untuk melakukan perawatan karena perubahan morfologis terjadi setelah adanya perubahan genetik.⁽¹⁴⁾ Kanker mulut dan lesi prakanker berkembang sebagai akibat dari siklus sel yang tidak terkontrol yang dikarenakan *multiple mutations*. *Proto-oncogene*, *tumor suppressor gene* (TSG), dan molekul *gatekeeper* (*cyclins* dan CDK) merupakan kelompok gen DNA perbaikan yang dapat bermutasi pada karsinoma sel skuamosa.⁽¹¹⁾ Dalam menonaktifkan *tumor suppressor gene* dibutuhkan *loss of heterozygosity* (LOH) atau *two-hit-hypothesis* (knudson's *hypothesis*) yang menyatakan bahwa dalam inaktivasi *tumor suppressor gene*, kedua alel harus bermutasi.^(14, 16, 17) LOH telah dilaporkan terjadi pada kromosom 3p, 4q, 9p, 11q dan 17p.⁽¹⁴⁾

Pada lesi dengan perubahan histologis ringan seperti hiperplasia dan displasia ringan, delesi satu dari dua alel pada kromosom 3p dan 9p21 adalah kejadian yang paling sering terjadi. Bahkan, peristiwa tersebut juga terlihat pada epitel normal. Hal tersebut dikarenakan pada regio kromosom 3p14 dan 9p21 terdapat *tumor suppressor gene*, adanya delesi tentu akan mempengaruhi terjadinya transformasi menuju keganasan. Hal ini diperkuat oleh penelitian yang menyatakan bahwa pada leukoplakia rongga mulut dengan delesi pada 3p14 dan 9p21, risiko bertransformasi menuju keganasan menjadi lebih tinggi.⁽¹⁸⁾



Gambar 2.2 Diagram patogenesis molekuler kanker pada kepala dan leher.
(Gambar diambil dari: *Focus on Head and Neck Cancer*, *Cancer Cell*, April 2004)

Perbanyakan gen dan overeksresi protein ditemukan pada karsinoma sel skuamosa kepala dan leher, contohnya adalah Cyclin D yang sering diamplifikasi dan overekspresi pada tahap awal tumorigenesis. *Tumor suppressor gene* p53 adalah gen yang paling sering termutasi pada KSSRM dengan frekuensi mencapai 50% kasus. Fungsi protein p53 adalah mengaktivasi transkripsi, perbaikan DNA, apoptosis, *senescence*, dan penghambatan siklus sel pada G1 dan G2. Perubahan genetik lain pada KSSRM juga telah diidentifikasi pada kromosom 4, 8 dan 11.⁽¹⁸⁾

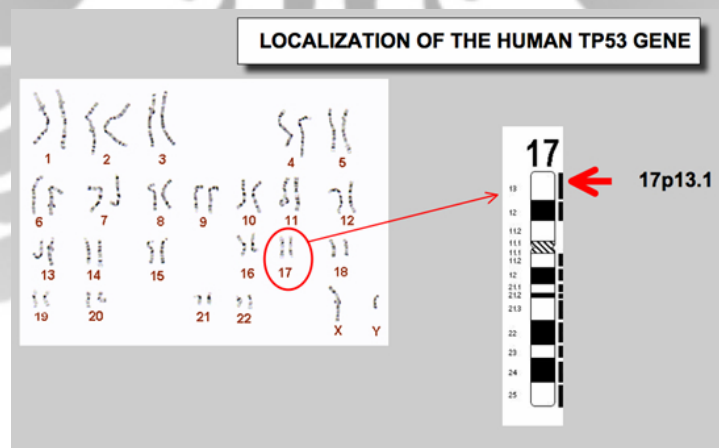
Proses siklus sel yang terjadi pada lesi kanker menjadi tidak terkontrol. Peningkatan dalam siklus sel biasanya merupakan akibat dari banyaknya mutasi yang terjadi pada berbagai gen yang meregulasi pembelahan sel. Banyak dari kelainan molekuler ini, terutama delesi DNA dan amplifikasi gen, adalah akibat dari ketidakstabilan genomik. Memahami mekanisme ketidakstabilan genomik akan menciptakan strategi preventif atau terapeutik dalam mencegah atau mengurangi ketidakstabilan tersebut.⁽¹⁸⁾

2.2 Tumor Suppressor Gene (TSG)

Terdapat kelompok gen yang mengkodekan protein dengan efek negatif dalam pembelahan sel. Hal ini dikenal sebagai *tumor suppressor gene* (TSG). Produk gen ini menghambat siklus sel saat kerusakan DNA terjadi. Kerusakan ini dapat berkembang sebagai konsekuensi dari pemaparan karsinogen atau infeksi oleh virus onkogenik. Jika kerusakan ini parah dan tidak dapat diperbaiki maka protein TSG akan menekan sel sehingga mencapai kematian sel terprogram atau *apoptosis*. Salah satu produk gen utama adalah p53 yang diaktivasi ketika terjadi kerusakan DNA.⁽¹¹⁾

2.2.1 Gen p53

Gen p53 pada manusia terdiri dari 19.200 bp, lebih dari 11 ekson (GenBank Accession Number: NC_000017), dan terletak pada kromosom 17p13.1.⁽¹⁹⁾ Gen p53 terdiri dari 393 asam amino. Nama p53 diturunkan dari “p” untuk protein, dan “53” karena memiliki massa molekuler sebesar 53,000 unit masa atom.⁽²⁰⁾



Gambar 2.3 Lokasi gen p53 pada kromosom 17.
(Gambar diambil dari: http://p53.free.fr/p53_info/p53_gene.html)

TP53 merupakan *gatekeeper tumor suppressor gene*⁽²¹⁾ yang beraksi sebagai pertahanan utama melawan kanker⁽²²⁾ dan seringkali diaktivasi oleh banyak sinyal stres.⁽²³⁾ p53 berfungsi sebagai pengaktivasi proses transkripsi, perbaikan DNA, *apoptosis*, *senescence*,

penghambat siklus sel pada G₁ dan G₂,⁽¹⁴⁾ serta menekan beberapa gen yang salah satunya adalah hTERT.⁽²³⁾

Pada sel yang tidak mengalami tekanan, p53 dijaga untuk inaktif. Hal ini tercapai terutama melalui aksi *ubiquitin ligase* MDM2 yang menghambat aktivitas transkripsional p53 dan memicu degradasinya. Beberapa isoform p53 juga dapat memodulasi aktivitas p53. Apabila terjadi kerusakan DNA, p53 dengan cepat berakumulasi dan teraktivasi, kemungkinan karena respon *double strand breaks* yang diinduksi oleh agen genotoksik. Beberapa proses lain yang dapat mengaktivasi p53 adalah fosforilasi, glikosilasi, keberikatan pada protein regulatorik, *alternative splicing*, dan asetilasi.⁽²⁴⁾

Aktivasi p53 memiliki dua hasil yaitu penghentian pertumbuhan atau *apoptosis*. Beberapa faktor turut mempengaruhi pilihan respon sel yang terjadi diantaranya adalah tipe sel, ada tidaknya faktor pertahanan terhadap lingkungan luar, tingkat kerusakan DNA dan level p53.⁽²⁴⁾

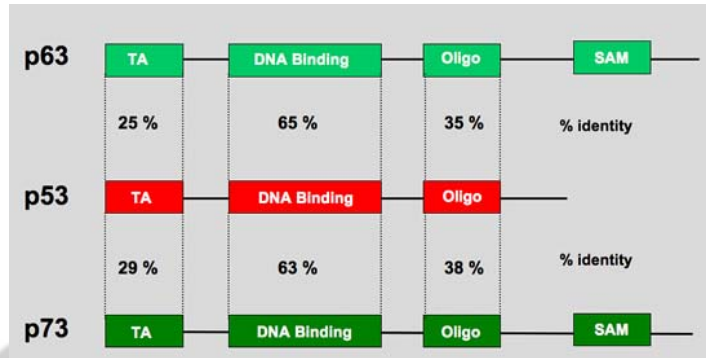
Abnormalitas *tumor suppressor gene* telah dilaporkan pada semua jenis kanker dan mutasi p53 (*mutant p53*) ditemukan terdapat pada hampir 50% kanker⁽²⁵⁾ dan sebagian besar karsinoma sel skuamosa rongga mulut. Mutasi dapat menyebabkan hilangnya aktivitas p53 atau dengan hilangnya sinyal sel secara *upstream* atau *downstream* terhadap p53.^(26, 27) Hilangnya kemampuan p53 menyebabkan imortalisasi sel dan memberikan kecenderungan sel untuk bertransformasi menjadi neoplasma.⁽²⁸⁾

2.3 Gen dan Protein p73

Sebagian besar gen sebenarnya merupakan anggota dari *gene family*. Pada tahun 1997, Caput dan coworker telah mengidentifikasi *human homolog* dari p53 yang disebut p73. p73 terletak pada kromosom 1p36, regio yang sering menunjukkan *loss of heterozygosity*, termasuk neuroblastoma.⁽⁹⁾

p73 berbagi lebih dari 60% keidentikan asam amino dengan regio *DNA binding* p53 termasuk konservasi dari seluruh kontak DNA dan residu

struktural yang merupakan lokasi tersering mutasi p53 pada tumor. Selain itu, p73 berbagi 38% keidentikan dengan domain tetramerisasi p53, dan 29% keidentikan dengan domain transaktivasi p53 (TA).⁽¹⁹⁾



Gambar 2.4. Persamaan pada p53 *gene family*. p73 dan p53 memiliki 29% kesamaan pada domain TA (transactivation), 63 % pada domain DNA binding dan 38% pada domain oligomerisasi (Gambar diambil dari: http://p53.free.fr/p53_info/p73_p63.html)

2.3.1 Fungsi p73

Gen p73 yang merupakan homolog pertama dari tumor supresor p53 berkerja sebagai faktor transkripsi.⁽²⁹⁾ Isoform TAp73 mampu berikatan secara spesifik dengan DNA melalui p53 *responsive element* (RE) dan mengaktivasi transkripsi gen target. Seperti pada p53, aktivasi tersebut dapat menginduksi penghentian siklus sel pada G1/S dan juga apoptosis. Sebaliknya, isoform ΔN memberikan efek dominan negatif terhadap aktivitas p53 dan p73. Isoform $\Delta Np73$ juga mampu secara langsung mengaktivasi gen target spesifik yang tidak diinduksi oleh isoform TA.⁽¹⁹⁾ Dengan demikian, p73 dapat bertindak sebagai tumor supresor sekaligus *onkogen*. P73 juga memiliki peran dalam pertumbuhan. Ekspresi p73 dibutuhkan untuk neurogenesis dari struktur neural spesifik, sinyal feromonal, dan dinamika cairan normal dari cairan serebrospinal.⁽³⁰⁾

2.3.2 Ekspresi p73 pada Jaringan Normal/Regulasi p53

Di bawah kondisi fisiologis normal, level ekspresi protein p73 dijaga pada level yang sangat rendah sehingga menjaga protein

pro-apoptosis ini dalam keadaan inaktif. Studi terkini menunjukkan bahwa p73 terinduksi untuk terakumulasi dalam responnya terhadap agen perusak DNA seperti *cisplatin*, *adriamycin*, *camptothecin* dan *etoposide*.⁽¹⁴⁾ P73 secara predominan diregulasi pada level *post-translational*, dan stabilisasi dari p73 menghasilkan penghentian G1/S pada siklus sel atau kematian sel melalui apoptosis. Dengan demikian, stabilisasi p73 secara langsung berhubungan dengan aktivitasnya.⁽³¹⁾

2.3.3 p73 dan Kanker

Mutasi p73 hanya terdeteksi kurang dari 0,5% pada kanker, sementara 50% kanker mengalami mutasi p53^(31, 32). Meskipun jarang terjadi mutasi p73, ekspresi dan fungsi dari isoform-isoform p73 sangat jelas berubah pada beberapa kanker. Banyak yang melaporkan bahwa level protein dan mRNA p73 lebih tinggi pada jaringan tumor dibandingkan dengan jaringan sekitarnya yang normal. Sayangnya, hanya sedikit dari studi awal ini menggunakan *reagent* yang dapat memisahkan bentuk lengan panjang TA dari p73 dan bentuk N yang lebih pendek.⁽³³⁾

Kebanyakan studi yang mengukur ekspresi p73 mengidentifikasi level protein dan mRNA p73 yang lebih tinggi pada jaringan tumor dibandingkan dengan jaringan normal. Meskipun level ekspresi p73 demikian rendah sehingga proteinnya sering sulit dideteksi dengan analisis *Western Blot*, ekspresi p73 pada kanker sangat bervariasi dan beberapa sel galur tumor dan tumor primer mengekspresi level yang mudah dideteksi (Stiewie dan Putzer, tidak dipublikasikan).⁽³⁴⁾

Lebih jauh lagi, p73 memiliki peran dalam perubahan keganasan pada karsinoma sel skuamosa. Kehilangan fungsional p73 dikaitkan dengan karsinoma sel skuamosa karena perubahan dari tahap inisiasi hingga malignan pada tikus model diikuti dengan kehilangan sporadik yang nyaris total pada mRNA p73 dan ekspresi proteinnya.⁽³²⁾

2.4 Human Telomerase Reverse Transkriptase (hTERT)

Gen *human telomerase reverse transcriptase* (hTERT) atau subunit katalitik telomerase, berlokasi di 5p15.33. Gen hTERT terdiri dari 16 ekson dan 15 intron sepanjang ~35kb⁽³⁵⁾ dan mengkode 7 isoform protein⁽³⁶⁾, salah satunya adalah protein hTERT yang merupakan komponen kunci yang mengontrol aktivitas telomerase^(28, 35). Protein hTERT memiliki berat molekul 127 KDa.⁽³⁷⁾

Stem sel embrionik manusia mengekspresikan gen TERT dan TR dan menunjukkan aktivitas telomerase. Pada awal kehidupan, hTERT memiliki peranan dalam pluripotensi sel stem embrionik, regulasi siklus sel, dan kapasitas diferensiasi secara *in vitro*. Namun selama proses diferensiasi TERT, TR, dan telomerase ditekan.⁽³⁸⁾ Pada kebanyakan sel epitel normal, ekspresi hTERT terbatas pada sel induk dan keturunan terdekatnya.⁽³⁹⁾

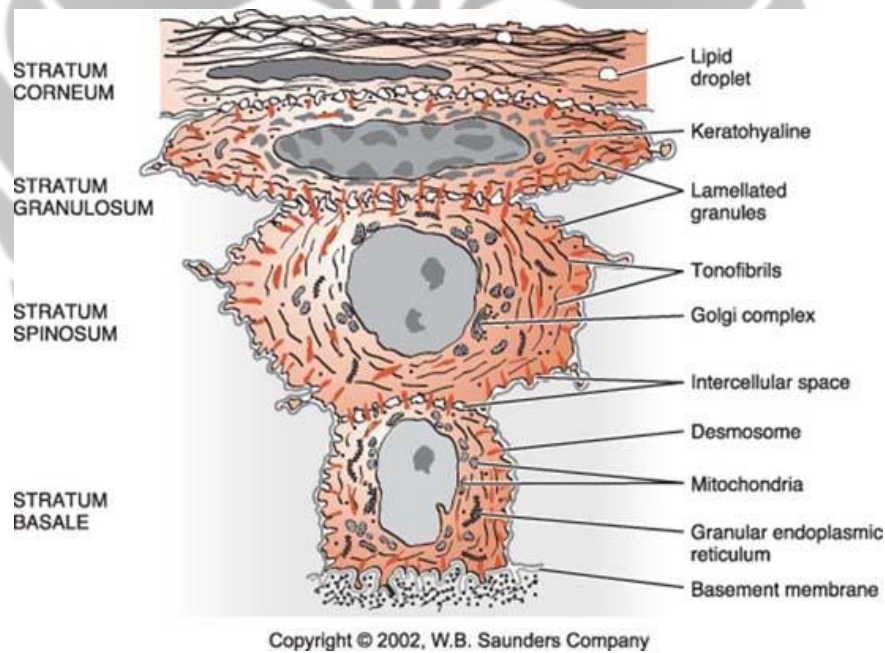
Level hTERT yang rendah dideteksi dengan *real-time* RT-PCR pada sebagian besar jaringan mukosa oral normal dan ekspresi hTERT juga terdeteksi pada sebagian jaringan karsinoma sel skuamosa dengan kenaikan yang signifikan. Dengan *in situ* RT-PCR, ekspresi hTERT tidak terlihat pada epitelium normal atau *mild dysplasia* namun terdeteksi pada *moderate dysplasia* dengan histopatologi yang berlevel lebih tinggi: *severe dysplasia* dan *invasive carcinoma*. Hal ini mengindikasikan bahwa peningkatan ekspresi telomerase terjadi mulai dari karsinogenesis rongga mulut manusia dan mendukung peranan penting telomerase dalam perkembangan kanker mulut manusia. Banyaknya kuantitas transkripsi hTERT yang terdeteksi pada spesimen jaringan normal dapat juga dikarenakan adanya sel hematopoietik yang juga menampilkan level aktivitas telomerase yang sedang.⁽⁴⁰⁾

2.5 Jaringan Gingiva Normal

Gingiva merupakan bagian dari mukosa oral yang melindungi prosesus alveolaris pada rahang dan mengelilingi daerah sekitar leher gigi. Secara anatomis, gingiva terbagi menjadi tipe *marginal*, *attached*, dan area interdental. Gingiva terdiri dari jaringan epitel skuamosa berlapis, ada tiga

area berbeda berdasarkan morfologi dan fungsinya: *oral* atau *outer epithelium*, *sulcular epithelium*, dan *junctional epithelium*.⁽⁴⁾

Gingiva mempunyai lapisan karakteristik dari epitelium skuamosa, yang terdiri dari sel yang berlekatan sangat erat satu sama lain dan tersusun dalam lapisan yang berbeda yang disebut strata⁽⁴¹⁾ yaitu (1) Sel basal atau sel formatif dari lapisan sel kolumnar atau kuboidal, (2) Sel prickle atau lapisan spinosa dari sel-sel poligonal, (3) Lapisan granular (*stratum granulosum*) di mana sel-selnya datar dan mengandung banyak partikel keratohialin, (4) Lapisan kornifikasi (*stratum korneum*) dimana sel-selnya datar dan tenggelam, dan terkeratinisasi atau parakeratinisasi.⁽⁴²⁾ Tipe sel yang paling penting pada epitel gingiva yaitu keratinosit. Sel-sel lain yang ditemukan dalam epitel yaitu nonkeratinosit yang termasuk di dalamnya sel-sel Langerhans, sel Merkel dan melanosit.⁽⁴⁾



Gambar 2.5. Gambaran sel dari berbagai lapisan epitelium skuamosa dilihat menggunakan mikroskop elektron
(Gambar diambil dari: *Oral Histology: Development Structure and Function*, 1985)

2.5.1 Komponen Molekuler Jaringan Gingiva

Sitoskeleton merupakan suatu jaringan protein kompleks yang bertindak sebagai "tulang dan otot" bagi sel.⁽⁴³⁾ Secara morfologis,

sitoskeleton pada sel epitel terdiri dari tiga komponen yang berbeda yaitu mikrofilamen, filamen intermediat, dan mikrotubulus. Komponen protein yang terdapat di dalam mikrofilamen adalah *actin*, *myosin*, dan protein yang berhubungan seperti *tropomyosin*, *troponin*, α *actinin* dan *filamin*. Mikrotubulus berperan penting dalam mengkoordinasikan sejumlah gerakan sel. Di dalam mikrotubulus, protein yang dominan adalah *tubulin*.⁽⁴⁴⁾ Filamen intermediat merupakan unsur penting pada sel yang sering mendapatkan tekanan mekanik. Berbeda dengan unsur-unsur sitoskeleton lain, filamen dalam filamen intermediat adalah struktur yang sangat stabil. Tidak terdapat bukti adanya kelompok protein filamen intermediat dapat terurai dan tersusun secara reversibel. Secara umum, hanya dijumpai satu jenis filamen intermediat pada suatu jenis sel tertentu.⁽⁴³⁾ Pada sel epitel, filamen yang ditemukan adalah filamen keratin.^(43, 44)

Protein keratin tersusun dari subunit-subunit polipeptida berbeda yang dapat dikenali dengan nilai isoelektrik dan berat molekul mereka. Polipeptida keratin K1 yang berberat molekul 68 KDa merupakan komponen yang paling utama pada lapisan korneum. Ada juga protein lain yang bukan termasuk keratin yang disintesis selama proses maturasi, yang paling banyak dipelajari adalah *keratolinin* dan *involucrin*. *Keratolinin* dan *involucrin* merupakan prekursor yang meresistensi struktur secara kimia, berlokasi dibawah membran sel. Terdapat pula *fillagrin* yang berperan sebagai prekursor yang di dibungkus kedalam granula keratohialin. Pola-pola imunohistikimia dari tipe-tipe keratin, *keratolinin*, *ivolucrin*, dan *fillagrin* berubah dibawah pengaruh stimulus normal atau patologis yang akan berpengaruh terhadap proses keratinisasi.⁽⁴⁾

Di dalam epitel terdapat berbagai jenis protein yang sudah terdeteksi. Epitel jenis pertama yaitu epitel rongga mulut atau *outer epithelium* (berperan melindungi permukaan terluar dari marginal gingiva dan permukaan attached gingiva) terdapat keratinisasi, parakeratinisasi atau kombinasi dari keduanya. Keratin K1, K2, dan K10-

12 merupakan tipe spesifik dari diferensiasi epidermal yang secara imunohistokimia diekspresikan dengan intensitas tinggi pada area orthokeratinisasi dan sedikit pada area parakeratinisasi. K5, K6, K14, dan K16 juga dapat terlihat pada lapisan epitel tersebut. Pada area parakeratin diekspresikan K19 yang biasanya tidak ada pada epitel orthokeratin normal.⁽⁴⁾

Tipe kedua, epitel sulkular, berada pada batas sulkus gingiva, memiliki lapisan yang tipis dan merupakan epitel skuamosa berlapis yang nonkeratin. Bagian ini membentang dari batas mahkota sampai *junctional* epitel puncak margin gingiva. Sama seperti epitel nonkeratin, terdapat sedikit granulosum, stratum korneum dan K1, K2, serta sitokeratin K10-K12, namun di dalamnya terkandung K4 dan K13 serta mengekspresikan K19.⁽⁴⁾

Tipe terakhir, *junctional epithelium*, terdiri dari *collarlike band* atau epitel skuamosa berlapis nonkeratin. Sel-selnya terbagi menjadi dua jenis: basal dan suprabasal.⁽⁴⁾ Polipeptida berbeda diekspresikan pada lapisan ini, seperti K19, K5, dan K14^(4, 5), namun keratin tipe K6 dan K16 kurang diekspresikan.⁽⁴⁾ Epitel tipe keratin mengekspresikan tipe K1 dan K10 pada sel-sel suprabasal.⁽⁵⁾

Jaringan merupakan kelompok-kelompok sel yang menyatu, hal ini membutuhkan kemampuan sel agar mampu berlekatan dengan sel-sel lainnya dengan mekanisme adhesi sel. Kontak adhesi sel terdiri dari protein perlekatan intraseluler (*intracellular attachment protein*) dan protein penghubung antar-membran (*transmembrane linker protein*).⁽⁴⁴⁾ Empat kelas protein transmembran adalah sebagai berikut: *cadherins*, *integrins*, *ICAMs (intercellular adhesion molecules)* dan *selectins*.

Pada *fibroblast, nonjunctional cell-matrix contacts* dapat terjadi. Hal ini dinamakan *extracellular matrix (ECM) contacts*. ECM terdiri dari berbagai macam protein dan polisakarida yang diserap dari serum atau disekresikan secara lokal oleh sel. Dua kelas makromolekul utama yang diidentifikasi di dalam matriks ekstrasel: (1) *Glycosaminoglycans (GAGs)*, rantai polisakarida yang biasanya ditemukan berikatan dengan

protein secara kovalen untuk membentuk proteoglikan, dan (2) protein fibrosa, tampak dalam dua bentuk fungsional yaitu struktural (collagen, elastin) dan adhesif (*fibronectin*, *vitronectin*, dan *laminin*).⁽⁴⁴⁾

Fibronektin menghasilkan perlekatan pada fibroblas.⁽⁴⁴⁾ Penurunan jenis protein ini dijumpai pada jenis tertentu sel-sel kanker, yang mungkin menjadi penyebab mengapa sel kanker tidak melekat erat satu sama lain, tapi cenderung memisah dan bermetastasis.⁽⁴³⁾ Sedangkan laminin mengasihkan perlekatan pada sel epitelial.⁽⁴⁴⁾

2.6. Protein

Protein merupakan makromolekul yang terdiri dari satu atau beberapa polipeptida. Setiap polipeptida terdiri dari rangkaian asam amino yang saling berikatan. Setiap protein memiliki fungsi khas yang dibutuhkan sebagai struktur, fungsi dan regulasi dari sel-sel tubuh, jaringan dan organ. Protein merupakan penyusun material sel dan dapat berperan sebagai enzim, hormon, elemen struktural dan antibodi.⁽¹⁾

Struktur protein dapat dilihat sebagai hirarki yaitu berupa struktur primer (tingkat satu), sekunder (tingkat dua), tersier (tingkat tiga), dan kuartener (tingkat empat). Struktur primer protein merupakan urutan asam amino penyusun protein yang dihubungkan melalui ikatan peptida (amida). Sementara itu struktur sekunder protein adalah struktur tiga dimensi lokal dari berbagai rangkaian asam amino pada protein yang distabilkan oleh ikatan hidrogen.^(2,3)

Gabungan dari aneka ragam dari struktur sekunder akan menghasilkan struktur tiga dimensi yang dinamakan struktur tersier. Struktur tersier biasanya berupa gumpalan. Beberapa molekul protein dapat berinteraksi secara fisik tanpa ikatan kovalen membentuk oligomer yang stabil (misalnya dimer, trimer, atau kuartomer) dan membentuk struktur kuartener.⁽²⁾

Metode Bradford Protein Assay dan SDS-PAGE

Bradford protein assay merupakan prosedur analisis spektroskopik yang digunakan untuk menentukan konsentrasi protein dalam cairan.⁽⁴⁵⁻⁴⁸⁾

Penilaian tersebut berbeda-beda tergantung dari komposisi asam amino dari protein yang dinilai. Pada prosedur ini terdapat prinsip spektrofotometri, *spectrometer* digunakan untuk memproduksi sinar dengan pemilihan warna (panjang gelombang) dan *photometer* untuk menerima dan menilai intensitas cahaya. Protein yang akan diukur diletakkan ditengah-tengah alat tersebut, sinar yang ditembakkan sebagian diserap oleh protein dan sebagian diterima oleh *photometer*. Alat tersebut menghantarkan sinyal tegangan ke galvanometer. Sinyal tersebut berubah sebanding dengan perubahan jumlah sinar yang diserap yang kemudian menunjukkan angka konsentrasi dari protein yang diukur.⁽⁴⁹⁾ Pada metode Bradford terkandung *dye Coomassie[®] Brilliant Blue* yang dapat berikatan dengan protein dalam cairan asam yang memiliki tingkat penyerapan dari 465 nm sampai 595 nm.⁽⁴⁸⁾ Kelebihan *Bradford protein assay* dibandingkan metode yang lain adalah lebih cepat, langkah-langkah pencampuran lebih sedikit, tidak membutuhkan pemanasan dan memberikan respons *colorimetric* yang lebih stabil.⁽⁴⁶⁾

Ekspresi protein tertentu dapat dilihat berdasarkan berat molekulnya. Penentuan berat molekul dapat menggunakan metode yang dinamakan *Sodium Dodecyl Sulfate-PolyAcrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE). Protein yang dialirkan dalam medium gel dialiri arus listrik dengan tegangan tertentu. Protein yang bermuatan negatif (anion) akan bergerak ke bawah ke arah kutub positif. Protein dengan berat molekul lebih ringan akan bergerak lebih cepat dalam medium gel. Protein akan terlihat sebagai pita-pita yang dapat terlihat setelah diwarnai dengan *staining solution*.⁽⁵⁰⁾

2.9 Kerangka Teori

