

PENGARUH METODE PENGUMPULAN SALIVA SEBELUM DAN SETELAH MENYIKAT GIGI TERHADAP TITER STATUS SEKRETOR

The Effect of Saliva Collection Method Before and After Brushing on Secretor Status Titer

Kamila Nurul Azizah¹; Betty Nurhayati¹; Nina Marlina¹; Adang Durachim¹

¹ Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung

Email: Kamilanurulaz48@gmail.com, Bettynurhayati@gmail.com,
nina.marliana0606@gmail.com, adangdurachim65@gmail.com

ABSTRACT

Secretor status refers to individuals who secrete ABH antigens in their body fluids such as saliva. Saliva collection needs to be considered how it is collected and handled. This study aims to analyze the effect of collection methods on saliva before and after brushing teeth on secretor status titers. The type of research conducted was quasi-experimental with a pseudo research design. In this study saliva was collected from 8 healthy individuals, collection was carried out by passive drooling and spitting methods before and after brushing teeth. The study was conducted at the hematology laboratory of the Medical Laboratory Technology department of the Bandung Ministry of Health Polytechnic in May 2023. Secretor status titer was examined by hemagglutination inhibition method. The results of the study conducted Willcoxon test on the group of saliva data collected before brushing teeth with different methods obtained p value = 0.018 and the group of saliva data collected after brushing teeth with different methods p value = 0.027. Both data groups showed a sig value of $p < 0.05$. Meanwhile, the saliva data group collected by the Passive drooling method before and after brushing teeth obtained a p value of 0.180 and the saliva group collected by the Spitting method before and after brushing teeth obtained a p value of 0.317 both data showed $p > 0.05$. So it can be concluded that there is an effect of collecting saliva with different methods. However, there is no effect of collecting saliva taken before and after brushing teeth.

Key words: Secretor Status, Passive drooling, Spitting, Tooth Brushing

ABSTRAK

Status sekretor mengacu pada individu yang mengeluarkan antigen ABH pada cairan tubuhnya seperti pada saliva. Pengumpulan saliva perlu diperhatikan bagaimana pengumpulan dan penanganannya. Pada penelitian ini bertujuan untuk menganalisis adanya pengaruh metode pengumpulan pada saliva sebelum dan setelah menyikat gigi terhadap titer status sekretor. Jenis penelitian yang dilakukan adalah kuarsi eksperimen dengan desain penelitian semu. Dalam penelitian ini saliva dikumpulkan dari 8 individu sehat, pengumpulan dilakukan dengan metode *passive drooling* dan *spitting* sebelum dan setelah menyikat gigi. Penelitian dilakukan di Laboratorium hematologi jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung pada Mei 2023. Titer status status sekretor diperiksa dengan metode hemaglutinasi inhibisi. Hasil penelitian dilakukan uji *Willcoxon* pada kelompok data saliva yang dikumpulkan sebelum menyikat gigi dengan metode yang berbeda didapatkan nilai $p=0,018$ dan kelompok data saliva yang dikumpulkan setelah menyikat gigi dengan metode berbeda nilai $p=0,027$. Kedua kelompok data tersebut menunjukkan nilai sig $p < 0,05$. Sedangkan, kelompok data saliva

yang dikumpulkan dengan metode *Passive drooling* sebelum dan setelah menyikat gigi didapatkan nilai p 0.180 dan kelompok saliva yang dikumpulkan dengan metode *Spitting* sebelum dan setelah menyikat gigi didapatkan nilai p yaitu 0.317 kedua data menunjukkan $p > 0,05$. Sehingga dapat disimpulkan terdapat pengaruh pengumpulan saliva dengan metode yang berbeda. Namun, tidak terdapat pengaruh pengumpulan saliva yang diambil sebelum dan setelah menyikat gigi.

Kata kunci: Status Sekretor, *Passive drooling*, *Spitting*, Menyikat Gigi

PENDAHULUAN

Pemeriksaan status sekretor ini biasanya dilakukan untuk pemeriksaan serologis forensik yang berfungsi untuk menentukan golongan darah seseorang dengan menggunakan cairan tubuh.¹ Selain itu, status sekretor juga dapat digunakan untuk membantu pemeriksaan pada diskrepansi ABO seperti menemukan subkelompok A dan B yang langka. Pemeriksaan status sekretor ini murah dan dapat dilakukan dipusat laboratorium manapun^{2,3}.

Saliva merupakan salah satu cairan tubuh yang dapat digunakan dalam pemeriksaan status sekretor. Saliva mengandung musin glikoprotein yang memiliki peran penting sebagai pembawa antigen golongan darah dalam saliva⁴. pemilihan saliva sebagai spesimen untuk pemeriksaan status sekretor dikarenakan saliva merupakan cairan tubuh yang paling mudah didapatkan.

Pengumpulan *whole saliva unstimulant* lebih disukai karena dapat meminimalkan pengenceran analit. Metode yang menjadi *gold* standar dalam pengambilan sampel saliva adalah *passive drooling*⁵. Kelebihan dari metode *passive drooling* yaitu volume sampel yang didapatkan cukup banyak dan pengaruh dari kontaminasi kecil. Namun, metode *passive drooling* tidak cocok untuk individu yang mengalami kesulitan dengan metode tersebut seperti pada anak kecil, *sleepers*, dan lansia yang lemah.⁶ . Pendahuluan berisi latar belakang, konteks penelitian, hasil kajian pustaka, dan tujuan penelitian.³

Metode Pengumpulan lain seperti *spitting* dapat digunakan ketika laju aliran sangat rendah dan penguapan saliva dapat diminimalkan⁷. Sayangnya, metode *spitting* memiliki sedikit efek *stimulant* dan mengandung lebih banyak bakteri yang dapat mempengaruhi analisis saliva namun metode *spitting* memberikan informasi yang serupa dengan *whole saliva unstimulant*⁸.

Pada *SalivaBio 3rd Edition* tahun 2015 pengumpulan saliva disarankan untuk tidak makan 60 menit sebelum dilakukan pengumpulan saliva, hal tersebut disebabkan karena mengunyah makanan mempengaruhi laju aliran saliva yang akan menyebabkan produksi volume saliva lebih banyak⁶. Hal ini dibuktikan pada penelitian Nilla Marlia tahun 2018 dimana didapatkan perbedaan yang bermakna antara titer status sekretor pada pengambilan spesimen saliva pagi dan 60 menit setelah makan⁹.

Selain mengunyah makanan faktor lain yang akan mempengaruhi laju aliran saliva adalah menyikat gigi. Menurut Ligtenberg tahun 2006 setelah menyikat gigi tingkat sekresi saliva meningkat secara signifikan selama 60 menit¹⁰ sedangkang menurut Affo dan Hoek menyikat gigi merangsang produksi saliva di lima menit pertama^{11,12}, selain itu menurut penelitian Hoek dkk mengatakan bahwa menyikat gigi selain mempengaruhi laju aliran saliva juga memiliki signifikan efek pada komposisi protein air liur, yang mungkin bertahan setelah lebih dari 45 menit¹².

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh metode

pengumpulan saliva sebelum dan setelah menyikat gigi terhadap titer status sekretor.

METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah kuarsi eksperimen dengan desain penelitian semu. Dalam penelitian ini saliva dikumpulkan di waktu yang berbeda yaitu sebelum dan setelah menyikat gigi, setiap pengumpulan dilakukan dengan metode yang berbeda yaitu dengan *Passive Drooling* dan *Spitting*. *Passive Drooling* dikumpulkan dengan cara saliva dikumpulkan selama 3-5 menit tanpa adanya pergerakan di dasar mulut (berbicara, menggerakkan lidah atau melakukan gerakan menelan) lalu secara drooling alirkan saliva melalui saluran *saliva collection aid*. Metode *Spitting* dilakukan dengan cara kumpulkan saliva didalam mulut ludahkan saliva 60 detik sekali lakukan sampai volume saliva tercukupi. Titer status status sekretor diperiksa dengan metode hemaglutinasi inhibisi.

Populasi pada penelitian ini adalah 8 individu sehat Sampel pada penelitian ini adalah individu sehat dengan golongan darah A dan B, diambil di pagi hari sebelum melakukan aktivitas makan dan minum. dengan kriteria inklusi sampel yaitu mahasiswa/i Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung berjenis kelamin laki-laki atau perempuan bergolongan darah A atau B berstatus sekretor. Sedangkan untuk kriteria eksklusi penelitian ini yaitu bukan mahasiswa/i Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung, bergolongan darah A atau B berstatus non sekretor, golongan darah O atau AB berstatus sekretor/ non sekretor.

Penelitian ini sudah memperoleh pernyataan layak etik dari KEPK Bandung no.43/KEPK/EC/IV/2023. Penelitian ini dilaksanakan bulan mei hingga juni di Laboratorium Hematologi Jurusan TLM Politeknik Kesehatan

Bandung. Pengolahan data dilakukan uji normalitas, distribusi data tidak normal maka dilakukan uji statistic *Wilcoxon*.

HASIL

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan status sekretor dengan metode pengumpulan yang berbeda yang dilakukan sebelum dan setelah menyikat gigi, kemudian dilihat titer aglutinasi yang terbentuk. Penelitian ini menggunakan 8 subjek mahasiswa Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung dengan jumlah 32 unit penelitian yang terdiri dari 8 unit penelitian saliva yang dikumpulkan dengan metode *Passive drooling* sebelum menyikat gigi. 8 unit penelitian saliva yang dikumpulkan dengan metode *Passive drooling* sesudah menyikat gigi, 8 unit penelitian saliva yang dikumpulkan dengan metode *Spitting* sebelum menyikat gigi, dan 8 unit penelitian saliva yang dikumpulkan dengan metode *Spitting* setelah menyikat gigi. Kedelapan subjek ini merupakan individu yang berstatus sekretor dengan 4 orang bergolongan darah A dan 4 Orang bergolongan darah B. Proses pemeriksaan diawali dengan validasi reagen zat anti A dan zat anti B yang digunakan untuk memastikan zat anti dalam keadaan valid. Hasil validasi reagen zat anti golongan darah disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1 Validasi Zat Anti

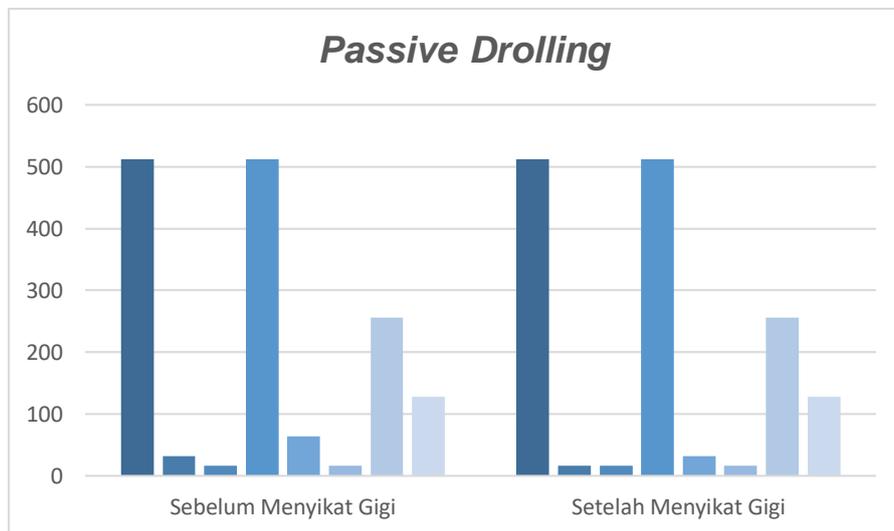
Zat Anti Golongan Darah	No.Lot Reagen Anti	Hasil	Kesimpulan
Anti A	AA-2210-1/4	+4	Valid
Anti B	BB-2201-1/1	+4	Valid

Tabel 1 menunjukkan hasil validasi zat anti A dan anti B menghasilkan aglutinasi +4 yang dipastikan valid dan dapat digunakan untuk menentukan titer zat anti yang selanjutnya dilakukan dengan pemeriksaan titer hemaglutinasi inhibisi dan ditentukan status sekretornya. Berikut merupakan hasil penelitian

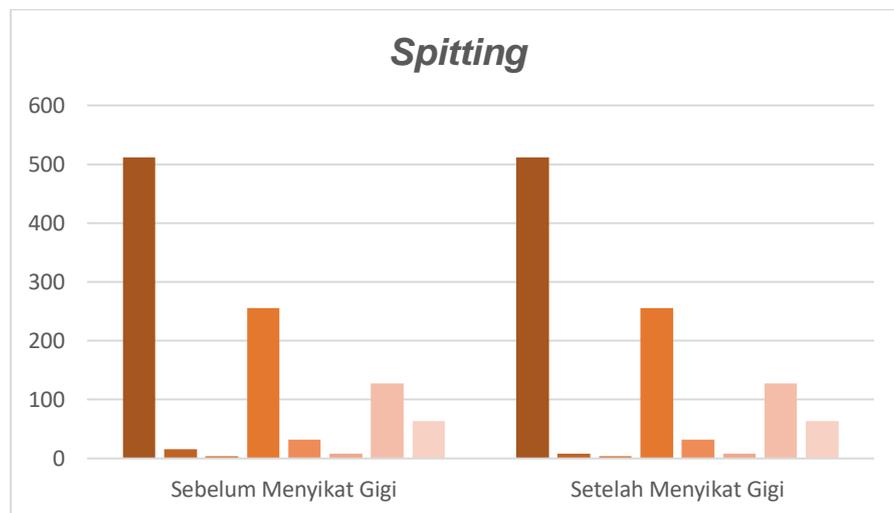
pengaruh metode pengumpulan saliva sebelum dan setelah menyikat gigi terhadap titer status sekretor.

Tabel 2 Hasil Titer Status Sekretor

Subjek	Titer Status Sekretor			
	<i>Passive drooling</i>		<i>Spitting</i>	
	Sebelum Menyikat Gigi	Setelah Menyikat Gigi	Sebelum Menyikat Gigi	Setelah Menyikat Gigi
1	1/512	1/512	1/512	1/512
2	1/32	1/16	1/16	1/8
3	1/16	1/16	1/4	1/4
4	1/512	1/512	1/256	1/256
5	1/64	1/32	1/32	1/32
6	1/16	1/16	1/8	1/8
7	1/256	1/256	1/128	1/128
8	1/128	1/128	1/64	1/64



Gambar 1 Grafik Hasil Pemeriksaan Pengumpulan Saliva Metode *Passive drooling* Sebelum Menyikat Gigi dan Setelah Menyikat Gigi



Gambar 2 Grafik Hasil Pemeriksaan Pengumpulan Saliva Metode *Spitting* Sebelum Menyikat Gigi dan Setelah Menyikat Gigi

Dari tabel 2 didapatkan rentang titer status sekretor mulai dari 1/4 – 1/512. Dimana nilai titer tertinggi ada pada setiap metode pengumpulan dengan perlakuan sebelum dan setelah menyikat gigi. Namun, nilai titer terkecil berada pada kelompok data pengumpulan saliva dengan metode *spitting* baik sebelum menyikat gigi maupun setelah menyikat gigi.

Data hasil penelitian pada tabel 2 dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-wilk* karena jumlah data <30. Uji Normalitas ini untuk mengetahui apakah data penelitian terdistribusi normal atau tidak normal. Hasil uji Normalitas dapat dilihat pada tabel 3 dibawah ini.

Tabel 3 Uji Normalitas

Metode Pengumpulan	Hasil	Kesimpulan
Passive drooling	Sebelum Menyikat Gigi	p<0,05 Distribusi Tidak Normal
	Setelah Menyikat Gigi	p<0,05 Distribusi Tidak Normal
Spitting	Sebelum Menyikat Gigi	p<0,05 Distribusi Tidak Normal
	Setelah Menyikat Gigi	p<0,05 Distribusi Tidak Normal

Dari tabel 3 hasil uji normalitas diatas diperoleh nilai Sig < 0,05 untuk semua kelompok data, sehingga dapat disimpulkan bahwa distribusi data pemeriksaan titer status sekretor dengan pengumpulan saliva metode berbeda sebelum dan setelah menyikat gigi tidak terdistribusi normal sehingga pengolahan data dilanjutkan dengan uji *Willcoxon*.

Tabel 4 Uji Non Parametric Wilcoxon

Kelompok Data	Hasil	Kesimpulan
Passive drooling vs Spitting	Sebelum Menyikat Gigi	p<0,05 Ada Perbedaan
	Setelah Menyikat Gigi	p<0,05 Ada Perbedaan
Sebelum menyikat gigi vs Setelah Menyikat gigi	<i>Passive drooling</i>	p>0,05 Tidak Ada Perbedaan
	<i>Spitting</i>	p>0,05 Tidak Ada Perbedaan

Dasar pengambilan keputusan

Jika $p > 0,05$, maka H_0 diterima

Jika $p < 0,05$, maka H_0 ditolak

Dari tabel 4 dapat dilihat pengaruh metode pengumpulan saliva sebelum dan setelah menyikat gigi terhadap titer status sekretor. Hasil uji *Non Parametric Wilcoxon* pada kelompok data saliva yang dikumpulkan sebelum menyikat gigi dengan metode yang berbeda didapatkan nilai p yaitu 0,018 yang menunjukkan $p < 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima atau terdapat perbedaan titer status sekretor pada saliva yang dikumpulkan sebelum menyikat gigi dengan metode pengumpulan saliva berbeda yaitu *passive drooling* dan *spitting*.

Pada kelompok data saliva yang dikumpulkan setelah menyikat gigi

dengan metode yang berbeda didapatkan nilai p yaitu 0,027 yang menunjukkan $p < 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima atau terdapat perbedaan titer status sekretor pada saliva yang dikumpulkan setelah menyikat gigi dengan metode pengumpulan saliva berbeda yaitu *passive drooling* dan *spitting*. Dengan demikian terdapat perbedaan bermakna antara saliva yang dikumpulkan dengan metode yang berbeda baik sebelum menyikat gigi ataupun setelah menyikat gigi terhadap titer status sekretor.

Pada kelompok data saliva yang dikumpulkan dengan metode *Passive drooling* sebelum dan setelah menyikat gigi didapatkan nilai p yaitu 0.180 yang menunjukkan $p > 0,05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak atau tidak terdapat perbedaan titer status sekretor pada saliva yang dikumpulkan dengan metode *Passive drooling* sebelum dan setelah menyikat gigi. Pada kelompok saliva yang dikumpulkan dengan metode *Spitting* sebelum dan setelah menyikat gigi didapatkan nilai p yaitu 0.317 yang menunjukkan $p > 0,05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak atau tidak terdapat perbedaan titer status sekretor pada saliva yang dikumpulkan dengan metode *Spitting*, sebelum dan setelah menyikat gigi. Dengan demikian tidak terdapat perbedaan bermakna antara saliva yang dikumpulkan sebelum menyikat gigi dan setelah menyikat gigi terhadap titer status sekretor.

PEMBAHASAN

Pada hasil penelitian yang disajikan pada tabel 2 diketahui terdapat perbedaan bermakna pada pemeriksaan titer status sekretor dengan saliva yang dikumpulkan dengan metode yang berbeda. Namun, tidak terdapat perbedaan bermakna titer status sekretor pada saliva yang diambil sebelum dan setelah menyikat gigi.

Dari enam belas data titer status sekretor yang dikumpulkan sebelum dan setelah menyikat gigi hanya terdapat tiga data (30%) yang mengalami penurunan titer status sekretor yang dikumpulkan sebelum dan setelah menyikat gigi. Dua dari tiga data tersebut berasal dari kelompok data titer status sekretor yang pengambilan saliva dikumpulkan dengan metode *passive drooling* dan satu data berasal dari kelompok data titer status sekretor yang pengambilan saliva dikumpulkan dengan metode *spitting*.

Pada kelompok data sebelum menyikat gigi dan setelah menyikat gigi didapatkan data dimana terdapat perbedaan titer status sekretor yang dipengaruhi oleh metode pengumpulan saliva. Pada pengumpulan saliva dengan metode *Passive drooling* titer status sekretor yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan dengan pengumpulan saliva metode *spitting*. Dari kelompok data sebelum menyikat gigi 87.5% atau tujuh dari data data titer status sekretor dengan pengumpulan saliva secara *passive drooling* menunjukkan titer status sekretor lebih tinggi dibandingkan titer status sekretor saliva yang dikumpulkan dengan metode *spitting*. Sedangkan, pada kelompok data setelah menyikat gigi 75% atau enam dari delapan data menunjukkan titer status sekretor dengan pengumpulan saliva secara *passive drooling* lebih tinggi dibandingkan dengan *spitting*.

Individu golongan sekretor memiliki substansi H dalam cairan tubuhnya bersama dengan substansi A dan B yang sesuai dengan golongan darahnya. Gen sekretor ini diwariskan dalam bentuk autosomal yang dominan. Dimana gen *Se* adalah dominan dan gen *se* adalah resesif. Individu dengan status sekretor memiliki fenotif *SeSe* atau *Sese* sedangkan Individu dengan status non sekretor memiliki genotif *sese*¹³. Gen *Se* mengkode enzim *fucosyltransferase* tertentu yang terletak

di dalam epitel jaringan sekretorik seperti kelenjar ludah, keringat, air mata dan sekresi lendir gastrointestinal sehingga membuat kelenjar-kelenjar tersebut menghasilkan antigen golongan darah yang sama dengan eritrosit.

Menyikat gigi merupakan kegiatan *oral hygiene* yang juga merupakan proses penghilangan bakteri secara mekanis¹⁴. Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh menyikat gigi terhadap titer status sekretor tidak ada perbedaan. Hal tersebut dapat disebabkan pada pengolahan saliva baik pada saliva sebelum dan setelah menyikat gigi dilakukan pemanasan terlebih dahulu yang berfungsi untuk menghilangkan bakteri pengganggu pada pemeriksaan titer status sekretor. Sehingga tidak terjadi perbedaan bermakna pada hasil titer sekretor baik sebelum menyikat gigi maupun setelah menyikat gigi. Meskipun begitu, kegiatan menyikat gigi mempengaruhi laju aliran saliva.¹⁴

Perbedaan titer status sekretor yang disebabkan oleh metode pengumpulan saliva disebabkan perbedaan kandungan saliva yang dihasilkan pada kedua metode pengumpulan saliva. Pada metode *passive drooling* memberikan hasil titer status sekretor yang lebih tinggi dibandingkan metode *spitting*, hal tersebut disebabkan saliva yang dihasilkan dengan pengumpulan *passive drooling* memberikan sampel yang murni tanpa stimulasi, volume sampel yang besar dan mudah dilakukan, selain itu pengumpulan saliva dengan metode *passive drooling* juga mengandung musin¹⁵. Dimana glikoprotein musin merupakan komponen utama protein yang membawa spesifitas golongan darah berupa *oligosakarida* yang kandungannya terdiri dari substansi golongan darah pada saliva manusia. Sedangkan untuk metode *spitting* meskipun metode ini menghasilkan

saliva yang sama dengan *passive drooling* namun pada metode *spitting* memiliki efek stimulasi sehingga tidak cocok digunakan untuk sampel yang membutuhkan sampel *unstimulant saliva*⁷.

Komponen utama saliva dengan metode *unstimulant* saliva berasal dari kelenjar submandibular. Kelenjar ini bertanggung jawab untuk memproduksi musin dengan konsentrasi tinggi di dalam saliva. Sebaliknya, untuk saliva yang memiliki proses *stimulant* mekanik, saliva sebagian besar berasal dari kelenjar parotis dan sebagian besar terdiri dari air¹⁶. Konsentrasi musin inilah yang mempengaruhi titer status sekretor di dalam saliva.

Kelenjar submandibular merupakan kelenjar yang memproduksi air liur terbanyak yaitu sekitar 70%. Kelenjar submandibular menghasilkan 80% serous (cairan ludah yang encer) dan 20% mukosa (cairan ludah yang kental). Serous atau cairan ludah yang encer dihasilkan oleh *acinous serous*. Hasil sekresi dari *acinous serous* berisi enzim *ptyalin* yang bersifat jernih dan encer. Sedangkan untuk mukosa dihasilkan oleh *acinous mucous* dimana hasil sekresi dari sel ini adalah musin yang sangat kental¹⁷.

Berdasarkan penelitian terdahulu¹⁶ dengan judul "*Evaluation of saliva collection device for analysis of protein*" dimana pada penelitian tersebut dijelaskan bahwa metode pengumpulan saliva menunjukkan perbedaan signifikan yang relevan dalam tingkat analitis yang berbeda. Berdasarkan penelitian tersebut metode pengumpulan saliva mempengaruhi konsentrasi dari CRP, myoglobin dan IgE sehingga penting untuk mengevaluasi dengan benar metode pengumpulan agar mendapatkan hasil interpretasi hasil yang bermakna.

SIMPULAN

Hasil statistik uji *Willcoxon* pada kelompok data saliva yang dikumpulkan

sebelum menyikat gigi dengan metode yang berbeda didapatkan $p < 0,018$ dan kelompok data saliva yang dikumpulkan setelah menyikat gigi dengan metode berbeda nilai $p < 0,027$. Kedua kelompok data tersebut menunjukkan nilai $sig < 0,05$. Sedangkan, kelompok data saliva yang dikumpulkan dengan metode *Passive drooling* sebelum dan setelah menyikat gigi didapatkan nilai $p < 0,180$ dan kelompok saliva yang dikumpulkan dengan metode *Spitting* sebelum dan setelah menyikat gigi didapatkan nilai p yaitu $0,317$ kedua data menunjukkan $p > 0,05$. Sehingga dapat disimpulkan terdapat pengaruh pengumpulan saliva dengan metode *Passive drooling* dan *Spitting*. Namun, tidak terdapat pengaruh pengumpulan saliva yang diambil sebelum dan setelah menyikat gigi.

DAFTAR RUJUKAN

1. Metgud R, Khajuria N, Mamta, Ramesh G. Evaluation of the secretor status of abo blood group antigens in saliva among southern rajasthan population using absorption inhibition method. *J Clin Diagnostic Res.* 2016;10(2):ZC01-ZC03. doi:10.7860/JCDR/2016/11598.7161
2. Bharath RR, Arumugam P. The prevalence of secretor status and co-expression of lewis antigen in voluntary blood donors. *Asian J Med Sci.* 2016;7(5):93-96. doi:10.3126/ajms.v7i5.14848
3. Banerjee S, Alwar V, Dr., Sitalakshmi S. The importance of testing for secretor status of ABH antigens: A case series. *Iraqi J Hematol.* 2021;10(2):176. doi:10.4103/ijh.ijh_25_21
4. Aliviameita A, MAR MS, Yudianto A. Forensic Identification of Blood Types in Pear (*Pyrus bretschneideri*) Fruit Bitemark. *Folia Medica Indones.* 2018;54(4):269. doi:10.20473/fmi.v54i4.10710
5. Bellagambi FG, Lomonaco T, Salvo P, et al. Saliva sampling: Methods and devices. An overview. *TrAC - Trends Anal Chem.* 2020;124. doi:10.1016/j.trac.2019.115781
6. Salimetrics, L.L.C., SalivaBio LLC. Saliva Collection and Handling Advice. *Methods.* 2015;44(0):1-15. www.salimetrics.com
7. Priya Y, Prathibha K M. Methods of collection of saliva-A Review. *Int J Oral Heal Dent.* 2017;3(3):149-153. doi:10.18231/2395-499X.2017.0032
8. Bhattarai KR, Kim HR, Chae HJ. Compliance with saliva collection protocol in healthy volunteers: Strategies for managing risk and errors. *Int J Med Sci.* 2018;15(8):823-831. doi:10.7150/ijms.25146
9. Malianti N. No Title. *Perbandingan Titer Status Sekretor pada Pengambilan Spesimen Saliva Pagi dan 60 Menit Setelah Makan.* Published online 2018: <http://repository.poltekkesbdg.info/files/original>.
10. Ligtenberg AJ, Brand HS, Bots CP, Nieuw Amerongen A V. The effect of toothbrushing on secretion rate, pH and buffering capacity of saliva. *Int J Dent Hyg.* 2006;4(2):104-105. doi:10.1111/j.1601-5037.2006.00170.x
11. Affoo RH, Trottier K, Garrick R, Mascarenhas T, Jang Y, Martin RE. The Effects of Tooth Brushing on Whole Salivary Flow Rate in Older Adults. *Biomed Res Int.* 2018;2018. doi:10.1155/2018/3904139
12. Hoek GH, Brand HS, Veerman ECI, Amerongen AVN. Toothbrushing affects the protein composition of whole saliva. *Eur J Oral Sci.* 2002;110(6):480-481. doi:10.1034/j.1600-0722.2002.21370.x
13. Daniels G. ABO, H, and Lewis Systems. *Hum Blood Groups.* Published online 2013:11-95. doi:10.1002/9781118493595.ch2
14. Justino AB, Teixeira RR, Peixoto LG, Jaramillo OLB, Espindola FS. Effect of saliva collection methods and oral hygiene on salivary biomarkers. *Scand J Clin Lab Invest.*

- 2017;77(6):415-422.
doi:10.1080/00365513.2017.1334261
15. Adisty NI, Hutomo M, Indramaya DM. Kadar Kortisol Saliva Menggambarkan Kadar Kortisol Serum Pasien Dermatitis Atopik (Salivary Cortisol Levels Representing Serum Cortisol Levels in Atopic Dermatitis Patients). *BIKKK - Berk Ilmu Kesehat Kulit dan Kelamin - Period Dermatology Venereol.* 2015;27:170-175.
16. Topkas E, Keith P, Dimeski G, Cooper-White J, Punyadeera C. Evaluation of saliva collection devices for the analysis of proteins. *Clin Chim Acta.* 2012;413(13-14):1066-1070.
doi:10.1016/j.cca.2012.02.020
17. Rahayu YCR, Kurniawati A. *CAIRAN RONNGGA MULUT.*; 2018.
<http://repository.unej.ac.id/bitstream/handle/123456789/65672/AinulLatifah-101810401034.pdf?sequence=1>