



**PENGARUH TOTAL KATEKIN TERHADAP KADAR
MDA (*Malondialdehyde*) PADA GINGIVA TIKUS
WISTAR JANTAN (*Rattus norvegicus*) YANG
DIINDUKSI BAKTERI *Porphyromonas gingivalis***

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

**Oleh:
HUWAIDA MAULINA
155070401111007**

**PROGAM SARJANA KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

**PENGARUH TOTAL KATEKIN TERHADAP KADAR MDA
(*Malondialdehyde*) PADA GINGIVA TIKUS WISTAR JANTAN
(*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI BAKTERI *Porphyromonas
gingivalis***

Oleh:

Huwaida Maulina

155070401111007

Menyetujui:

Pembimbing 1

Pembimbing 2

Dr. dr. Retty Ratnwati, M.Sc

NIP. 195502011985032001

drg. Diena Fuadiyah, M.Si

NIP. 2014058612292001

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI
PENGARUH TOTAL KATEKIN TERHADAP KADAR MDA
(*Malondialdehyde*) PADA GINGIVA TIKUS WISTAR JANTAN
(*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI BAKTERI *Porphyromonas*
gingivalis

Oleh:

Huwaida Maulina

15570401111007

Telah diujikan di depan Majelis Penguji Skripsi pada tanggal 13
Desember 2018 dan dinyatakan memenuhi syarat memperoleh
gelar Sarjana dalam Bidang Kedokteran Gigi

Menyetujui:

Pembimbing 1

Pembimbing 2

Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc

drg. Diena Fuadiyah, M.Si

NIP. 195502011985032001

NIP. 2014058612292001

Malang,

Mengetahui

Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp. KG

NIP 198004092008122004

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberi ridho, petunjuk serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal tugas akhir yang berjudul “Pengaruh Total Katekin Terhadap Kadar Mda (*Malondialdehida*) Gingiva Tikus Wistar Jantan (*Rattus Novergicus*) yang Diinduksi *Porphyromonas.Gingivalis*”. Proposal skripsi ini diajukan penulis untuk memenuhi tugas mata kuliah Metodologi Penelitian Ilmiah

Penulis menyadari bahwa proposal tugas akhir ini tidak dapat terselesaikan tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. drg. R. Setyohadi, M.S selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
2. drg.Yuliana Ratna Kumala, Sp.KG selaku Kepala Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya
3. Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc selaku dosen pembimbing pertama yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan bimbingan kepada penulis sehingga proposal skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Drg. Diena Fuadiyah, M.Si selaku dosen pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan bimbingan kepada penulis sehingga proposal skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Drg. Rudhanton, Sp.Perio selaku dosen penguji I yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan bimbingan kepada penulis sehingga proposal skripsi ini dapat terselesaikan
6. Seluruh Dosen dan Staff Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya atas segala ilmu yang telah diberikan kepada penulis.

7. Ayah, Mama penulis yang telah menjadi dophamine untuk penulis selalu memberikan doa, motivasi, serta dorongan setiap harinya kepada penulis serta dek ifa dan dek irul yang merupakan motifator tersirat penulis.
8. Sahabat sahabatku Ajip, Tiska, Ainun, Delany, Nadya, Andira, Bima, Agil, Athaya, Yuga, Fitri, Dion, Ajip (8), dan FBI yang memberi semangat dan motivasi bagi penulis.
9. Teman-teman kelompok departemen Faal tim Total Katekin (Fatimah Isdati dan Salsabila Allysa) yang selalu bersama sama berjuang mempertahankan judul, mencari jurnal, menemani konsul, serta telah menjadi orang pertama yang mengerti proses dalam pembuatan skripsi ini serta teman teman departemen Faal lainnya (Kumala, Inge, Ilyas) memberikan semangat.
10. Semua pihak yang telah mendukung penulis, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat-Nya dan membalas semua amal kebaikan mereka. Penulis menyadari bahwa penulisan proposal tugas akhir ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang membangun akan penulis terima. Semoga proposal ini dapat bermanfaat untuk pengembangan pengetahuan khususnya dalam bidang kedokteran gigi.

Malang, 18 Maret 2018

Penulis,

ABSTRAK

Maulina, Huwaida. 2018. Pengaruh Total Katekin Teh Hijau (*Camelia sinensis*) terhadap Kadar MDA (Malondialdehyde) Gingiva Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.

Periodontitis kronis merupakan inflamasi kronis yang mengakibatkan peningkatan kadar PMN dan pengeluaran radikal bebas. Tingginya kadar pengeluaran radikal bebas mengakibatkan terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam jumlah yang besar. ROS yang berlebihan akan menyebabkan destruksi jaringan gingiva, ligamen periodontal dan tulang alveolar melalui berbagai cara termasuk merusak DNA dan merangsang pembentukan sitokin proinflamasi. Malondialdehida (MDA) merupakan produk hasil peroksidasi lipid dalam tubuh dan terdapat dalam bentuk bebas atau terkompleks dengan jaringan di dalam tubuh. Teh hijau merupakan tumbuhan dengan kandungan fluoride, catechin dan polyphenol. Total katekin memiliki kandungan antioksidan yang dapat menurunkan kadar radikal bebas di dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh total katekin terhadap kadar MDA (*malondialdehyde*) pada model periodontitis tikus wistar jantan (*rattus norvegicus*) yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Penelitian ini menggunakan *True Experimental Single Blinded Design* yaitu *Posttest Only Control Group Design*. Kelompok kontrol terdiri dari dua kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif adalah hewan coba yang tidak diberi perlakuan apapun dan kelompok kontrol positif adalah hewan coba yang diberi perlakuan injeksi bakteri *Pg* ATCC 33277 selama 28 hari, kelompok perlakuan terdiri dari 3 kelompok yaitu hewan coba yang diinjeksi bakteri *Pg* selama 28 hari dan diberi penyondean total katekin dengan dosis yang berbeda yakni 100mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh total katekin yang signifikan pada kadar MDA. Kesimpulan dari penelitian ini adalah total katekin pada dosis 400 mg/kgBB berpengaruh signifikan terhadap kadar MDA model periodontitis.

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

ABSTRACT

Maulina, Huwaida. 2018. The Effect of Total Catechin to MDA Concentration in Gingival Tissue in Male Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) which Induced By *Porphromonas gingivalis*.

Chronic periodontitis is a chronic inflamasi which resulted in increased levels of spending and a free radical. The high levels of spending on free radicals resulting in the formation of Reactive Oxygen Species (ROS) in large numbers. ROS overload will cause the destruction of the tissue of the gingiva, periodontal ligament and alveolar bone through various means including damaging DNA and stimulates the formation of cytokines proinflamasi. Malondialdehida (MDA) is a product of lipid concentration results in the body and is found in free form or terkomples with tissue in the body. Green tea is a plant with fluoride, catechins and polyphenols. Total catechins contain antioxidants that can lower levels of free radicals in the body. This research aims to know the influence of total catechin against MDA levels (malondialdehyde) on the model of the male wistar rat periodontitis (*rattus norvegicus*) that diindksi bacteria *Pophyromonas gingivalis*. This research uses True Single Blinded Experimental Design i.e. Postest Only Control Group Design. The control group consisted of two groups, namely the negative control group are animals try was not given any treatment and a positive control group was fed a try animal treatment bacterial ATCC 33277 Pg injection for 28 days, group treatment It consists of 3 animal groups, try the injected bacteria ATCC 33277 Pg for 28 days and given a penyondean total catechins with different dose of 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB and 400 mg/kgBB. The results showed

Keywords: periodontitis, total catechin, *Porphyromonas gingivalis*, MDA

DAFTAR ISI

	Hal.
HALAMAN JUDUL	I
HALAMAN PERSETUJUAN	II
HALAMAN PENGESAHAN	III
KATA PENGANTAR.....	IV
DAFTAR ISI	VI
DAFTAR GAMBAR	IX
DAFTAR TABEL	X
DAFTAR SINGKATAN, ISTILAH DAN SIMBOL.....	XI

BAB

I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelian	5
1.4.1 Manfaat Umum.....	5
1.4.2 Manfaat Khusus.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Periodontitis	6
2.1.1 Definisi	6
2.1.2 Etiologi	6
2.1.3 Patogenesis	7
2.1.4 Gambaran Klinis dan Radiografis.....	8
2.1.5 Periodontitis Kronis.....	9
2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	13
2.5.1 Taksonomi	13
2.5.2 Karakteristik Bakteri.....	14
2.3 radikal bebas	14
2.3.1 Jenia Radikal bebas.....	16
2.2.2 MDA.....	16
2.4 Hubungan MDA dengan radikal Bebas	17
2.5 Antioksidan.....	18
2.6 Teh Hijau	20

2.7 Tikus Wistar Jantan (<i>Rattus novergicus</i>)	26
III KERANGKA KONSEP	28
3.1 Kerangka Konsep	29
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep	30
3.3 Hipotesis Penelitian	30
IV METODE PENELITIAN	31
4.1 Rancangan Penelitian.....	31
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	33
4.2.1 Populasi Penelitian	34
4.2.2 Sampel Penelitian	34
4.2.2.1 Kriteria Sampel Penelitian	34
4.2.2.2 Besar Sampel Penelitian	34
4.3 Variabel Penelitian	34
4.3.1 Variabel Bebas	34
4.3.2 Varibel Terikat	34
4.3.3 Varibel Terkendali	34
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	34
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	35
4.5.1 Bahan Penelitian	35
4.5.2 Alat Penelitian	35
4.6 Definisi Operasional	36
4.6.1 Induksi Periodontitis.....	36
4.6.2 Kadar MDA	37
4.6.3 Hewan Coba.....	37
4.6.4 Pemeriksaan Periodontitis	37
4.6.5 Total Katekin Teh Hijau	37
4.7 Prosedur Penelitian	37
4.7.1 Ethical Clearance.....	37
4.7.2 Persiapan Hewan Coba	38
4.7.3 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	39
4.7.4 Persiapan Hewan Perlakuan	40
4.7.5 Pembuatan Sediaan P.gingivalis	41
4.7.6 Pembuatan Total Katekin	42
4.7.7 Prosedur Perlakuan	42
4.7.7.1 Injeksi Bahan Perlakuan.....	44
4.7.7.2 Pengambilan Sampel Jaringan Hewan Coba	44
4.7.7.3 Pemeriksaan Kadar MDA	44

4.7.7.3.1 Bahan untuk Pengukuran	
Kadar MDA	44
4.7.7.3.2 Alat untuk Pengukuran	
Kadar MDA	44
4.7.7.3.3 Prosedur Pengukuran	
Kadar MDA	44
4.8 Alur Penelitian	51
4.9 Analisa Data.....	52
V HASIL DAN PEMBAHASAN	53
VI KESIMPULAN SARAN	77
DAFTAR PUSTAKA.....	78

DAFTAR GAMBAR

No.	Judul Teori	Hal.
Gambar 2.1	Gambaran gingiva normal dan Patologi.....	6
Gambar 2.2	Gambaran klinis Periodontitis Kronis.....	8
Gambar 2.3	Gambaran Radiografis Periodontitis.....	9
Gambar 2.4	Pewarnaan Bakteri P.g.....	9
Gambar 2.5	Teh hijau.....	15
Gambar 2.6	Tikus Wistar.....	18
Skema Kerangka konsep.....		19
Skema Alur penelitian.....		34

DAFTAR ISTILAH, SIMBOL DAN SINGKATAN

ROS	<i>Reaktive Oxidative Stress</i>
SOD	<i>Superoxide Dismutase</i>
MDA	<i>Malondialdehyde</i>
GSH	<i>Glutathione</i>
LPS	<i>Interleukin-1</i>
PMN	Polimorfonuklear
BoP	Bleeding on Probing
GST	<i>Glutathione S-transferases</i>
P.g	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
IL-1 α	<i>Interleukin-1α</i>
IL-8	<i>Interleukin-8</i>
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor-α</i>
MMP	<i>Matriks Metaloproteinase</i>

ABSTRAK

Maulina, Huwaida. 2018. Pengaruh Total Katekin Teh Hijau (*Camelia sinensis*) terhadap Kadar MDA (Malondialdehide) Gingiva Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.

Periodontitis kronis merupakan inflamasi kronis yang mengakibatkan peningkatan kadar PMN dan pengeluaran radikal bebas. Tingginya kadar pengeluaran radikal bebas mengakibatkan terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam jumlah yang besar. ROS yang berlebihan akan menyebabkan destruksi jaringan gingiva, ligamen periodontal dan tulang alveolar melalui berbagai cara termasuk merusak DNA dan merangsang pembentukan sitokin proinflamasi. Malondialdehida (MDA) merupakan produk hasil peroksidasi lipid dalam tubuh dan terdapat dalam bentuk bebas atau terkompleks dengan jaringan di dalam tubuh. Teh hijau merupakan tumbuhan dengan kandungan fluoride, catechin dan polyphenol. Total katekin memiliki kandungan antioksidan yang dapat menurunkan kadar radikal bebas di dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh total katekin terhadap kadar MDA (*malondialdehide*) pada model periodontitis tikus wistar jantan (*rattus norvegicus*) yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Penelitian ini menggunakan *True Experimental Single Blinded Design* yaitu *Posttest Only Control Group Design*. Kelompok kontrol terdiri dari dua kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif adalah hewan coba yang tidak diberi perlakuan apapun dan kelompok kontrol positif adalah hewan coba yang diberi perlakuan injeksi bakteri *Pg* ATCC 33277 selama 28 hari, kelompok perlakuan terdiri dari 3 kelompok yaitu hewan coba yang diinjeksi bakteri *Pg* selama 28 hari dan diberi penyondean total katekin dengan dosis yang berbeda yakni 100mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh total katekin yang signifikan pada kadar MDA. Kesimpulan dari penelitian ini adalah total katekin pada dosis 400 mg/kgBB berpengaruh signifikan terhadap kadar MDA model periodontitis.

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

ABSTRACT

Maulina, Huwaida. 2018. The Effect of Total Catechin to MDA Concentration in Gingival Tissue in Male Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) which Induced By *Porphyromonas gingivalis*.

Chronic periodontitis is a chronic inflammation which resulted in increased levels of spending and a free radical. The high levels of spending on free radicals resulting in the formation of Reactive Oxygen Species (ROS) in large numbers. ROS overload will cause the destruction of the tissue of the gingiva, periodontal ligament and alveolar bone through various means including damaging DNA and stimulates the formation of cytokines proinflammation. Malondialdehyde (MDA) is a product of lipid concentration results in the body and is found in free form or terkompleks with tissue in the body. Green tea is a plant with fluoride, catechins and polyphenols. Total catechins contain antioxidants that can lower levels of free radicals in the body. This research aims to know the influence of total catechin against MDA levels (malondialdehyde) on the model of the male wistar rat periodontitis (*rattus norvegicus*) that diindksi bacteria *Porphyromonas gingivalis*. This research uses True Single Blinded Experimental Design i.e. Posttest Only Control Group Design. The control group consisted of two groups, namely the negative control group are animals try was not given any treatment and a positive control group was fed a try animal treatment bacterial ATCC 33277 Pg injection for 28 days, group treatment It consists of 3 animal groups, try the injected bacteria ATCC 33277 Pg for 28 days and given a penyondean total catechins with different dose of 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB and 400 mg/kgBB. The results showed

Keywords: periodontitis, total catechin, *Porphyromonas gingivalis*, MDA

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) merupakan bakteri gram negatif. Bakteri ini banyak ditemukan pada plak subgingiva di dalam sulkus gingiva pada poket periodontal. Kolonisasi dari bakteri *P. Gingivalis* ini merupakan langkah pertama dalam perkembangan penyakit periodontal. Penyakit periodontal merupakan penyakit dalam rongga mulut yang sering ditemui dimasyarakat dan mencapai angka 50% dari jumlah populasi orang dewasa di dunia (Newman dkk.,2012). Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2007 Di Indonesia, penyakit periodontal menduduki urutan kedua setelah karies, yaitu mencapai 96,58%. Penyakit periodontal pada lansia mencapai angka 58,54% berdasarkan perhitungan Community index of periodontal treatment needs (CPITN) (Lumentut dkk., 2013).

Periodontitis adalah proses inflamasi pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh kelompok mikroorganisme spesifik dan menghasilkan kerusakan ligamen periodontal serta tulang alveolar yang ditandai dengan pembentukan poket, resesi gingiva maupun keduanya.

Periodontitis merupakan penyakit lanjutan dari gingivitis yang tidak dirawat yang berakibat pada rusaknya jaringan periodontal yang meliputi gingiva, tulang alveolar dan sementum (Carranza *et al.*, 2011).

Berdasarkan *American Academic of Periodontitics* (AAP) 1999 periodontitis dibagi menjadi 3 klasifikasi, yaitu periodontitis agresif, periodontitis kronis, dan periodontitis sebagai manifestasi sistemik

Periodontitis merupakan suatu infeksi campuran dari baeri yang ada di rongga mulut seperti *Pophyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomytemcomitans* (Aa) dan bakteri gram positif misalnya *Streptococcus intermedius* (Carranza *et al.*, 2015).

Periodontitis kronis merupakan infalamasi kronis yang mengakibatkan peningkatan kadar PMN dan pengeluaran radikal bebas. Tingginya kadar pengeluaran radikal bebas mengakibatkan terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam jumlah yang besar. ROS yang berlebihan akan menyebabkan destruksi jaringan gingiva, ligamen periodontal dan tulang alveolar melalui berbagai cara termasuk merusak DNA dan merangsang pembentukan sitokin proinflamasi (Trivendi 2016).

Radikal bebas adalah agen yang tidak diinginkan tubuh karena dapat merusak keseimbangan dalam tubuh terutama keseimbangan kadar kolesterol antara lain peroksida lipid, Malondialdehida (MDA) merupakan produk hasil peroksidasi lipid dalam tubuh dan terdapat dalam bentuk bebas atau terkompleks dengan jaringan di dalam tubuh (Singh et al, 2014).

Sedangkan antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Winarsi, 2007).

Teh hijau (*Camellia sinensis*) mengandung banyak komponen kimia berupa protein, asam amino, karbohidrat, lipid, sterol, vitamin, xanthin, mineral dan trace elemen. Polifenol yang terkandung dalam teh hijau bermacam terutama flavonoid. Flavonoid utama dalam teh hijau adalah *catechin*, *epigallocatechin-3-gallat (EGCG)*, *epigallocatechin (EGC)*, *epicatechin-3-gallat (ECG dan epicatechin (EC)*, *galocatechin (GC)*. Senyawa *EGCG* sebagai komponen utama polifenol dalam teh hijau berperan penting sebagai antioksidan, anti-tumor, antiinflamasi dan anti-bakteri (Saryono,2013).

Polyphenol berperan penting dalam pencegahan penyakit kronis. Hasil dari penelitian in vitro yang dilakukan oleh CHO et al tahun 2013 teh hijau menunjukkan hasil yang signifikan berpengaruh pada reduksi ekspresi sitokin TNF dan

IL-6 yang berperan dalam pengurangan destruksi kolagen dan aktivitas osteoklas. Namun pada penelitian yang dilakukan oleh Mitoshi Kushiyama *et al* tahun 2009 menunjukkan hasil dimana kehilangan perlekatan jaringan periodontal dan kedalaman poket tidak berkurang secara signifikan. Treatment yang selama ini sudah sering digunakan dalam mengatasi penyakit periodontal adalah *scalling* dan *root planing* (pembersihan karang gigi)

Berdasarkan penelitian yang masih kontroversial didapatkan masalah penelitian mengenai dosis teh hijau yang belum pasti terhadap periodontitis. MDA sebagai salah satu biomarker periodontitis dapat dijadikan indikator penyebab periodontitis, dengan menggunakan total katekin teh hijau menurunnya kadar MDA dapat dikatakan bahwa berhasilnya perawatan periodontitis.

1.2 Rumusan masalah

Apakah ada pengaruh total katekin terhadap kadar Malondialdehida (MDA) gingiva pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi bakteri *Phorpyromonas gingivalis*. ?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh total katekin terhadap kadar Malondialdehida (MDA) gingiva pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi bakteri *Phorpyromonas gingivalis*.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Menambah khasanah ilmu pengetahuan sebagai dasar teori pengaruh total katekin terhadap kadar MDA (*Malondialdehida*) pada tikus wistar jantan (*Rattus novergicus*) yang diinduksi bakteri *Phorpyromonas gingivalis*.

1.4.2 Manfaat Praktis

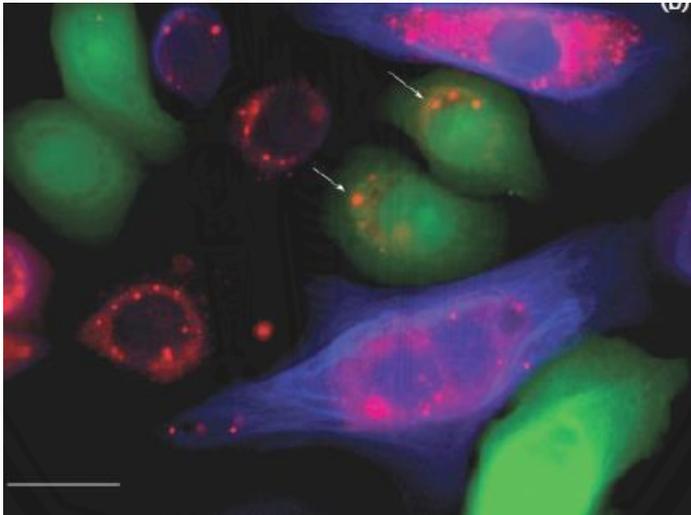
Menambah nilai guna total katekin teh hijau apabila sudah melalui proses uji praklinik (uji farmakodinamika, uji farmakokinetik, uji toksikologi, uji farmasetika) dan uji klinik maka diharapkan dapat menjadi suplemen yang memperkuat kekebalan (imunitas) tubuh dalam mencegah terjadinya keradangan diantaranya periodontitis

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Porphyromonas gingivalis*

Etiologi utama dari proses perkembangan penyakit periodontal adalah *dental plaque* atau *oral biofilm* yang berkaitan dengan bakteri anaerob. Pada penderita periodontitis, komposisi bakteri plak gigi akan semakin kompleks, dan didominasi oleh gram negatif anaerob mutlak. *P. gingivalis* muncul sebagai salah satu patogen utama dalam perkembangan penyakit periodontal (Mysak, 2013).



Gambar 2.4 Bakteri *P.gingivalis* pada imunofluorensi
miskroskopi (Yilmas, 2008)

2.1.1 Taksonomi *P. gingivalis*

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

Kingdom : *Bacteria*
Divisi : *Bacteroidetes*
Kelas : *Bacteroidia*
Ordo : *Bacteroidales*
Famili : *Porphyromonadaceae*
Genus : *Porphyromonas*
Spesies : *Porphyromonas gingivalis*

2.1.2 Morfologi *P. gingivalis*

P. gingivalis merupakan bakteri Gram negatif pada rongga mulut yang terlibat dalam patogenesis periodontitis. Termasuk dalam “*red complex*”, suatu kompleks bakteri dalam rongga mulut yang terdiri dari *P. gingivalis*, *Treponema denticola* dan *Tannerella forsythia* yang terlibat secara kuat dalam progresi suatu penyakit periodontal (Mysak, 2013).

P. gingivalis merupakan bakteri anaerob obligat yang tumbuh secara optimal pada temperature 37°C. Pada *blood agar plates*, bakteri ini dapat membentuk koloni dengan diameter 1-3 mm berbentuk kokobasil dengan karakteristik bakteri yang menggelembung dan mengkilap dengan permukaan yang tampak halus.

Bakteri *P. gingivalis* diidentifikasi dengan karakteristiknya yang tidak membentuk spora dan memproduksi melanin. Bakteri ini menghasilkan indol, tidak mampu mengubah nitrat menjadi nitrit dan tidak bisa berperan dalam hidrolisis *esculin* dan *starch* (Zhou, 2015).

2.1.3 Hubungan bakteri P. Gingivalis dengan Gingivitis

P. gingivalis memiliki beberapa faktor patogen yaitu fimbriae, hemagglutinin, kapsul dan LPS (lipopolisakarida) Pada awalnya bakteri berkolonisasi pada jaringan periodontal lalu menempel pada lapisan pelikel permukaan gigi. *P.gingivalis* kaya akan prolin protein yang ditemukan pada gigi. Melalui perlekatan fimbrianya, *P.gingivalis* mengikat sel-sel epitel dan fibroblas. Molekul-molekul hemagglutinin dan fimbrilin yang terdapat pada *P.gingivalis* akan menempel pada substrat. *P.gingivalis* mampu menghambat produksi IL-8 oleh sel epitel yang dapat memberikan keuntungan bagi mikroorganismes dalam menghindari daya bunuh PMN. Enzim proteolitik seperti tripsin mampu mendegradasi kolegen, fibronektin, dan immunoglobulin. Enzim bakteri dapat merusak jaringan dan menginfeksi jaringan tersebut sehingga dapat menyebabkan inflamasi, gingivitis bahkan periodontitis pada kondisi terparah. Bakteri ini memiliki hubungan dengan gingivitis, namun tidak terlalu dominan jika dibandingkan pada periodontitis (Rafiei, *et al* 2017)

2.2 Periodontitis

2.2.1 Pengertian Periodontitis

Periodontitis adalah penyakit *inflammatory* kronis pada jaringan periodontal yang menyebabkan kehilangan perlekatan gigi yang ditandai dengan adanya poket, resesi gingiva dan kerusakan ligamen periodontal (Chang dan Lim 2012) Periodontitis adalah kondisi peradangan kronis dari jaringan periodontium yang melibatkan interaksi antara bakteri dan jumlah sel mediator inflamasi,

yang secara umum terbentuk dari biofilm mikroba kompleks yang terbentuk pada gigi yang menjadi plak (Lindbreg dan Bage, 2013). Periodontitis disebabkan oleh mikroorganisme yang menyebabkan kerusakan progresif pada ligamen periodontal dan tulang alveolar dengan membentuk poket serta resesi gingiva (Carranza, 2012)

2.2.2. Etiologi Periodontitis

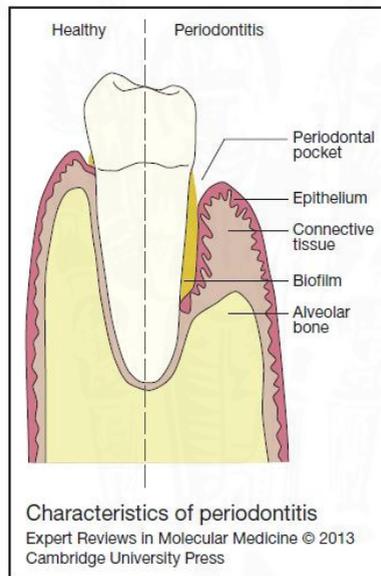
Etiologi utama penyakit periodontal ini adalah plak bakteri. Penyebab dari penyakit periodontitis ini berasal dari faktor lokal yang diperberat dengan faktor sistemik. Bakteri yang sering dijumpai dalam penyakit periodontitis ini meliputi *A. Actinomycetemcomitans* (Aa), *T. Forsyhia*, *Treponema denticola* dan *P. Gingivalis* dengan prevalensi mikroorganisme yang menyerang periodontitis kronis paling sering adalah *Phorpyromonas gingivalis* yaitu sebesar 53,8% (Caranza, 2015 page 161).

Faktor sistemik pada penyakit periodontal melalui 4 sistem yaitu sistem kardiovaskular yang meliputi atherosclerosis, angina, stroke, jantung koroner. Sistem endokrin yaitu diabetes melitus. Sistem reproduksi, serta sistem pernafasan yang meliputi pneumonia akut dan penyakit pulmonary kronis (Carranza, 2015 page 203).

2.2.3 Patogenesis

Perjalanan penyakit ini dapat dimulai dari gingivitis kemudian berkembang menjadi periodontitis yang merupakan peradangan kronis keadaan gingiva menyebabkan kerusakan jaringan ikat serta tulang alveolar sehingga mengurangi dukungan untuk gigi dan akhirnya terdapat kehilangan gigi (Lindbreg dan Bage, 2013).

Periodontitis bermula dengan adanya plak pada subgingiva yang berkembang menjadi respon gingiva. Respon gingiva menyebabkan perubahan gingiva yang semula normal menjadi gingiva patologi yang ditandai adanya poket. Bakteri dalam plak dalam plak dapat mengakibatkan kerusakan jaringan periodontal dengan mengeluarkan enzim yang toksik sehingga dapat mengganggu kekebalan tubuh (Caranza et al 2015).



Gambar 2.1 Gambaran gingiva normal dan patologis (Linberg dan Bage 2013)

2.1.4 Klasifikasi

Klasifikasi berdasarkan American Academy of Periodontology International Workshop for Classification of Periodontal Diseases 1999 (Carranza 2015 page 53)

1.Periodontitis kronis

2.Periodontitis agresif

3.Periodontitis sebagai manifestasi penyakit sistemik (*periodontitis as a manifestation of systemic diseases*)

2.2.5 Periodontitis Kronis

Periodontitis kronis merupakan salah satu klasifikasi dari periodontitis. *AAP International Workshop for Classification of Periodontal Diseases 1999* mengklasifikasikan periodontitis menjadi periodontitis kronis, periodontitis agresif dan periodontitis manifestasi penyakit sistemik (Carranza *et al.*, 2015). Periodontitis kronis berbeda dengan periodontitis agresif pada usia serangan, kecepatan progresi penyakit, sifat dan komposisi mikroflora subgingiva yang menyertai, perubahan dalam respon imun host serta agregasi familial penderita (Widyastuti, 2009). Periodontitis kronis termasuk *slowly progressing disease*. Kecepatan progresi penyakit ini dipengaruhi oleh faktor lokal, faktor sistemik ataupun lingkungan seperti diabetes, kebiasaan merokok dan stress yang dapat mempercepat progresi dari penyakit ini (Carranza, 2015).

Terdapat dua bentuk dari periodontitis kronis yaitu, periodontitis kronis lokalisata yang melibatkan kurang dari 30% jaringan periodontal dan periodontitis kronis generalisata

(menyeluruh) yang melibatkan lebih dari 30% jaringan periodontal di rongga mulut (Carranza *et al.*, 2015)

2.1.6 Gambaran Klinis

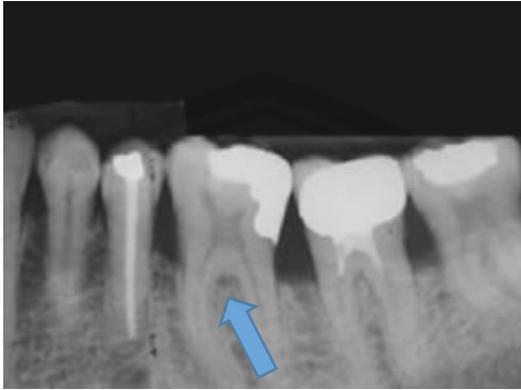
Cir-ciri yang ditemukan pada pasien dengan diagnosis periodontitis adalah ditemukannya plak pada supragingival dan subgingival yang diikuti dengan pembentukan kalkulus, inflamasi gingival, poket periodontal, *Bleeding On Probing*, hilangnya perlekatan, resorpsi tulang alveolar, fraktur akar serta kehilangan gigi (Carranza, 2015)



Gambar 2.2 Gambaran klinis periodontitis kronis (Carranza 2015)

2.1.7 Gambaran Radiografis

Gambaran klinis dari periodontitis adalah hilangnya gambaran lamina dura pada lateral akar, terdapat gambaran resesi gingiva di sepanjang gigi yang terkena dan biasanya terdapat penurunan alveolar crest (Carranza 2015).



Gambar 2.3 Gambaran radiografis periapikal periodontitis (Carranza 2015)

2.3 Radikal bebas

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif pada proses metabolisme kebocoran elektron mudah terjadi, yang mengakibatkan mudah terbentuknya radikal bebas seperti anion superoksida dan lain-lain. Radikal bebas dapat terbentuk dari senyawa yang bukan radikal bebas contohnya H_2O_2 (Winarsi, 2007).

Oksidan dan radikal bebas merupakan dua hal yang berbeda, kemiripan sifat antara keduanya terletak pada agresifitas untuk menarik elektron disekelilingnya. Tidak setiap oksidan itu adalah radikal bebas, karena radikal bebas dapat dikatakan lebih berbahaya dibanding senyawa oksidan non radikal (Winarsi, 2007).

Oksidan adalah zat kimia yang bisa mengeluarkan satu atau lebih elektron dari atom lain. Oksidan dapat dijumpai dalam bentuk molekul tunggal, senyawa. Oksidan dibagi menjadi 2 yaitu oksidan yang non radikal dan oksidan yang radikal dan dari keduanya terbagi lagi menjadi Reactive oxygen species dan Reactive nitrogen species (Vincent et al, 2017).

Jika dua senyawa radikal bebas bertemu, elektron yang tidak berpasangan dari kedua senyawa tersebut akan bergabung membentuk ikatan kovalen yang stabil (Vincent et al, 2017).

Kadar radikal bebas yang tinggi dapat ditunjukkan oleh rendahnya aktivitas enzim antioksidan dan tingginya kadar malondialdehyde (MDA). (Winarsi, 2007).

Berdasarkan aktifitas radikal bebas tersebut, maka sel sel karbohidrat, asam nukleat, lemak akan hancur yang menyebabkan timbulnya berbagai macam penyakit salah satunya periodontitis (Vincent, 2017).

2.3.1 Jenis radikal bebas

Radikal bebas terbagi menjadi 2 jenis berdasarkan cara pembentukannya yaitu secara eksogen (polusi udara, sinau uv, makanan) serta secara endogen sebagai respon normal proses biokimia intrasel maupun ekstrasel

2.3.2 Malondialdehyde (MDA)

MDA memiliki 3 rantai karbon dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$. MDA adalah senyawa yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah

senyawa aktif yang mengakibatkan kerusakan sel. MDA telah digunakan dalam studi in-vivo dan in-vitro sebagai biomarker utama untuk berbagai penyakit termasuk hipertensi, diabetes, atherosklerosis, gagal jantung dan kanker. Banyak penelitian yang menunjukkan validitas uji MDA sebagai alat yang efektif untuk mengetahui tegangan oksidatif dari suatu penyakit. Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel (Singh et al, 2014).

Malondialdehide merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid yang mutagenik. Peningkatan kadar MDA merupakan pertanda terjadinya oksidasi lipid akibat degradasi radikal bebas hidroksil terhadap asam lemak tak jenuh yang kemudian mentransformasi menjadi radikal yang reaktif (Zaki, et al 2015).

2.3.3 Hubungan Periodontitis dengan Radikal Bebas

Radikal bebas tidak mempunyai pasangan elektron, maka radikal bebas tersebut akan bebas di dalam tubuh dan berusaha untuk mencapai kestabilan dengan menyerang molekul yang terdekat untuk mencari pasangan elektron sehingga akan merusak bentuk molekul tersebut. Akibat dari aktivitas radikal bebas ini maka sel-sel makromolekul seperti protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleiat akan hancur. Hal ini menyebabkan rentannya seseorang terkena berbagai penyakit salah satunya adalah penyakit di dalam bagian mulut

khususnya yang paling sering terjadi adalah penyakit periodontal.

Kebanyakan kerusakan jaringan pada periodontitis dianggap sebagai respon inflamasi yang melibatkan pelepasan neutrofil dan ROS. Sebagian besar hasil penelitian berfokus pada ROS dengan lipid yaitu MDA. Hingga saat ini MDA terbukti memiliki tingkat peroksidasi lipid yang tinggi pada periodontitis kronis (Dahiya et, al 2013)

2.4 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang memberi elektron, yang memiliki berat molekul kecil tetapi dapat menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal (winarsi, 2007).

Antioksidan juga dapat menghambat reaksi oksidasi yang mengikat radikal bebas, sehingga tidak terdapat kerusakan sel. Antioksidan bekerja dengan cara memberikan elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktifitas oksidan tersebut dapat dihambat (Winarsi ,2007)

Mengonsumsi antioksidan dalam jumlah yang cukup dapat menurunkan kejadian penyakit degeneratif, seperti kardiovaskular, atherosklerosis, kanker, osteoporosis dan lain sebagainya (Winarsi 2007).

2.4.1 Klasifikasi

Klasifikasi antioksidan menurut Winarsi 2007

Antioksidan dibagi menjadi 3 berdasarkan mekanisme kerjanya yaitu:

1. Antioksidan primer

Antioksidan primer merupakan nama lain dari antioksidan enzimatis yang meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, glutathion peroksidase (GSH). Enzim-enzim tersebut menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai kemudian mengubah menjadi produk yang lebih stabil.

2. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder merupakan nama lain dari antioksidan eksogenous atau antioksidan sekunder. Antioksidan non enzimatis dapat dijumpai pada buah dan sayur. antioksidan ini bekerja dengan cara memotong atau menangkap reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Antioksidan sekunder merupakan sistem pertahanan preventif.

3. Antioksidan tersier

Kelompok antioksidan tersier meliputi enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini memiliki fungsi memperbaiki biomolekul yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas.

2.5 Teh hijau

Teh merupakan suatu minuman yang berasal dari daun *Camellia sinensis* yang dikenal luas oleh masyarakat dan banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Masyarakat mengonsumsi teh dikarenakan memiliki aroma yang khas dan tentunya memiliki khasiat yang cukup banyak, diantaranya mencegah kegemukan, kanker, kolesterol dan sebagainya (Kurnia et al, 2015)

Teh Hijau merupakan suatu minuman yang berasal dari PT. Kina & Teh Gambung, Jawa Barat. Selain memiliki efek antioksidan, turunan dari total katekin teh hijau memiliki efek antiinflamasi. Beberapa senyawa lain yang terkandung dalam teh hijau juga dapat bermanfaat bagi proses penyembuhan luka. (Kurnia et, al 2015)

2.5.1 Klasifikasi Teh Hijau

Menurut Kartika, (2008). Secara umum berdasarkan tingkat oksidasinya teh dibagi menjadi 3 yaitu,

1. Teh hijau

Teh hijau mengandung polifenol yang tinggi dari kedua jenis teh yang lainnya, karena pada teh hijau mengalami proses oksidasi yang minimal. Pengolahan teh hijau dengan cara penguapan dan pengeringan

sehingga oksidasi enzimatik dalam katekin dapat dicegah.

2. Teh oolong

Teh oolong merupakan teh semi-fermentasi karena dihasilkan melalui proses penggulungan daun yang kemudian segera dilakukan pemanasan, agar menghentikan proses fermentasi

3. Teh hitam

Teh hitam dibuat dengan memanfaatkan terjadinya oksidasi enzimatik terhadap kandungan katekin teh.

2.5.2 Taksonomi Teh Hijau

Taksonomi teh hijau (Kusuma, 2008)

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyte</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Claas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Guttiferales</i>
Famili	: <i>Tehaceae</i>
Genus	: <i>Camelia</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Camellia sinensis</i>



**Gambar 2.5 Teh Hijau (*Camellia sinensis*)
(Diambil dari Pengolahan Teh hijau dan
khasiatnya sebagai kesehatan.2003)**

2.5.3 Kandungan teh

Teh hijau mengandung 6 *catechin* primer yang meliputi yaitu *catechin*, *gallaocatechin*, *epicatechin*, *epigallocatechin epicatechin gallate* (Ecg) dan *epigallocatechin gallate* (EGCg). EGCg merupakan yang terbanyak yaitu 50 – 80% dari jumlah total catechin. Selain itu teh hijau juga mengandung *caffeine*, *theobromine*, *theophylline*, *carotenoids*, *tocopherols*, *vitamin C*, dan mineral (Nugala et al, 2010).

2.5.4 Manfaat teh hijau

Manfaat teh hijau menurut Hidayati *et al* (2012) dan Sharangi (2009)

1. Antioksidan

Teh hijau dikenal sebagai sumber antioksidan. Senyawa polifenol pada teh hijau memiliki jumlah yang cukup besar dan didalam kandungannya terdapat senyawa katekin yang memiliki kemampuan untuk menangkal radikal bebas.

2. Mencegah kanker

Senyawa EGCG yang terdapat dalam polifenol dapat menghambat pertumbuhan sel kanker.

3. Meningkatkan kesehatan mulut

Tanaman teh hijau menyerap fluor yang terkandung dalam tanah yang kemudian berkumpul pada daun. Sehingga teh hijau memiliki kandungan fluor yang cukup tinggi. Fluor yang terkandung dalam daun teh hijau memiliki kemampuan untuk berikatan dengan enamel gigi sehingga dapat mencegah terjadinya karies dalam mulut. Senyawa polifenol menghambat pertumbuhan bakteri dalam rongga mulut sehingga meminimalisir bau tidak sedap dalam rongga mulut

4. Penyakit kardiovaskuler

Atherosklerosis merupakan penyakit yang paling sering terjadi dalam sistem kardiovaskuler. Senyawa yang terkandung dalam teh hijau dapat menurunkan kolesterol dan mencegah penggumpalan platelet sehingga menurunkan resiko terjadinya penyakit atherosklerosis

5. Meningkatkan katabolisme lemak

Penelitian yang dilakukan Tokimitsu 2006 mengenai efek mengkonsumsi teh hijau yang mengandung katekin serta dikombinasikan dengan olahraga teratur dapat menurunkan resiko obesitas

2.5.5 Pengolahan Teh Hijau

Proses pengolahan teh hijau terdiri dari pemanasan/pelayuan, penggulungan, pengeringan, sortasi. Tahap-tahap pengolahan sebagai berikut:

1. Pemanasan / Pelayuan

Daun segar dimasukkan dalam rotary panner dengan suhu 90°C- 100°C dengan waktu 5 menit.

Kadar air yang digunakan 65%-75%

2. Penggulungan

Menggunakan orthodox roller kecil selama 10-20 menit

3. Pengeringan

Dikeringkan bertahap, tahap 2 dengan pengering sinambung, suhu 100 Cseama 20-11 menit sampai kadar aie 30%-35%. Tahap 2 dengan pengering berputar rotary drier dan atau boll tea pada suhu 80°C selma 60-80 menit sampai kadar air 3%-4%.

4. Sortasi

Memisahkan partikel bukan teh (tangkai, serat, pasir dan benda asing) dengan cara mengayak, menghembus, menghilangkan serat dan tangkai serta memotong jika perlu (Hartoyo,2003)

2.6 Tikus Wistar

Tikus wistar adalah salah satu jenis tikus yang paling sering digunakan untuk penelitian, tikus ini memiliki kepala yang lebar, telinga yang panjang dan memiliki panjang ekor panjangnya tidak melebihi panjang tubuhnya.

Tikus wistar adalah strain tikus albino yang berasal dari spesies *Rattus norvegicus* yang sering digunakan karena mudah dewasa dan mudah dilakukan pengamatan (Alexandru 2011)

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

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

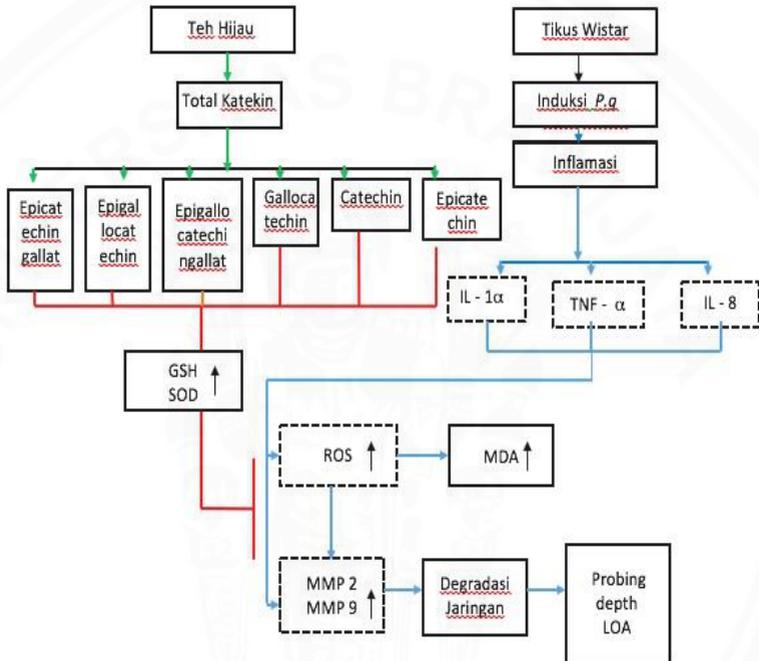


Gambar 2.7 Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) (Diambil dari Balneo-Research Journal Vol.2, Nr.1, 2011)

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Tabel 3.1 Kerangka Konsep

Keterangan :

→ : Mengandung

↑ : Meningkat

Diteliti

→ : Menyebabkan

↓ : Menurun

— : Menghambat

--- : Tidak diteliti

3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Bakteri *P. gingivalis* merupakan bakteri penyebab periodontitis. Dimana bakteri ini menghasilkan produk bakteri yang berupa antigen *Lipoolisakarida* (LPS). LPS adalah molekul besar yang terdiri dari molekul lipid (lipid A) dan komponen polisakarida. LPS ditemukan di *outer membran* dari bakteri gram negatif, mereka berperan sebagai endotoksin dan menerima respon inflamasi. LPS menginisiasi terjadinya respon inflamasi yang menyebabkan peningkatan produksi mediator inflamasi dan enzim yang destruktif. Contohnya pelepasan mediator proinflamasi seperti seperti IL - 1 α , TNF - α dan IL - 8 yang akan mengaktifkan MMP dan meningkatkan infiltrasi neutrofil ke tempat jejas yang menyebabkan peningkatan radikal bebas salah satunya MDA.

Peningkatan radikal bebas mengakibatkan MMP meningkat, yang akan merusak komponen dari jaringan ikat dan menyebabkan degradasi jaringan. Kerusakan jaringan pada periodonsium merupakan gambaran klinis dari penyakit periodontitis

Camelia sinensis mengandung berbagai macam komponen, 6 komponen utama yang terdapat di teh hijau antara lain yaitu epicatekin

(EC), epicatekin galat (ECG), catekin (C), epigallocatekin (EGC), epigallocatekingalat (EGCG) dan galocatekin (GC). Total catekin terbukti dapat meningkatkan antioksidan yang ada di dalam tubuh antara lain GSH (*Glutathion*) dan SOD (*Superoxide Dismutase*). Total catekin juga dapat menghambat pembentukan radikal bebas serta menurunkan aktivitas MMP yang akan menyebabkan degradasi jaringan sehingga dapat mengobati dan mencegah terjadinya penyakit periodontitis.

3.3 Hipotesis Penelitian

Total catekin dapat menurunkan kadar MDA pada tikus wistar (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi *P.Gingivalis*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan 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 dilberi perlakuan (Budiharto, 2008).

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Penelitian

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

Pemilihan ini didasarkan pada alasan bahwa:

1. *Rattus norvegicus strain wistar* ini secara anatomis struktur gigi dan metabolismenya 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. Usia 7 Minggu
3. Berat badan 250 – 300 gram.
4. Sehat, ditandai dengan gerakannya yang aktif, mata jernih, dan bulu tebal dan bewarna putih mengkilap.
5. Jaringan periodontal sehat.

Kriteria Eksklusi :

1. Tikus yang berat badanya turun secara drastis selama penelitian

2. Tikus yang kondisinya sakit atau mati selama penelitian berlangsung.
3. Tikus yang tidak mau 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 ekstrak *Camellia sinensis* sebanyak 100mg/ grBB, 200 mg/grBB dan 400mg/ grBB (Cho, *et al* 2013)

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah perubahan kadar MDA 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 ekstrak 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 Fisiologi dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Institut Biosains Universitas Brawijaya, Malang dan Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Institut Teknologi Bandung, Indonesia 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 1ml
- c. Probe periodontal
- d. Alat bedah minor
- e. Mikro pipet
- f. Tabung reaksi
- g. Rak tabung reaksi
- h. Alat Sentrifuge
- i. Tabung endrof
- 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 periodontitis dengan meletakkan bakteri *P. Gingivalis* pada sulkus bagian labial gingiva gigi insisivus rahang bawah mesial dan distal mengenai attached gingiva dengan merusak perlekatannya melalui injeksi dengan menggunakan jarum insulin 16 G.

4.6.2 Kadar MDA

MDA adalah salah satu radikal bebas yang dihasilkan oleh Reactive Oxygen Species (ROS) yang menyebabkan berbagai macam penyakit. MDA dapat diukur dengan menggunakan 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 *probing depth* atau kedalaman poket menggunakan *gutta percha*.

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 diperoleh dari Badan Usaha Pusat Penelitian Teh 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 selama satu minggu (Juanda, 2007). Tikus dirawat dalam wadah berukuran 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 pellet (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 per tikus dengan konsentrasi 2×10^6 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 per tikus dengan konsentrasi 2×10^6 CFU/ml setiap 3 hari selama 4 minggu dan diberi perlakuan larutan total katekin *Camelia sinensis* sebanyak 100mg/grBB selama 28 hari

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

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

Dosis didapatkan oleh Cho et al (2013) yaitu sebanyak 200mg EGCG /kgBB. Dikarenakan rerata berat badan tikus wistar yang digunakan adalah 200mg, maka di

dapatkan dosis 100mg / mgBB, 200mg / mgBB, 400mg / mgBB

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 bakteri *P.gingivalis* ATCC 33 277 dari pabrik
2. Membuat stock bakteri *P.gingivalis* ATCC 33 277 dengan ditumbuhkan pada medium yang mengandung *tryptic soy broth* (TSB)
3. Bakteri *P.gingivalis* ATCC 33 277 diinkubasi pada keadaan anaerob selama 24 jam
4. Menumbuhkan bakteri *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% N₂, 10% H₂ dan 10% CO₂ 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 1×10^6 CFU/ml (Krismariono, 2015).
7. Uji Morfologi untuk memastikan kurtur bakteri tidak terkontaminasi

4.7.6 Pembuatan Total Katekin Teh Hijau

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

4.7.6 Prosedur Perlakuan

4.7.6.1 Injeksi Bahan Perlakuan

Infeksi 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 2×10^6 CFU/ml ke dalam sulkus bagian labial di dasar sisi mesial dan distal dengan merusak attached gingiva dari gigi incisive rahang bawah setiap 3 hari selama 4 minggu.

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 menggunakan obat anestesi ketamin.
2. Potong kedua sisi dari rongga mulut meliputi pipi dan ramus mandibula menggunakan alat yang tajam atau gunting yang lurus
3. Menurunkan mandibula
4. Memotong palatum lunak dan palatum keras dengan batas 2 mm dibelakang gigi incisive
5. Menurunkan bagian anterior dari mulut hingga terlihat *nasal cavity*.
6. Lakukan eksisi gingiva sebanyak 150 mg
7. Letakkan gingiva yang telah dieksisi dalam wadah dengan PBS + 2% FCS (Mizraji et.al, 2013)
8. 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 MDA

9. Setelah dilakukan pengambilan jaringan gingiva, jasad tikus dimasukkan kedalam plastik berwarna kuning lalu dikirim ke pembuangan RSUD.

4.7.6.3 Pemeriksaan Kadar MDA

4.7.6.3.1 Bahan untuk Pengukuran Kadar MDA

- a. Akuades
- b. 100 % Trichoroacetic acid (TCA)
- c. Na Thio 1%
- d. HCL 1 N

4.7.6.3.2 Alat untuk Pengukuran Kadar MDA

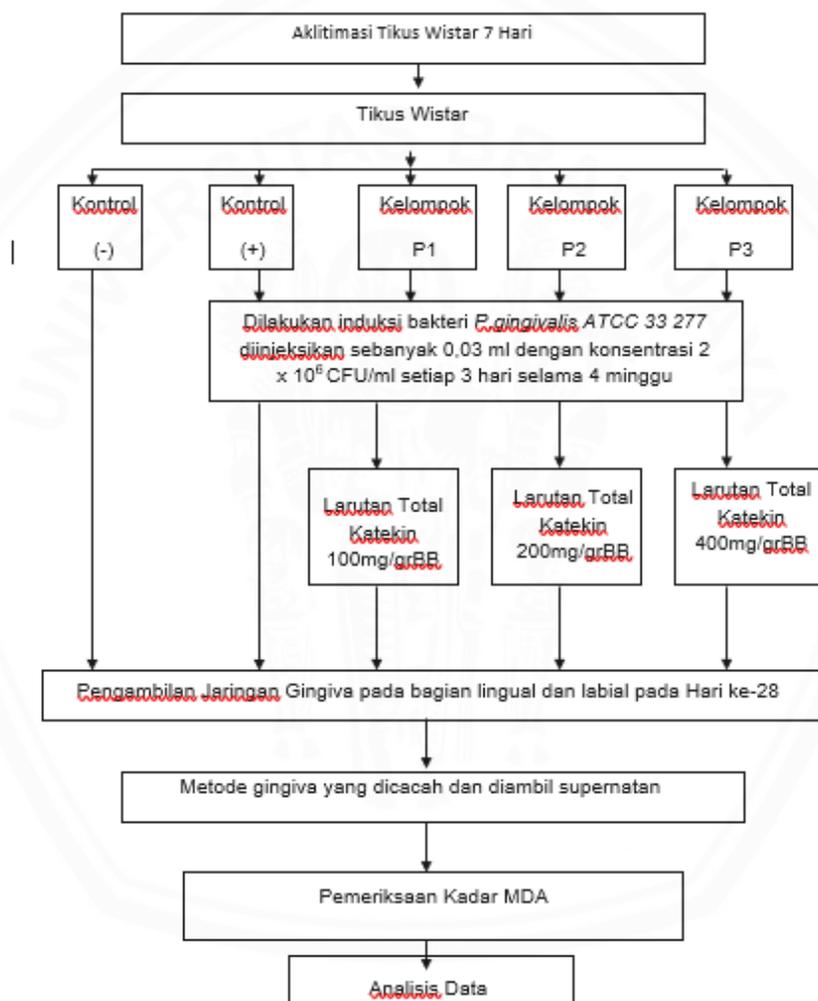
- a. Sarung tangan
- b. Tube 2ml
- c. Vorteks
- d. Blue tip, Yellow tip, white tip
- e. Inkubator
- f. Sentrivuge
- g. Spektrofotometer

h. Kuvet

4.7.6.3.3 Prosedur Pengukuran Kadar MDA

1. Siapkan 100 mg organ yang sudah dihomogenasi
2. Tambahkan 1 ml akuades
3. Ditampung pada ependof dengan konsentrasi TCA 100% pada 100 μ L, Na Thio 1% pada 100 μ L, HCL 1N pada 250 MI
4. Panaskan pada suhu 100°C selama 20 menit
5. Sentifuse 3500 rpm selama 10 menit
6. Ambil supernatan
7. Tambahkan akuades s.d 3500 MI
8. melakukan spektro dengan panjang gelombang maksimal 500-600nm.

4.8 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 MDA 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 MDA

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Penelitian

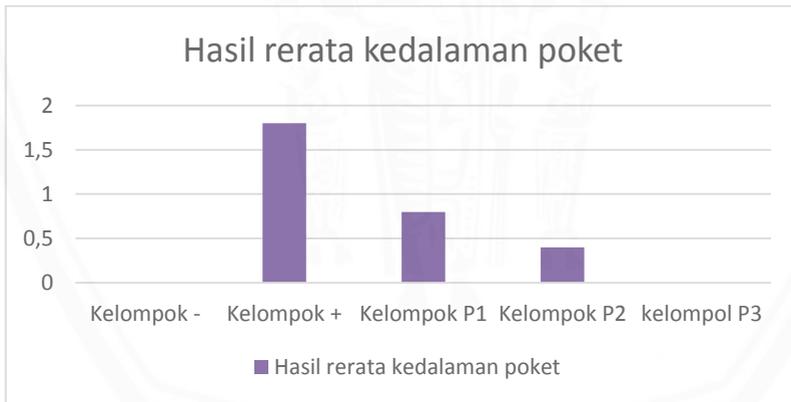
5.1.1 Pengukuran Poket Periodontal

Pengukuran kedalaman poket periodontal dilakukan untuk mengetahui paparan bakteri *P.Gingivalis* berpengaruh untuk menyebabkan periodontitis serta untuk mengetahui perkembangan periodontitis yang terjadi antara kelompok kontrol positif, negatif, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3. Poket yang terbentuk pada tikus merupakan salah satu indikator untuk mengamati periodontitis. Tikus yang mengalami periodontitis, akan mengalami perubahan poket periodontalnya yang semakin dalam, sehingga dapat menyebabkan gigi goyang.

Pengukuran poket periodontal dilakukan dengan mengukur kedalaman celah antara gingiva dan gigi yang dimulai dari tepi gingiva(margin gingiva) sampai dasar perlekatan antara gigi dan gingiva. Pengukuran poket dilakukan dengan menggunakan periodontal probe who. Kedalaman poket pada pengukuran mengandakan semakin parahnya periodontitis. Berikut adalah data poket kelompok kontrol negatif, kelompok positif, perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3

	1	2	3	4	5	Rata rata	Str deviasi
Positif	1mm	2mm	1mm	3mm	2mm	1,8	0,83
Negatif	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0	0
P1	1mm	1mm	1mm	1mm	0mm	0,8	0,44
P2	1mm	0mm	1mm	0mm	0mm	0,4	0,54
P3	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0	0

tabel 5.1 hasil pengukuran kedalaman poket periodontal



5.1.2 Pengukuran Kegoyangan Gigi

Pengukuran kegoyangan gigi dilakukan agar mengetahui kegoyangan gigi akibat loss of attachment (kehilangan perlekatan). Pengukuran ini dilakukan dengan menggunakan pinset dental dengan cara menjepit salah satu gigi pada bagian proksimal gigi dan menggoyangkannya ke kanan dan kiri. Berikut adalah hasil data kegoyangan gigi kelompok kontrol negatif, kelompok positif, perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3

Kelompok	1	2	3	4	5
Positif	-	+	+	+	+
Negatif	-	-	-	-	-
Perlakuan 1	+	+	+	+	-
Perlakuan 2	+	-	-	-	-
Perlakuan 3	-	-	-	-	-

tabel 5.2 hasil pengukuran kegoyangan gigi

Berdasarkan data diatas, terlihat bahwa tikus yang tidak di injeksi P. Gingivalis tidak terlihat adanya poket yang terbentuk, sedangkan tikus yang diberi perlakuan injeksi P. Gingivalis terlihat adanya kedalaman poket yang dapat diukur dengan periodontal probe WHO.

5.1.3 Pengukuran Bleeding on Probing

Kelompok	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

Keterangan bleeding index (*asian jurnal of animal and veterinary advances, 2013*)

0 = keadaan jaringan gingiva sehat

1= terdapat inflamasi namun tidak terdapat BOP

2=terdapat inflamasi dan terdapat BOP

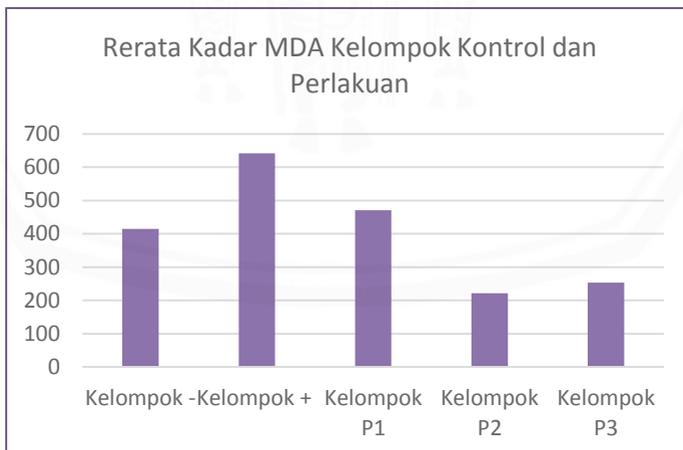
3=terdapat inflamasi, BOP, ulser dan pembesaran gingiva

5.1.4 Pengukuran kadar MDA

Kelompok	1	2	3	4	5	Rata rata
Negatif	402,5	522,5	313,5	357,5	475,833	414,366
Positif	769,167	434,167	594,167	952,5	455,833	641,166
P1	469,167	497,5	372,5	622,5	390,833	470,5
P2	155,833	202,5	214,267	299,167	235,833	221,5
P3	219,167	219,167	242,5	225,833	357,5	252,840

Pengukuran kadar MDA ini dilakukan dengan mensentirfuse hasil cacahan jaringan gingiva tikus pada semua sampel tikus wistar jantan. Berikut merupakan hasil kadar MDA dari masing masing sampel

tabel 5.3 hasil pengukuran kadar MDA



5.2 Hasil Analisis Data

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

5.2.1 Uji Normalitas Data

Pengujian normalitas data dilakukan untuk mengetahui data tersebut berdistribusi normal atau tidak agar bisa dikelompokkan menjadi parametrik dan non parametrik. Uji yang dilakuan adalah uji *shapiro-wilk* karena data yang tersedia kurang dari 50. Uji normalitas terpenuhi jika nilai signifikansi hasil perhitungan adalah $p > 0,05$. Berdasarkan hasil dari uji *shapiro-wilk* didapat nilai signifikansi sebesar 0,21 sehingga dapat disimpulkan data berdistribusi normal.

5.2.3 Uji Homogenitas Data

Pengujian homogenitas data dilakukan dengan menggunakan uji *levene*, uji homogenitas dilakukan untuk mengelompokkan menjadi data parametrik dan non parametrik. Uji homogenitas terpenuhi jika nilai signifikansi hasil pengutungan adalah $p > 0,05$.

Didapatkan hasil nilai signifikansi pengujian homogenitas data sebesar 0,517. Nilai signifikansi yang didapat lebih besar dari 0,05 maka dapat disimpulkan uji homogenitas terpenuhi. Selanjutnya dilakukan uji *one way Anova* karena syarat uji *one way Anova* terpenuhi yaitu data yang ada merupakan data parametrik. Syarat dari data parametrik adalah data berdistribusi normal dan homogenitas data homogen.

5.3.3 Uji One Way Anova

Pengujian normalitas dan pengujian homogenitas yang melandasi uji *one way Anova* telah terpenuhi, selanjutnya dilakukan pengujian untuk mengetahui perbedaan kadar MDA antar kelompok. Uji *One Way Anova* terpenuhi jika nilai signifikansi hasil penghitungan adalah $p < 0,005$ atau H_0 ditolak. Nilai signifikansi yang didapat yaitu 0.000 angka tersebut menunjukkan nilai signifikansi lebih kecil dari 0,05.

Maka dari uji oneway Anova yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa H_0 yang diajukan yaitu “tidak dapat perbedaan kadar MDA pada model periodontitis tikus wistar jantan antar kelompok” ditolak. Penelitian ini memiliki kesimpulan bahwa “terdapat perbedaan kadar MDA pada model periodontitis tikus wistar jantan antar kelompok”

5.2.4 Uji Kolerasi dan Regresi

Uji ini dilakukan untuk mengetahui besarnya hubungan dari pemberian total katekin terhadap kadar MDA . pada penelitian ini menggunakan uji kolerasi person didapatkan nilai $R = 0.701$ dan nilai signifikansi $0,000$ (lebih kecil dari $0,05$). Hal ini menunjukkan hubungan kolerasi yang signifikan dengan arah korelasi positif (dilihat dari nilai R) atau berbanding lurus, artinya semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin menurun kadar MDA pada jaringan gingiva hewan coba.

Pengaruh pemberian total katekin terhadap kadar MDA pada jaringan gingiva hewan coba diketahui dengan menggunakan analisa bentuk hubungan (regresi). Uji ini dapat meramalkan nilai y yaitu kadar MDA pada jaringan gingiva berdasarkan nilai x yaitu dosis yang diberikan. Hasil pengujian dengan analisis regresi linear (lampiran...) menghasilkan persamaan regresi pada dosis total katekin pada dosis total katekin yang diberikan pada hewan coba adalah sebagai berikut

$$Y = 566.640 + (-0.972)x$$

Dari persamaan tersebut dapat disimpulkan bahwa:

$$Y = a + bx$$

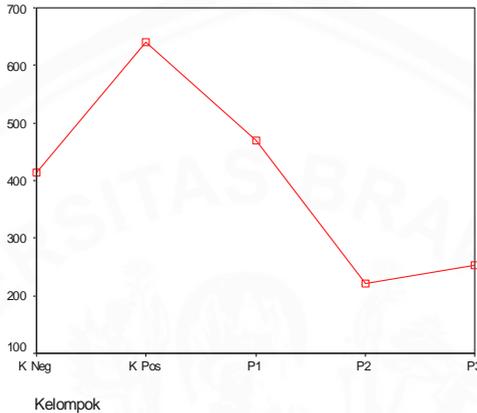
1. $a = 566.640$ artinya rata rata kadar MDA adalah 566,640 umol/mg protein jika tidak ada variabel x yaitu dosis total katekin yang diberikan
2. $b = (-0,972)$ artinya kadar MDA akan meningkat sebesar $(-0,972)$ umol/mg protein pada setiap penambahan dosis 1 mg/kgBB(x) akan mengalami peningkatan. Persamaan garis dari rumus ini dapat dilihat pada gambar 5.4

koefisien determinasi (R^2) digunakan untuk menghitung besar pengaruh variable bebas yaitu dosis total katekin terhadap variable terikat yaitu kadar MDA pada jaringan gingiva. Pada penelitian ini diperoleh $R^2 = 0,492$ artinya 49,2% kadar MDA dipengaruhi oleh variable lain yang tidak dihitung dalam penelitian ini

5.2.4 Uji Post Hoc

Analisis lanjutan mengenai pasangan kelompok mana yang dapat menurunkan kadar MDA tikus wistar jantan secara signifikan adalah dengan menggunakan metode Turkey HSD. Pada Uji Post Hoc akan dibandingkan antara kelompok negatif dengan kelompok perlakuan positif, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3. Berdasarkan uji tersebut, terlihat bahwa terdapat perbandingan bermakna antara kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan 2. Kelompok perlakuan 2 dan perlakuan 3 tidak terdapat perbandingan yang signifikan. Sehingga kelompok kontrol positif terdapat pada tabel

homogeneous subsets yang berbeda dengan kelompok perlakuan 2.



Gambar 5.1 grafik kadar MDA per kelompok kontrol dan perlakuan

5.3 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengamati pengaruh pemberian total katekin terhadap penurunan kadar MDA tikus wistar jantan yang di Induksi *Porphyromonas gingivalis*. Pada penelitian ini akan membuktikan bahwa total katekin dapat mengurangi radikal bebas sehingga penyakit periodontitis tidak terjadi. Injeksi bakteri penyebab periodontitis kronis ini dilakukan untuk menyebabkan tikus mendapat paparan bakteri yang mengakibatkan penyakit periodontitis kronis. Injeksi bakteri pada penelitian ini menggunakan bakteri *P.Gingivalis* ATCC 33277 yang diinjeksikan pada 24 tikus yang terbagi

menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3. Induksi dari LPS ini dilakukan 3 hari sekali selama 28 hari secara intra sulkus pada bagian labial gigi insisivus rahang bawah tikus. Pemeriksaan kadar MDA dilakukan dengan menggunakan thiobarbituric acid (TBARS) yang direaksikan dengan sampel uji kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer.

Pada hasil pengukuran kegoyangan gigi, sesuai dengan klasifikasi miller 2006 mengatakan bahwa apabila memiliki kegoyangan derajat 1 yaitu suatu kegoyangan fisiologis. Kegoyangan derajat 2 yaitu adanya kegoyangan kearah transfersal sebesar 1 mm. Kegoyangan gigi derajat 3 yaitu adanya kegoyangan kearah transfersal sebesar lebih dari 1 mm

Sedangkan berdasarkan keparahan periodontitis terbagi menjadi 3 yaitu, *mild periodontitis*, *moderate periodontitis* dan *severe periodontitis*. *Mild periodontitis* merupakan suatu keadaan jaringan periodontium resesi tidak lebih dari 1 mm dan terdapat loss of attachment. *Moderate periodontitis* meruoakan suatu keadaan jaringan periodontium resesi lebih dari 2 mm dan kurang dari 4 mm serta terdapat loss off attachment. *Severe periodontitis* merupakan suatu keadaan jaringan periodontium resesi lebih dari 4 mm serta terdapat loss off attachment.

Pada kelompok kontrol (-) yaitu tikus wistar jantan yang tidak diberi perlakuan, hanya diberi minum dan makan setiap harinya selama 28 hari, didapatkan hasil kadar MDA rata rata 415,26 ng/ml, tidak didapatkan adanya kegoyangan, rerata kedalaman poket sebesar 0 mm dan tidak terdapat BOP

Pada kelompok kontrol (+) yaitu tikus wistar jantan yang hanya diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* selama 28 hari setiap 3 hari sekali, didapatkan rata rata kadar MDA 641,166ng/ml, terdapat kegoyangan pada ke4 tikus, kedalaman poket sebesar 1,8mm dan didapatkan BOP. Hal ini terjadi peningkatan yang berarti antara kadar normal MDA dengan kelompok kontrol (+) yang diinduksi bakteri *P. Gingivalis*. Peningkatan radikal bebas dipicu oleh adanya paparan bakteri yang menyebabkan inflamasi pada jaringan gingiva.

Pada pengamatan kelompok kontrol (+) dan (-) melalui uji statistik menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,050 yang berarti pada kedua kelompok kontrol ini signifikan. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Tsai et al pada tahun 2005, pada penelitian tersebut mengatakan bahwa tingkat MDA yang signifikan lebih tinggi ditemukan pada GCF dan jaringan gingiva kelompok kontrol periodontitis dan kelompok sehat periodontal.

Pada keadaan periodontitis kronis ini, radikal bebas meningkat, karena sebagai respon inflamasi yang melibatkan

pele pasan neutrofil dan ROS. Pada penelitian yang dilakukan oleh Wang at all, 2017 menunjukkan bahwa periodontitis dapat dikaitkan dengan tingkat TBARS yang lebih tinggi dalam plasma darah dan eritrosit secara sistemik, serta cairan sulkus gingiva (GCF) dan jaringan gingiva secara lokal.

Pada kelompok perlakuan 1 (P1) yaitu tikus wistar jantan diinduksi bakteri *P. Gingivalis* sekaligus diberi terapi pencegahan yaitu total katekin sebesar 100mg/250g didapat rata rata kadar MDA sebesar 470,50ng/ml Terdapat kegoyangan pada ke4 hewan coba, rerata kedalaman poket sebesar 0,8mm dan terdapat BOP. Hasil tersebut menunjukkan adanya penurunan dari kelompok kontrol positif.

Pada kelompok perlakuan 2 (P2) yaitu tikus wistar jantan diinduksi bakteri *P. Gingivalis* sekaligus diberi terapi pencegahan yaitu total katekin sebesar 200mg/250g didapat rata rata kadar MDA sebesar 221,50ng/ml, kegoyangan gigi pada 1 hewan coba, rerata kedalaman poket sebesar 0,4mm, serta terdapat BOP pada 2 hewan coba. Hasil tersebut menunjukkan penurunan yang signifikan dari kelompok kontrol positif dan perlakuan 1 maupun perlakuan 3.

Pada kelompok perlakuan 3 (P3) yaitu tikus wistar jantan diinduksi bakteri *P. Gingivalis* sekaligus diberi terapi pencegahan yaitu total katekin sebesar 400mg/kgBB didapat rata rata kadar MDA sebesar 252,611ng/ml, tidak terdapat

kegoyangan gigi, rerata kedalaman poket seberar 0 mm serta tidak terdapat BOP. Hasil tersebut menunjukkan penurunan yang berarti dibanding kelompok perlakuan 1 namun terdapat peningkatan kadar MDA yang tidak signifikan jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2. Namun pada tikus kelompok perlakuan 3 tidak didapatkan kegoyangan gigi setra tidak terjadi *Loss Of Attachment*. Kelompok perlakuan 2 (P2) dan kelompok perlakuan 3 (P3) tidak memiliki perbedaan bermakna walaupun P2 memiliki hasil kadar MDA yang lebih rendah daripada P3 namun pada hasil dari pengukuran kedalaman poket dan kegoyangan gigi menunjukkan kelompok kontrol P3 lebih efektif daripada P2. Hal ini menunjukkan total katekin dengan dosis P3 memiliki efek yang sama dalam menurunkan kadar MDA pada hewan coba.

Penelitian ini sebanding dengan penelitian yang dilakukan oleh cho et al 2013 yang mengatakan hasil yang paling baik pada dosis 200mg/kgBB.

Pemberian total katekin, yang mengandung antioksidan dengan dosis yang berbeda memberikan hasil yang berbeda pula. Fungsi dari antioksidan ini adalah untuk menghambat terbentuknya radikal bebas dan mengurangi radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh. Katekin yang terkandung dalam teh hijau dengan struktur EGCG, ECG yang banyak dapat menghambat pertumbuhan aktivitas kolagenase P. Gingivalis

Provetella Intermedia dan Provetella nigrescens (Chaetterjee et al 2012)

Bakteri gram (-) salah satunya *P. Gingivalis* merupakan bakteri yang merangsang aktifitas dan ekspresi MMP, sedangkan total katekin memiliki efek penghambat pada aktifitas ekspresi MMPS (Chaetterjee et al 2012).

Berdasarkan hasil data statistik anova menunjukkan bahwa H1 diterima yang dapat diartikan terdapat pengaruh yang signifikan pemberian total katekin terhadap kadar MDA gingiva pada tikus wistar jantan yang diinduksi *P. Gingivalis*. Dari hasil uji post hoc diketahui hanya kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3 menunjukkan perbedaan yang significant. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian total katekin mampu menurunkan kadar MDA pada periodontitis kronis yang disebabkan oleh induksi bakteri *P. Gingivalis*.





BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian total katekin terhadap kadar MDA pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang di induksi *P.gingivalis*, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian total katekin dapat menurunkan kadar MDA pada tikus wistar jantan yang diinduksi *P.gingivalis*. Pemberian total katekin pada dosis 400mg/kgBB/hari mampu menurunkan kadar MDA pada tikus wistar jantan dan tidak terdapat kegoyangan gigi, tidak terdapat BOP serta tidak terdapat *Loss Of Attachment*

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian total katekin sebagai upaya penyembuhan penyakit periodontitis
2. Perlu dilakukan Uji toksisitas untuk mengetahui dalam dosis berapa dikatakan toksik atau aman.
3. Perlu dilakukan penelitian untuk dosis yang lebih t.inggi, untuk mengetahui keefektifan total katekin.
4. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji kemurnian EGCG pada total katekin GMB-4

DAFTAR PUSTAKA

- Alamsyah, A N. 2006. Taklukan Penyakit dengan Teh Hijau. Tangerang: Agro Medika Pustaka.
- Alexandru. 2011. Experimental use of animals in research spa. *Balneo-reasrch journal*. Vol 2 Nr,1.
- Budiarto. 2008. Metodologi Penelitian Kesehatan dengan Contoh Bidang Ilmu Kesehatan Gigi. Jakarta: EGC. Hal 56
- Cho, et al. 2013. The effect of orally administersd epigallocatechin-3-gallate on ligature- induced periodontitis in rats. *Journal of Periodontal Reaserch: South Korea*
- Carranza, F. A., Newman, M.G., Takei, H.H., 2015. *Clinical Periodontology* 12th ed. WB. Saunders: Philadelphia
- Chang, Po- Chun and Lum Peng Lim. 2012. “Interrelationships of periodontitis and diabetes: A review of the current literature”. *Journal of Dental Sciences* 7:272-282.
- Kushiyama, Mitoshi et al. 2009. “Relationship Berteen Intake of Green Tea and Periodontal Disease”. *J Periodontol*, vol. 80, no 8: 372-376.
- Kurnia, et al. 2015. Potensi Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis*) Terhadap Peningkatan Jumlah Sel Fibroblas Soket Pasca Pencabutan Gigi pada Tikus Wistar. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, vol. 3(no.1)
- Krismariono, Agung. 2015. The Decrasing of NFkB level in gingival junctional epithelium of rat exposed of *Porphyromonas gingivalis* with Application of 1% Curcumin on Gingival Sulcus. *Dental Journal*, Vol 48(1) 35-38

- Lindberg and bage. 2013. Inflammatory mediators In The Patogenesis of Periodontitis: expert reviews. Cambridge university Press. Vol 8,15:e7.
- Lumentut, Reyna A. N., Gunawan, P. N., and Mintjelungan, C. N., 2013, Status Periodontal dan Kebutuhan Perawatan Pada Usia Lanjut, Jurnal eGiGi (eG), Vol 1(2): 79-83.
- Mysak, et al. 2014. Phorphyromonas gingivalis: Mayor Periodontic Pathogen Overview. Journal of immunology Reasearch
- Mizraj, et al. 2013. Isolation, Prosesing and analisi of Murnie Gingival Cells. Journal of Visualized Experiments. Exp(77)
- Newman, M.G., Takei, H.H., Klokkevold, P.R., 2012, Carranza's Clinical Periodontology, 11th ed, Saunders Elsevier, China
- Nugala B, et al. 2010. Role of green tea as antioxidant in periodontal disease: The Asian Paradox. Indian Society Periodontolog, Indian
- Ratnawati, R., et al. 2009. Isolasi Total katekin dan EGCG dari teh hijau klon GMB4. Laporan Penelitian Program Intensif Riset Dasar, Ristek, Kementerian Negara Riset dan Teknologi.
- Vincent, ruby, et al. 2017. "Oxidative stress: Role in pathogenesis of periodontal disease". *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 8(3):1033-1041.
- Nugala, Babitha, et al. 2012. "Role of green tea as an antioxidant in periodontal disease: The Asian paradox". *J Indian Soc Periodontol*, 16(3): 313-316
- Saryono. 2013. *Potensi teh hijau dalam penyembuhan luka: sistematik review*. PPNI. Jawa tengah
- Syahdrajat, Tantur. 2015. *Paduan Melunis tugas akhir Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Prenadamedia group. Hal 114

Winarsi. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius: hal 11-60

Zhang, Wenjian. 2014. Porphyromonas gingivalis infection increases osteoclastic bone resorption and osteoblastic bone formation in a periodontitis mouse model. *Bio Med Central.USA*

