



**IDENTIFIKASI LESI ATEROSKLEROSIS FEMORALIS PADA TIKUS  
WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI PERIODONTITIS  
MENGUNAKAN *Porphyromonas gingivalis***

**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

**Cholida Rachmatia**

**NIM 131610101056**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2017**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah S.W.T atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya yang tiada henti;
2. Ibunda saya, Drs. Hj. Nuryatun; Ayahanda saya, H, Hariyanto; Kakak-kakak saya, Reza Syahrial dan Nazid Nasrudin Muslim; dan keluarga besar saya;
3. Tanah air Indonesia;
4. Almamater tercinta saya Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. Guru-guru TK, SD, MTs, MAN dan dosen-dosen di Perguruan Tinggi yang telah mengajarkan saya mengenai ilmu pengetahuan di dunia ini.

## MOTTO

Carilah ilmu dan harta supaya kamu bisa memimpin. Ilmu akan memudahkanmu memimpin orang-orang diatas, sedangkan harta akan memudahkanmu memimpin orang yang di bawah\*

Banyak hal yang bisa menjatuhkanmu. Tapi satu-satunya hal yang benar-benar dapat menjatuhkanmu adalah sikapmu sendiri\*\*

---

\* Ali bin Abi Thalib

\*\* Raden Ajeng Kartini

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Cholida Rachmatia

NIM : 131610101056

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Identifikasi Lesi Aterosklerosis Femoralis pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Periodontitis Menggunakan *Porphyromonas gingivalis*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun 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, 13 Februari 2017

Yang menyatakan,

Cholida Rachmatia

NIM 131610101056

**SKRIPSI**

**IDENTIFIKASI LESI ATEROSKLEROSIS FEMORALIS PADA TIKUS  
WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI PERIODONTITIS  
MENGUNAKAN *Porphyromonas gingivalis***

Oleh

**Cholida Rachmatia**

**NIM. 131610101056**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Tantin Ermawati, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Happy Harmono, M.Kes

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Identifikasi Lesi Aterosklerosis Femoralis pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Periodontitis Menggunakan *Porphyromonas gingivalis*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi pada:

hari, tanggal : Senin, 13 Februari 2017

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

**Tim Penguji**

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes.

Prof. Dr. Drg. IDA Ratna Dewanti, M.Si

NIP. 196109031986022001

NIP. 196705021997022001

**Pembimbing**

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

drg. Tantin Ermawati, M.Kes

drg. Happy Harmono, M.Kes.

NIP. 198003222008122003

NIP. 196709011997021001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember

drg. R Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost

NIP. 196901121996011001

## RINGKASAN

**Identifikasi Lesi Aterosklerosis Femoralis pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Periodontitis Menggunakan *Porphyromonas gingivalis*.** Cholida Rachmatia. 131610101056; 99 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Aterosklerosis femoralis merupakan penyakit penyempitan lumen pembuluh darah (aterosklerosis) yang terjadi pada arteri femoralis. Aterosklerosis femoralis ini merupakan salah satu penyakit yang termasuk dalam *Peripheral Arterial Occlusive Disease* (PAOD) atau penyakit oklusi arteri perifer yang paling sering terjadi dan dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti, infeksi, umur, hiperlipidemia, merokok, hipertensi, keturunan, diabetes mellitus dan sindrom metabolisme. Aterosklerosis femoralis sering terjadi karena arteri femoralis merupakan pembuluh nadi utama untuk extremitas inferior bawah. Aterosklerosis femoralis diduga berhubungan kuat dengan aterosklerosis koroner karena penyebab yang sama, yaitu infeksi. Salah satu infeksi yang paling banyak terjadi di tubuh terdapat pada rongga mulut, yaitu periodontitis. Periodontitis disebabkan oleh kelompok mikroorganisme terutama bakteri batang gram negatif dengan *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) sebagai bakteri yang paling dominan. *P. gingivalis* dapat masuk ke dalam tubuh yang nantinya akan menempati bagian tubuh yang cocok dengan keadaan bakteri (bakteremia). Adanya hubungan antara aterosklerosis koroner dengan aterosklerosis femoralis, banyaknya penelitian yang menjelaskan bahwa aterosklerosis dapat terjadi karena infeksi bakteri dalam rongga mulut (*P. gingivalis*), dan belum adanya penelitian tentang hubungan antara induksi *P. gingivalis* dengan lesi aterosklerosis femoralis, menimbulkan keinginan penulis untuk melakukan penelitian tentang hubungan antara induksi *P. gingivalis* terhadap pembentukan lesi aterosklerosis femoralis secara eksperimental.

Penelitian eksperimental laboratoris pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) ini menggunakan rancangan *the post test only control group design*. Sampel penelitian adalah 8 ekor tikus wistar jantan, dengan kriteria tikus umur 3-4 bulan dan dalam keadaan sehat. Kelompok penelitian terdiri dari 2 kelompok (masing-masing terdiri dari 4 tikus), yaitu kelompok K (kelompok kontrol), dan kelompok P (kelompok periodontitis) yang dipasang wire ligature 0,5 mm dan diinjeksi 0,05 ml *P. gingivalis* ATCC 33277 dengan konsentrasi 0,5 McFarland (setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml) sebanyak tiga kali perminggu selama 28 hari pada sulkus bukal gigi molar pertama rahang bawah kiri. Pada hari ke-29 tikus dikorbankan untuk diambil rahang dan femur dan femur dibuat sediaan histologis. Pembuatan sediaan histologis dilakukan dengan teknik *frozen section* yang dipotong secara melintang pada daerah sebelum percabangan dengan pewarnaan *Picrosirius Red* untuk pengamatan penebalan lapisan tunika intima-media pada dinding arteri femoralis, ateroma, disintegrasi kolagen dan pewarnaan *Sudan IV Mayer's Hematoxylin* untuk pengamatan disintegrasi endotel, deposisi lipid dan *fatty streak*. Tahap pengamatan dilakukan di bawah mikroskop cahaya dan optilab dengan perbesaran 100x, 400x dan 1000x. Ketebalan dinding arteri femoralis dianalisis dengan *Independent T-Test*, sedangkan disintegrasi endotel, ateroma, disintegrasi kolagen intima, *fatty streak* dan deposisi lipid dianalisis dengan uji *Mann-Withney*.

Hasil penelitian menunjukkan data ketebalan dinding arteri femoralis berdistribusi normal dan pada kelompok periodontitis dinding lebih tebal dibandingkan kelompok kontrol. Rata-rata ketebalan dinding arteri kelompok periodontitis adalah 92,675  $\mu\text{m}$  dan pada kelompok kontrol adalah 64,650  $\mu\text{m}$ . Hasil analisis data menunjukkan hasil yang signifikan ( $p=0,003$ ). Hasil persentase parameter aterosklerosis ditemukan lebih tinggi pada kelompok periodontitis yaitu pada disintegrasi endotel (100%), disintegrasi kolagen (100%), ateroma (100%), dan *fatty streak* (100%). Sedangkan deposisi lipid tidak ditemukan baik pada kelompok periodontitis maupun kelompok kontrol yang bisa terjadi karena sel lemak pada



dinding arteri telah mengarah ke lumen menjadi *fatty streak* atau bisa dikarenakan kurang meratanya pewarnaan *Sudan IV*.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah periodontitis yang diinduksi *P. gingivalis* dapat menimbulkan pembentukan lesi aterosklerosis femoralis. Pembentukan lesi aterosklerosis femoralis tersebut ditandai dengan terlihatnya tanda-tanda lesi aterosklerosis secara histologis, meliputi terjadinya penebalan dinding arteri, adanya ateroma, disintegrasi endotel dan *fatty streak* yang ditemukan lebih banyak pada kelompok periodontitis dibandingkan kelompok kontrol. Penelitian eksperimental mengenai hubungan kausa efek antara *P. gingivalis* dan aterosklerosis femoralis ini baru pertama kali diteliti. Pada penelitian selanjutnya perlu penelitian lebih lanjut untuk mengukur tingkat keparahan periodontitis dan derajat inflamasi sistemik yang bertujuan untuk meningkatkan tingkat kewaspadaan terjadinya *oral infection* (Periodontitis) karena periodontitis dapat menginduksi pembentukan aterosklerosis femoralis.

## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Identifikasi Lesi Aterosklerosis Femoralis pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Periodontitis Menggunakan *Porphyromonas gingivalis*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Ibunda tercinta Drs. Hj. Nuryatun dan Ayahanda tercinta H. Hariyanto yang telah memberikan kasih sayang, nasehat, bimbingan, doa dan motivasi bagi saya sampai saat ini;
2. Kakak-kakak tercinta saya, Reza Syahrial dan Nazid Nasrudin Muslim yang telah memberikan segala kasih sayang, canda tawa, dan doa bagi saya;
3. Seluruh keluarga besar saya yang selalu memberikan doa kepada saya;
4. Proyek Hibah Kompetensi DRPM DIKTI 2016, diketuai oleh Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes., yang telah mendanai sebagian dari penelitian ini;
5. drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
6. drg. Tantin Ermawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Happy Harmono, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan ilmu, bimbingan, saran dan motivasi serta penuh kesabaran membimbing saya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
7. Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes., selaku Dosen Penguji Ketua dan Prof. Dr. Drg. IDA Ratna Dewanti, M.Si, selaku Dosen Penguji Anggota yang telah banyak memberi masukan demi kesempurnaan skripsi ini;

8. drg. Budi Yuwono, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan nasihat, saran dan motivasi;
9. Teman-teman tim penelitian “Protein”: Lusi Hesti Pratiwisari, Usnida Mubarakah, Mochammad Fahmi, Christian Agung Prasetya, Iman Santoso Adji, Natasha Destanti yang selama ini sudah bekerjasama dalam menyelesaikan penelitian ini;
10. Sahabat-sahabat tercinta saya: Ziyana M. W, Fatimatuz Z, Lusi H. P, Usnida M, S. Z. Nuresti, Yenny P, Eli S, Diah I, Retno R, yang telah memberikan kasih sayang, doa, motivasi, dan menjadi tempat mencurahkan isi hati baik suka maupun duka;
11. Sahabat-sahabat “Geng Belajar”: Hesti R. S, Afifannisa D. R, Naddia K, Ziyana M. W, Fatimatuz Z, S. Z Nuresti, Faiqatin C. R, Roni H, Wahyu H, Fitriana W, Annora R, yang telah berbagi ilmu dan belajar bersama;
12. Sahabat-sahabat “(bismillah) istiqomah”: Sabrina Primawati D. R, Meirisa Y, Kharishah M, Tira A. P, Dea L. S, S. Z. Nuresti, Naddia K, Desy F. G. A. N, yang telah berbagi ilmu terutama ilmu agama dan saling menyemangati;
13. Seluruh staf dan karyawan/karyawati Laboratorium Biomedik Fakultas kedokteran Gigi Universitas Jember;
14. Teman-teman seperjuangan saya di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember angkatan 2013. Terima kasih atas segala kebersamaan dan motivasinya.

Penulis menyadari masih ada ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan penulisan yang selanjutnya. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat.

Jember, 13 Februari 2017

Penulis

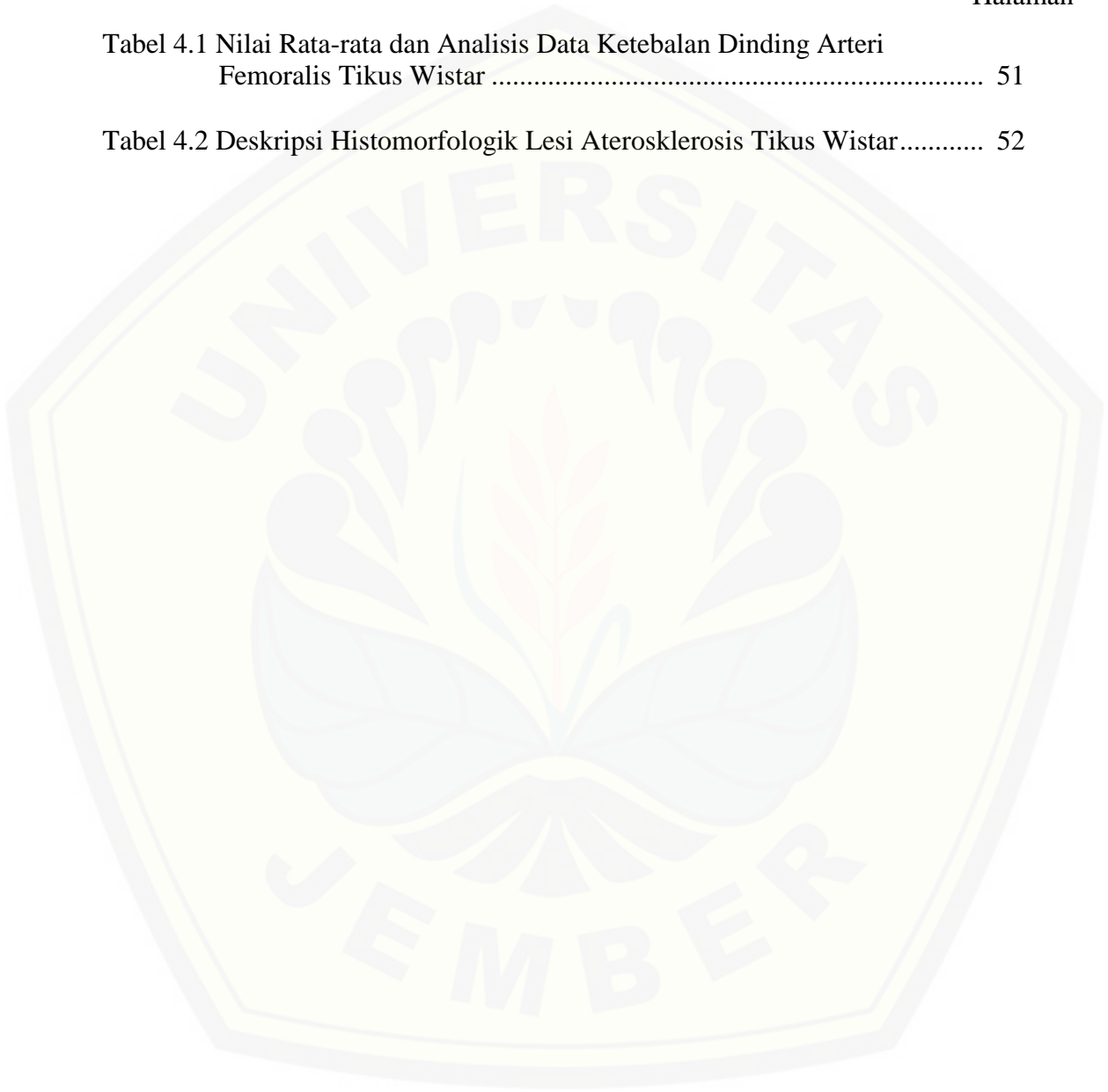
DAFTAR ISI

<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>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvi</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Arteri Femoralis .....	5
2.2 Sistem Imun Tubuh.....	7
2.3 Aterosklerosis .....	9
2.3.1 Patofisiologi Aterosklerosis .....	9
2.3.2 Tipe-tipe Lesi Aterosklerosis .....	11
2.3.3 Faktor Resiko Aterosklerosis .....	14
2.3.4 Manifestasi Klinis .....	17
2.4 Aterosklerosis Femoralis .....	18
2.5 Periodontitis .....	20
2.6 <i>Porphyromonas gingivalis</i> ( <i>P. gingivalis</i> ) .....	22
2.7 Hubungan Infeksi <i>P. gingivalis</i> dan Aterosklerosis Femoralis .....	24
2.8 Kerangka Teori .....	28
2.9 Hipotesis .....	30
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>31</b>
3.1 Jenis Penelitian .....	31
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....	31
3.3 Subjek Penelitian .....	31
3.3.1 Besar Subjek Penelitian .....	31

3.3.2 Kriteria Inklusi, Eksklusi, dan <i>Drop Out</i> .....	32
3.4 Identifikasi Variabel Penelitian.....	33
3.4.1 Variabel Bebas .....	33
3.4.2 Variabel Terikat .....	33
3.4.3 Variabel Terkendali.....	37
3.5 Bahan dan Alat Penelitian.....	37
3.5.1 Bahan Penelitian.....	37
3.5.2 Alat Penelitian.....	37
3.6 Prosedur Penelitian .....	38
3.7 Analisis Data.....	45
3.8 Alur Penelitian .....	47
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>48</b>
4.1 Periodontitis pada Tikus .....	49
4.2 Histomorfometrik Lesi Aterosklerosis Femoralis.....	50
4.3 Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Femoralis.....	52
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>59</b>
5.1 Kesimpulan .....	59
5.2 Saran .....	59
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>60</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>65</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 4.1 Nilai Rata-rata dan Analisis Data Ketebalan Dinding Arteri Femoralis Tikus Wistar .....	51
Tabel 4.2 Deskripsi Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Tikus Wistar.....	52



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Preparat Histologi Arteri Femoralis .....	5
2.2 Anatomi Arteri Femoralis .....	7
2.3 Macam Sel Imun .....	8
2.4 Patofisiologi Aterosklerosis .....	11
2.5 Disfungsi Endotel pada Aterosklerosis .....	12
2.6 Disfungsi Endotel dengan Pembentukan Sel Busa .....	13
2.7 Disfungsi Endotel dengan Pembentukan <i>Fibrous Cap</i> .....	13
2.8 Penyempitan Arteri Oleh Plak Fibrous .....	18
2.9 Gambaran Radiografi Pasien Periodontitis .....	22
2.10 <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	24
3.1 Gambaran Histomorfologik Deposisi Lipid .....	36
4.1 Hasil Foto Klinis Mandibula Kiri Tikus .....	50
4.2 Hasil Foto Radiografis Mandibula Kiri Tikus .....	50
4.3 Ketebalan Dinding Arteri Femoralis Pengecatan <i>Picrosirius Red</i> .....	51
4.4 Gambaran Histologi Arteri Femoralis dengan Pewarnaan <i>Sudan IV</i> <i>Mayer's Hematoxylin</i> .....	57
4.5 Gambaran Histologi Arteri Femoralis Tikus dengan Pewarnaan <i>Picrosirius Red</i> .....	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Perhitungan Jumlah Sampel .....	65
Lampiran B. Uji Identifikasi <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	66
Lampiran C. Alat dan Bahan Penelitian.....	67
C.1 Alat Penelitian.....	67
C.2 Bahan Penelitian .....	70
Lampiran D. Prosedur Penelitian .....	71
D.1 Persiapan Perlakuan, Proses Perlakuan dan Pembedahan Tikus. 71	
D.2 Proses <i>Frozen Section</i> .....	72
D.3 Proses Pengecatan Jaringan .....	73
Lampiran E. Foto Klinis dan Radiografis Rahang Tikus Wistar ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	74
E.1 Foto Klinis Rahang Tikus Wistar ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	74
E.2 Foto Radiografis Rahang Tikus Wistar ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	75
Lampiran F. Hasil Pengamatan Lesi Aterosklerosis .....	76
Lampiran G. Hasil Uji Statistik.....	78
G.1 Ketebalan Dinding Arteri Femoralis .....	78
G.2 Ateroma .....	79
G.3 Disintegrasi Kolagen Intima .....	80
G.4 Deposisi Lipid.....	81



G.5 <i>Fatty Streak</i> .....	82
G.6 Disintegrasi Endotel .....	83
Lampiran H. Gambaran Histologi Lesi Aterosklerosis Femoralis Tikus Wistar.....	84
H.1 Ketebalan Dinding Arteri Femoralis Tikus Wistar (Pewarnaan <i>Picrosirius Red</i> Perbesaran 400x) .....	84
H.2 Gambaran Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Femoralis Tikus Wistar (Pewarnaan <i>Picrosirius Red</i> Perbesaran 100x).....	86
H.3 Gambaran Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Femoralis Tikus Wistar (Pewarnaan <i>Picrosirius Red</i> Perbesaran 400x).....	87
H.4 Gambaran Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Femoralis Tikus Wistar (Pewarnaan <i>Picrosirius Red</i> Perbesaran 1000x)...	88
H.5 Gambaran Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Femoralis Tikus Wistar (Pewarnaan <i>Sudan IV Mayer's Hematoxylin</i> Perbesaran 100x) .....	89
H.6 Gambaran Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Femoralis Tikus Wistar (Pewarnaan <i>Sudan IV Mayer's Hematoxylin</i> Perbesaran 400x) .....	90
H.7 Gambaran Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Femoralis Tikus Wistar (Pewarnaan <i>Sudan IV Mayer's Hematoxylin</i> Perbesaran 1000x) .....	91
Lampiran I. Tabel Berat Badan Tikus dan Tanda Klinis Periodontitis.....	92
I.1 Tabel Berat Badan Tikus dan Tanda Klinis Periodontitis Kelompok Kontrol.....	92
I.2 Tabel Berat Badan Tikus dan Tanda Klinis Periodontitis Kelompok Periodontitis.....	92
Lampiran J. Sertifikat <i>Ethical Clearance</i> Penelitian.....	93
Lampiran K. Surat Ijin Penelitian .....	95

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Aterosklerosis femoralis merupakan penyakit penyempitan lumen pembuluh darah (aterosklerosis) yang terjadi pada arteri femoralis. Aterosklerosis femoralis ini merupakan salah satu penyakit yang termasuk dalam *Peripheral Arterial Occlusive Disease* (PAOD) atau penyakit oklusi arteri perifer yang paling sering terjadi dan dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti, infeksi, umur, hiperlipidemia, merokok, hipertensi, keturunan, diabetes mellitus dan sindrom metabolisme. Aterosklerosis femoralis sering terjadi karena arteri femoralis merupakan pembuluh nadi utama untuk extremitas inferior bawah. Arteri femoralis terletak di pertengahan antara spina iliaca anterior superior dan simphisis pubis (Snell, 2011). Berdasarkan penelitian yang menggunakan pemeriksaan *femoral ultrasound (B-mode dan color doppler ultrasound)*, tingkat prevalensi aterosklerosis femoralis cukup tinggi, yaitu sebanyak 85 responden dari 322 total responden (26,4%) (Tarnoki, 2015).

Arteri femoralis bertanggung jawab untuk mengalirkan darah menuju lutut, dimana hal ini sangat penting untuk kaki manusia. Oleh karena itu, apabila ada penyakit pada arteri femoralis maka akan berdampak pada kinerja dari lutut (Akhtar, 2014). Adanya aterosklerosis femoralis biasanya akan menimbulkan gejala dari ringan sampai berat, yaitu rasa kesemutan, kejang otot, kelemahan otot, dan rasa nyeri yang hilang timbul (*Intermittent Claudication*) sampai timbulnya kerusakan jaringan berupa ulserasi atau gangren dan hilangnya vaskularisasi (*Critical Limb Ischaemia*). Apabila keadaan ini terus berlanjut maka dapat mengakibatkan diamputasinya tungkai karena jaringannya telah mati (Husin, 2006).

Menurut penelitian Dieter 2002 mengatakan bahwa 40% dari penderita aterosklerosis koroner menderita aterosklerosis femoralis dan 60% dari penderita aterosklerosis femoralis adalah penderita aterosklerosis

koroner. Hal ini menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara aterosklerosis femoralis dengan aterosklerosis koroner. Pada penelitian-penelitian terbaru menunjukkan bahwa aterosklerosis koroner bisa disebabkan oleh infeksi bakteri yang berperan sebagai stimulus. Infeksi bakteri mengakibatkan terjadinya inflamasi yang menstimulasi migrasi dan proliferasi dari sel otot polos yang berperan dalam pembentukan *fatty streak* pada aterosklerosis. Bakteri dan produknya juga dapat mempengaruhi metabolisme lemak, koagulasi darah, monosit, makrofag atau sel endotel dan dapat juga merusak pembuluh darah. Perubahan ini dapat menyebabkan meningkatnya resiko terjadinya aterosklerosis. Salah satu bakteri yang diduga berpengaruh pada pembentukan aterosklerosis adalah bakteri dari periodontitis (Agus, 2010).

Periodontitis adalah kumpulan dari sejumlah keadaan inflamatorik pada jaringan pendukung gigi dan menyebabkan kerusakan pada *attachment apparatus* gigi (gingiva, ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar). Periodontitis terjadi secara perlahan, progresif dan bersifat destruktif sehingga bisa berakibat pada tanggalnya gigi geligi (Wangsarahardja, 2005). Periodontitis disebabkan oleh kelompok mikroorganisme terutama bakteri batang gram negatif dengan *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) sebagai bakteri yang paling dominan. *P. gingivalis* dapat menyebar secara hematogen dan merusak endotel vaskular melalui mekanisme metastasis bakteri yang menyebabkan terjadinya bakteremia, penyebaran toksin bakteri dan antigen periodontal, sehingga bakteri dapat masuk ke pembuluh darah dan menginduksi sitokin pro-inflamasi (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8) untuk membentuk plak *atheromatous* dalam pembuluh darah (Belstrom, 2011).

Terbentuknya plak *atheromatous* yang semakin menumpuk akan menghambat aliran darah, sehingga fungsi dari aliran darah akan terganggu. Penumpukan plak *atheromatous* nantinya dapat menyebabkan perubahan-perubahan pada pembuluh darah, seperti menebalnya dinding pembuluh darah, penyempitan lumen pembuluh darah, diskontinuitas kolagen pada dinding pembuluh darah, diskontinuitas sel endotel pada lapisan tunika

intima, adanya timbunan lemak pada dinding pembuluh darah dan adanya sel busa pada pembuluh darah. Perubahan-perubahan tersebut bisa terjadi karena respon dari banyaknya makrofag dalam pembuluh darah, tingginya *Reactive Oxygen Species* (ROS), tingginya kadar LDL dalam tubuh, adanya penimbunan lipid dan tingginya proliferasi sel yang akan menyebabkan plak menonjol ke dalam lumen pembuluh darah dan mengurangi aliran darah yang kadang-kadang menyumbat seluruh pembuluh darah, sehingga nutrisi untuk jaringan tidak tersuplai dan mengakibatkan kematian jaringan (Nasution, 2013). Garam kalsium juga sering kali mengendap bersama kolesterol dan lipid plak, yang menimbulkan kalsifikasi sekeras tulang dan dapat membuat arteri seperti saluran kaku. Arteri yang kehilangan sebagian daya lenturnya dan dinding pembuluh yang berdegenerasi menyebabkan pembuluh menjadi mudah robek (Guyton, 2007).

Fenomena tingginya tingkat prevalensi aterosklerosis koroner, banyaknya penelitian yang menjelaskan bahwa aterosklerosis dapat terjadi karena infeksi bakteri dalam rongga mulut (*P. gingivalis*), dan belum adanya penelitian tentang hubungan antara induksi *P. gingivalis* dengan lesi aterosklerosis femoralis. Oleh karena itu menimbulkan keinginan penulis untuk melakukan penelitian tentang hubungan antara induksi *P. gingivalis* terhadap pembentukan lesi aterosklerosis femoralis secara eksperimental.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah induksi *P. gingivalis* dapat menginduksi terjadinya pembentukan lesi aterosklerosis femoralis?
2. Bagaimana tanda-tanda adanya lesi aterosklerosis femoralis secara histologis pada tikus Wistar yang diinduksi *P. gingivalis*?

### 1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Menganalisis pengaruh induksi *P. gingivalis* terhadap pembentukan lesi aterosklerosis femoralis.
2. Mengidentifikasi secara histologis tanda-tanda lesi aterosklerosis femoralis pada tikus Wistar yang diinduksi *P. gingivalis* meliputi ketebalan dinding, ateroma, disintegrasi kolagen intima, disintegrasi endotel, deposisi lipid, dan *fatty streak*.

### 1.4. Manfaat Penelitian

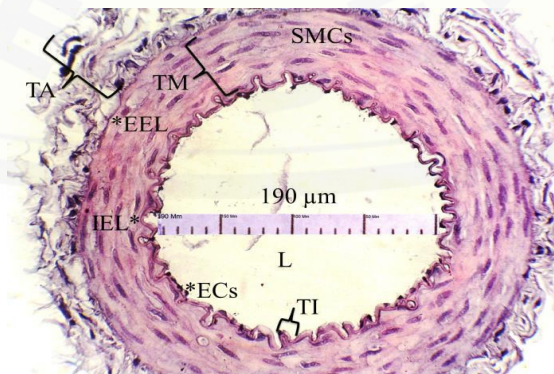
Manfaat penelitian ini antara lain:

1. Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pemahaman mengenai pembentukan lesi aterosklerosis femoralis yang disebabkan oleh *P. gingivalis*.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan tingkat kewaspadaan terjadinya *oral infection* (Periodontitis) karena dapat menjadi menginduksi pembentukan aterosklerosis femoralis.
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan dalam melakukan tindakan preventif untuk menurunkan mortalitas penderita aterosklerosis femoralis.
4. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai dasar penelitian-penelitian selanjutnya.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Arteri Femoralis

Arteri femoralis terletak di pertengahan antara spina iliaca anterior superior dan symphysis pubis. Arteri femoralis sampai ditungkai atas dengan berjalan di bawah ligament inguinale, sebagai lanjutan dari arteri iliaca externa (Snell, 2011). Arteri femoralis merupakan pembuluh nadi utama untuk ekstermitas bawah inferior. Arteri femoralis berfungsi untuk mengalirkan darah ke lutut. Arteri femoralis sangat penting untuk kaki manusia. Apabila terjadi penyakit di arteri femoralis maka akan berefek pada kinerja dari lutut (Akhtar, 2014). Arteri femoralis adalah salah satu arteri dengan lumen yang besar dan terdiri dari tiga lapisan, yaitu tunika intima, tunika media dan tunika adventisia. Lapisan tunika intima tersusun oleh selapis sel endotel yang mempunyai struktur skuamos. Lapisan tunika media terdiri dari otot polos, serat elastin dan kolagen. Tunika media terikat oleh lamina internal dan eksternal dan memberikan pembuluh kemampuan untuk berkontraksi. Oleh karena itu, tunika media mampu untuk meregang hingga panjang 1,5 kali dan dapat kembali ke panjang semula dalam keadaan normal. Lapisan tunika adventisia banyak terdiri dari jaringan kolagen dan elastin, makrofag, sel mast, fibroblast, sel schwan dan akson saraf adrenergik (Albrakati, 2013).

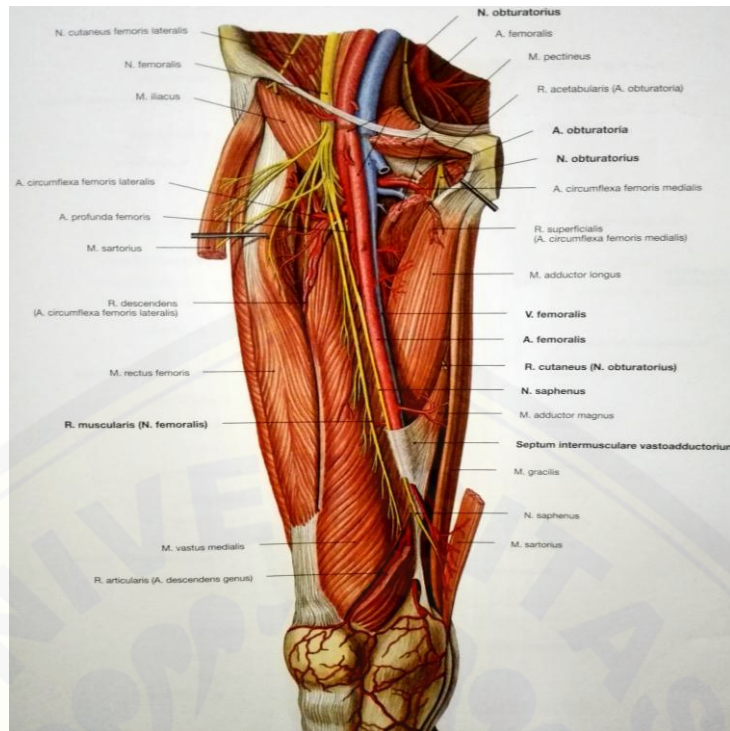


Gambar 2.1. Preparat histologi arteri femoralis. Terdiri dari tunika intima (TI), tunika media (TM), tunika adventisia (TA) (Albrakati, 2013)

Arteri femoralis berakhir di lubang yang pada musculus adductor magnus (hiatus adductorius) dengan memasuki spatium popliteum sebagai arteri popliteal. Batas arteri femoralis pada daerah anterior adalah pada bagian atas terletak superfisial dan ditutupi oleh kulit dan fascia. Pada bagian bawah, arteri femoralis terletak di belakang musculus Sartorius. Pada bagian posterior arteri femoralis terletak diatas musculus psoas. Vena femoralis terletak diantara arteri femoralis dan musculus adductor longus. Arteri femoralis berjalan bersama vena femoralis yang terletak di sisi medialnya di ligament inguinale. Di hiatus adductorius, vena femoralis terletak pada sisi lateral arteri femoralis, dengan demikian vena berubah mediolateral hubungannya terhadap arteri, bergerak dari medial di lipat paha menjadi lateral dibagian bawah femur (Snell, 2011).

Arteri femoralis memiliki beberapa percabangan yaitu:

- 1) Arteri *circumflexa ilium superficialis* adalah cabang kecil yang berjalan keatas region spina iliaca anterior superior
- 2) Arteri *epigastrica superficialis* adalah cabang kecil yang menyilang ligamentum inguinale dan berjalan ke region umbilicus
- 3) Arteri *pubenda externa superficialis* adalah cabang kecil yang berjalan ke medial untuk mensyarafi kulit scrotum atau labium majus
- 4) Arteri *pubenda externa profunda* berjalan ke medial dan mensyarafi kulit scrotum atau labium majus
- 5) Arteri *profunda femoris* adalah cabang besar dan penting yang dipercabangkan dari sisi lateral arteri femoralis, kira-kira 4 cm dibawah ligamentum inguinale. Arteri ini berjalan ke medial di belakang arteri vena femoralis dan masuk ke dalam ruang medial fascia tungkai bawah. Pada pangkalnya, arteri ini mencabangkan arteri *circumflexa femoris medialis* dan arteri *circumflexa femoris lateralis* dan dalam perjalanannya mempercabangkan tiga buah arteri perforans
- 6) Arteri *genicularis descendens* adalah cabang kecil yang dicabangkan dari arteri femoralis dekat ujung. Arteri ini mendarahi sendi lutut (Snell, 2011).



Gambar 2.2. Anatomi arteri femoralis (Paulsen, 2012)

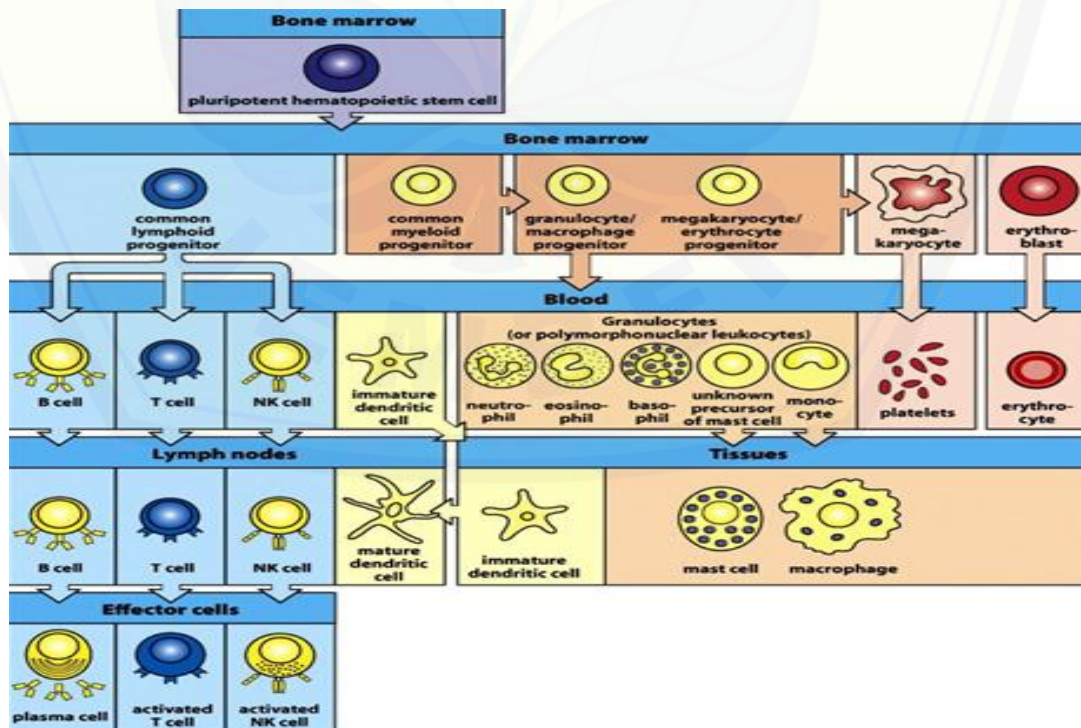
## 2.2. Sistem Imun Tubuh

Sistem imun merupakan sistem yang terdiri dari molekuler, seluler, jaringan dan organ yang berperan dalam proteksi atau perlindungan tubuh. Di dalam tubuh kita terdapat 2 macam sistem imun, yaitu sistem imun non spesifik dan sistem imun spesifik. Sistem imun non spesifik merupakan lini pertama dalam menghadapi infeksi, bersifat tidak spesifik karena tidak ditunjukkan terhadap patogen datau mikroba tertentu, telah ada dan berfungsi sejak lahir. Sistem imun non spesifik dapat berupa fisik, larut (biokima dan humoral) dan seluler. Pertahanan fisik dapat berupa kulit, selaput lendir, silia saluran napas, batuk dan bersin. Pertahanan dalam bentuk larutan yang berupa biokimia yaitu lisozim (keringat), sekresi sebaceous, asam lambung, laktoferin dan asam neuraminik. Sedangkan humoral berupa komplemen, interferon dan *C-Reactive Protein* (CRP). Komplemen berfungsi untuk menghancurkan sel membran bakteri, melepas bahan kemotaktik yang mengarahkan makrofag ke tempat bakteri, mengendap pada permukaan bakteri, dan memudahkan makrofag untuk mengenali bakteri yang kemudian akan dimakan (fagositosis). Interferon merupakan glikoprotein yang dilepas



sebagai respon terhadap infeksi virus dan bersifat antivirus. Selain itu interferon juga mengaktifkan sel *Natural Killer* (NK). Sedangkan CRP merupakan protein fase akut yang mengikat komplemen. Pertahanan non spesifik yang terakhir yaitu seluler yang berupa fagosit (mononuklear dan polimorfonuklear), sel NK, sel mast dan basofil. Aktivitas fagositosis dilakukan oleh makrofag dan granulosit dengan melakukan aktivasi komplemen terlebih dahulu, kemudian menelan, memakan, membunuh dan mencerna (lisis) bakteri (Husna, 2014).

Sistem imun spesifik berupa humoral dan juga seluler. Humoral dilakukan oleh sel B. Apabila terdapat benda asing, sel B akan berproliferasi dan berkembang menjadi sel plasma yang akan membentuk antibodi (IgG, IgA, IgM, IgD dan IgE) dan menetralkan toksin infeksi ekstraseluler (Husna, 2014). Sedangkan seluler dijalankan oleh sel T. Sel T ini berfungsi untuk pertahanan infeksi intraseluler. Sel T ada 3 jenis, yaitu T sitotoksik yang menghancurkan antigen, T helper yang meningkatkan perkembangan sel B, mengaktifkan makrofag dan T penekan yang menekan kerja dari sel T. Pematangan sel T dan sel B berlangsung pada sistem limfoid (Pratiwi, 2013).



Gambar 2.3. Macam-macam sel imun (Murphy, 2007)

## 2.3. Aterosklerosis

### 2.3.1. Patofisiologi Aterosklerosis

Aterosklerosis adalah penyakit akibat respon peradangan pada pembuluh darah (arteri besar dan sedang), bersifat progresif, yang ditandai dengan deposit massa kolagen, lemak, kolesterol, produk buangan sel dan kalsium, disertai proliferasi miosit yang menimbulkan penebalan dan pengerasan dinding arteri, sehingga mengakibatkan kekakuan dan kerapuhan arteri. Kerusakan endotel vaskuler merupakan suatu kelainan yang menjadi cikal bakal dari aterosklerosis. Adanya kerusakan endotel vaskuler akan meningkatkan paparan molekul adesi pada sel endotel dan menurunkan kemampuan endotel tersebut untuk melepaskan *nitric oxide* dan zat lain yang membantu mencegah perlekatan makromolekul (lipid), trombosit, dan monosit pada sel endotel. Setelah kerusakan endotel vaskular terjadi, monosit dan lipid (kebanyakan berupa lipoprotein berdensitas rendah) yang beredar, mulai menumpuk di tempat yang mengalami kerusakan. Monosit melalui endotel, memasuki lapisan intima dinding pembuluh, dan berdiferensiasi menjadi makrofag (Guyton, 2007).

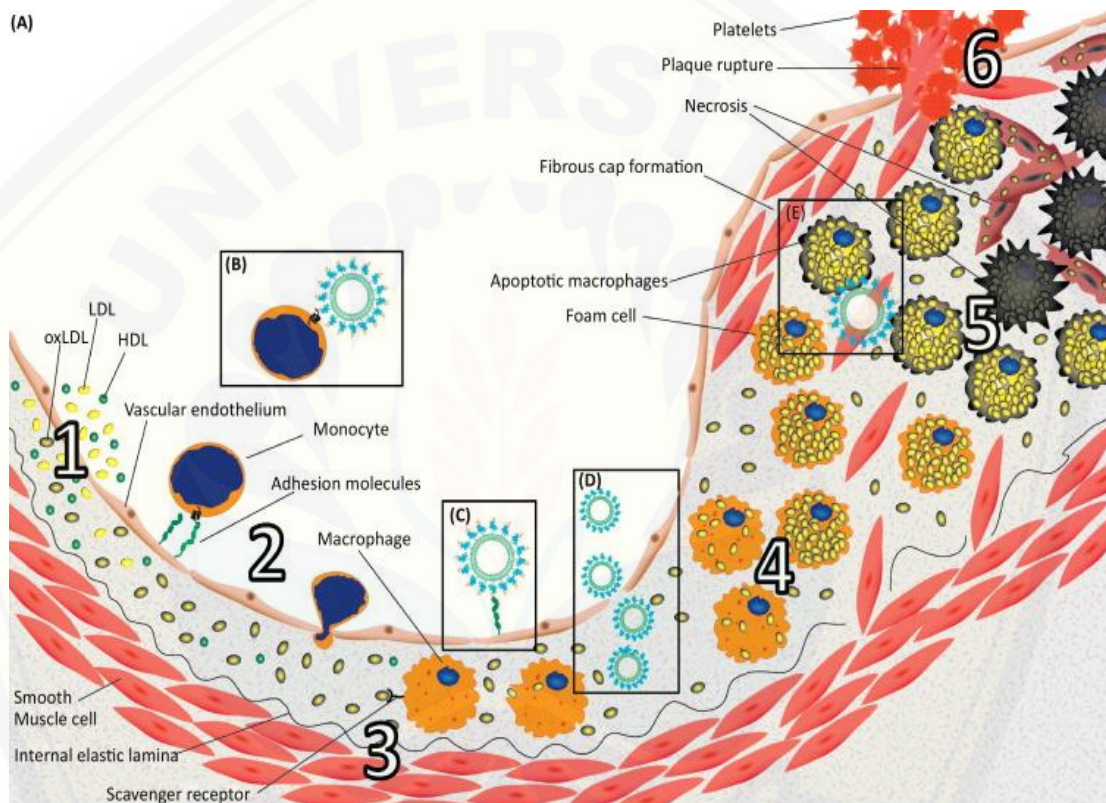
Makrofag yang telah masuk ke lapisan intima dinding pembuluh darah akan memproduksi lipopolisakarida (LPS) yang menginduksi munculnya faktor transkripsi sel *Nuclear Factor-kappa Beta* (NF- $\kappa$ B) dalam makrofag. NF- $\kappa$ B merupakan faktor transkripsi yang mengontrol sejumlah gen penting dalam proses imunitas dan inflamasi. Aktivasi NF- $\kappa$ B pada inflamasi kronis menghubungkan inflamasi dan kanker, dan merupakan faktor utama yang mengendalikan kemampuan sel preneoplastik dan sel ganas untuk melawan, menekan apoptosis dan mendukung pertumbuhan dan perkembangan kanker. Beberapa produk pro-inflamasi yang memiliki peran penting pada penekanan apoptosis, proliferasi, angiogenesis, invasi dan metastasis. Diantaranya adalah: TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL8, IL-18, IL-17, kemokin, MMP-9 dan VEGF. Ekspresi semua ini di atur oleh faktor transkripsi NF- $\kappa$ B yang secara konstitutif aktif pada kebanyakan kanker dan di induksi oleh karsinogen (Hernawati, 2013).

Selain menginduksi munculnya NF- $\kappa$ B, adanya makrofag juga meningkatkan kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS) sebagai mekanisme *killing*

bakteri. ROS yang meningkat seperti superoksida, hydrogen peroksida dan *Nitric Oxide* (NO). ROS merupakan molekul oksidan yang sangat reaktif dan tidak stabil sehingga cepat bereaksi dengan molekul lain. Di dalam tubuh, ROS bereaksi dengan komponen-komponen sel, menyebabkan kerusakan oksidatif pada biomolekul sel yang penting seperti lipid, protein dan DNA, yang menyebabkan perubahan struktur bahkan fungsi dari sel yang teroksidasi. Pada tubuh, LDL sangat rentan terhadap oksidasi karena hampir separuh komponen lipidnya terdiri dari asam lemak tak jenuh ganda (PUFA), yang bila bertemu dengan ROS akan membentuk LDL teroksidasi. LDL teroksidasi mempunyai sifat dan struktur yang berbeda dari LDL tidak teroksidasi (*native*). LDL-oks mudah menempel dan menumpuk pada dinding pembuluh darah dan akan direspons sebagai suatu benda asing (antigen) dimana tubuh akan mengerahkan sistem pertahanan dirinya.

Makrofag yang dibantu dengan ROS selanjutnya mengoksidasi tumpukan lipoprotein sehingga membentuk sel busa. Terbentuknya sejumlah sel busa pada lapisan sub-intima dan bertambahnya jumlah makrofag di intima menyebabkan penebalan adaptif dinding pembuluh arteri, yang dikenal sebagai lesi tipe 1 (lesi inisial), dan merupakan perubahan paling dini yang dapat dideteksi secara mikroskopik dan kimiawi. Selanjutnya, sel busa akan terakumulasi dan bergabung dengan sel miosit membentuk garis lemak (*fatty streak*) (Nasution, 2013). Dengan berjalannya waktu, *fatty streak* menjadi lebih besar dan bersatu, dan jaringan otot polos serta jaringan fibrosa di sekitarnya berproliferasi untuk membentuk plak yang makin lama makin besar. Makrofag juga melepaskan zat yang menimbulkan inflamasi dan proliferasi lebih lanjut dari jaringan fibrosa dan otot polos pada permukaan dalam dinding arteri. Penimbunan lipid ditambah proliferasi sel dapat menjadi sangat besar sehingga plak menonjol ke dalam lumen arteri dan mengurangi aliran darah, yang kadang-kadang menyumbat seluruh pembuluh darah. Bahkan tanpa adanya penyumbatan, fibroblas plak akhirnya menimbun sejumlah besar jaringan ikat padat; sklerosis (fibrosis) menjadi sangat besar dan arteri menjadi kaku dan tidak lentur. Selanjutnya, garam kalsium seringkali mengendap bersama dengan kolesterol dan lipid yang lain dari plak, yang menimbulkan kalsifikasi sekeras tulang yang dapat membuat arteri seperti saluran

kaku. Kedua tahap lanjut dari penyakit ini disebut pengerasan arteri (Guyton, 2007). Arteri yang mengalami aterosklerosis kehilangan sebagian distensibilitasnya, dan karena daerah di dinding pembuluhnya berdegenerasi, pembuluh menjadi mudah robek. Pada tempat penonjolan plak ke dalam aliran darah, permukaan plak yang kasar dapat menyebabkan terbentuknya bekuan darah, dengan akibat pembentukan trombus atau embolus sehingga dapat menyumbat semua aliran darah di dalam arteri dengan tiba-tiba (Guyton, 2007).



Gambar 2.4. Patofisiologi aterosklerosis. 1. LDL-oks yang masuk ke intima arteri. 2. Monosit yang berdiferensiasi menjadi makrofag di intima arteri. 3. Makrofag yang memfagositosis LDL-oks. 4. Makrofag mulai membentuk foam cell. 5. Foam cell yang mendesak intima sehingga timbul penonjolan arteri. 6. Plak yang mulai pecah (Schiener, 2014)

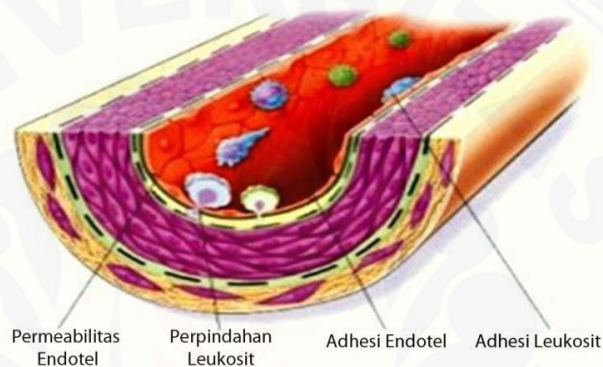
### 2.3.2. Tipe-tipe Lesi Aterosklerosis

Menurut *The American Heart Association Committee on Vascular Lesion* perkembangan lesi aterosklerosis menjadi enam fase. Sistem klasifikasi berkaitan dengan fase klinis dari pembentukan lesi aterosklerosis. Lesi aterosklerosis sering

terjadi pada arteri elastis berukuran sedang dan besar (Rose, 2004). Enam fase lesi tersebut yaitu sebagai berikut:

1).Lesi Aterosklerosis tipe I

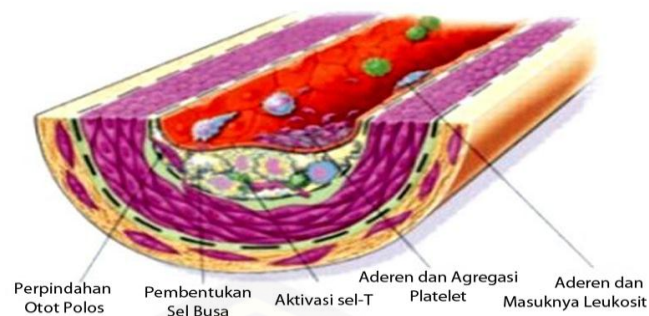
Pada lesi aterosklerosis tipe I bisa yang juga disebut *initial lesion* menunjukkan adanya perubahan awal yang bisa dideteksi secara mikroskopik. Pengamatan pada mikroskop menunjukkan adanya peningkatan jumlah sel busa pada lapisan tunika intima dan penebalan adaptif pada tunika intima (Ross, 2004).



Gambar 2.5. Disfungsi endotel pada aterosklerosis (Ross, 2004)

2).Lesi Aterosklerosis tipe II

Pada tahap ini, terlihat adanya garis-garis lemak, bercak atau bintik berwarna kuning di permukaan tunika intima. Garis lemak terdiri atas limfosit T yang mengandung sel busa yang bergabung dengan sejumlah sel miosit, monosit, dan makrofag. Tahapan pembentukan garis lemak meliputi; (1) migrasi miosit yang distimulasi oleh *Platelet Derived Growth Factor*, *Fibroblast Growth Factor 2* dan TGF, (2) aktivasi sel T yang diperantai oleh TNF-, IL-2 dan *Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor*, (3) pembentukan sel busa yang diperantai oleh LDL-oks, TNF- $\alpha$ , *Macrophage Colony Stimulating Factor*, IL-1, (4) adhesi dan agregasi platelet yang dirancang oleh integrin, tromboksan A2, P-selektin, fibrin, faktor jaringan dan faktor lain (Ross, 2004).



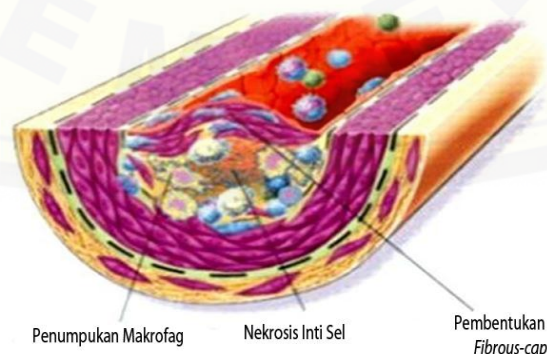
Gambar 2.6. Disfungsi endotel dengan pembentukan sel busa (Ross, 2004)

### 3).Lesi Aterosklerosis tipe III

Pada lesi aterosklerosis tipe III atau disebut lesi intermedia terdapat adanya timbunan partikel lipid ekstrasel yang identik dengan lesi tipe II. Lapisan miosit mengalami penebalan adaptif di tunika intima. Timbunan lipid yang lebih banyak dan tebal terletak tepat di bawah lapisan makrofag dan sel busa, menggantikan serabut proteoglikan intersel dan matriks, serta mendorong dan memisahkan miosit (Ross, 2004).

### 4).Lesi Aterosklerosis tipe Lanjut (IV, V dan VI)

Lesi tipe lanjut ini menunjukkan adanya lipid ekstrasel yang besar dan dapat merusak tunika intima, serta terdapat mekanisme trombotik yang lebih menonjol dalam mempercepat terjadinya aterosklerosis. Pada lesi tingkat akhir (lesi tipe VI) deposit lipid telah memodifikasi jaringan sampai ke tunika media dan adventitia. Lesi ini membentuk sumbatan fibrosa yang memisahkan lesi dengan lumen arteri dan menutupi leukosit, lipid, serta debris yang membentuk inti nekrosis (Ross, 2004).



Gambar 2.7. Disfungsi endotel dengan pembentukan fibrous cap (Ross, 2004)

### 2.3.3. Faktor Resiko Aterosklerosis

Pada beberapa orang dengan kadar kolesterol dan fosfolipid yang sangat normal, aterosklerosis masih dapat terbentuk. Beberapa faktor resiko yang diketahui sebagai predisposisi aterosklerosis adalah kurangnya aktifitas fisik dan obesitas, hiperkolesterolemia familial, hipertensi, diabetes mellitus, dislipidemia dan merokok. Pada orang dewasa muda atau pertengahan, pria lebih cenderung terkena aterosklerosis daripada perempuan dengan usia yang sebanding. Hal ini menunjukkan bahwa hormon seks laki-laki mungkin bersifat aterogenik atau sebaliknya, hormon perempuan lebih bersifat protektif (Guyton, 2007).

#### 1). Hiperkolesterolemia familial

Hiperkolesterolemia familial adalah suatu penyakit hereditas yang menyebabkan seseorang mewarisi kelainan gen pembentuk reseptor lipoprotein berdensitas rendah pada permukaan membran sel tubuh. Bila reseptor ini tidak ada, hati tidak dapat mengabsorpsi lipoprotein berdensitas sedang atau rendah. Tanpa adanya absorpsi tersebut, mesin kolesterol di sel hati menjadi tidak terkontrol dan terus membentuk kolesterol baru; hati tidak lagi memberi respon terhadap inhibisi umpan balik dari jumlah kolesterol plasma yang terlalu besar. Akibatnya, jumlah lipoprotein berdensitas sangat rendah yang dilepaskan oleh hati ke dalam plasma menjadi meningkat. Pasien dengan hiperkolesterolemia familial yang parah memiliki konsentrasi kolesterol darah sebesar 600 sampai 1000 mg/dl, yaitu empat sampai enam kali nilai normal (Guyton, 2007).

#### 2). Obesitas

Obesitas adalah salah satu bentuk kelebihan berat badan yang ditandai dengan akumulasi lemak secara berlebihan, kelebihan berat badan lebih dari 20% dari rata-rata berat badan berbanding tinggi badan dikatakan obesitas (Depkes, 2007). Menurut WHO nilai normal IMT untuk laki-laki sebesar 20,1-25,0 dan untuk perempuan sebesar 18,7-23,8. Apabila nilai IMT seseorang lebih dari itu dikatakan obesitas (Rachman, 2014).

Pada orang yang obesitas, terjadi dua jenis penimbunan lemak, yaitu ginekoid dan android. Bentuk ginekoid adalah penimbunan lemak terutama

dibagian bawah tubuh (bokong), sedangkan penimbunan lemak dibagian perut disebut bentuk android atau lebih dikenal dengan obesitas sentral. Hasil penelitian membuktikan bahwa terdapat hubungan antara obesitas sentral terkait dengan faktor risiko penyakit kardiovaskuler yang tergolong dalam sindroma metabolik diantaranya DM tipe 2, toleransi glukosa terganggu, hipertensi dan dislipidemia (Rachman, 2014).

### 3). Hipertensi

Hipertensi adalah kondisi medis kronis dengan tekanan darah di arteri meningkat. Peningkatan ini menyebabkan jantung harus bekerja lebih keras dari biasanya untuk mengedarkan darah melalui pembuluh darah. Tekanan darah normal pada saat istirahat adalah dalam kisaran sistolik 100-140 mmHg dan diastolik 60-90 mmHg. Pada penderita hipertensi, penyebab kerusakan vaskular dapat melalui akibat langsung dari kenaikan tekanan darah pada organ atau karena efek tidak langsung antara lain adanya angiotensin II, stres oksidatif, dan ekspresi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan (Rachman, 2014).

Angiotensin II merupakan sebagian besar mediator dari stress oksidatif dan menurunkan aktivitas *nitric oxide*. Angiotensin II mengaktifkan oksidasi membrane (NADP/NADPH oksidasi) yang menghasilkan ROS berupa superoksida dan hidrogen peroksida. Angiotensin II memicu terjadinya disfungsi endotel, mengaktifkan NF-kB (*nuclear factor*), menstimulasi ekspresi VCAM dan mengeluarkan sitokin (IL-6 dan TNF- $\alpha$ ). Angiotensin II memang dapat mensintesis dan melepaskan matrik glikoprotein dan MMP. Oleh karena itu Angiotensin II merupakan mediator lokal *vascular remodeling* dan pembentukan lesi (Rachman, 2014).

### 4). Diabetes Mellitus

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu penyakit menahun yang ditandai dengan kadar glukosa darah melebihi nilai normal yaitu kadar gula sewaktu sama atau lebih dari 200 mg/dl dan kadar gula puasa diatas atau sama dengan 126 mg/dl. DM merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemi yang terjadi karena kelainan sekresi



insulin, kerja insulin atau kedua-duanya. Pada Penderita DM terdapat beberapa faktor yang mempermudah terjadinya radikal bebas misalnya auto-oksidasi glukosa, ketidakseimbangan reduksioksidasi dan interaksi *Advanced Glycosylation Endproduct* (AGE) sedangkan jumlah *free radical defence* dan jumlah anti oksidannya menurun (Jawaharlal, 2000). DM juga berpengaruh terhadap metabolisme lipoprotein. Lipoprotein pada penderita DM akan mengalami 3 proses yang merugikan dan mempunyai hubungan erat dengan terjadinya aterosklerosis. Proses pertama adalah proses glikolisasi yang menyebabkan peningkatan lipoprotein yang terglukolisasi dengan akibat mempunyai sifat lebih toksik terhadap endotel serta menyebabkan katabolisme lipoprotein menjadi lebih lambat. Kedua adalah proses oksidasi yaitu mengakibatkan peningkatan lipoprotein-oksidasi. Peningkatan kadar lipoprotein peroksida, baik LDL maupun HDL mempermudah rusaknya sel dan terjadinya aterosklerosis. Lipid peroksida pada DM cenderung berlebihan jumlahnya dan akan menghasilkan beberapa aldehid (*malondialdehid*) yang memiliki daya perusak tinggi terhadap sel-sel tubuh. Ketiga adalah karbamilasi yaitu residu lisin apoprotein LDL akan mengalami karbamilasi dan berakibat katabolisme LDL terhambat (John, 2000).

##### 5). Dislipidemia

Dislipidemia adalah suatu kelainan metabolisme lipid yang ditandai oleh adanya suatu kenaikan maupun penurunan fraksi lipid dalam plasma. Kelainan fraksi lipid yang utama adalah kenaikan kadar kolesterol total, trigliserid, kolesterol LDL, dan penurunan kadar kolesterol HDL (Rader, 2005). Plak aktif terdiri dari sejumlah makrofag yang berkelompok pada tepi inti, ditandai oleh peningkatan *matrix metalloproteinase* (MMP) disertai destruksi aktif dari matriks kolagen. Beberapa lipid ekstra seluler diambil secara langsung dari kolesterol LDL mengelilingi proteoglikan sampai pada tunika intima. Tetapi banyak kolesterol dan kolesterol-ester dalam inti lipid yang dilepaskan dari sitoplasma sel busa yang mati. Makrofag akan dimatikan oleh lipid peroksidase yang dibentuk oleh LDL yang teroksidasi (Flak, 2011).

#### 6). Merokok

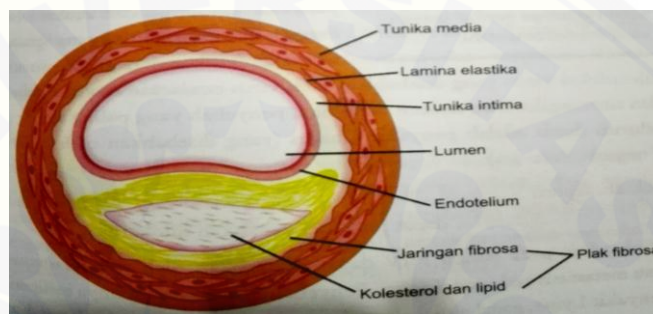
Risiko penyakit jantung iskemik meningkat 3-5x lipat pada laki-laki yang merokok diatas 15 batang/hari. Mekanisme yang mungkin menyebabkan meningkatnya aterosklerosis adalah *injury* endotel secara langsung akibat agen pada rokok (karbon monoksida dan nikotin) yang menyebabkan timbulnya bleb pada permukaan lumen, formasi mikrofil, dan lepasnya sel endotel (*endotel damage*), perubahan trombosit, meningkatnya kadar fibrinogen dan *C-reactive protein*, menginduksi sitokin proinflamasi, meningkatkan level produk oksidasi termasuk LDL-Oks dan menurunkan kolesterol HDL (Jawaharlal, 2000). Asap rokok yang dihirup akan menghasilkan radikal bebas yang dapat mengoksidasi LDL menjadi LDL-Oks. Pembentukan LDL-Oks akan memicu respon inflamasi dan menghasilkan sitokin proinflamsi yang menyebabkan ekspresi molekul adhesi pada permukaan sel endotel, yaitu *inter cellular adhesion molecule-I* (ICAM-I), *vascular cell adhesion molecule-I* (VCAM-I) sehingga menyebabkan monosit melekat pada permukaan sel endotel, monosit tersebut akan berpenetrasi ke intima menjadi makrofag kemudian mengekspresikan *macrophage colony stimulating factor* (M-CSP). Molekul M-CSP berfungsi merangsang terjadinya radang dan mengekspresikan reseptor skavenger yang dapat mengenali LDL termodifikasi sehingga membentuk sel busa. Pembentukan sel busa menyebabkan penyempitan lumen arteri koroner dan tidak terjadi penurunan aliran darah serta gangguan suplai oksigen ke miokardium (Raudatul, 2013).

#### 2.3.4. Manifestasi Klinis

Manifestasi klinis dari proses aterosklerosis kompleks adalah penyakit jantung koroner, stroke bahkan kematian. Sebelum terjadinya penyempitan atau penyumbatan mendadak, aterosklerosis tidak menimbulkan gejala. Gejalanya tergantung dari lokasi terbentuknya, sehingga bisa berupa gejala jantung, otak, tungkai atau tempat lainnya. Jika aterosklerosis menyebabkan penyempitan arteri yang sangat berat, maka bagian tubuh yang diperdarahinya tidak akan

mendapatkan darah dalam jumlah yang memadai, yang mengangkut oksigen ke jaringan (Rachman, 2014).

Gejala awal dari penyempitan arteri bisa berupa nyeri atau kram yang terjadi pada saat aliran darah tidak dapat mencukupi kebutuhan oksigen, yang khas dari gejala aterosklerosis yaitu timbul secara perlahan, sejalan dengan terjadinya penyempitan arteri oleh ateroma yang juga berlangsung secara perlahan tetapi jika penyumbatan terjadi secara tiba-tiba (misalnya jika sebuah bekuan menyumbat arteri) maka gejalanya akan timbul secara mendadak (Rachman, 2014).



Gambar 2.8. Penyempitan arteri oleh plak fibrous (ateroma) (Tao, 2014)

#### 2.4. Aterosklerosis Femoralis

Aterosklerosis femoralis merupakan penyakit penyempitan lumen pembuluh darah (aterosklerosis) yang terjadi pada arteri femoralis. Aterosklerosis femoralis ini merupakan salah satu penyakit yang termasuk dalam *Peripheral Arterial Occlusive Disease (PAOD)* atau penyakit oklusi arteri perifer. terjadinya PAOD bisa juga disertai dengan terjadinya aterosklerosis pembuluh darah bagian lain, seperti kardiovaskuler atau serebrovaskuler. Dibandingkan dengan penyakit-penyakit gangguan sirkulasi pada jantung atau otak, sampai saat ini PAOD sering luput dari perhatian, walaupun angka kejadiannya diduga cukup tinggi (Husin, 2006). Berdasarkan penelitian yang menggunakan pemeriksaan ultrasound, tingkat prevalensi aterosklerosis femoralis cukup tinggi, yaitu sebanyak 85 responden dari 322 total responden (26,4%) (Tarnoki, 2015).

Adanya aterosklerosis femoralis biasanya akan menimbulkan gejala dari ringan sampai berat, yaitu rasa kesemutan, kejang otot, kelemahan otot,

dan rasa nyeri yang hilang timbul (*Intermittent Claudication*) sampai timbulnya kerusakan jaringan berupa ulserasi atau gangren dan hilangnya vaskularisasi (*Critical Limb Ischaemia*). Apabila keadaan ini terus berlanjut maka dapat mengakibatkan diamputasinya tungkai karena jaringannya telah mati (Husin, 2006).

*Intermittent claudication* kondisi berupa rasa kesemutan, kejang otot, kelemahan otot bahkan rasa nyeri yang diinduksi oleh latihan dan berkurang saat beristirahat. Hal ini diakibatkan oleh obstruksi pada pembuluh darah di bagian proksimal otot, dimana aliran darah pada saat latihan tidak mampu mencukupi keperluan metabolik jaringan. Keluhan timbul setelah berjalan menempuh jarak tertentu dan cepat menghilang setelah berhenti berjalan. Apabila kegiatan berjalan kembali dilakukan, maka rasa nyeri akan timbul kembali. Sedangkan *critical limb ischaemia* biasanya terjadi karena adanya lesi multiple pada arteri. CLI dibagi menjadi dua tingkatan. Tingkat pertama adalah *Subcritical Limb Ischaemia* (SCLI), dimana pasien mengalami nyeri saat istirahat dengan atau tanpa nyeri malam hari, tetapi tidak mengalami kerusakan jaringan. Pasien-pasien ini berada dalam keadaan antara klaudikasio intermiten dan CLI, dan memiliki gejala antara kedua penyakit tersebut. Pasien seperti ini perlu mendapatkan terapi rekonstruksi arteri untuk menyelamatkan tungkainya. Tingkatan kedua adalah *Severe Limb Ischaemia* (SLI), dimana pasien sudah terkena iskemia tungkai kronik yang lebih berat daripada klaudikasio intermiten. Pasien dengan SLI biasanya menderita kerusakan jaringan, misalnya ulserasi atau gangren, dengan atau tanpa nyeri waktu istirahat. Pada tahap ini revaskularisasi sudah sulit dilakukan. Tanpa adanya revaskularisasi, maka pasien biasanya akan kehilangan tungkainya (amputasi) dalam hitungan minggu atau bulan (Husin, 2006).

Aterosklerosis femoralis secara progresif akan menyempitkan lumen arteri dan meningkatkan resistensi aliran darah sehingga aliran darah ke jaringan distal terhadap lesi akan berkurang. Jika kebutuhan oksigen pada jaringan tersebut melebihi kemampuan pembuluh darah untuk mensuplai oksigen, jaringan tersebut akan mengalami iskemia. Manifestasi klinis akan

timbul apabila lesi tunggal pada pembuluh darah menyebabkan pengurangan diameter lumen pembuluh darah sebanyak kira-kira 50-75% pada penampang melintang. Beratnya iskemia di bagian distal dari sebuah lesi obstruktif tidak hanya tergantung pada lokasi dan luasnya oklusi, tetapi juga pada derajat aliran kolateral di sekitar lesi (Husin, 2006).

Lesi stenotik tunggal pada arteri femoralis dapat menurunkan aliran darah istirahat dan kapasitas perfusi jaringan yang diperdarahinya. Hal ini akan mengakibatkan penurunan tekanan di bagian distal lesi karena terjadi peningkatan resistensi pembuluh darah sepanjang lesi stenosis. Apabila penurunan tekanan relatif ringan, misalnya sekitar 10-15 mmHg, autoregulasi dan kolateralisasi dapat mereduksi resistensi pada jaringan yang terletak distal sehingga dapat mempertahankan aliran darah istirahat. Saat latihan fisik, pasien dengan lesi stenosis tunggal pada arteri femoralis akan menyebabkan rasa nyeri iskemia pada otot betis. Hal ini terjadi karena aliran darah untuk daerah betis terbatas akibat peningkatan resistensi pada arteri femoralis. *Ankle Pressure Index (API)* saat istirahat akan menurun dan akan lebih menurun saat latihan fisik. Pelebaran pada jaringan distal akan meningkatkan aliran sepanjang segmen stenosis sehingga akan menurunkan tekanan sepanjang lesi. Dengan demikian, terjadi penurunan tekanan perfusi ke jaringan distal dan aliran darah ke daerah betis saat latihan fisik. Hal ini tidak menyebabkan gangguan pada jaringan yang lebih proksimal dari tempat lesi. Bila terjadi lesi stenosis multipel, misalnya pada arteri iliaka eksterna dan arteri femoris, API akan sangat menurun bahkan pada saat istirahat. Pada saat latihan fisik akan terjadi juga penurunan tekanan perfusi ke tungkai bawah dan penurunan aliran darah ke daerah betis. Setelah latihan fisik, mikrosirkulasi pada femur akan meningkatkan tekanan (Husin, 2006).

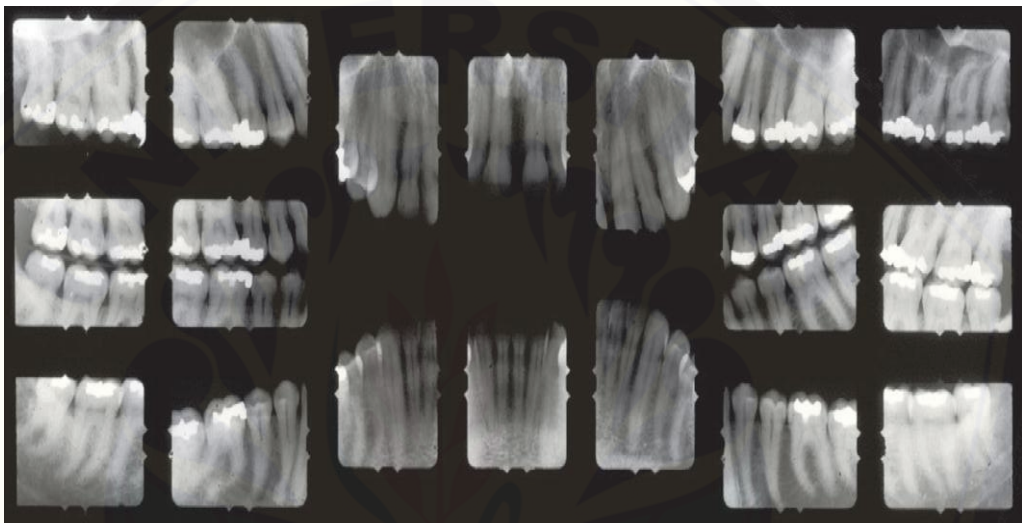
## 2.5. Periodontitis

Periodontitis didefinisikan sebagai penyakit inflamasi dari jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme spesifik atau grup dari mikroorganisme spesifik, yang mengakibatkan destruksi progresif dari

ligament periodontal dan tulang alveolar dengan meningkatnya *probing depth*, resesi atau keduanya. Perbedaan periodontitis dengan gingivitis adalah adanya kehilangan perlekatan. Kehilangan perlekatan diikuti oleh terbentuknya poket periodontal dan perubahan pada densitas dan ketinggian dari tulang alveolar. Adanya perdarahan saat probing merupakan indikator adanya inflamasi dan adanya kehilangan perlekatan pada daerah perdarahan (Carranza, 2012).

Periodontitis merupakan infeksi yang disebabkan oleh beberapa bakteri, seperti bakteri gram negatif (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Actinobacillus actinomyetemcomitans*), dan bakteri gram positif (*Peptostreptococcus micros* dan *Streptococcus intermedius*). Plak gigi merupakan suatu biofilm microbial di mana bakteri patogen hidup bersama dan berinteraksi dalam suatu lingkungan yang tertutup matriks. Plak biofilm menyebabkan paparan dari host terhadap komponen permukaan sel bakteri seperti lipopolisakarida yang dilepaskan ke dalam sulkus gingivalis dalam bentuk vesikel-vesikel membran luar. Produk bakteri ini menyerang dan masuk ke dalam jaringan dan berkontak dengan berbagai sel host termasuk monosit dan makrofag. Selanjutnya, lipopolisakarida bakteri dengan protein pengikat (*binding protein*) dari host membentuk suatu kompleks menjadi *lipopolysaccharide-binding protein* (LPB) yang kemudian mengikat reseptor CD14 pada monosit dan makrofag. Peristiwa pengikatan ini menyebabkan ekspresi dan pelepasan mediator inflamasi imun dan sitokin. Interaksi biokimiawi-seluler ini menandai dimulainya proses (*onset*) penyakit yang terkulminasi pada perusakan jaringan periodontal. Maka, periodontitis ditandai oleh adanya pembentukan poket patologis dan terjadinya kerusakan serabut ligament periodontal serta kerusakan dari tulang alveolar. Tahap awal periodontitis umumnya tidak disadari oleh pasien karena tidak menunjukkan gejala. Karena tidak disadari oleh pasien, periodontitis bisa terus berkembang memasuki fase kronis yang akhirnya akan mengakibatkan gigi tanggal (Wangsarahardja, 2005).

Pada periodontitis biasanya dilakukan pemeriksaan penunjang berupa foto radiologi sehingga bisa menunjukkan kerusakan tulang alveolar yang ada. Pada tahap *early* periodontitis terlihat terjadi sedikit kerusakan tulang periodontal secara horizontal, pada tahap *moderate* periodontitis terlihat terjadi kerusakan tulang periodontal secara horizontal dan angular, sedangkan pada tahap *advanced* periodontitis terlihat terjadi kerusakan tulang periodontal yang parah secara horizontal dan angular (Lambert, 2008).



Gambar 2.9. Gambar radiografi pasien periodontitis (Carranza, 2012)

## 2.6. *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*)

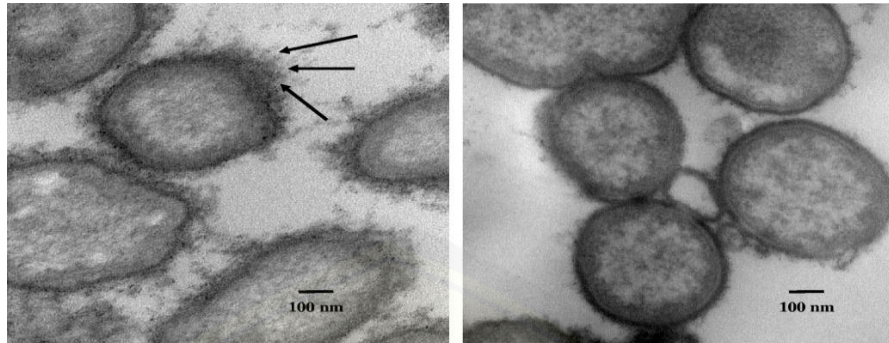
*Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri anaerob gram negatif, tidak berspora (*non-spore forming*), tak punya alat gerak (*non-motile*), melanogenik, dan nonsakarolitik. *P. gingivalis* banyak ditemukan dalam plak gigi dan bakteri tersebut menyebabkan perubahan patologik jaringan periodontal dengan pengaktifan respons imun dan inflamatori inang, dan secara langsung mempengaruhi sel-sel periodonsium. *P. gingivalis* tumbuh dalam media kultur membentuk koloni berdiameter 1-2 mm, konveks, halus dan mengkilat, yang bagian tengahnya menunjukkan gambaran lebih gelap karena produksi protoheme, yaitu suatu substansi yang bertanggung jawab terhadap warna khas koloni ini (Kusumawardani, 2010). Secara taksonomi, *P. gingivalis* diklasifikasikan dalam kingdom *Bacteria*, divisi *Bacteroidetes*,

class *Bacteroidetes*, orde *Bacteroidales*, family *Porphyromonadaceae*, genus *Porphyromonas*, species *Porphyromonas gingivalis* (Mysac, 2013).

*P. gingivalis* merupakan bakteri yang banyak ditemukan pada periodontitis kronis karena memiliki faktor patogen, seperti fimbria, hemagglutinin, kapsul, lipopolisakarida (LPS), vesikel luar membran, hasil metabolisme organik seperti asam butirat, dan beberapa variasi enzim seperti *Arg-gingipain*, *Lys-gingipain*, kolagenase, gelatin dan hialuronidase. *P. gingivalis* dapat berkolonisasi pada krevikular gingiva dengan menempelnya fimbria pada sel epitel gingiva, protease mungkin juga merusak jaringan periodontal langsung maupun tidak langsung dan LPS dapat menimbulkan berbagai respon inflamasi jaringan periodontal dan merusak tulang alveolar. Adanya *arg-gingipain* menginduksikan telah terjadinya kehilangan tulang alveolar. Kolonisasi dari *P.gingivalis* pada permukaan gigi dan krevikular gingiva merupakan langkah pertama dari berkembangnya periodontitis kronis. Kolonisasi ini terutama dilakukan oleh fimbria dan dibantu oleh komponen bakteri lain seperti vesikel, hemagglutinin dan protease. Fimbria berbentuk tipis, berfilamen dan permukaannya mengandung protein (Kimura, et al , 2012).

*P. gingivalis* mempunyai 2 jenis fimbria pada permukaan sel yaitu fimbria panjang dan fimbria pendek. Kedua jenis fimbria ini berperan dalam perkembangan periodontitis. *P. gingivalis* juga telah diteliti dapat menyebabkan kehilangan tulang alveolar dan fimbria panjang juga bisa menyebabkan aterosklerosis. Fimbria panjang (Fim-A) dapat melekat ke endotel sel dan menstimulasi Nuclear Factor-kB (NF-kB) melalui TLR 2 dan CD14 yang menghasilkan induksi dari sitokin yang terlibat dalam resorpsi tulang, seperti tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-8 dan IL-6 (Enersen, 2013).





Gambar 2.10. *Porphyromonas gingivalis* yang diwarnai dengan ruthenium red untuk menunjukkan kapsul polisakarida pada permukaan sel (tanda panah) (Davey, 2006)

### 2.7. Hubungan Infeksi *P. gingivalis* dan Aterosklerosis Femoralis

Aterosklerosis femoralis adalah aterosklerosis yang terjadi pada arteri femoralis. Aterosklerosis femoralis merupakan aterosklerosis yang paling banyak terjadi pada ekstermitas bawah manusia. Etiologi terjadinya aterosklerosis femoralis diantaranya aterosklerosis koroner dan faktor resikoya (hipertensi, diabetes mellitus, merokok, hiperlipidemia, genetik, kondisi post menopause, dan penyebab lain yaitu inflamasi dan hiperhomosisteinemia, penyakit degenerative (penyakit kolagen, sindroma *Ehler-Danlos*, dan sindroma marfan), kelainan displasia (fibromuskular displasia), inflamasi vaskuler (arteritis), thrombosis in situ, dan tromboemboli (Rahman, 2012).

Inflamasi merupakan salah satu faktor terjadinya aterosklerosis femoralis. Adanya inflamasi di rongga mulut (periodontitis) dimungkinkan juga dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis femoralis. Secara teoritis, penyakit periodontal dapat mempengaruhi kesehatan sistemik oleh satu atau beberapa mekanisme (Caroline, 2003):

1. Perluasan infeksi secara langsung dari jaringan periodontal kedalam jaringan yang lebih dalam seperti infeksi pada muka, sinus dan otak.
2. Perjalanan mediator peradangan dari jaringan periodontal kedalam sirkulasi darah mempengaruhi aterosklerosis.
3. Penetrasi bakteri mulut kedalam sirkulasi darah menyebabkan infeksi pada tempat yang jauh seperti endokarditis, trombosis atau aterosklerosis.

4. Perluasan bakteri mulut, dan produknya atau produk hospes yang dapat mengakibatkan infeksi paru dan gastrointestinal.

Infeksi periodontal disebabkan oleh bakteri rongga mulut, *P. gingivalis*, melalui proses bakteremi. Bakteri dapat memasuki sirkulasi darah melalui bagian periodontal yang terinfeksi atau terluka. Selain itu, bakteri juga dapat masuk melalui proses menyikat sikat gigi dan prosedur dental yang lainnya. Bakteri dapat melakukan invasi secara langsung pada jaringan pembuluh darah, khususnya sel endotel dan dapat menimbulkan proses aterosklerosis (Volzke, 2005).

Infeksi periodontal juga dapat merangsang pelepasan sitokin, seperti tumor nekrosis faktor (TNF), interleukin (IL-1, IL-6, dan IL-8). Satu dari stimuli potensialnya adalah endotoksin bakteri *P. gingivalis* yaitu Lipopolisakarida atau LPS yang ada pada plak subgingival pasien dengan penyakit periodontal. LPS dan komponen bakteri lainnya dapat mengaktifkan sitokin, yang mempengaruhi pembentukan aterosklerotik (Rose, 2004). Bakteri gram negatif dan LPS menyebabkan infiltrasi sel-sel inflamasi ke dalam dinding arteri, proliferasi otot polos arteri dan koagulasi intravaskuler. Perubahan ini identik dengan kejadian yang dapat diamati pada ateromatosis. Penyakit periodontal menyebabkan infeksi sistemik kronis, keadaan bakterimia mengawali respon tubuh dengan mempengaruhi koagulasi, endotel dan integritas dinding pembuluh darah, fungsi platelet yang menyebabkan perubahan aterogenik dan terjadinya tromboembolik (Agus, 2010).

Penelitian Beck, *et al* (2002) juga menunjukkan bahwa *P. gingivalis* dapat menyerang sel-sel endotel arteri. Studi pada hewan coba telah menunjukkan bahwa LPS *P. gingivalis* dan vesikel membran terluar mampu menginduksi makrofag untuk meningkatkan pengambilan LDL untuk membentuk *foam cell*. Lipopolisakarida dan produk sel permukaan dari *P. gingivalis* dapat memicu sel-sel inflamasi ke dalam pembuluh darah utama; mengaktifkan jalur inflamasi dengan langsung mempengaruhi sel-sel inflamasi dan mediator inflamasi seperti IL-1, IL-6 dan TNF- $\alpha$  pada endotel

vaskuler; dan meningkatkan proliferasi otot polos, agregasi platelet, degenerasi lemak, dan pengendapan di dinding pembuluh darah. Bakteri *P. gingivalis* telah terbukti menyebabkan aktivasi platelet dan agregasi melalui ekspresi seperti kolagen, agregasi platelet terkait protein. Agregasi platelet dapat berkontribusi untuk hiperkoagulabilitas dan trombosis, sehingga mengarah ke kejadian tromboembolik. Oleh karena itu, kehadiran mikroorganisme ini dalam aliran darah dapat meningkatkan risiko pembentukan trombus dan berikutnya pelepasan embolus.

Lipopolisakarida dan produk lainnya dinding sel dari bakteri periodontal secara tidak langsung dapat merangsang hati untuk memproduksi protein fase akut yang dikenal sebagai protein *C-reaktif protein (CRP)*. Enzim ini dapat sangat reaktif dan mampu meningkatkan deposit pada pembuluh darah yang terluka. CRP mengikat sel yang rusak, memperbaiki sel yang rusak dan mengaktifkan neutrofil. Sedangkan peningkatan kadar serum CRP merupakan penanda peradangan sistemik. Secara signifikan peningkatan tingkat CRP telah dibuktikan pada pasien dengan periodontitis kronis. Penderita periodontitis juga ditemukan adanya peningkatan tingkat fibrinogen. Peningkatan fibrinogen merupakan faktor risiko akut pada infark miokard dan stroke karena fibrinogen berhubungan dengan koagulasi dan peningkatan viskositas darah (Rose, 2004).

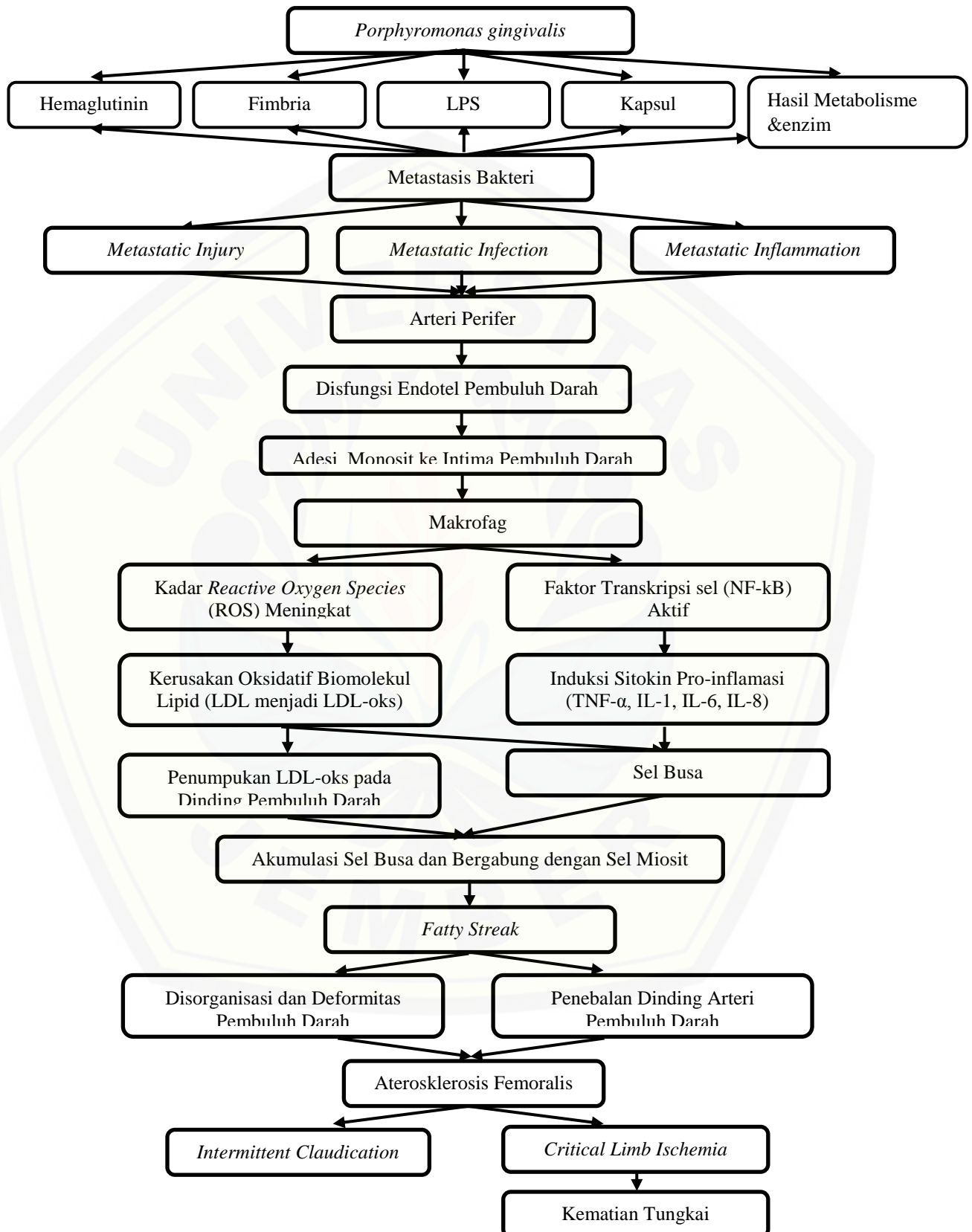
Adanya mekanisme penyebaran bakteri periodontitis juga terlihat dari beberapa hasil penelitian, dimana menurut Lessem, *et al* (2002) menunjukkan bahwa 76% pasien tranplantasi jantung mengalami periodontitis. Penelitian Desvarieux, *et al* (2005) menjelaskan bahwa pada 1000 sampel dengan riwayat stroke atau infark miokardial ditemukan hubungan yang signifikan antara bakteri periodontitis dengan terjadinya aterosklerosis. Beberapa penelitian juga menjelaskan tentang ditemukannya *P. gingivalis* yang menyebar secara sistemik. Penelitian Haraszthy, *et al* (2000) menyatakan ditemukannya 36% *P. gingivalis* pada penyakit kardiovaskuler. Fiehn, *et al* (2005) melakukan penelitian menggunakan teknik PCR juga menjelaskan DNA dari *P. gingivalis* telah terdeteksi pada

penyakit kardiovaskuler. Pucar, *et al* (2007) pada penelitiannya mengatakan bahwa *P. gingivalis* ditemukan pada arteri kelenjar mammae dan banyak ditemukan pada arteri koroner. Furuichi, *et al* (2003) meneliti tentang titer antibodi bakteri periodontitis (*P. gingivalis* dan *A. actinomycetemcomitans*) yang berhubungan dengan penyakit kardiovaskuler mengatakan adanya hubungan yang signifikan antara level titer antibodi bakteri dengan resiko penyakit kardiovaskuler. Penelitian Yamazaki, *et al* (2007) juga menyatakan bahwa terdapat nilai yang tinggi titer antibodi *P. gingivalis* SU63 pada pasien penyakit kardiovaskuler (Anjana, 2010).

Terjadinya aterosklerosis femoralis pada dasarnya memiliki proses yang sama dengan terjadinya aterosklerosis koroner ataupun aterosklerosis di pembuluh darah lain. Oleh karena itu, sering ditemukan adanya aterosklerosis koroner pada pasien aterosklerosis femoralis begitu pula sebaliknya. Adanya infeksi di rongga mulut (periodontitis) yang sering diabaikan menambah tingginya prevalensi kejadian aterosklerosis. *P. gingivalis* sebagai induktor akan memicu mekanisme inflamasi di dalam tubuh (Rahman, 2012).

Pada pasien aterosklerosis femoralis dengan tingkat inflamasi yang tinggi pada tungkai menunjukkan adanya peningkatan disfungsi endotel pada arteri koroner. Hal ini menunjukkan bahwa pada pasien aterosklerosis yang mengalami iskemia ketika latihan memicu aktivasi dari neutrophil dan meningkatkan permeabilitas endotel. Adanya aterosklerosis femoralis meningkatkan tanda dari inflamasi, seperti CRP dan IL-6. Pada penelitian dengan 51 pasien yang terkena *intermittent claudication* atau iskemia kaki mempunyai nilai CRP >9 mg/L, dimana hal ini berhubungan dengan resiko naiknya *myocardial infraction*. Pada penelitian lain dengan pasien *intermittent claudication*, terjadi kenaikan plasma dari *soluble vascular cell adhesion molecule-1*, kenaikan dari perhitungan leukosit dan neutrofil total (Brevetti, et al, 2010).

## 2.8. Kerangka Teori



### Penjelasan Kerangka Teori

*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) merupakan bakteri yang paling banyak menyebabkan periodontitis. Menurut penelitian Kimura (2012), *P. gingivalis* dapat menyebar secara hematogen dalam tubuh dikarenakan memiliki faktor-faktor virulensi seperti hemaglutinin, fimbria, lipopolisakarida, kapsul, hasil metabolisme dan enzim. Adanya faktor-faktor virulensi tersebut menyebabkan bakteri dapat melakukan mekanisme metastasis ke dalam tubuh. Ada 3 teori metastasis yang dilakukan bakteri, yaitu *metastatic infection*, *metastatic injury* dan *metastatic inflammation*. *Metastatic infection* merupakan penyebaran bakteri ke pembuluh darah sehingga menyebabkan terjadinya bakteremia. Pada bakteremia apabila bakteri mendapat tempat yang sesuai maka bakteri akan berkembang biak dan menimbulkan keadaan patologik. Sedangkan mekanisme *metastatic injury* terjadi berkaitan dengan penyebaran dari toksin bakteri ke sirkulasi sistemik yang akan menginduksi respon inflamasi sistemik. Mekanisme *metastatic inflammation* berkaitan dengan antigen periodontal yang menyebar ke sirkulasi darah dapat bereaksi dengan antibodi membentuk kompleks-imun. Terjadinya penimbunan kompleks-imun pada daerah tertentu dapat memicu reaksi inflamasi akut maupun kronis.

Metastasis bakteri akan menyebabkan terjadinya disfungsi endotel pada pembuluh darah, sehingga terjadi adesi leukosit, monosit dan limfosit ke intima pembuluh darah. Monosit yang masuk ke intima pembuluh darah akan menjadi makrofag. Adanya LPS bakteri akan mengaktifkan faktor transkripsi sel (NF- $\kappa$ B) pada makrofag. Aktifnya NF- $\kappa$ B akan menginduksi keluarnya sitokin pro-inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 dan IL-8. Selain aktifnya NF- $\kappa$ B, adanya makrofag juga meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) sebagai mekanisme *killing* bakteri. ROS merupakan molekul oksidan yang sangat reaktif dan tidak stabil sehingga cepat bereaksi dengan molekul lain. Dalam tubuh, ROS akan mudah bereaksi dengan LDL karena LDL hampir separuh komponen lipidnya terdiri dari asam lemak tak jenuh ganda, yang bila bertemu dengan ROS akan membentuk LDL teroksidasi (LDL-oks).

LDL-oks mudah menempel dan menumpuk pada dinding pembuluh darah, sehingga menyebabkan penebalan pembuluh darah. Makrofag yang dibantu dengan ROS selanjutnya mengoksidasi tumpukan lipoprotein ditambah dengan adanya sitokin pro-inflamasi maka akan membentuk sel busa. Sel busa nantinya akan bergabung dengan sel miosit membentuk garis lemak (*fatty streak*).

Dengan berjalannya waktu, *fatty streak* menjadi lebih besar dan bersatu, dan jaringan otot polos serta jaringan fibrosa disekitarnya berproliferasi membentuk plak yang makin besar yang menyebabkan disorganisasi dan deformitas pembuluh darah dan menebalnya dinding arteri. Disorganisasi, deformitas dan penebalan dinding pembuluh darah yang terjadi pada arteri femoralis merupakan tanda terjadinya aterosklerosis femoralis. Aterosklerosis femoralis nantinya bermanifestasi menjadi *intermittent claudication* (nyeri hilang timbul) dan *critical limb ischemia* (hilangnya vaskularisasi) yang dapat berakhir pada kematian tungkai.

## 2.9. Hipotesis

Induksi *P. gingivalis* dapat menimbulkan pembentukan lesi aterosklerosis femoralis dan terdapat adanya tanda-tanda lesi aterosklerosis femoralis secara histologis meliputi ketebalan dinding, ateroma, disintegrasi kolagen intima, disintegrasi endotel, deposisi lipid dan *fatty streak*.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratoris *the post test only control group design*, yaitu melakukan pengamatan atau pengukuran setelah dilakukan perlakuan dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol (Notoatmojo, 2005).

### 3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat pembuatan media *Poryphyromonas gingivalis* dilaksanakan di Laboratorium *Bioscience* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Tempat pelaksanaan penelitian dengan perlakuan hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pemrosesan jaringan dengan metode *Frozen Section* dikerjakan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD dr. Soebandi Jember. Pengecatan jaringan dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Penelitian ini dimulai pada bulan September 2016 sampai selesai.

### 3.3. Subjek Penelitian

#### 3.3.1. Besar Subjek Penelitian

Besar subjek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 4 ekor tikus tiap kelompok perlakuan. Adapun besar subjek didapat dari perhitungan rumus sebagai berikut (Daniel, 2005):

$$n \geq \frac{Z^2 + \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

n : besar sample tiap kelompok



Z : nilai Z pada tingkat kesalahan tertentu, jika  $\alpha = 0,05$  maka  $Z = 1,96$

$\sigma$  : standar deviasi subjek

d : kesalahan yang masih dapat di toleransi

Dengan asumsi bahwa kesalahan yang masih dapat di terima ( $\sigma$ ) sama besar dengan (d) maka :  $\sigma^2 =$

$$n \geq \frac{Z^2 + \sigma^2}{d^2} \quad n \geq Z^2$$

$$n \geq (1,96^2)$$

$$n \geq 3,84$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan rumus di atas, jumlah subjek minimum yang harus digunakan adalah 4 subjek untuk masing-masing kelompok. Pada penelitian ini menggunakan 8 ekor tikus sebagai subjek, yang terbagi kedalam 2 kelompok yang masing-masing terdiri dari 4 ekor tikus.

### 3.3.2. Kriteria Inklusi, Eksklusi, dan Drop Out

#### a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini menggunakan jenis tikus (*Rattus norvegicus*), jenis kelamin jantan, berat badan tikus 170-200 gram, umur 3-4 bulan, pakan diet normokolesterol standart berupa pakan pelet dan minum aquades dengan kondisi sehat yang ditandai dengan tidak ada kelainan fisik, nafsu makan baik, perilaku normal.

#### b. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi adalah tikus yang mati selama penelitian, penurunan berat badan secara drastis, diare ditandai dengan feces yang tidak berbentuk, kelainan fisik.

#### c. Drop Out

Hewan coba dinyatakan *drop out* apabila memenuhi kriteria eksklusi dan diganti dengan tikus lain sesuai kriteria inklusi sehingga didapat jumlah tikus sesuai perhitungan besar subjek.

### 3.4. Identifikasi Variabel Penelitian

#### 3.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah model tikus periodontitis yang diinjeksi *P. gingivalis* ATCC 33277.

##### a. Definisi Operasional

Model tikus periodontitis yang diinjeksi *P. gingivalis* ATCC 33277 adalah simulasi peradangan jaringan periodontal.

##### b. Parameter

Injeksi *P. gingivalis* ditandai dengan peradangan periodontal yang menunjukkan adanya resorpsi tulang alveolar. Pengamatan terhadap resorpsi tulang alveolar dapat dilihat dari gambaran radiolusen di daerah alveolar pada foto radiologis (Lambert dan Northridge, 2008).

##### c. Metode

Model tikus yang diinjeksi *P. gingivalis* dibuat dengan memasang *wire ligature* pada gigi molar pertama rahang bawah kiri dan diinjeksi 0,05 ml *P. gingivalis* ATCC 33277 dengan konsentrasi 0,5 McFarland (setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml) atau setara dengan konsentrasi 0,5 µg/ 0,05 ml PBS sebanyak tiga kali per minggu selama 4 minggu pada sulkus gingiva bagian bukal gigi molar pertama rahang bawah kiri. Frekuensi injeksi bakteri tersebut untuk membentuk infeksi kronis pada hewan coba (Permana, *et al.*, 2013).

#### 3.4.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah terbentuknya lesi aterosklerosis femoralis yang ditunjukkan dengan adanya gambaran histomorfometrik yaitu ukuran ketebalan dinding arteri femoralis, dan gambaran histomorfologik yang terdiri dari disintegrasi kolagen, disintegrasi endotel, deposisi lipid, *fatty streak*, dan ateroma.

##### a. Ukuran Ketebalan Dinding Arteri Femoralis (Histomorfometrik)

###### 1. Definisi Operasional

Ukuran ketebalan dinding arteri femoralis adalah hasil pengukuran ketebalan dinding arteri femoralis dengan metode pengukuran

*Intima Media Thickness* (IMT) yang direkomendasikan oleh *American Heart Association* (AHA) sebagai metode paling baik untuk identifikasi aterosklerosis karena digunakan sebagai tanda awal aterosklerosis, evaluasi regresi dan progresi aterosklerosis. Pengukuran dari tunika intima sampai tunika media dengan potongan melintang arteri femoralis (Muis, 2011).

## 2. Parameter

Ukuran ketebalan dinding arteri femoralis dalam mikrometer ( $\mu\text{m}$ ), dinding arteri femoralis aterosklerosis mengalami penebalan dibagian tunika intima sampai tunika media (Muis, 2011).

## 3. Metode Analisis

Arteri femoralis dipotong melintang. Potongan selanjutnya diberi pewarnaan *Picrosirius Red*. Ketebalan dinding arteri femoralis diukur dengan *image raster opti lab* dari tunika intima sampai tunika media [*Intima-Media Thickness* (IMT)], dipilih pada daerah yang paling tebal. Pengukuran ketebalan arteri femoralis menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. (Rustagi, 2013).

## b. Analisis Disintegrasi Kolagen Intima

### 1. Definisi Operasional

Disintegrasi kolagen merupakan adanya diskontinuitas kolagen pada dinding arteri femoralis yang terlihat adanya penipisan atau diskontinuitas kolagen intima (Spagnoli, 2007).

### 2. Parameter

Adanya penipisan atau diskontinuitas kolagen intima (Spagnoli, 2007).

### 3. Metode Analisis

Arteri femoralis dipotong melintang selanjutnya diberikan pewarnaan *Picrosirius Red*. Disintegrasi kolagen diamati di bawah mikroskop cahaya (perbesaran 1000x) dan optilab, dilakukan untuk melihat adanya penipisan kolagen berupa diskontinuitas atau *irreguler*.

c. Analisis Disintegrasi Endotel

1. Definisi Operasional

Disintegrasi endotel adalah diskontinuitas endotel pada lapisan tunika intima dari arteri femoralis yang telah dilakukan pengecatan *Sudan IV* dengan *cross stain Mayer's Hematoxylin*. Lapisan endotel normal halus dan tidak terdapat kerusakan (disintegrasi) pada lapisan intima (Spagnoli, 2007).

2. Parameter

Adanya disintegrasi endotel (Spagnoli, 2007).

3. Metode Analisis

Adanya disintegrasi endotel diamati pada lapisan tunika intima preparat histologis arteri femoralis. Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya (perbesaran 1000x) dan optilab (Spagnoli, 2007).

d. Analisis Deposisi Lipid

1. Definisi Operasional

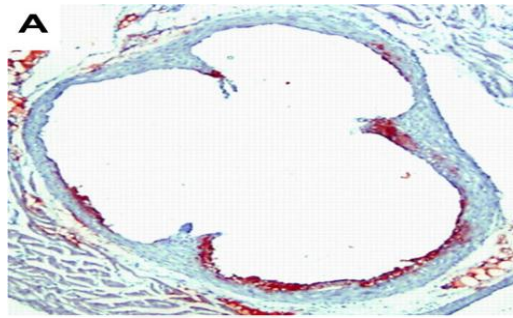
Deposisi lipid merupakan adanya timbunan lemak di dinding arteri berupa gambaran sel lemak pada dinding arteri femoralis yang telah dilakukan pengecatan *Sudan IV* dengan *cross stain Mayer's Hematoxylin* (Spagnoli, 2007).

2. Parameter

Adanya deposisi lipid pada dinding arteri femoralis (Spagnoli, 2007).

3. Metode Analisis

Deposisi lipid diamati pada preparat histologis arteri femoralis. Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya (perbesaran 1000x) dan optilab (Spagnoli, 2007).



Gambar 3.1. Gambaran Histomorfologik Deposisi Lipid (warna merah) pada Dinding Arteri dengan Pengecatan *Sudan IV* (Caroline, 2003)

e. Analisis *Fatty Streak*

1. Definisi Operasional

*Fatty streak* merupakan sel busa berwarna kuning kemerahan yang terdiri atas makrofag yang kaya lipid, diamati pada preparat histologis arteri femoralis yang telah dilakukan pengecatan dengan *Sudan IV* dengan *cross stain Mayer's Hematoxylin* (Spagnoli, 2007).

2. Parameter

Adanya *fatty streak* di arteri femoralis (Spagnoli, 2007).

3. Metode Analisis

Adanya *fatty streak* ditandai dengan adanya suatu massa yang berupa kumpulan sel lemak dan makrofag dalam lumen, diamati pada preparat histologis arteri femoralis menggunakan mikroskop cahaya (perbesaran 1000x) dan optilab (Spagnoli, 2007).

f. Analisis Ateroma

1. Definisi Operasional

Ateroma adalah penebalan atau penonjolan plak-plak di lapisan intima ke lumen yang dilakukan dengan pengecatan *Picrosirius Red*. Dinding pembuluh darah yang normal adalah rata atau tidak terdapat penonjolan pada lapisan intima (Daniels, 2008).

2. Parameter

Adanya ateroma di arteri femoralis (Daniels, 2008).

3. Metode Analisis

Adanya ateroma ditandai dengan adanya penebalan atau penonjolan plak-plak di lapisan intima ke lumen, diamati dengan preparat

histologis arteri femoralis menggunakan mikroskop cahaya (perbesaran 100x) dan optilab (Daniels, 2008).

### 3.4.3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah :

- a. Konsentrasi *P. gingivalis* (ATCC 3327)
- b. Kriteria hewan coba
- c. Perlakuan penelitian
- d. Diet tikus

## 3.5. Bahan dan Alat Penelitian

### 3.5.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut, NaOH, *Brain Heart Infusion Agar* (BHI-A), Hemin, Vitamin K, ekstrak yeast, Aquades, *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B), tikus Wistar jantan, *wire ligature* diameter 0,5 mm, PBS *P. gingivalis* (tipe ATCC 33277), ketamine, pakan standar, air minum, *chloroform*, formalin 10%, sukrose 30%, *tissue tex*, aluminium foil, *polyelisir*, larutan *picrosirius* red, larutan asam (asam asetat), etanol 100%, *xylane*, *propylane glycol* absolute, *propylane glycol* 85%, larutan *Oil Red O*, *Mayer's Hematoxylin*, *glycerin jelly*, Canada balsam, minyak imersi, kapas steril dan spiritus.

### 3.5.2. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut, tabung *erlemeyer*, *Autoclave* (Mammert, Jerman), tempat tabung, petridis tidak bersekat, *Vibrator* atau *Vortex* (Labinco, Belanda), *densichek*, pipet mikro (Hummapete, Jerman), Inkubator (Daihan Labtech, India), kandang, wadah pakan, wadah minum, timbangan neraca, tang, model rahang hewan coba, pinset, jarum insulin 26G (Terumo, Jepang), *syringe* kecil kapasitas 1ml (Terumo, Jepang), lampu senter, papan *wax*, jarum, pinset *Chirurgis*, gunting, *scalpel*, masker, sarung tangan, wadah untuk membersihkan organ, mesin *cryostate* (Leica, Jerman), *object glass* (Citoplus, China), *cover glass*, tabung reaksi, pipet, rak pengecatan, timbangan digital (Snug-300, China), kompor listrik (Maspion, Indonesia), kertas

saring, foto panoramik toraks, mikroskop cahaya (Olympus, Jepang) dan optilab (Optilab Advance, Indonesia).

### 3.6. Prosedur Penelitian

Peneliti menggunakan 8 subjek tikus yang dibagi atas 2 kelompok. Adapun langkah-langkahnya adalah sebagai berikut :

#### a. Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini akan dilakukan pada hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) dengan kriteria yang telah ditentukan. Hewan dilakukan aklimatisasi selama seminggu sebelum diberi perlakuan untuk adaptasi tikus dengan tempat dan makanan.

#### b. Pembagian Kelompok Perlakuan

Hewan coba akan dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu :

1. Kelompok I (4 ekor) merupakan kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan.
2. Kelompok II (4 ekor) merupakan kelompok injeksi *P. gingivalis* ATCC 33277 hidup yang diberi wire ligature 0.5 mm dan diinjeksi 0,05 ml *P. gingivalis* ATCC 33277 dengan konsentrasi 0,5 McFarland (setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml) atau setara dengan konsentrasi 0,5  $\mu\text{g}$ / 0,05 ml PBS sebanyak tiga kali per minggu selama 4 minggu (28 hari) pada sulkus gingiva bagian bukal gigi molar pertama rahang bawah kiri.

#### c. Persiapan Bahan Perlakuan

Bahan yang digunakan pada kelompok perlakuan adalah *wire ligature* dengan ukuran diameter 0,5 mm yang dipasangkan di gigi molar kiri rahang bawah, bahan sediaan dan bahan suspensi *P. gingivalis* ATCC 33277.

##### 1. Pembuatan *wire ligature*

*Wire ligature* berdiameter 0,5 mm dipasangkan pada gigi molar kiri rahang bawah. Pembuatan *wire ligature* dilakukan pada model rahang yang didapatkan dari hewan coba yang telah diambil rahangnya. *Wire ligature* dibentuk menyerupai huruf U menggunakan tang koil. Setelah pembuatan *wire ligature* selesai, dilakukan pemasangan pada hewan coba. Pemasangan

*wire* ligature menggunakan pinset anatomis dan dilakukan dengan hati-hati agar tidak melukai dan terjadi perdarahan. *Wire ligature* dipasang memeluk mesial dari molar tikus, kemudian *wire ligature* ditekan ke arah apikal secara hati-hati agar tepat pada servikal gigi, posisi akhir dari *wire ligature* adalah di atas sulkus agar tidak menyebabkan iritasi (Permana, *et al.*, 2013).

## 2. Pembuatan Sediaan *P. gingivalis*

Pembuatan media kultur dengan bahan BHI-A (*Brain Heart Infusion Agar*) komposisi 3,7 gram ditambah 100 ml aquades yang dicampur pada tabung *erlemeyer* kemudian dihomogenkan. Selanjutnya, tabung ditutup menggunakan kapas dan disterilkan pada *autoclave* dengan suhu 121<sup>0</sup> selama 15 menit. BHI-A yang telah steril dicampur dengan 10 µl vitamin K. kemudian ditambahkan 50 µl hemin (50 mg hemin dicampur 100 ml aquades dan 1 ml NaOH) dan 500 µl ekstrak yeast kemudian dihomogenkan. Selanjutnya dituang pada petridish sebanyak 25 ml dan ditunggu hingga padat lalu tanam *P. gingivalis*. Perlakuan yang terakhir dengan menaruh petridish tersebut ke dalam *decycator* selama 2x24 jam untuk mengkultur bakteri (Permana, *et al.*, 2013).

## 3. Pembuatan Suspensi *P. gingivalis*

Pembuatan *suspensi* dilakukan setelah *P. gingivalis* dikultur dengan menggunakan bahan BHI-B (*Brain Heart Infusion Borth*) 0,37 gram yang dicampur dengan 10 cc aquades, lalu ditutup dengan kapas dan disterilkan pada *autoclave* pada suhu 121<sup>0</sup> selama 15 menit. BHI-B yang telah steril dicampur dengan 1 µl vitamin K, 5 µl hemin dan 50 µl ekstrak yeast kemudian dihomogenkan. Kemudian dibuat suspensi *P. gingivalis* BHI-B (yang telah siap) dengan koloni *P. gingivalis* (Permana, *et al.*, 2013).

## d. Pelaksanaan Penelitian

### 1. Pembedahan Hewan Coba

Hewan coba yang akan diberi perlakuan terlebih dahulu dilakukan pembiusan secara *intramuscular* dengan menggunakan ketamin (KTM 1000). Menurut Karaman (2012) dosis anestesi ketamin pada tikus yang diberikan adalah 0,6-1 ml/Kg BB, sehingga diperoleh dosis ketamin 0,12-0,2 ml



dengan berat badan tikus kurang lebih 200 gr. Disuntikan pada daerah kaki belakang sebelah kanan (Permana, *et al.*, 2013).

## 2. Pemasangan *wire ligature*

*Wire ligature* dibuat pada model rahang tikus dengan berbentuk U. *Wire ligature* dibentuk melingkari sisi bukal, lingual, dan mesial. *Wire ligature* dipasang pada mesial gigi molar kiri bawah berada di bawah lengkung terbesar gigi menggunakan pinset (Permana, *et al.*, 2013).

## 3. Induksi *P. gingivalis*

*Porphyromonas gingivalis* diinduksikan untuk menciptakan infeksi kronis pada jaringan periodontal. *P. gingivalis* ATCC 33277 disuntikkan pada sulkus gingival molar kiri rahang bawah bagian bukal dengan konsentrasi 0,5 µg/ 0,05 ml PBS atau setara dengan konsentrasi 0,5 McFarland. Injeksi *P. gingivalis* diberikan seminggu 3 kali yaitu Senin, Rabu dan Jumat selama 4 minggu (28 hari) untuk memicu kondisi periodontitis kronis (Permana, *et al.*, 2013).

## 4. Pengambilan Subjek Penelitian

Pada hari ke-29 setelah perlakuan selama 4 minggu (28 hari), hewan coba terlebih dahulu dilakukan anestesi inhalasi dengan kloroform sebelum diambil pembuluh arteri femoralisnya hingga hewan coba tidak sadar. Kemudian dilakukan pengambilan rahang bawah. Rahang bawah difiksasi dengan formalin 10%. Selanjutnya dilakukan pembedahan pada femur hewan coba untuk pengambilan arteri femoralis. Kemudian dilakukan fiksasi pada formalin 10% yang dicampur dengan larutan PBS sebelum dilakukan *processing* jaringan (Permana, *et al.*, 2013).

## 5. *Frozen Section*

Pemrosesan jaringan dilakukan dengan prosedur *Frozen Section biopsy* atau potong beku yang bertujuan untuk melihat lemak karena jika menggunakan potong paraffin, lemak akan hilang terhapus dengan cairan alkohol yang digunakan dalam proses dehidrasi pada potong paraffin. *Frozen Section* merupakan *cryosection* dimana menggunakan suatu alat cryostat, yang secara ensesil adalah mikrotom di dalam pesawat pembeku. Proses

pemotongan menghasilkan 4 potong arteri yang diletakkan pada 2 gelas objek. Dalam metode *Frozen Section* tidak memerlukan proses dehidrasi, *clearing agent* dan pada beberapa kasus tanpa media *embedding*, sehingga tidak mengakibatkan pelarutan lemak-lemak dalam jaringan. Oleh sebab itu, digunakan metode *Frozen Section* pada penelitian ini.

1) Tahapan *Frozen Section* adalah sebagai berikut (Permana, *et al.*, 2013).

- a) Arteri femoralis di-*trimming* setebal  $\frac{1}{3}$  koronal jaringan arteri femoralis kemudian dimasukkan dalam botol yang berisi sukrose 30% yang disimpan ke dalam kulkas kurang lebih 24 jam hingga jaringan tenggelam.
- b) Arteri femoralis diambil dari sukrose, kemudian disaring dengan kertas saring selanjutnya ditetesi dengan *tissue tex* dan didiamkan.
- c) Jaringan yang telah siap, di-*embedding* dengan *tissue tex* pada cetakan *aluminium foil* dan dimasukkan kedalam *freezer* suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  hingga beku kurang lebih 10 menit.
- d) Setelah membeku, ambil dan pasang pada *block holder* yang telah ditetesi *tissue tex*, tunggu membeku dan jaringan siap dipotong.
- e) Siapkan Mikrotom *frozen section (Cryotom)* dan mesin *frozen section (Cryostat)*. Langkah persiapan cryostat adalah sebagai berikut :
  1. Pastikan kabel terpasang pada arus listrik
  2. Tekan *On*
  3. Selanjutnya tekan tombol start
  4. Mesin otomatis menyesuaikan pada suhu mencapai  $-23^{\circ}\text{C}$
  5. Untuk mencapai  $-23^{\circ}\text{C}$  membutuhkan waktu 2 jam
- f) *Block holder* dipasang pada tempatnya kemudian ketebalan potongan diset pada  $10\ \mu\text{m}$ .
- g) Setelah didapatkan potongan, potongan ditempelkan pada objek glass khusus.
- h) Jika hasil potongan tidak segera diwarnai, disimpan dulu dalam kotak dan ditaruh pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$ .

## 2) Pengecatan Jaringan

### a) Pengecatan dengan *Picrosirius Red*

Pada proses melihat adanya histomorfologi arteri femoralis (ateroma dan disintegrasi kolagen) dan mengukur ketebalan dinding arteri femoralis penelitian ini digunakan pengecatan *Picrosirius Red*. Teknik pengecatan yang dilakukan adalah sesuai dengan standar protokol pengecatan *Picrosirius Red*. Metode pengecatan *Picrosirius Red* sebagai berikut (Nafilah, *et al.*, 2015).

- (a) Preparat difiksasi terlebih dahulu sebelum pengecatan dengan ditetesi larutan PBS selama 3 menit, kemudian diganti dengan campuran PBS dan formalin 10 % (1:9), dan selanjutnya dengan larutan PBS selama 3 menit. Tunggu preparat hingga kering.
- (b) Preparat ditetesi menggunakan pipet yang berisi aquades selama 15 menit sampai jaringan terendam.
- (c) Preparat diwarnai dengan menggunakan pipet yang berisi larutan *Picrosirius Red* pekat selama 60 menit sampai jaringan terendam.
- (d) Preparat ditetesi sebanyak 2 kali dengan 2 larutan asam (asam asetat) yang berbeda, masing-masing 3 menit.
- (e) Bilas dengan alkohol absolut dalam wadah.
- (f) Preparat ditetesi sebanyak 2 kali dengan alkohol absolut yang berbeda, masing-masing tiga menit.
- (g) Bersihkan *object glass* di sekitar jaringan dengan tissue.
- (h) *Mounting* menggunakan cairan *canada balsem (entellan)* lalu ditutup dengan *cover glass*.

### b) Pengecatan *Sudan IV* dengan *Mayer's Hematoxylin*

Prosedur pengecatan dengan menggunakan larutan *Sudan IV* dengan *Mayer's Hematoxylin*, yaitu (Permana, *et al.*, 2013):

- (a) Preparat difiksasi terlebih dahulu sebelum pengecatan dengan ditetesi larutan PBS selama 3 menit, kemudian diganti dengan campuran PBS dan formalin 10% (1:9), dan selanjutnya dengan larutan PBS selama 3 menit. Tunggu preparat hingga kering.

- (b) Bilas dengan akuades, keringkan.
- (c) Buat larutan *Sudan IV* dengan cara *Sudan IV* 0,7 gram dan *propylane glycol* 100 ml dipanaskan hingga suhu 100° tidak lebih 110°. Kemudian saring dan tunggu hingga dingin.
- (d) Tetesi preparat jaringan dengan *propylane glycol* 100% , biarkan selama 3 menit lalu keringkan.
- (e) Lakukan pengecatan *Sudan IV* dengan meneteskan larutan *Sudan IV* secukupnya di atas preparat jaringan dan biarkan selama 7 menit dalam suhu 60<sup>0</sup> C (dalam *autoclave*), setelah itu keluarkan dari *autoclave*.
- (f) Tetesi preparat jaringan dengan *propylane glycol* 85% selama 1 menit.
- (g) Bilas dengan akuades sebanyak 2 kali.
- (h) Lakukan pengecatan *Mayer's Hematoxylin* selama 45 detik
- (i) Preparat jaringan dibilas dengan air mengalir.
- (j) Bilas preparat jaringan dengan akuades.
- (k) *Mounting* menggunakan cairan *glycerin* lalu ditutup *cover glass*.

## 6. Tahap Pengamatan

### 1) Pengamatan Rahang Periodontitis

Pengamatan periodontitis pada rahang ditandai dengan adanya resorpsi tulang alveolar melalui foto radiologis. Pada foto radiologis ditandai dengan adanya radiolusensi area tulang alveolar.

### 2) Pengamatan Arteri Femoralis

#### (1) Pengukuran Ketebalan Dinding Arteri Femoralis (Histometrik)

Pengukuran dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x dan optilab setelah pewarnaan *Picrosirius red*. Ketebalan dinding arteri femoralis diukur dari lapisan intima sampai lapisan media. Pengukuran tunika intima, dari endotelium ke lamina elastis internal dan tunika media, diukur dari lamina elastis internal ke persimpangan media dan externa.

## (2) Pengamatan Disintegrasi Endotel

Pengamatan gambaran histomorfologik disintegrasi endotel pada dinding arteri femoralis menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x dan optilab. Pengamatan morfologi disintegrasi endotel dilakukan pada tiap-tiap arteri dengan menentukan ada atau tidaknya disintegrasi endotel pada lapisan tunika intima. Arteri yang terdapat disintegrasi endotel terlihat adanya kerusakan (*injury*) endotel pada lapisan tunika intima dari arteri femoralis yang telah dicat *Sudan IV* dengan *cross stain Mayer's Hematoxylin*. Lapisan endotel normal halus dan tidak terdapat kerusakan (*injury*) pada lapisan intima. Pada arteri yang diamati, jika ditemui adanya disintegrasi endotel diberi skor 1, sedangkan jika tidak ditemui adanya disintegrasi endotel diberi skor 0 sehingga didapatkan data kuantitatif non parametrik.

## (3) Pengamatan Ateroma

Pengamatan gambaran histomorfologik ateroma pada dinding arteri femoralis dilakukan setelah pewarnaan *Picrosirius red*, diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x dan optilab. Arteri yang terdapat ateroma terlihat adanya penonjolan dinding arteri bagian dalam (lapisan intima). Morfologi dinding arteri normal tidak terdapat ateroma. Pada arteri yang diamati, jika ditemui adanya ateroma diberi skor 1, sedangkan jika tidak ditemui adanya ateroma diberi skor 0.

## (4) Pengamatan Disintegrasi Kolagen Intima

Pengamatan gambaran histomorfologik disintegrasi kolagen pada dinding arteri femoralis dilakukan setelah pewarnaan *Picrosirius red*, diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x dan optilab. Arteri yang terdapat disintegrasi kolagen terlihat adanya fisura sehingga terjadi kerusakan berupa diskontinuitas pada kolagen. Morfologi dinding arteri normal tidak terdapat disintegrasi kolagen. Pada arteri yang diamati, jika ditemui adanya disintegrasi kolagen diberi skor 1, sedangkan jika tidak ditemui adanya disintegrasi kolagen diberi skor 0

#### (5) Pengamatan *Fatty Streak*

Pengamatan gambaran histomorfologik *fatty streak* pada dinding arteri femoralis dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x dan optilab. Arteri yang terdapat *fatty streak* terlihat adanya suatu massa yang dapat berupa lemak dalam lumen, diamati pada preparat histologis arteri femoralis yang telah dilakukan pengecatan dengan *Sudan IV*. Pada arteri yang diamati, jika ditemui adanya *fatty streak* diberi skor 1, sedangkan jika tidak ditemui adanya *fatty streak* diberi skor 0.

#### (6) Pengamatan Deposisi Lipid

Pengamatan gambaran histomorfologik deposisi lipid pada dinding arteri femoralis dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x dan optilab. Pengamatan deposisi lipid dilakukan pada tiap-tiap arteri dengan menentukan ada atau tidaknya gambaran deposisi lipid pada dinding arteri pada setiap spesimen. Arteri yang terdapat deposisi lipid ditandai oleh adanya sel lemak di lapisan tunika intima preparat arteri femoralis yang telah dilakukan pengecatan *Sudan IV*. Pada arteri yang diamati, jika ditemui adanya deposisi lipid diberi skor 1, sedangkan jika tidak ditemui adanya deposisi lipid diberi skor 0.

### 3.7. Analisis Data

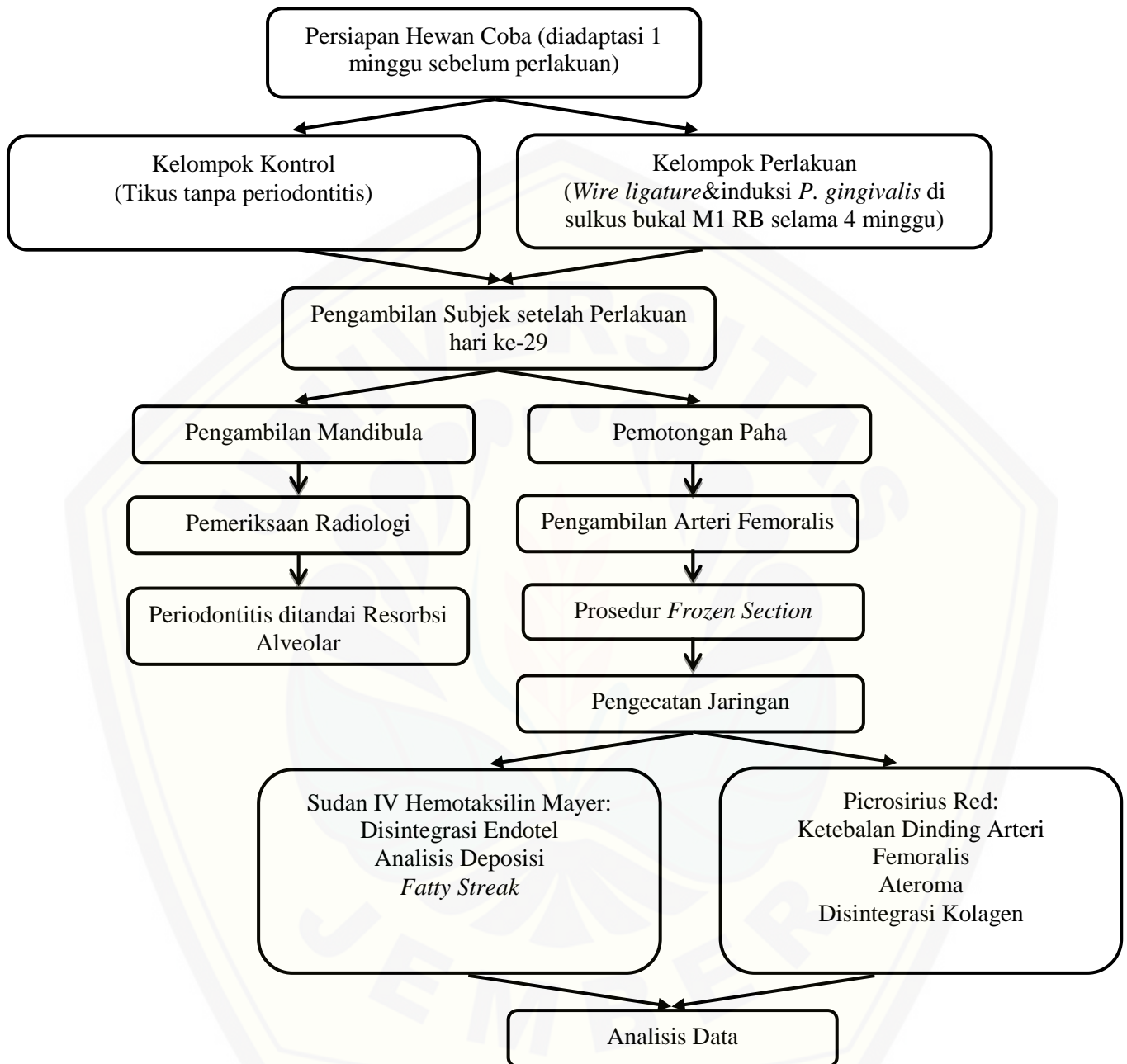
Penelitian ini menghasilkan data kuantitatif non parametrik (deposisi lipid, ateroma, disintegrasi kolagen intima, disintegrasi endotel, dan *fatty streak*) dan data kuantitatif parametrik berupa hasil pengukuran ketebalan dinding arteri femoralis. Data kuantitatif non parametrik dianalisis menggunakan uji beda *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan aterosklerosis femoralis antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Uji *Mann-Whitney* dilakukan karena penelitian ini termasuk penelitian komparatif dengan 2 kelompok dan data tidak berpasangan.

Sedangkan, data kuantitatif parametrik berupa ketebalan dinding arteri femoralis di uji normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan dianalisis dengan uji beda parametrik *Independent T-Test*. *Independent T-Test*

dilakukan karena penelitian ini termasuk penelitian komparatif dengan skala data numerik 2 kelompok, dan data tidak berpasangan. Apabila data tidak terdistribusi normal, maka diuji non parametrik menggunakan uji *Mann-Whitney*.



### 3.8. Alur Penelitian





## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa periodontitis yang diinduksi *P. gingivalis* dapat menimbulkan pembentukan lesi aterosklerosis femoralis. Pembentukan lesi aterosklerosis femoralis tersebut ditandai dengan terlihatnya tanda-tanda lesi aterosklerosis secara histologis, meliputi terjadinya penebalan dinding arteri, adanya ateroma, disintegrasi endotel dan *fatty streak* yang ditemukan lebih banyak pada kelompok periodontitis dibandingkan kelompok kontrol.

### 5.2. Saran

Saran yang dapat diberikan yaitu pada penelitian selanjutnya perlu penelitian lebih lanjut untuk mengukur tingkat keparahan periodontitis dan derajat inflamasi sistemik yang bertujuan untuk meningkatkan tingkat kewaspadaan terjadinya *oral infection* (Periodontitis) karena periodontitis dapat menginduksi pembentukan aterosklerosis femoralis.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Agus, S., dan R. Yanti. 2010. *Penyakit Periodontal dan Penyakit Jantung Koroner (Aterosklerosis)*. Bandung : UNPAD.
- Akhtar, M. W. 2014. Diagnostic ultrasound for the Detection of Atherosclerotic Changes Inside Femoral Atheries of Lower Limb. *IJTRA*. 2 (6).
- Albrakati, A. 2013. Structural and Functional Caveolae in the Femoral Artery. *Tesis*. UK: University of Liverpool.
- Anjana, R., R. Suresh. 2010. Periodontal Infection-A Risk For Coronary Artery Disease. *Sri Ramachandra Journal of Medicine*. 3 (2): 12-19.
- Beck, J.D., P. Eke, dan G. Heiss. 2005. Coronary Heart Disease : Periodontal Disease and Coronary Heart Disease, A Reappraisal of the Exposure. *Circulation*. 112: 19-24.
- Belstrom, D., P. Holmstrup, C. Damgaard, T. S. Borch , M. Skjodt, K. Bendtzen, dan C. H. Nielsen. 2011. The Atherogenic Bacterium *Porphyromonas gingivais* Evades Circulating Phagocytes by Adhering to Erythrocytes. *J Infection and Immunity*. 79(4): 1559-65.
- Brevetti, G., G. Giuseppe, B. Linda, dan R. H. William. 2010. Inflammation in Peripheral Artery Disease. *Circulation*. 122: 1862-1875.
- Caroline, I. 2003. Periodontitis sebagai Suatu Faktor Resiko Terjadinya Penyakit Jantung Koroner. *Skripsi*. Medan : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara.
- Daniels, S. R. 2008. *Koronaria Risk Factors in Children*. Dalam: allen HD, Driscoll DJ, Robert E, Feltas TP. *Penyunting. Moss and Adams heart disease in infant and adolescents. Edisi ke-7*. Philadelphia: Lipincott Williams.
- Daniel, W. 2005. *Biostatic a Foundation for Analysis in The Health Science 6th edition*. Canada : John Wiley and Sons, Inc.
- Davey, M. E., dan D. Margaret. 2006. Enhanced Biofilm Formation and Loss of Capsule Synthesis: Deletion of a Putative Glycosyltransferase in *Porphyromonas gingivalis*. *J of Bacteriol*. 188 (15).

- Depkes, RI. 2007. *Pedoman Pengendalian Penyakit Jantung Dan Pembuluh darah*. Direktorat Pengendalian Penyakit Tidak Menular dan Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan.
- Dieter, R. S., J. William, dan T. Patrick. 2002. The significance of Lower Extremity Peripheral Arterial Disease. *J of Clin Cardiol*. 25.
- Enersen, M., N. Kazuhiko, dan A. Atsuo. 2013. Porphyromonas gingivalis fimbrae. *J of Oral Microbiol*. 5: 20265.
- Flak, E., dan V. Fuster. 2011. Atherosclerosis and its determinants. Hurst's The Heart. 10th ed. *McGraw-Hill Med Publ. Div. International*. 1:1065-75.
- Guyton, A. C., dan E. H. John. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 11*. Jakarta: EGC.
- Hernawati, S. 2013. Mekanisme Signaling Transduction Inflamasi Kronis dengan Kanker. *Jember University Press Proceeding Book Forkinas V*.
- Husin, W., H. Otje, dan K. Yusak. 2006. Oklusi Arteri Perifer pada Ekstrimitas Inferior. *JKM*. 1 (6).
- Husna, Chairul Huda Al. 2014. *Konsep Dasar Immunologi*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Jawaharlal, W., Senaratne dan F. Green. 2000. *Pathobiology of atherosclerosis*. Oxford eds. *Textbook of Surgery, 2nd edition*. USA: Oxford press.
- John, S. 2000. Impaired endothelial function in arterial hypertension and hypercholesterolemia: potential mechanisms and differences. *J. Hypertens*. 18:1432-38.
- Kimura, S., O. N. Yuko, S. Yu, I. Taichi, dan S. Minoru. 2012. *Pathogenic Factors of P. gingivalis and the Host Defense Mechanisms, Pathogenesis and Treatment of Periodontitis*. Japan: InTech.
- Kusumawardani, B. 2010. Uji Biokimia Sistem API 20 A Mendeteksi Porphyromonas gingivalis Isolat Klinik dari Plak Subgingiva Pasien Periodontitis Kronis. *Jurnal PDGI*. 3 (59).

- Lambert, I. B, dan M. E. Northridge. 2008. *Improving Oral Health for Elderly*. New York: Springer Science+Bussiness Media, LLC.
- Muis, M., B. Murtala. 2011. Peranan Ultrasonografi dalam Menilai Kompleks Intima-Media Arteri Karotis untuk Diagnosis Dini Aterosklerosis. *J of CDK*. 38 (3): 184.
- Mysak, J., S. Podzimek, P. Sommerova, Y. Lyuya-Mi, J. Bartova, dan T. Janatova. 2013. Porphyromonas gingivalis: major periodontopathic pathogen overview. *J of Immunology Research*.
- Murphy, Ken., P. Travers dan M. Walport. 2007. *Janeway's Immunobiology*. US: Garland Science.
- Nafilah, R., C. Rendra, A. S. I Dewa. 2015. Deteksi Lesi Aterosklerosis Koroner pada Model Tikus Periodontitis. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 3 (2).
- Najjar, S. S., A. Scuteri, dan E. G. Lakatta. 2005. Arterial Aging: Is It an Immutable Cardiovascular Risk Factor. *Hypertension*. 46: 454-462.
- Nasution, L. S. 2013. Pengaruh Pemberian Likopen terhadap Perkembangan Lesi Aterosklerotik pada Tikus Hiperkolesterolemia. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 1.
- Newman, M. G, et al. 2012. *Carranza's Clinical Periodontology 11<sup>th</sup> Edition*. USA: Elsevier.
- Notoatmojo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan Cetakan Ketiga*. Jakarta : Rineka Pustaka.
- Permana, Rheza., R. Fatkhur, P. Ardian, A. S. I Dewa, dan E. Tantin. 2013. Histomorphometrical Analysis of Coronary Atherosclerosis Lesions Formation in Rat (*Rattus norvegicus*) Model. *J of Dent Indonesia*. 20 (3): 73-77.
- Paulsen, F., dan W. Jens. 2012. *Sobotta Atlas Anatomi Manusia Jilid 1*. Jakarta: EGC.
- Pratiwi, Herlina. 2013. *Imunopatologi*. Malang: Universitas Brawijaya.

- Rachman, I. 2014. Analisis Determinan Kejadian Aterosklerosis Koroner Usia Dini di RSUP DR.Wahidin Sudirohusodo tahun 2014. *Skripsi*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Rader, D. 2005. *Disorder of lipoprotein metabolism*. US: Harrison's Principles of Internal Medicine The McGraw-Hill Companies.
- Rahman, A. 2012. Faktor-faktor Risiko Mayor Aterosklerosis pada Berbagai Penyakit Aterosklerosis di RSUP DR. Kariadi Semarang. *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Raudatul, J. 2013. Pengukuran Kadar Ox-LDL (Low Density Lipoprotein Oxidation) Pada Penderita Aterosklerosis Dengan Uji Elisa. *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Rose, L. F., dan B. L. Mealey. 2004. *Periodontics: Medicine, Surgery, and Implants*. Saint Louis : Elsevier Mosby.
- Rustagi, S. M., dan V. Bharihoke. 2013. Histomorphometric Study of Intracranial Internal Carotid Artery in Man. *European Journal of Anatomy*. 17(1) : 1-8.
- Schiener, Maximilian., H. Martin, R. V. Joana, O. Almudena, W. Christian, L. Kirsten, H. L. Lars dan S. Oliver. 2014. Nanomedicine-based Strategis For Treatment of Atherosclerosis. *Trends in Molecular Medicine*. 20 (5): 271-281.
- Shanies, S., dan H. Casey. 2006. The Significance of Periodontal Infection in Cardiology. *ADA CERP Grand Rounds*. 1 (2): 2-8.
- Sitorus, R. H. 2006. *Tiga Jenis Penyakit Pembunuh Utama Manusia*. Bandung: Yrama Widya.
- Snell, R. S. 2011. *Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem*. Jakarta: EGC.
- Spagnoli, Luigi Giusto., B. Elena, S. Giuseppe, dan M. Alessandro. 2007. Role of Inflammation in Atherosclerosis. *J Nucl Med*. 48 (11): 1800-1815.
- Suryohudoyo P. 2000. *Dasar Molekuler Penyakit Aterosklerosis. Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Jakarta: CV Sagung Seto.

- Suryohudoyo P. 2002. *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Jakarta : CV Sagung Seto.
- Susilawati, I. D. A. 2011. Periodontal Infection is A “Silent Killer”. *Stomatognatic*. 8 (1): 21-26.
- Susilawati, I. D. A., Suryono., E. Tantin. 2013. Effect of Cofee and Porphyromonas gingivalis Infection on Atherosclerosis Marker in Vitro: Foam Cell Formation and Scavenger Receptor Expression. *Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi: Universitas Jember*.
- Susilawati, I. D. A., Suryono., E. Tantin. 2014. Protective Effect of Cofee Against Coronary Atherosclerosis in Periodontitis Rat Model. *Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi: Universitas Jember*.
- Tarnoki, A. D., B. Fejer, H. Maurovich, E. M. Merkely, C. Baracchini, G. Schillac.i, dan G. Jermendy. 2015. Genetic Effects on Femoral Atherosclerotic Plaque Formation: an International Twin Study. *EPOS*. C-0869: 1-9.
- Tao and Kendall. 2014. *Sinopsis Organ System Kardiovaskular*. Jakarta: Karisma Publishing Group.
- Volzke, H., C. Schwahn, dan A. Hummel. 2005. Tooth Loss Is Independently Associated With The Risk of Acquired Aortic Valve Sclerosis. *Am. Heart J*: 1198-1203.
- Wangsarahardja. 2005. Penyakit Periodontal sebagai Faktor Resiko Penyakit Jantung Koroner. *J of Universa Medicina*. 2005; 3 (24).
- World Health Organization. 2011. *Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control*. Switzerland: WHO Press.

#### Lampiran A. Perhitungan Jumlah Sampel

Besar subjek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 4 ekor tikus tiap kelompok perlakuan. Adapun besar subjek didapat dari perhitungan rumus sebagai berikut (Daniel, 2005):

$$n \geq \frac{Z^2 + \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

n : besar sample tiap kelompok

Z: nilai Z pada tingkat kesalahan tertentu, jika  $\alpha = 0,05$  maka  $Z = 1,96$

$\sigma$  : standar deviasi subjek

d : kesalahan yang masih dapat di toleransi

Dengan asumsi bahwa kesalahan yang masih dapat di terima ( $\sigma$ ) sama besar dengan (d) maka :  $\sigma^2 =$

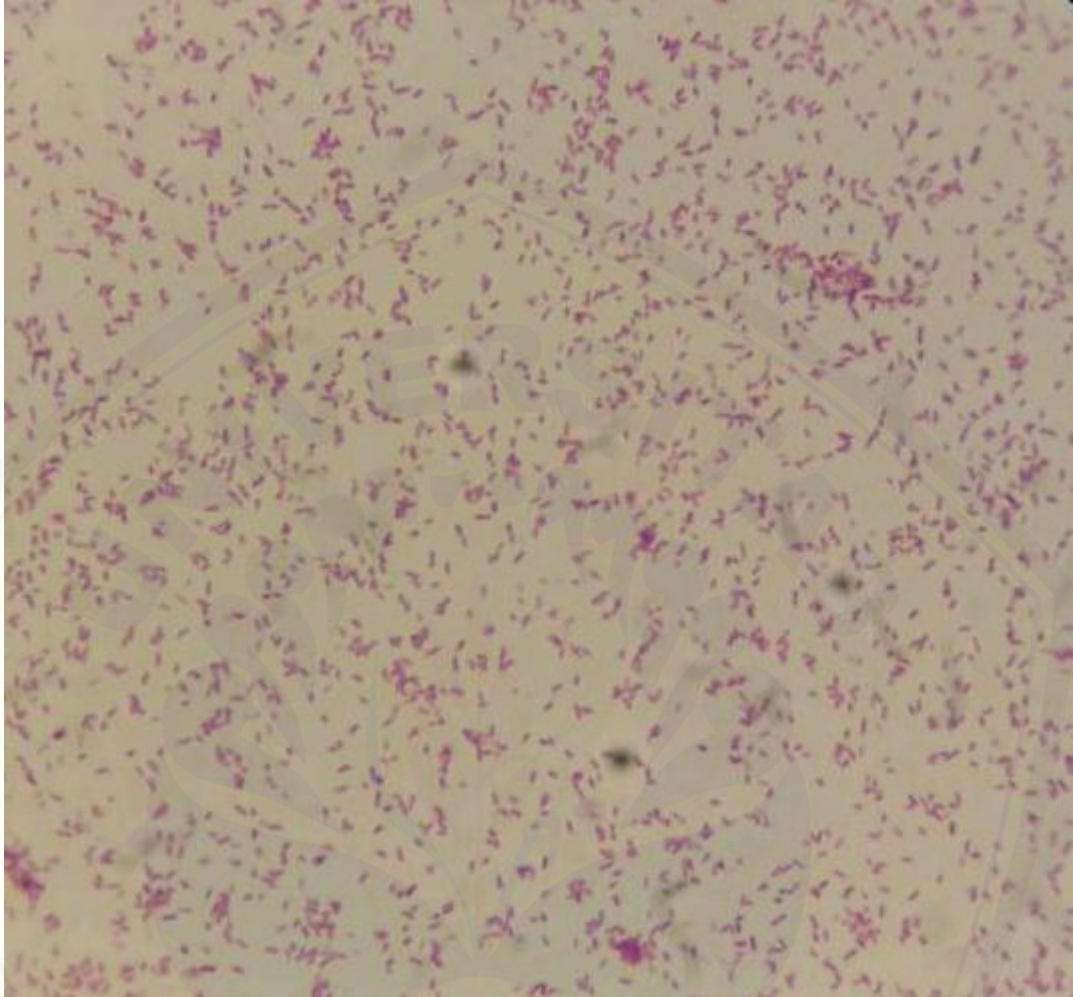
$$n \geq \frac{Z^2 + \sigma^2}{d^2} \quad n \geq Z^2$$

$$n \geq (1,96^2)$$

$$n \geq 3,84$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan rumus di atas, jumlah subjek minimum yang harus digunakan adalah 4 subjek untuk masing-masing kelompok. Pada penelitian ini menggunakan 8 ekor tikus sebagai subjek, yang terbagi kedalam 2 kelompok yang masing-masing terdiri dari 4 ekor tikus.

Lampiran B. Uji Identifikasi *Porphyromonas gingivalis*

Hasil uji identifikasi *Porphyromonas gingivalis* secara mikroskopis dengan pewarnaan gram. Bakteri terlihat berwarna merah yang menunjukkan bakteri gram negatif dan berbentuk batang. Pada pengamatan menunjukkan bakteri tidak terkontaminasi



## Lampiran C. Alat dan Bahan Penelitian

## C.1. Alat Penelitian

## a. Alat Pemeliharaan Hewan Coba



Keterangan:

1. Kandang
2. Tempat Minum
3. Tempat Makan

## Alat Pembuatan Wire Ligature



Keterangan:

1. Tang Koil
2. Tang Tiga Jari
3. Tang Adam

b. Alat Perlakuan Hewan Coba



Keterangan:

- |                                     |                                       |
|-------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Pisau Malam                      | 5. Bunsen                             |
| 2. Pinset                           | 6. <i>Head Lamp</i>                   |
| 3. Gunting Jepit dan Sonde<br>Kecil | 7. Syringe 1 cc                       |
| 4. Korek Api                        | 8. Rat Dental Chair (Agus M,<br>2012) |

c. Alat Pembedahan Hewan Coba dan Pematongan Organ



Keterangan:

- |                  |                   |
|------------------|-------------------|
| 1. Papan Fiksasi | 4. Pinset Anatomi |
| 2. Jarum Pentul  | 5. Scalpel        |
| 3. Gunting Bedah | 6. Blade Scalpel  |

## d. Alat Pemrosesan Jaringan dan Pengecatan



Keterangan:

1. Mesin *Frozen Section*
2. Autoclave
3. Histological Basket
4. *Freezer*
5. Rak Pengecatan

## e. Alat untuk Pengamatan



Keterangan:

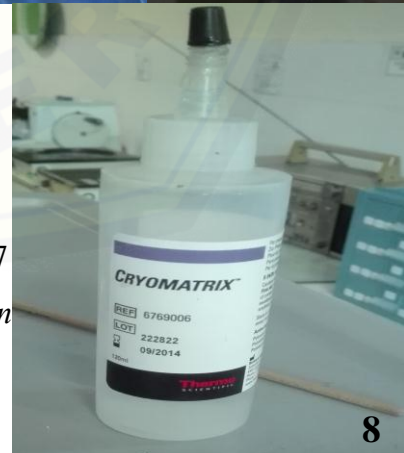
1. Mikroskop Cahaya
2. Optilab

C.2. Bahan Penelitian



Keterangan:

1. Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*)
2. Akuabides dan Ketamin
3. Larutan PBS
4. Suspensi *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277
5. Bahan Pengecatan *Sudan IV Mayer's Hematoxylin* (*Oil Red O, Propylene Glycol*)
6. Bahan Pengecatan *Picrosirius Red*
7. Entellan/ Canada Balsem
8. *Cryostat*



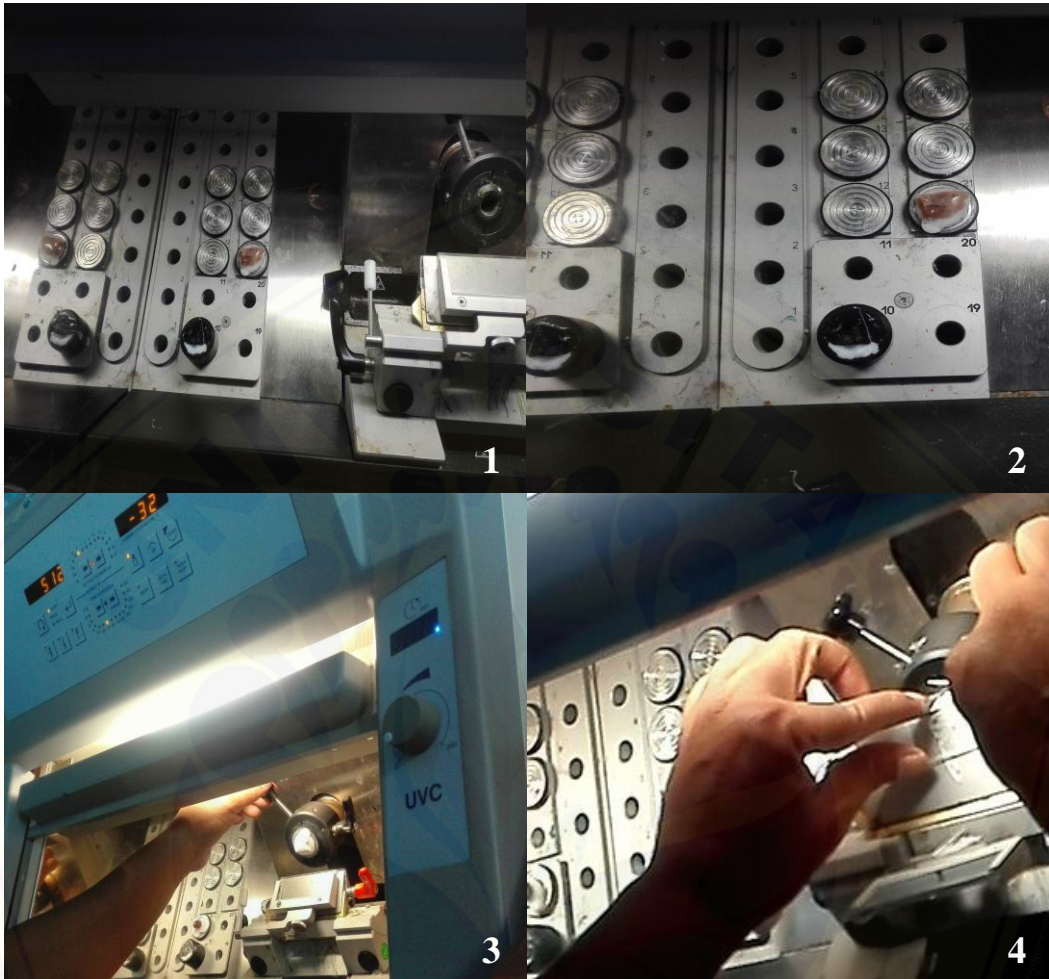
## Lampiran D. Prosedur Penelitian

## D.1. Persiapan Perlakuan, Proses Perlakuan dan Pembedahan Tikus



Keterangan:

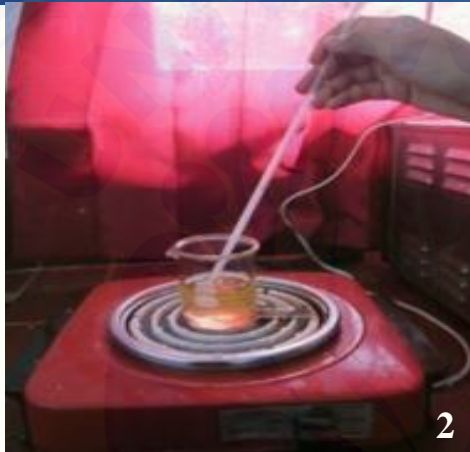
1. Pembuatan *Wire Ligature*
2. Pemasangan *Wire Ligature*
3. Pengambilan Suspensi Bakteri
4. Fiksasi Tikus pada Rat Dental Chair
5. Injeksi Suspensi *Porphyromonas gingivalis*
6. Pembedahan dan Pengambilan Rahang Tikus

D.2. Proses *Frozen Section*

Keterangan:

1. Penempatan Jaringan pada Alat *Frozen Section*
2. Jaringan yang Mulai Membeku Setelah Diberi *Cryostat*
3. Pemotongan Jaringan yang Telah Membeku
4. Penempatan Potongan Jaringan pada Obyek Glass

## D.3. Proses Pengecatan Jaringan


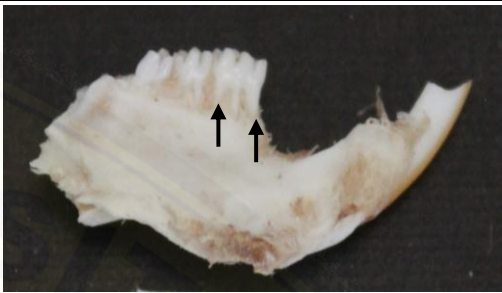

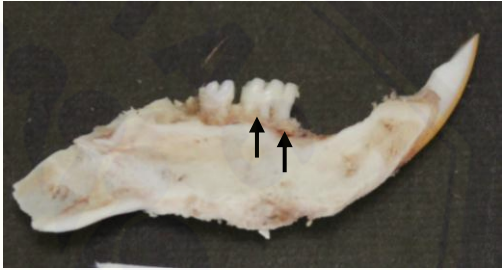

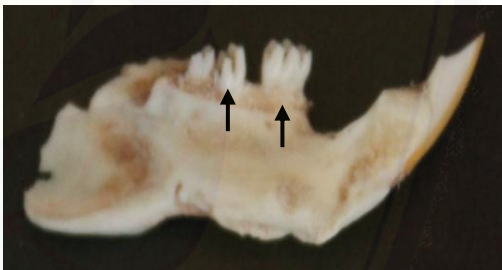

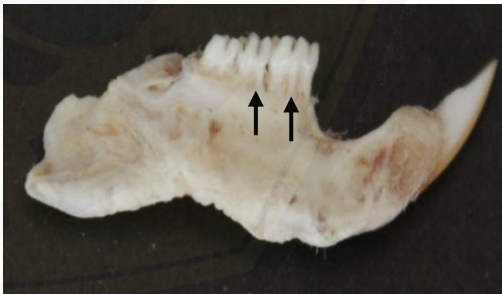


Keterangan:

1. Persiapan Pengecatan Preparat Menggunakan *Picrosirius Red*
2. Pembuatan Larutan *Sudan IV*
3. Proses Penyaringan Larutan *Sudan IV*
4. Proses Pengecatan Preparat Menggunakan *Sudan IV*

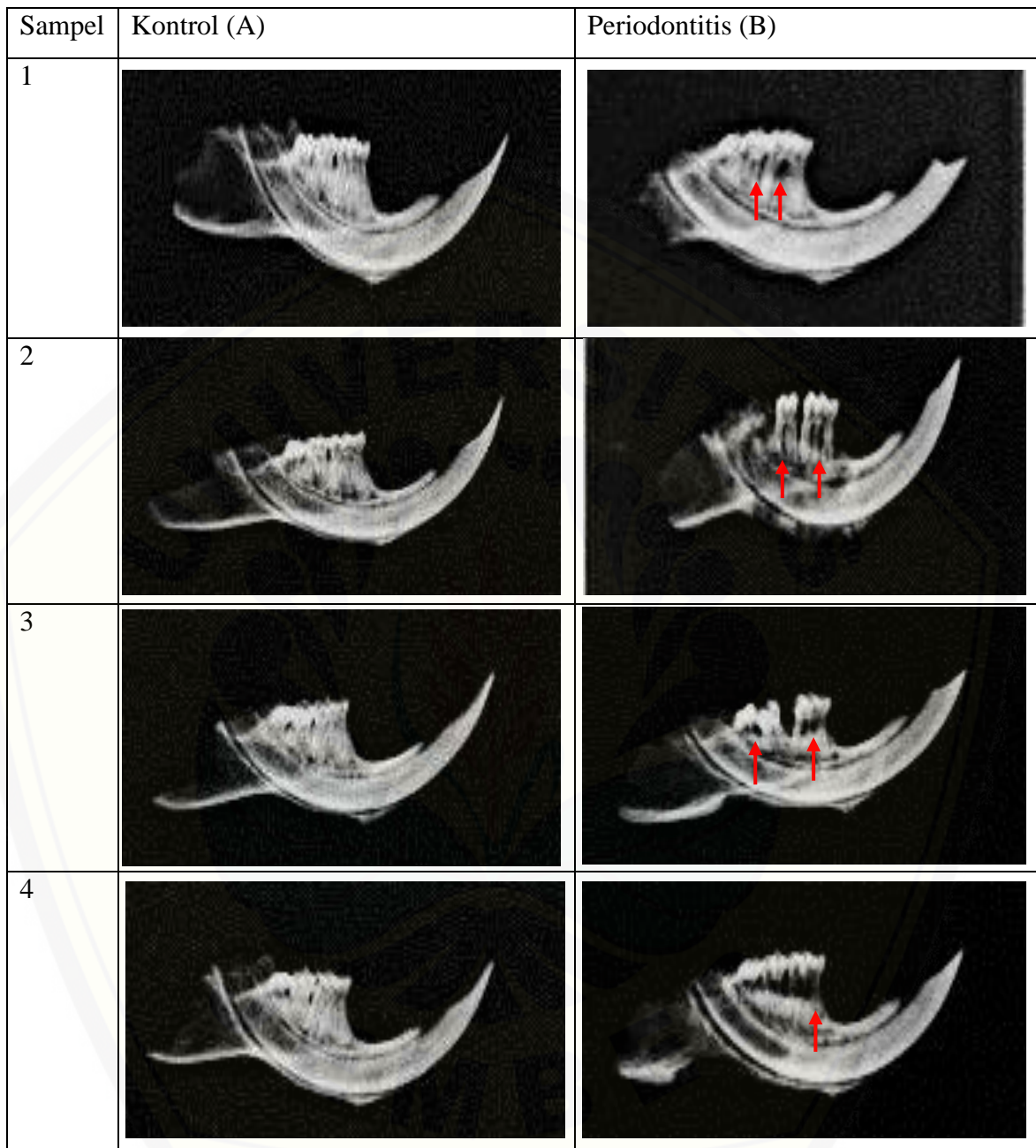
Lampiran E. Foto Klinis dan Radiografis Rahang Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

E.1. Foto Klinis Rahang Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Sampel	Kontrol (A)	Periodontitis (B)
1		
2		
3		
4		

Gambar 1.1 Hasil foto klinis mandibular kiri tikus setelah jaringan lunak dihilangkan. Kelompok kontrol menunjukkan tulang alveolar masih dalam keadaan normal dimana tidak ditemukan adanya resorpsi tulang alveolar (A). Kelompok perlakuan ditemukan adanya periodontitis dimana terjadi resorpsi tulang alveolar yang ditandai dengan posisi *alveolar crest* lebih ke apikal dari CEJ (tanda panah) (B).



E.2. Foto Radiografi Rahang Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Gambar 1.2 Hasil foto radiologis mandibular kiri tikus. Kelompok kontrol menunjukkan tulang alveolar masih dalam keadaan normal yang ditandai dengan tidak adanya resorpsi tulang (A). Kelompok perlakuan ditemukan adanya periodontitis yang ditandai dengan adanya daerah radiolusen pada tulang alveolar (tanda panah) (B).

## Lampiran F. Hasil Pengamatan Lesi Aterosklerosis

Nomer	Parameter	Sampel	Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Kesimpulan
1	Ketebalan dinding arteri femoralis ( $\mu\text{m}$ )	KF1	69,5	69,5	61,7	66,9
		KF2	65,4	92,4	61,9	73,2
		KF3	61,6	68,6	46,8	59
		KF4	51,0	51,0	76,6	59,5
		PF1	78,4	86	78,4	80,9
		PF2	108,8	120,3	96,9	108,7
		PF3	121,1	102,5	81,7	101,8
		PF4	88,6	123,1	79,3	97
2	Ateroma	KF1	0	0	0	0
		KF2	0	1	0	0
		KF3	0	0	0	0
		KF4	0	0	0	0
		PF1	1	0	1	1
		PF2	1	1	1	1
		PF3	1	1	0	1
		PF4	1	1	0	1
3	Disintegrasi kolagen intima	KF1	1	1	1	1
		KF2	1	1	1	1
		KF3	1	1	1	1
		KF4	1	1	1	1
		PF1	1	1	1	1
		PF2	1	1	1	1
		PF3	1	1	1	1
		PF4	1	1	1	1
4	Deposisi lipid	KF1	0	0	0	0
		KF2	0	0	0	0
		KF3	0	0	0	0

		KF4	0	0	0	0
		PF1	0	0	0	0
		PF2	0	0	0	0
		PF3	0	0	0	0
		PF4	0	0	0	0
5	<i>Fatty streak</i>	KF1	0	0	0	0
		KF2	0	1	0	0
		KF3	0	0	0	0
		KF4	0	0	0	0
		PF1	1	0	1	1
		PF2	1	1	1	1
		PF3	1	1	0	1
		PF4	1	1	0	1
6	Disintegrasi endotel	KF1	0	0	0	0
		KF2	1	1	0	1
		KF3	0	1	0	0
		KF4	0	0	1	0
		PF1	0	1	1	1
		PF2	1	1	1	1
		PF3	1	1	1	1
		PF4	1	1	1	1

Lampiran G. Hasil Uji Statistik

G.1. Ketebalan Dinding Arteri Femoralis

Uji Normalitas (Uji Kolmogorov-Smirnov)

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		KetebalanDindingArteri
N		8
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	78.6625
	Std. Deviation	18.38096
Most Extreme Differences	Extreme Absolute	.202
	Positive	.202
	Negative	-.146
Kolmogorov-Smirnov Z		.570
Asymp. Sig. (2-tailed)		.901
a. Test distribution is Normal.		

Nilai (Asymp) sebesar 0,901, dimana lebih dari 0,05 maka distribusi data dinyatakan normal.

Uji Independent T-Test

**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Ketebalan Dinding Arteri	Equal variances assumed	.523	.497	-4.768	6	.003	-32.45000	6.80508	-49.10144	-15.79856
	Equal variances not assumed			-4.768	4.768	.006	-32.45000	6.80508	-50.20226	-14.69774

Nilai (Sig.) sebesar 0.003, dimana kurang dari 0,05 maka terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan periodontitis.

## G.2. Ateroma

Uji *Mann-Whitney***Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank
Ateroma	Kontrol	4	2.50
	Periodontitis	4	6.50
	Total	8	

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Ateroma
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Nilai (Asymp Sig.) sebesar 0,008, dimana kurang dari 0,05 maka terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok periodontitis terhadap adanya ateroma.

## G.3. Disintegrasi Kolagen Intima

Uji *Mann-Whitney***Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank
Disintegrasi Kolagen	Kontrol	4	4.50
	Periodontitis	4	4.50
	Total	8	

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Disintegrasi Kolagen
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Nilai (Asymp Sig.) sebesar 1,000 dimana lebih dari 0,05 maka tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok periodontitis terhadap adanya disintegrasi kolagen intima.

## G.4. Deposisi Lipid

Uji *Kruskal-Wallis***Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank
DeposisiLipid	Kontrol	4	4.50
	Periodontitis	4	4.50
	Total	8	

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	DeposisiLipid
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Nilai (Asymp Sig.) sebesar 1,000 dimana lebih dari 0,05 maka tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok periodontitis terhadap adanya deposisi lipid.

G.5. *Fatty Streak*

## Uji Mann-Whitney

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank
FattyStreak	Kontrol	4	2.50
	Periodontitis	4	6.50
	Total	8	

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	FattyStreak
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Nilai (Asymp Sig.) sebesar 0,008, dimana kurang dari 0,05 maka terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok periodontitis terhadap adanya *fatty streak*.



## G.6. Disintegrasi Endotel

Uji *Mann-Whitney***Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank
DisintegrasiEndotel	Kontrol	4	3.00
	Periodontitis	4	6.00
	Total	8	

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	DisintegrasiEndotel
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-2.049
Asymp. Sig. (2-tailed)	.040
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 <sup>a</sup>

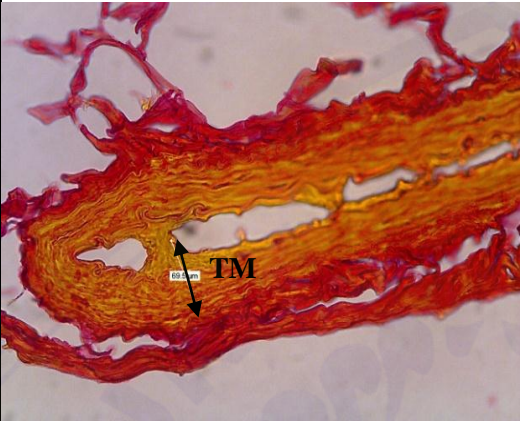
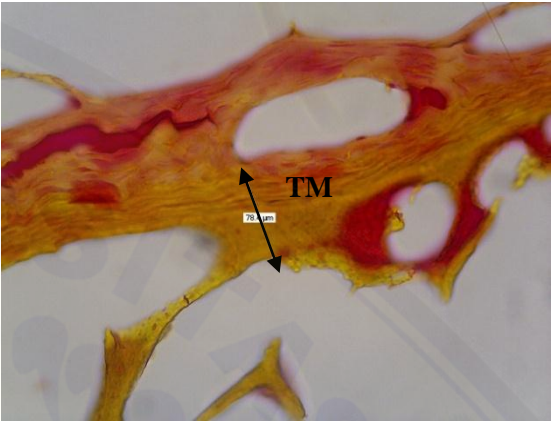
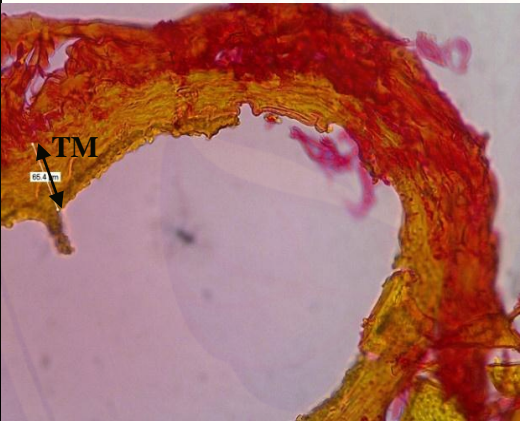
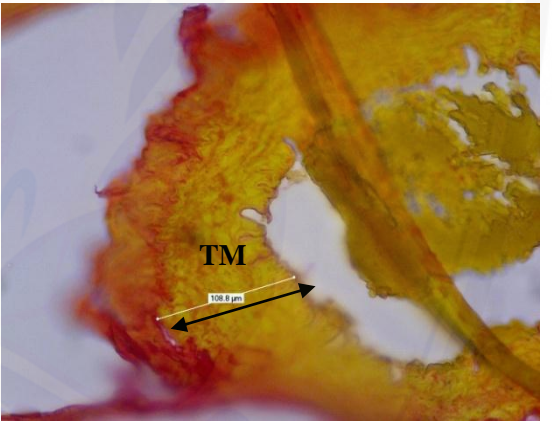

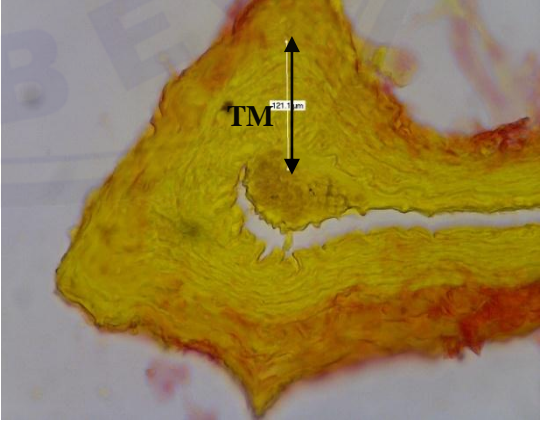
a. Not corrected for ties.

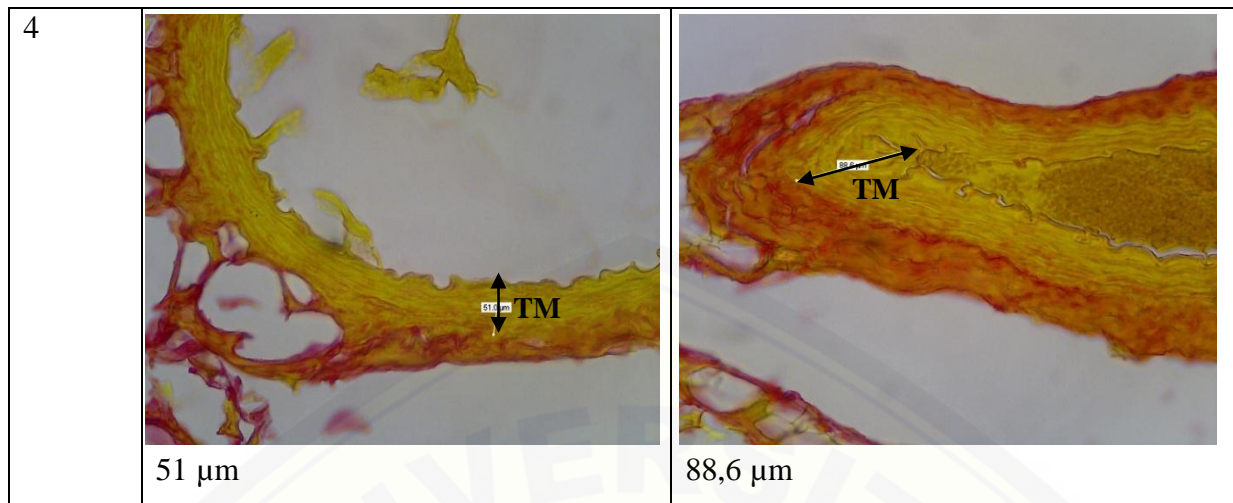
b. Grouping Variable: Kelompok

Nilai (Asymp Sig.) sebesar 0,040, dimana kurang dari 0,05 maka terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok periodontitis terhadap adanya disintegrasi endotel.

Lampiran H. Gambaran Histologi Lesi Aterosklerosis Femoralis

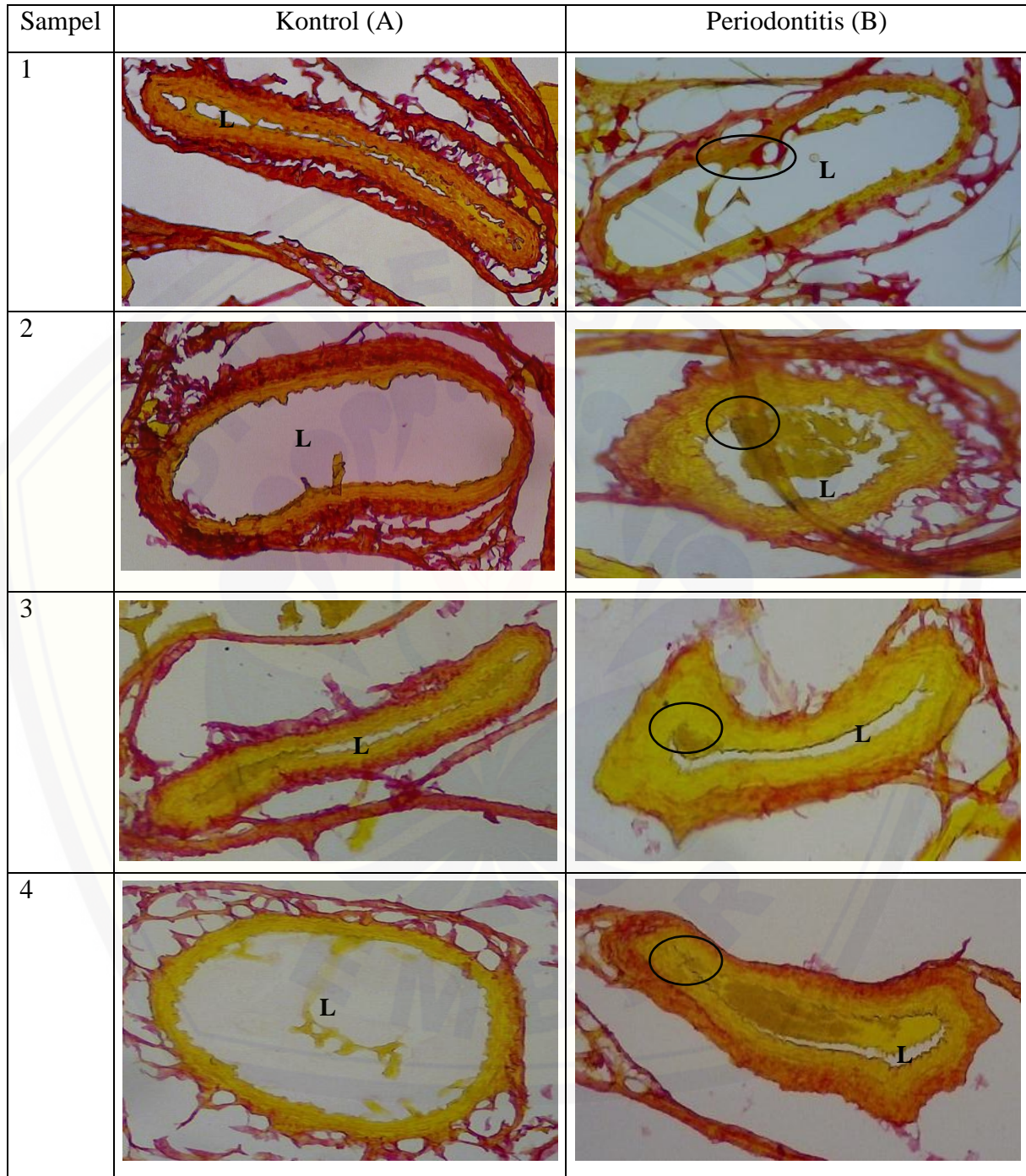
H.1. Ketebalan Dinding Arteri Femoralis Tikus Wistar (Pewarnaan *Picrosirius Red* Pembesaran 400x)

Sampel	Kontrol (A)	Periodontitis (B)
1	 <p>69,5 μm</p>	 <p>78,4 μm</p>
2	 <p>65,4 μm</p>	 <p>108,8 μm</p>
3	 <p>61,6 μm</p>	 <p>121,1 μm</p>



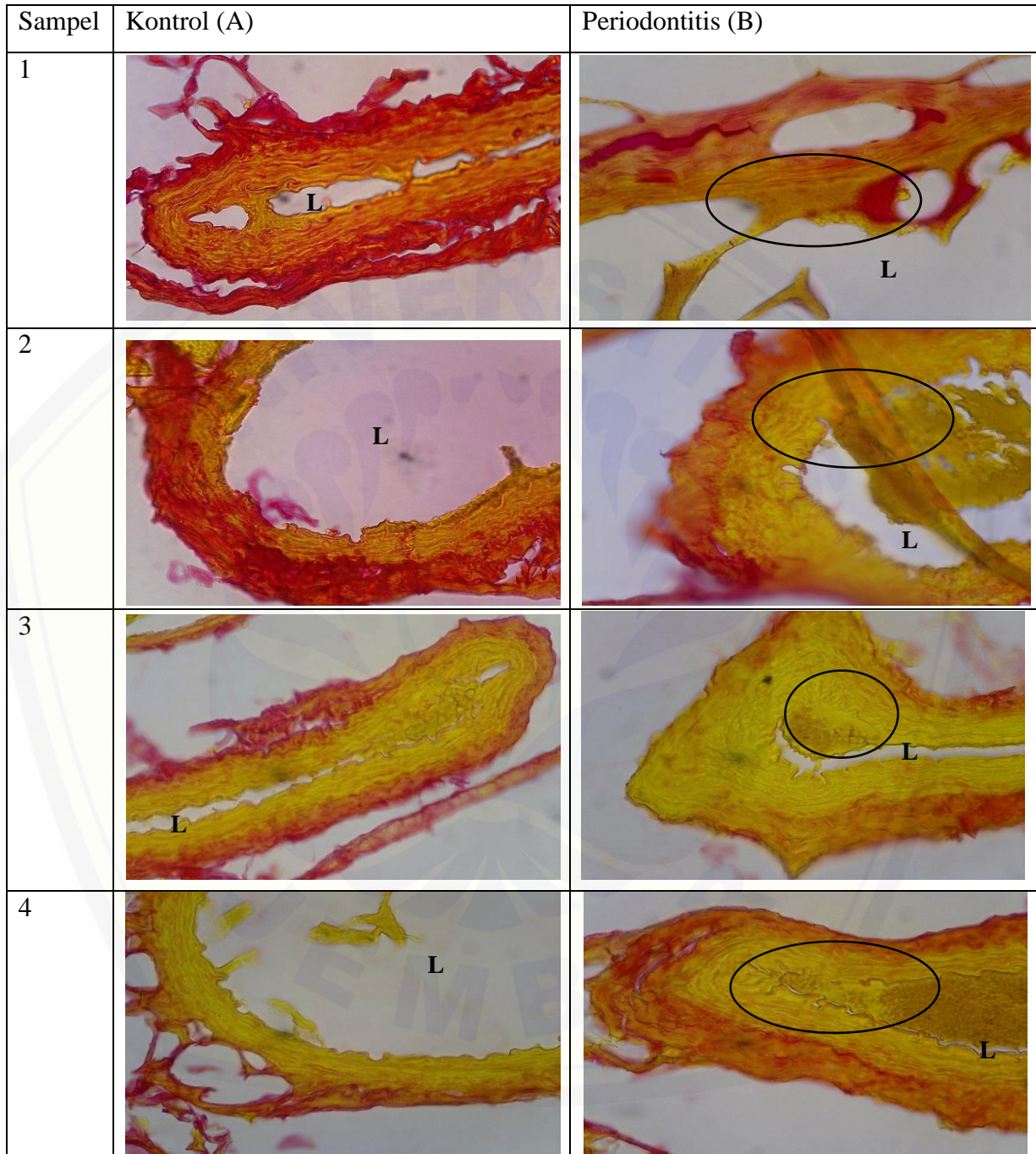
Gambar 1.1 Ketebalan Dinding Arteri Femoralis (perbesaran 400x). Kelompok kontrol, dinding arteri tidak mengalami penebalan (A). Kelompok periodontitis, dinding arteri mengalami penebalan dibandingkan dengan kelompok kontrol (B)

H.2. Gambaran Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Femoralis Tikus Wistar  
(Pewarnaan *Picrosirius Red* Perbesaran 100x)



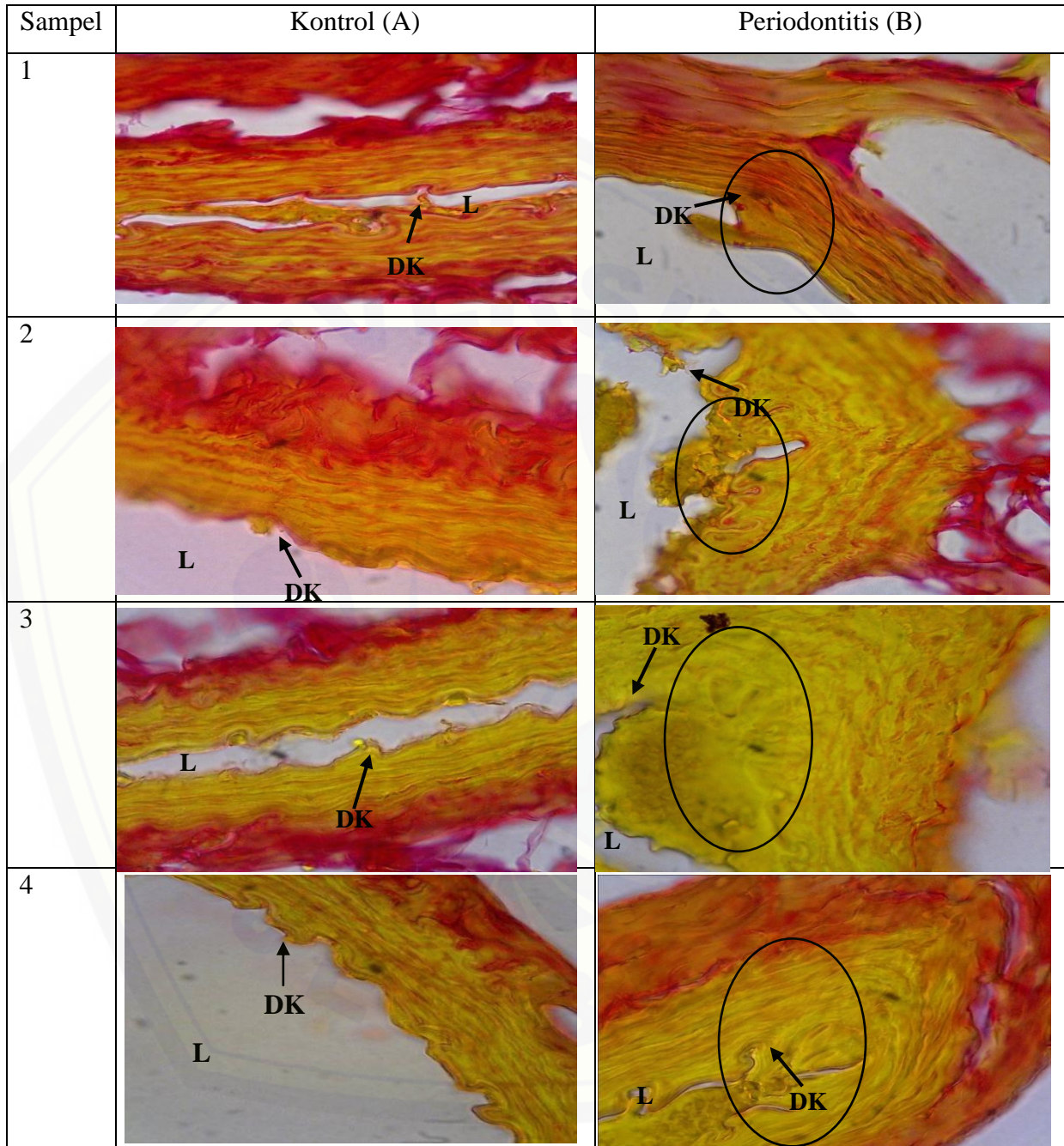
Gambar 2.1 Pengamatan ateroma. Kelompok kontrol, tidak ditemukan adanya ateroma (A). Kelompok periodontitis, ditemukan adanya ateroma (ditunjukkan daerah lingkaran) (B). Keterangan: (L): lumen

H.3. Gambaran Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Femoralis Tikus Wistar  
(Pewarnaan *Picrosirius Red* Perbesaran 400x)



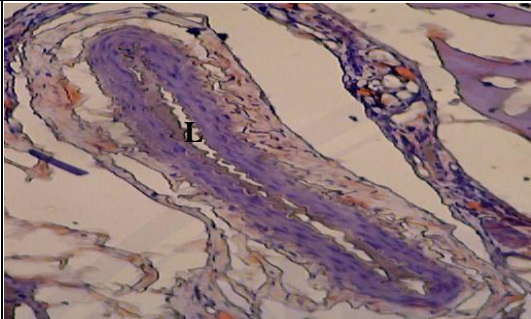
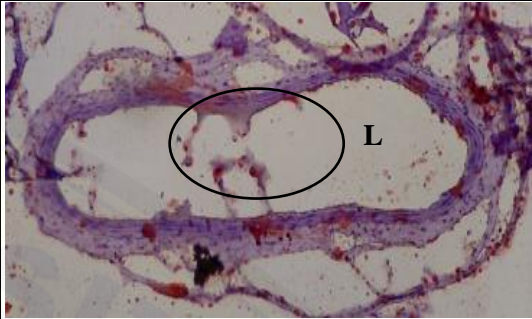
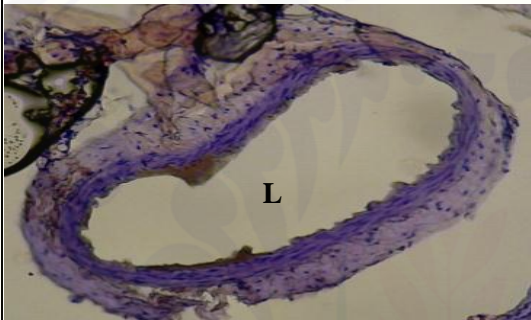
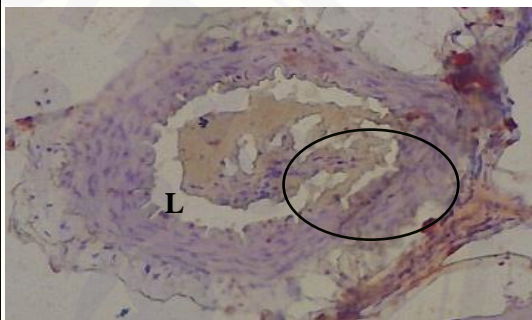
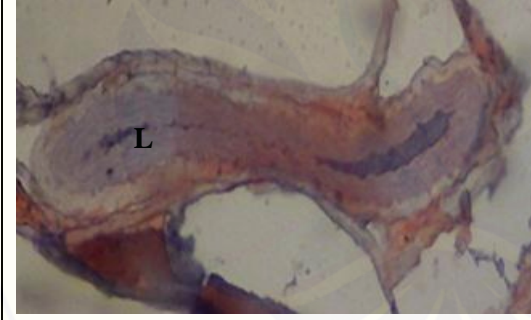
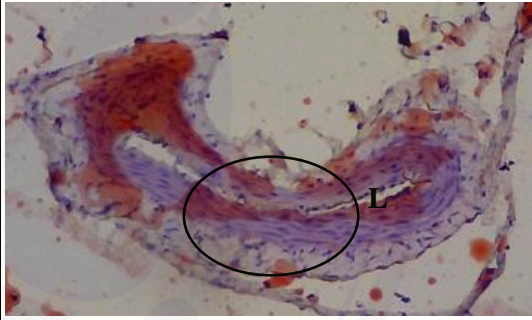
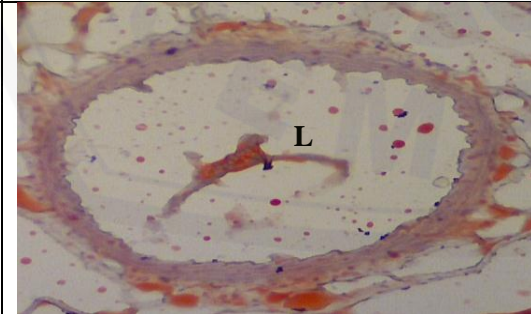
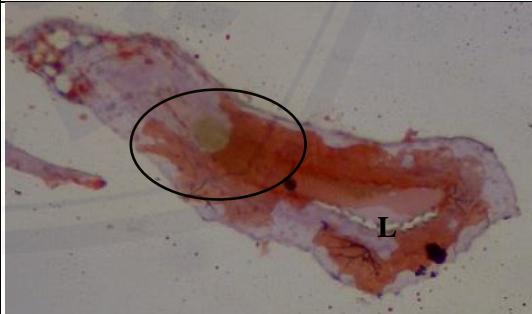
Gambar 3.1 Pengamatan ateroma. Kelompok kontrol, tidak ditemukan adanya ateroma (A). Kelompok periodontitis, ditemukan adanya ateroma (ditunjukkan daerah lingkaran) (B). Keterangan: (L): lumen

H.4. Gambaran Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Femoralis Tikus Wistar  
(Pewarnaan *Picrosirius Red* Perbesaran 1000x)



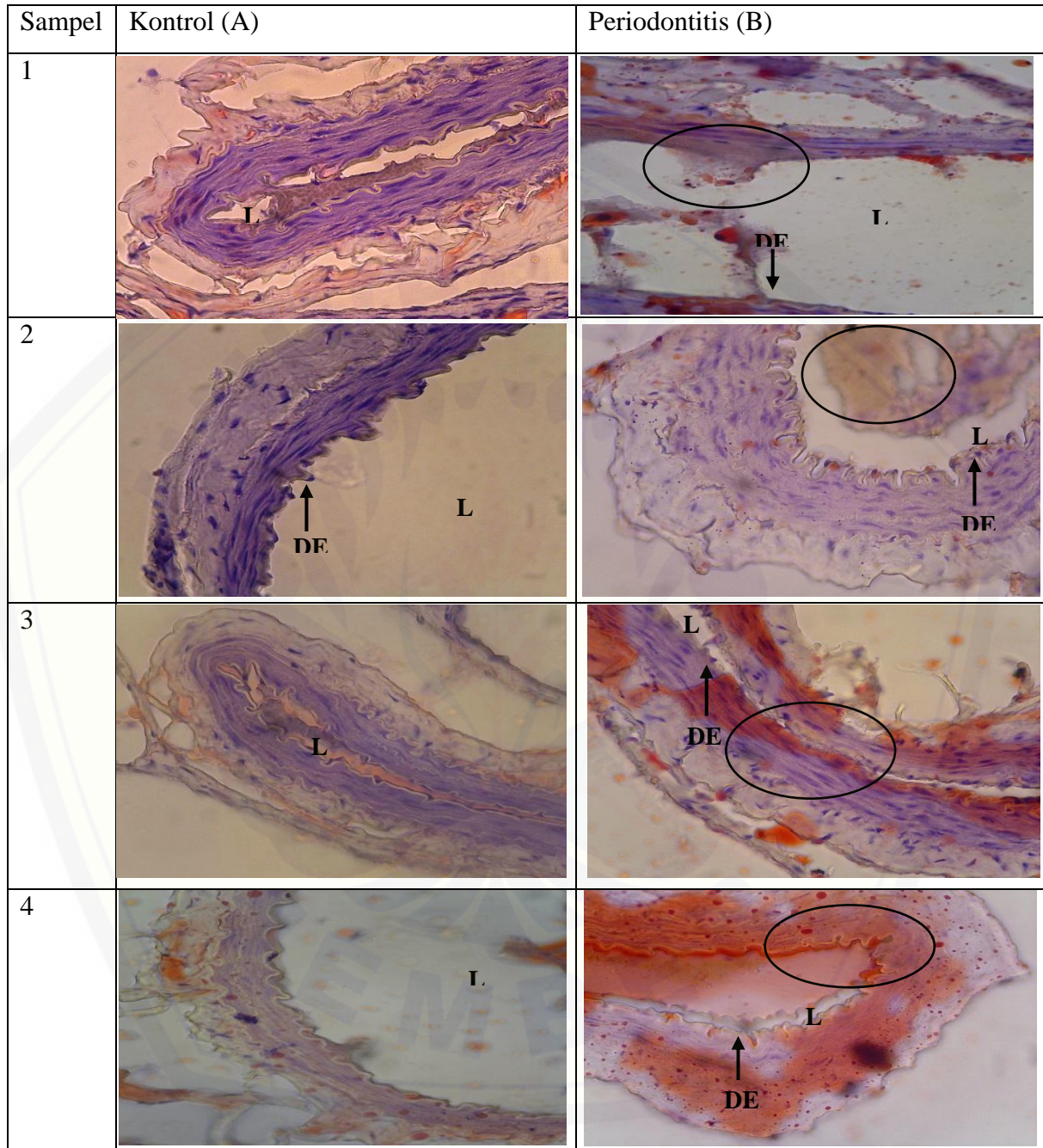
Gambar 4.1 Pengamatan disintegrasi kolagen intima dan ateroma. Kelompok kontrol, ditemukan adanya disintegrasi kolagen intima (tanda panah) (A). Kelompok periodontitis, ditemukan adanya disintegrasi kolagen intima (tanda panah) dan ateroma (ditunjukkan daerah lingkaran (B)). Keterangan: (L): lumen; (DK): disintegrasi kolagen intima

H.5. Gambaran Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Femoralis Tikus Wistar  
(Pewarnaan *Sudan IV Mayer's Hematoxylin* Perbesaran 100x)

Sampel	Kontrol (A)	Periodontitis (B)
1		
2		
3		
4		

Gambar 5.1 Pengamatan *fatty streak*. Kelompok kontrol tampak normal (A). Kelompok periodontitis, ditemukan adanya sel lemak dalam lumen atau *fatty streak* (ditunjukkan daerah lingkaran) (B). Keterangan: (L): lumen

H.6. Gambaran Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Femoralis Tikus Wistar  
(Pewarnaan *Sudan IV Mayer's Hematoxylin* Perbesaran 400x)

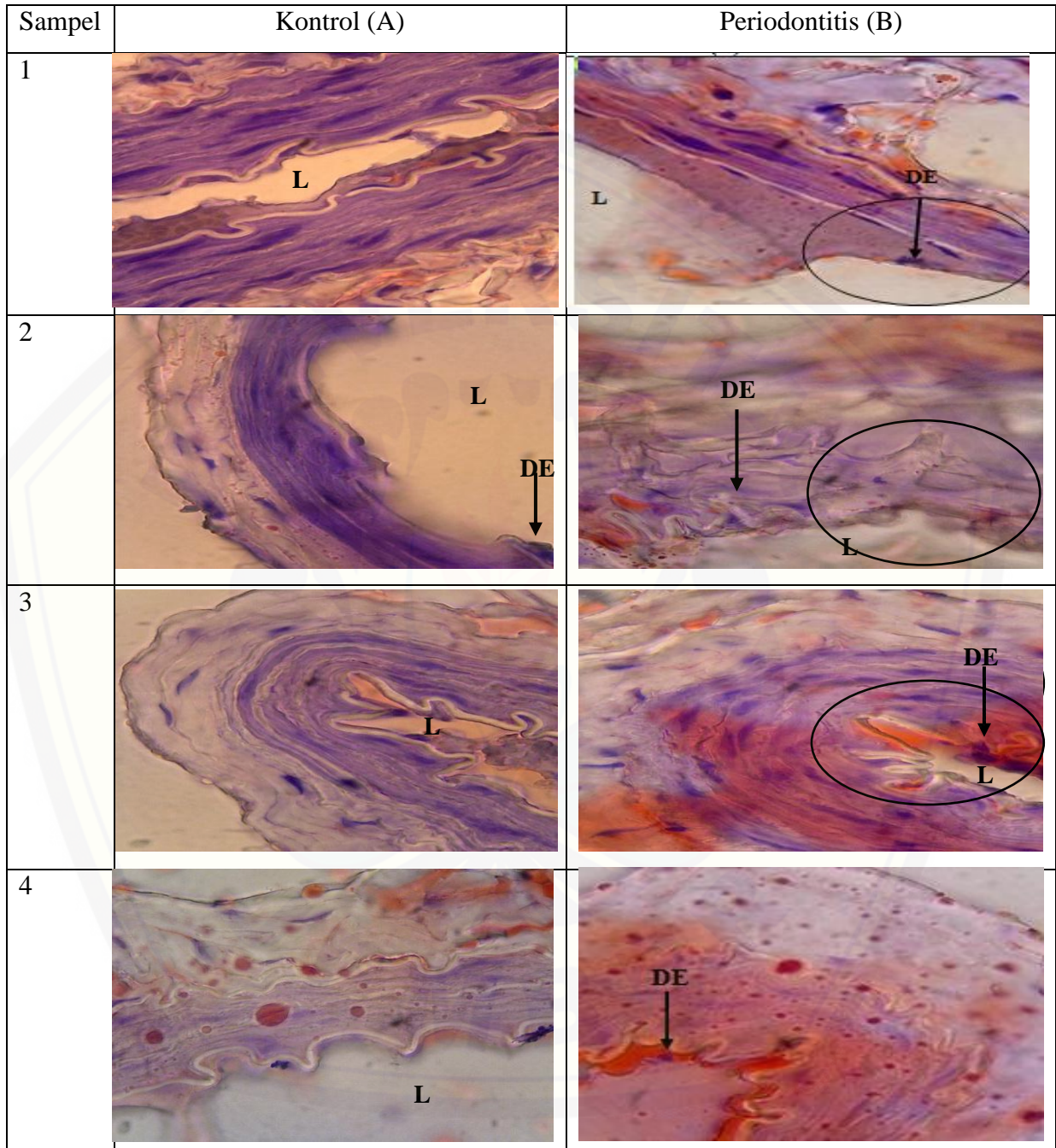


Gambar 6.1 Pengamatan disintegrasi endotel dan *fatty streak*. Kelompok kontrol tampak normal (A). Kelompok periodontitis, ditemukan adanya disintegrasi endotel (tanda panah) dan *fatty streak* (ditunjukkan daerah lingkaran (B).

Keterangan: (L): lumen; (DE): disintegrasi endotel



H.7. Gambaran Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Femoralis Tikus Wistar  
(Pewarnaan *Sudan IV Mayer's Hematoxylin* Perbesaran 1000x)



Gambar 7.1 Pengamatan disintegrasi endotel dan fatty streak. Kelompok kontrol tampak normal (A). Kelompok periodontitis, ditemukan adanya disintegrasi endotel (tanda panah) dan *fatty streak* (ditunjukkan lingkaran) (B). Keterangan: (L): lumen; (DE): disintegrasi endotel

## Lampiran I. Tabel Berat Badan Tikus dan Tanda Klinis Periodontitis

## I.1. Tabel Berat Badan Tikus dan Tanda Klinis Periodontitis Kelompok Kontrol

Sampel	Berat Badan (Kg)	TANDA KLINIS			
		MERAH	RESESI	BENGGAK	GOYANG
1	201	-	-	-	-
2	197	-	-	-	-
3	244	-	-	-	-
4	214	-	-	-	-

## I.2. Tabel Berat Badan Tikus dan Tanda Klinis Periodontitis Kelompok Periodontitis

Sampel	Berat Badan (Kg)	TANDA KLINIS			
		MERAH	RESESI	BENGGAK	GOYANG
1	200	-	L	B, L	-
2	182	-	L	B, L	+
3	188	-	L	B, L	-
4	213	-	L	B, L	+

Keterangan:

B: Bukal

L: Lingual

Lampiran J. Sertifikat *Ethical Clearance* Penelitian

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS JEMBER

KOMISI ETIK PENELITIAN

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :  
fk\_unej@telkom.net**KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK***ETHICAL APPROVA*

Nomor : 1100/H25.1.11/KE/2016

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

*The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :*

**ANALISIS EFEK KONSUMSI SEDUHAN KOPI TERHADAP KADAR ADRENALIN, INFLAMASI SISTEMIK, LAJU ENDAP DARAH, AGREGASI PLATELET, DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI LESI ATEROSKLEROSIS PADA ARTERI KORONER, RENALIS, FEMORALIS TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) PERIODONTITIS**

Nama Peneliti Utama : Dr. Drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes  
*Name of the principal investigator*

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
*Name of institution*

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.  
*And approved the above mentioned proposal.*

Jember, 23 Des 2016  
  
dr. Rini Riyanti, Sp.PK


**Tanggapan Anggota Komisi Etik**

*Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lain.*

**Saran Komisi Etik :**

- Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada pedoman etik penelitian kesehatan
- Mohon diperhatikan :
  - o kontrol kualitas di bidang mikrobiologi
  - o penggunaan APD dan biosafety cabinet di laboratorim Mikrobiologi
  - o pembuangan limbah mikrobiologi dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan
- Pemasangan *wire ligature*, injeksi dan penyondean dilakukan oleh seseorang yang trampil (agar tidak melukai hewan coba)
- Mohon diperhatikan kontrol kualitas pembuatan sediaan histopatologi agar didapatkan sediaan histopatologi yang memenuhi syarat pembacaan
- Pembacaan sediaan histopatologi dilakukan oleh seseorang yang kompeten, minimal dilakukan oleh 2 orang, serta menggunakan metode blinding.
- Mohon diperhatikan kalibrasi alat dan kontrol kualitas pengamatan sel inflamasi, pemeriksaan CRP, Adrenalin, agregasi platelet dan LED.

Jember, 23 Desember 2016



(dr. Rini Riyanti, Sp.PK)

## Lampiran K. Surat Ijin Penelitian



**PEMERINTAH KABUPATEN JEMBER**  
**RUMAH SAKIT DAERAH dr. SOEBANDI JEMBER**  
 Jl. dr. Soebandi No. 124 Telp. (0331) 487441 fax. (0331) 487564  
 JEMBER 68111



Nomor :  
 Perihal : Keterangan Penelitian

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan Skripsi maka, dengan hormat kami menerangkan bahwa mahasiswa dibawah ini :

1. Nama : Cholida Rachmatia
2. NIM : 131610101056
3. Tahun Akademik : 2016/2017
4. Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Jl. Kalimantan No. 72 Jember
6. Judul Penelitian : Identifikasi Lesi Aterosklerosis Femoralis Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Periodontitis Menggunakan *Porphyromonas gingivalis*
7. Lokasi Penelitian : Laboratorium Patologi Anatomi RSUD dr. Soebandi Jember
8. Waktu : November 2016
9. Tujuan : Untuk mengidentifikasi Lesi Aterosklerosis Femoralis Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Periodontitis Menggunakan *Porphyromonas gingivalis*
10. Dosen Pembimbing : 1. drg. Tantin Ermawati, M.Kes  
 2. drg. Happy Harmono, M.Kes

Telah melakukan proses *frozen section* menggunakan organ tikus wistar (*Rattus norvegicus*).

Jember, 15 November 2016  
 Ka. Inst. Lab. Patologi Anatomi

**dr. JANE KOSASIH, Sp. PA**  
 NIP 19800520 201412 2 001  
**dr. Jane Kosasih, SpPA**  
 NIP 19800520 201412 2 001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 2945 /UN25.8.TL/2016  
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.  
Ka. Bag. BIOMEDIK FKG Universitas Jember  
di  
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan Skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa di bawah ini :

1. Nama : Cholida Rachmatia
2. NIM : 131610101056
3. Tahun Akademik : 2016/2017
4. Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Jl. Kalimantan No. 72 Jember
6. Judul Penelitian : Identifikasi Lesi Aterosklerosis Femoralis Pada Tikus wistar (Rattus Norvegicus) Yang diinduksi Periodontitis Menggunakan Porphyromonas Gingivalis
7. Lokasi Penelitian : Lab. Histologi FKG Universitas Jember
8. Data/Alat yg dipinjam : Alat untuk penarwaan dan pengamatan jaringan
9. Waktu : Oktober 2016 s/d Selesai
10. Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Identifikasi Lesi Aterosklerosis Femoralis Pada Tikus wistar (Rattus Norvegicus) Yang diinduksi Periodontitis Menggunakan Porphyromonas Gingivalis
11. Dosen Pembimbing : 1. Drg. Tantin Ermawati, M.Kes  
2. drg. Happy Harmono, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 28 SEP 2016  
an. Dekan  
Pembantu Dekan I



Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes  
NIP. 196109031986022001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 4168 /UN25.8.TL/2016  
Perihal : Ijin Penelitian

01 DEC 2016

Kepada Yth  
Kepala Bagian Laboratorium Biomedik  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
Di  
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- |    |                         |  |
|----|-------------------------|--|
| 1  | Nama                    | : Cholida Rachmatia  |
| 2  | NIM                     | : 131610101056   |
| 3  | Semester/Tahun          | : 2016/2017  |
| 4  | Fakultas                | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 5  | Alamat                  | : Jl. Kalimantan Raya 72   |
| 6  | Judul Penelitian        | : Identifikasi Lesi Aterosklerosis Femoralis Pada Model Tikus Periodontitis Yang Diinduksi P.Gingivalis                  |
| 7  | Lokasi Penelitian       | : Laboratorium Farmakologi FKG Universitas Jember  |
| 8  | Data/alat yang dipinjam | : Kandang Tikus  |
| 9  | Waktu                   | : Agustus – November 2016  |
| 10 | Tujuan Penelitian       | : Untuk Mengetahui Identifikasi Lesi Aterosklerosis Femoralis Pada Model Tikus Periodontitis Yang Diinduksi P.Gingivalis |
| 11 | Dosen Pembimbing        | : 1. drg. Tantin Ermawati, M.Kes<br>: 2. drg. Happy Harmono, M.Kes   |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Dekan I,  
Drs. Ida Susilawati, M.Kes  
NIP.196109031986022001



LABORATORIUM MIKROBIOLOGI  
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER

SURAT KETERANGAN

No. 0112 / MIKRO/ S.KET/ 2016

Sehubungan dengan keperluan identifikasi mikroorganisme, maka kami menerangkan bahwa mahasiswa berikut:

Nama : Cholida Rachmatia  
NIM : 131610101056  
Fakultas : Kedokteran Gigi  
Keperluan : Identifikasi bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan menggunakan pengecatan Gram dan diamati secara mikroskopis menunjukkan sel bakteri basillus *Gram negatif* dan tidak terkontaminasi.

Jember, 23 Desember 2016

Mengetahui,

Kepala Bagian Biomedik Kedokteran Gigi Penanggung Jawab Lab.Mikrobiologi

(drg. Suhartini, M.Biotech)


NIP. 197909262006042002

(drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes)

NIP. 197608092005012002



UJE



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

---

Nomor : 2449 /UN25.8.TL/2016  
Perihal : Ijin Penelitian



Kepada Yth.  
Direktur RSGM Universitas Jember  
di  
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa di bawah ini :

1. Nama	: Cholida Rachmatia
2. NIM	: 131610101056
3. Tahun Akademik	: 2015/2016
4. Fakultas	: Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat	: Jl. Kalimantan No.72 Jember
6. Judul Penelitian	: Identifikasi Lesi Aterosklerosis Femoralis Pada Tikus Wistar (Rattus Norvegicus) Yang Diinduksi Periodontitis Menggunakan Porphyromonas Gingivalis
7. Lokasi Penelitian	: Lab. Bioscience RSGM Universitas Jember
8. Data/alat yang dipinjam	: -
9. Waktu	: Agustus 2016 s/d Selesai
10. Tujuan Penelitian	: Untuk Mengetahui Identifikasi Lesi Aterosklerosis Femoralis Pada Tikus Wistar (Rattus Norvegicus) Yang Diinduksi Periodontitis Menggunakan Porphyromonas Gingivalis
11. Dosen Pembimbing	: 1. drg. Tantin Ermawati, M.Kes 2. drg. Happy Harmono, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 11 AUG 2016  
an Dekan  
Penabantu Dekan I

**Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes**  
NIP. 196109031986022001