



**PENGARUH TOTAL KATEKIN TERHADAP KADAR SOD  
(*Superoksida dismutase*) PADA GINGIVA TIKUS WISTAR  
JANTAN (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI *Porphyromonas*  
*gingivalis***

**SKRIPSI**

**UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN MEMPEROLEH GELAR  
SARJANA KEDOKTERAN GIGI**

**Oleh :**

**Salsabila Allysa Purboningrum**

**NIM. 155070407111017**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2018**

Daftar Isi	Halaman
Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Halaman Persetujuan.....	ii
Pernyataan Orisinalitas Skripsi.....	iv
Kata Pengantar.....	<b>Error!</b>
<b>Bookmark not defined.</b>	
Daftar Isi.....	vii
Abstrak.....	xi
Abstrac.....	xii
Daftar Gambar.....	xiii
Daftar Tabel.....	xiv
Daftar Singkatan.....	xv
<b>Bab 1 Pendahuluan.....</b>	<b>1</b>
1.1 LatarBelakang.....	1
1.2 Rumusah Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Praktis.....	5
1.4.2 Manfaat Teori.....	5
<b>Bab 2 Tinjauan Pustaka.....</b>	<b>6</b>
2.1 <i>Porphyromonas Gingivalis</i> .....	6
2.1.1 Taksonomi <i>P Gingivalis</i> .....	6
2.1.1 Morfologi <i>P Gingivalis</i> .....	6
2.1.3 Virulensi <i>P Gingivalis</i> .....	7
2.2 Periodontitis.....	7

2.2.1	Etiologi .....	8
2.2.2	Patogenesis .....	9
2.2.3	Klasifikasi.....	10
2.2.4	Gambaran Klinis.....	11
2.2.5	Gambaran Radiografis.....	13
2.3	Radikal Bebas Dan Antioksidan.....	14
2.3.1	Pengertian Radikal Bebas .....	14
2.3.2	Pengertian Antioksidan.....	15
2.3.3	Jenis Antioksidan.....	16
2.3.4	SOD .....	21
2.4	Teh Hijau .....	22
2.4.1	Taksonomi .....	22
2.4.2	Deskripsi Tanaman Teh.....	23
2.4.3	Kandungan.....	24
2.4.4	Teh Hijau Sebagai Antioksidan .....	24
2.4	Hubungan <i>P Gingivalis</i> Dan Antioksidan .....	27
2.5	Tikus Wistar .....	27

**Bab 3 Kerangka Konsep Dan Hipotesis Penelitian ..... 28**

3.2	Deskripsi Kerangka Konsep .....	29
3.3	Hipotesis Penelitian .....	30

**Bab 4 Metode Penelitian ..... 31**

4.1	Rancangan Penelitian .....	31
4.2	Populasi Dan Sampel Penelitian.....	31
4.2.1	Populasi Penelitian .....	31
4.2.2	Sampel Penelitian .....	32
4.2.2.1	Kriteria Sampel Penelitian.....	32
4.2.2.2	Besar Sampel Penelitian .....	33
4.3	Variabel Penelitian .....	33
4.3.1	Variabel Bebas.....	33

4.3.2	Variabel Terikat .....	34
4.3.3	Variabel Terkendali .....	34
4.4	Lokasi Dan Waktu Penelitian.....	34
4.5	Bahan Dan Alat Penelitian.....	<b>34</b>
4.5.1	Bahan Penelitian .....	34
4.5.2	Alat Penelitian.....	35
4.6	Definisi Operasional .....	36
4.6.1	Induksi Periodontitis.....	36
4.6.2	Kadar Sod .....	36
4.6.3	Hewan Coba .....	36
4.6.4	Pemeriksaan Periodontitis .....	36
4.6.5	Total Katekin Teh Hijau .....	36
4.7	Prosedur Penelitian .....	37
4.7.1	Ethical Clearence.....	37
4.7.2	Persiapan Hewan Coba .....	37
4.7.3	Pembagian Kelompok Perlakuan .....	37
4.7.4	Persiapan Bahan Perlakuan .....	38
4.7.5	Pembuatan Sediaan Bakteri.....	39
4.7.6	Pembuatan Total Katekin <i>Camelia Sinensis</i> .....	40
4.7.7	Prosedur Perlakuan .....	40
4.7.7.1	Injeksi Bahan Perlakuan .....	40
4.7.7.2	Pengambilan Sampel Jaringan Hewan Coba.....	40
4.7.7.3	Pemeriksaan Kadar Sod .....	42
4.7.7.3.1	Bahan Untuk Pengukuran Kadar <i>SOD</i> .....	42
4.7.7.3.2	Alat Untuk Pengukuran Kadar <i>SOD</i> .....	42
4.7.7.3.3	Prosedur Pengukuran Kadar <i>SOD</i> .....	43
4.8	Alur Penelitian.....	44
4.9	Prosedur Pengumpulan Dan Analisa Data.....	45
<b>Bab 5</b>	<b>Hasil Dan Pembahasan.....</b>	<b>46</b>

5.1	Hasil Penelitian.....	46
5.1.1	Pengukuran Poket Periodontal.....	46
5.1.2	Pengukuran Kegoyangan Gigi.....	47
5.1.3	Pengukuran Bop ( <i>Bleeding On Probing</i> ) .....	48
5.1.4	Pengukuran Kadar Sod .....	49
5.2	Hasil Analisis Data .....	50
5.2.1	Uji Normalitas .....	51
5.2.2	Uji Homogenitas Varians.....	51
5.2.3	Uji One Way Anova .....	51
5.2.4	Uji Post Hoc.....	52
5.2.5	Uji Korelasi Dan Regresi .....	52
5.3	Pembahasan .....	52
<b>Bab 6 Kesimpulan Dan Saran .....</b>		<b>57</b>
6.1	Kesimpulan .....	57
6.2	Saran .....	57
<b>Daftar Pustaka .....</b>		<b>58</b>
<b>Lampiran.....</b>		<b>62</b>

## ABSTRAK

Purboningrum, Salsabila Allysa. 2018. Pengaruh total katekin terhadap kadar SOD (*superoksida dismutase*) pada gingiva tikus wistar jantan (*rattus norvegicus*) yang diinduksi *porphyromonas gingivalis*. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.

Bakteri *P gingivalis* memiliki hubungan yang kuat dengan terjadinya periodontitis, dan juga pada gingivitis. Namun tidak sedominan sebagai patogen dalam periodontitis kronis ( Rafiei M, et al. 2017 ). Periodontitis adalah penyakit inflamatori pada jaringan periodontal yang disebabkan mikroorganisme sehingga terjadi kerusakan progresif. Pada periodontitis, terdapat kadar PMN yang tinggi dan ROS (*Reaktive oxygen species*) atau radikal bebas yang berlebihan. Radikal bebas dapat ditangkal dengan antioksidan. Teh hijau mengandung polifenol yang mempunyai kemampuan untuk menghambat reaksi oksidasi dan me nangkap radikal bebas. Flavonoid merupakan bagian dari polifenol yang salah satu kandungannya adalah total katekin. Total katekin memiliki kandungan antioksidan yang tinggi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh total katekin terhadap kadar SOD (*superoksida dismutase*) gingiva pada tikus wistar jantan (*rattus norvegicus*) yang diinduksi *porphyromonas gingivalis*. Penelitian ini menggunakan *true experimental single blinded design* yaitu *post test only control group design* . Kelompok kontrol terdiri dari kelompok kontrol negatif, yaitu hewan coba yang tidak diberi perlakuan apapun dan kelompok kontrol positif yaitu hewan coba yang diberi perlakuan injeksi bakteri *P Gingivalis ATCC 33277* selama 28 hari, Kelompok perlakuan terdiri dari 3 kelompok, yaitu hewan coba yang diberi injeksi bakteri *P Gingivalis ATCC 33277* selama 28 hari dan diberi penyondean total katekin dengan dosis yang berbeda yaitu 100 mg /kgBB , 200 mg/kgBB, dan 400 mg.kgBB. Kesimpulan penelitian ini bahwa pemberian total katekin berpengaruh signifikan terhadap peningkatan SOD pada dosis 400mg/kgBB.

**Kata kunci:** *Porphyromonas gingivalis*, periodontitis, total katekin, SOD

## ABSTRACT

Purboningrum. Salsabila Allysa. 2018. Effect of total catechins on SOD (superoxide dismutase) levels in the gingiva of male wistar (rattus norvegicus) induced by porphyromonas gingivalis. Final Project, Faculty of Dentistry Universitas Brawijaya.

*P. gingivalis* bacteria have a strong relationship with the occurrence of periodontitis, and also in gingivitis. But not as strong as pathogens in chronic periodontitis (Rafiei M, et al. 2017). Periodontitis is an inflammatory disease in the periodontal tissues caused by microorganisms, causing progressive damage. In periodontitis, there are high PMN levels and ROS (Reactive oxygen species) or excessive free radicals. Free radicals can be counteracted with antioxidants. Green tea contains polyphenols which have the ability to inhibit oxidation reactions and capture free radicals. Flavonoids are part of a polyphenol, total catechins is part of flavonoids. Total catechins have high antioxidant content. The purpose of this study was to determine the effect of total catechins on gingival SOD (superoxide dismutase) levels in male wistar rats (rattus norvegicus) induced by porphyromonas gingivalis. This study uses true experimental single blinded design, post test only control group design. The control group consisted of negative control groups, this experimental animals were not given any treatment and positive control groups, this experimental animals treated with injection of *P. Gingivalis* ATCC 33277 bacteria for 28 days, the treatment group consisted of 3 groups, namely experimental animals given bacterial injection *P. Gingivalis* ATCC 33277 for 28 days and was given a total round of catechins with different doses of 100 mg / kg body weight, 200 mg / kg body weight, and 400 mg / kg body weight. The conclusion of this study is that total catechins have a significant effect on increasing SOD at a dose of 400mg / kgBB.

**Keywords:** *Porphyromonas gingivalis*, periodontitis, total catechins, SOD

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Hasil survei kesehatan rumah tangga (SKRT) penyakit gigi dan mulut merupakan penyakit tertinggi keenam yang dikeluhkan masyarakat Indonesia (SKRT, 2004). Penyakit gigi dan mulut yang paling banyak diderita oleh masyarakat Indonesia adalah karies gigi dan penyakit periodontal, dengan prevalensi karies gigi sebesar 90,05% dan prevalensi penyakit periodontal sebesar 96,58% (DepKes, 2005). Periodontitis merupakan penyakit periodontal dengan prevalensi pada individu dewasa mencapai 44-57% (Beck JD, 2001).

Bakteri yang terlibat sebagai patogen pada penyakit periodontal didominasi spesies bakteri gram negatif dan anaerob ( Lamont R, 2006). Salah satunya adalah bakteri *P Gingivalis* yang merupakan bakteri gram negatif anaerob, tidak bergerak, menghasilkan koloni berpigmen cokelat hingga hitam jika tumbuh dalam perbenihan padat yang mengandung darah. Bakteri *P gingivalis* diidentifikasi dengan karakteristiknya yang tidak membentuk spora dan memproduksi melanin (Zhou, 2015). Bakteri *P gingivalis* memiliki hubungan yang kuat dengan terjadinya periodontitis, dan juga pada gingivitis. Namun tidak sedominan sebagai patogen dalam periodontitis kronis ( Rafiei M, et al. 2017 ).

Periodontitis kronis adalah penyakit inflamasi kronis yang diawali dengan serangan bakteri *P gingivalis* yang selanjutnya sel inflamasi seperti PMN (*Polimorfonuklear*) akan distimulasi untuk melepaskan radikal bebas untuk menghancurkan bakteri tersebut (Chapple, 1996). Adanya antioksidan sebagai salah satu sistem



pertahanan tubuh, maka radikal bebas yang ada akan ternetralisir (Pendyala, 2008).

Radikal bebas adalah senyawa yang mempunyai elektron terluar tidak berpasangan pada lintasan paling luar. Senyawa radikal bebas bersifat sangat reaktif karena elektron tunggal yang dimiliki berusaha pindah atau menarik elektron dari molekul disekitarnya (Harjanto, 2006). Sedangkan antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Kochar dan Rossell, 1990). Reaksi radikal bebas dapat dinetralkan bila dua senyawa radikal bebas berikatan atau senyawa radikal bebas bertemu dengan antioksidan (Harjanto, 2006).

Terdapat dua macam antioksidan, yaitu antioksidan endogen termasuk *superoxide dismutase* (SOD), katalase, *enzyme glutathion peroksidase* dan antioksidan eksogen yang didapat dari diet seperti vitamin E, vitamin C, *coenzyme q10* dan karetenoid (Knez et all, 2007; Powers et all, 2008). Selain vitamin E dan C, beberapa flavonoid yang terdapat di dalam tumbuhan juga memiliki khasiat antioksidan seperti yang terdapat pada tanaman teh hijau (Craig, 2002).

Terapi pada periodontitis dapat dilakukan dengan *scalling dan root planning*. *Scalling* adalah tindakan membersihkan plak dan kalkulus pada subgingiva dan supragingiva permukaan gigi, *root planning* adalah tindakan dimana sisa kalkulus yang berada di sementum dikeluarkan dari akar untuk menghasilkan permukaan gigi yang halus, keras, dan bersih (Carranza, 2006). Seperti diketahui bahwa pada penyakit periodontitis, individu dengan penyakit periodontitis mempunyai kadar PMN yang

tinggi dan ROS (*Reactive oxygen species*) atau radikal bebas yang berlebihan sehingga menyebabkan destruksi jaringan gingiva, ligament periodontal, dan tulang alveolar. Hal ini dapat dihambat dengan pemberian bahan yang mengandung antioksidan (Chapple, 1996).

Teh merupakan jenis minuman yang digemari oleh masyarakat dan banyak manfaatnya, terbuat dari pucuk tanaman teh (*Camellia sinensis*) melalui proses pengolahan tertentu. Berdasarkan prosesnya, teh dapat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu teh hijau, teh hitam, dan teh oolong (Hartoyo, 2003). Teh hijau merupakan teh yang berasal dari pucuk daun teh yang sebelumnya mengalami pemanasan dengan uap air untuk menonaktifkan enzim oksidase atau fenolase sehingga oksidasi terhadap katekin dapat dicegah (Hartoyo, 2003).

Teh hijau mengandung ikatan biokimia yang disebut polifenol. Polifenol merupakan suatu kelompok antioksidan yang secara alami terdapat pada sayur-sayuran, buah-buahan, dan minuman seperti teh dan anggur (Pambudi, 2006). Polifenol ini mempunyai kemampuan untuk menghambat reaksi oksidasi dan menangkap radikal bebas. Total katekin teh hijau merupakan flavonoid yang kandungan utamanya epicatechin (EC), epicatechingallate (ECG), Epigallocatechins (EGC), Epigallocatechingallate (EGCG) (Hartoyo, 2003).

Penelitian *in vivo* yang dilakukan Cho et.al, (2013) menyimpulkan bahwa EGCG pada teh hijau secara significant berpengaruh pada reduksi ekspresi sitokin termasuk *TNF  $\alpha$*  dan *IL-6* yang berperan dalam pembentukan *osteoclast* dan kerusakan kolagen. Namun terdapat hasil penelitian yang menyimpulkan sebaliknya, yaitu menurut

penelitian oleh Kushiyama et al, (2009) yang menyimpulkan hasil yang tidak significant terhadap penyembuhan periodontitis, yaitu dengan tidak terdapat perubahan yang significant pada PD (*Probing depth*) dan AL (*Attachment Loss*) yang merupakan indikator periodontitis ( Kushiyama M et al, 2009).

Berdasarkan kontradiksi penelitian yang ada mengenai teh hijau terhadap periodontitis, didapatkan masalah penelitian mengenai dosis teh hijau yang belum pasti. SOD merupakan salah satu indikator keberhasilan perawatan periodontitis. Dengan peningkatan kadar SOD dalam tubuh dapat dikatakan bahwa perawatan periodontitis dikatakan berhasil.

## **1.2 Rumusah Masalah**

Apakah ada pengaruh total katekin terhadap kadar SOD (*superoksida dismutase*) gingiva pada tikus wistar jantan (*rattus norvegicus*) yang diinduksi *porphyromonas gingivalis* ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui pengaruh total katekin terhadap kadar SOD (*superoksida dismutase*) gingiva pada tikus wistar jantan (*rattus norvegicus*) yang diinduksi *porphyromonas gingivalis*.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat praktis**

Menambah nilai guna total katekin setelah melewati tahapan penelitian yaitu uji praklinik (uji farmakodinamika, uji farmakokinetik, uji toksikologi, uji farmasetika) dan uji klinik yang diharapkan dapat menjadi suplemen yang memperkuat kekebalan tubuh dalam mencegah terjadinya peradangan diantaranya periodontitis.

#### 1.4.2 Manfaat Teori

Dapat memperkaya khasanah ilmu pengetahuan tentang pengaruh total katekin terhadap kadar SOD (*superoksida dismutase*) gingiva pada tikus wistar jantan (*rattus norvegicus*) yang diinduksi *porphyromonas gingivalis*.



## BAB 2

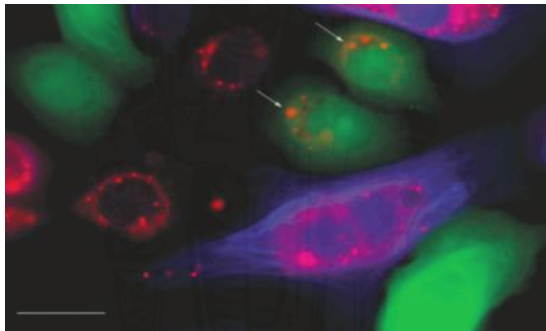
### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Porphyromonas gingivalis*

##### 2.1.1 Taksonomi *P gingivalis*

Taksonomi dari *P.gingivalis* adalah: (UniProt, 2015)

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Divisi	: <i>Bacteroidetes</i>
Kelas	: <i>Bacteroidia</i>
Ordo	: <i>Bacteroidales</i>
Famili	: <i>Porphyromonadaceae</i>
Genus	: <i>Porphyromonas</i>
Spesies	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>



**Gambar 2.1** Bakteri *P gingivalis* ( Yilmaz O, 2008 )

##### 2.1.2 Morfologi *P Gingivalis*

*P Gingivalis* adalah bakteri gram negatif anaerob, tidak bergerak, menghasilkan koloni berpigmen coklat hingga hitam jika tumbuh dalam perbenihan padat yang mengandung darah. Bakteri *P.gingivalis* diidentifikasi dengan karakteristiknya yang tidak membentuk spora dan memproduksi melanin (Zhou, 2015).

### **2.1.3 Virulensi *P. gingivalis***

Faktor virulensi *P. gingivalis* dapat diklasifikasikan menjadi dua kategori. Pertama faktor virulensi yang meningkatkan kolonisasi bakteri dan invasi bakteri ke dalam tubuh host seperti adhesin, kapsul, dan LPS . Kedua adalah faktor virulensi yang sifatnya merusak sel host, yaitu endotoksin, enzim kolagenase, enzim proteolitik, dan induksi mediator peradangan ( Brooks, et al. 2007). Kontak antara agen infeksius seperti *P. gingivalis* dengan sel host diawali dengan proses adhesi (perlekatan) hingga menyebabkan terbentuknya kolonisasi, kemudian terjadi invasi dan akhirnya mengakibatkan suatu infeksi ( Brooks, et al. 2007).

Adhesi bakteri pada sel host atau pada permukaan jaringan membutuhkan peranan dari dua faktor, yaitu adhesin pada bakteri dan reseptor pada permukaan sel tubuh host. Molekul adhesin pada bakteri *P. gingivalis* terdapat pada *hemagglutinin*, *fimbriae* dan kapsul polisakarida . Sementara reseptor berupa residu peptida dan karbohidrat spesifik terdapat pada permukaan sel tubuh host (Santosaningsih, D, 2003).

## **2.2 Periodontitis**

Periodontitis adalah penyakit inflamatori pada jaringan periodontal yang disebabkan oleh mikroorganisme atau sekelompok mikroorganisme spesifik dan akibatnya adalah terjadi kerusakan progresif pada ligamen periodontal dan tulang alveolar, dengan membentuk poket, resesi gingiva atau keduanya (Carranza, 2006).

Periodontitis adalah peradangan dari periodonsium yang disebabkan oleh plak mikrobial yang persisten ditandai dengan hilangnya perlekatan epitel yang progresif dan kerusakan ligamen periodontium

serta tulang alveolar. Keadaan ini didahului oleh gingivitis dan plak gigi yang mengandung beberapa bakteri anaerob (Langlais R, 2014).

Periodontitis adalah konsekuensi dari infeksi lokal di rongga mulut yang menyebabkan kerusakan *irreversible* dari tulang alveolar, sementum akar, dan ligament periodontal dengan manifestasi klinis berupa poket periodontal, kemerahan dan pembengkakan gingiva serta kegoyangan gigi (Chang P, 2012).

### **2.2.1 Etiologi**

Etiologi periodontitis berasal dari faktor lokal dan sistemik, dengan penyebab utamanya adalah faktor lokal yang diperberat oleh keadaan sistemik yang kurang menguntungkan dan menyebabkan terjadinya keadaan yang bersifat progresif (Caranza, 2006).

Etiologi periodontitis berasal dari infeksi campuran bakteri rongga mulut seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Actinobacillus actinomycescomitans*, dan kuman Gram-positif, misalnya *Peptostreptococcus micros* dan *Streptococcus intermedius* (Beck JD, 2004).

Faktor risiko untuk penyakit periodontal mencakup kebiasaan merokok, penuaan, dan penyakit sistemik tertentu seperti diabetes mellitus, kelainan sel darah putih, dan sindroma Ehlers-Danlos (Langlais R, 2014).

### **2.2.2 Patogenesis**

Periodontitis diawali dengan hubungan saling mempengaruhi antara biofilm pada subgingiva dan respon inflamasi oleh sistem imun yang berkembang menjadi respon gingiva dan jaringan periodontal

terhadap inisiasi bakteri. Respon gingiva terhadap bakteri menyebabkan perubahan transisi gingiva dari normal menjadi patologi dengan terbentuknya poket yang berkaitan dengan proporsi dental plak. Bakteri dalam plak dapat menyebabkan kerusakan jaringan periodontal dengan mengeluarkan enzim dan substansi toksin, mengganggu sistem pertahanan tubuh, dan menyebabkan terjadinya proses imun patologi (Carranza, 2006).

Patogenesis periodontitis dipengaruhi oleh virulensi, jumlah, dan kemampuan bakteri dalam menyebabkan kerusakan pada jaringan periodontal. Terdapat tiga karakteristik bakteri yang dikatakan mampu menjadi pathogen, yaitu kapasitas untuk berkolonisasi, kemampuan untuk menghindari perlawanan sistem imun, dan kemampuan memproduksi substansi yang dapat secara langsung merusak jaringan (Zambon JJ, 1996). Terdapat dua bakteri besar yang menjadi patogen dalam periodontitis yaitu *A. actinomycetemcomitans* dan *P. gingivalis* yang mampu invasi ke dalam jaringan. Bakteri *A. actinomycetemcomitans* dapat melewati sel epitelial untuk menuju ke dasar jaringan ikat (Taylor F, 1995), Sedangkan bakteri *P. gingivalis* mampu menginvasi dan bertahan di sel epithelial (RJ Lamont, 1995 ; SC Holt, 1991).

Inisiasi bakteri akan menyebabkan terjadinya mekanisme pertahanan host oleh neutrofil dengan bantuan antibodi dan protein tambahan yang bertujuan mengontrol infeksi dan mencegah terjadinya penyakit (TC Hart, 1994 ; Miyasaki, 1991). Neutrofil berperan sebagai pertahanan jaringan terhadap plak, mengontrol jumlah bakteri dan produknya. Saat sistem imun bekerja, neutrofil dan antibodi bekerja sama



dalam mengenali dan memfagositosis bakteri sehingga mampu menurunkan jumlah bakteri. Interaksi antara neutrofil dan antibodi merupakan pertahanan pertama melawan patogen periodontitis (Ebersole, 1991 ; Haffajee, 1995).

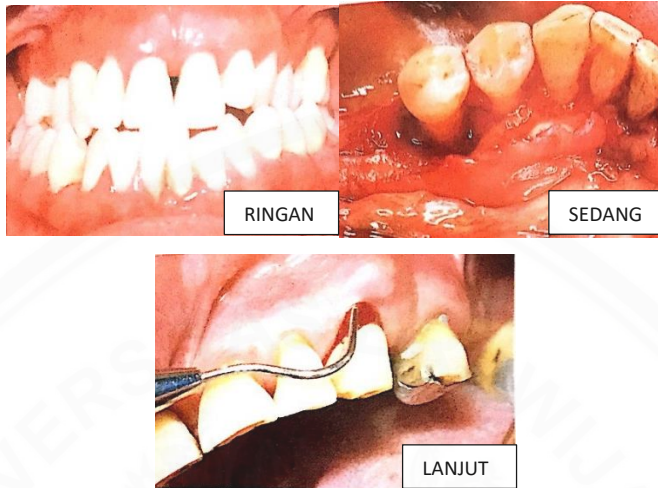
Kerusakan jaringan periodontal dapat terjadi akibat efek dari bakteri pathogen, efek ini dapat berupa efek langsung dan efek tidak langsung (*The American Academy of Periodontology*, 1999). Efek langsung oleh bakteri pathogen significant terjadi saat *early stage* atau tahap awal berupa inflamasi gingiva yang menyebabkan edema dan meningkatnya produksi *gingival crevicular fluid* (GCF) (WEC Moore, 1991). Efek tidak langsung oleh bakteri patogen menyebabkan degradasi dan kerusakan kolagen hingga kerusakan jaringan (Offenbacher, 1996; Hansen B, 1993). Kerusakan ini diakibatkan sel PMN yang selama proses fagositosis mengeluarkan enzim yang mampu mendegradasi jaringan host sekitarnya yaitu kolagen dan komponen membran dasar yang menyebabkan kerusakan jaringan (Offenbacher, 1996 ; Hansen B, 1993).

### **2.2.3 Klasifikasi**

Klasifikasi Periodontitis berdasarkan AAP 1999 (1999 *International Workshop for Classification of Periodontal Diseases and Conditions*):

1. Periodontitis Kronis (*chronic periodontitis*)
2. Periodontitis Agresif (*aggressive periodontitis*)
3. Periodontitis sebagai manifestasi penyakit sistemik (*periodontitis as a manifestation of systemic diseases*).

## 2.2.4 Gambaran Klinis



**Gambar 2.2 Gambaran klinis penyakit periodontal (Langlais, 2014)**

Gambaran klinis periodontitis berbeda-beda didasarkan atas klasifikasinya. Klasifikasi periodontitis berdasarkan tingkat keparahannya terbagi menjadi periodontitis ringan, periodontitis sedang, dan periodontitis lanjut (Langlais R, 2014).

### Periodontitis Ringan.

Periodontitis ringan ditandai oleh kerusakan kecil pada poket epitelium, migrasi neutrofil, meningkatnya populasi sel plasma, migrasi pertautan epitel ke apikal, kerusakan kecil pada perlekatan jaringan ikat, dan resorpsi tulang alveolar setempat. Tahap ini ditentukan oleh hilangnya perlekatan klinis 1-2 mm, kedalaman poket periodontal 4-5mm, kerusakan furkasi kelas I, dan hilangnya puncak tulang alveolar sebanyak 2 mm atau kurang. Furkasi kelas I adalah kerusakan tulang terbatas di antara aspek superior akar dan mahkota gigi yang dideteksi

dengan masuknya sonde atau eksploree sedalam 1 mm. Kehilangan tulang alveolar ditentukan secara klinis dengan probe periodontal disertai penggunaan radiograf *bitewing* periapiks vertikal atau radiograf substraksi.

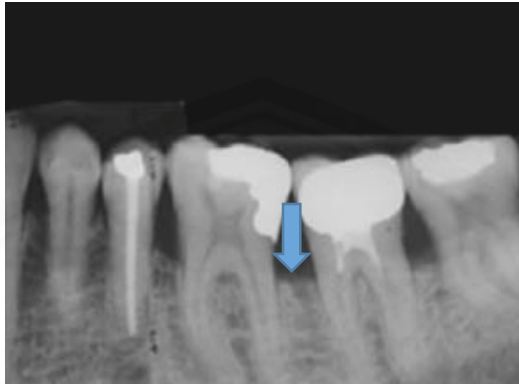
### Periodontitis Sedang

Periodontitis sedang adalah tahap kedua periodontitis kronis. Pemeriksaan mikroskopis menunjukkan adanya ulserasi pada poket epitelium infiltrasi populasi sel plasma dan sel T, migrasi pertautan epitel ke arah apikal yang cukup signifikan dan kerusakan perlekatan jaringan ikat dan tulang alveolar. Kondisi ini ditentukan berdasarkan hilangnya perlekatan klinis sebesar 3-4 mm, kedalam poket periodontal 4-6 mm, kerusakan tulang alveolar 3-4mm, eksudat ginggiva dan perdarahan. Kerusakan tulang horizontal, kerusakan tulang vertikal, gigi goyang dan kerusakan furkasi kelas II adalah ciri radiografi dan klinis dari pebyakit ini. Kerusakan furkasi kelas II berupa cacat tulang kortikal dan alveolar sedalam 2-4 mm yang terletak di atas akar.

### Periodontitis Lanjut

Periodontitis lanjut ditandai secara mikroskopis oleh kerusakan yang besar dari poket epitelium, perlekatan jaringan ikat dan tulang alveolar serta sejumlah besar populasi sel plasma dan sel T. Periodontitis lanjut didefinisikan sebagai hilangnya perlekatan klinis sebanyak minimal 5 mm. Biasanya akan terlihat kedalaman poket periodontal lebih dari 6mm, kerusakan tulang alveolar lebih dari 4 mm, resesi gingiva, goyangnya gigi secara signifikan, dan kerusakan furkasi kelas III (terlihat bentukan *through and through* ).

## 2.2.5 Gambaran Radiografis



**Gambar 2.3 Gambaran radiografi penyakit periodontal (Carranza, 2015)**

Tanda radiografi awal dari periodontitis adalah hilangnya lamina dura di lateral akar, yang dimulai pada kista alveolar. Resorpsi lamina dura berkembang ke apikal. Keadaan ini pada awalnya menimbulkan bentuk segitiga kecil (triangulasi) pada tulang krestal dengan ujung segitiga mengarah ke apikal. Tanda radiograf yang lain dari periodontitis adalah adanya saluran nutrisi interdental yang mencolok, khususnya pada daerah anterior bawah. Saluran ini adalah pembuluh darah yang tersumbat dan mengandung elemen peradangan yang cenderung menstimulasi resorpsi, juga merupakan faktor risiko untuk periodontitis kronis yang aktif (Langlais R, 2014).

## 2.3 Radikal bebas dan Antioksidan

### 2.3.1 Pengertian Radikal bebas

Radikal bebas, juga disebut spesies oksigen reaktif atau ROS, adalah molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak

berpasangan di orbit luarnya (Powers dan Jackson, 2008). Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki jumlah elektron ganjil. Keadaan elektron yang tidak berpasangan ini, radikal bebas menjadi molekul yang tidak stabil dan menjadi sangat reaktif dengan molekul lain dan berusaha mencari pasangannya dalam usaha untuk mencapai stabilitas molekul (Powers dan Jackson, 2008).

Radikal bebas didefinisikan sebagai molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, umumnya kurang stabil dan dapat bereaksi dengan fraksi lain (Norman R.O.C , 2009). Radikal bebas yang terdapat dalam tubuh bersifat sangat reaktif dan destruktif yaitu dengan reaksi oksidasi dengan bagian tubuh maupun sel tertentu yang tersusun atas lemak, protein, karbohidrat, DNA, dan RNA sehingga memicu berbagai penyakit seperti jantung koroner, penuaan dini dan kanker. Antioksidan dibutuhkan untuk mengatasi radikal bebas (Reynertson, 2007).

Radikal bebas yang melibatkan oksigen disebut dengan spesies oksigen reaktif (ROS) atau oksigen yang kurang. Senyawa ini termasuk singlet oksigen, anion superoksida dan hidrogen peroksida (Lamprecht, 2015). Contoh senyawa radikal oksigen adalah superoksida ( $O_2^*$ ), alkoksil , peroksil, nitrik oksida ( $NO^*$ ), nitrogen oksida ( $NO_2^*$ ) dan hidroksil ( $OH^*$ ) (Harjanto,2006).

Radikal hidroksil adalah radikal bebas yang sangat reaktif dan merupakan sumber utama mekanisme destruktif radikal bebas dalam sistem biologi. Radikal hidroksil adalah difusi yang terkontrol, yang berarti tidak akan melakukan perjalanan dalam jarak yang signifikan

dalam sel sebelum bereaksi. Radikal hidrosil memiliki waktu paruh yang pendek tetapi dapat menyebabkan kerusakan dalam jumlah ekstrim dalam radius kecil di mana radikal hidrosil tersebut diproduksi (McBride, 1999).

Senyawa radikal bebas bereaksi dengan molekul lain melalui bermacam cara seperti oksidasi (menarik elektron), reduksi (memberi elektron), abstraksi (menarik atom H), dismutasi (satu molekul mengalami oksidasi, satu lagi mengalami reduksi) dan adisi (penambahan atom atau gugusan). Reaksi senyawa radikal bebas dengan molekul lain dapat mengalami penyebaran (propagasi) (Harjanto,2006). Mekanisme terbentuknya radikal bebas melalui tiga tahapan sebagai berikut : Inisiasi (permulaan), Propagasi (pertumbuhan = perambatan), Terminasi (penghentian) (Mc Bride, 1999).

### **2.3.2 Pengertian Antioksidan**

Antioksidan adalah molekul yang sangat stabil dan mampu menetralkan radikal bebas dengan menyumbangkan elektronnya (Wesler & Bast, 2010). Secara kimia senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (elektron donor). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan (Sayuti K, 2015). Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat (Winarsi, 2007).

Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah (Sayuti K, 2015). Reaksi oksidasi dengan radikal bebas sering terjadi pada molekul protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida (Winarsi, 2007). Antioksidan mampu melawan efek berbahaya dari radikal bebas, yang berhubungan dengan penyakit jantung, kanker, arthritis, dan penuaan dini (Bonney et al., 2002).

### 2.3.3 Jenis Antioksidan

Antioksidan dapat digolongkan menjadi antioksidan enzim dan non enzim, hidrofilik dan lipofilik, intramembran, intraseluler dan ekstraseluler, serta antioksidan pencegah, pemutus rantai dan pemulih (Harjanto, 2006).

**Antioksidan terdiri atas dua macam, yaitu :**

- 1) Berbentuk enzim (*enzymatic antioxidant*)
  - a) Superoksida dismutase (SOD) : mendismutasi superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen.
  - b) *Glutathione peroxidase* (GPX) : mengkatalisa reduksi hidrogen peroksida atau hidroperoksida dengan menggunakan *glutathione* tereduksi (GSH), menjadi air dan GSSH (*glutathione disulfide*). GSSG akan direduksi kembali menjadi GSH dengan bantuan *glutathione reductase* dan NADPH.
  - c) *Catalase* (CAT) : mengkatalisa pemecahan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen
  - d) Thioredoksin (TRX) dan thioredoksin reduktase : satu set antioksidan sistem. TRX berfungsi untuk menjaga protein-

protein pada keadaan tereduksi. TRX yang teroksidasi akan diubah kembali menjadi TRX oleh thioredoksin reduktase

e) Glutaredoksin (GRX): proteksi dan memperbaiki protein dan thiol non protein selama masa stres oksidatif.

f) Peroksiredoksin (PRX) : mereduksi hidrosiperoksida dan peroksinitrat dengan menggunakan elektron yang dibawa oleh thiol fisiologis seperti TRX (Powers, 2008).

## 2) Berbentuk bukan enzim (*nonenzymatic antioxidant*)

### a) GSH

*Glutathione* adalah suatu tripeptida, thiol non protein yang paling banyak ditemukan di sel. Diproduksi terutama di liver dan ditranspor ke jaringan-jaringan melalui sirkulasi darah. GSH mampu bereaksi langsung dengan banyak macam radikal dengan mendonorkan atom hidrogennya. GSH juga mereduksi antioksidan lain, seperti vitamin E dan C, sehingga dapat memelihara vitamin tersebut dalam kondisi tereduksi .

b) *Alpha lipoic acid* ( $\alpha$ -lipoic acid): berperan dalam *recyclin* vitamin C

c) Asam urat : merupakan produk dari metabolisme purin. Merupakan *powerful scavenger* untuk radikal peroksil, hidrosil, dan singlet oksigen. Asam urat juga dapat mendonorkan elektron pada molekul lain, juga *chelating* ion metal seperti besi dan tembaga, mencegah mereka membentuk radikal hidrosil melalui reaksi Fenton.

d) Bilirubin : produk akhir dari katabolisme protein heme. Heme oksigenase memecah cincin heme utk membentuk biliverdin,



biliverdin kemudian tereduksi oleh biliverdin *reductase* membentuk bilirubin. Bilirubin punya potensi sebagai antioksidan kuat melawan radikal peroksil dan memproteksi sel dari kerusakan akibat hydrogen peroksida.

e) Ubiquinone (*coenzyme* Q10)

Disintesis di sel, penting untuk transpor elektron di mitokondria, terdapat di membran sel. In vitro, ubiquinone berperan utk *scavenging* radikal  $RO_2^-$  dan mencegah peroksidasi lipid.

f) Antioksidan dari Makanan

1) Vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol)

2) Vitamin C : *scavenging* radikal superoksida, hidroksil, dan lipid hidroksiperoksida; recycling vitamin E.

3) Karotenoid (beta karoten): terletak di membran jaringan, berperan dalam *scavenging* superoksida dan radikal peroksil, mencegah lipid peroksidasi (Powers, 2008).

4) Polifenol :senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman seperti teh, berperan mencegah oksidasi LDL 20 kali lebih kuat dibandingkan vitamin E ( Winarsi, 2007).

### **Antioksidan berdasarkan fungsinya :**

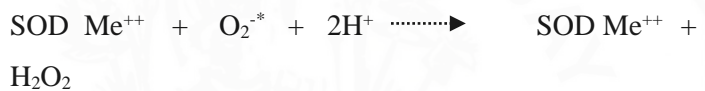
Jenis antioksidan menurut Rice-Evans (1997), atas dasar fungsinya terdapat lima jenis antioksidan yaitu :

1) Antioksidan Primer

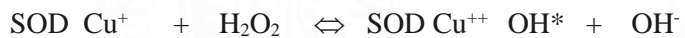
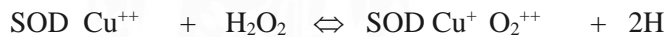
Antioksidan ini berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena dapat merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya, yaitu

sebelum sempat bereaksi. Antioksidan primer yang ada dalam tubuh yang sangat terkenal adalah enzim superoksida dismutase (SOD).

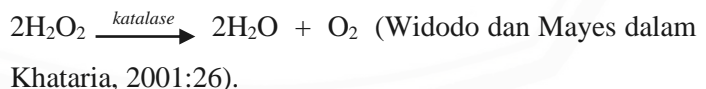
Enzim ini terdapat dalam beberapa ruang subunit yang mengandung satu ekuivalen  $\text{Cu}^{2+}$  dan  $\text{Zn}^{2+}$  sedangkan enzim mitokondrianya mengandung  $\text{Mn}^{2+}$  serupa dengan enzim yang ditemukan dalam bakteri. Metal enzim *superoksida dismutase* akan mereduksi *superoksida* dengan cara:



$\text{H}_2\text{O}_2$  yang terbentuk memungkinkan terjadinya inaktivasi Cu - Zn SOD.



Kerjasama antara *katalase* dan *peroksidase* menyebabkan reduksi  $\text{H}_2\text{O}_2$  menjadi air dan oksigen seperti pada reaksi berikut:



## 2) Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi

berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contoh yang populer, antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

### 3) Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok ini adalah jenis enzim misalnya metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat untuk perbaikan DNA penderita kanker.

### 4) *Oxygen Scavenger*

Antioksidan yang termasuk *oxygen scavenger* yang mampu mengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi, misalnya vitamin C.

### 5) *Chelators* atau *Sequesstrants*

Senyawa yang dapat mengikat logam sehingga logam tersebut tidak dapat mengkatalis reaksi oksidasi. Akibatnya kerusakan dapat dicegah. Contoh senyawa tersebut adalah asam sitrat dan asam amino. Tubuh dapat menghasilkan antioksidan yang berupa enzim yang aktif bila didukung oleh nutrisi pendukung atau mineral yang disebut juga ko-faktor. Antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh antara lain adalah *superoksida dismutase*, *glutathione peroksidase*, dan *katalase*.

## 2.3.4 SOD

(SOD) Superoksida Dismutase adalah protein yang mengandung Cu, dan diidentifikasi dengan berbagai sebutan

seperti eritrocuprein, indofenol oksidase dan tetrazolium oksidase (McCord dan Fridovitch, 1969; Winarsi, 2007). Enzim SOD berperan sebagai katalisator reaksi dismutasi dari anion superoksida menjadi hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dan oksigen (O<sub>2</sub>) :



Reaksi dismutasi (Winarsi, 2007)

Aktivitas enzim SOD memiliki peran penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama terhadap aktivitas senyawa oksigen reaktif yang dapat menyebabkan stres oksidatif (Beyer et al., 1991; Bowler et al., 1992; Scandalias, 1993; Winarsi, 2007). Berdasarkan adanya logam yang berperan sebagai kofaktor pada sisi aktif enzim, enzim SOD dapat dikelompokkan menjadi 3 yaitu Cu/Zn-SOD, MnSOD dan Fe-SOD (Sayuti K, 2015).

## 2.4 Teh hijau

### 2.4.1 Taksonomi



**Gambar 2.4 Camellia sinensis (Alamsyah, 2006)**

Taksonomi teh hijau (*Camellia sinensis*) adalah sebagai berikut (Widyaningrum, 2013):

Dunia	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Sub Kelas	: <i>Dialypetalae</i>
Ordo (bangsa)	: <i>Guttiferales (Clusiales)</i>
Familia (suku)	: <i>Camelliaceae</i>
Genus (marga)	: <i>Camellia</i>
Spesies (jenis)	: <i>Camellia sinensis</i>

#### **2.4.2 Deskripsi Tanaman Teh**

Berdasarkan prosesnya, teh dapat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu teh hijau, teh oolong, dan teh hitam. Teh hijau merupakan teh yang berasal dari pucuk daun teh yang sebelumnya mengalami pemanasan dengan uap air untuk menonaktifkan enzim oksidase atau fenolase sehingga oksidasi terhadap katekin dapat dicegah (Hartoyo, 2003).

Proses pengolahan teh hijau terdiri dari tiga tahap, yaitu pemanasan, penggulungan, dan pengeringan. Tahap pemanasan berupa pelayuan daun dengan cara penguapan. Kandungan katekin dalam teh hijau tidak boleh mengalami perubahan akibat terjadinya oksidasi enzim sebelum ataupun selama proses pengolahan. Perlu dilakukan penginaktifan enzim polifenol oksidase dengan cara memanaskan daun teh pada proses pelayuan. Suhu yang digunakan berkisar antara 250-3000 C selama 10-15 menit dengan pengadukan 4-5 kali per menit agar daun

tidak hangus. Proses pelayuan juga dapat mengurangi kadar air sampai sekitar 60-70% dan menyiapkan daun untuk digulung. Proses penggulungan bertujuan untuk membentuk mutu secara fisik dan harus segera dilakukan setelah proses pelayuan. Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air, memekatkan cairan sel daun, serta memperbaiki bentuk gulungan (Takeo 1992). Proses pengeringan dilakukan menggunakan mesin pengering pada suhu inlet 110° C dan outlet 50°C selama 30 menit. Setelah selesai proses pengeringan dilakukan pendinginan dengan cara diangin-anginkan segera setelah pengeringan selesai (Hartoyo, 2003).

### **2.4.3 Kandungan**

Komposisi kimia pada daun teh dapat digolongkan menjadi 4 kelompok besar yaitu: (1) golongan fenol, terdiri dari katekin dan flavanol; (2) golongan bukan fenol, terdiri dari karbohidrat, pectin, alkaloid, protein, asam amino, klorofil, zat warna lain seperti karotenoid, asam organic, resin, vitamin A, vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin B5, vitamin C, vitamin E, vitamin K, dan mineral; (3) golongan aromatis, seperti linalool; dan (4) enzim seperti invertase, amylase, protease (Bursatriannyo, 2013).

Teh hijau adalah minuman yang memiliki kurang lebih 400 komponen bioaktif dan komponen utamanya berupa polifenol (Yokozawa *et al.*, 2003 dan M Tariq *et al.*, 2010). Teh hijau mengandung polifenol terutama flavan-3-ols (katekin, epikatekin, dan turunan galatnya) dalam jumlah 20-30% berat kering (Goldberg 2003). Polifenol ini mempunyai kemampuan untuk menghambat reaksi oksidasi dan menangkap radikal bebas. Polifenol juga mempunyai aktivitas sebagai

antioksidan dan antiradikal (Burda dan Oleszek, 2001). Golongan fenol yang terkandung pada daun teh diantaranya adalah katekin. Katekin teh merupakan flavonoid yang kandungan utamanya epicatechin (EC), epicatechingallate (ECG), Epigallocatechins (EGC), Epigallocatechingallate (EGCG) (Hartoyo, 2003).

#### **2.4.4 Teh hijau sebagai antioksidan**

Teh hijau merupakan antioksidan yang sangat potensial berdasarkan penelitian, baik secara farmakologi maupun epidemiologi (Ikeda *et al.*, 2003; Yanagimoto *et al.*, 2003; Su *et al.*, 2003; Yokozawa *et al.*, 2003). Komponen kimia yang paling berperan dalam aktivitas antioksidan tersebut adalah polifenol. Daun teh mengandung polifenol terutama flavan-3-ols (katekin, epikatekin, dan turunan galatnya) dalam jumlah 20-30% berat kering (Goldberg 2003). Senyawa polifenol dapat berperan sebagai penangkap radikal bebas (antioksidan) hidroksil (OH\*) sehingga tidak mengoksidasi lemak, protein, dan DNA dalam sel (Miean dan Mohamed, 2001). Polifenol mempunyai sifat sebagai antioksidan primer dan sebagai donor elektron seperti BHA, BHT, TBHQ, tokoferol dan alkil galat (Hudson 1990; De Whalley et al 1990; Kinsela et al 1993). Selain bersifat sebagai antioksidan primer flavonoid juga berfungsi sebagai pengikat logam (Hudson, 1990).

Polifenol dalam tanaman terdiri atas flavonoid dan asam fenolat (Astawan dan Kasih, 2008). Flavonoid merupakan golongan terbesar dari polifenol yang sangat efektif sebagai antioksidan dan mampu menetralkan radikal bebas. Flavonoid dalam teh hijau mengandung zat katekin. Katekin dalam teh hijau mengandung zat epicatechin (EC), Epigallocatechingallate (EGCG), Epigallocatechins (EGC), dan

epicatechingallate (ECG) (Nanescu S, 2011). Kandungan Epigallocatechin gallate (EGCG) pada polifenol mampu mencegah radikal bebas allyl peroxy 10 kali lebih kuat daripada vitamin C dan  $\beta$  karoten (Nanescu S, 2011).

Mekanisme kerja Epigallocatechin gallate (EGCG) sebagai antioksidan adalah akibat dari ketidakmampuannya secara spesifik dalam mendenaturasi protein (Hamilton M et al, 1999). Peran polifenol dalam menangkap radikal DPPH dihubungkan dengan kemampuannya dalam menyumbang hidrogen. Polifenol mampu menyumbang hidrogen beberapa grup hidroksil dalam struktur katekin atau theaflavin, hal ini yang menyebabkan polifenol dikatakan mampu menjadi antioksidan dan menangkap radikal bebas (Ho et al, 1997).

## **2.5 Hubungan *P Gingivalis* dan Antioksidan**

Bakteri *P Gingivalis* adalah bakteri yang paling dominan dalam infeksi periodontitis kronis (Rafiei M, et al. 2017). Spesies bakteri *P Gingivalis* menginisiasi produksi berbagai sitokin seperti interleukin-8 dan TNF- $\alpha$  yang selanjutnya menyebabkan peningkatan jumlah dan aktivitas dari polimorfonukleosit (PMN). Bersama dengan sitokin, PMN menghasilkan *Reactive oxidatives stress* (ROS) sebagai bagian dari respon pertahanan terhadap infeksi. ROS seperti interleukin memiliki efek merusak pada jaringan jika diproduksi secara berlebihan (Dahiya P, 2013).

*Reactive oxidatives stress* (ROS) adalah Radikal bebas yang merupakan derivat dari oksigen yang lebih reaktif dari oksigen molekuler dan mampu merusak DNA. ROS meliputi spesies reaktif lainnya yang



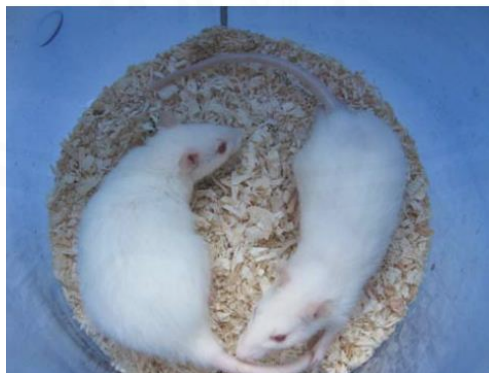
bukan radikal sejati tetapi mampu membentuk radikal di lingkungan intraseluler dan ekstraseluler (Bhusari BM, 2014).

Antioksidan adalah molekul yang sangat stabil dan mampu menetralkan radikal bebas dengan menyumbangkan elektronnya (Wesler & Bast, 2010). Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah (Sayuti K, 2015). Antioksidan menghentikan reaksi berantai yang disebabkan reaksi oksidasi oleh radikal bebas sehingga mampu mencegah kerusakan sel atau kematian sel (Pooja S, 2016).

## 2.5 Tikus Wistar

Klasifikasi tikus putih (*Rattus Norvegicus*), menurut Budi Akbar (2010):

<i>Kingdom</i>	: <i>Animalia</i>
<i>Filum</i>	: <i>Chordata</i>
<i>Kelas</i>	: <i>Mammalia</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Rodentia</i>
<i>Subordo</i>	: <i>Odontoceti</i>
<i>Familia</i>	: <i>Muridae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Rattus</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Rattus norvegicus</i>



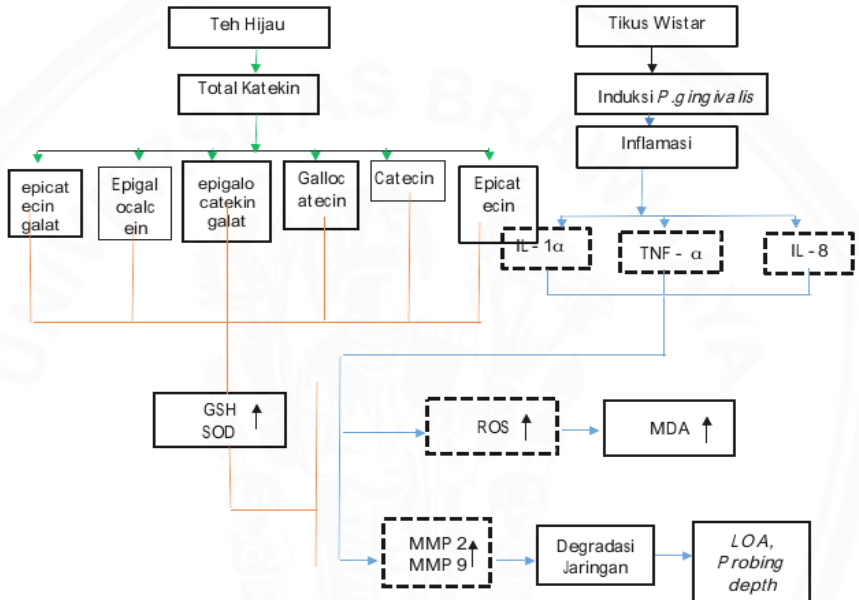
**Gambar 2.5 Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) (Diambil dari *Balneo-Research Journal* Vol.2, Nr.1, 2011).**



## BAB 3

### KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konsep



Tabel 3.1 Gambar Kerangka Konsep

Keterangan :

- : Mengandung
- : Menyebabkan
- : Menghambat
- ↑ : Meningkat
- ↓ : Menurun
- : Tidak diteliti
- : Diteliti

### 3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Inisiasi bakteri akan menyebabkan terjadinya mekanisme inflamasi akibat komponen bakteri seperti lipopolisakarida (LPS), protease, peptidoglikan, asam lipotheicoic, dan toxins. LPS yang dikeluarkan akibat inisiasi bakteri ini akan mengaktifkan sel-sel imun bawaan maupun adaptif dan akan menginisiasi pelepasan mediator pro inflamasi seperti IL -  $1\alpha$ , TNF -  $\alpha$  dan IL - 8. Mediator-mediator pro inflamasi ini akan meningkatkan aktivitas dari MMP dan meningkatkan infiltrasi neutrofil ke tempat jejas yang berpengaruh pada peningkatan radikal bebas seperti MDA (malondialdehyde). Meningkatnya radikal bebas ini akan semakin memacu kerja dari MMP, sehingga MMP semakin meningkat, meningkatnya MMP akan menyebabkan degradasi jaringan kolagen pada gingiva. Degradasi kolagen ini akan menyebabkan hilangnya perlekatan (*Loss of Attachment*), yang menyebabkan terbentuknya poket periodontal. Adanya poket periodontal yang ditandai dengan hilangnya perlekatan atau LOA (*Loss of Attachment*) dan kedalaman probing yang bertambah merupakan parameter dari periodontitis.

Teh hijau atau *Camelia sinensis* mengandung berbagai macam komponen, namun terdapat 6 komponen utama yang terdapat di teh hijau antara lain epigalokatekingalat (EGCG), galokatekin (GC), epikatekin (EC), epikatekin galat (ECG), katekin (C), dan epigalokatekin (EGC). EGCG terbukti dapat meningkatkan antioksidan yang ada di dalam tubuh seperti SOD

(*Superoxide Dismutase*) dan GSH (*Glutathion*) yang mampu menurunkan jumlah radikal bebas dan menurunkan aktivitas MMP sehingga degradasi jaringan dapat terhambat dan akan terjadi perbaikan jaringan. Dengan berkurangnya degradasi jaringan dan meningkatnya perbaikan jaringan maka keparahan periodontitis dapat diturunkan.

### **3.3 Hipotesis Penelitian**

Total katekin meningkatkan kadar SOD (*superoksida dismutase*) gingiva pada tikus wistar jantan (*rattus norvegicus*) yang diinduksi *porphyromonas gingivalis*.

## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Rancangan penelitian**

Penelitian menggunakan jenis *true experimental laboratory* berupa eksperimental atau percobaan murni yang dilakukan di Laboratorium secara *in vivo* kepada hewan coba. Pada metode ini tidak dilakukan *pretest* karena kelompok kontrol maupun kelompok eksperimen dianggap sama sebelum diberi perlakuan (Budiharto, 2008).

#### **4.2 Populasi dan Sampel Penelitian**

##### **4.2.1 Populasi Penelitian**

Sampel penelitian yang digunakan adalah tikus putih *strain* wistar jantan (*Rattus norvegicus*),

Pemilihan ini didasarkan pada alasan bahwa:

1. *Rattus norvegicus strain* wistar ini secara anatomi struktur gigi dan metabolisme mirip dengan manusia.
2. Tikus putih jantan galur wistar, dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil
3. Berat badan tikus yang biasa digunakan sebagai hewan coba rerata pada usia tersebut adalah 250 – 300 gram.

##### **4.2.2 Sampel Penelitian**

###### **4.2.2.1 Kriteria Sampel Penelitian**

Sampel penelitian adalah hewan model tikus *strain* wistar jantan yang diberi perlakuan induksi periodontitis menggunakan *P. Gingivalis*

selama 28 hari karena pada hari ke 28 sudah terjadi penyebaran inflamasi dan mengarah pada perusakan jaringan lunak dan mineralisasi dari jaringan periodontal (Krismariono, 2015) :

**Kriteria Inklusi :**

1. Jenis kelamin jantan.
2. Berat badan 250 – 300 gram.
3. Usia minimal 7 minggu
4. Sehat, ditandai dengan gerakannya yang aktif, mata jernih, dan bulu tebal dan bewarna putih mengkilap.

**Kriteria Eksklusi :**

1. Tikus yang kondisinya sakit atau mati selama penelitian berlangsung.
2. Tikus yang berat badanya turun secara drastis selama penelitian.
3. Tikus yang tidak ingin makan selama penelitian.

#### 4.2.2.2 Besar Sampel Penelitian

Sampel penelitian akan dilakukan pengulangan pada tiap kelompok untuk mencegah terjadinya bias pada hasil penelitian. Jumlah pengulangan penelitian menggunakan rumus Federer (Syahdrajat, 2015).

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5-1) \geq 15 =$$

$$(n-1)(4) \geq 15 =$$

$$(n-1) \geq 15/4 =$$

$$N \geq 19/4 = 4.75 \text{ dibulatkan menjadi } 5$$

t = jumlah kelompok

n = jumlah sampel

Penelitian ini dilakukan pada lima kelompok perlakuan, tiap kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor dan ditambah 1 ekor tikus tiap kelompok sebagai cadangan sehingga total sampel penelitian sejumlah 30 ekor.

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian total katekin *Camellia sinensis* sebanyak 100mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400mg/kgBB (Cho, *et al* 2013).



### **4.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah perubahan kadar SOD pada tikus model periodontitis yang diberi total katekin *Camelia sinensis*.

### **4.3.3 Variabel Terkendali**

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah:

- a. Kriteria hewan coba
- b. Cara pemberian total katekin teh hijau
- c. Cara menginduksi *P gingivalis*
- d. Dosis *P gingivalis*
- e. Makanan dan minuman yang diberikan

## **4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas MIPA, Institut Teknologi Bandung, Laboratorium Mikrobiologi, dan Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Institut Biosains Universitas Brawijaya Malang pada bulan Juni – November 2018.

## **4.5 Bahan dan Alat Penelitian**

### **4.5.1 Bahan Penelitian**

- a. Tikus wistar jantan
- b. Bakteri *P gingivalis*
- d. Larutan standar
- e. Reagen

- f. Air
- g. Minuman dan makanan standar tikus wistar
- h. Larutan total katekin
- i. Aquades steril

#### **4.5.2 Alat Penelitian**

- a. Kandang dan tempat minum tikus wistar
- b. Jarum insulin 1 ml
- c. Probe periodontal
- d. Alat bedah minor
- e. Mikro pipet
- f. Tabung reaksi
- g. Rak tabung reaksi
- h. Alat Sentrifuge
- i. Tabung endprof
- j. Neraca Analitik
- k. Probe Periodontal
- l. Selang Orogastrik

## **4.6 Definisi Operasional**

### **4.6.1 Induksi Periodontitis**

Suatu cara untuk menginduksi hewan coba menjadi model periodontitis pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan menginjeksi bakteri *P Gingivalis* ke sulkus gingiva gigi insisivus sentral rahang bawah bagian labial hewan coba hingga terjadi kerusakan pada *attachment* dengan menggunakan jarum insulin ukuran 16 G.

### **4.6.2 Kadar SOD**

*Superoxide dismutase* (SOD) adalah antioksidan yang berbentuk enzim yang mendismutasi superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. Kadar SOD dapat diukur dengan menggunakan metode spektrofotometer.

### **4.6.3 Hewan coba**

Hewan coba adalah tikus (*Rattus novergicus*) jantan. Usia minimal 7 minggu, berat 250 – 300 gram.

### **4.6.4 Pemeriksaan Periodontitis**

Pemeriksaan periodontitis dilakukan pada hari ke-28 dengan cara pemeriksaan klinis berupa pemeriksaan kehilangan perlekatan / *LOA* (*Lost of Attachment*), kegoyangan gigi dan *probing depth* / kedalaman poket menggunakan *probe periodontal*.

### **4.6.5 Total Katekin Teh Hijau**

Total katekin merupakan total senyawa senyawa utama yang terkandung di dalam teh hijau yaitu epikatekin (EC), epikatekin galat (ECG), katekin (C), epigalokatekin (EGC), epigalokatekingalat (EGCG) dan galokatekin (GC) yang akan diisolasi dari ekstrak teh hijau. Daun teh

hijau diperoleh dari Badan Usaha Pusat Penelitian The dan Kina, Gambung, Bandung, Jawa Barat.

## **4.7 Prosedur Penelitian**

### **4.7.1 Ethical Clearence**

Penelitian diawali dengan pengurusan *ethical clearance* di Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

### **4.7.2 Persiapan Hewan Coba**

Dilakukan penimbangan pada tikus wistar jantan terlebih dahulu menggunakan neraca analitik. Tikus wistar jantan dibiarkan beradaptasi (aklimatisasi) selama satu minggu (Juanda, 2007). Tikus dirawat dalam wadah berukuran 40 x 15 x 10 cm berupa bak bersih yang berbahan plastik dengan tutup kandang terbuat dari anyaman kawat berukuran 0,5 cm. Tikus wistar ditempatkan pada ruangan yang bersuhu sekitar 18°C - 27°C, ventilasi kandang terjaga dengan baik. Satu kandang berisi 1 ekor tikus. Dilakukan penggantian sekam setiap tiga hari sekali dan diberikan minuman berupa air mineral (15-30 ml/hari) dan diberikan makanan menggunakan pelet (Widiartini, 2013).

### **4.7.3 Pembagian Kelompok Perlakuan**

Kelompok kontrol (-) : Kelompok kontrol negatif yaitu hewan coba yang tidak diberi perlakuan induksi periodontitis sama sekali selama 28 hari

Kelompok (+) : Kelompok perlakuan yaitu hewan coba yang diinduksi bakteri *P gingivalis* ATCC 33 277 sebanyak 0,03 ml/tikus dengan konsentrasi  $2 \times 10^6$  CFU/ml setiap 3 hari selama 4 minggu

Kelompok P1 : Kelompok perlakuan yaitu hewan coba yang diinduksi bakteri *P gingivalis* ATCC 33 277 sebanyak 0,03 ml/tikus dengan konsentrasi  $2 \times 10^6$  CFU/ml setiap 3 hari selama 4 minggu dan diberi perlakuan larutan total katekin *Camelia sinensis* sebanyak 100 mg/kgBB selama 28 hari

Kelompok P2 : Kelompok perlakuan yaitu hewan coba yang diinduksi bakteri *P gingivalis* ATCC 33 277 sebanyak 0,03 ml/tikus dengan konsentrasi  $2 \times 10^6$  CFU/ml setiap 3 hari selama 4 minggu dan diberi perlakuan larutan total katekin *Camelia sinensis* sebanyak 200 mg/kgBB selama 28 hari

Kelompok P3 Kelompok perlakuan yaitu hewan coba yang diinduksi bakteri *P gingivalis* ATCC 33 277 sebanyak 0,03 ml/tikus dengan konsentrasi  $2 \times 10^6$  CFU/ml setiap 3 hari selama 4 minggu dan diberi perlakuan larutan total katekin *Camelia sinensis* sebanyak 400 mg/kgBB selama 28 hari (Krismariono, 2015; Cho et.al, 2013).

Dosis didapatkan berdasarkan penelitian oleh Cho,et.al (2013) yaitu sebanyak 200 mg EGCG/kgBB tikus.

#### **4.7.4 Persiapan Bahan Perlakuan**

Bahan yang dipakai pada kelompok perlakuan terdiri dari bakteri *P Gingivalis* ATCC 33 277 sebagai induksi periodontitis sehingga menghasilkan kerusakan jaringan periodontal dan total katekin *Camellia sinensis*.

#### **4.7.5 Pembuatan sediaan Bakteri**

1. Membeli *P.gingivalis* ATCC 33 277 dari pabrik

2. Membuat stock *P.gingivalis* ATCC 33 277 dengan ditumbuhkan pada medium yang mengandung *tryptic soy broth* (TSB)
3. *P.gingivalis* ATCC 33 277 diinkubasi pada keadaan anaerob selama 24 jam
4. Menumbuhkan *P.gingivalis* ATCC 33 277 dalam medium agar darah yang mengandung 5 % darah domba, 0,4 mL/ml vitamin K1 dan 5 mL/ml hemin dan diletakkan di inkubator anaerob dengan komposisi 80% N<sub>2</sub>, 10% H<sub>2</sub> dan 10% CO<sub>2</sub> selama 24 jam pada suhu 37° C
5. Koloni terbesar dipindahkan ke medium cair yang mengandung thioglicolat dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C pada kondisi anaerob
6. Setelah diberikan PBS, dilakukan spectrophotometry dengan panjang gelombang 624 nm digunakan untuk menghasilkan konsentrasi bakteri sebanyak 1 x 10<sup>6</sup> CFU/ml (Krismariono, 2015).
7. Uji Morfologi untuk memastikan bakteri tidak terkontaminasi

#### **4.7.6 Pembuatan Total katekin *Camelia sinensis***

Metode isolasi dikutip dari laporan penelitian isolasi total katekin dan EGCG dari teh hijau klon GMB4. Total katekin diperoleh dari Dr. Ciptati, M.S, M.Sc yang isolasinya dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Institut Teknologi Bandung. Total katekin yang diperoleh

sekiar 11%-12% dari keseluruhan berat kering teh hijau. (Ratnawati et al, 2009).

#### **4.7.6 Prosedur Perlakuan**

##### **4.7.6.1 Injeksi Bahan Perlakuan**

Injeksi pada jaringan periodontal dilakukan dengan induksi bakteri *P.gingivalis* ATCC 33 277. Induksi *P.gingivalis* ATCC 33 277 dilakukan tanpa pembiusan terlebih dahulu karena reaksi hewan coba selama induksi tidak berlebihan dan terlihat nyaman. Bakteri diberikan secara lokal sebanyak 0,03 ml dengan konsentrasi  $2 \times 10^6$  CFU/ml ke sulkus gingiva gigi insisivus rahang bawah bagian labial hewan coba hingga terjadi kerusakan pada *attachment* ( Krismariono, 2015).

##### **4.7.6.2 Pengambilan Sampel Jaringan Hewan Coba**

Pada hari ke 28, dilakukan pembedahan pada hewan coba yang akan dilakukan pengamatan. Prosedur pembedahan hewan coba yaitu :

1. Mematikan tikus dengan *servical dislocation* yang didahului dengan prosedur anestesi oleh tenaga ahli yang kompeten, agar tikus terhindar dari kesakitan. Aplikasi povidone iodine sebagai antiseptik pada daerah yang akan dilakukan anestesi. Hewan coba pertama-tama diberi injeksi anestesi ketamine (80 mg/Kg BB) terlebih dahulu secara intraperitoneal di kuadran bawah abdomen. Dosis ketamine yang dibutuhkan untuk tikus berat badan 250-300 gram adalah 20-24 mg.
2. Setelah reaksi anestesi bekerja, hewan coba tampak mulai tidak sadarkan diri, dilakukan *servical dislocation* oleh tenaga ahli yang berkompeten. Metode ini dilakukan dengan cara

menggenggam basis tulang tengkorak dengan satu tangan dan dasar leher dengan tangan lainnya, kemudian lakukan gerakan penarikan yang berlawanan arah satu sama lain dengan cepat dan kuat ( Fox et.al, 2015)

3. Potong kedua sisi dari rongga mulut meliputi pipi dan ramus mandibula menggunakan alat yang tajam atau gunting yang lurus
4. Menurunkan mandibula
5. Memotong palatum lunak dan palatum keras dengan batas 2 mm dibelakang gigi incisive
6. Menurunkan bagian anterior dari mulut hingga terlihat *nasal cavity*.
7. Lakukan eksisi gingiva sebanyak 1 gram
8. Letakkan gingiva yang telah dieksisi dalam wadah dengan PBS + 2% FCS (Mizraji et.al, 2013)
9. Gingiva sebanyak 1 g dihomogenatkan dalam kondisi dingin dalam 4 ml larutan PBS yang mengandung 11,5 g/L KCL kemudian disentrifuse pada 4000 rpm selama 10 menit. Sehingga akan dihasilkan supernatan jernih, supernatan yang jernih ini akan digunakan untuk analisis kadar SOD.
10. Setelah dilakukan pengambilan jaringan gingiva, jasad tikus dibawa ke limbah B3 (Bahan Berbahaya dan Beracun) RSUB dengan menggunakan kantong plastik kuning. Selanjutnya jasad tikus akan di incinerator.

#### **4.7.6.3 Pemeriksaan Kadar SOD**

##### **4.7.6.3.1 Bahan untuk Pengukuran Kadar *Superoxide dismutase* (SOD)**

- a. EnzyChrom™ SuperOxide Dismutase Assay Kit (ESOD-100)



b. PBS (Buffer Salin)

#### **4.7.6.3.2 Alat untuk Pengukuran Kadar *Superoxide dismutase* (SOD)**

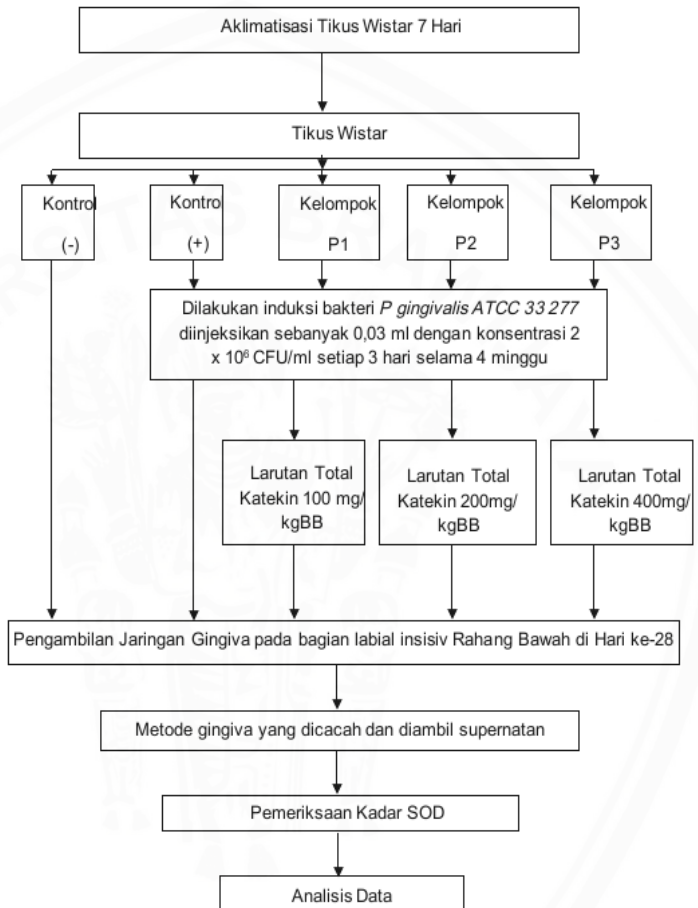
- a. Sarung tangan
- b. Sentrifuge
- c. Inkubator
- d. Tabung sentrifuge 15 mL
- e. Tabung reaksi
- f. Tabung vortex
- g. Mikropipet
- h. Spektrofotometer

#### **4.7.6.3.3 Prosedur Pengukuran Kadar *Superoxide dismutase* (SOD)**

Pengukuran kadar SOD menggunakan metode Spektrofotometri UV-Visible berdasarkan prosedur EnzyChrom™ SuperOxide Dismutase Assay Kit (ESOD-100) pada panjang gelombang 440 nm. Sampel jaringan gingiva yang digunakan sebanyak  $\pm 100$  mg. Sampel jaringan gingiva yang telah dihomogenasi sebanyak  $\pm 100$  mg ditambahkan dengan 1 mL larutan PBS lalu ditampung di tabung endprof. Prosedur dapat dilihat pada lampiran 9, halaman 81.

## 4.8. Alur Penelitian

### 4.8. Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

#### 4.9 Prosedur Pengumpulan dan Analisa Data

Melakukan uji normalitas pada hasil pengukuran hewan coba baik kontrol maupun perlakuan menggunakan *Saphiro-Wilk test* dan uji homogenitas dengan *Levene test*. Jika data yang dihasilkan berdistribusi normal dan homogen analisis data yang akan dilakukan adalah uji One Way Anova digunakan untuk mengetahui pengaruh total katekin terhadap kadar SOD antara kontrol negatif dengan perlakuan. Apabila data yang dihasilkan berdistribusi tidak normal atau tidak homogen maka penghitungan selanjutnya menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* sebagai uji lanjutan *Kruskal Wallis* atau uji *Post Hoc Tukey* sebagai lanjutan One Way Anova. Selanjutnya dilakukan uji regresi untuk mengetahui pengaruh total katekin terhadap kadar SOD.

## BAB 5

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Hasil penelitian

##### 5.1.1 Pengukuran Poket periodontal

Pengukuran poket periodontal pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya pendalaman sulkus gingiva secara patologis akibat induksi bakteri *P Gingivalis*. Pengukuran poket dilakukan menggunakan probe WHO terkalibrasi dengan cara mengukur jarak antara dasar sulkus sampai margin gingiva. Berikut adalah data hasil pengukuran kedalaman poket pada lima kelompok.

Kelompok	1	2	3	4	5	rata - rata	Std dev
Positif	1 mm	2 mm	1mm	3mm	2mm	1,8 mm	0,83
Negatif	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0
Perlakuan 1	1 mm	1 mm	1 mm	0 mm	1 mm	0,8 mm	0,44
Perlakuan 2	1 mm	0 mm	0 mm	1 mm	0 mm	0,4 mm	0,54
Perlakuan 3	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0

**Tabel 5.1.1 hasil pengukuran kedalaman poket periodontal**

Dari data tersebut, didapatkan kedalaman poket terbesar pada kelompok kontrol (+) dan terkecil pada kelompok perlakuan 3. Kedalaman poket menandakan tingkat keparahan periodontitis.

### 5.1.2 Pengukuran Kegoyangan Gigi

Pengukuran kegoyangan gigi bertujuan untuk mengetahui adanya kegoyangan gigi akibat *LOA* ( *loss of Attachment* ). Pengukuran kegoyangan dilakukan dengan menjepit gigi di bagian proksimal menggunakan pinset dan menggoyangkan kearah kanan dan kiri. Berikut adalah data hasil pengukuran kegoyangan gigi pada lima kelompok .

<b>Kelompok</b>	1	2	3	4	5
Positif	-	+	+	+	+
Negatif	-	-	-	-	-
Perlakuan 1	+	+	+	-	+
Perlakuan 2	+	-	-	-	-
Perlakuan 3	-	-	-	-	-

**Tabel 5.1.2 hasil pengukuran kegoyangan gigi**

- Untuk nilai kegoyangan negatif/ tidak ada kegoyangan
- + Untuk nilai kegoyangan positif/ ada kegoyangan

Dari data tersebut, didapatkan kegoyangan gigi pada kelompok kontrol (+) dan terkecil pada kelompok perlakuan 3. Adanya kegoyangan gigi menandakan terjadinya periodontitis.

### 5.1.3 Pengukuran BOP (*Bleeding on Probing*)

<b>Kelompok</b>	1	2	3	4	5
Positif	+ / 2	+ / 2	+ / 2	+ / 2	+ / 2
Negatif	- / 0	- / 0	- / 0	- / 0	- / 0
Perlakuan 1	+ / 2	+ / 2	+ / 2	+ / 2	+ / 2
Perlakuan 2	+ / 2	- / 0	- / 1	+ / 2	- / 0
Perlakuan 3	- / 0	- / 0	- / 0	- / 0	- / 0

**Tabel 5.1.3 hasil pengukuran BOP**

+ Terdapat BOP

- Tidak terdapat BOP

*Bleeding index* ( Asian Journal of Animal and Veterinary advances, 2013)

0 = keadaan jaringan gingiva sehat

1= terdapat inflamasi namun tidak terdapat BOP

2= terdapat inflamasi dan BOP

3= terdapat inflamasi, BOP, pembengkakan dan ulser

Dari data tersebut, didapatkan BOP terbanyak pada kelompok kontrol (+) dan paling sedikit pada kelompok perlakuan 3. Adanya BOP menandakan terjadinya periodontitis.

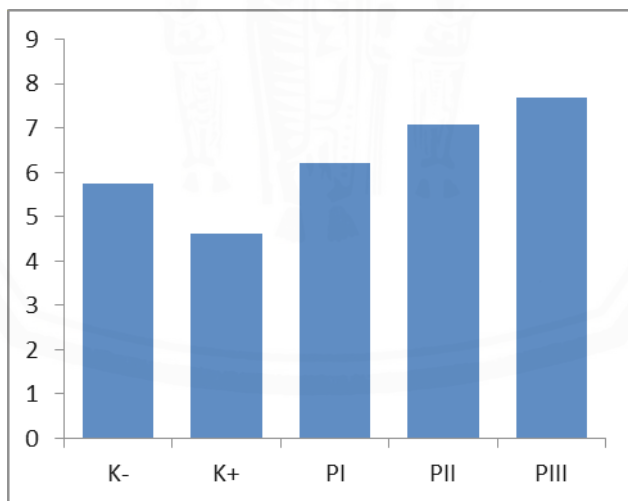
#### **5.1.4 Pengukuran Kadar SOD**

Pengukuran kadar SOD dilakukan dengan menggunakan sampel jaringan gingiva tikus di bagian labial gigi insisiv rahang bawah yang dicacah kemudian di sentrifuse, dengan masing-masing sampel sebesar 1 gram cacahan jaringan. Pengukuran kadar SOD menggunakan alat

spektrofotometer dengan panjang gelombang 440 nm dengan satuan U/mol.

Kelompok	1	2	3	4	5	Rata-rata	Std.Deviasi
Negatif	4,647	5,529	6,647	7,176	5,941	5,988	0,9819363
Positif	4,471	5,118	4,647	5,059	2,824	4,423	0,9349864
Perlakuan 1	7,588	2,941	6,588	6,941	6,941	6,200	1,8571847
Perlakuan 2	9,412	7,235	8,353	4,588	5,882	7,094	1,9185851
Perlakuan 3	6,353	7,176	8,529	7,765	10,118	7,988	1,4328187

**Tabel 5.1.4 hasil pengukuran kadar SOD**



### **Gambar 5.1.4 diagram kadar SOD per kelompok kontrol dan perlakuan**

Dari hasil pengukuran SOD menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan yang diberikan dosis 400 mg/kgBB menunjukkan hasil kadar SOD yang paling tinggi dibandingkan kelompok perlakuan dengan dosis 200 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB.

## **5.2 Hasil Analisis Data**

Hasil penelitian tersebut kemudian di analisis dengan menggunakan beberapa uji statistik yaitu uji normalitas, uji homogenitas, uji oneway ANOVA dan uji Post hoc. Sebelum itu, dilihat apakah data berdistribusi normal dan homogen yang merupakan syarat dari tes oneway ANOVA.

### **5.2.1 Uji Normalitas**

Uji normalitas adalah uji untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas yang digunakan adalah Sapiro-Wilk karena jumlah sampel  $<50$ . Dikatakan normal apabila  $\alpha > 0,05$ . Berdasarkan uji normalitas dengan Sapiro-Wilk didapatkan nilai  $\alpha = 0,924$  (lebih besar dari 0.05) pada semua kelompok. Dari hasil tersebut dikatakan data berdistribusi normal dan syarat kenormalan terpenuhi sehingga dapat dilakukan uji one way ANOVA (Lampiran 2, halaman 68).

### **5.2.2 Uji Homogenitas Varians**

Uji homogenitas varians antar ragam sampel dilakukan dengan uji *Levene Statistic*. Tujuan dari uji ini untuk mengetahui perbedaan varians antar kelompok data yang dibandingkan apakah sama atau tidak.



Data dikatakan variannya sama apabila nilai  $\alpha > 0,05$ . Hasil uji *Levene Statistic* didapatkan nilai *Lavene Statistic*  $\alpha = 0,468$  (lebih besar dari 0,05). Sehingga data dikatakan homogeny dan uji Oneway ANOVA dapat dilakukan karena syaratnya terpenuhi (Lampiran 3, halaman 69).

### **5.2.3 Uji One Way Anova**

Analisis menggunakan metode Oneway ANOVA untuk mengetahui apakah ada pengaruh pemberian total katekin terhadap kadar SOD pada jaringan gingiva hewan coba. Apabila nilai  $\alpha < 0,05$  maka  $H_1$  diterima dan  $H_0$  ditolak. Dari hasil uji one way ANOVA didapatkan nilai  $\alpha = 0,015$ . Hasil uji one way ANOVA pada penelitian ini adalah terdapat pengaruh pemberian total katekin terhadap kadar SOD jaringan gingiva model periodontitis tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *Porphyromonas gingivalis*. Setelah itu dilakukan analisis lanjutan menggunakan uji *Post Hoc Test* untuk mengetahui kelompok dosis manakah yang memiliki pengaruh signifikan (Lampiran 4, halaman 70 ).

### **5.2.4 Uji Post Hoc**

Uji Post Hoc bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki pengaruh paling signifikan, dengan menggunakan metode Tukey HSD dengan nilai  $\alpha < 0,05$ . Dari hasil uji post hoc didapatkan kelompok perlakuan dosis 400 mg/kgBB memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol positif. Namun kelompok perlakuan dosis 400 mg/kgBB tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan dosis 100 mg/kgBB ataupun kelompok perlakuan dengan dosis 200 mg/kgBB (Lampiran 5, halaman 71).

### 5.2.5 Uji Korelasi dan Regresi

Uji ini untuk mengetahui besarnya kontribusi dosis total katekin terhadap hasil SOD. Dari hasil analisis statistic nampak bahwa ada korelasi/kontribusi dosis total katekin dengan SOD . Uji F menunjukkan hubungan yang bermakna dengan nilai sig 0,002 ( $< 0,05$ ). Dengan kontribusi sebesar ( $r$  hitung= koefisien korelasi) 0,642 yang artinya ada hubungan yang cukup kuat antara dosis dengan SOD (Lampiran 6 dan 7, halaman 72-73).

### 5.3 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian total katekin terhadap kadar SOD (*superoksida dismutase*) jaringan gingiva pada tikus wistar jantan yang diinduksi bakteri *P gingivalis*. Induksi bakteri *P gingivalis* menyebabkan terjadinya peradangan pada jaringan periodontal yang disebut periodontitis kronis. Pada keadaan periodontitis kronis, radikal bebas akan meningkat sebagai respon inflamasi yang secara klinis ditandai dengan terbentuknya poket dan kegoyangan gigi. Radikal bebas yang terbentuk akan dinetralkan oleh antioksidan. Total katekin sebagai salah satu antioksidan digunakan pada penelitian ini sebagai terapi pencegahan. Kadar antioksidan tersebut ditunjukkan dengan peningkatan kadar SOD pada jaringan gingiva tikus wistar jantan.

Dari hasil pemeriksaan klinis pada tikus wistar kelompok kontrol negatif yaitu kelompok yang tidak diberi perlakuan apapun didapatkan rata-rata kedalaman poket 0 mm, tidak ada kegoyangan gigi ,tidak terdapat BOP dan rata-rata kadar SOD sebesar 5,745 U/mL.

Pada kelompok kontrol positif yaitu kelompok yang diinduksi *P Gingivalis* selama 28 hari setiap 3 hari sekali didapatkan rata-rata kedalaman poket 1,8 mm, ada kegoyangan gigi, BOP positif dan rata-rata kadar SOD sebesar 4,627 U/mL.

Pada kelompok perlakuan 1 yaitu kelompok yang diinduksi bakteri *P Gingivalis* selama 28 hari setiap 3 hari sekali dan diberi terapi pencegahan total katekin 100mg/kgBB didapatkan rata-rata kedalaman poket 0,8 mm, ada kegoyangan gigi, BOP positif dan rata-rata kadar SOD sebesar 6,200 U/mL.

Pada kelompok perlakuan 2 yaitu kelompok yang diinduksi bakteri *P Gingivalis* selama 28 hari setiap 3 hari sekali dan diberi terapi pencegahan total katekin 200mg/kgBB didapatkan rata-rata kedalaman poket 0,4 mm, tidak ada kegoyangan gigi, BOP positif pada dua hewan coba dan rata-rata kadar SOD sebesar 7,094 U/mL.

Pada kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok yang diinduksi bakteri *P Gingivalis* selama 28 hari setiap 3 hari sekali dan diberi terapi pencegahan total katekin 400mg/kgBB didapatkan rata-rata kedalaman poket 0 mm, tidak ada kegoyangan gigi, tidak terdapat BOP dan rata-rata kadar SOD sebesar 7,686 U/mL.

Dari hasil data statistik anova menunjukkan bahwa H1 diterima yang dapat diartikan terdapat pengaruh yang signifikan pemberian total katekin terhadap kadar SOD pada model periodontitis tikus wistar jantan yang diinduksi *P Gingivalis*. Dari hasil uji post hoc diketahui hanya kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan 3 yaitu dosis total katekin 400mg/250 grBB yang menunjukkan

perbedaan yang significant ( $\alpha = 0,012$ ). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian total katekin 400mg/kgBB mampu meningkatkan kadar SOD yang cukup untuk menangkal radikal bebas yang terbentuk pada periodontitis kronis yang disebabkan oleh induksi bakteri *P. Gingivalis*.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, data yang didapatkan menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif yaitu kelompok hewan coba yang diberi perlakuan induksi *P. gingivalis* tidak memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yaitu kelompok hewan coba yang tidak diberi perlakuan apapun. Perbedaan yang tidak signifikan diduga karena derajat keparahan periodontitis yang terjadi pada kelompok hewan coba masih mild periodontitis. Hal ini tidak sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Coutinho dan Sanikop tahun 2012 yang mengatakan bahwa terdapat perbedaan kadar SOD jaringan yang signifikan pada pada kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif . Hal ini berdasarkan hasil pengamatan klinis yang dilakukan, yaitu rata-rata kegoyangan yang terjadi pada gigi insisiv rahang bawah hewan coba yang diinduksi *Porphyromonas gingivalis* adalah °1. Hal ini menunjukkan bahwa periodontitis yang terjadi masih mild periodontitis. Sedangkan pada penelitian Coutinho dan Sanikop periodontitis yang terjadi adalah severe periodontitis.

Derajat keparahan periodontitis diklasifikasikan menjadi 3 yaitu, *mild periodontitis*, *moderate periodontitis* dan *severe periodontitis*. Suatu keadaan jaringan periodontium dapat dikatakan sebagai *moderate periodontitis* apabila terjadi kegoyangan gigi lebih dari normal yaitu

terdapat kegoyangan ke arah bukal dan lingual lebih dari 1 mm ( $^{\circ}2$ ), kehilangan tulang yang terjadi lebih dari 40 % dan dapat dikatakan sebagai *severe periodontitis* apabila kegoyangan gigi yang terjadi sudah memasuki  $^{\circ}3$  yaitu terjadi kegoyangan yang parah pada arah bukal lingual dan terdapat kegoyangan ke arah apikal, kehilangan tulang yang terjadi lebih dari 40% dan melibatkan kehilangan tulang horizontal (Reddy S, 2011).

Pada kelompok hewan coba yang diberikan terapi pencegahan total katekin juga tidak didapatkan perbedaan kadar SOD yang signifikan pada kelompok pemberian dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB terhadap kelompok yang diberi induksi *Porphyromonas gingivalis*, perbedaan kadar SOD yang signifikan hanya terjadi pada pemberian total katekin pada dosis 400 mg/kgBB. Hal ini tidak sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Cho yang dalam penelitiannya mengatakan bahwa dosis EGCG 200 mg/kgBB adalah dosis yang mampu mengatasi periodontitis (Cho et al, 2013).

Hal ini dikarenakan besar komponen dan sumber teh hijau yang digunakan pada penelitian ini berbeda dengan penelitian Cho. Pada penelitian ini menggunakan total katekin, yang memiliki komponen lebih kompleks daripada EGCG. EGCG juga memiliki efek yang lebih baik sebagai antioksidan daripada total katekin. Serta sumber EGCG pada teh hijau dari penelitian Cho didapat dari pabrik *Chengdu Biopurify Phytocemichals* yang berada di Sichuan, China dengan kemurnian yang telah teruji sebesar 99%, sedangkan pada penelitian ini belum diketahui tingkat kemurnian EGCG pada total katekin GMB-4.

## BAB 6

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pemberian total katekin untuk pencegahan periodontitis kronis berpengaruh secara signifikan terhadap kadar SOD (*superoksida dismutase*) pada jaringan gingiva tikus wistar jantan (*rattus norvegicus*). Pada penelitian ini pemberian total katekin pada dosis 400 mg/kg BB adalah dosis signifikan yang berpengaruh terhadap peningkatan kadar SOD.

#### 6.2 Saran

1. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian total katekin sebagai upaya kuratif pada terapi periodontitis.
2. Dapat dilakukan uji toksisitas untuk menguji efek toksis total katekin.
3. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji efektivitas dosis total katekin yang lebih tinggi dari 400 mg/kg BB.
4. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji kemurnian EGCG pada total katekin GMB-4.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alamsyah, A N. (2006). Taklukkan Penyakit dengan Teh Hijau. Jakarta : Argo Media Pustaka . Hal 35
- Beck JD, Offenbacher S.(2001). *The Association Between Periodontal Diseases And Cardiovascular Diseases: A State-Of-The Science Review*. Ann Periodontol 2001; 6: 9-15.
- Bonnefoy M, Draï J, Kostka T. (2002). *Antioxidants To Slow Aging, Facts And Perspectives*. Presse Med. 2002 Jul 27;31(25):1174-84.
- Brooks, GF, Janet SB, Stephen AM. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick,dan Adelberg*. Jakarta : EGC; 2007.
- Budiharto. 2008. *Metodologi Penelitian Kesehatan Dengan Contoh Bidang Ilmu Kesehatan Gigi*. Jakarta: EGC.
- Burda S. And Oleszek W. (2001) *Antioxidant And Antiradical Activities Of Flavonoids*. J. Agric Food Chem, 2001.
- Carranza,F.A., Newman,M.G., Takei,H.H. (2006), *Clinical Periodontology*, Ed.10, Saunders, China.
- Chapple ILC. (1996). *Role Of Free Radicals And Antioxidants In The Pathogenesis Of The Inflammatory Periodontal Diseases*. Periodontal Unit, Birmingham School Of Dentistry, Faculty Of Medicine And Dentistry, The University Of Birmingham. J Clin Pathol: Mol Pathol 1996;49:M247-M255.
- Cho Et Al, (2013). *The Effect Of Orally Administered Epigallocatechin-3-Gallate On Ligature-Induced Periodontitis In Rats*. Journal Of Periodontal Research.
- Coutinho,et al, (2012). *A comparative analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontitis healthy controls*. Free radical and antioxidants vol 2/ Issue 4/ Oct-Dec-2012

- Craig WJ. (2002). *Vegetarian Phytochemicals Guardians Of Our Health Continuing Education*
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2005. Survei Kesehatan Nasional, Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 2004. Badan Litbangkes. Jakarta 3, 18-20.
- Harjanto. (2006). Antioksidan Dan Latihan Olahraga. Departemen Of Physiology, Airlangga University School Of Medicine, Surabaya. Jurnal Kedokteran Yarsi 14 (1): 070-077 (2006).
- Hartoyo, Arif. (2003). Teh Dan Khasiatnya Bagi Kesehatan : Sebuah Tinjauan Ilmiah. Kanisius. Yogyakarta.
- Indra R, Hernowati TE, Satuman, Widodo E. (2010). Kultur Adiposit dan Pemeriksaan Adipositokin. Laboratorium Ilmu Faal FKUB. Malang.
- Journal Periodontal (1999) . *Informational Paper The Pathogenesis Of Periodontal Diseases*. Journal Periodontal 1999;70;457-470.
- Journal Periodontal (2015). *American Academy Of Periodontology Task Force Report On The Update To The 1999 Classification Of Periodontal Diseases And Conditions*. Journal Periodontal 10.1902/Jop.2015.157001
- Knez WL., Jenkins DG And Coombes JK.(2007). *Oxidative Stress In Half And Full Ironman Triathletes*. Medicine And Sience In Sports And Exercise. 39(2): 283-288.
- Kochar, S.P. Dan B. Rossell. (1990). *Detection Estimation And Evaluation Of Antioxidants In Food System*. In B.J.F. Hudson (Ed.). Food Antioxidants. Elsevier Applied Science. London.
- Krismariono A. (2015). *The Decreasing Of Nfkb Level In Gingival Junctional Epithelium Of Rat Exposed To Porphyromonas Gingivalis With Application Of 1% Curcumin On Gingival Sulcus*. Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi) Faculty Of Dental Medicine, Universitas Airlangga Surabaya - Indonesia ,March; 48(1): 35–38.



Lamont RJ, Lantz MS, Burne RA, LeBlanc DJ. Oral microbiology and immunology. Washington DC:ASM Press, 2006:253-94

Kushiyama M, Shimazaki Y, Murakami M, Yamashita Y

**(2009).***Relationship Between Intake Of Green Tea And Periodontal Disease.* J Periodontol. **2009 Mar;80(3):372-7.**

Mariska S., Afiandi N., Santana P Dan Budiwati R., (2009), Pengukuran Kapasitas Antioksidan Menggunakan DPPH Dan Pengukuran Total Fenol.

Mc Bride & Kraemer (1999). Free Radicals, Exercise, And Antioxidants. The Journal Of Strength & Conditioning Research.

P Langlais, Robert, et al. (2013). Atlas Berwarna Lesi Mulut Yang Sering Ditemukan Ed 4. Jakarta: EGC

Pambudi, J. (2006). Potensi Teh Sebagai Sumber Zat Gizi Dan Perannya Dalam Kesehatan. Pusat Peneliti Dan Pengembangan Gizi. Departemen Kesehatan Dan Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia. Jakarta.

Pendyala G, Thomas B, Kumari S. (2008). *The Challenge Of Antioxidants To Free Radicals In Periodontitis.* J Indian Soc Periodontol. 2008 Sep;12(3):79-83. Doi: 10.4103/0972-124X.44100

Powers S.K. & Jackson M.J. (2008). *Exercise Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms And Impact On Muscle Force Production.* Journal Physiol Rev 88:1243-1276.

Rafiei, M. et al ( 2017). *Study of Porphyromonas gingivalis in periodontal diseases: A systematic review and meta-analysis.* Med J Islam Repub Iran. 2017; 31: 62. Published online 2017 Sep 12

Ratnawati,R.,Et Al (2009). Isolasi Total Katekin Dan EGCG Dari The Hijau Klon GMB4. Laporan Penelitian Program Insentif Riset Dasar, Ristek ,Kementrian Negara Riset Dan Teknologi.

- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. Dan Paganga, G. (1997). *Antioxidant Properties Of Phenolic Compounds*.Trend Planta Sciences Review 2: 152-159.
- Santoso, S. *Protein Adhesin Salmonella typhii sebagai Faktor Virulensi Berpotensi Imunogenik pada Produksi S-Ig Protektif.. Disertasi . Surabaya: Program Pascasarjana Universitas Airlangga; 2002.*
- Sayuti, Kesuma. (2015). *Antioksidan, Alami Dan Sintetik*. Andalas University Press. Asosiasi Penerbit Perguruan Tinggi Indonesia (APPTI): Padang.
- Syahdrajat. (2015) . *Panduan Menulis Tinjauan Pustaka, Laporan Kasus, Dan Artikel Penelitian Di Jurnal Kedokteran*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Weseler & Bast. (2012). *Pleiotropic-Acting Nutrients Require Integrative Investigational Approaches: The Example Of Flavonoids*. *Journal Of Agric. Food Chem.* 60:8941-8946.
- Widiartini, W., E. Siswati, A. Setiyawati, I.M. Rohmah, Dan E. Prasetyo. (2013). *Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Tersetifikasi Dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboraturium . IAES Indonesia Section,8 :1-6.*
- Winarsi, W., (2007). *Antioksidan Alami Dan Radikal Bebas*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta,Pp.13-15,77-81.
- Yilmaz O. 2008. *The Chronicles of Porphyromonas gingivalis: The Microbium, The Human Oral Epithelium and Their Interplay*. *College of Dentistry and Emerging Pathogens Institute, University of Florida.*