

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

# LAMPIRAN



Lampiran 1. Keterangan Kelaikan Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG  
KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARANCE"

NO: E.5.a/81/KEPK-UMM/VI/2016

KOMISI ETIK PENELITIAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG

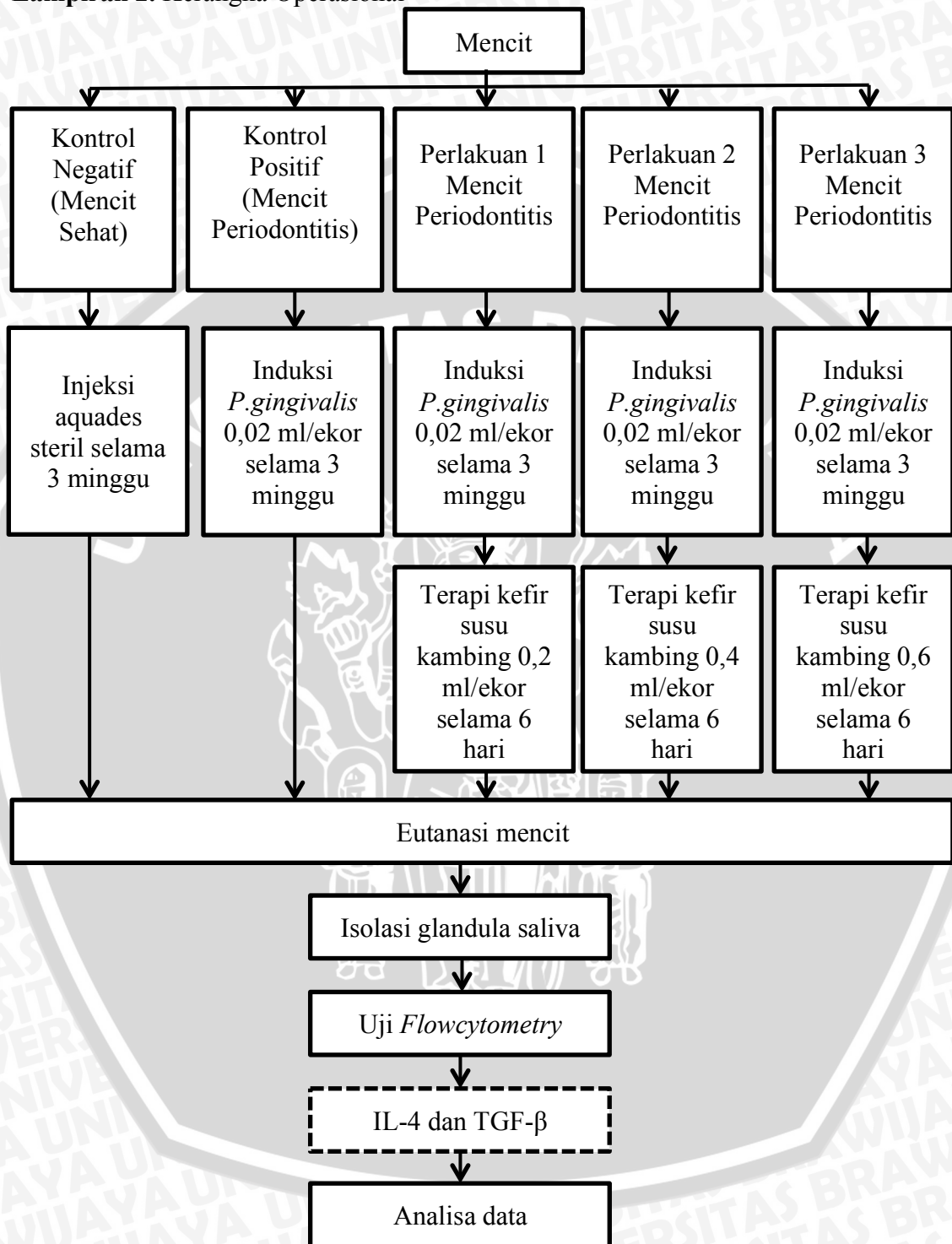
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN,  
MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

<b>PENELITIAN BERJUDUL</b>	: Etak Terapi Kefir Susu Kambing terhadap Periodontitis Hewan Model Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) Hasil Induksi <i>Porphyromonas</i>
<b>PENELITI</b>	: Ketua : Anisa Fadilah Fitriani (125130101111008) Anggota: 1. Febby Dewayanti Savitri (1251301001111012) 2. Muhamad Guntur Karya F. (125130101111004) 3. Lutfi Azam Fahriza (125130101111001)
<b>UNIT / LEMBAGA / TEMPAT</b>	: Laboratorium Universitas Brawijaya
<b>DINYATAKAN</b>	: Lalk Etik

Malang, 10 Juni 2016  
Ketua Komisi Etik  
Univ. Muhammadiyah Malang

dr. Djaka Hindaia MPH  
NIDN: 07.22.12.430

Lampiran 2. Kerangka Operasional



Keterangan

   : Parameter yang diteliti

### Lampiran 3. Penentuan Jumlah Pemberian Kefir Susu Kambing

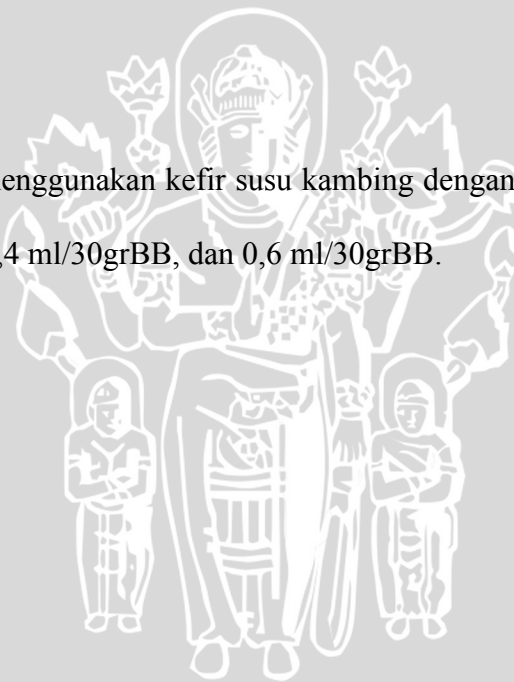
Jumlah pemberian kefir susu kambing ditentukan berdasarkan Vinderola, *et al* (2005) yaitu 0,3 ml/ekor dengan berat badan mencit 25 gr. Menurut Sawitri (2012) jumlah konsentrasi Bakteri Asam Laktat pada kefir susu yaitu  $10^8$  CFU/ml. Pada penelitian ini digunakan mencit dengan berat badan 30 gr sehingga perhitungannya adalah sebagai berikut :

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{25 \text{ gr}} = \frac{x}{30 \text{ gr}}$$

$$x = 0,36 \text{ ml}$$

$$x = 0,4 \text{ ml}$$

Penelitian ini menggunakan kefir susu kambing dengan jumlah pemberian yaitu 0,2 ml/30grBB, 0,4 ml/30grBB, dan 0,6 ml/30grBB.



**Lampiran 4.** Induksi *Porphyromonas gingivalis* dan Pemberian Terapi Kefir  
Susu Kambing

1. Induksi *Porphyromonas gingivalis*



Anak panah menunjukkan lokasi induksi *Porphyromonas gingivalis* yaitu di sulkus gingiva

2. Pemberian terapi kefir susu kambing

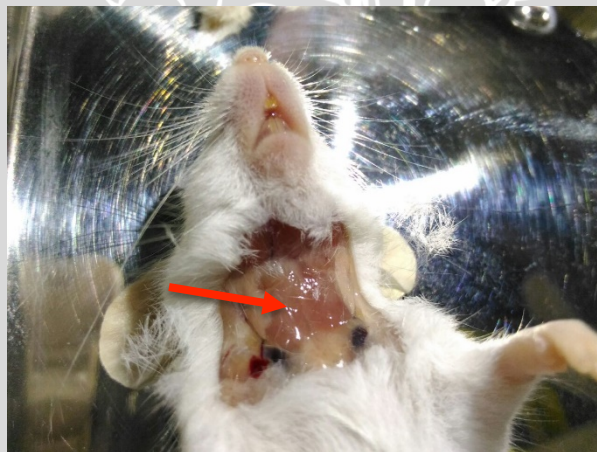


### Lampiran 5. Koleksi Glandula Saliva

1. Mencit didislokasi dan dilakukan pembedahan pada bagian leher dengan menggantung kulit dibagian leher



2. Diambil glandula saliva mencit dan ditempatkan pada tabung steril yang berisi PBS



**Lampiran 6.** Alur Pemeriksaan *Flowcytometry*

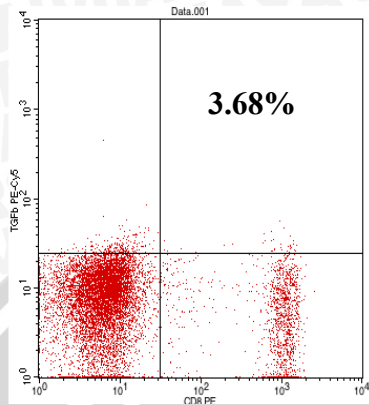
Glandula Saliva

- Digerus
- Disentrifugasi 2500 rpm, 4°C selama 5 menit sampai terbentuk pelet
- Ditambahkan PBS 1 ml
- Dihomogenkan
- Diambil 100 µl
- Dimasukkan pada tube baru
- Ditambahkan 500 µl PBS
- Disentrifugasi
- Ditambahkan antibodi intraseluler (IL-4 dan TGF-β) 50 µl
- Diinkubasi 30 menit, 4°C
- Disentrifugasi
- Dirunning dan dihitung menggunakan alat *flowcytometry*

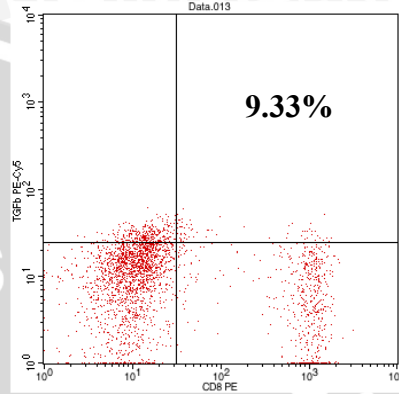
Hasil

Lampiran 7. Produksi TGF- $\beta$  Hasil Uji *Flowctometry*

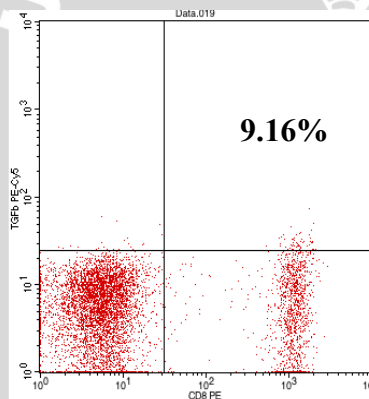
Kontrol Negatif



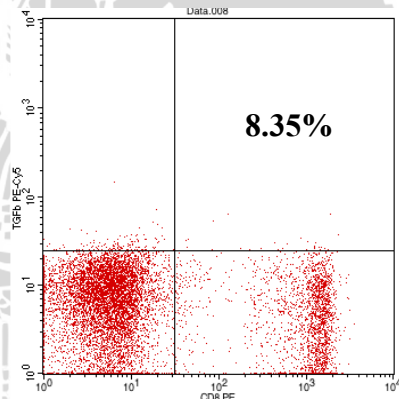
Kontrol Positif



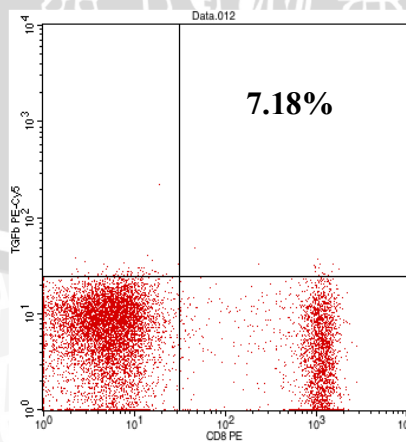
Perlakuan 1 (Kefir 0,2 ml)



Perlakuan 2 (Kefir 0,4 ml)



Perlakuan 3 (Kefir 0,6 ml)

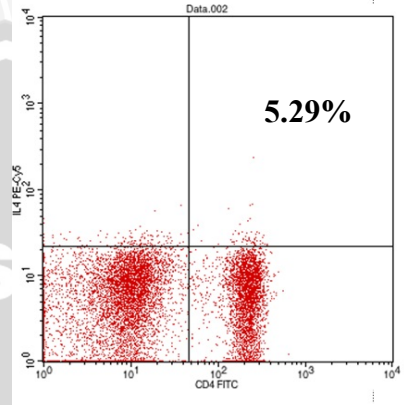
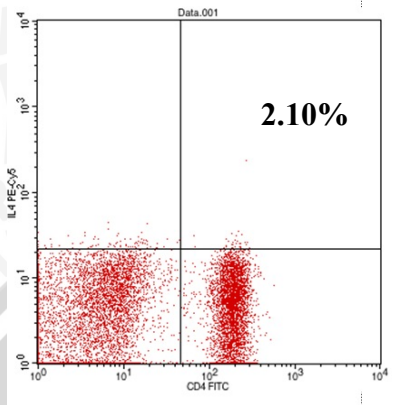




Lampiran 8. Produksi IL-4 Hasil Uji *Flowctometry*

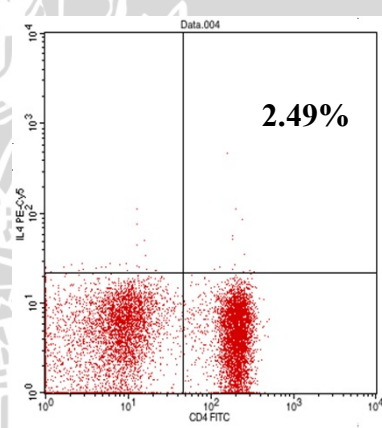
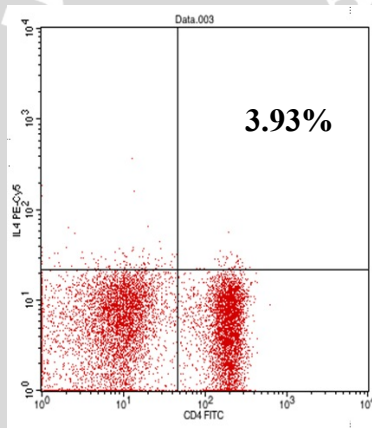
Kontrol Negatif

Kontrol Positif

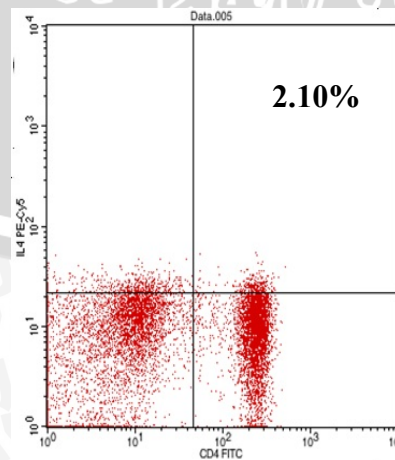


Perlakuan 1 (Kefir 0,2 ml)

Perlakuan 2 (Kefir 0,4 ml)



Perlakuan 3 (Kefir 0,6 ml)



**Lampiran 9.** Hasil Statistika Produksi IL-4 dan TGF- $\beta$

<b>Perlakuan</b>	<b>Kode</b>	<b>IL-4</b>	<b>TGF-<math>\beta</math></b>
K-	K-. K+	0.31	3.43
	K-. P1	0.29	2.55
	K-. P2	0.15	2.71
	K-. P3	0.25	2.95
K+	K+. K-	1.34	1.41
	K+. P1	1.6	1.11
	K+. P2	1.41	1.32
	K+. P3	1.29	1.77
P1	P1. K-	0.85	0.61
	P1. K+	0.75	1.14
	P1. P2	0.84	1.04
	P1. P3	0.85	0.85
P2	P2. K-	0.68	0.99
	P2. K+	0.7	1.64
	P2. P1	0.64	1.09
	P2. P3	0.83	0.88
P3	P3. K-	0.39	1.36
	P3. K+	0.46	1.44
	P3. P1	0.38	1.87
	P3. P2	0.59	1.51

a. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kelompok	Kadar TGF-β
N		20	20
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3,00	3,181000
	Std. Deviation	1,451	1,3743090
Most Extreme Differences	Absolute	,155	,195
	Positive	,155	,195
	Negative	-,155	-,100
Kolmogorov-Smirnov Z		,692	,873
Asymp. Sig. (2-tailed)		,725	,431

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Pengujian normalitas menggunakan uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* dengan nilai *p value (sig)* sebesar 0,431. Nilai *p value* 0,431 > 0,05, maka *H<sub>0</sub>* dapat diterima sehingga disimpulkan bahwa data yang digunakan terdistribusi dengan normal.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kelompok	Kadar IL-4
N		20	20
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3,00	7,539500
	Std. Deviation	1,451	2,2010966
Most Extreme Differences	Absolute	,155	,226
	Positive	,155	,175
	Negative	-,155	-,226
Kolmogorov-Smirnov Z		,692	1,009
Asymp. Sig. (2-tailed)		,725	,260

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Pengujian normalitas menggunakan uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* dengan nilai *p value (sig)* sebesar 0,260. Nilai *p value* 0,260 > 0,05, maka *H<sub>0</sub>* dapat diterima sehingga disimpulkan bahwa data yang digunakan terdistribusi dengan normal.



**b. Uji Homogenitas**

**Test of Homogeneity of Variances**

TGF-β

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7,627	4	15	,001

Pengujian homogenitas dilakukan menggunakan metode *Levene test*, nilai homogenitas pada TGF-β sebesar 7,627 dengan nilai *p value (sig)* sebesar  $0,001 < 0,05$ , karena  $p < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak sehingga data pada produksi TGF-β dinyatakan tidak homogen.

**Test of Homogeneity of Variances**

IL-4

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,045	4	15	,417

Sedangkan pada IL-4 nilai homogenitas sebesar 1,045 dengan nilai *p value (sig)* sebesar  $0,417 > 0,05$ . Karena  $p > 0,05$ , maka  $H_0$  dapat diterima dan mempunyai ragam yang homogen.

**Tabel ANOVA**

**ANOVA**

TGF-β

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12,534	4	3,133	69,855	,000
Within Groups	,673	15	,045		
Total	13,207	19			

Pada penelitian ini, terdapat 5 kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3. Berdasarkan parameter TGF-β, dari hasil uji ANOVA diperoleh hasil dengan *p value (sig)* sebesar  $0,000 < 0,05$  dengan tingkat kepercayaan 95% dapat disimpulkan bahwa terdapat



pengaruh nyata antara lima perlakuan yang berbeda. Karena hasil uji ANOVA menunjukkan kurang dari 5% maka uji dapat dilanjutkan dengan *Posthoc Test* menggunakan Uji *Tukey*.

#### ANOVA

IL-4

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,935	4	,734	214,343	,000
Within Groups	,051	15	,003		
Total	2,986	19			

Sama halnya dengan TGF- $\beta$ , IL-4 menunjukkan *p value (sig)* sebesar  $0,000 < 0,05$  dengan tingkat kepercayaan 95% maka terdapat pengaruh yang nyata antara lima perlakuan yang dilakukan. Karena hasil uji ANOVA menunjukkan kurang dari 5% maka uji dapat dilanjutkan dengan *Posthoc Test* menggunakan Uji *Tukey*.

c. Uji Lanjutan (*Posthoc Test*)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar TGF-β

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	2.11250*	.14976	.000	1.6500	2.5750
	Kefir 1	1.63750*	.14976	.000	1.1750	2.1000
	Kefir 2	1.01750*	.14976	.000	.5550	1.4800
	Kefir 3	.30000	.14976	.311	-.1625	.7625
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	-2.11250*	.14976	.000	-2.5750	-1.6500
	Kefir 1	-.47500*	.14976	.043	-.9375	-.0125
	Kefir 2	-1.09500*	.14976	.000	-1.5575	-.6325
	Kefir 3	-1.81250*	.14976	.000	-2.2750	-1.3500
Kefir 1	Kontrol Negatif	-1.63750*	.14976	.000	-2.1000	-1.1750
	Kontrol Positif	.47500*	.14976	.043	.0125	.9375
	Kefir 2	-.62000*	.14976	.007	-1.0825	-.1575
	Kefir 3	-1.33750*	.14976	.000	-1.8000	-.8750
Kefir 2	Kontrol Negatif	-1.01750*	.14976	.000	-1.4800	-.5550
	Kontrol Positif	1.09500*	.14976	.000	.6325	1.5575
	Kefir 1	.62000*	.14976	.007	.1575	1.0825
	Kefir 3	-.71750*	.14976	.002	-1.1800	-.2550
Kefir 3	Kontrol Negatif	-.30000	.14976	.311	-.7625	.1625
	Kontrol Positif	1.81250*	.14976	.000	1.3500	2.2750
	Kefir 1	1.33750*	.14976	.000	.8750	1.8000
	Kefir 2	.71750*	.14976	.002	.2550	1.1800

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Kadar IL-4

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	-1.01000*	.04137	.000	-1.1378	-.8822
	Kefir 1	-.70000*	.04137	.000	-.8278	-.5722
	Kefir 2	-.36250*	.04137	.000	-.4903	-.2347
	Kefir 3	-.06250	.04137	.571	-.1903	.0653
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	1.01000*	.04137	.000	.8822	1.1378
	Kefir 1	.31000*	.04137	.000	.1822	.4378
	Kefir 2	.64750*	.04137	.000	.5197	.7753
	Kefir 3	.94750*	.04137	.000	.8197	1.0753
Kefir 1	Kontrol Negatif	.70000*	.04137	.000	.5722	.8278
	Kontrol Positif	-.31000*	.04137	.000	-.4378	-.1822
	Kefir 2	.33750*	.04137	.000	.2097	.4653
	Kefir 3	.63750*	.04137	.000	.5097	.7653
Kefir 2	Kontrol Negatif	.36250*	.04137	.000	.2347	.4903
	Kontrol Positif	-.64750*	.04137	.000	-.7753	-.5197
	Kefir 1	-.33750*	.04137	.000	-.4653	-.2097
	Kefir 3	.30000*	.04137	.000	.1722	.4278
Kefir 3	Kontrol Negatif	.06250	.04137	.571	-.0653	.1903
	Kontrol Positif	-.94750*	.04137	.000	-1.0753	-.8197
	Kefir 1	-.63750*	.04137	.000	-.7653	-.5097
	Kefir 2	-.30000*	.04137	.000	-.4278	-.1722

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



**d. Homogenous Subsets**

**TGFBeta**

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol positif	4	.9350			
perlakuan 1	4		1.4100		
perlakuan 2	4			2.0300	
perlakuan 3	4				2.7475
kontrol negatif	4				3.0475
Sig.		1.000	1.000	1.000	.311

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

**IL4**

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol negatif	4	.3500			
perlakuan 3	4	.4125			
perlakuan 2	4		.7125		
perlakuan 1	4			1.0500	
kontrol positif	4				1.3600
Sig.		.571	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

