



**PENGARUH EKSTRAK KULIT KACANG
TANAH (*Arachis hypogaea L.*) TERHADAP
JUMLAH OSTEOSIT PADA TULANG
ALVEOLAR TIKUS WISTAR (*Rattus
norvegicus*) YANG DIINDUKSI BAKTERI
*Aggregatibacter actinomycetemcomitans***

**SKRIPSI
UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN
MEMPEROLEH GELAR SARJANA**

OLEH:

INGE MUSTIKA PRILIA

155070400111003

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERGAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2019



HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK KULIT KACANG TANAH (*Arachis hypogaea L.*) TERHADAP JUMLAH OSTEOKLAS PADA TULANG ALVEOLAR TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI BAKTERI *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Oleh :

INGE MUSTIKA PRILIA

NIM: 155070400111003

Pembimbing

drg. Diena Fuadiyah, M.Si

NIK. 2014058612292001

Mengetahui,

**Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya**

drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp.KG

NIP. 198004092008122004

HALAMAN PERSETUJUAN
SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK KULIT KACANG TANAH (*Arachis hypogaea L.*) TERHADAP JUMLAH OSTEOSIT PADA TULANG ALVEOLAR TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI BAKTERI *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Oleh:
INGE MUSTIKA PRILIA
NIM: 155070400111003



Menyetujui untuk diuji:

Pembimbing

drg. Diena Fuadiyah, M.Si
NIK. 2014058612292001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah skripsi ini dapat dibuktikan unsur-unsur plagiasi, saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh SARJANA dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No.20 Tahun 2013, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Malang, 12 Maret 2019

Yang menyatakan,

Inge Mustika Prilia

NIM 155070400111003

ABSTRAK

Prilia, Inge Mustika. 2019. **Pengaruh Ekstrak Kulit Kacang Tanah (*Arachis hypogaea L.*) terhadap Jumlah Osteosit pada Tulang Alveolar Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.** Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya. Pembimbing: Diena Fuadiyah, drg., M.Si

Penyakit periodontal merupakan salah satu masalah kesehatan gigi dan mulut yang sering dialami oleh 96,58 persen masyarakat Indonesia. Periodontitis didefinisikan sebagai penyakit inflamasi dari jaringan penyangga gigi yang disebabkan oleh sekelompok mikroorganisme spesifik yang dapat menimbulkan kerusakan pada tulang alveolar. Kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) memiliki kandungan kimia yaitu flavonoid yang dapat bermanfaat untuk mencegah kerusakan tulang. Luteolin, yaitu salah satu flavonoid yang ditemukan pada kulit kacang tanah, dapat berpera sebagai antiinflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) terhadap jumlah osteosit pada tikus wistar jantan yang diinduksi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Tiga puluh tikus wistar dibagi dalam satu kelompok control negative, satu kelompok control positif dan tiga kelompok perlakuan. Induksi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) disuntikkan pada sulkus gingiva gigi insisif pertama rahang bawah bagian mesial dengan konsentrasi $\pm 1 \times 10^8$ sel/ml sebanyak 0,1 ml setiap tiga hari sekali selama tiga minggu. Kelompok kontrol negatif tidak mendapat perlakuan apapun. Kelompok kontrol positif hanya diberikan induksi bakteri Aa. Kelompok perlakuan diberikan induksi bakteri Aa dan diberikan ekstrak kulit kacang tanah dengan dosis 50mg/kgBB, 100mg/kgBB, 200mg/kgBB selama 28 hari. Jaringan tulang alveolar diambil dan diproses secara histologis dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) untuk menghitung jumlah osteosit. Hasil analisa data menunjukkan bahwa terdapat perbedaan

yang signifikan antara kelompok perlakuan dosis 100mg/kgBB dengan kelompok control positif, serta terdapat korelasi yang sangat kuat antara pemberian ekstrak kulit kacang tanah terhadap jumlah osteosit dengan koefisien korelasi 0,558 (positif). Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak kulit kacang tanah mampu meningkatkan jumlah osteosit pada tulang alveolar tikus wistar yang diinduksi bakteri Aa.

Kata kunci : ekstrak kulit kacang tanah, osteosit, periodontitis, bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa)



ABSTRACT

Prilia, Inge Mustika. 2019. **The Effect of Peanut Shell Extract (*Arachis hypogaea L.*) on Osteocyte Count of Rat's (*Rattus norvegicus*) Alveolar Bone Induced by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.** Final Assignment, Dentistry Bachelor Program, Faculty of Dentistry, Brawijaya University. Supervisor: Diena Fuadiyah, drg., M.Si

Periodontal disease is one of the dental and oral health problems infected 96,58 percent of Indonesia's population. Periodontitis named as a inflammatory reaction disease of teeth's supporting tissue caused by specific microorganisms that can lead to alveolar bone damage. Peanut (*Arachis hypogaea L.*) shell contains chemical substances, flavonoid, proven to be able to prevent bone destruction. Luteolin, one of flavonoids found in peanut shell, can detain the process of inflammation. This research aims to know the effect of peanut's shell extract on osteocytes count of rat's alveolar bone induced by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Thirty rats were divided into a negative control group, positive control group and three treatment groups. The *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* were injected at the gingival sulcus of the first incisor teeth of the lower jaw in the mesiolabial part, thrice a day for three weeks, with $\pm 1 \times 10^8$ sel/ml of concentration in every 0,1 ml. The negative control group did not receive any treatment. Positive control group was given only induction of the bacteria. The treatment groups was given induction of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and followed by peanut's shell extract with dose of 50mg/kg of the rat's weight, 100mg/kg of the rat's weight, and 200mg/kg of the rat's weight approximately for 28 days. Alveolar bone's tissues are taken and processed histologically with *hematoxylin-eosin* (HE) staining used for osteocytes count calculation. Data analysis showed that there are significant difference between the positive control group and the treatment group with 100mg/kg of the rat's weight dose of extract, and also there are a strong correlation between giving peanut's shell extract

and increasing count of osteocytes with positive correlation coefficient that is 0,558. The conclusion of this research is peanut shell's (*Arachis hypogaea* L.) is able to increase osteocytes count of rat's alveolar bone induced by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Keywords : peanut's shell extract, osteocytes, periodontitis, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*



KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan

Skripsi dengan judul “Pengaruh Ekstrak Kulit Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) terhadap Jumlah Osteosit pada Tulang Alveolar Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*”.

Dengan selesainya Skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada :

1. drg. R. Setyohadi, MS, dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya yang telah memberikan saya kesempatan untuk menuntut ilmu di 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. drg. Delvi Fitriani, M.Kes. dan drg. Tubagus Agnizarridhlo selaku dosen Pembimbing Akademik penulis, yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di Sarjana Kedokteran Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
4. drg. Diena Fuadiyah, M.Kes. sebagai pembimbing yang telah memberikan bantuan, yang dengan sabar

membimbing untuk bisa menulis dengan baik, dan senantiasa memberi semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Proposal ini.

5. Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc selaku dosen penguji I yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberi masukan sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan
6. drg. Rudhanton, Sp. Perio selaku dosen penguji II yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberi masukan sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan
7. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKG UB, yang telah membantu melancarkan urusan administrasi, sehingga penulis dapat melaksanakan Proposal dengan lancar.
8. Yang tercinta kedua orang tua penulis, papa Teguh Rochmanto dan mama Tiwuk Purwati, serta kedua kakak penulis yang tersayang Derucci Anggarda Putra dan Lucky Luthfito Wijaya yang selalu memberikan semangat, dorongan, kasih sayang, dan saran serta bantuan sehingga penulis dapat menyelesaikan Proposal ini.
9. Seluruh keluarga penulis, Mama, Papa, Kakak Rucci, Kakak Lucky, Mbak Lely yang telah memberi semangat

dan selalu mendoakan sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas ini dengan lancar.

10. Teruntuk Ilyas dan Kumala, yang telah bersama – sama membantu dan saling memberi saran serta semangat saat mengerjakan tugas akhir ini.

11. Faiz Falsahadi, sebagai *partner of everything* yang telah memberikan semangat, bantuan, solusi, saran, serta telah sabar menemani hingga saat ini penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini

12. Kepada sahabat-sahabat penulis Latania, Ikke Alma, Nabillah, Wilda, Tutifruti, Lil' Einstein, drg cantik serta teman – teman Incisive.

13. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan tugas akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Semoga Proposal tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi semua orang.

Malang, Maret 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat	5
1.4.1. Manfaat Akademis	5
1.4.2. Manfaat Aplikatif	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Periodontitis	6
2.1.1. Definisi	6
2.1.2. Etiologi	7
2.1.3. Patogenesis	8
2.1.4. Gambaran Klinis dan Radiografi	11
2.2. Sel Osteosit	15
2.3. Bakteri <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	16
2.3.1. Taksonomi	18
2.3.2. Karakteristik Bakteri	18
2.3.3. Faktor Virulensi Bakteri Aa	20
2.4. Kacang Tanah (<i>Arachis hypogaea L.</i>)	20
2.4.1. Taksonomi	20
2.4.2. Morfologi	20
2.4.3. Kandungan Nutrisi	25
2.5. Kulit Kacang Tanah (<i>Arachis hypogaea L.</i>)	21



2.5.1.	Kandungan Kulit Kacang Tanah.....	21
2.5.2.	Efek Kandungan Kimia Kulit Kacang Tanah.....	22
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN		26
3.1.	Kerangka Konsep.....	26
3.2.	Penjelasan Kerangka Konsep.....	27
3.3.	Hipotesis Penelitian.....	28
BAB IV METODE PENELITIAN DAN ANALISIS DATA		29
4.1.	Rancangan Penelitian.....	29
4.2.	Populasi dan Sampel.....	29
4.2.1.	Populasi.....	29
4.2.2.	Sampel.....	29
4.2.3.	Jumlah Sampel Penelitian.....	30
4.3.	Variabel Penelitian.....	31
4.4.	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	31
4.5.	Bahan dan Alat Penelitian.....	31
4.5.1.	Bahan Penelitian.....	31
4.5.2.	Alat Penelitian.....	32
4.6.	Definisi Operasional.....	33
4.7.	Prosedur Penelitian.....	35
4.7.1.	Ethical Clearance.....	35
4.7.2.	Persiapan Hewan Coba.....	35
4.7.3.	Pembuatan Ekstrak Kulit Kacang Tanah.....	36
4.7.4.	Tahap Pengelompokan Hewan Coba.....	36
4.7.5.	Prosedur Induksi Bakteri Aa.....	37
4.7.6.	Prosedur Aplikasi Bahan Perlakuan.....	37
4.7.7.	Pembedahan Tulang Alveolar Mandibula/Pengambilan Sampel.....	38
4.7.8.	Pembuatan Blok Parafin dan Preparat.....	38
4.7.9.	Pengecatan Preparat Jaringan.....	39
4.7.10.	Perhitungan Jumlah Osteoklas.....	40
4.8.	Pengolahan dan Analisis Data.....	41
4.9.	Alur Penelitian.....	43
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA		44
5.1.	Hasil Penelitian.....	44
5.1.1.	Hasil Pengukuran Poket Periodontal.....	44
5.1.2.	Hasil Pengukuran Kegoyangan Gigi.....	45
5.1.3.	Hasil Perhitungan Jumlah Osteosit.....	47

5.2. Analisis Data.....	49
5.2.1. Uji normalitas	49
5.2.2. Uji Homogenitas Varians.....	50
5.2.3. Uji <i>One Way</i> Anova.....	50
5.2.4. Uji Post-Hoc	51
5.2.5. Uji Korelasi dan Regresi.....	51
BAB VI PEMBAHASAN	53
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	57
7.1. Kesimpulan.....	57
7.2. Saran	57
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN	63



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sitokin proinflamatori yang dihambat oleh flavonoid..... 22

Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Kedalaman Poket Periodontal44

Tabel 5.2 Tabel Kegoyangan gigi 13 Desember 2018.....45

Tabel 5.3 Tabel Kegoyangan gigi 10 Januari 201946

Tabel 5.4 Hasil Perhitungan Osteosit48



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Gambaran klinis pasien dengan *Slight Chronic Periodontitis* 11

Gambar 2.2 Gambaran radiografis pasien dengan *Slight Chronic Periodontitis* 11

Gambar 2.3 Gambaran klinis pasien dengan *Moderate Chronic Periodontitis* 12

Gambar 2.4 Gambaran radiografis pasien dengan *Moderate Chronic Periodontitis* 12

Gambar 2.5 Gambaran klinis pasien dengan *Severe Chronic Periodontitis* 12

Gambar 2.6 Gambaran radiografis pasien dengan *Severe Chronic Periodontitis* 13

Gambar 2.7 Gambaran klinis pasien dengan *generalized aggressive periodontitis*..... 14

Gambar 2.8 Gambaran radiografis pasien dengan *generalized aggressive periodontitis*..... 14

Gambar 2.9 Gambaran klinis pasien dengan *localized aggressive periodontitis*..... 14

Gambar 2.10 Gambaran radiografis pasien dengan *localized aggressive periodontitis*..... 15

Gambar 2.11 Gambaran mikroskopis TEM osteosit 16

Gambar 2.12 Fotomikrograf tulang 16

Gambar 2.13 Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 18

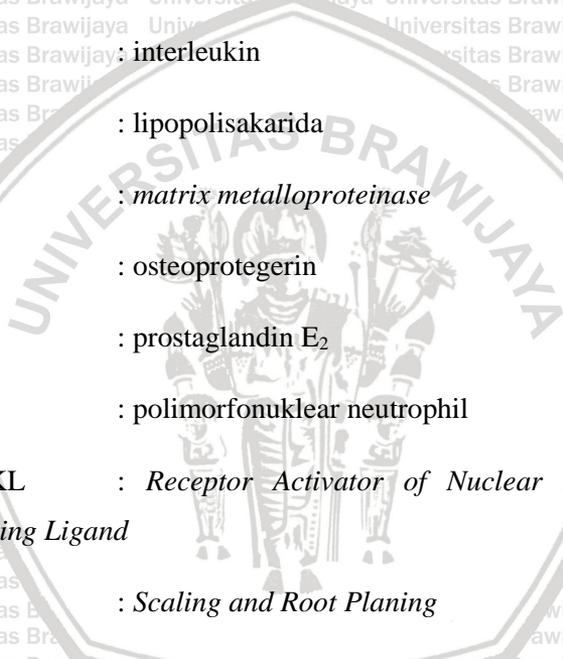
Gambar 2.14 Gambar Makroskopis Kacang Tanah *Arachis hypogaea L.* 20

Gambar 5.1 Perbandingan Histologis Tulang Alveolar Tikus 49



DAFTAR SINGKATAN

- AAP** : *American Academy of Periodontics*
- Aa** : *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
- COX2** : siklooksigenase-2
- IL** : interleukin
- LPS** : lipopolisakarida
- MMP** : *matrix metalloproteinase*
- OPG** : osteoprotegerin
- PGE₂** : prostaglandin E₂
- PMN** : polimorfonuklear neutrophil
- RANKL** : *Receptor Activator of Nuclear Factor-kappaB Signaling Ligand*
- SRP** : *Scaling and Root Planing*
- TEM** : *Transmission Electron Microscope*
- TNF** : *Tumor Necrosis Factor*
- HE** : *Hematoxylin-Eosin*





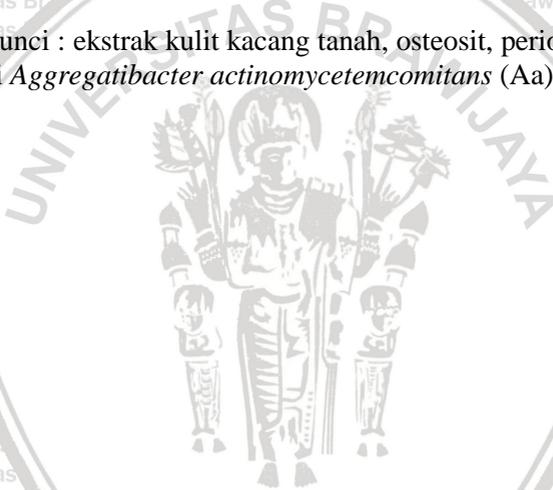
ABSTRAK

Prilia, Inge Mustika. 2019. **Pengaruh Ekstrak Kulit Kacang Tanah (*Arachis hypogaea L.*) terhadap Jumlah Osteosit pada Tulang Alveolar Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.** Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya. Pembimbing: Diena Fuadiyah, drg., M.Si

Penyakit periodontal merupakan salah satu masalah kesehatan gigi dan mulut yang sering dialami oleh 96,58 persen masyarakat Indonesia. Periodontitis didefinisikan sebagai penyakit inflamasi dari jaringan penyangga gigi yang disebabkan oleh sekelompok mikroorganisme spesifik yang dapat menimbulkan kerusakan pada tulang alveolar. Kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) memiliki kandungan kimia yaitu flavonoid yang dapat bermanfaat untuk mencegah kerusakan tulang. Luteolin, yaitu salah satu flavonoid yang ditemukan pada kulit kacang tanah, dapat berpera sebagai antiinflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) terhadap jumlah osteosit pada tikus wistar jantan yang diinduksi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Tiga puluh tikus wistar dibagi dalam satu kelompok control negative, satu kelompok control positif dan tiga kelompok perlakuan. Induksi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) disuntikkan pada sulkus gingiva gigi insisif pertama rahang bawah bagian mesial dengan konsentrasi $\pm 1 \times 10^8$ sel/ml sebanyak 0,1 ml setiap tiga hari sekali selama tiga minggu. Kelompok kontrol negatif tidak mendapat perlakuan apapun. Kelompok kontrol positif hanya diberikan induksi bakteri Aa. Kelompok perlakuan diberikan induksi bakteri Aa dan diberikan ekstrak kulit kacang tanah dengan dosis 50mg/kgBB, 100mg/kgBB, 200mg/kgBB selama

28 hari. Jaringan tulang alveolar diambil dan diproses secara histologis dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) untuk menghitung jumlah osteosit. Hasil analisa data menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dosis 100mg/kgBB dengan kelompok control positif, serta terdapat korelasi yang sangat kuat antara pemberian ekstrak kulit kacang tanah terhadap jumlah osteosit dengan koefisien korelasi 0,558 (positif). Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak kulit kacang tanah mampu meningkatkan jumlah osteosit pada tulang alveolar tikus wistar yang diinduksi bakteri Aa.

Kata kunci : ekstrak kulit kacang tanah, osteosit, periodontitis, bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa)



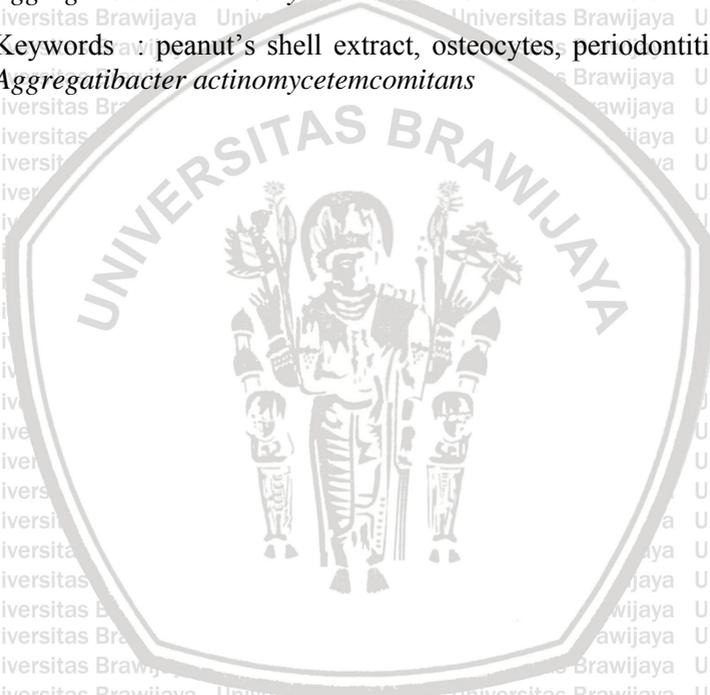
ABSTRACT

Prilia, Inge Mustika. 2019. **The Effect of Peanut Shell Extract (*Arachis hypogaea* L.) on Osteocyte Count of Rat's (*Rattus norvegicus*) Alveolar Bone Induced by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans***. Final Assignment, Dentistry Bachelor Program, Faculty of Dentistry, Brawijaya University. Supervisor: Dena Fuadiyah, drg., M.Si

Periodontal disease is one of the dental and oral health problems infected 96,58 percent of Indonesia's population. Periodontitis named as a inflammatory reaction disease of teeth's supporting tissue caused by specific microorganisms that can lead to alveolar bone damage. Peanut (*Arachis hypogaea* L.) shell contains chemical substances, flavonoid, proven to be able to prevent bone destruction. Luteolin, one of flavonoids found in peanut shell, can detain the process of inflammation. This research aims to know the effect of peanut's shell extract on osteocytes count of rat's alveolar bone induced by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Thirty rats were divided into a negative control group, positive control group and three treatment groups. The *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* were injected at the gingival sulcus of the first incisor teeth of the lower jaw in the mesiolabial part, thrice a day for three weeks, with $\pm 1 \times 10^8$ sel/ml of concentration in every 0,1 ml. The negative control group did not receive any treatment. Positive control group was given only induction of the bacteria. The treatment groups was given induction of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and followed by peanut's shell extract with dose of 50mg/kg of the rat's weight, 100mg/kg of the rat's weight, and 200mg/kg of the rat's weight approximately for 28 days. Alveolar bone's tissues are taken and processed histologically with *hematoxylin-eosin* (HE) staining used for osteocytes count calculation. Data analysis showed that there are significant

difference between the positive control group and the treatment group with 100mg/kg of the rat's weight dose of extract, and also there are a strong correlation between giving peanut's shell extract and increasing count of osteocytes with positive correlation coefficient that is 0,558. The conclusion of this research is peanut shell's (*Arachis hypogaea* L.) is able to increase osteocytes count of rat's alveolar bone induced by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Keywords: peanut's shell extract, osteocytes, periodontitis, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Masalah kesehatan gigi dan mulut yang sering dialami sekitar 96,58 persen masyarakat Indonesia merupakan penyakit periodontal (Tambunan, dkk., 2015). Penyakit jaringan periodontal selama ini dianggap dapat mempengaruhi kesehatan secara umum (Tantin E, 2012). Penyakit periodontal yang paling sering dijumpai adalah gingivitis, periodontitis dan abses periodontal. Periodontitis didefinisikan sebagai penyakit inflamasi dari jaringan penyangga gigi yang disebabkan oleh sekelompok mikroorganisme spesifik yang dapat menyebabkan kerusakan progresif ligament periodontal dan tulang alveolar dengan meningkatnya kedalaman poket, resesi gingiva atau keduanya. Bakteri yang dapat menyebabkan periodontitis antara lain *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Peptostreptococcus micros* dan *Streptococcus intermedius* (Carranza, 2015).

Respon inflamasi pada tubuh sangat penting untuk kehidupan sel kita. Respon inflamasi pada saat terkena periodontitis merupakan cara tubuh mempertahankan diri dari berbagai macam patogen tubuh, dan juga berguna untuk proses penyembuhan.

Komponen *bacterial* dari biofilm yang ditemukan pada permukaan gigi, seperti lipopolisakarida (LPS), peptidoglikan, protease, dan toksin, adalah komponen yang memulai reaksi imun sel inang dan



inflamasi yang dapat mengaktifasi pertahanan sel inang dan memicu respon antibodi (Lindberg, 2013). *Innate immune response* merupakan mekanisme tubuh paling pertama untuk melindungi inang dari infeksi atau inflamasi. Sel *innate immune response* berperan dalam pelepasan mediator kimiawi yaitu sitokin (Ayu, 2014). Sitokin berperan dalam mekanisme kerusakan jaringan periodontal (Tawfig, 2016). Sel pembentuk tulang, salah satunya osteosit, mengekspresikan gen yang mampu memodulasi proses *bone remodelling* (Mescher, 2013). Sinyal yang diterima osteosit akan ditransmisikan ke osteoklas dan osteoblast melalui sitokin, antara lain *osteoprotegerin* (OPG) dan *receptor activator of nuclear factor- κ B signalling ligand* (RANKL) (Yuliana, 2012).

Perawatan untuk periodontitis yang selama ini sudah banyak digunakan oleh para dokter gigi yaitu *Scaling and Root Planing* (SRP) sebagai terapi local, berguna untuk menghilangkan etiologi dari periodontitis yaitu plak dan kalkulus sehingga dapat mengurangi jumlah bakteri yang ada di dalam rongga mulut. Terapi sistemik dapat diberikan kepada pasien yaitu dengan menggunakan obat, sedangkan untuk penyakit periodontal biasanya diindikasikan untuk pasien dengan periodontitis agresif (Carranza, 2015). Penggunaan obat sebagai terapi sistemik bisa menimbulkan berbagai macam efek samping tergantung oleh jenis obat yang digunakan.

Kulit kacang tanah yang masih kurang pemanfaatannya oleh masyarakat ternyata mengandung senyawa kimia yang bermanfaat sebagai bahan alternatif obat antiinflamasi (Kim et. al., 2004). Kulit kacang mengandung flavonoid yang dapat berfungsi sebagai

antiinflamasi. Flavonoid, dikenal sebagai bahan obat-obatan paling umum yang sering dipakai untuk membuat obat-obatan alami, mengandung banyak sekali manfaat dalam bidang biologi maupun farmakologi yaitu antikanker, antimikroba, antivirus, serta antiinflamasi (Kim et. al., 2004). Diantara banyaknya manfaat dari flavonoid ini, aktivitas antiinflamasi yang dimilikinya lah yang paling banyak digunakan untuk obat-obatan, terutama obat-obat herbal Cina (Kim et. al., 2004).

Berbagai penelitian juga telah menyebutkan bahwa berbagai molekul dari flavonoid dapat menghasilkan aktivitas antiinflamasi pada hewan percobaan inflamasi. Terlebih lagi, sejumlah flavonoid ditemukan dapat menghambat inflamasi kronis (Kim et. al., 2004). Kandungan kimia flavonoid dari kulit kacang tanah antara lain luteolin, *eriodictyol*, dan *5,7 dihydroxychromone* (De Lucca et. al., 1987). Luteolin berperan sebagai antiinflamasi dengan memodulasi ekspresi gen proinflammatory seperti *siklooksigenase-2* (COX2), menginduksi *nitric oxide synthase* dan sitokin (Kim et. al., 2004).

Penelitian yang dilakukan oleh Abassi pada tahun 2016 menyatakan hasil yang berbeda, bahwa dosis luteolin jika diberikan pada dosis yang tinggi akan menyebabkan menurunnya aktivitas ALP, yaitu *marker* pada diferensiasi osteoblast. Akibat menurunnya aktivitas ALP akan berpengaruh terhadap kematian sel osteoblast dan peningkatan jumlah osteoklas. Berdasarkan pemaparan tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian untuk membuktikan apakah ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dapat

meningkatkan jumlah osteosit pada tulang alveolar tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi bakteri Aa.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea l.*) dapat meningkatkan jumlah osteosit pada tikus wistar yang diinduksi bakteri Aa?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui apakah ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea l.*) dapat meningkatkan jumlah osteosit pada tikus wistar yang diinduksi bakteri Aa.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui jumlah osteosit pada tulang alveolar tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi bakteri Aa sebelum diberikan ekstrak kulit kacang tanah.
- b. Untuk mengetahui perbedaan jumlah osteosit pada tulang alveolar tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi bakteri Aa sebelum diberikan ekstrak kulit kacang tanah dan setelah diberikan ekstrak kulit kacang tanah.

1.4 Manfaat

1.4.1 Akademis

Penelitian ini dapat menyumbang pengetahuan tentang pengaruh ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis Hypogaea L.*) terhadap jumlah osteoklas pada tulang alveolar tikus wistar (*Rattus Norvegicus*) yang diinduksi bakteri Aa.

1.4.2 Aplikatif

1. Sebagai dasar teori mengenai pengaruh ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) terhadap jumlah osteosit pada tulang alveolar tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi bakteri Aa.
2. Penelitian ini dapat dijadikan sebagai landasan untuk penelitian lebih lanjut.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Periodontitis

Penyakit periodontal, yang dialami oleh hampir 90% masyarakat di Indonesia, merupakan penyakit gigi dan mulut kedua terbanyak setelah karies gigi (Soeroso Y., *et al.*, 2014). Periodontitis kronis berada pada urutan pertama sebesar 89% pada Survei Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia pada tahun 2002 tentang distribusi penyakit periodontal di RS Gigi dan Mulut (Prayitno, 2003).

2.1.1 Definisi

Periodontitis didefinisikan sebagai penyakit inflamasi dari jaringan penyangga gigi yang disebabkan oleh sekelompok mikroorganisme spesifik yang dapat menyebabkan kerusakan progresif ligament periodontal dan tulang alveolar dengan meningkatnya kedalaman poket, resesi gingiva atau keduanya. Beberapa bakteri yang dapat menyebabkan periodontitis antara lain *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Peptostreptococcus micros* dan *Streptococcus intermedius* (Carranza, 2015).

Periodontitis merupakan penyakit peradangan yang bersifat multifaktorial, baik lingkungan maupun faktor genetik diketahui memainkan peran penting didalam perkembangan penyakit dengan kerusakan jaringan yang terus menerus di sekitar akar gigi dan tulang

alveolar. Faktor resiko tinggi yang ditemukan pada perkembangan periodontitis ini secara langsung dihubungkan dengan adanya biofilm yang ditemukan di sulkus gingiva yang mengandung berbagai macam spesies spesifik bakteri yang sangat menentukan faktor resiko dari periodontitis (da Silva, *et. al.*, 2017).

2.1.2 Etiologi

Etiologi dari penyakit periodontal yang sudah umum diyakini oleh masyarakat adalah hasil dari infeksi berbagai macam mikroba yang berasal dari kelompok-kelompok bakteri pathogen. Hal tersebut dapat dilihat dari factor-faktor resiko baik yang dapat dimodifikasi maupun yang tidak dapat dimodifikasi yang sering dihubungkan dengan penyakit periodontal (Yousef, 2014).

Bakteri yang ada di dalam rongga mulut terdiri dari lebih dari 700 filotip, dengan 400 spesies yang ditemukan di plak subgingival. Mikroflora subgingival pada periodontitis dapat menjadi tempat tinggal ratusan spesies bakteri tetapi hanya sebagian kecil yang sering dihubungkan dengan perkembangan penyakit dan dianggap penting untuk mengetahui etiologi penyakit. Plak subgingival yang berasal dari poket periodontal yang dalam didominasi oleh bakteri anaerob gram-negatif. Bukti kuat membuktikan bahwa *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) berperan dalam pathogenesis dari periodontitis orang dewasa. Bakteri lain yang seringkali mempunyai hubungan dengan perkembangan periodontitis orang dewasa adalah antara lain *Bacteroides forsythus*, *Prevotella intermedia*,

Peptostreptococcus micros, dan *Fusobacterium nucleatum* (Yousef, 2014).

2.1.3 Patogenesis

Era modern dari pathogenesis, pencegahan dan perawatan penyakit periodontal berawal mula ada pertengahan tahun 1960 dengan menggunakan eksperimental pada manusia dan hewan untuk membuktikan peran penting dari bakteri pada awal mula terjadinya gingivitis dan periodontitis. Hal ini menghasilkan konsep yang cukup jelas dari pathogenesis penyakit periodontal yang disebabkan oleh bakteri. Hal ini juga menunjukkan deposit bakterial plak sebagai factor utama, dan langsung pada pembentukan periodontitis dan menyebabkan banyak ditinggalkannya konsep-konsep terdahulu yang melibatkan factor non-bakterial, seperti trauma oklusi, kondisi sistemik, dan diet. Pemahaman tentang peran penting bakteri secara langsung mengubah cara pencegahan dan perawatan periodontitis. Namun, bagaimanapun juga, banyak pernyataan yang juga berasumsi bahwa massa plak bakterial hanya sekedar factor kausatif, dan produk dari bakteri, seperti kolagenase, yang secara langsung merusak jaringan (Kornman, 2008).

Konsep periodontitis merupakan interaksi kompleks antara mikroba dan respon host, yang merubah jaringan ikat dan metabolisme tulang dan menyebabkan kerusakan jaringan periodontal, yaitu kehilangan perlekatan secara klinis. Komponen bacterial, seperti LPS, peptidoglikan, protease, dan toksin, yang memulai reaksi inflamasi, bias ditemukan pada biofilm yang ada di permukaan gigi. Komponen bacterial dari biofilm yang ditemukan

pada permukaan gigi, seperti LPS, peptidoglikan, protease, dan toksin, adalah komponen-komponen yang memulai reaksi imun sel inang dan inflamasi yang dapat mengaktifasi pertahanan sel inang, termasuk PMN, dan memicu respon antibodi (Lindberg, 2013).

Respon tubuh terhadap infeksi kolonisasi bakteri pada permukaan gigi dan sulkus gingiva juga memiliki peran penting dalam kerusakan jaringan ikat dan tulang. Proses inflamasi yang terjadi pada pathogenesis penyakit periodontal melibatkan respon imun bawaan (*innate immunity*) dan respon imun adaptif (*adaptive immunity*) (Kajiya, *et. al.*, 2010). Respon imun bawaan merupakan mekanisme tubuh paling pertama untuk melindungi inang dari infeksi atau inflamasi. Sel-sel imun bawaan antara lain, sel fagosit, seperti polimorfonuklear neutrophil (PMN), monosit, dan makrofag, berperan dalam pelepasan mediator kimiawi yaitu sitokin (TNF [*tumor necrosis factor*], dan IL [interleukin]), MMP (*matrix metalloproteinase*), serta PGE₂ (*prostaglandin E₂*) (Ayu, 2014). Interleukin-1 (IL-1), IL-6, dan TNF- α , yang merupakan sitokin proinflamasi, memiliki peran penting pada mekanisme kerusakan jaringan periodontal. (Tawfig, 2016). Sitokin dibuktikan dapat mengurangi kehilangan perlekatan pada pasien periodontitis (Lindberg, 2013). Sitokin ini disekresi oleh berbagai macam sel yang terdiri dari monosit, makrofag, sel epitel, keratinosit, dan fibroblas (Tawfig, 2016).

IL-1 menstimulasi pembentukan dari keratinosit, fibroblast, dan sel endotel pada jaringan periodontal. IL-1 merupakan komponen yang sangat penting pada mekanisme homeostasis

jaringan periodontal, dan jika diproduksi secara berlebihan, dapat menyebabkan kerusakan jaringan.

Prostaglandin E₂ (PGE₂) merupakan salah satu mediator inflamasi pada penyakit periodontal yang merangsang penurunan jumlah produksi limfosit, mengurangi sintesis kolagen, dan menyebabkan resorpsi tulang (Tawfig, 2016). PGE₂ diproduksi oleh sel imun, fibroblast, dan sel-sel gingiva. PGE₂ menstimulasi pembentukan mediator inflamasi, dan MMP, serta pembentukan osteoklas melalui RANKL (Lindberg, 2013).

IL-6 diproduksi dari berbagai macam sel yang terdiri dari monosit atau makrofag, sel T aktif, sel endotel, adiposa, dan fibroblas. Sintesa dan sekresi IL-6 distimulasi oleh IL-1 β dan TNF α . IL-6 memiliki peran pada masa-masa transisi dari inflamasi kronis dan akut. Selain itu, IL-6 juga dapat merangsang proliferasi sel T dan mempercepat resorpsi tulang dengan meningkatkan pembentukan osteoklas (Tawfig, 2016).

TNF merupakan sitokin pro-inflamasi yang memiliki banyak fungsi immunoregulasi (Tawfig, 2016). TNF- α , yang merupakan sitokin multipotensial, berperan dalam diferensiasi dan proliferasi osteoklas. Selain itu, TNF- α juga berperan sebagai mediator dalam proses destruksi jaringan periodontal dengan menstimulasi kolagenase dan degradasi kolagen tipe 1 (Thomas, *et al.*, 2008).

Produksi sel mediator kimiawi ini dapat merubah jaringan ikat dan metabolisme tulang. Jika respon imun sel inang dan respon inflamasi tidak cukup untuk menghilangkan aktivitas mikroba,

respon inflamasi kronis dapat mengarah ke inflamasi periodontal (kemerahan, bengkak, dan pendarahan) dan kerusakan jaringan periodontal (kehilangan perlekatan secara klinis).

2.1.4 Gambaran klinis dan radiografi

Klasifikasi AAP (*American Academy of Periodontics*), dalam *International Workshop for Classification of Periodontal Disease* pada tahun 1999, periodontitis dibagi menjadi periodontitis kronis, periodontitis agresif dan periodontitis sebagai manifestasi sistemik (Carranza, 2015).

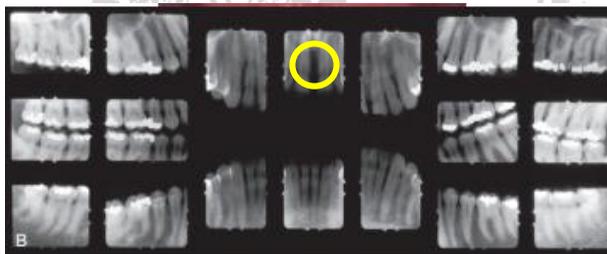
Periodontitis kronis merupakan bentuk periodontitis yang sangat sering dijumpai. Prevalensi periodontitis kronis ditemukan banyak terjadi pada orang dewasa dengan umur lebih dari 35 tahun.

Periodontitis kronis disebabkan oleh akumulasi plak dan kalkulus, dan memiliki perkembangan yang lambat. Faktor lokal banyak berpengaruh terhadap akumulasi plak, seperti peran faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi respon inang terhadap akumulasi plak. Apabila periodontitis kronis terjadi pada kurang dari 30% bagian rongga mulut menunjukkan kehilangan perlekatan dan kerusakan tulang disebut periodontitis kronis *localized* (lihat pada gambar 2.7 dan 2.8), sedangkan periodontitis kronis yang terjadi pada 30% atau lebih dari 30% bagian rongga mulut menunjukkan kehilangan perlekatan dan kerusakan tulang disebut periodontitis *generalized* (lihat pada gambar 2.9 dan 2.10). Periodontitis kronis dapat diklasifikasikan lebih dalam lagi yang dibagi dalam tingkat keparahan penyakit, antara lain, *slight* bila secara klinis terlihat kehilangan perlekatan sebanyak 1-2 mm (lihat pada gambar 2.1 dan

2.2), *moderate* bila secara klinis terlihat kehilangan perlekatan sebanyak 3-4 mm (lihat pada gambar 2.3 dan 2.4), dan yang terakhir adalah *severe* dengan kehilangan perlekatan klinis sebanyak 5 mm atau lebih dari 5 mm (lihat pada gambar 2.5 dan 2.6) (Carranza, 2015).



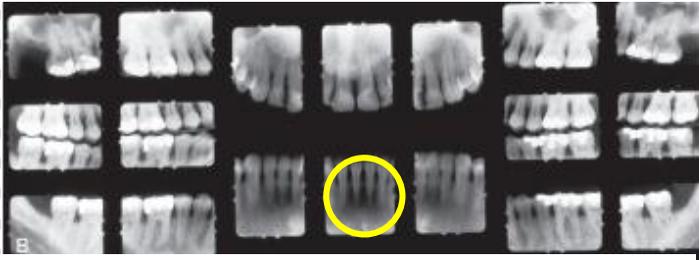
Gambar 2.1. Gambaran klinis pasien dengan *Slight Chronic Periodontitis* (Carranza, 2015)



Gambar 2.2. Gambaran Radiografis pasien dengan *Slight Chronic Periodontitis* (Carranza, 2015)



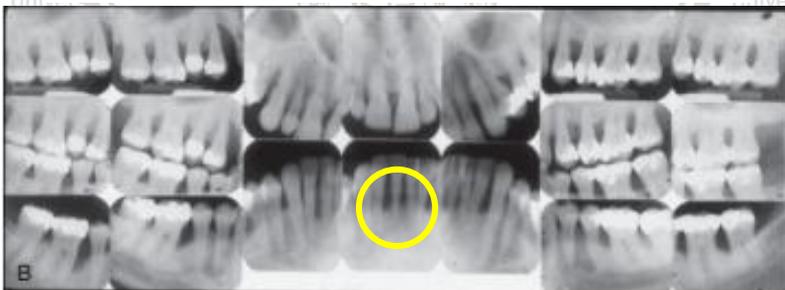
Gambar 2.3. Gambaran klinis pasien dengan *Moderate Chronic Periodontitis* (Carranza, 2015)



Gambar 2.4. Gambaran Radiografis pasien dengan *Moderate Chronic Periodontitis* (Carranza,



Gambar 2.5. Gambaran klinis pasien dengan *Severe Chronic Periodontitis* (Carranza, 2015)

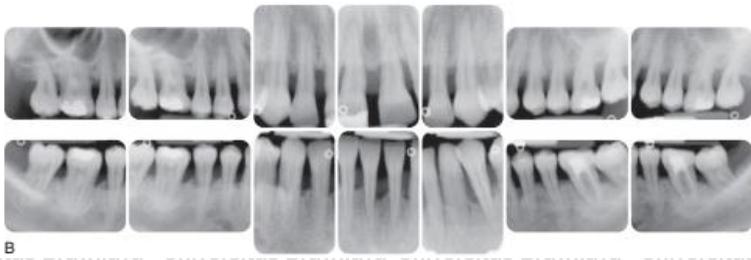


Gambar 2.6. Gambaran Radiografis pasien dengan *Severe Chronic Periodontitis* (Carranza, 2015)

Periodontitis agresif merupakan jenis periodontitis yang berkembang cepat dan menghasilkan kerusakan tulang yang parah pada usia muda. Periodontitis agresif secara lanjut dibagi menjadi periodontitis agresif lokal yang sering terjadi pada usia pubertas, dan periodontitis agresif general yang sering ditemukan pada usia kurang dari 30 tahun (Herawati, 2011). Kornman, tahun 2003, pada periodontitis agresif, hilangnya tulang alveolar dan perlekatan ligamen periodontal akan terlihat parah meskipun usia pasien kurang dari 35 tahun, sebelumnya telah dilakukan perawatan yang memadai, adanya faktor risiko sistemik seperti diabetes, tanggal gigi prematur, faktor local penyebab periodontitis minimal, hilangnya tulang dan perlekatan ligament periodontal sangat parah dengan plak dan kalkulus yang minimal.



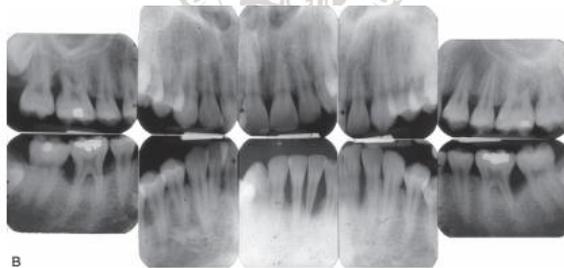
Gambar 2.7. Gambaran klinis pasien dengan *generalized aggressive periodontitis* (Carranza, 2015)



Gambar 2.8. Gambaran radiografis pasien dengan *generalized aggressive periodontitis* (Carranza, 2015)



Gambar 2.9. Gambaran klinis pasien dengan *localized aggressive periodontitis* (Carranza, 2015)



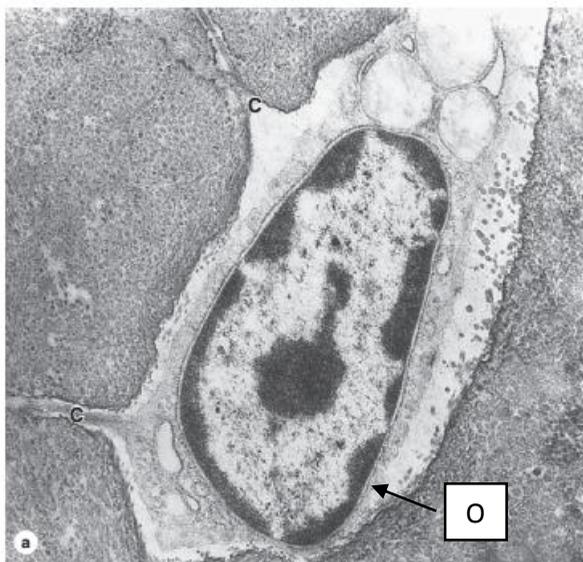
Gambar 2.10. Gambaran radiografis pasien dengan *localized aggressive periodontitis* (Carranza, 2015)

Periodontitis sebagai manifestasi penyakit sistemik diklasifikasikan menjadi, antara lain; 1) kelainan hematologis, seperti *acquired* neutropenia dan leukimia; 2) kelainan genetik berupa neutropenia familial dan *cyclic*, sindrom *down*, sindrom defisiensi

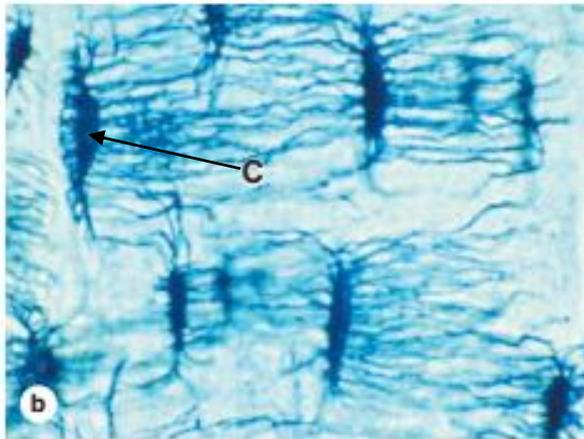
adhesi leukosit, sindrom Papillon-Lefèvre, sindrom Cohen; dan 3) kelainan kelainan yang tidak secara spesifik dijelaskan (Carranza, 2015).

2.2 Sel osteosit

Osteosit merupakan sel yang berasal dari osteoblast yang berdiferensiasi dan berada di dalam lakuna. Osteosit biasanya berdiameter 250-300 nm pada masing-masing lakuna (Mescher, 2013).



Gambar 2.11. Gambaran mikroskopis TEM (*transmission electron microscope*) osteosit (O) pada lakuna (Mescher, 2013)



Gambar 2.12. Fotomikrograf dari tulang, menunjukkan lakuna dan kanalikuli (C) yang terlihat (Mescher, 2013)

Sebagai salah satu dari tiga pembentuk tulang yang paling banyak, sel osteosit pada tulang mencapai 90-95% dari keseluruhan sel yang terdapat pada tulang. Sel osteosit diketahui memiliki fungsi sebagai translator sinyal ketahanan mekanis tulang menjadi sinyal biokimia antara osteosit-osteosit dan sel yang terdapat pada permukaan tulang (Hekimsoy, 2008).

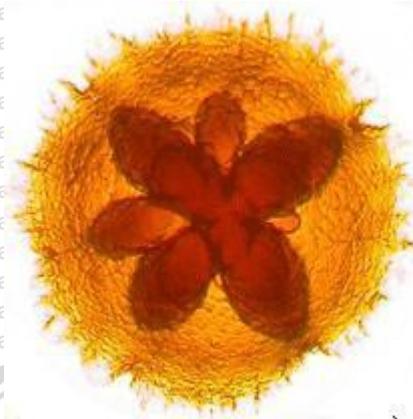
Osteosit mengekspresikan paparan gen yang berbeda dibandingkan dengan osteoblas, osteosit memproduksi protein sklerostin dan sebagian sitokin untuk membantu meregulasi *bone remodelling*. Hubungan dan interaksi dari lakuna-kanalikula dengan sel-sel tulang yang lain yang terjadi terus-menerus menambah peran osteosit pada homeostasis kalsium dan sebagai sensor untuk mendeteksi stress pada tulang, yang sangat penting untuk kelangsungan *bone remodelling* (Mescher, 2013).

Sebagai mechanosensor pada tulang, osteosit dapat menangkap sinyal dan menerjemahkan informasi ke sel-sel yang ada pada permukaan tulang. Penurunan jumlah sel osteosit dapat menyebabkan ketidakmampuan sel untuk memperbaiki *micro damage* dan penurunan aktivitas remodelling yang dapat mengakibatkan terjadinya proses kerusakan tulang. Sinyal yang diterima osteosit akan ditransmisikan ke osteoklas dan osteoblast melalui sekresi sitokin, antara lain OPG dan RANKL (Yuliana, 2012).

2.3 Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

2.3.1 Taksonomi

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gammaproteobacteria</i>
Ordo (Bangsa)	: <i>Pasteurellales</i>
Famili (Suku)	: <i>Pasteurellaceae</i>
Genus (Marga)	: <i>Aggregatibacter</i>
Spesies (Jenis)	: <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>



Gambar 2.13. Bakteri Aa, yang merupakan bakteri *coccobacillus* gram negative yang berbentuk *star-shaped* pada strukturnya dan memiliki rod yang pendek (Sriraman, *et.al.*, 2014).

2.3.2 Karakteristik bakteri

Bakteri Aa merupakan bakteri penyebab penyakit periodontal paling umum ditemukan. Bakteri ini banyak dihubungkan dengan periodontitis pada usia muda dan kasus-kasus periodontitis refraktori pada orang dewasa. Bakteri yang merupakan bakteri gram negative ini biasanya berbentuk kokobasil dengan ukuran sekitar $0.4 \times 1.0 \mu\text{m}$. Bakteri ini merupakan bakteri kapnofilik (membutuhkan atmosfer untuk tumbuh dengan 5-10% karbon dioksida), dan bersifat fakultatif anaerob (Sriraman, *et. al.*, 2014).

Bakteri Aa memiliki produk protein yang memiliki kemampuan untuk menstimulasi sel T *suppressor* dan dapat menghambat produksi immunoglobulin. Bakteri ini menghasilkan faktor virulensi yang memiliki peran paling penting dalam

patogenesis penyakit periodontal, yaitu leukotoksin (Sriraman, *et. al.*, 2014).

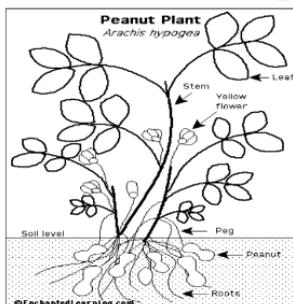
1.3.3 Faktor Virulensi Bakteri Aa

Faktor virulensi bakteri Aa adalah lipopolisakarida (endotoksin), leukotoksin, kolagenase, faktor sitotoksik, faktor penghambat fibroblast, faktor immunosupresif serta faktor penghambat fungsi *adhesive* dan *invasive* dari leukosit PMN. Leukotoksin memiliki efek dekstruktif terhadap neutrophil, monosit, dan limfosit-T yang menyebabkan immunosupresi lokal pada area supragingival dan memiliki peran penting dalam perkembangan *aggressive periodontitis*. Endotoksin memiliki peluang untuk memodulasi respon host dan berpengaruh terhadap kerusakan jaringan. Lipopolisakarida menstimulasi makrofag untuk melepaskan IL-1 β , IL-1, dan TNF. Sitokin dapat menstimulasi resorpsi tulang (Kesic, *et. al.*, 2009).

2.4 Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.)

Gambar 2.14. Gambar Makroskopis Kacang Tanah

Arachis hypogaea L. (Karra, *et al.*, 2013)



2.4.1 Taksonomi

Nama binomial : *Arachis hypogaea* L.

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Ordo : *Fabales*

Famili : *Fabaceae*

Subfamili : *Faboideae*

Genus : *Arachis*

Spesies : *A. hypogaea* (Karra, *et al.*, 2013)

2.4.2 Morfologi

Arachis hypogaea L. merupakan salah satu spesies dari famili Fabaceae dari biji-bijian (Arya, *et al.*, 2015). Tanaman yang merupakan tanaman herbal ini dapat tumbuh setinggi 30 sampai 50 cm. Daun tanaman ini berbentuk menyirip berlawanan dengan 4 daun sepanjang 1-7 cm dan lebar 1-3 cm pada setiap cabangnya. Bunga dari tanaman ini berukuran 2-4 cm dan berwarna kuning kemerahan dengan bentuk bunga seperti *peaflower* (Karra, *et al.*, 2013).

2.4.3 Kandungan nutrisi

Komponen nutrisi yang paling banyak ditemukan didalam kacang tanah diantaranya protein, lemak, dan serat. Masing-masing komponen nutrisi memiliki manfaat untuk tubuh yang berbeda-beda.

Berdasarkan *American peanut council*, lemak dalam kacang mengandung asam lemak *monounsaturated*, asam lemak *saturated*

dan paraformaldehida, yang merupakan kombinasi asam lemak yang aman untuk jantung. Protein pada kacang tanah ditemukan paling banyak jika dibandingkan dengan kelompok biji-bijian yang lain.

Kacang tanah mengandung 20 asam amino dalam berbagai macam jumlah dan merupakan sumber arginine terbesar.

2.5 Kulit Kacang Tanah (*Arachis hypogaea L.*)

2.5.1 Kandungan kulit kacang tanah

Kandungan 60% serat kasar, 25% selulosa, 8% air, 6%, protein, 2% abu, dan 1% lemak dapat ditemukan pada kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) (Karra, et al., 2013). Selain itu, ditemukan juga kandungan flavonoid seperti *luteolin*, *eriodictyol*, dan *5,7-dihydroxychromone* pada tanaman ini. (De Lucca, et al., 1987). Kulit kacang tanah memiliki kandungan luteolin sebesar 546,8-4485,0 mg/kg kulit kacang tanah (Radhakrishnan, et al., 2013).

2.5.2 Efek kandungan kimia kulit kacang tanah

Menurut Kurniasari (2006), sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi, serta antikanker. Flavonoid juga bermanfaat untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah kerusakan tulang, dan sebagai antibiotik (Haris, 2011). Ekstrak kulit kacang tanah terbukti memiliki aktivitas antibakteri, antara lain terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *A. baumannii*, dan *K. pneumoniae* (Al-Azawi, et al., 2017).

Beberapa flavonoid ditemukan dapat menghambat inflamasi pada sejumlah tikus percobaan, salah satunya adalah Luteolin. Luteolin berperan sebagai antiinflamasi dengan menghambat ekspresi gen proinflamatori seperti siklooksigenase-2 (COX2), dan juga TNF α , serta menginduksi nitric oxide synthase dan sitokin (Kim, *et al.*, 2004).

Tabel 2.1 Sitokin proinflamatori yang dihambat oleh flavonoid

(Kim, *et. al.*, 2004)

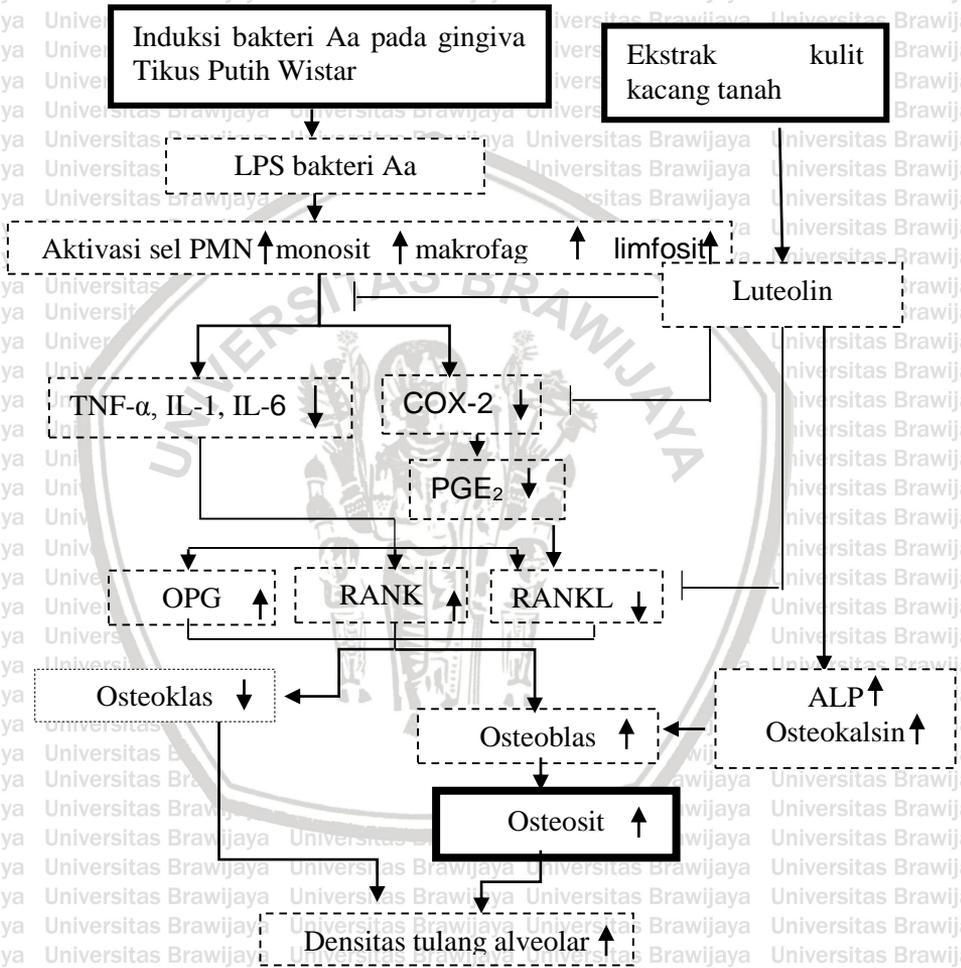
Kandungan	Sekresi sitokin proinflamasi yang dihambat
Genistein	IL-1 β , IL-6, TNF- α
Apigenin	IL-6, IL-8
Wogonin, baicalein, baicalin	IL-1 β
Amoradecin, genistein	TNF- α
Quercetin	TNF- α
Baicalin	IL-1 β , IL-6, TNF- α
Wogonin	TNF- α
Luteolin	TNF- α
Quercetin	IL-1 β , IL-6, TNF- α
Wogonin, baicalein	IL-1 β , IL-6



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



————— : Variabel yang diteliti
 - - - - - : Variabel yang tidak diteliti
 ————— : Penghambatan oleh ekstrak kulit kacang tanah
 ————— : Berpengaruh
 ————— : Berhubungan



3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Bakteri Aa merupakan bakteri anaerob fakultatif, yang dapat menghasilkan LPS. Lipopolisakarida yang dihasilkan menyebabkan terjadinya inflamasi pada gingiva dan apabila tidak dilakukan perawatan maka mediator kimiawi seperti PGE_2 , $\text{TNF}\alpha$, IL-1, dan IL-6 akan terbentuk dan teraktivasi, hal ini menyebabkan peningkatan produksi RANKL sehingga terjadi peningkatan aktivitas dan diferensiasi sel osteoklas serta penurunan jumlah sel osteoblas dan osteosit yang menyebabkan resorpsi tulang alveolar, kemudian terjadi periodontitis.

Ekstrak kulit kacang tanah memiliki kandungan flavonoid yaitu luteolin yang dapat menurunkan produksi $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-6 dan menghambat pembentukan COX-2 sehingga menurunkan produksi PGE_2 . Penurunan $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-6 dapat menyebabkan penurunan produksi RANKL serta peningkatan produksi OPG dan RANK, disamping itu penurunan produksi PGE_2 dapat menyebabkan penurunan produksi RANKL. Luteolin secara langsung menghambat pembentukan RANKL dan meningkatkan produksi ALP serta osteokalsin, hal ini dapat menghambat pembentukan osteoklas dan meningkatkan produksi osteoblas yang kemudian berdiferensiasi menjadi osteosit, sehingga menyebabkan peningkatan densitas tulang alveolar.

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak kulit kacang tanah dapat meningkatkan jumlah osteosit pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi bakteri

Aa



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental murni (*true experimental*) dengan rancangan *randomized post test only control group design* (Adi, *et. al.*, 2013)

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar di Institut Biosains Universitas Brawijaya Malang.

4.2.3 Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi. Kriteria inklusi tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar pada penelitian ini, antara lain:

1. Berjenis kelamin jantan
2. Usia 2-3 bulan
3. Berat 150-200 gram
4. Keadaan umum tikus sehat

Kriteria eksklusi tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar pada penelitian ini, antara lain:

1. Tikus dengan kelainan jaringan periodontal selama penelitian

2. Tikus yang sakit selama penelitian

3. Tikus yang mati selama penelitian

4.2.3 Jumlah Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan teknik pengambilan sampel secara acak sederhana (*simple random sampling*). Untuk mendapatkan data yang valid, Jumlah sampel untuk tiap perlakuan yang digunakan pada penelitian dihitung sesuai dengan rumus Federer (Ayu, 2014):

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

Keterangan:

n = jumlah sampel yang dibutuhkan di setiap perlakuan

t = jumlah perlakuan

Menggunakan rumus diatas, maka perhitungan jumlah sampel yang dibutuhkan adalah:

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

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

$$n-1 \geq 15/4$$

$$n-1 \geq 3,75$$

$$n \geq 3,75+1$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah sampel diatas, maka jumlah sampel yang digunakan adalah 5 sampel untuk setiap kelompok perlakuan, dan ditambahkan cadangan 1 hewan coba tiap kelompok, sehingga total tikus putih yang digunakan pada penelitian ini 30 tikus.

4.3 Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan 3 variabel, yaitu:

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit kacang tanah

2. Variabel tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah osteosit pada tulang alveolar tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar

3. Variabel terkontrol

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah galur tikus, jenis kelamin tikus, berat badan tikus, umur tikus, makanan tikus.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Gedung Institut Biosains Universitas Brawijaya Malang, UPT Laboratorium Herbal Materia Medika Batu, Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian dilakukan selama tiga bulan sepuluh hari, dimulai pada tanggal 13 November 2018 hingga tanggal 20 Februari 2019.

4.5.1 Bahan Penelitian

1. Ekstrak kulit kacang tanah

2. Anastesi

3. Makanan tikus pellet AD2
4. Air minum PDAM
5. Alkohol dengan konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95%, dan 96%
6. Larutan formalin 10%
7. Parafin
8. Alat cetak parafin
9. *Xylo*
10. Air akuades
11. *Water-bath*
12. Pewarna hematoksilin dan eosin
13. EDTA 14% sebagai bahan dekalsifikasi
14. Albumin
15. Ketamine HCl

4.5.2 Alat Penelitian

1. Kandang berupa baskom berukuran 30 x 20 x 20 cm dengan 1 ekor tikus setiap kandang
2. Kawat berbentuk kotak sebagai penutup kandang
3. Sekam sebagai alas kandang
4. Tempat makanan dan minuman tikus
5. Ruangan yang tidak terkena sinar matahari secara langsung
6. Alat timbang Neraca Ohaus
7. Spuit ukuran 3cc
8. Jarum insulin 30G
9. Gunting bedah
10. Pinset bedah
11. Pinset

12. Scalpel

13. Blade holder

14. Kapas

15. Kassa

16. Cawan petri

17. Masker

18. Handsoon

19. Tabung kaca

20. Toples kaca fiksasi berlabel

21. Gelas ukur

22. Mikroskop elektrik olympus BX-51

23. Kamera optilab

24. Botol

25. Rotary vacuum evaporator

26. Bejana maserasi

27. Blender

28. Ayakan

29. Mikrotom

4.6 Definisi Operasional

1. Ekstrak kulit kacang tanah

Ekstrak kulit kacang tanah adalah hasil ekstraksi kulit kacang tanah menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% (Haryoto, *et. al.*, 2010). Kulit kacang tanah diperoleh dari Pasar Tradisional di Kota Malang.

2. Periodontitis

Periodontitis adalah inflamasi pada jaringan periodontal yang disebabkan oleh induksi bakteri Aa. Periodontitis memiliki gejala klinis berupa gingiva mengalami pembengkakan, berwarna kemerahan, kehilangan struktur *stippling*, terbentuk poket periodontal, terjadi perdarahan apabila dilakukan *probing*, dan terjadi kehilangan perlekatan. Secara histologis terjadi penurunan jumlah osteoblas (Carranza, 2015)

3. Osteosit

Osteosit adalah sel yang berada diantara matriks tulang, yang membentuk 90-95% komponen seluler pada jaringan tulang orang dewasa (Schaffler, *et. al.*, 2012).

Sel tulang dapat dilihat pada preparat histologi tulang alveolar dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* menggunakan mikroskop elektrik Olympus BX-51 dengan pembesaran 400x dan penghitungan sel osteosit dihitung per lima lapang pandang (Ketut, 2014).

4. Bakteri Aa

Bakteri Aa merupakan bakteri gram negatif penyebab periodontitis (Sriraman, *et. al.*, 2014). Bakteri Aa didapatkan dan dibeli di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Bakteri diinjeksikan pada sisi mesiolabial insisif pertama rahang bawah tikus dengan dosis 0,1 ml (Andayani, *et al.*, 2016).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Ethical Clearance

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

4.7.2 Persiapan Hewan Coba

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar diadaptasikan selama 1 minggu dengan lingkungan baru di Institut Biosains Universitas Brawijaya. Tikus ditempatkan pada kandang ukuran 30 x 20 x 20 cm dengan tutup berupa anyaman kawat, dasar kandang diberi sekam bersih yang diganti setiap 3 hari sekali. Suhu ruangan 25 - 27°C, dengan cahaya 12 jam terang dan 12 jam gelap (Ayu, 2014). Tikus diberi pakan standar pellet AD2, pakan diberikan sebanyak 10% bobot badan, yaitu sekitar 15-20 gram/ekor/hari. Air minum diberikan secara *ad libitum* (Widiartini, *et al.*, 2013).

2. Setiap kandang berisi 1 tikus. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok secara acak, dengan masing-masing kelompok berisi 5 tikus dengan tambahan 1 tikus cadangan (Hidayati, *et al.*, 2008).

4.7.3 Pembuatan ekstrak kulit kacang tanah

Ekstraksi kulit kacang tanah dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medika Batu. Teknik ekstraksi yang digunakan

adalah teknik maserasi dengan pelarut etanol 70%. Tahapan ekstraksi yang dilakukan yaitu:

1. Persiapan bahan dan alat
2. Kulit kacang tanah yang digunakan pada penelitian ini didapat dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (BALITKABI) di Kota Malang
3. Kulit kacang tanah dicuci menggunakan air kemudian dijemur di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam. Kulit kacang tanah yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan.
4. Kulit kacang tanah sebanyak 4000 gram dimasukkan ke dalam bejana maserasi kemudian dituangkan larutan etanol 70% sebanyak 25 L dan diaduk selama 6 jam kemudian dibiarkan selama 24 jam.
5. Ekstrak dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dan diuapkan melalui pemanasan sampai diperoleh ekstrak kental (Haryoto, *et. al.*, 2010).

4.7.4 Tahap Pengelompokkan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan 30 tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan. Tikus dipilih secara acak dan dibagi menjadi 5 kelompok dengan setiap kelompok berisi 5 tikus dan 1 tikus cadangan tiap kelompok. Pembagian kelompok tersebut, yaitu:

1. Kelompok kontrol negatif (K-). Tikus tidak diinduksi bakteri Aa dan tidak diberi ekstrak kulit kacang tanah

2. Kelompok kontrol positif (K+). Tikus diinduksi bakteri Aa dan tidak diberi ekstrak kulit kacang tanah
3. Kelompok perlakuan 1 (P1). Tikus diinduksi bakteri Aa dan diberi ekstrak kulit kacang tanah dengan dosis 50 mg/kgBB
4. Kelompok perlakuan 2 (P2). Tikus diinduksi bakteri Aa dan diberi ekstrak kulit kacang tanah dengan dosis 100 mg/kgBB
5. Kelompok perlakuan 3 (P3). Tikus diinduksi bakteri Aa dan diberi ekstrak kulit kacang tanah dengan dosis 200 mg/kgBB (Haryoto, *et al.*, 2010)

4.7.5 Prosedur Induksi Bakteri Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Bakteri Aa dengan konsentrasi $\pm 1 \times 10^8$ sel/ml diinduksikan pada tikus yang berjumlah 24 ekor sesuai dengan masing-masing kelompok (K+, P1, P2, dan P3) sebanyak 0,1 ml setiap tiga hari sekali selama tiga minggu hingga menimbulkan gejala periodontitis seperti kehilangan perlekatan dan gigi goyang. Induksi bakteri Aa dilakukan pada sisi mesiolabial insisif pertama rahang bawah tikus (Jia, *et al.*, 2015; Siregar, *et al.*, 2015).

4.7.6 Prosedur Aplikasi Bahan Perlakuan

Ekstrak kulit kacang diaplikasikan secara per oral menggunakan sonde gastric 1 kali sehari selama 28 hari pada kelompok perlakuan sesuai dengan masing-masing konsentrasi (Kose, *et al.*, 2016). Kelompok perlakuan P1 diberikan konsentrasi ekstrak kulit kacang sebesar 50 mg/kgBB. Kelompok perlakuan P2

diberikan konsentrasi ekstrak kulit kacang sebesar 100 mg/kgBB. Kelompok perlakuan P3 diberikan konsentrasi ekstrak kulit kacang sebesar 200mg/kgBB (Hartoyo, *et. al.*, 2010).

4.7.7 Pembedahan Tulang Alveolar Mandibula/Pengambilan

Sampel

Pada hari ke-50 tikus dikorbankan dengan cara pemberian anastesi total ketamine sebesar 100 mg/kgBB lalu dilakukan *cervical dislocation* (pemutaran leher) (Siahaan, *et. al.*, 2017). Jaringan tulang mandibula tikus diambil menggunakan *scalpel* atau gunting dan ditempatkan dalam wadah tertutup berisi buffer formalin 10% untuk fiksasi dan dikirim ke laboratorium untuk dibuat sediaan mikroskopis.

Jasad tikus kemudian dikuburkan secara layak (Ayu, 2014).

4.7.8 Pembuatan Blok Parafin dan Preparat

1. Jaringan tulang mandibula yang diambil dilakukan fiksasi dengan buffer formalin 10% selama 24 jam.
2. Sampel kemudian dicuci dengan air mengalir kemudian dilakukan proses dekalsifikasi menggunakan larutan EDTA 14% selama 30 hari.
3. Setelah proses dekalsifikasi, sampel diduci menggunakan air lalu dilakukan proses dehidrasi dengan direndam pada alkohol konsentrasi bertingkat yaitu alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, masing-masing selama 1 hari. Selanjutnya sampel direndam pada alkohol 95% dan alkohol 96% masing-masing selama 2 hari

4. Proses *clearing* atau penjernihan dilakukan setelah dehidrasi selesai dengan menggunakan larutan *xylol* I dan *xylol* II masing-masing selama 15 menit.
5. Selanjutnya dilakukan proses impregnasi, prosedur tersebut dilakukan dengan infiltrasi parafin cair pada suhu 57-59 °C kedalam kotak parafin untuk mengisi rongga dalam jaringan yang ditempati oleh air sehingga terbentuk blok parafin.
6. Blok parafin dimasukkan kedalam *freezer* untuk didinginkan selama 24 jam agar tidak terlalu lunak
7. Sampel dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan berkisar 3-6 µm, lalu sayatan diletakkan pada water bath suhu 55°C, tujuannya agar lembaran/ pita parafin terkembang dengan baik.
8. Setelah pita parafin terkembang dengan baik, tempelkan parafin ke kaca objek yang telah terlebih dahulu diolesi dengan albumin
9. Simpan kaca objek berisi potongan parafin dan jaringan selama semalaman (12 jam) agar benar-benar kering dan dilakukan pewarnaan dengan menggunakan Harris *Hematoxylin – Eosin* (HE) (Munthi, 2001)

4.7.9 Pencegatan Preparat Jaringan

Jaringan tulang mandibula dilakukan pengecatan menggunakan *Hematoxylin – Eosin* (HE)

1. Preparat dilakukan deparafinisasi menggunakan *xylol*

2. Preparat dimasukkan ke dalam larutan *xylol* I dan bak II selama 2 menit
3. Kemudian dimasukkan ke dalam alkohol 96%, alkohol 95%, alkohol 90%, alkohol 80% selama masing-masing 1 menit
4. Cuci dalam air mengalir selama kurang lebih 10 menit.
5. Rendam dalam larutan *Hematoxylin Mayer* selama 5-10 menit
6. Bilas dalam air mengalir selama 15-20 menit
7. Rendam dalam larutan eosin selama 3 menit
8. Dehidrasi dalam serial alkohol dengan gradasi konsentrasi yang meningkat, alkohol 95%, alkohol 96% sebanyak 2 kali selama 2 menit
9. Rendam kembali dalam *xylol* sebanyak 2 kali selama 2 menit.
10. Terakhir dilakukan prosedur mounting agar preparat awet dan menambah kejernihan, kemudian ditutup *deck glass* dan diberi label (Muntiha, 2001).

4.7.10 Perhitungan Jumlah Osteosit

Pada tahap pengamatan, dilakukan penghitungan jumlah osteosit pada tulang alveolar menggunakan mikroskop elektrik dengan perbesaran 400x sebanyak 5 lapang pandang yakni 2 lapang pandang daerah 1/3 servikal, 2 lapang pandang daerah 1/3 tengah, dan 1 lapang pandang daerah 1/3 apikal. Pengamatan dilakukan pada tepi tulang alveolar di daerah mesiolabial dari gigi insisiv kemudian dirata-rata. Pengamatan ini dilakukan 3 kali pengamatan (Rizqi, *et*

al., 2016). Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop biologi Olympus BX-51 dengan kamera Opti Lab, lalu dilakukan scanning daerah pengamatan yang dipilih, lalu dilakukan penelitian berdasarkan 5 lapang pandang yang sudah ditentukan menggunakan aplikasi OlyVIA. Perhitungan osteosit tiap lapang pandang menggunakan aplikasi untuk penghitung sel yaitu Cell Count.

4.8 Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil perhitungan jumlah osteoblas pada tulang alveolar tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar dianalisis secara statistik menggunakan aplikasi SPSS. Langkah-langkah analisis statistik yang dilakukan, yaitu:

1. Uji normalitas

Uji normalitas adalah pengujian data untuk melihat apakah sebaran data pada sebuah kelompok data atau variable terdistribusi normal atau tidak

2. Uji homogenitas

Uji homogenitas digunakan untuk mengetahui apakah sekelompok data yang dimanipulasi dalam sejumlah analisis berasal dari populasi yang tidak jauh berbeda variasinya. Uji ini dilakukan sebagai prasyarat dalam analisis independent sample t test dan ANOVA

3. Uji *One way* Anova

Uji Anova adalah uji komparatif yang digunakan untuk menguji perbedaan mean (rata-rata) data lebih dari dua kelompok. Uji anova digunakan sebagai alat analisis untuk

menguji hipotesis penelitian yang mana menilai adakah perbedaan rerata antara kelompok.

4. Uji Post-Hoc (Uji Turkey)

Uji Post-Hoc merupakan uji lanjutan setelah uji *one way* anova yang berfungsi untuk mengetahui secara signifikan perbedaan dalam kelompok dan hasil dari tes ANOVA.

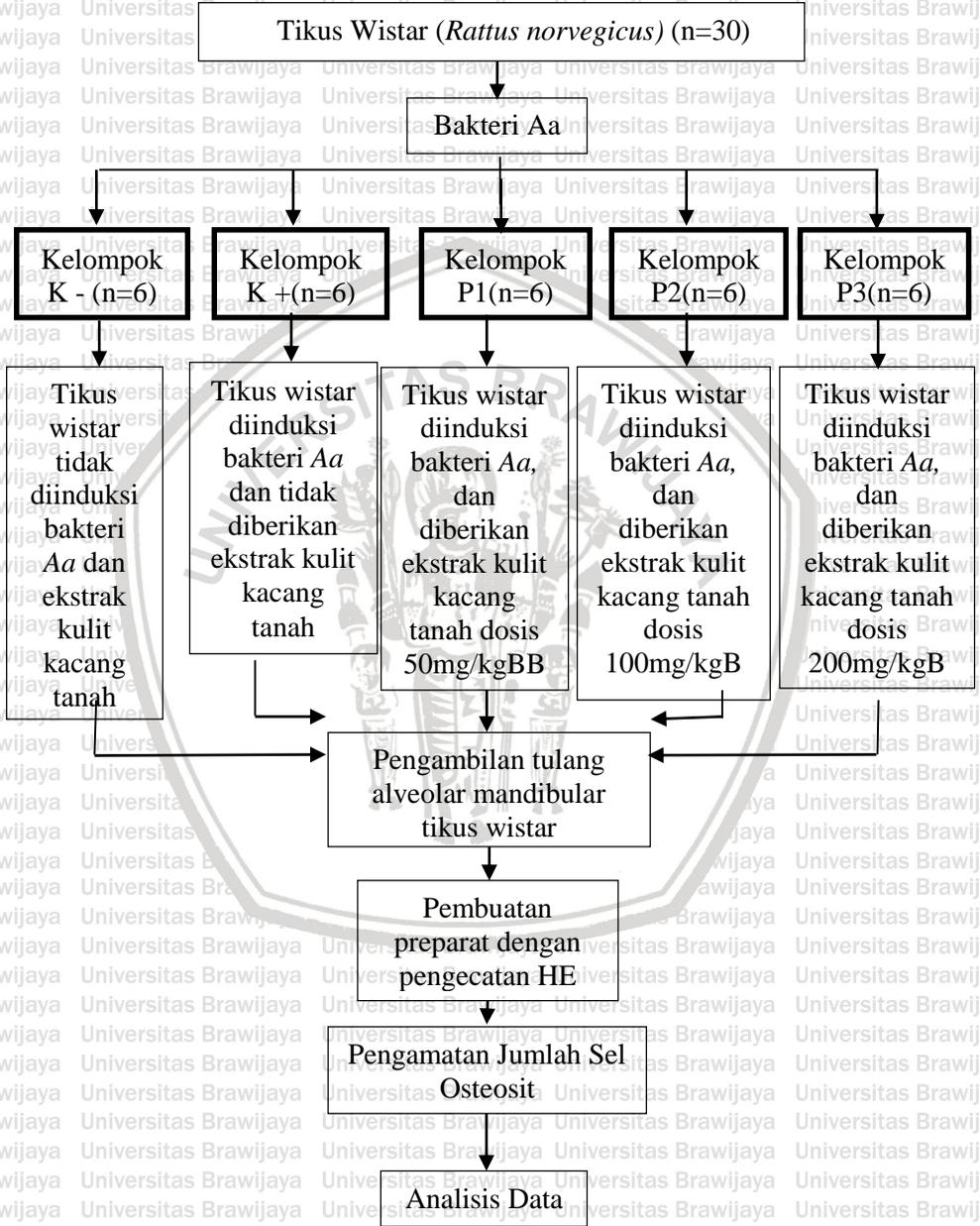
5. Uji Korelasi Pearson

Uji korelasi pearson dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat hubungan atau korelasi antara dua variabel penelitian serta mengetahui arah hubungan antar kedua variabel tersebut ANOVA

(Budiarto, 2015).



4.9 Alur Penelitian



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Pengukuran Poket Periodontal

Pengukuran poket periodontal pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya pendalaman sulkus gingiva secara patologis akibat induksi bakteri Aa. 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.

Tabel 5.1 Hasil pengukuran kedalaman poket periodontal

Kelompok	1	2	3	4	5	6	rata - rata
Negatif	0 mm	0 mm	0 mm	0mm	0mm		0 mm
Positif	1 mm		0,5 mm	2 mm	2 mm	1,5 mm	1,4 mm
Perlakuan 1	1 mm	1 mm	2 mm	2 mm	0,5 mm	1 mm	1,25 mm
Perlakuan 2	0,5 mm						
Perlakuan 3	0,5 mm	0,5 mm	1 mm	1 mm	2 mm	2 mm	1,2 mm

Ket: [] Hewan coba mati



Dari data tersebut, didapatkan kedalaman poket terbesar pada kelompok kontrol (+) dan terkecil pada kelompok perlakuan 2. Kedalaman poket menandakan tingkat keparahan periodontitis.

5.1.2 Hasil 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.

Tabel 5.2. Tabel Kegoyangan gigi 13 Desember 2018

K -		K +		P1		P2		P3	
1	-	1	+	1	+	1	+	1	+
2	-	2	+	2	+	2	+	2	+
3	-	3	+	3	+	3	+	3	+
4	-	4	+	4	+	4	+	4	+
5	-	5	+	5	+	5	+	5	+
6	■	6	+	6	+	6	+	6	+

Ket: - Tidak ada kegoyangan

+ Ada Kegoyangan

■ Hewan coba mati

Berdasarkan tabel diatas kelompok yang diinduksikan bakteri Aa yaitu kelompok kontrol positif (K+), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3) positif terdapat



kegoyangan gigi sedangkan pada kelompok kontrol negatif (K-) tidak terdapat kegoyangan gigi. Kegoyangan gigi pada hewan coba menandakan bahwa hewan coba memiliki gejala periodontitis.

Tabel berikut ini merupakan hasil pengukuran kegoyangan gigi setelah hewan coba diberikan perlakuan atau sebelum hewan coba dikorbankan yang diukur pada tanggal 10 Januari 2019 :

Tabel 5.3. Tabel Kegoyangan gigi 10 Januari 2019

K -		K+		P1		P2		P3	
1	-	1	+	1	-	1	-	1	-
2	-	2	■	2	+	2	-	2	-
3	-	3	+	3	+	3	-	3	-
4	-	4	+	4	+	4	-	4	-
5	-	5	+	5	+	5	+	5	-
6	■	6	+	6	-	6	+	6	-

Ket: - Tidak ada kegoyangan

+ Ada Kegoyangan

■ Hewan coba mati

Berdasarkan tabel diatas kelompok kontrol positif (K+) pada setiap hewan coba masih terdapat kegoyangan gigi, sedangkan untuk kelompok yang lain mulai beberapa hewan coba saja yang positif terdapat kegoyangan gigi. Hal ini menunjukkan bahwa gejala periodontitis yaitu kegoyangan gigi mulai menghilang pada kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) dan untuk kelompok kontrol negatif (K-) hasil pengukuran kegoyangan gigi



menunjukkan bahwa hewan coba tidak mengalami gejala periodontitis.

5.1.3 Hasil Perhitungan Jumlah Osteosit

Penelitian menggunakan tikus strain wistar yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu:

1. Kelompok kontrol negatif (K-). Tikus tidak diinduksi bakteri Aa dan tidak diberi ekstrak kulit kacang tanah
2. Kelompok kontrol positif (K+). Tikus diinduksi bakteri Aa dan tidak diberi ekstrak kulit kacang tanah
3. Kelompok perlakuan 1 (P1). Tikus diinduksi bakteri Aa dan diberi ekstrak kulit kacang tanah dengan dosis 50 mg/kgBB
4. Kelompok perlakuan 2 (P2). Tikus diinduksi bakteri Aa dan diberi ekstrak kulit kacang tanah dengan dosis 100 mg/kgBB
5. Kelompok perlakuan 3 (P3). Tikus diinduksi bakteri Aa dan diberi ekstrak kulit kacang tanah dengan dosis 200 mg/kgBB

Penimbangan berat badan tikus dilakukan sebelum prosedur pembedahan yaitu saat tikus pertama kali datang dan belum mendapat perlakuan apapun, selama 1 minggu saat masa adaptasi dilakukan, dan setiap 3 hari sekali selama penelitian berlangsung, termasuk setelah injeksi bakteri Aa, dan setelah pemberian ekstrak.

Penghitungan jumlah sel osteosit dilihat pada H+28 pasca pemberian ekstrak kulit kacang tanah setelah dibuat preparat

histologis dengan pewarnaan HE. Preparat tulang alveolar tikus wistar sebanyak 28 sampel diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x sebanyak 5 lapang pandang, yaitu 2 lapang pandang daerah 1/3 servikal, 2 lapang pandang daerah 1/3 tengah, dan 1 lapang pandang daerah 1/3 apikal. Pengamatan dilakukan pada tepi tulang alveolar di daerah mesiolabial dari gigi insisiv kemudian dirata-rata. Perhitungan jumlah osteosit menunjukkan hasil sebagai berikut:

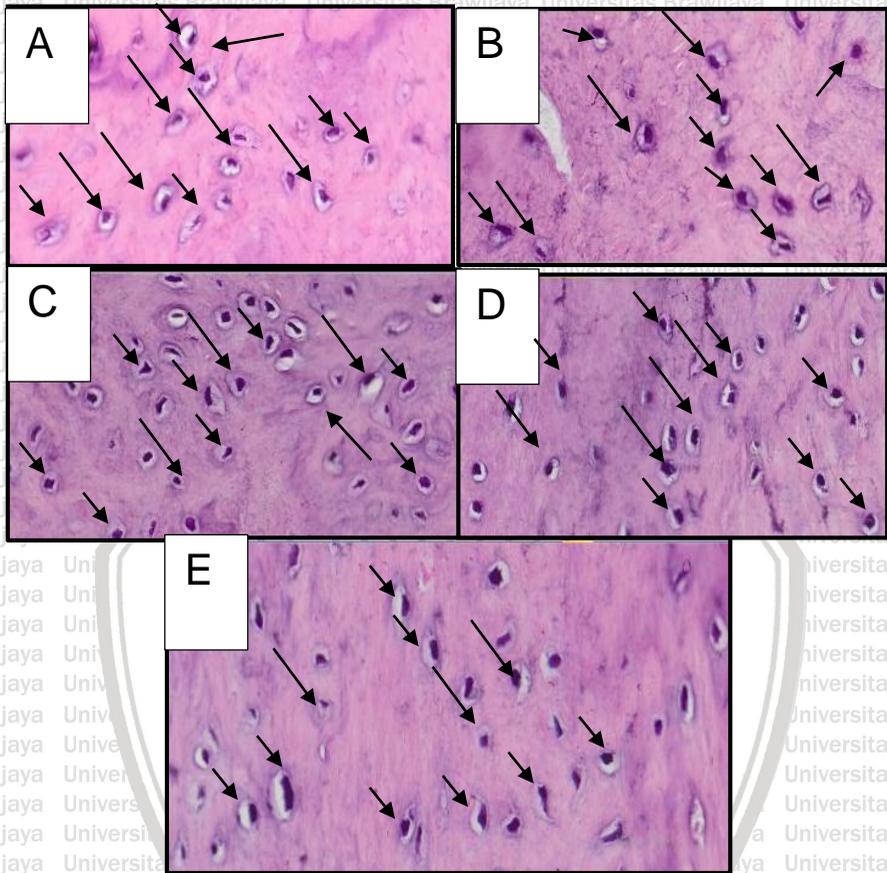
Tabel 5.3 Hasil perhitungan jumlah osteosit

No	JUMLAH OSTEOSIT (PER LAPANG PANDANG)				
	K(-)	K (+)	KP1	KP2	KP3
1	119	77	110	85	85
2	107		92	107	114
3	112	95	93	169	108
4	130	58	110	128	107
5	100	95	155	120	110
6		99	134	119	100
RATA-RATA	113,60	84,80	115,67	121,33	104,00

Ket: Hewan coba mati

Dari hasil penghitungan osteosit menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan yang diberikan dosis 100 mg/kgBB menunjukkan hasil perhitungan osteosit yang paling tinggi dibandingkan kelompok perlakuan dengan dosis 200 mg/kgBB dan 50 mg/kgBB.





Gambar 5.1. Perbandingan histologis tulang alveolar tikus dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin menggunakan mikroskop elektrik Olympus BX51 dengan perbesaran 400x: (A) Kelompok K⁻, (B) Kelompok K⁺, (C) KPI, (D) KP2, (E) KP3. Tanda panah menunjukkan sel osteosit

5.2 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 Data

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 $\alpha = 0,283$ (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.

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 *Levene Statistic* $\alpha = 0,359$ (lebih besar dari 0,05). Sehingga data dikatakan homogen dan uji Oneway ANOVA dapat dilakukan karena syaratnya terpenuhi.

5.2.3 Uji One Way Anova (Analysis of Variance)

Analisis menggunakan metode Oneway ANOVA untuk mengetahui apakah ada pengaruh pemberian ekstrak kulit kacang tanah terhadap jumlah osteosit pada tulang alveolar hewan coba. Apabila nilai $\alpha < 0,05$ maka H_1 diterima dan H_0 ditolak. Dari hasil

uji one way ANOVA didapatkan nilai $\alpha = 0,034$. Hasil uji one way ANOVA pada penelitian ini adalah terdapat pengaruh pemberian pengaruh ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea l.*) terhadap jumlah osteosit pada tulang alveolar tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi bakteri Aa. Setelah itu dilakukan analisis lanjutan menggunakan uji *Post Hoc Test* untuk mengetahui kelompok dosis manakah yang memiliki pengaruh signifikan.

5.2.4 Uji Post-Hoc *Multiple Comparison*

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 100 mg/kgBB memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol positif. Namun kelompok perlakuan dosis 100 mg/kgBB tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan dosis 50 mg/kgBB ataupun kelompok perlakuan dengan dosis 200 mg/kgBB.

5.2.5 Uji Korelasi dan Regresi

Uji korelasi pearson digunakan untuk mengetahui hubungan antar dua variabel yang terlibat. Pada penelitian ini uji korelasi pearson digunakan untuk mengetahui apakah terdapat kontribusi ekstrak kulit kacang tanah terhadap jumlah osteosit pada tulang alveolar tikus yang diinduksi bakteri Aa. Hubungan antar dua variabel tersebut dinyatakan memiliki korelasi yang signifikan apabila nilai signifikansi lebih besar dari 0,05.

Berdasarkan perhitungan diperoleh nilai signifikansi korelasi sebesar 0,558 (positif). Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara pemberian ekstrak kulit kacang tanah terhadap jumlah osteosit pada tulang alveolar tikus yang diinduksi bakteri Aa. Nilai signifikansi yang positif menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang positif, yaitu pemberian ekstrak kulit kacang tanah dapat meningkatkan jumlah osteosit pada tulang alveolar tikus yang diinduksi bakteri Aa.



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) terhadap jumlah osteosit pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) akibat induksi dari bakteri Aa. Pembentukan model periodontitis dilakukan dengan cara bakteri Aa diinjeksikan pada sulkus gingiva gigi insisif pertama rahang bawah bagian mesiolabial selama 21 hari sehingga dapat menunjukkan gejala klinis yang bervariasi yaitu adanya kemerahan, kegoyangan gigi yang diperiksa menggunakan pinset dental, dan adanya poket.

Penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok control negatif (tidak mendapat perlakuan apapun), kelompok control positif yang diinduksi bakteri Aa, kelompok perlakuan 1 yaitu kelompok diinduksi bakteri Aa dan diberikan ekstrak *Arachis hypogaea L.* dengan dosis 50 mg/kgBB, kelompok perlakuan 2 yang diinduksi bakteri Aa dan diberikan ekstrak *Arachis hypogaea L.* dengan dosis 100 mg/kgBB, dan kelompok perlakuan 3 yang diinduksi bakteri Aa dan diberikan ekstrak *Arachis hypogaea L.* dengan dosis 200 mg/kgBB.

Uji *oneway* ANOVA menunjukkan perbedaan yang bermakna pada jumlah osteosit yang berarti bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak kulit kacang tanah *Arachis hypogaea L.* terhadap jumlah osteosit akibat induksi dari bakteri Aa.

Perubahan jumlah osteosit dapat dilihat pada kelompok control positif, hasil rata-rata yang didapatkan dari penghitungan



jumlah osteosit yaitu sebanyak 82,80 menunjukkan terjadinya penurunan jumlah osteosit dibandingkan rata-rata jumlah osteosit pada kelompok control negative, yaitu sebanyak 113,60 per lapang pandang. Menurut penelitian Kumar pada tahun 2007, hal ini dapat disebabkan oleh LPS yang dilepaskan oleh bakteri Aa yang dapat berperan menjadi stimulator inflamasi jika diinjeksikan secara in vivo karena LPS tersebut dapat menembus ke dalam jaringan periradikuler dan dapat menyebabkan inflamasi pada jaringan periradikuler dan selanjutnya dapat terjadi kerusakan tulang.

LPS yang dilepaskan oleh bakteri Aa juga bersifat endotoksin karena mampu berikatan dengan reseptor permukaan sel pada monosit dan makrofag. Monosit dan makrofag yang berikatan dengan bakteri akan menginduksi asam arakidonat yang dapat mensekresi sitokin proinflamatori yaitu IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF- α dan PGE $_2$. Prostaglandin dan sitokin proinflamatori berperan penting pada tulang yaitu dapat mengakibatkan terjadinya pembentukan osteoklas, menghambat diferensiasi dan aktivitas dari osteoblast sehingga jumlah osteoblast dan osteosit akan menurun, dan selanjutnya terjadi destruksi tulang.

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 dan rata-rata jumlah osteosit sebanyak 113,60 per lapang pandang.

Pada kelompok kontrol positif yaitu kelompok yang diinduksi Aa didapatkan rata-rata kedalaman poket 1,4 mm, ada

kegoyangan gigi, dan rata-rata jumlah osteosit sebanyak 82,80 per lapang pandang.

Pada kelompok perlakuan 1 yaitu kelompok yang diinduksi bakteri Aa dan diberi terapi ekstrak kulit kacang tanah dosis 50mg/kgBB didapatkan rata-rata kedalaman poket 1,25 mm, ada kegoyangan gigi dan rata-rata jumlah osteosit sebanyak 115,67 per lapang pandang.

Pada kelompok perlakuan 2 yaitu kelompok yang diinduksi bakteri Aa dan diberi terapi ekstrak kulit kacang tanah dosis 100mg/kgBB didapatkan rata-rata kedalaman poket 0,5 mm, tidak ada kegoyangan gigi dan rata-rata jumlah osteosit sebanyak 121,33 per lapang pandang.

Pada kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok yang diinduksi bakteri Aa dan diberi terapi ekstrak kulit kacang tanah dosis 200mg/kgBB didapatkan rata-rata kedalaman poket 1,2 mm, tidak ada kegoyangan gigi dan rata-rata jumlah osteosit sebanyak 104,00 per lapang pandang.

Hasil pengamatan histologis terlihat osteosit pada kelompok P2 lebih tersebar merata dibandingkan dengan kelompok control positif. Pada uji statistic one way ANOVA pada penelitian ini menunjukkan bahwa H_1 diterima yang dapat diartikan terdapat pengaruh pemberian pengaruh ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea l.*) terhadap jumlah osteosit pada model periodontitis tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi bakteri Aa. Dari hasil uji statistic *post hoc* antara kelompok P2 dan P1 adalah 0,987 ($p>0,05$) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara

kelompok P1 dan P2, sehingga dosis yang diyakini memiliki pengaruh paling besar dalam jumlah osteosit adalah dosis yang digunakan pada kelompok perlakuan 2 (100mg/kgBB) karena jumlah osteosit pada kelompok P2 lebih besar daripada P1.

Kesimpulan dari uji korelasi *pearson* didapatkan hubungan yang sangat kuat antar pemberian ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) dengan jumlah osteosit pasca induksi bakteri Aa. Arah korelasi yang positif menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang positif, yaitu pemberian ekstrak kulit kacang tanah dapat meningkatkan jumlah osteosit pada tulang alveolar tikus yang diinduksi bakteri Aa.

Menurut penelitian Al-Azawi pada tahun 2017, kulit kacang tanah memiliki aktivitas antibakteri. Kulit kacang tanah mengandung flavonoid yang dapat meningkatkan efek antiinflamasi, mencegah kerusakan tulang. Salah satu flavonoid yang ditemukan pada kulit kacang tanah yaitu luteolin. Menurut Kim pada tahun 2004 luteolin dapat menghambat ekspresi gen proinflamatori seperti COX2 (siklooksigenase-2) sehingga menurunkan produksi PGE₂, IL-1, IL-6 dan juga TNF- α . Penurunan TNF- α , IL-1, IL-6 menyebabkan penurunan produksi RANKL serta peningkatan produksi OPG dan RANK, disamping itu penurunan produksi PGE₂ dapat menyebabkan penurunan produksi RANKL. Luteolin secara langsung menghambat pembentukan RANKL dan meningkatkan produksi ALP serta osteokalsin, hal ini dapat menghambat pembentukan osteoklas dan meningkatkan produksi osteoblas yang kemudian berdiferensiasi

menjadi osteosit, sehingga menyebabkan peningkatan densitas tulang alveolar.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) dapat mempengaruhi proses penyembuhan periodontitis melalui regenerasi tulang alveolar, dilihat dari peningkatan jumlah sel osteosit pada tikus wistar yang diinduksi Aa dan dosisi yang memiliki pengaruh paling besar dalam meningkatnya jumlah osteosit terdapat pada kelompok perlakuan 2 yaitu ekstrak *Arachis hypogaea L.* dengan dosisi 100 mg/kgBB.

Kelemahan pada penelitian ini adalah belum dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak kulit kacang tanah terhadap kasus periodontitis dengan manifestasi penyakit sistemik, dan belum dilakukannya penelitian mengenai ekstrak kulit kacang tanah jika diberikan dalam dosis yang lebih tinggi, dan jika diberikan pada jangka waktu yang lama. Selain itu, penelitian ini juga belum dilengkapi dengan adanya uji toksisitas dosis ekstrak kulit kacang tanah.

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa

1. Ada pengaruh pemberian ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) terhadap jumlah osteosit pada tikus wistar yang diinduksi bakteri Aa
2. Ekstrak kulit kacang tanah dapat meningkatkan jumlah osteosit pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi bakteri Aa
3. Terdapat perbedaan yang signifikan antara jumlah sel osteosit pada variasi dosis ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) dengan jumlah osteosit pada kelompok yang diinduksi Aa. Dosis yang dapat memberikan pengaruh paling besar dalam meningkatnya jumlah osteosit adalah dosis 100mg/kgBB.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) pada kasus periodontitis dengan penyakit sistemik
2. Perlu dilakukan variasi lama pemberian ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) untuk melihat adanya efek samping jika diberikan dalam jangka waktu panjang
3. Perlu dilakukan pengujian toksisitas dosis ekstrak ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) jika diberikan dengan dosis yang lebih tinggi.



DAFTAR PUSTAKA

- AL-Azawi, A. H., Hassan, Z. H. 2017. Antibacterial Activity of Arachis Hypogaea L. Seed Coat Extract. *J. Biotechnol*, 14(4): 601-605.
- AlJehani, Yousef A., 2014. *Risk Factors of Periodontal Disease: Review of the Literature*.
- Andayani, R., Imron, A., Rahimi, a. 2016. Kemampuan Air Rebusan Daun Salam (*Eugenia Polyantha* Wight) Terhadap Jumlah Makrofag pada Gambaran Histologi Periodontitis Agresif (Penelitian Pada Tikus Model). *Cakradonya Dent J*, 8(2):79-87
- Ayu, K. V., 2014. Pemberian Minyak Biji Rami (*Linum usitatissimum*) Per Oral Meningkatkan Jumlah Osteoblas dan Kepadatan Tulang pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley dengan Periodontitis. Tesis. Tidak diterbitkan, Program Studi Ilmu Biomedik Universitas Udayana, Bali
- Ayu, Ketut Virtika. 2014. Pemberian Minyak Biji Rami (*Linum usitatissimum*) Per Oral Meningkatkan Jumlah Osteoblas dan Kepadatan Tulang pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague dengan Periodontitis.
- Budiarto, Eko. 2015. Biostatistika untuk Kedokteran dan Kesehatan Masyarakat. Jakarta. EGC
- Carranza, F. A., Newman, M. G., Takei, H. H., 2015, *Clinical Periodontology 12th ed*. WB. Saunders. Philadelphia.
- da Silva, Maelson K., de Carvalho, Antonio C.G., Alves, Even Herlany P., dkk. (2017). *Genetic Factors and the Risk of Periodontitis Development: Findings from a Systematic Review Composed of 13 Studies of Meta-Analysis with 71,531 Participants*. Brazil: International Journal of Dentistry Volume 2017
- De Lucca, A.J., Palmgren, M.S., Daigle D.J. (1987). *Depression of Aflatoxin Production by Flavonoid-Type Compounds from Peanut Shell*. *Phytopathology* 77:1560-1563



- Ermawati, Tantin. (2012). Periodontitis dan Diabetes Melitus. Jember: Stomatognatic (J. K. G Unej) Vol. 9 No. 3 2012: 152 – 154
- Geetha, Karra., Ramarao, Nadenla., Kiran, Shires R. (2013). *An Overview on Arachis Hypogaea Plant*. IJPSR, 2013; Vol. 4(12): 4508-4518
- Haryoto, Yuliati, S. K., Wahyuningtyas, S. 2010. Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Kulit Kacang Tanah (*Arachis hypogaea L.*) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karagenin. *Jurnal Farmasi Indonesia*, Vol. 11, No.1
- Herawati, Dahlia. (2011). Terapi Kombinasi Root Debridement dan Antibiotik terhadap Periodontitis Agresif. Yogyakarta: Maj Ked Gi. 18(2): 200-204
- Hidayati, N. A., Listyawati, S., Setyawan, A. D. 2005. Kandungan Kimia dan Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol Lantana camara L. pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*) Jantan. *Bioteknologi*, 5 (1): 10-17,
- Istiana, S. 2016. Formulasi Sediaan Gel Basis Na-Cmc Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe Pinnata (Lmk.) Pers.*) sebagai Penyembuh Luka Bakar pada Kelinci. Skripsi. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Jia, R., Tomomi, Takizawa, H., Du, Y., Yamamoto, M., Kurita-Ochiai, T. 2015. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans induces Th17 cells in atherosclerotic lesions. FEMS Pathogens and Disease*, Vol. 73, No. 3
- Junqueira, L. C., Carneiro, Jose. 2011. *Histologi Dasar Teks dan Atlas Edisi 10*. Jakarta. EGC
- Kajiya, M., Giro, G., Taubman, M.A., Han, X., Mayer, M.P.A., Kawai, T. 2010. *Role of Periodontal Pathogenic Bacteria in RANKL-Mediated Bone Destruction in Periodontal Disease. J Oral Microbiol*
- Kim, Hyun Pyo., Son, Kun Ho., Chang, Hyeun Wook. (2004). *Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms*. Seoul: J Pharmacol Sci 96: 229-245
- Kornman, K.S., Wilson, T.G. (2003). *Fundamentals of Periodontics: Making a Clinical Diagnosis and Treatment Plan*. 2nd ed. Chicago: Quintessence Publishing Co, Inc.



- Kornman, Kenneth E., 2008. *Mapping the Pathogenesis of Periodontitis: A New Look*. J Periodontol
- Kose, O., Arabaci, T., Yemenoglu, H., Kara, A., Ozkanlar, S., Kayis, S., Duymus, Z. Y. 2016. Influences of Fucoxanthin on Alveolar Bone Resorption in Induced Periodontitis in Rat Molars. Mar. Drugs 2016, 14, 70; doi:10.3390/md14040070
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Buku Ajar Patologi. 7nd ed. Vol.2 Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2007:860-1
- Lachman, L., H.A. Lieberman, dan J.L. Karig. 1994. Teori dan Praktek Farmasi. Industri, Edisi ketiga, Terjemahan : S. Suyatmi. Jakarta: UI Press
- Lindberg, Tülay Yucel., Bage, Toye. (2013). *Inflammatory Mediators in the Pathogenesis of Periodontitis*. Vol. 15. Edisi 7. Cambridge University Press
- Muntiha, M. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E). Temu Teknis Fungsional Non Peneliti Bogor 2001
- Newman, M. G, Takei, H. H., Carranza, F. A. (2015). Carranza's Clinical Periodontology. 12th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co
- Prayitno, SW. 2003. Periodontologi Klinik, Fondasi Kedokteran Gigi Masa Depan. Jakarta, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. pp. 5-25, 44-5.
- Radhakrishnan, R., Pae, S. B., Lee B. K., Baek, I. Y. 2013. Evaluation of luteolin from shells of Korean peanut cultivars for industrial utilization. African Journal of Biotechnology, 12(28): 4477-4480.
- Rizqi, C. K., Harmono, H. Nugroho, R. 2016. Pengaruh Lama Distres Kronis Terhadap Perubahan Jumlah Sel Osteoklas Pada Tulang Alveolar Tikus Sprague dawley. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, vol. 4(no. 1)
- Schaffler, Mitchell B. Kennedy, Oran D. 2012. *Osteocytes Signaling in Bone*. Curr Osteoporos Rep. 2012 Jun; 10(2):118-25
- Siahaan, A. M., Lumintang, M., Riawan, W. 2017. Efek Pemberian Ekstrak Kulit Manggis terhadap Ekspresi Matrix Metalloproteinase 2 dan 9 pada Kejadian Cedera Kepala.

Prosiding Seminar Nasional Peran Herbal Untuk Mencegah Proses Degenerasi, Jogjakarta, 2017. p 7-12.

Siregar, I. H. Y., Supardan, I. Sulistjarso, N. 2015. Pengaruh Pasta Ekstrak Daun Sukun (*ArtocarpusAltilis*) terhadap Perubahan Sel Fibroblas dan Jaringan Kolagen pada Periodontitis. *Jurnal Riset Kesehatan*, Vol. 4 No. 3

Soeroso, Y., *et al.* 2014. Perkembangan Terapi Periodontal Non Bedah Pada Periodontitis Kronis in The Third National Scientifi c Seminar in Periodontics. Hotel Aryaduta, Jakarta 6–7 September 2014, hal. 11–7

Sriraman, P., Mohanraj, R., Neelakantan, P. 2014. Agregatibacter actinomycetemcomitans in Periodontal Disease. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. ISSN: 0975-8585.

Tambunan, Ezra G.R., Pandelaki, Karel., Mintjelungan, Christy N. (2015). Gambaran Penyakit Periodontal pada Penderita Diabetes Melitus di Rumah Sakit Umum Pusat Prof. Dr. R. D Kandou Manado. Volume 3. Nomor 2. Juli-Desember 2015: *Jurnal e-GiGi (eG)*

Tawfig, N. (2016). *Proinflammatory Cytokines and Periodontal Disease*. *J Dent Probl Solut* 3(1): 012-017. DOI: 10.17352/2394-8418.000026

Thomas E., Kenneth SK. (2008). *Inflammation and Factors that may Regulate Inflammatory Response*. *J Periodontal*; 79 (8): 1503-07

Adi, P., Fidyaa, Sandi, N. F. 2013. Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Jumlah Il-6 Pada Gingiva Tikus Yang Diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Jurnal Prodentia*, Vol 1, No 1 (2013), 15-23

Widiartini, W. Siswati, E. Setiyawati, A. Rohmah, I. M. Prastyo, E. 2013. Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Tersertifikas dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium. Prosiding Elektronik PIMNAS Program Kreativitas Mahasiswa – Kewirausahaan