



**EFEK PEMBERIAN PROBIOTIK *Lactobacillus casei*  
TERHADAP JUMLAH SEL POLIMORFONUKLEAR  
NEUTROFIL GINGIVA TIKUS WISTAR JANTAN YANG  
DIINDUKSI LIPOPOLISAKARIDA**

**SKRIPSI**

Oleh

**Magestien Yanuaria Miswandar Shiella  
NIM 071610101096**

**BAGIAN BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2012**



**EFEK PEMBERIAN PROBIOTIK *Lactobacillus casei*  
TERHADAP JUMLAH SEL POLIMORFONUKLEAR  
NEUTROFIL GINGIVA TIKUS WISTAR JANTAN YANG  
DIINDUKSI LIPOPOLISAKARIDA**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

**Magestien Yanuaria Miswandar Shiella  
NIM 071610101096**

**BAGIAN BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2012**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT sumber dari suara hati yang bersifat mulia, sumber ilmu pengetahuan dan sumber dari segala kebenaran yang senantiasa menuntunku dalam setiap langkah dan senantiasa menguatkanmu dalam menghadapi setiap tantangan.
2. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
3. Kedua orang tuaku, Ibuku tersayang, Mamiek Siswanti dan Bapakku tercinta, Dr. Bambang Soepeno M.Pd. yang telah menjadi sumber inspirasiku. Terimakasih atas kasih sayang yang tak terhingga dan kesabaran serta ketulusan luar biasa dalam membimbing dan menjadikan ananda senantiasa tegar dan kuat dalam menapaki setiap tikungan untuk meraih impian. Hanya untaian doa yang dapat ananda haturkan untuk bapak dan ibu agar Allah senantiasa memberi kesehatan dan bimbingan dalam menghadapi hari tua. Serta Kakakku Pascawati Savitri Universitasari dan kedua adikku Deakin Purna Putra dan Dimas Gusti Siaga Putra.
4. Dosen pembimbing saya drg. M. Nurul Amin, M.Kes, terima kasih telah mengikutsertakan saya dalam penelitian ini, dan memberi saya kesempatan untuk melakukan hal yang terbaik dalam hidup saya, serta drg. Zahara Meilawaty, M.Kes dan drg. Desi Sandra Sari, MD.Sc, terima kasih atas bimbingan dan bantuan yang diberikan selama ini demi kesempurnaan penulisan skripsi saya.
5. Arvian Pandu Wirawan terima kasih atas segala cinta, kasih sayang, dukungan, dan doa yang telah diberikan.
6. Teman-teman seperjuangan penelitianku, Lintang Nurina, Endiki Surya Wira Pratama, dan Darra Ayu Nindyasari, terimakasih atas kerjasamanya.
7. Semua guru dan sahabatku yang tidak tersebut disini terimakasih atas semangat, dukungan serta doa yang diberikan, semoga Allah SWT membalas semua perbuatan baik kalian.

## **MOTTO**

“Life to short to be ordinary, Explore and Catch!”

“Imagination is more important than knowledge, for knowledge is limited while  
imagination embraces the entire world”

(Albert Einstein)

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah  
selesai (dari satu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain  
dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.”

(Q.S. Al-Insyirah: 6-8)

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Magestien Yanuaria Miswandar Shiella

NIM : 071610101096

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul :

“Efek Pemberian Bakteri Probiotik *Lactobacillus casei* terhadap Jumlah Sel Polimorfonuklear Neutrofil Gingiva Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Lipopolisakarida” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 31 Januari 2012

Yang menyatakan,

Magestien Yanuaria M.S.

071610101096

## **SKRIPSI**

# **EFEK PEMBERIAN PROBIOTIK *Lactobacillus casei* TERHADAP JUMLAH SEL POLIMORFONUKLEAR NEUTROFIL GINGIVA TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI LIPOPOLISAKARIDA**

Oleh :

**MAGESTIEN YANUARIA MISWANDAR SHIELLA**  
NIM 071610101096

**Pembimbing**

Dosen Pembimbing Utama : drg. M. Nurul Amin, M.Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Zahara Meilawaty, M.Kes.

## PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Efek Pemberian Bakteri Probiotik *Lactobacillus casei* terhadap Jumlah Sel Polimorfonuklear Neutrofil Gingiva Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Lipopolisakarida” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

Hari, tanggal : Selasa, 31 Januari 2012

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji  
Ketua,

**drg. M. Nurul Amin, M.Kes**  
NIP 197702042002121002

Anggota I,

Anggota II,

**drg. Zahara Meliawaty, M.Kes.**  
NIP 198005272008122002

**drg. Desi Sandra Sari, MD. Sc.**  
NIP 197512152003122005

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

**drg. Hj. Herniyati, M.Kes**  
NIP 195909061985032001

## RINGKASAN

**Efek Pemberian Bakteri Probiotik *Lactobacillus casei* terhadap Jumlah Sel Polimorfonuklear Neutrofil Gingiva Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Lipopolisakarida;** Magestien Yanuaria M.S, 071610101096; 2012; 57 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi.

Bakteri merupakan kelompok organisme flora normal terbanyak dalam rongga mulut. Bakteri rongga mulut berperan dalam pembentukan sistem imun dan memberikan pertahanan terhadap kolonisasi mikroorganisme patogen, akan tetapi mikrobiota rongga mulut juga dapat menjadi kumpulan bakteri yang mempunyai potensi patogen dan dapat merusak jaringan rongga mulut, contohnya adalah jaringan periodontal. Bakteri gram negatif anaerob memiliki endotoksin biologi aktif atau lipopolisakarida (LPS) yang dapat menyebabkan aktivitas biologis sehingga terjadi peradangan. Peradangan akut diperantarai oleh granulosit polimorfonuklear, yang juga disebut neutrofil. Neutrofil adalah sel yang aktif pada awal reaksi radang. Neutrofil PMN ini memiliki kemampuan untuk menyerang dan menghancurkan bakteri, virus dan bahan-bahan yang merugikan lain yang menyerbu masuk ke dalam tubuh.

Bakteri probiotik mampu menstimulasi sistem imun antara lain meningkatkan fungsi fagositosis makrofag, *NK cells*, neutrofil, merangsang sekresi IgM dan meningkatkan produksi IgA, dengan hasil akhir meningkatkan produksi antibodi secara lokal maupun sistemik. *Lactobacillus* lebih umum digunakan sebagai probiotik sebab mudah didapat dan efektif dalam mencegah perlekatan bakteri patogen seperti *Escheria coli* pada sel epitel.

Tujuan penelitian untuk mengetahui efek pemberian bakteri probiotik *Lactobacillus casei* terhadap sel polimorfonuklear neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida. Hasil penelitian diharapkan dapat dijadikan referensi dalam hal penggunaan bakteri probiotik *L. casei* sebagai suatu alternatif penatalaksanaan dan pencegahan keparahan penyakit periodontal.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Jumlah sampel yang digunakan adalah 32 ekor tikus wistar jantan, dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok I (8 ekor) merupakan kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan. Kelompok II (8 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi LPS selama 5 hari dan tidak diberi suntikan bakteri probiotik. Kelompok III (8 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi LPS dan serta diberikan suntikan bakteri probiotik bersama-sama mulai awal selama 5 hari. Sedangkan kelompok IV (8 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi LPS selama 5 hari kemudian dilanjutkan dengan suntikan bakteri probiotik selama 5 hari berikutnya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri probiotik *L. casei* dapat menurunkan jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi LPS secara bersamaan. Jumlah sel PMN neutrofil pada perlakuan pemberian LPS dan *L. casei* secara bersamaan selama 5 hari didapatkan lebih rendah daripada perlakuan pemberian LPS selama 5 hari dilanjutkan *L. casei* 5 hari berikutnya.

Kesimpulannya terdapat efek pemberian probiotik *L. casei*, yaitu dapat menurunkan jumlah sel PMN neutrofil gingiva yang meningkat akibat diinduksi LPS. Pemberian bakteri probiotik bersamaan dengan induksi LPS selama 5 hari lebih efektif daripada kelompok perlakuan yang diberi induksi LPS selama 5 hari kemudian dilanjutkan dengan suntikan bakteri probiotik selama 5 hari berikutnya.

## PRAKATA

Alhamdulillahirobbilalamin, puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan petunjuk, kemudahan, dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Pemberian Bakteri Probiotik *Lactobacillus casei* terhadap Jumlah Sel Polimorfonuklear Neurofil Gingiva Tikus Wistar Jantan yang Dipapar Lipopolisakarida”. Skripsi ini disusun guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Fakultas Kedokteran Gigi (S-1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Rektor Universitas Jember
2. drg. Hj. Herniyati, M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. drg. M. Nurul Amin, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Utama, terima kasih atas segala motivasi serta telah merelakan waktu demi membimbing penyelesaian skripsi ini;
4. drg. Zahara Meliawaty, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Anggota, terima kasih yang tak terhingga atas segala ilmu, motivasi serta kesabaran dalam memberikan bimbingan selama ini;
5. drg. Desi Sandra Sari, MD.Sc selaku sekretaris penguji, terima kasih yang tak terhingga atas segala ilmu, motivasi, nasihat, serta kemurahan hati dalam meluangkan waktu dan pikiran demi membimbing penyelesaian skripsi ini;
6. drg. Lusi Hidayati, M.Kes. selaku Dosen Wali, terima kasih atas bimbingan serta motivasi dari awal hingga akhir masa studi;
7. Orangtuaku tercinta, ayahanda Bambang Soepeno serta Ibunda Mamiiek Siswanti atas segala doa, kasih sayang, perhatian serta pengorbanan yang tak terhingga selama ini;

8. Kakakku Pascawati Savitri Universitasari dan adik-adikku Deakin Purna Putra dan Dimas Gusti Siaga Putra atas segala semangat dan dukungan yang telah kalian berikan;
9. Teman-teman seperjuanganku angkatan 2007; Endiki, Lintang, Darra, Yopi, Amel, Riska, Shofa, Tegar, perjuangan ini terasa manis dengan dukungan serta doa kalian;
10. Teman-teman angkatan'07 atas persahabatan yang takkan terlupakan;
11. Teman-teman Metropolis; Kakak Riecko, Guffy, Aryshinta, Putri, Andre, Jimmy dan Dimas atas persahabatan, kebahagiaan, kebersamaan dan segala dukungan.
12. Keluarga besar Paguyuban Gus dan Ning Jember; Pak Arif, Pak Hendra, Mas Argo, Mbak Deta, Ayu, Ajeng, Cita, Dinar, Dimas, Aldila, Ichal, Reza, terimakasih atas doa dan dukungan yang telah diberikan;

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini. Untuk itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan penulisan selanjutnya.

Jember, Januari 2012

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>	<b>v</b>
<b>PENGESAHAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Manfaat.....</b>	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Probiotik .....</b>	<b>4</b>
2.1.1 Definisi Probiotik.....	4
2.1.2 Lactobacillus .....	5
2.1.3 Efek Probiotik terhadap Jaringan Periodontal .....	6
<b>2.2 Sel Polimorfonuklear Neutrofil .....</b>	<b>7</b>
<b>2.3 Lipopolisakarida (LPS) .....</b>	<b>10</b>
<b>2.4 Radang .....</b>	<b>11</b>
2.4.1 Definisi Radang .....	11

2.4.2 Macam Radang .....	11
a. Radang Akut .....	11
b. Radang Kronis .....	14
<b>2.5 Hipotesis Penelitian.....</b>	<b>16</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>17</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>17</b>
<b>3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>17</b>
<b>3.4 Sampel Penelitian.....</b>	<b>17</b>
<b>3.5 Identifikasi Variabel Penelitian .....</b>	<b>19</b>
3.5.1 Variabel Bebas .....	19
3.5.2 Variabel Terikat .....	19
3.5.3 Variabel Terkendali .....	19
<b>3.6 Definisi Operasional.....</b>	<b>19</b>
3.6.1 Probiotik.....	19
3.6.2 LPS.....	19
3.6.2 Jumlah Sel PMN Neutrofil .....	19
<b>3.7 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>20</b>
3.7.1 Alat Penelitian.....	20
3.7.2 Bahan Penelitian .....	21
<b>3.8 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>22</b>
3.8.1 Ethical Clearence .....	22
3.8.2 Persiapan Hewan Coba .....	22
3.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	22
3.8.4 Persiapan Bahan Perlakuan.....	22
<b>3.9 Prosedur Perlakuan .....</b>	<b>24</b>
3.9.1 Pembiusan Hewan Coba .....	24
3.9.2 Aplikasi Bahan Perlakuan.....	24
3.9.3 Pengambilan Sampel Penelitian.....	24
3.9.4 Dekalsifikasi Sampel Penelitian .....	24
3.9.5 Pemrosesan Jaringan.....	25

3.9.6 Pengecatan <i>Haemaktoksin Eosin</i> (HE) .....	27
<b>3.10 Analisa Data .....</b>	<b>28</b>
<b>3.10 Bagan Alur Penelitian.....</b>	<b>29</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>30</b>
<b>4.1 Hasil Penelitian.....</b>	<b>30</b>
4.1.1 Analisis Data.....	32
<b>4.2 Pembahasan.....</b>	<b>34</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>39</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>39</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>39</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>40</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>44</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil perhitungan rerata jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan pada semua kelompok.....	31
4.2 Rangkuman hasil uji normalitas Kolmogrov-Smirnov jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan pada semua kelompok.....	32
4.3 Rangkuman hasil uji homogenitas Levene jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan pada semua kelompok.....	32
4.4 Rangkuman hasil uji <i>one way</i> ANOVA terhadap rerata jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan pada semua kelompok.....	33
4.5 Rangkuman hasil uji beda HSD terhadap rerata jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan pada semua kelompok.....	34

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1	Gambaran mikroskopis <i>Lactobacillus casei</i> ..... 6
2.2	Gambaran mikroskopis Sel PMN Neutrofil..... 9
3.1	Bagan Alur Penelitian..... 29
4.1	Sel PMN Neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang dihitung pada semua kelompok (pembesaran 1000x)..... 30
4.2	Grafik batang rerata jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan pada kelompok (I) kontrol, kelompok (II) induksi lipopolisakarida selama 5 hari, kelompok (III) induksi lipopolisakarida dan <i>L. casei</i> secara bersamaan selama 5 hari, serta kelompok (IV) induksi lipopolisakarida selama 5 hari dilanjutkan <i>L. casei</i> 5 hari berikutnya..... 32

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A Surat Keterangan <i>Ethical Clearance</i> .....	44
B Hasil Perhitungan Jumlah Sel PMN Neutrofil.....	45
C Analisis Data Penelitian.....	48
D Foto Alat Penelitian.....	51
E Foto Bahan Penelitian.....	54
F Foto Sel PMN Neutrofil Gingiva Tikus Wistar Jantan yang dihitung.....	56

## **BAB 1. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Probiotik telah banyak dipergunakan sebagai pemacu pertumbuhan. Probiotik dapat meningkatkan kesehatan individu dan probiotik tidak menimbulkan residu dan resistensi. Probiotik dapat mengandung satu atau beberapa strain mikroorganisme dan dapat diberikan dalam bentuk cairan, tepung, tablet atau pasta, baik secara langsung peroral atau dicampur dalam pakan atau air minum. Probiotik dapat mempertahankan keseimbangan mikroorganisme menguntungkan dan mengeleminasi mikroorganisme patogen (Lopez, 2000; Pascual dkk., 1999).

Bakteri merupakan kelompok organisme flora normal terbanyak dalam rongga mulut. Bakteri rongga mulut berperan dalam pembentukan sistem imun dan memberikan pertahanan terhadap kolonisasi mikroorganisme patogen, akan tetapi mikrobiota rongga mulut juga dapat menjadi kumpulan bakteri yang mempunyai potensi patogen dan dapat merusak jaringan rongga mulut, contohnya adalah jaringan periodontal. Penyakit periodontal dapat terjadi karena adanya ketidakseimbangan dalam ekosistem rongga mulut antara bakteri rongga mulut sehingga menyebabkan timbulnya bakteri patogen (Arina, 2005).

Penyakit periodontal adalah penyakit umum dan tersebar luas di masyarakat, bisa menyerang anak-anak, orang dewasa maupun orang tua. Salah satu bentuk penyakit periodontal adalah peradangan yang menyerang jaringan periodontal, dapat hanya mengenai gingiva saja disebut dengan gingivitis atau dapat juga mengenai jaringan periodontal yang lebih luas yaitu ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar. Periodontitis merupakan suatu penyakit inflamasi yang awalnya dipicu oleh infeksi bakteri kronis. Kerusakan periodontal dipicu oleh bakteri yang menstimulasi respon host sehingga

mengakibatkan produksi sitokin secara berlebihan. Serangan mikroba terdiri dari antigen, lipopolisakarida, dan faktor virulensi lain yang memicu respon host (Kurniawati, 2005).

Lipopolisakarida (LPS) yang disebut juga dengan endotoksin, merupakan sebuah molekul berukuran besar yang mengandung lipid dan karbohidrat. Lipopolisakarida merupakan suprastruktur utama bakteri gram-negatif dalam membangun integritas struktural bakteri, dan melindungi bakteri dari pertahanan imunitas *host* (Murray dan Wilton, 2003).

Bakteri yang paling banyak berperan terhadap timbulnya periodontitis adalah bakteri gram negatif, diantaranya yaitu *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, dan *Bacteriodes forsythus*. Bakteri gram negatif anaerob ini, mengeluarkan produk-produk diantaranya endotoksin biologi aktif atau lipopolisakarida (LPS) yang menyebabkan aktivitas biologis sehingga terjadinya peradangan (Djais, 2006; Fitria, 2006).

Apabila sel-sel atau jaringan tubuh mengalami cedera atau mati, selama hospes tetap hidup ada respon yang mencolok pada jaringan hidup disekitarnya. Respon terhadap cedera ini dinamakan peradangan. Reaksi yang terjadi pada peradangan adalah reaksi vaskular yang hasilnya merupakan pengiriman cairan, zat-zat yang terlarut dan sel-sel dari sirkulasi darah ke jaringan-jaringan interstitial pada daerah cedera atau nekrosis (Underwood, 1999).

Neutrofil polimorfonuklear merupakan granulosit yang mempunyai nukleus tiga hingga lima lobus yang dihubungkan dengan benang kromatin dan sitoplasma yang mengandung granula yang sangat halus. Neutrofil PMN ini memiliki kemampuan untuk menyerang dan menghancurkan bakteri, virus dan bahan-bahan yang merugikan lain yang menyerbu masuk ke dalam tubuh (Guyton dan Hall, 1996).

Berdasarkan uraian dan berbagai pertimbangan di atas, maka peneliti ingin mengetahui lebih lanjut tentang efek pemberian probiotik *L. casei* terhadap jumlah sel polimorfonuklear neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan suatu permasalahan: Bagaimana efek pemberian probiotik *L. casei* terhadap jumlah sel polimorfonuklear neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian probiotik *L. casei* terhadap jumlah sel polimorfonuklear neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Memberikan informasi mengenai efek probiotik *L. casei* terhadap jumlah sel polimorfonuklear neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida.
- 2) Dengan mengetahui efek probiotik *L. casei* terhadap jumlah sel polimorfonuklear neutrofil dapat menjadi suatu terobosan dalam perawatan penyakit periodontal dan diharapkan dapat digunakan sebagai acuan tambahan informasi dan sebagai pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut.

## **BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Probiotik**

#### **2.1.1 Definisi Probiotik**

Probiotik berasal dari bahasa Yunani yang berarti untuk kehidupan. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang dapat memperbaiki kesehatan inang apabila dikonsumsi dalam jumlah yang tepat (Sanders, 2000; Schrezenmeir dan De Vrese, 2001).

Probiotik adalah makanan tambahan yang mengandung mikroorganisme hidup yang memberikan keuntungan bagi inang dengan meningkatkan keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan (Collins dan Gibson, 1999; Roberfroid, 2000).

Kriteria seleksi sebagai bakteri probiotik antara lain secara klinis dapat meningkatkan kesehatan, berstatus aman untuk dikonsumsi, bersifat antagonis terhadap patogen, menghasilkan bahan antimikroorganisme patogen, bertahan pada pH rendah dan asam empedu, dapat melakukan adhesi serta dapat berkolonisasi untuk jangka waktu yang lama (Felicia dkk., 2010).

Ada tiga karakteristik dari probiotik yang efektif, yaitu: meningkatkan resistensi kolonisasi bakteri patogen, mengaktifkan aktivitas metabolik yang berguna bagi kesehatan host dan menstimulasi respon imun host (Fuller, 1997).

Mekanisme kerja mikroba probiotik adalah pertama, dapat menghasilkan asam, sehingga pH menjadi rendah. Keadaan ini tidak menguntungkan bagi mikroorganisme patogen. Kedua, beberapa mikroba probiotik dapat menghasilkan bahan antimikroba (bakteriosin) yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain yang tidak menguntungkan. Ketiga, mikroba probiotik dapat berkembang biak di dalam saluran pencernaan dan berkompetisi dengan mikroba pathogen. Keempat, mikroba probiotik berkompetisi dengan mikroba patogen untuk berikatan dengan reseptor yang sama (Lopez, 2000; Harish dan Varghese, 2006).

### 2.1.2 *Lactobacillus*

Probiotik telah banyak dipergunakan sebagai pemacu pertumbuhan pada hewan dan umumnya probiotik yang mengandung *Lactobacillus*. *Lactobacillus* diketahui dapat meningkatkan ketahanan inang terhadap infeksi bakteri patogen (Isolauri dkk., 2001).

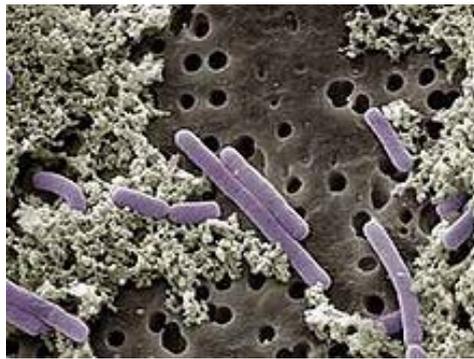
*Lactobacillus* adalah bakteri endogenous yang terdapat pada rongga mulut dan saluran pencernaan dan eksogenous *Lactobacillus* memegang peranan dalam pencegahan dan perawatan kerusakan gastrointestinal. Rongga mulut merupakan bagian pertama dari gastrointestinal sehingga beberapa aksi dari probiotik juga ikut berperan dalam ekosistem rongga mulut. Jumlah *Lactobacillus* dalam rongga mulut kurang lebih 1%, dan beberapa studi menunjukkan bahwa *Lactobacillus* dapat menurunkan karies yang disebabkan oleh *S. mutans*. Selain itu *Lactobacillus* dalam rongga mulut yang berasal dari jaringan periodontal yang sehat dan yang sakit menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap bakteri penyebab periodontitis seperti *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* dan *Prevotella intermedia*. Spesies bakteri asam laktat yang umum digunakan sebagai probiotik antara lain: *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* dan *Bifidobacterium* (Fuller, 1997; Sugano dkk., 2007).

Pemberian probiotik yang mengandung *Lactobacillus acidophilus* dan *L. salivarius* pada mencit dapat menstimulasi sistem pertahanan non-spesifik dan probiotik tersebut dapat meningkatkan kapasitas sel makrofag dan sel leukosit polimorfonuklear (PMN) dalam memfagosit bakteri *S. typhimurium* secara *in vitro*. Pemberian *Lactobacillus* dapat meningkatkan pertahanan non-spesifik inang terhadap bakteri patogen. Beberapa bakteri penghasil asam laktat dapat menginduksi pelepasan sitokin seperti *tumor necrosis factor* dan interleukin 6. Pemberian probiotik juga dapat mengurangi pemakaian antibiotik (Isolauri dkk., 2001).

*L. casei* adalah bakteri gram-positif, anaerob, tidak memiliki alat gerak, tidak menghasilkan spora, berbentuk batang dan menjadi salah satu bakteri yang berperan penting. Konsumsi oral *Lactobacillus casei* sebagai probiotik dapat

meningkatkan sintesis IgA di usus, dan mengaktifkan respon inflamatori seperti proliferasi sel plasma, limfosit, dan makrofag. Selain itu, *L. casei* juga dapat mengaktifkan respon imun lokal dan sistemik dengan memproduksi sitokin, limfosit, *NK cells*, antibodi, monosit dan makrofag yang dapat memfagositosis bakteri patogen (Fuller, 1997).

*L. casei* merupakan salah satu spesies bakteri asam laktat yang telah banyak dimanfaatkan sebagai probiotik. Keunggulan dari *L. casei* sebagai probiotik adalah membantu aktifitas *Bifidobacteria* dan bakteri berguna lainnya, menyerap bahan berbahaya dalam sistem pencernaan, mempunyai efek antagonistik dengan membunuh bakteri patogen, mempunyai efek anti tumor dan mempunyai efek klinis dalam pengobatan berbagai penyakit (Margawani, 1995).



Gambar 2.1 Gambaran mikroskopis bakteri *L. casei* (Sumber: Mehmet, 2007)

### 2.1.3 Efek Probiotik Terhadap Jaringan Periodontal

Salah satu penyebab gingivitis adalah pembusukan makanan oleh bakteri patogen. Probiotik mengontrol pertumbuhan bakteri patogen untuk mencegah gingivitis. Probiotik memiliki pH yang rendah sehingga bakteri plak tidak dapat membentuk dental plak dan kalkulus yang menyebabkan penyakit periodontal. Probiotik juga memproduksi antioksidan untuk mencegah pembentukan kalkulus dengan cara menetralkan elektron bebas. Selain itu, probiotik dapat merusak dengan cara memfiksasi gas yang toksik dan merubahnya menjadi gas yang diperlukan untuk metabolisme (Deepa dan Mehta, 2009).

Aplikasi probiotik *L. reuteri* (*Prodentis*) dapat membantu keberhasilan terapi periodontal. Hal tersebut disebabkan karena *L. reuteri* (*Prodentis*) dapat mencegah terbentuknya plak, serta memiliki efek antiinflamasi dan antimikroba. Oleh karena itu, probiotik *L. reuteri* (*Prodentis*) direkomendasikan sebagai bahan tambahan dalam proses debridement pada fase pemeliharaan terapi periodontal. Jadi probiotik *Lactobacillus sp.* sangat berguna dalam mengurangi inflamasi gingiva (gingivitis) dan sejumlah bakteri gram negatif, termasuk *P. gingivalis* pada saliva dan plak subgingiva (Vivekananda dkk., 2010).

## 2.2 Sel Polimorfonuklear Neutrofil

Peradangan akut diperantarai oleh granulosit polimorfonuklear, yang juga disebut neutrofil. Neutrofil adalah sel pertama yang tampak dalam ruang perivaskular, sebagian besar disebabkan oleh mobilitasnya yang tinggi dan juga karena neutrofil terdapat dalam jumlah banyak dalam sirkulasi darah. Selain itu faktor yang mempengaruhi ialah neutrofil telah aktif pada awal reaksi radang (Robbins dan Kumar, 1995; Damjanov, 2000).

Neutrofil polimorfonuklear merupakan granulosit yang mempunyai nukleus tiga hingga lima lobus yang dihubungkan dengan benang kromatin dan sitoplasma yang mengandung granula yang sangat halus. Neutrofil muda memiliki inti tanpa segmen dalam bentuk tapal kuda. Sel neutrofil PMN ini memiliki masa hidup yang singkat yaitu 6-7 jam di dalam sirkulasi. Masa hidup sel ini di dalam jaringan dapat memanjang 1-4 hari, kemudian sel ini akan mati secara apoptosis. Neutrofil PMN ini memiliki kemampuan untuk menyerang dan menghancurkan bakteri, virus dan bahan-bahan yang merugikan lain yang menyerbu masuk ke dalam tubuh (Junquiera dkk., 1995; Guyton dan Hall, 1996).

Neutrofil berumur pendek yaitu hanya beberapa hari berada di pembuluh darah kecil yang di dalamnya terdapat granula yang mengandung sejumlah faktor bakterisida. Selama pematangan 12 jam tinggal di darah, neutrofil masuk ke jaringan (Roeslan, 2002).

Neutrofil menyusun 70% dari seluruh leukosit dalam darah dan merupakan sel paling menonjol pada peradangan akut. Nama neutrofil berasal dari granula netral dalam sitoplasmanya, yang tidak bersifat asidofilik atau basofilik. Granula pada neutrofil ada dua macam yaitu granula azurofilik (primer) yang mengandung enzim lisosom dan peroksidase, serta granula spesifik (sekunder) yang lebih kecil. Sel ini juga mengandung fosfatase alkali serta zat-zat bakterisidal (protein kationik) yang dinamakan fagositin. Setelah matang granula sekunder akan menjadi lebih dominan. Kedua granula tersebut penting untuk menghancurkan zat asing atau mikroorganisme selama proses fagositosis. Neutrofil PMN jarang mengandung retikulum endoplasma granuler, mengandung sedikit mitokondria, apparatus golgi rudimenter dan sedikit granula glikogen (Damjanov, 2000; Roeslan, 2002; Effendi, 2003).

Penyerangan dan perusakan bakteri, virus dan agen lain yang merugikan atau berbahaya yang menyerang tubuh kita ini sebagian besar dilakukan oleh neutrofil dan monosit. Sel-sel neutrofil yang telah matang inilah yang dapat menyerang dan merusak bakteri dan virus yang terdapat dalam peredaran darah. Sifat lain neutrofil adalah :

1. Diapedesis

Sel-sel ini dapat terperas sewaktu melalui pori-pori pembuluh darah oleh proses diapedesis sehingga sebagian kecil sel-sel tersebut akan meluncur melewati pori-pori dan bagian yang meluncur tersebut dalam waktu sebentar dapat menyempit sesuai ukuran pori-pori tersebut.

2. Pergerakan amuboid

Pergerakannya melalui jaringan-jaringan dengan pergerakan amuboid. Beberapa diantara sel-sel ini dapat melalui jaringan dengan kecepatan sebesar 40 mikron permenit, sehingga sel ini dapat bergerak selama beberapa kali dari ukuran panjangnya sendiri setiap menit.

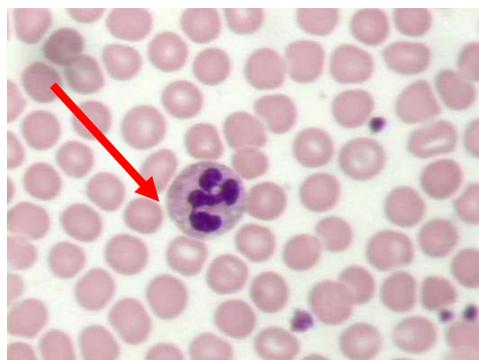
3. Kemotaktis

Di dalam jaringan dapat dijumpai sejumlah bahan-bahan kimia yang dapat menyebabkan sel-sel neutrofil dan makrofag bergerak menuju arah daerah yang mengalami radang.

#### 4. Fagositosis

Saat mendekati suatu partikel untuk difagositosis, sel neutrofil akan melekat pada reseptor partikel itu, kemudian akan menonjolkan pseudopodia ke semua jurusan disekeliling partikel tersebut dan pseudopodia itu akan saling bertemu satu sama lainnya pada sisi yang berlawanan dan akan bergabung. Sehingga terjadilah ruangan tertutup yang berisi partikel-partikel yang sudah difagositosis. Kemudian ruangan ini akan berinvaginasi ke dalam rongga sitoplasma dan akan melepaskan diri dari bagian luar membran sel membentuk gelombang fagositik yang mengapung dengan bebas (Guyton, 1996).

Neutrofil PMN pada keadaan normal berperan untuk memberikan perlindungan, akan tetapi pada keadaan tertentu dapat bersifat patogen bagi jaringan, seperti pada proses fagositosis yang secara khusus sel ini akan mengeluarkan enzim secara ekstraseluler, proses ini disebut degranulasi. Beberapa enzim tersebut dapat menyebabkan degradasi jaringan sekitarnya seperti kolagen dan membran basal. Migrasi sel PMN menuju jaringan karena adanya bakteri patogen pada infeksi kronis, dapat menyebabkan terjadinya kerusakan struktur protein termasuk kolagen. Degradasi kolagen dapat disebabkan secara langsung oleh protease bakteri maupun enzim yang disekresi oleh sel PMN (Romanelli dkk., 1999; Schenkein, 1999).



Gambar 2.2 Gambaran mikroskopis Sel PMN neutrofil (Sumber: Gregory, 2008)

### 2.3 Lipopolisakarida (LPS)

Lipopolisakarida (LPS) yang disebut juga dengan endotoksin, merupakan sebuah molekul berukuran besar yang mengandung lipid dan karbohidrat. Lipopolisakarida merupakan suprastruktur utama bakteri gram-negatif dalam membangun integritas struktural bakteri, dan melindungi bakteri dari pertahanan imunitas host (Murray dan Wilton, 2003).

Toksin pada bakteri gram negatif berupa lipopolisakarida (LPS) pada membran luar dari dinding sel yang pada keadaan tertentu bersifat toksik pada inang tertentu. Lipopolisakarida ini disebut endotoksin karena terikat pada bakteri dan dilepaskan saat mikroorganisme mengalami lisis atau pecahnya sel, beberapa juga dilepaskan saat penggandaan bakteri. Komponen toksik pada LPS adalah bagian lipid atau lemak, yang disebut lipid A. Komponen lipid A ini bukanlah struktur makromolekuler tunggal melainkan terdiri dari susunan kompleks dari residu-residu lipid. Endotoksin hanya ada pada bakteri gram negatif berbentuk basil/batang dan kokus dan tidak secara aktif dilepaskan dari sel serta dapat menimbulkan demam, syok, dan gejala lainnya. Toksisitas endotoksin lebih rendah dibandingkan dengan eksotoksin, namun beberapa organisme memiliki endotoksin yang lebih efektif dibanding yang lain. Endotoksin adalah antigen yang lemah dan menginduksi antibodi dengan lemah sehingga tidak cocok digunakan sebagai antigen dalam vaksin (Prescott dkk, 2002; Levinson, 2008).

LPS terdiri dari tiga bagian yaitu rantai samping polisakarida (O), inti polisakarida dan lipid A. Lipid A biasanya mengandung asam lemak (seperti: *hydroxy-myristic acid*). Inti polisakarida mengandung gula (seperti: KDO, keto-deoxyoctulonate and heptulose). Inti polisakarida yang melekat pada lipid A merupakan bagian yang bertanggung jawab terhadap toksisitas bakteri gram negatif (Abbas dan Lichtman, 2001).

## 2.4 Radang

### 2.4.1 Definisi Radang

Radang adalah reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas. Dalam reaksi ini ikut berperan pembuluh darah, saraf, cairan, dan sel-sel tubuh di tempat jejas. Proses radang memusnahkan, melarutkan atau membatasi agen penyebab jejas dan merintis jalan untuk pemulihan jaringan yang rusak pada tempat itu. Untuk mencapai tujuan tersebut, reaksi radang seringkali menimbulkan gejala-gejala klinik seperti rasa nyeri (Robbins dan Kumar, 1995).

Radang atau biasanya disebut inflamasi adalah respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan, yang berfungsi menghancurkan, mengurangi atau mengurung (sekuester) baik agen pendera maupun jaringan yang cedera itu (Dorlan, 1998). Peradangan adalah suatu respon kompleks jaringan terhadap cedera yang melibatkan perubahan sel, humoral, dan vaskular (Damjanov, 2000).

### 2.4.2 Macam Radang

#### a. Radang Akut

Radang akut merupakan jawaban atau respon langsung dan dini terhadap agen jejas. Respon ini relatif singkat, hanya berlangsung beberapa jam atau hari (Robbins dan Kumar, 1995).

Penyebab utama radang akut adalah infeksi mikrobial (misalnya bakteri piogenik, virus), reaksi hipersensitivitas (misalnya parasit, basil *Tuberculosis*), agen fisik (trauma, radiasi pengion, panas, dingin), kimiawi (korosif, asam, basa, agen pengurang, toksin bakteri), dan jaringan nekrosis (infark iskemik) (Underwood, 1999).

Gambaran makroskopik peradangan digambarkan pada 2000 tahun lalu dan masih dikenal sebagai tanda-tanda pokok peradangan yang mencakup kemerahan (rubor), panas (kalor), nyeri (dolor) dan pembengkakan (tumor). Pada abad terakhir ditambahkan tanda pokok yang kelima adalah perubahan fungsi (fungsiolaesa).

Jadi gambaran makroskopik peradangan ada 5 yaitu :

1. Rubor (kemerahan)

Rubor atau kemerahan biasanya merupakan hal pertama yang terlihat di daerah yang mengalami peradangan. Seiring dengan dimulainya reaksi peradangan, arteriol yang memasok daerah tersebut berdilatasi sehingga memungkinkan banyak darah mengalir ke dalam mikrosirkulasi lokal. Kapiler-kapiler yang sebelumnya kosong atau mungkin hanya sebagian saja yang meregang, secara cepat terisi penuh dengan darah. Keadaan ini yang dinamakan hiperemia atau kongesti, menyebabkan kemerahan lokal pada peradangan akut. Tubuh mengontrol produksi hiperemia pada awal reaksi peradangan, baik secara neurologis maupun kimiawi melalui pelepasan zat-zat seperti histamin.

2. Kalor (panas)

Kalor atau panas terjadi bersamaan dengan kemerahan pada reaksi peradangan akut. Sebenarnya panas secara khas hanya merupakan reaksi peradangan yang terjadi pada permukaan tubuh, yang secara normal lebih dingin dari  $37^{\circ}\text{C}$  yang merupakan suhu inti tubuh. Daerah peradangan di kulit menjadi lebih hangat dari sekelilingnya karena lebih banyak darah (pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ ) dialirkan dari dalam tubuh ke permukaan daerah yang terkena dibandingkan dengan ke daerah yang normal. Fenomena hangat lokal ini tidak terlihat di daerah-daerah meradang yang terletak jauh di dalam tubuh, karena jaringan-jaringan tersebut sudah memiliki suhu inti  $37^{\circ}\text{C}$  dan hiperemia lokal tidak menimbulkan perbedaan.

### 3. Dolor (nyeri)

Pada suatu reaksi peradangan tampaknya ditimbulkan dalam berbagai cara. Perubahan pH lokal atau konsentrasi lokal ion-ion tertentu dapat merangsang ujung-ujung saraf. Hal yang sama, pelepasan zat-zat kimia tertentu seperti histamin atau zat-zat kimia bioaktif lain dapat merangsang saraf. Selain itu, pembengkakan jaringan yang meradang menyebabkan peningkatan tekanan lokal yang tidak diragukan lagi dapat menimbulkan nyeri.

### 4. Tumor (pembengkakan)

Aspek paling mencolok pada peradangan akut mungkin adalah tumor, atau pembengkakan lokal yang dihasilkan oleh cairan dan sel-sel yang berpindah dari aliran darah ke jaringan interstisial. Campuran cairan dan sel-sel ini yang tertimbun di daerah peradangan disebut *eksudat*. Pada awal perjalanan reaksi peradangan, sebagian besar eksudat adalah cairan, seperti yang terlihat secara cepat di dalam lepuhan setelah luka bakar ringan pada kulit. Kemudian, sel-sel darah putih atau leukosit meninggalkan aliran darah dan tertimbun sebagai bagian eksudat.

### 5. Fungsio laesa (perubahan fungsi)

Merupakan bagian yang lazim pada reaksi peradangan. Sepintas mudah dimengerti, bagian yang bengkak, nyeri disertai sirkulasi abnormal dan lingkungan kimiawi lokal yang abnormal, seharusnya berfungsi secara abnormal. Akan tetapi, cara bagaimana fungsi jaringan yang meradang itu terganggu tidak dipahami secara terperinci (Price dan Wilson, 2006).

Peradangan akut terdiri dari perubahan-perubahan yang terjadi dalam beberapa menit dan menetap beberapa jam atau hari. Peradangan akut adalah respon stereotipik sederhana terhadap bermacam-macam rangsangan, misalnya bakteri, bahan kimia, atau alergen. Proses ini dapat berhenti secara spontan atau dengan pengobatan. Peradangan akut berkembang melalui beberapa fase, yang mencakup baik proses vaskular maupun selular. Mediator-mediator proses

vaskular dan selular pada peradangan akut adalah berbagai amin vasoaktif (misalnya histamin), kinin (misalnya bradikinin), protein komplemen, dan turunan asam arakidonat (misalnya prostaglandin, leukotrien). Proses vaskular pada peradangan akut mencakup vasodilatasi neurogenik sfingter prakapiler di arterioli, sedangkan proses selular mencakup menepinya leukosit dalam darah, perlekatan (*adhesi*) leukosit ke endotel (*pavementing*), emigrasi leukosit melintasi dinding pembuluh darah menuju ruang-ruang di jaringan, dan migrasi aktif menuju sumber rangsang kemotatik, yang menarik sel-sel radang ke arah agen penyebab (Damjanov, 2000).

#### b. Radang Kronik

Peradangan kronik lebih bervariasi dan mencakup beberapa bentuk reaksi jaringan yang berlangsung lebih lama. Peradangan kronik terjadi akibat peradangan akut yang tidak sembuh atau berulang, akibat berbagai penyakit kronik, dan/atau iritasi persisten. Radang kronik dapat timbul menyusul radang akut, atau responnya sejak awal bersifat kronik. Perubahan radang akut menjadi kronik berlangsung bila respon radang akut tidak dapat reda, disebabkan agen penyebab jejas yang menetap atau terdapat gangguan pada proses penyembuhan normal (Robbins dan Kumar, 1995; Damjanov, 2000).

Perubahan radang kronik dapat berlangsung sampai berminggu, bulan atau bahkan bertahun-tahun menunjukkan usaha tubuh untuk melokalisasi agen penyebab dan memperbaiki kerusakan yang terjadi. Penyebab peradangan kronik dikenal 3 kelompok besar yaitu :

- a) Infeksi persisten oleh mikroorganisme intrasel tertentu.
- b) Kontak lama dengan bahan yang tidak dapat hancur.
- c) Pada keadaan-keadaan tertentu, terjadi reaksi imun terhadap jaringan individu sendiri dan menyebabkan penyakit autoimun (Robbins dan Kumar, 1995).

Peradangan kronik dapat muncul dalam tiga bentukan histologis yaitu sebagai infiltrasi (sebukun) sel mononukleus yang mungkin difuse atau fokal, sebagai jaringan granulasi atau sebagai granuloma. Pola reaksi ini sering saling berkaitan dan terdapat bersama-sama. Sebukan pada peradangan kronik terdiri dari limfosit, sel plasma dan makrofag. Kerusakan jaringan persisten diperbaiki

secara terus-menerus oleh fibroblas dan sel-sel jaringan ikat terkait lainnya (Damjanov, 2000)

Pada radang kronik dapat ditemukan gambaran mikroskopik berupa infiltrat seluler terdiri dari limfosit, sel plasma dan makrofag. Beberapa eosinofil polimorf mungkin dapat ditemukan, tetapi neutrofil polimorf (yang lazimnya terdapat pada radang akut) jarang ditemukan. Beberapa makrofag dapat membentuk sel datia berinti banyak. Cairan eksudat sedikit ditemukan, tetapi mungkin ditemukan produksi jaringan ikat baru yang berasal dari jaringan granulasi. Mungkin juga ditemukan kejadian perusakan jaringan yang berkelanjutan, yang bersamaan dengan proses regenerasi dan perbaikan jaringan. Nekrosis jaringan mungkin merupakan gambaran yang mencolok, terutama pada keadaan granulomatosa seperti tuberkulosis. Gambaran makroskopik umum yang sering ditemukan pada radang kronik adalah:

- 1) Ulkus kronik, yaitu ulkus yang dasarnya dibatasi oleh jaringan granulasi dan fibrosa, contohnya pada ulkus peptik kronik lambung dengan luka pada mukosa.
- 2) Rongga abses kronik, yaitu rongga yang terbentuk oleh pus pada radang supuratif, contohnya osteomyelitis.
- 3) Penebalan dinding rongga viskus, contohnya penebalan dinding pada kolesistitis kronik. Penebalan biasanya bersamaan dengan infiltrat sel radang kronik.
- 4) Radang granulomatosa, yaitu kumpulan histiosit epiteloid sebagai akibat tidak dapat dihancurkannya substansi tertentu oleh makrofag. Contohnya pada penyakit tuberkolosis paru.
- 5) Fibrosis, yaitu proliferasi jaringan fibroblas setelah sel-sel radang kronik menghilang/mereda (Underwood, 1999).

## **2.5 Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini adalah pemberian probiotik *L. casei* dapat menurunkan jumlah sel polimorfonuklear neutrofil yang sebelumnya meningkat akibat diinduksi lipopolisakarida.

## **BAB III. METODE PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris. Dipilih jenis ini karena baik pada sampel maupun perlakuan lebih terkontrol, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya (Notoatmojo, 2002)

### **3.2 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian yang digunakan adalah desain *post test control group design* (Notoatmojo, 2002).

### **3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada bulan Agustus 2010 - Maret 2011.

### **3.4 Sampel Penelitian**

#### **3.4.1 Populasi Penelitian**

Populasi penelitian adalah hewan coba tikus (*ratus*) jenis wistar jantan.

#### **3.4.2 Sampel Penelitian**

##### **a. Besar Sampel Penelitian**

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 10 ekor tikus tiap kelompok perlakuan.

Adapun besar sampel didapat dari perhitungan rumus sebagai berikut:

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma_D^2}{\delta^2}$$

Keterangan:

n = jumlah sampel minimal

$Z\alpha$  = batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemakmuran (1,96)

$Z\beta$  = batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemakmuran (0,85)

$\alpha$  = tingkat signifikansi (0,05)

$\beta$  = 0,20

$\sigma_D^2/\delta^2 = 1 \rightarrow$  diasumsikan  $\sigma_D^2 = \delta^2$

maka, hasil perhitungan sampel minimal adalah sebagai berikut:

$$n = \frac{(1,96 + 0,85)^2 \sigma_D^2}{\delta^2}$$

$$= (2,81)^2 = 7,9 \approx 8$$

(Steel dan Torie, 1995).

#### b. Kriteria Sampel Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada hewan coba tikus (*ratus*) dengan persyaratan sebagai berikut.

- a. Jenis wistar
- b. Kondisi fisik sehat dan tidak mengalami kelainan
- c. Jenis Kelamin Jantan
- d. Umur 3 bulan dan berat badan 170-200 gram
- e. Pakan yang sesuai dan seragam

### **3.5 Identifikasi Variabel Penelitian**

#### 3.5.1 Variabel Bebas

- a. Pemberian Probiotik
- b. Induksi LPS

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Jumlah sel PMN

#### 3.5.3 Variabel Terkendali

- a. Kriteria Hewan coba
- b. Prosedur Penelitian

### **3.6 Definisi Operasional variabel**

#### 3.6.1 Probiotik

Bakteri probiotik yang digunakan adalah *L. casei*, dimana diaplikasikan pada hewan coba dengan cara disuntikkan pada sulkus gingiva gigi insisif pertama kanan rahang bawah bagian labial.

#### 3.6.2 LPS

Lipopolisakarida (LPS) yang berasal dari bakteri *E. coli* (Sigma), dimana diaplikasikan pada hewan coba dengan cara disuntikkan pada sulkus gingiva gigi insisif pertama kanan rahang bawah bagian labial.

#### 3.6.3 Jumlah Sel PMN Neutrofil

Sel PMN neutrofil merupakan granulosit yang mempunyai nukleus tiga hingga lima lobus yang dihubungkan dengan benang kromatin dan sitoplasma yang mengandung granula yang sangat halus.

Jumlah sel PMN neutrofil pada gingiva adalah banyaknya pembentukan sel PMN neutrofil gingiva setelah secara histologi menggunakan mikroskop binokuler CX31 olympus dengan pembesaran 1000x.

### 3.7 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.7.1 Alat Penelitian :

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Kandang pemeliharaan hewan coba
2. Kandang perlakuan hewan coba
3. Tempat makan dan minum hewan coba
4. Jarum insulin 30G (Terumo, Jepang)
5. Tabung reaksi (Pyrex)
6. Petridish tidak bersekat
7. Pipet ukur
8. Inkubator (Binder, Jerman)
9. Gelas Ukur
10. *Beaker Glass*
11. Lampu spiritus
12. *Cutter*
13. *Refrigerator*
14. Gunting bedah
15. Pinset
16. Botol untuk dekalsifikasi
17. *Vibrator* (Vortex)
18. Stopwatch (Diamond, Cina)
19. Besi bentuk L untuk alat cetak blok paraffin
20. Kompor
21. Panci
22. Mikrotom (Leica RM 2135)
23. *Microtom Blade System* (Tissue-Tek, Jepang)
24. *Block holder* mikrotom
25. *Waterbath* (Mommert)
26. *Hot Plate* (Labinco B.V., Belanda)
27. Oven
28. Kuas kecil

29. Mikroskop
30. *Obyek glass* (Citoplus)
31. *Deck glass*
32. Sarung tangan (Latex)
33. Masker

### 3.7.2 Bahan Penelitian :

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Tikus wistar jantan
2. LPS *Escheria coli* (Sigma)
3. Probiotik *Lactobacillus casei*
4. Ketamin (KTM 1000)
5. *Phosphate Buffer Saline*
6. Eter
7. Formalin 10%
8. EDTA 10%
9. *Ammonium Hydroxide* 5%
10. *Ammonium Oxalate* 5%
11. Alkohol 70%, 80%, 95%, 100%
12. Xylol
13. Gliserin
14. *Meyer Egg Albumin*
15. *Embedding Paraffin* (Paraplast Plus)
16. *Dry Ice* (VWR International)
17. Aquades steril
18. Spiritus
19. Kapas steril
20. Kertas saring (Whatmann filter paper No.1)
21. Minuman dan makanan standar tikus wistar (Feedmill-Malindo, Gresik).

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 *Ethical Clearence*

Sebelum dilakukan penelitian, maka hewan coba dan prosedur penelitian akan dilakukan pengurusan *etichal clearance* di Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

#### 3.8.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan diadaptasikan selama seminggu sebelum diberi perlakuan untuk penyesuaian adaptasi tikus dengan tempat dan makanan.

#### 3.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

Hewan coba yang sudah diadaptasikan akan dikelompokkan menjadi 4 kelompok yaitu :

- a. Kelompok I (10 ekor) merupakan kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan selama 5 hari.
- b. Kelompok II (10 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi LPS selama 5 hari.
- c. Kelompok III (10 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi LPS dan serta diberikan suntikan bakteri probiotik bersama-sama mulai awal selama 5 hari.
- d. Kelompok IV (10 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi LPS selama 5 hari, kemudian diberikan suntikan bakteri probiotik selama 5 hari.

#### 3.8.4 Persiapan Bahan Perlakuan

Bahan yang dipakai pada kelompok perlakuan terdiri dari LPS yang dipakai untuk menginduksi dan menghasilkan infeksi pada jaringan periodontal dan bakteri probiotik *L. casei*, dimana bakteri probiotik yang dipakai adalah bakteri probiotik yang sudah jadi.

##### a. Pembuatan Sediaan LPS

1. Membeli LPS dengan sediaan yang sudah jadi dengan jumlah 10 ml
2. Pembuatan stok LPS didapat dengan cara 10 ml LPS dilarutkan dalam 2 ml PBS (*Phosphate Buffer Salin*).
3. Stok LPS dikemas dalam wadah tertutup dan disimpan dalam suhu ruang.

b. Pembuatan Sediaan Bakteri *Lactobacillus casei*

1. *Monitol Rogosa Salt Broth (MRS-B)*

Pembuatan larutan *MRS-Broth* adalah dengan menimbang 5,52 gram *MRS-Broth* menggunakan neraca dan mengukur 100 ml aquades steril dengan gelas ukur. Kedua bahan tersebut dicampur dalam *erlemeyer*, kemudian dipanaskan di atas kompor listrik sampai mendidih sambil diaduk dengan pengaduk agar homogen. Setelah itu disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media tersebut kemudian dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam untuk memastikan media cair *MRS-Broth* dalam keadaan steril.

2. *Monitol Rogosa Salt Agar (MRS-A)*

Pembuatan larutan *MRS-Agar* adalah dengan menimbang 6,62 gram *MRS-Agar* menggunakan neraca dan mengukur 100 ml aquades steril dengan gelas ukur. Kedua bahan tersebut dicampur dalam *erlemeyer*, kemudian dipanaskan di atas kompor listrik sampai mendidih sambil diaduk dengan pengaduk agar homogen. Setelah itu disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian ditunggu sampai media tersebut dingin dan mengeras.

3. Suspensi

Indukan bakteri *Lactobacillus casei* dilakukan kultur untuk keperluan perlakuan. Inokulasikan swap yang berisi bakteri yang sebelumnya diambil dari media indukan ke agar plate dengan menekan dan memutarinya dengan membuat area melingkar dengan diameter sekitar 25 mm. Gunakan sengkeli steril untuk menggores area yang telah di inokulasi sekitar 10 sampai 20 kali dan goresan ini untuk memudahkan penyebaran isolasi koloni. Kemudian dibuatkan suspensi ke dalam tabung dengan 2 ml yang di ambil menggunakan ose steril dari media agar.

### 3.9 Prosedur Perlakuan

#### 3.9.1 Pembiusan Hewan Coba

Hewan coba sebelum diberi perlakuan, dilakukan pembiusan dengan menggunakan Ketamin (KTM 100). Dosis yang diberikan adalah 80 mg/kg berat badan yang disuntikkan pada daerah kaki belakang sebelah kanan di muskulus quadriceps atau tricep.

#### 3.9.2 Aplikasi bahan Perlakuan

Infeksi pada jaringan periodontal dilakukan dengan induksi LPS *E. coli*. LPS disuntikkan pada sulkus gingiva gigi insisif pertama kanan rahang bawah bagian labial dengan dosis 5 µg/0,05 ml PBS menggunakan jarum insulin 30 G sebanyak 0,02 ml, diberikan 1 kali sehari selama 5 hari.

Pemberian bakteri probiotik dilakukan dengan penyuntikan pada daerah yang sama pada waktu induksi LPS. Dosis yang dipakai adalah 0,2 ml, diberikan 1 kali sehari selama 5 hari. Pemberian bakteri probiotik ini dilakukan dengan 2 cara yaitu untuk kelompok III diberikan secara bersamaan dengan LPS dan untuk kelompok IV diberikan setelah induksi LPS selama 5 hari dalam jangka waktu 5 hari.

#### 3.9.3 Pengambilan Sampel Penelitian

Hewan coba baik dari kelompok kontrol maupun perlakuan akan dimatikan dengan cara dislokasi dan diambil tulang alveolar, gingiva dan gigi pada regio insisif pertama kanan rahang kanan sebelah labial. Sampel yang sudah diambil dilakukan fiksasi dengan menggunakan formalin 10 % selama 5 hari.

#### 3.9.4 Dekalsifikasi Sampel Penelitian

Sampel yang telah difiksasi menggunakan formalin 10 % dilakukan dekalsifikasi dengan tujuan untuk melepaskan bahan anorganik dalam tulang tanpa merusak protein yang ada dengan memakai larutan EDTA 10 % (pH 7,4) pada suhu 4 °C. Adapun urutan dekalsifikasinya sebagai berikut:

1. Sampel yang sudah difiksasi dicuci dengan air bersih yang mengalir pelan selama minimal 30 menit.
2. Dimasukkan pada larutan EDTA dan dilakukan vibrasi 2 x agar proses dekalsifikasi merata.

3. Untuk mengetahui proses dekalsifikasi sudah lengkap atau selesai dilakukan pengetesan dengan cara mengambil 5 ml larutan yang digunakan untuk dekalsifikasi bahan dan dicampur dengan 5 ml campuran Ammonium Hydroxide 5 %, Ammonium Oxalate 5 % (volumenya seimbang). Campur larutan hingga merata, dan ditunggu semalaman. Bila tidak ada presipitat, maka proses dekalsifikasi sudah lengkap. Cara ini diulang dalam 3 hari sekali.
4. Sampel yang sudah terdekalsifikasi lengkap dibersihkan dengan air mengalir dan segera ditransfer pada larutan ammonia selama 30 menit (ammonia concentrated 5 tetes dalam 100 ml *distilled water*) dengan tujuan untuk menghilangkan larutan dekalsifikasi yang tersisa.
5. Setelah itu dicuci dengan air mengalir selama 24 jam.

#### 3.9.5 Pemrosesan Jaringan

Setelah proses dekalsifikasi telah selesai dilakukan, maka dilakukan pemrosesan jaringan yang berfungsi untuk mempersiapkan jaringan sebelum dilakukan penyayatan dengan mikrotom. Tahapan pemrosesan jaringan adalah sebagai berikut:

##### (1) Dehidrasi

Dehidrasi merupakan penarikan air dari dalam jaringan dengan cara dimasukkan ke dalam alkohol dengan konsentrasi meningkat, mulai dari larutan 70% sampai dengan alkohol absolute. Jadi air dalam jaringan dikeluarkan dan diganti dengan alkohol.

##### (2) *Clearing*

*Clearing* merupakan proses penjernihan jaringan menggunakan bahan-bahan *clearing*. Bahan yang dapat digunakan antara lain: *xylol*, *chloroform*, *toluen*, dan *benzen*. Bahan-bahan ini disebut "*Clearing Agent*", karena jaringan di dalam bahan itu menjadi transparan.

### (3) Impregnasi

Impregnasi merupakan proses infiltrasi bahan *embedding* ke dalam jaringan pada suhu 56<sup>0</sup>-60<sup>0</sup>C. Caranya yaitu jaringan dibungkus dengan kertas saring yang sudah diberi label untuk menghindari kekeliruan identitas sampel. Kemudian dimasukkan ke dalam bahan *embedding* yaitu paraffin TD 56<sup>0</sup>-60<sup>0</sup>C.

### (4) *Embedding*

*Embedding* merupakan proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding*. Bahan yang dapat digunakan untuk menanam jaringan antara lain: paraffin, *cellulose*, dan *tissue text*.

### (5) Penyayatan (*Sectioning*)

Sebelum penyayatan jaringan terlebih dahulu dilakukan beberapa persiapan, antara lain:

1. Mengolesi *obyek glass* dengan *meyer egg albumin*.
2. Menempelkan blok paraffin pada *block holder* mikrotom dengan bantuan pemanasan.

Setelah itu, dilakukan proses penyayatan jaringan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Penyayatan menggunakan mikrotom, dimana sebelumnya pisau mikrotom dibersihkan dengan kasa/kertas saring yang telah dibasahi dengan xylol dengan arah tegak lurus.
2. Mengatur ketebalan sayatan mikrotom sebesar 6 mm dengan arah buko-lingual.
3. Mengambil sayatan yang telah diperoleh dengan kuas lalu letakkan di atas permukaan air *waterbath* dengan temperatur tetap 56<sup>0</sup>-60<sup>0</sup>C hingga sayatan mekar.
4. Mengambil sayatan yang telah mekar dengan *obyek glass* yang telah diolesi dengan *meyer egg albumin*, dikeringkan di atas *hot plate*, kemudian dimasukkan dalam oven dengan suhu sekitar 30<sup>0</sup>-35<sup>0</sup>C minimal selama 12 jam.

### 3.9.6 Pengecatan *Haematoksilin Eosin* (HE)

Pengecatan HE digunakan untuk melihat jumlah sel PMN. Teknik pengecatan HE yang dilakukan adalah sesuai standar rutin Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Metode pengecatan *Haematoksilin Eosin* secara progresif menurut Syafriadi dkk. (2008) antara lain:

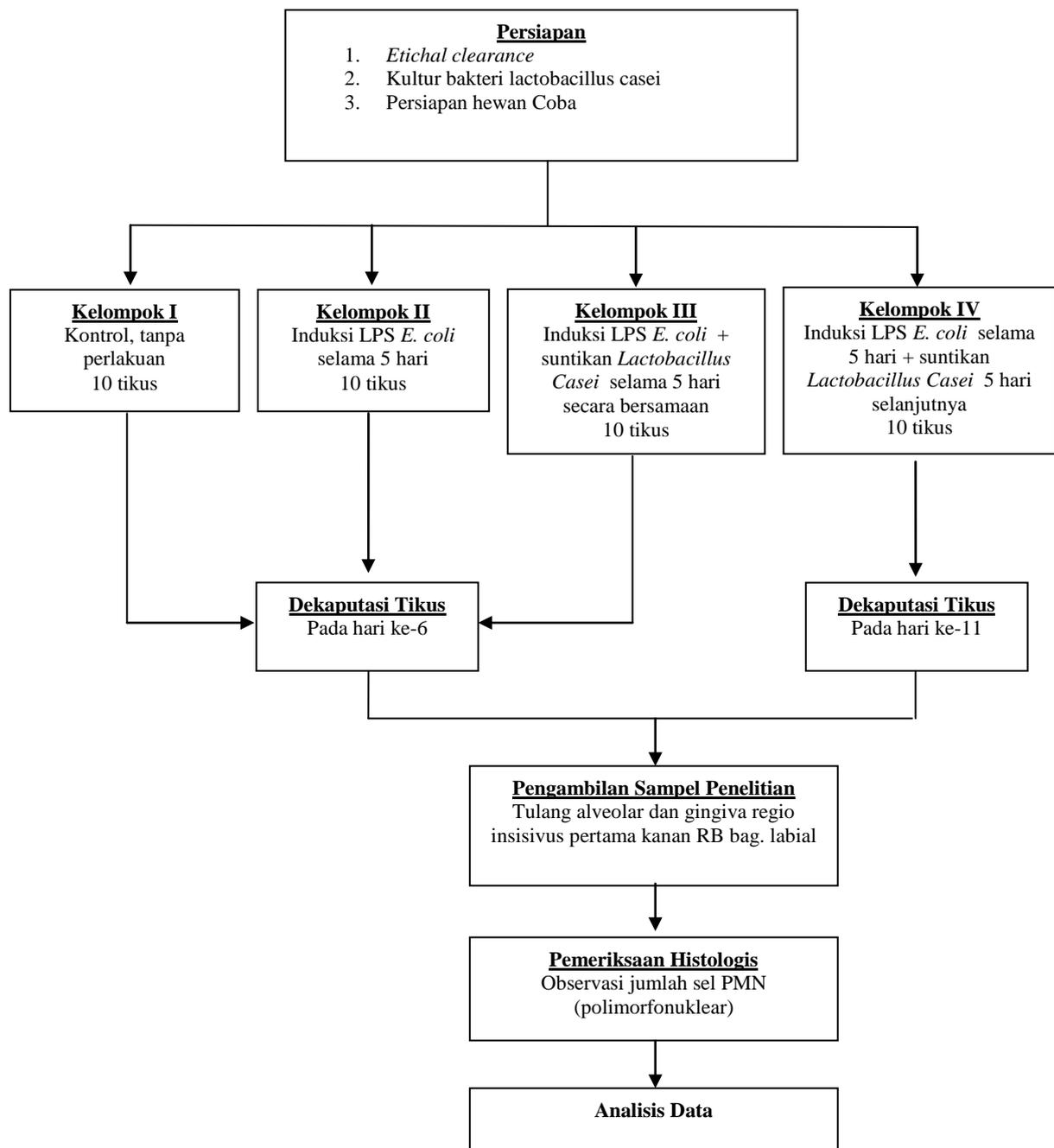
- (1) Xylol : 2-3 menit
- (2) Xylol : 2-3 menit
- (3) Alkohol absolut : 3 menit
- (4) Alkohol absolut : 3 menit
- (5) Alkohol 95% : 3 menit
- (6) Alkohol 95% : 3 menit
- (7) Bilas air hangat : 10-15 menit
- (8) *Mayer's Haematoksilin* : 10 menit
- (9) Bilas air hangat : 20 menit
- (10) Eosin : 15 detik-2 menit
- (11) Bilas air hangat : 20 menit
- (12) Alkohol 95% : 2-3 menit
- (13) Alkohol 95% : 2-3 menit
- (14) Alkohol absolut : 2-3 menit
- (15) Alkohol absolut : 2-3 menit
- (16) Xylol : 3 menit
- (17) Xylol : 3 menit
- (18) Xylol : 3 menit
- (19) *Mounting* menggunakan cairan *Entellan* lalu ditutup dengan obyek glass.

Sedangkan hasil pengecatan yang didapatkan antara lain: inti sel (biru), eritrosit (merah), sitoplasma (merah), dan otot (merah). Jumlah sel PMN (neutrofil) dihitung dengan bantuan mikroskop cahaya pada 3 *slide* dari masing-masing ulangan.

### **3.10 Analisis Data**

Data hasil penelitian ini diuji normalitasnya dengan uji Kolmogorov-Smirnov dan diuji homogenitasnya dengan uji Levene. Hasil menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen ( $p > 0,05$ ), kemudian dianalisis menggunakan *one way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ) dilanjutkan dengan uji HSD.

### 3.11 Bagan Alur Penelitian

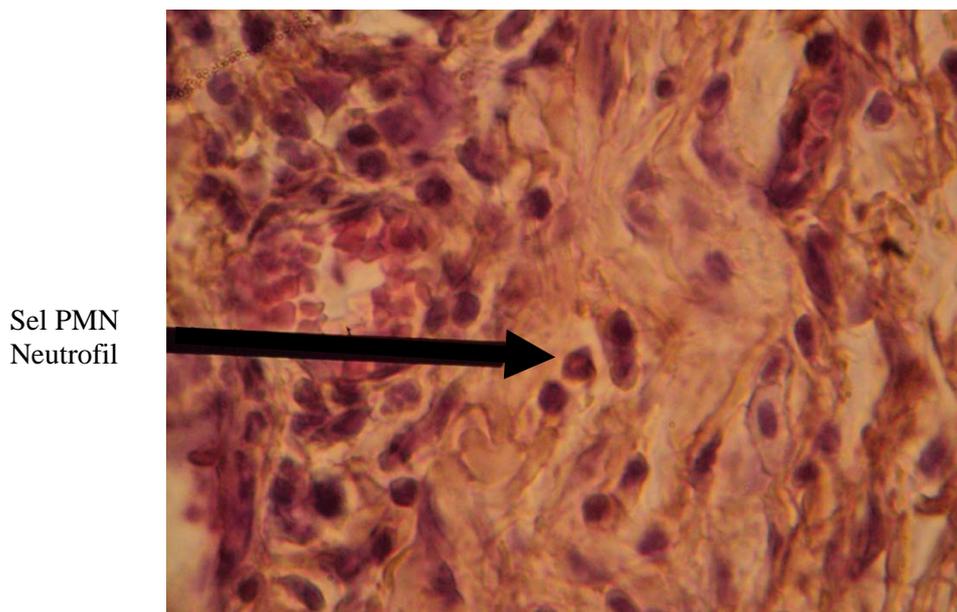


Gambar 3.1 Bagan Alur Penelitian

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

Penelitian pemberian probiotik terhadap jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida *E. coli* ini dikelompokkan menjadi 4 kelompok yaitu kelompok I merupakan kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan, kelompok II merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi LPS, kelompok III merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi LPS dan serta diberikan suntikan bakteri probiotik bersama-sama selama 5 hari, kelompok IV merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi LPS selama 5 hari dan serta diberikan suntikan bakteri probiotik selama 5 hari berikutnya. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2010 - Maret 2011. Secara mikroskopis gambaran histologi dari sel PMN Neutrofil yang dihitung pada semua kelompok dilihat pada gambar berikut :



Gambar 4.1 Sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang dihitung pada semua kelompok. (pembesaran 1000x)

Hasil pengamatan pada sampel penelitian diperoleh data sebagaimana tercantum pada tabel 4.1

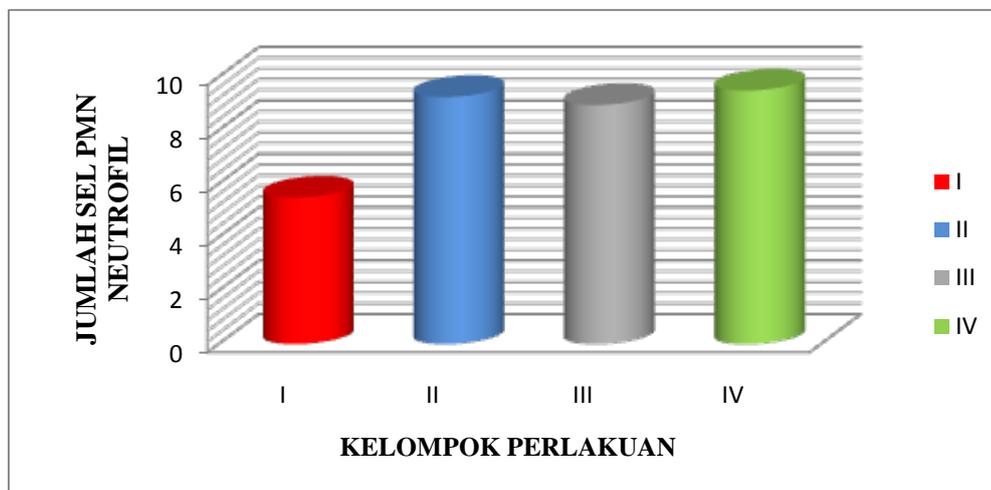
Tabel 4.1 Hasil perhitungan rerata jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan pada semua kelompok.

No.	Kelompok Perlakuan	n	Rerata Jumlah Sel PMN	Std. Deviasi
1	I	8	5.48	0.74*
2	II	8	9.25	1.62*
3	III	8	8.95	0.72*
4	IV	8	9.49	1.17*

Keterangan: \* : berbeda signifikan ( $p > 0,05$ )  
 Kelompok I : Kontrol  
 Kelompok II : Induksi LPS  
 Kelompok III : Induksi LPS dan *L. casei* secara bersamaan  
 Kelompok IV : Induksi LPS dan *L. casei* secara berurutan

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa jumlah rerata sel PMN neutrofil terendah adalah pada perlakuan kontrol sebesar 5,84 sel; kemudian berturut-turut induksi LPS dan *L. casei* secara bersamaan sebesar 8,95 sel, perlakuan induksi LPS saja sebesar 9,25 sel, dan jumlah sel PMN neutrofil terbanyak pada perlakuan induksi LPS dan *L. casei* secara berurutan sebesar 9,49 sel.

Untuk lebih jelasnya dapat digambarkan pada gambar 4.1 berikut :



Gambar 4.2 Grafik batang rerata jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan pada kelompok (I) kontrol, kelompok (II) induksi lipopolisakarida selama 5 hari, kelompok (III) induksi lipopolisakarida dan *L. casei* secara bersamaan selama 5 hari, serta kelompok (IV) induksi lipopolisakarida selama 5 hari dilanjutkan *L. casei* 5 hari berikutnya.

#### 4.1.1 Analisis Data

Data hasil penelitian terlebih dahulu diuji menggunakan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Rangkuman hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan pada semua kelompok.

No.	Kelompok Perlakuan	Sig
1	I	0.86*
2	II	0.63*
3	III	0.84*
4	IV	0.61*

Keterangan: \* : Data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ )  
 Kelompok I : Kontrol  
 Kelompok II : Induksi LPS  
 Kelompok III : Induksi LPS dan *L. casei* secara bersamaan  
 Kelompok IV : Induksi LPS dan *L. casei* secara berurutan

Hasil uji Kolmogorov-Smirnov menunjukkan probabilitas masing-masing perlakuan, yaitu kontrol, induksi LPS selama 5 hari, induksi LPS dan *L. casei*

secara bersamaan selama 5 hari, serta induksi LPS selama 5 hari dilanjutkan *L. casei* 5 hari berikutnya, adalah lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ). Nilai tersebut mempunyai arti bahwa semua data ditarik dari distribusi yang simetris atau normal.

Setelah diketahui data terdistribusi normal, kemudian dilakukan uji homogenitas varian menggunakan uji homogenitas Levene, rangkuman hasil uji homogenitas dapat dilihat pada tabel 4.3

Tabel 4.3 Rangkuman hasil uji homogenitas Levene jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan pada semua kelompok.

Levene statistic	df1	df2	Sig
2.559	3	28	0.75

Keterangan: \* : Data homogen ( $p > 0,05$ )

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa nilai signifikansi sebesar 0.075 lebih besar daripada nilai  $\alpha = 0.05$  yang ditetapkan. Berarti keempat perlakuan terhadap sel PMN neutrofil identik atau memiliki varians yang sama.

Dari data yang diperoleh diketahui normal dan homogen. Oleh karena itu, dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rerata jumlah sel PMN neutrofil pada masing-masing kelompok. Rangkuman hasil uji *one way* Anova dapat dilihat pada tabel 4.4

Tabel 4.4 Rangkuman hasil uji *one way* ANOVA terhadap rerata jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan pada semua kelompok.

	df	F	Sig
Antar Perlakuan	3	28.585	0.000*
Dalam Perlakuan	28		
Jumlah	31		

Keterangan: \* : Berbeda signifikan ( $p < 0,05$ )

Hasil dari uji *one way* ANOVA di atas menunjukkan angka probabilitas yang didapat adalah 0,000. Angka probabilitas yang lebih kecil daripada 0,05 ( $p < 0,05$ ) mempunyai arti adanya perbedaan yang signifikan terhadap rerata jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan pada perlakuan kontrol, induksi LPS selama 5 hari, induksi LPS dan *L. casei* secara bersamaan selama 5 hari, serta induksi LPS selama 5 hari dilanjutkan *L. casei* 5 hari berikutnya.

Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan yang signifikan, selanjutnya dilakukan uji beda HSD dengan tingkat kepercayaan 95% dan hasilnya ditunjukkan pada Tabel 4.5

Tabel 4.5 Rangkuman hasil uji beda HSD terhadap rerata jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan pada semua kelompok.

Perlakuan	I	II	III	IV
I	-	0.000*	0.000*	0.000*
II	0.000*	-	0.952	0.971
III	0.000*	0.952	-	0.770
IV	0.000*	0.971	0.770	-

Keterangan: \* : Berbeda signifikan ( $p < 0,05$ )  
 Kelompok I : Kontrol  
 Kelompok II : Induksi LPS  
 Kelompok III : Induksi LPS dan *L. casei* secara bersamaan  
 Kelompok IV : Induksi LPS dan *L. casei* secara berurutan

Hasil dari uji HSD antara kelompok I dan II, I dan III, I dan IV menunjukkan probabilitas antar kelompok perlakuan kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ), artinya terdapat perbedaan signifikan rerata jumlah sel PMN neutrofil. Akan tetapi, pada kelompok II dan III menunjukkan probabilitas sebesar 0,952 ( $p > 0,05$ ), pada kelompok II dan IV menunjukkan probabilitas sebesar 0,971 ( $p > 0,05$ ), serta pada kelompok III dan IV menunjukkan probabilitas sebesar 0,770 ( $p > 0,05$ ) artinya tidak terdapat perbedaan signifikan rerata jumlah sel PMN neutrofil pada ketiga kelompok perlakuan tersebut.

## 4.2 Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh pemberian probiotik terhadap jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi LPS *E. coli*.

Hasil yang didapatkan pada kelompok I memiliki jumlah sel PMN neutrofil paling rendah daripada kelompok yang lain. Kelompok II (induksi lipopolisakarida) memiliki jumlah sel PMN neutrofil yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok IV. Kelompok III memiliki jumlah sel PMN neutrofil yang lebih rendah dibandingkan kelompok II dan IV. Sedangkan pada kelompok IV memiliki jumlah sel PMN neutrofil yang paling tinggi dibandingkan kelompok yang lain.

Pada kelompok I (kontrol) didapatkan jumlah sel PMN neutrofil paling rendah dikarenakan pada kelompok I tidak diberi perlakuan. Pada kelompok II didapatkan hasil jumlah PMN neutrofil mengalami kenaikan dibandingkan kelompok I. Hal ini dikarenakan pada kelompok II tikus wistar diinduksi lipopolisakarida tanpa diberi probiotik sehingga terjadi peradangan. Proses radang melibatkan berbagai macam sel, misalnya leukosit yang berfungsi sebagai sel pertahanan tubuh. Sel leukosit seperti neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit, monosit berinteraksi satu sama lain dalam proses radang (Mansjoer, 1999). Oleh karena itu maka jumlah sel PMN neutrofil kelompok II lebih tinggi dibandingkan pada kelompok I.

Pada proses radang fase awal yaitu dalam 24 jam pertama sel yang paling banyak bereaksi adalah sel neutrofil atau leukosit polimorfonuklear (PMN). Sesudah fase awal yang bisa berlangsung sampai 48 jam mulailah disusul oleh makrofag. Sesudah makrofag akan muncul limfosit T dengan jumlah yang bermakna pada hari ke 5 dan mencapai puncak pada hari ke 7 (Pringgutomo dkk., 2002).

Pada kelompok III yaitu induksi LPS dan probiotik selama 5 hari secara bersamaan ini jumlah sel PMN neutrofilnya lebih sedikit daripada kelompok II dan IV. Hal ini dikarenakan kerusakan jaringan yang diakibatkan LPS dapat dikontrol oleh probiotik yang langsung diberikan setelah induksi LPS *E. coli*,

sehingga LPS mengalami lisis dan keadaan ini mengakibatkan sedikitnya pergerakan sel PMN neutrofil ke daerah yang mengalami radang. Bakteri probiotik *L. casei* dapat meregulasi keseimbangan respon imun lokal dan sistemik dalam melawan infeksi dengan cara melepaskan sitokin proinflamatori dan aktivasi *NK cells* untuk memfagositosis bakteri patogen (Winkler dkk., 2007). Oleh karena itu maka jumlah sel PMN neutrofil kelompok III lebih rendah dibandingkan pada kelompok II dan IV.

Pada kelompok IV didapatkan jumlah sel PMN neutrofil lebih tinggi jika dibandingkan semua kelompok. Hal ini dikarenakan induksi LPS selama 5 hari pada kelompok IV akan meningkatkan aktivitas pengeluaran sel PMN neutrofil karena kerusakan jaringan yang tidak dapat terkontrol kemudian dilanjutkan dengan pemberian probiotik selama 5 hari berikutnya akan merangsang pembentukan sel PMN neutrofil lebih banyak oleh karena itu kelompok IV mempunyai jumlah sel PMN neutrofil paling banyak.

Sel PMN pada kelompok yang diberi probiotik nyata mempunyai kemampuan kapasitas fagositosis *S. enteritidis* dan *S. typhimurium* yang lebih tinggi. Kemampuan sel PMN kelompok probiotik dalam mematikan (*clearance*) *S. enteritidis* dan *S. typhimurium* pada 30 dan 60 menit nyata ( $P < 0,05$ ) lebih tinggi dibandingkan kelompok lainnya (Winarsih dkk., 2007).

Probiotik dapat meningkatkan pertahanan tubuh inang. Pemberian *Lactobacillus casei* dan *L. bulgaricus* dapat meningkatkan aktivitas fagositosis pada mencit. Fagositosis merupakan sistem pertahanan tubuh non-seluler. Aktivitas dan kapasitas fagositosis menggambarkan kemampuan sel-sel pertahanan dalam mengeliminir antigen atau sel jaringan yang rusak atau mati. Fagositosis dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kesehatan inang dan stress (Isolauri dkk., 2001).

Senyawa yang dihasilkan oleh bakteri probiotik yang bersifat antimikroba diantaranya adalah asam organik, hidrogen peroksida, dan senyawa protein atau kompleks protein spesifik yang disebut bakteriosin. Asam laktat dan asetat merupakan komponen asam organik dari bakteri probiotik yang memiliki aktivitas antimikroba. Spesies *Lactobacillus* juga menghasilkan hidrogen peroksida yang

dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh mikroba (Kusumawati dkk, 2008).

Probiotik juga mampu bertindak sebagai imunomodulator. Pemberian probiotik yang mengandung *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus salivarius* pada mencit dapat menstimulasi sistem pertahanan non-spesifik dan probiotik tersebut dapat meningkatkan kapasitas sel makrofag dan sel lekosit polimorfonuklear (PMN) dalam memfagosit bakteri *S. typhimurium* secara *in vitro* (Isolauri dkk., 2001).

Neutrofil PMN pada keadaan normal berperan untuk memberikan perlindungan, akan tetapi pada keadaan tertentu dapat bersifat patogen bagi jaringan. Pada radang kronik dapat ditemukan gambaran mikroskopik berupa infiltrat seluler terdiri dari limfosit, sel plasma dan makrofag. Beberapa eosinofil polimorf mungkin dapat ditemukan, tetapi neutrofil polimorf (yang lazimnya terdapat pada radang akut) jarang ditemukan (Romanelli dkk., 1999; Underwood, 1999).

Peningkatan sistem pertahanan non-spesifik diantaranya fagositosis terjadi akibat adanya LPS (lipopolisakarida) atau peptidoglikan (PC) atau keduanya yang dilepaskan secara terus menerus oleh bakteri. Bakteri Gram positif dan negatif normal ada dalam saluran pencernaan. Peptidoglikan (PC) merupakan komponen dinding sel bakteri gram positif dan negatif dan Lipopolisakarida (LPS) komponen dinding sel bakteri gram negatif. Sejumlah kecil LPS dan PC dilepaskan secara terus menerus dan berinteraksi dengan permukaan sel inang, sehingga mengaktifkan sel makrofag, sel retikuloendotelial (RES) dan neutrofil untuk melepaskan berbagai mediator. Mencit yang diberi bakteri asam laktat *Lactobacillus* selama 7 hari dapat meningkatkan kapasitas makrofag dan sel PMNnya dalam memfagosit *Escherichia coli* (*E. coli*). Hal ini disebabkan bakteri *Lactobacillus* tersebut dapat menginduksi sitokin (Erickson dan Hubbard. 2000).

Sel PMN merupakan sel pertahanan yang pertama datang kebagian yang mengalami peradangan kemudian diikuti oleh makrofag. Infiltrasi sel radang pada tempat invasi merupakan tahap penting (Stabler dkk., 1994). Fungsi dari sel PMN neutrofil adalah melindungi jaringan lokal dengan cara mengontrol bakteri,

dengan begitu setelah diinduksi probiotik akan meningkatkan sel PMN neutrofil, sehingga jumlah sel PMN neutrofil yang semakin banyak itu akan berfungsi untuk melawan bakteri tersebut. Banyaknya sel PMN neutrofil dalam memfagosit bakteri ini akan menyebabkan proses keradangannya akan lebih cepat dan menurunnya jumlah sel PMN neutrofil.

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat diketahui efek probiotik sesuai dengan hipotesis yaitu mampu menurunkan jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang sebelumnya telah meningkat terlebih dahulu akibat diinduksi LPS, dimana pemberian probiotik *L. casei* bersamaan dengan induksi LPS selama 5 hari lebih efektif dalam menurunkan jumlah sel PMN neutrofil daripada pemberian probiotik selama 5 hari setelah diinduksi LPS selama 5 hari sebelumnya.

Hasil pada ketiga kelompok yang diberi perlakuan mempunyai hasil yang berbeda meskipun secara statistik perbedaannya tidak bermakna. Jadi perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

## **BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan ini dapat ditarik kesimpulan yaitu pemberian probiotik *L. casei* dapat menurunkan jumlah sel PMN neutrofil gingival tikus wistar yang sebelumnya meningkat akibat diinduksi LPS *E. coli*, dan pemberian probiotik *L. casei* bersamaan dengan induksi LPS *E. coli* selama 5 hari lebih efektif dalam menurunkan jumlah sel PMN neutrofil.

### **5.2 Saran**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek probiotik terhadap jumlah sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi bakteri penyebab penyakit periodontal lainnya dan dapat juga dilakukan dengan waktu pengamatan yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K. and Lichtman, A. H. 2001. *Basic Immunology, Function and Disorders of the Immune System*. Philadelphia: W. B. Saunders Co. <http://www.scribd.com/doc/47176191/imunitas>. (29 April 2011).
- Arina, Y.M.D. 2005. Mekanisme Pertahanan Jaringan Periodontal. *Stomatognathic J. KG. Unej September 2005*, 2(3): 14-18
- Collins MD, Gibson GR. 1999. Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am J Clin Nutr*, 69: 1052s - 1057s
- Damjanov, Ivan. 2000. *Histopatologi*. Jakarta: Widya Medika: 23-24.
- Deepa, D. & Mehta, D.S. 2009. Is The Role of Probiotics Friendly in the Treatment of Periodontal Diseases?. *J. Ind. Soc. Periodontology Jan - Apr 2009*, 13 (1): 30-31
- Djais, A.I. 2006. Periodontitis sebagai Faktor Resiko Jantung Koroner Aterosklerosis. *J. PDGI*, 56(2): 53-59
- Dorland. 1998. *Kamus Kedokteran Dorland (Dorland's Illustrated Medical Dictionary)*, Alih bahasa Tim Penerjemah EGC. Jakarta: EGC: 926
- Effendi, Z. 2003. *Peranan Leukosit sebagai Antiinflamasi Alergik dalam Tubuh*. Medan: Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara: 2
- Endaryanto, A., Harsono, A, 2006, *Prospek Probiotik dalam Pencegahan Alergi Melalui Induksi Aktif Toleransi Immunologis*. <http://www.pediatrik.com> (30 Mei 2007).
- Erickson KL, Hubbard NE. 2000. Probiotic immunomodulation in health and disease. *J Nutr*, 130: 403s-409s.
- Felicia, R.C., Safitri, R., Syarif, S., dan Nurhidayat, M.S.N. 2010. Analisis Ekspresi Gen Mannose Specific Adhesin yang Berkaitan dengan Adhesi Probiotik di Epitel Usus pada Isolat Probiotik *Lactobacillus sp.* dan *Leuconostoc sp.* dengan Menggunakan Metode Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction. *J. Medicinus Okt - Nov 2010*, 23(3): 20-22

- Fitria, E. 2006. Kadar IL-1B dan IL-8 sebagai Penanda Periodontitis, Faktor Resiko Kelahiran Prematur. *J. PDGI*, 56(2): 60-64
- Fuller, R. 1997. *Probiotic 2: Applications and Practical Aspects*. Great Britain: Chapman & Hall: 439-442
- Gregory, P. 2008. *Formed Element of The Bloods*. Biology Laboratory Specialist at Tyler Junior College. [http://science.tjc.edu/images/blood\\_cells/index.htm](http://science.tjc.edu/images/blood_cells/index.htm) (8 Januari 2008).
- Guyton, Arthur C. 1996. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* edisi 7. Jakarta: EGC: 67-69
- Guyton, A.C., & Hall, J.E. 1996. "Medical Textbook of Phisiology". Diterjemahkan Setiawan, I. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran edisi 9*. Jakarta: EGC: 545
- Harish K, Varghese T. 2006. Probiotics in humans - evidence based review. *Calicut Medical Journal* 4 (4) : e3.
- Indahyani, D.E., Santoso, A.S., Utoro. T., dan H.N.E., M.. 2007. Pengaruh Induksi Lipopolisakarida (LPS) terhadap Osteopontin Tulang Alveolaris Tikus pada Masa Erupsi Gigi. *Ind. J. Dent.* 2007, 14 (1): 2-7
- Isolauri S, Sutas Y, Kankaanpaa P, Arvilommi H, Salminen S. 2001. Probiotics: effect on immunity. *Am J Clinical Nutrition* 73:444s-450s.
- Junquiera, L., James, M.J, Robert, A.G.C., Carneiro, J., Kelley, R.O. 1995. *Basic Histology. 9<sup>th</sup> edition*. Rio de Janeiro: Lange Medical: 226
- Kurniawati, A. 2005. Hubungan Kehamilan dan Kesehatan Periodontal. *J. Biomed. Unej Mei* 2005, II(2): 43-51
- Kusumawati, N., Jenie, B.S.L., Setyahadi, S., dan Hariyadi, R.D. 2008. Aktivitas Antibakteri Laktobasili Asal Makanan Fermentasi Indonesia Terhadap Patogen Dan Pengaruhnya Terhadap Mikroflora Usus Tikus. *J. Obat Bahan Alam* 2008, 7 (1): 69-75
- Levinson W. 2008. *Review of Medical Microbiology & Immunology, Tenth Edition*. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc: 86-88
- Lopez J. 2000. Probiotics in animal nutrition. *Asian-Aust J Anim Sci*, 13, special issue: 12-26
- Mansjoer, S.1997. Efek Antiradang Minyak Atsiri Temu Putih (*Curcuma zeodaria Rosch*). *Media Farmasi Indonesia* 8(1): 35-36

- Margawani, K.R. 1995. *Lactobacillus casei* Galur Shirota (Bakteri Yakult), Peranannya Dalam Kesehatan Manusia. *Bul. Tek. dan Industri Pangan*. 6(2):93-99
- Mehmet, M. 2007. *Pengaruh Lipolisakarida (LPS) Terhadap Jenis-Jenis Lactobacillus*. Jakarta: FKG Universitas Indonesia: 34
- Murray, J. A. and Wilton, J. M. A. 2002. *LPS from Periodontal Pathogen P. Gingivalis Prevents Apoptosis of HL60-Derived Neutrophils In Vitro*, *Infect Immun*, 2003; 71(12): 7232-7235
- Notoadmodjo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. (Edisi Revisi). Jakarta: Penerbit Rineka Pustaka: 156-167
- Pascual M, Hugas M, Badiola JI, Monfort JM, Garriga M. 1999. *Lactobacillus salivarius* CTC2197 prevents *Salmonella enteritidis* colonization in chickens. *Applied and Environ. Microbiology*. 65 ( 11 ): 4981 – 4986
- Prescott LM, Harley JP, Klein DA. 2002. *Microbiology 5<sup>th</sup> edition*. Boston: McGraw-Hill: 43-88
- Price, S. A. and Wilson, L. M. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Jakarta: EGC: 57
- Pringgutomo, Sudarto dkk. (2002). *Patologi I (UMUM) edisi ke-1*. Jakarta: Sagung Seto. p 89
- Robbins & Kumar. 1995. *Buku Ajar Patologi 1 edisi 4*. Jakarta: EGC: 23,28,29,33
- Roberfroid MB. 2000. Prebiotics, probiotics: are they functional food? *Am J Clin Nutr*, 71: 1682s-16873.
- Romanelli, R., Mancini, S., aschinger, C., Overall, C.M., sodek, J., McCulloch, C.A.G. 1999. Activation of Neutrophil Collagenase in Periodontitis. *J. Dent. Ifec. Immun*. 67 (5): 19-26
- Roeslan, B.O. 2002. *Imunologi Oral: Kelainan di Dalam Rongga Mulut*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI: 39
- Sanders ME. 2000. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J Nutr*, 130: 384s-390s.
- Schrezenmeir J, deVrese M. 2001. Probiotics, prebiotics and synbiotics-approaching a definition. *Am J. Clin Nutr*, 73: 361s-364s

- Schenkein, H. 1999. The Pathogenesis of Periodontal Diseases. *J. Periodontol.* 70: 70-457
- Stabler JG, McCormick TW, Powell KC, Kogut MH. 1994. Avian heterophils and monocytes: phagocytic and bactericidal activities against *Salmonella enteritidis*. *Vet Microb*, 38: 293-305.
- Steel, R.G.D. & Torrie, J.H.. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama: 40-48
- Sugano, N., Matsuoka, T., Koga, Y., Ito, K, 2007, Effects of Probiotics on Periodontal Disease. *Japan. J. Dent.* 43: 123-126
- Syafriadi, M., Subiyantoro, S., Setyorini, D., dan Joelijanto, R. 2008. *Petunjuk Praktikum Patologi Anatomi, Degenerasi dan Radang*. Jember: FKG Universitas Jember: 4-8
- Underwood JC. 1999. *Patologi Umum dan Sistematis* Vol 1. 2<sup>nd</sup> ed. Jakarta: EGC: 232
- Vivekananda, M.R., Vandana, K.L. dan Bhat, K.G. 2010. Effect of the Probiotic *Lactobacilli reuteri (Prodentis)* in the Management of Periodontal Disease: a Preliminary Randomized Clinical Trial. *J. Oral Microbiology* 2010, 2: 44-53
- Winarsih, W., Priosoeryanto, B.P., Lay, B. W., Wibawan, I.W.T., Kompiang, I.P. 2007. Pengaruh Probiotik Terhadap Fagositosis Sel Polimorfonuklear Ayam Broiler. *Ind. J. Dent.* 2007, 11 (2): 37-43
- Winkler, P., Ghadimi, D., Schrezenmeir, J., dan Kraehenbuhl, J.P. 2007. Molecular and Cellular Basis of Microflora-Host Interactions. *J. Nutr.* 2007, 137: 756S-772

## Lampiran A. Surat Keterangan *Ethical Clearance*



### KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

#### KETERANGAN KELAIKAN ETIK ("ETHICAL CLEARANCE")

No. 025/D/EC-KEPK-SI-JK/07/2010

Setelah Tim Etik Penelitian Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan :

Judul : Pengaruh Pemberian Probiotik Terhadap Jumlah Sel Radang Pada Tikus Wistar Jantan Yang diinduksi Liposakarida (LPS)  
 Peneliti : Magestien Yanuarita M.S  
 NIM : 071610101096  
 Unit / Lembaga : Jurusan Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
 Tempat Penelitian : Laboratorium Biomedik Universitas Jember

Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Malang, 22 JUL 2010

An. Ketua,  
 Koordinator Divisi I,



Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc, SpParK  
 NIP. 19520410 198002 1 001

**Lampiran B. Data Penelitian Hasil Penghitungan Jumlah Sel Polimorfonuklear Neutrofil gingiva**

**Judul Penelitian** : Efek Pemberian Probiotik *Lactobacillus casei* Terhadap Jumlah Sel Polimorfonuklear Neutrofil Gingiva Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Lipopolisakarida

**Nama Peneliti / NIM**: Magestien Yanuaria M.S. / 071610101096

**Dosen pembimbing** : 1. drg. M. Nurul Amin, M.Kes. (DPU)  
2. drg. Zahara Meilawaty, M.Kes. (DPA)

**Fak. / Universitas** : Fakultas Kedokteran Gigi / Universitas Jember

**Tahun Penelitian** : 2011

Perlakuan	Preparat								Rerata
	1	2	3	4	5	6	7	8	
<b>I</b>	4.89	5.11	4.33	6.44	6.22	5.22	6.22	5.44	5.48
<b>II</b>	12.33	8.56	10.33	10.33	7.67	8.67	8.44	7.67	9.25
<b>III</b>	8.22	8.44	9.11	8.54	9.89	8.33	10.11	9.00	8.95
<b>IV</b>	9.67	9.55	10.55	7.67	9.89	7.89	9.77	11.00	9.49

Jember, 12 April 2011

Mengetahui,

Penanggung Jawab  
Lab. Histologi

Pemeriksa

**drg. Happy Harmono, M.Kes**  
NIP. 196709011997021001

**Sri Wahyuningsih, A. Md**  
NIP. 197601211999032009

**DATA JUMLAH SEL POLIMORFONUKLEAR NEUTROFIL**

<b>KELOMPOK</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>c</b>	<b>RERA-TA</b>	<b>KELOMPOK</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>c</b>	<b>RERA-TA</b>
<b>I.1</b>	5	6	4	4.89	<b>II.1</b>	15	12	16	12.33
	7	4	3			9	17	11	
	8	4	3			10	12	9	
<b>I.2</b>	8	6	4	5.11	<b>II.2</b>	10	7	11	8.56
	6	4	5			8	10	10	
	5	4	4			8	7	6	
<b>I.3</b>	7	3	5	4.33	<b>II.3</b>	10	6	6	10.33
	4	3	5			12	10	13	
	4	5	3			8	16	12	
<b>I.4</b>	9	8	5	6.44	<b>II.4</b>	10	12	11	10.33
	6	7	5			14	9	8	
	4	7	7			11	8	10	
<b>I.5</b>	6	5	7	6.22	<b>II.5</b>	7	6	8	7.67
	7	5	8			8	10	7	
	5	7	6			9	6	8	
<b>I.6</b>	4	6	4	5.22	<b>II.6</b>	8	7	12	8.67
	4	6	4			9	8	11	
	6	7	6			8	7	8	
<b>I.7</b>	6	6	7	6.22	<b>II.7</b>	8	10	8	8.44
	8	5	5			9	7	6	
	8	6	5			9	12	7	
<b>I.8</b>	5	4	6	5.44	<b>II.8</b>	9	6	11	7.67
	5	7	6			9	6	9	
	6	4	6			6	7	6	

<b>III.1</b>	7	9	7	8.22	<b>IV.1</b>	12	8	9	9.67
	10	7	10			13	10	7	
	9	7	8			9	12	7	
<b>III.2</b>	7	9	11	8.44	<b>IV.2</b>	9	10	12	9.55
	8	7	6			10	11	8	
	9	11	8			7	9	10	
<b>III.3</b>	11	9	10	9.11	<b>IV.3</b>	11	14	9	10.55
	12	8	8			8	11	12	
	11	7	6			7	13	10	
<b>III.4</b>	9	9	6	8.54	<b>IV.4</b>	7	6	10	7.67
	13	8	10			7	9	8	
	7	9	6			8	6	8	
<b>III.5</b>	17	12	9	9.89	<b>IV.5</b>	10	10	9	9.89
	5	8	10			12	8	10	
	9	8	11			9	9	12	
<b>III.6</b>	8	12	8	8.33	<b>IV.6</b>	7	6	11	7.89
	7	9	6			8	7	9	
	8	6	11			9	8	6	
<b>III.7</b>	9	11	8	10.11	<b>IV.7</b>	12	15	7	9.77
	8	7	12			8	13	7	
	17	9	10			9	7	10	
<b>III.8</b>	9	7	10	9.00	<b>IV.8</b>	11	12	14	11.00
	11	9	8			12	10	14	
	10	8	9			7	10	9	

Jember, 12 April 2011

Mengetahui,

Penanggung Jawab  
Lab. Histologi

Pemeriksa

**drg. Happy Harmono, M.Kes**  
NIP. 196709011997021001

**Sri Wahyuningsih, A. Md**  
NIP. 197601211999032009

## Lampiran C. Analisis Data Penelitian

### C.1 Rerata Jumlah Sel Polimorfonuklear Neutrofil Gingiva Pada Berbagai Perlakuan

PREPARA	PERLAKUAN			
	T	I	II	III
1	4.89	12.33	8.22	9.67
2	5.11	8.56	8.44	9.55
3	4.33	10.33	9.11	10.55
4	6.44	10.33	8.54	7.67
5	6.22	7.67	9.89	9.89
6	5.22	8.67	8.33	7.89
7	6.22	8.44	10.11	9.77
8	5.44	7.67	9.00	11.00
RERATA	5.48	9.25	8.95	9.49
SD	0.74	1.62	0.72	1.17

### C.2 Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		X1	X2	X3	X4
N		8	8	8	8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	5.4837	9.2500	8.9550	9.4975
	Std. Deviation	.74579	1.61602	.71740	1.17026
Most Extreme Differences	Absolute	.213	.265	.219	.268
	Positive	.148	.265	.219	.165
	Negative	-.213	-.164	-.154	-.268
Kolmogorov-Smirnov Z		.603	.750	.618	.758
Asymp. Sig. (2-tailed)		.860	.627	.839	.614

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

### C.3 Uji Homogenitas Levene

#### Descriptives

DATA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	8	5.4838	.74579	.26368	4.8603	6.1072	4.33	6.44
LPS	8	9.2500	1.61602	.57135	7.8990	10.6010	7.67	12.33
Bersamaan	8	8.9550	.71740	.25364	8.3552	9.5548	8.22	10.11
Berurutan	8	9.4975	1.17026	.41375	8.5191	10.4759	7.66	11.00
Total	32	8.2966	1.97514	.34916	7.5844	9.0087	4.33	12.33

#### Test of Homogeneity of Variances

DATA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.559	3	28	.075

### C.4 Analisis One Way ANOVA

#### ANOVA

DATA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	85.574	3	28.525	22.585	.000
Within Groups	35.363	28	1.263		
Total	120.937	31			

## C.5 Uji Beda HSD

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: DATA

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	LPS	-3.7663*	.56191	.000	-5.3004	-2.2321
	Bersamaan	-3.4713*	.56191	.000	-5.0054	-1.9371
	Berurutan	-4.0138*	.56191	.000	-5.5479	-2.4796
LPS	Kontrol	3.7663*	.56191	.000	2.2321	5.3004
	Bersamaan	.2950	.56191	.952	-1.2392	1.8292
	Berurutan	-.2475	.56191	.971	-1.7817	1.2867
Bersamaan	Kontrol	3.4713*	.56191	.000	1.9371	5.0054
	LPS	-.2950	.56191	.952	-1.8292	1.2392
	Berurutan	-.5425	.56191	.770	-2.0767	.9917
Berurutan	Kontrol	4.0138*	.56191	.000	2.4796	5.5479
	LPS	.2475	.56191	.971	-1.2867	1.7817
	Bersamaan	.5425	.56191	.770	-.9917	2.0767

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

## Homogeneous Subsets

### DATA

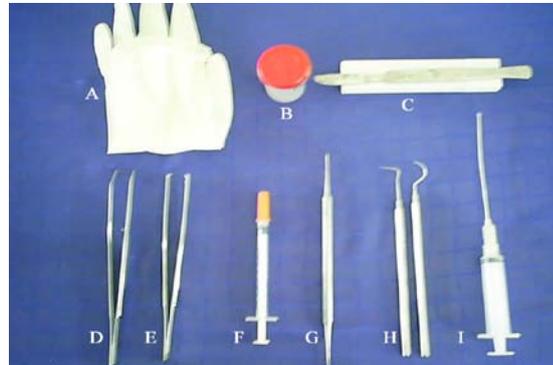
Tukey HSD<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Kontrol	8	5.4838	
Bersamaan	8		8.9550
LPS	8		9.2500
Berurutan	8		9.4975
Sig.		1.000	.770

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

### Lampiran D. Foto Alat Penelitian



**Gambar D.1** A. Sarung tangan; B. Wadah jaringan; C. *Blade, scalpel*; D. Pinset cirurgis; E. Pinset anatomis; F. *Syringe* insulin 30G merek Terumo; G. Escavator; H. Sonde lurus dan setengah lingkaran; I. Sonde lambung.



**Gambar D.2** A. Petridish; B. Neirbeken.



**Gambar D.3** Mikroskop binokuler merek Leica



**Gambar D.4** A. Neraca; B. Gelas ukur; C. Kapas; D. Tempat air



**Gambar D.5** Inkubator (Binder, Jerman)



**Gambar D.6** Mikrotom (Leica RM 2135)



**Gambar D.7** *Waterbath* (Mettmert)



**Gambar D.8** *Hot Plate* (Labinco B.V., Belanda)

### Lampiran E. Foto Bahan Penelitian



**Gambar E.1** Aquabidest; B. Ketamin (*anastesi inject*);



**Gambar E.2** A. *Decalsification agent*; B. Parafin; C. *Eosine 5%*; D. *Formalin 10%*; E. *Minyak emersi*; F. *Haematoxilin*; G. *Entelan*; H. *Deck glass*; I. *Object glass*

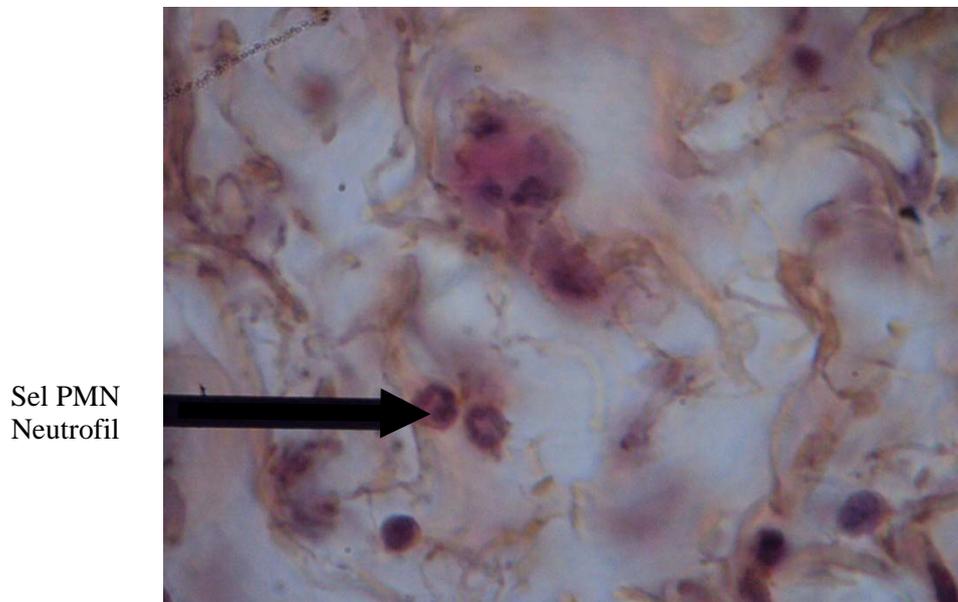


**Gambar E.3** A. Alkohol 70%; B. Aquabidest; C. Aquadest steril

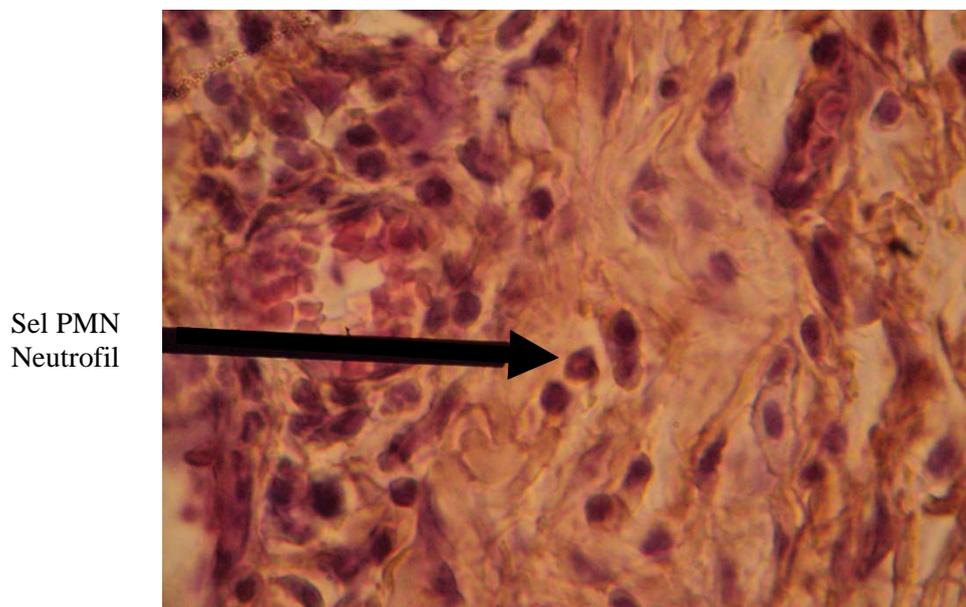


**Gambar E.3** Tikus wistar jantan dan kandang tikus

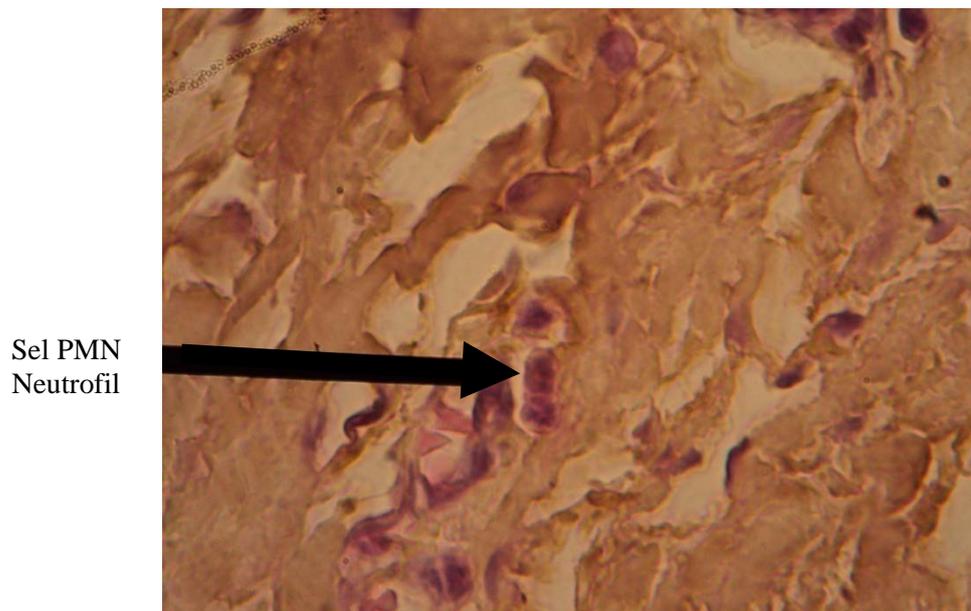
**Lampiran F. Foto Sel Polimorfonuklear neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang dihitung**



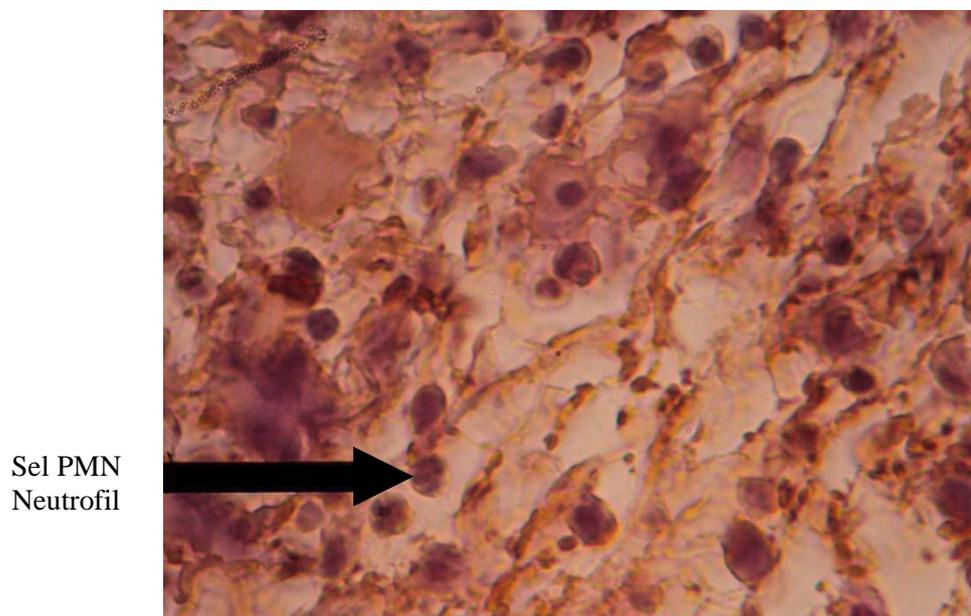
**Gambar F.1** Sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang dihitung pada perlakuan kontrol.



**Gambar F.2** Sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang dihitung pada perlakuan pemberian LPS selama 5 hari.



**Gambar F.3** Sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang dihitung pada perlakuan pemberian LPS dan *L. casei* secara bersamaan selama 5 hari.



**Gambar F.4** Sel PMN neutrofil gingiva tikus wistar jantan yang dihitung pada perlakuan pemberian LPS selama 5 hari dilanjutkan *L. casei* 5 hari berikutnya.