



**PEMBERIAN PROBIOTIK TERHADAP JUMLAH SEL LIMFOSIT
GINGIVA TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI
LIPOPOLISAKARIDA *E. COLI***

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 :

Muhammad Nizar

NIM 081610101024

**BAGIAN BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2012

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, rasa syukur yang tak terhingga kupanjatkan pada-Nya.
2. Keluarga saya yang saya cintai dan sayangi, ayah (Alm. H. Imam Sibawaih), ibu (Hj. Nur Aini), kakak (Muzaki, Yunus, Anis, Alm. Lala, Iqbal).
3. Seluruh dosen saya di Fakultas Kedokteran Gigi, teristimewa untuk drg. Muhammad Nurul Amin, M. Kes (Dosen Pembimbing Utama sekaligus Dosen Pembimbing Akademik), drg. Zahara Meilawaty, M. Kes (Dosen Pembimbing Anggota) dan drg. Desi Sandra Sari, MD.Sc (Dosen Penguji Skripsi). Terimakasih yang tak terhingga atas bimbingan serta pengabdian beliau selama ini.
4. Saudara, sahabat serta teman-teman baik saya yang selalu memberikan semangat, inspirasi, dan pengalaman berharga selama ini.
5. Seluruh pihak yang tak dapat disebutkan satu per satu yang telah berbaik hati membantu dan mendukung hingga selesai.
6. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

*Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan maka apabila telah selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanlah hendaknya kamu berharap. *)*

*Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. **)*

*Orang-orang yang berhenti belajar akan menjadi pemilik masa lalu.
Orang-orang yang masih terus belajar, akan menjadi pemilik masa depan. ***)*

*) Qs. Alam Nasyrah: 7,9.

**) Al Baqarah: 286.

***) Mario Teguh.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Muhammad Nizar

NIM : 081610101024

Menyatakan bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul :

“Pemberian Probiotik Terhadap Jumlah Sel Limfosit Gingiva Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Lipopolisakarida *E. Coli*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab 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 di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 18 Januari 2012

Yang menyatakan,

Muhammad Nizar
081610101024

SKRIPSI

**PEMBERIAN PROBIOTIK TERHADAP JUMLAH SEL LIMFOSIT
GINGIVA TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI
LIPOPOLISAKARIDA *E. COLI***

Oleh:

Muhammad Nizar

NIM 081610101024

Pembimbing:

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

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

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Pemberian Probiotik Terhadap Jumlah Sel Limfosit Gingiva Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Lipopolisakarida *E. Coli*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada

hari, tanggal : Rabu, 18 Januari 2012

tempat : Ruang Sidang

Tim Penguji,

Ketua

drg. Muhammad Nurul Amin, M. Kes
NIP 197702042002121002

Anggota I

Anggota II

drg. Zahara Meilawaty, M. Kes
NIP 198005272008122002

drg. Desi Sandra Sari, MD. Sc
NIP 197512152003122005

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Univeritas Jember

drg. Hj. Herniyati, M. Kes
NIP 195909061985032001

RINGKASAN

Pemberian Probiotik Terhadap Jumlah Sel Limfosit Gingiva Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Lipopolisakarida *E. COLI*; Muhammad Nizar, 081610101024; 62 halaman : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Lipopolisakarida adalah salah satu penyebab terjadinya kelainan periodontium. Lipopolisakarida bersifat endotoksin yang menginduksi faktor lokal yaitu sitokin proinflamatori seperti interleukin-1 α (IL-1 α), IL-1 β , IL-6, *tumor necrosis faktor- α* (TNF- α) dan eikosanoid yaitu prostaglandin (PGE2). Pengaruh probiotik terhadap rongga mulut antara lain probiotik dapat mengurangi inflamasi jaringan periodontal dengan cara memperkuat barier epitel mukosa dan menstimulasi respon imun didapat dan respon imun bawaan, probiotik dapat menekan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus* lainnya yang bersifat kariogenik dan probiotik mempunyai efek positif terhadap halitosis dan infeksi candida dalam rongga mulut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui lebih lanjut tentang pemberian probiotik terhadap jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida *E. coli*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris, rancangan penelitian *post test only control group design* yang dilakukan di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Penelitian ini menggunakan 32 ekor tikus, kemudian dibagi menjadi empat kelompok perlakuan, yakni kelompok I (kontrol) tikus tidak diberi perlakuan apa-apa, kelompok II hanya diberi LPS, kelompok III diberi LPS dan probiotik bersamaan selama lima hari dan kelompok IV diberi perlakuan LPS lima hari kemudian diberi probiotik lima hari berikutnya. LPS diaplikasikan pada hewan coba dengan cara disuntikkan pada sulkus gingiva gigi insisif pertama kanan rahang bawah bagian labial, dengan dosis 5 μ g/0,05 ml PBS

dan menggunakan jarum insulin 30 G sebanyak 0,02 ml. Bakteri probiotik yang digunakan adalah *L. casei* ATCC 4224, dimana diaplikasikan pada hewan coba dengan cara disuntikkan pada sulkus gingiva gigi insisif pertama kanan rahang bawah bagian labial, dengan dosis 2×10^8 sel/ml dan menggunakan jarum insulin 30 G sebanyak 0,02 ml. Jumlah sel limfosit dihitung dengan bantuan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000X pada 5 *slide* dari masing-masing ulangan.

Hasil analisis statistik didapatkan data terdistribusi normal namun tidak homogen sehingga dilanjutkan dengan uji nonparametrik *Kruskal wallis* dan *Mann-Whitney*. Berdasarkan uji *Mann-Whitney* terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok I dengan kelompok III dan antara kelompok I dan IV. Pada kelompok I (kontrol) didapatkan jumlah sel limfosit paling rendah dikarenakan pada kelompok I tidak diberi perlakuan sehingga tidak terdapat perubahan jumlah sel limfosit. Pada kelompok II didapatkan hasil jumlah limfosit mengalami kenaikan dibandingkan kelompok I. Hal ini dikarenakan pada kelompok II tikus wistar diinduksi LPS tanpa diberi probiotik sehingga terjadi peradangan. Kelompok III dan IV memiliki jumlah limfosit yang lebih banyak daripada kelompok I dan II hal ini disebabkan karena pemberian probiotik dapat menstimulasi pertahanan non spesifik dan dapat meningkatkan kapasitas sel makrofag dan sel leukosit polimorfonuklear. Sedangkan pada kelompok IV memiliki jumlah sel limfosit yang paling banyak karena induksi LPS selama 5 hari pada kelompok IV akan meningkatkan aktifitas pengeluaran limfosit karena adanya peningkatan jumlah bakteri dan adanya pemberian probiotik selama 5 hari berikutnya akan merangsang pembentukan limfosit. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pemberian bakteri probiotik *L. casei* dapat meningkatkan jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida *E. coli*.

PRAKATA

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pemberian Probiotik Terhadap Jumlah Sel Limfosit Gingiva Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Lipopolisakarida *E. Coli*”. Skripsi ini disusun guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Fakultas Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi.

Penyusunan skripsi ini tak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada yang terhormat:

1. drg. Hj. Herniyati, M. Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M. Kes, Sp. Prost, selaku Pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
3. drg. Muhammad Nurul Amin, M. Kes selaku Dosen Pembimbing Utama sekaligus selaku Dosen Pembimbing Akademik, terima kasih yang tak terhingga sudah mengizinkan untuk mengikuti penelitian ini, terima kasih juga atas segala ilmu, motivasi, pengertian, kesabaran, serta kemurahan hati dalam membimbing dan mengarahkan penulis selama ini hingga selesainya skripsi ini dan mengarahkan sejak awal hingga akhir masa studi.
4. drg. Zahara Meilawaty, M. Kes selaku Dosen Pembimbing Anggota, terima kasih yang tak terhingga atas segala ilmu, motivasi, nasehat, serta kemurahan hati dalam meluangkan waktu dan pikiran demi membimbing penyelesaian skripsi ini.
5. drg. Desi Sandra Sari, MD.Sc selaku sekretaris penguji, terima kasih yang tak terhingga atas segala ilmu, motivasi, nasehat, serta kemurahan hati dalam meluangkan waktu dan pikiran demi membimbing penyelesaian skripsi ini.

6. Staf laboratorium biomedik atas bantuan dan kerja samanya selama ini.
7. Orang tua tercinta, Ayahanda (Alm) H. Imam Sibawaih dan Ibunda Hj. Nur Aini atas segala do'a, kasih sayang, motivasi, perhatian dan pengorbanan yang tulus ikhlas selama ini.
8. Kakak-kakak tersayangku, mas Muzaki, Yunus, Anis dan Iqbal, dan mbak (Alm.) Lala, juga saudara(i) yang belum bisa disebutkan satu per satu, teruslah berusaha melakukan semua hal terbaik untuk mewujudkan cita-cita dan tujuan hidup ini.
9. *My Best friends* Fadhilah Rizal, Dista, Yulianik, Nana, Fanni, Megen, dheendha, Wiwik, Vrita, Mizzayunkz, Sofie dan ulil atas persahabatan dan kebersamaan yang begitu berarti selama ini, kalian yang mengsi hari-hariku dalam suka maupun duka. Semoga kelak kita meraih sukses bersama.
10. Teman-teman skripsi bidang Biodok Ais, Riska (icha), Novema, Kiki dan Rere terima kasih banyak atas bantuan selama ini dan juga kerjasamanya.
11. Teman-teman KKT kelompok 06 desa Badean khususnya kepada geng koplak Rika Adistyana, Siti Arofah dan Wahyu Puji terima kasih buat kerjasamanya.
12. Teman-teman seperjuangan, angkatan 2008 atas segala kerjasama dan kebersamaan yang sangat berkesan dan takkan terlupakan.
13. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terima kasih atas segala kebaikannya dalam membantu penulis selama proses pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini hingga selesai.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih banyak kekurangan baik pengetahuan maupun kemampuan penulis. Maka dengan kerendahan hati, penulis menerima kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi perbaikan dan kesempurnaan selanjutnya. Penulis berharap semoga karya tulis ini dapat bermanfaat. Amin

Jember, Januari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Probiotik.....	4
2.1.1 Definisi Probiotik	4
2.1.2 <i>Lactobacillus</i>	5
2.1.3 Efek Probiotik Terhadap Jaringan Periodontal.....	6

2.2 Radang	7
2.2.1 Definisi Radang.....	7
2.2.2 Proses Terjadinya Radang.....	8
2.2.3 Macam Radang.....	8
2.3 Limfosit	11
2.3.1 Definisi Limfosit	11
2.3.2 Jenis Limfosit	12
2.4 Lipopolisakarida	14
2.5 Hipotesis	15
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	16
3.1 Jenis Penelitian	16
3.2 Rancangan Penelitian	16
3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian	16
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian	16
3.5 Variabel Penelitian	18
3.5.1 Variabel Bebas	18
3.5.2 Variabel Terikat.....	18
3.5.3 Variabel Terkendali.....	18
3.6 Definisi Operasional	18
3.6.1 Probiotik	18
3.6.2 LPS	18
3.6.3 Jumlah Sel Limfosit	18
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	19
3.7.1 Bahan Penelitian.....	19
3.7.2 Alat Penelitian.....	20
3.8 Prosedur Penelitian	21
3.8.1 <i>Ethical Clearance</i>	21
3.8.2 Persiapan Hewan Coba	21

3.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan	21
3.8.4 Persiapan Bahan Perlakuan	22
3.9 Prosedur Perlakuan	23
3.9.1 Pembiusan Hewan Coba.....	23
3.9.2 Aplikasi Bahan Perlakuan	23
3.9.3 Pengambilan Sampel Penelitian	24
3.4.4 Dekalsifikasi Sampel Penelitian.....	24
3.9.5 Pemrosesan Jaringan	24
3.9.6 Pengecatan <i>Haematoksilin Eosin</i> (HE)	26
3.10 Analisis Data	27
3.10 Bagan Alur Penelitian.....	29
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Hasil dan Analisis Data.....	30
4.1.1 Hasil	30
4.1.2 Analisis Data	32
4.2 Pembahasan	34
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
DAFTAR LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil Perhitungan Rerata Jumlah Sel Limfosit Gingiva Tikus Wistar Jantan.....	30
4.2 Hasil Uji <i>Kolmogorov-smirnov</i>	32
4.3 Hasil Uji <i>Levene</i>	32
4.4 Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	33
4.5 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i>	33

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Bakteri <i>Lactobacillus casei</i>	6
2.2 Sel Limfosit	14
3.1 Bagan Alur Penelitian	29
4.1 Diagram Batang Rerata Jumlah Sel Limfosit.....	31
4.2 Gambaran Histologi Sel Limfosit	31

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Surat Ijin Penelitian.....	44
B. Surat <i>Ethical Clearance</i>	45
C. Hasil Penghitungan Jumlah Sel Limfosit.....	46
D. Analisis Data Penelitian	50
E. Alat Penelitian.....	57
F. Bahan Penelitian.....	61

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

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

Penyakit periodontal banyak diderita oleh manusia hampir diseluruh dunia dan mencapai 50% dari jumlah populasi dewasa (Wahyukundari, 2009). Pada orang dewasa menjadikan penyakit ini sebagai penyebab utama hilangnya gigi (Praptiwi dkk, 2009). Penyakit periodontal merupakan penyakit kronis yang diawali dengan gingivitis, penyebaran penyakit ke arah jaringan dibawahnya, menyebabkan resorpsi jaringan, hilangnya tulang alveolar dan terbentuknya poket (Fauziah & Herawati, 2008).

Prosentase bakteri yang ditemukan pada penyakit periodontal adalah bakteri anaerob (90%) dan bakteri gram negatif (75%) (Susanto dkk., 2009). Bakteri utama yang mempunyai kemampuan menembus dan merusak jaringan periodontal ialah *Porphyromonas gingivalis* (Fauziah & Herawati, 2008). Mikroorganisme subgingival pada keadaan periodontitis didominasi oleh gram negatif, bakteri dan produk-produknya seperti lipopolisakarida dapat masuk ke jaringan periodontal yang menyebabkan aktifitas biologis sehingga menyebabkan peradangan (Susanto, 2009).

Lipopolisakarida adalah salah satu penyebab terjadinya kelainan periodontium. Bahan ini merupakan struktur utama dinding sel bakteri gram negatif yang berfungsi untuk integritas struktur bakteri dan melindungi bakteri dari sistem pertahanan imun hospes. Lipopolisakarida bersifat endotoksin yang menginduksi faktor lokal yaitu sitokin proinflamatori seperti interleukin- 1α (IL- 1α), IL- 1β , IL-6, *tumor necrosis faktor- α* (TNF- α) dan eikosanoid yaitu prostaglandin (PGE2). Prostaglandin dan sitokin proinflamatori mengakibatkan terjadinya peradangan (Indahyani, 2007).

Reaksi yang terjadi pada peradangan biasanya terjadi perubahan reaksi vaskular yang hasilnya merupakan pengiriman cairan, perubahan ini dimulai relatif lebih cepat setelah jejas terjadi, tetapi dapat berkembang dengan kecepatan yang beragam, bergantung pada sifat dan keparahan jejas asalnya. Untuk menimbulkan peradangan maka jaringan harus hidup dan khususnya harus memiliki mikrosirkulasi fungsional. Faktor-faktor yang berperan dalam respon radang yaitu sel dan protein plasma dalam sirkulasi serta sel dinding pembuluh darah. Sel dalam sirkulasi adalah leukosit polimorfonuklear yang berasal dari sumsum tulang, eosinofil dan basofil; limfosit dan monosit (Kumar dkk, 2007). Limfosit umumnya berdiameter 7-20 μm . Pada peradangan sel limfosit muncul sebagai reseptor antigen yang pada kondisi tepat menginduksi suatu respon imunospesifik dan bereaksi dengan produk-produk respon tersebut. (Dorland, 2002).

Probiotik berasal dari bahasa Yunani yang berarti kehidupan. Probiotik merupakan makanan tambahan yang mengandung mikroorganisme hidup yang memberikan keuntungan bagi inang dengan meningkatkan keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan. Sumber probiotik dapat berupa bakteri yang berasal dari mikroorganisme saluran pencernaan hewan. Beberapa bakteri yang telah digunakan sebagai probiotik adalah *Lactobacillus* dan *Bacillus subtilis* (Winarsih dkk, 2007). Bakteri probiotik mampu menstimulasi sistem imun antara lain meningkatkan fungsi fagositosis makrofag, monosit dan neutrofil, serta mampu merangsang sekresi IgM (Fuller, 1997).. Probiotik juga memiliki kemampuan

memperbaiki keseimbangan mikroflora usus, sehingga dapat mempertahankan kesehatan *host* (Rouge' dkk., 2009)

Pengaruh probiotik terhadap rongga mulut antara lain probiotik dapat mengurangi inflamasi jaringan periodontal dengan cara memperkuat barier epitel mukosa dan menstimulasi repon imun didapat dan respon imun bawaan, probiotik dapat menekan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus* lainnya yang bersifat kariogenik dan probiotik mempunyai efek positif terhadap halitosis dan infeksi candida dalam rongga mulut (Stamatova & Meurman ,2009).

Berdasarkan permasalahan tersebut, maka peneliti ingin mengetahui lebih lanjut tentang pemberian probiotik terhadap jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida *E. coli*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, timbul suatu permasalahan yaitu apakah pemberian probiotik mempengaruhi jumlah sel limfosit pada tikus wistar setelah diinduksi lipopolisakarida *E. coli*?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pemberian probiotik terhadap jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida *E. coli*.

1.4 Manfaat

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai pemberian probiotik terhadap jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida *E. coli*.
2. Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai acuan bagi penelitian yang sejenis dan sebagai pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Probiotik

2.1.1 Definisi

Probiotik adalah biopreparasi yang mengandung sel hidup atau organisme alami yang mampu berkolonisasi dan sebagai bagian mikroflora dalam hewan, manusia serta menstimulir proses digestif dan imunitas. Jenis bakteri baik yang tergolong antara lain *Lactobacillus casei Shirota strain*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. rhamnosus*, *Bififobacterium lactis*. Probiotik akan berfungsi secara efektif bila dapat berinteraksi dengan inangnya atau tubuh manusia (Harti, 2009).

Bakteri probiotik yang pertama beredar di pasaran terdapat dalam bentuk beku atau kering beku sebagai *food supplement*. Pada tahun 1997 pasar produk yogurt probiotik mencapai 65% dan susu probiotik mencapai 23% dari total pangan fungsional yang dipasarkan. Akan tetapi, jumlah mikroorganisme hidup, berbeda dari satu produk dengan produk lainnya bergantung pada metode pengolahan dari tiap bahan tersebut (Harti, 2009).

Terdapat tiga karakteristik dari probiotik yang efektif, antara lain:

- a. meningkatkan resistensi kolonisasi bakteri patogen;
- b. mengaktifkan aktivitas metabolik yang berguna bagi kesehatan host
- c. menstimulasi respon imun host

Faktor penting lainnya bagi probiotik yang ideal adalah kemampuan mempertahankan viabilitasnya selama proses pencernaan, serta tidak adanya efek samping pada asam lambung dan sel epitel usus (Fuller, 1997).

Mekanisme kerja probiotik adalah pertama, dapat menghasilkan asam sehingga pH menjadi rendah. Keadaan ini tidak menguntungkan bagi

mikroorganisme patogen. Kedua, beberapa mikroba probiotik dapat menghasilkan bahan antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain yang tidak menguntungkan. Ketiga, mikroba probiotik dapat berkembang biak di dalam saluran pencernaan dan berkompetisi dengan mikroba patogen. Keempat, mikroba probiotik berkompetisi dengan mikroba patogen untuk berikatan dengan reseptor yang sama (Winarsih dkk, 2007).

2.1.2 *Lactobacillus*

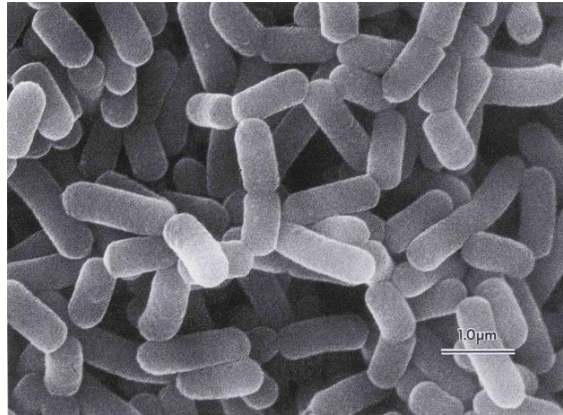
Lactobacillus adalah bakteri endogenous yang terdapat pada rongga mulut dan saluran pencernaan (Sugano dkk., 2007). Genus *Lactobacillus* merupakan kuman yang mampu memproduksi sejumlah asam laktat dari karbohidrat sederhana, dengan demikian menciptakan suasana asam yang mematikan kuman lain yang tidak berspora. Secara morfologik kuman ini berbentuk batang gram positif dan tidak bergerak (Staf pengajar FK UI, 1994). Jumlah *Lactobacillus* dalam rongga mulut kurang lebih 1%, dan beberapa studi menunjukkan bahwa *Lactobacillus* dapat menurunkan karies yang disebabkan oleh *Streptococcus mutans*. Selain itu, *Lactobacillus* dalam rongga mulut yang berasal dari jaringan periodontal, baik yang sehat maupun sakit menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap bakteri penyebab periodontitis seperti *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, dan *P. intermedia* (Sugano dkk., 2007).

penelitian Conway dan Wang yang menyebutkan bahwa pemberian probiotik yang mengandung *L. acidophilus* dan *L. salivarius* pada mencit dapat menstimulasi sistem pertahanan non-spesifik dan probiotik tersebut dapat meningkatkan kapasitas sel makrofag dan sel leukoit polimorfonuklear (PMN) (Winarsih, 2007).

Lactobacillus casei (*L. casei*) merupakan salah satu spesies bakteri asam laktat yang telah banyak dimanfaatkan sebagai probiotik. Keunggulan dari *L. casei* sebagai probiotik diantaranya:

1. Membantu aktifitas *Bifidobacteria* dan bakteri berguna lainnya
2. Menyerap bahan berbahaya dalam sistem pencernaan
3. Mempunyai efek antagonis dengan membunuh bakteri patogen

4. Mempunyai efek anti tumor
5. Mempunyai efek klinis dalam pengobatan berbagai penyakit (Widodo dkk, 2003).



Gambar 1 Bakteri *Lactobacillus casei* (Sumber: *anonym*, 2011)

2.1.3 Efek probiotik terhadap jaringan periodontal

Menurut Ahola terdapat 22 jenis *Lactobacillus sp.* yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri periodontopatogen rongga mulut (Deepa & Mehta, 2009). Penelitian *in vitro* menyebutkan bahwa *L. rhamnosus GG* efektif dalam mencegah kolonisasi bakteri kariogenik *Streptococcus sp.* sehingga dapat mengurangi insidensi karies dental pada anak (Krasse dkk., 2005).

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa probiotik *Lactobacillus sp.* sangat berguna dalam mengurangi inflamasi gingiva (gingivitis) dan sejumlah bakteri gram negatif, termasuk *P. gingivalis* pada saliva dan plak subgingiva (Vivekananda dkk., 2010). Bakteri probiotik pada umumnya dianggap aman dan dapat mendukung kesehatan jaringan periodontal, apabila mampu membangun biofilm dalam rongga mulut dan dapat menghambat pertumbuhan serta metabolisme bakteri patogen (Stamatova & Meurman, 2009).

Penelitian Krasse dkk. (2005) membuktikan adanya reduksi indeks bakteri plak gingiva yang signifikan pada pasien yang diterapi dengan *L. reuteri*

dibandingkan dengan kelompok kontrol. Probiotik efektif dalam mereduksi gingivitis dan deposisi bakteri plak pada pasien gingivitis tingkat sedang sampai parah. Sebagai kesimpulan, *L. reuteri* mungkin dapat menjadi alternatif yang berguna dalam meningkatkan kesehatan rongga mulut pada pasien gingivitis.

2.2 Radang

2.2.1 Definisi radang

Radang adalah reaksi vaskular yang menimbulkan pengiriman cairan, zat-zat yang terlarut, dan sel-sel dari sirkulasi darah ke jaringan-jaringan interstitial di daerah cedera atau nekrosis (Price & Wilson, 2006). Jaringan yang cedera akan melepaskan berbagai zat yang menimbulkan perubahan sekunder yang dramatis di sekeliling jaringan yang tidak cedera, oleh karena bakteri, trauma, bahan kimia, panas atau fenomena lainnya. Keseluruhan kompleks perubahan jaringan ini disebut peradangan (Guyton & Hall, 2008).

Radang melaksanakan tugas pertahanannya dengan mengencerkan, menghancurkan atau menetralkan agen penyebab jejas. Radang kemudian menggerakkan berbagai kejadian yang akhirnya menyembuhkan dan menyusun kembali tempat terjadinya jejas (Kumar dkk, 2007).

Peradangan ditandai dengan:

1. Vasodilatasi pembuluh darah lokal yang mengakibatkan terjadinya aliran darah setempat yang berlebihan
2. Peningkatan permeabilitas kapiler, memungkinkan kebocoran banyak sekali cairan ke dalam ruang interstitial
3. Sering kali terjadi pembekuan cairan di dalam ruang interstitial yang disebabkan oleh fibrinogen dan protein lainnya yang bocor dari kapiler dalam jumlah besar
4. Migrasi sejumlah besar granulosit dan monosit ke dalam jaringan, dan
5. Pembengkakan sel jaringan (Guyton & Hall, 2008)

2.2.2 Proses terjadinya radang

Pada proses awal radang, terjadi dilatasi arteriol lokal yang didahului vasokonstriksi singkat. Peningkatan permeabilitas vaskuler tersebut disertai keluarnya protein plasma dan sel-sel darah putih kedalam jaringan disebut eksudasi dan merupakan gambaran utama reaksi radang akut. Kemudian sel-sel darah putih menelan bahan yang bersifat asing, termasuk bakteri dan debris sel-sel nekrosis dan enzim lisosom yang terdapat di dalamnya membantu pertahanan tubuh (Kumar dkk, 2007)

Proses radang merupakan suatu proses yang kompleks melibatkan berbagai macam sel, misalnya dalam beberapa jam sel-sel leukosit yang berfungsi sebagai sel pertahanan tubuh menempel ke sel endotel pembuluh darah di daerah radang dan bermigrasi melewati dinding kapiler masuk ke rongga jaringan yang disebut extravasasi, dan keluarnya berbagai faktor plasma seperti immunoglobulin, komplemen, sistem aktivasi kontak koagulasi fibrinolitik. Sel leukosit seperti neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit, monosit yang berinteraksi satu sama lain dalam proses radang. Sel sistem imun nonspesifik seperti neutrofil, basofil, eosinofil, dan monosit ini diproduksi dan disimpan di sumsum tulang dan diedarkan di dalam darah. Pada keadaan normal, leukosit hanya sedikit melekat pada sel endotel, tetapi pada radang adhesi antara leukosit dan sel endotel ini sangat ditingkatkan sehingga meningkatnya sel mediator radang ke dalam jaringan (Mansjoer , 1999).

2.2.3 Macam radang

a. Radang akut

Radang akut merupakan respons segera dan dini terhadap jenis yang dirancang untuk mengirimkan leukosit ke tempat jejas. Sesampainya di tempat jejas, leukosit membersihkan setiap mikroba yang menginvasi dan memulai proses penguraian jaringan nekrotik. Proses ini memiliki dua komponen utama, yaitu:

- 1) Perubahan vaskular : perubahan dalam kapiler pembuluh darah yang mengakibatkan peningkatan aliran darah (vasodilatasi) dan perubahan

struktural yang memungkinkan protein plasma untuk meningkatkan sirkulasi (peningkatan permeabilitas vaskular)

- 2) Berbagai kejadian yang terjadi pada sel : emigrasi leukosit dari mikrosirkulasi dan akumulasinya di fokus jejas (Kumar dkk, 2007).

Gambaran makroskopik peradangan digambarkan pada 2000 tahun lalu dan masih dikenal sebagai tanda-tanda pokok peradangan yang mencakup kemerahan (rubor), panas (kalor), nyeri (dolor) dan pembengkakan (tumor). Pada abad terakhir ditambahkan tanda pokok yang kelima adalah perubahan fungsi (fungsiolaesa). Jadi gambaran makroskopik peradangan ada 5 yaitu :

- a) Rubor (kemerahan)

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

- b) Kalor (panas)

Kalor atau panas terjadi bersamaan dengan kemerahan pada reaksi peradangan akut. Sebenarnya panas secara khas hanya merupakan reaksi peradangan yang terjadi pada permukaan tubuh, yang secara normal lebih dingin dari 37 °C yang merupakan suhu inti tubuh. Daerah peradangan di kulit menjadi lebih hangat dari sekelilingnya karena lebih banyak darah (pada suhu 37°C) dialirkan dari dalam tubuh ke permukaan daerah yang terkena dibandingkan dengan ke daerah yang normal. Fenomena hangat lokal ini tidak terlihat di daerah-daerah meradang yang terletak jauh di

dalam tubuh, karena jaringan-jaringan tersebut sudah memiliki suhu inti 37°C dan hiperemia lokal tidak menimbulkan perbedaan.

c) Dolor (nyeri)

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

d) Tumor (pembengkakan)

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

e) Fungsi laesa (perubahan fungsi)

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

Pada proses radang akut terjadi produksi dan pelepasan berbagai macam mediator kimia. Mediator-mediator yang secara kimiawi aktif itu harus dilepaskan secara lokal agar berperan pada pemisahan sel-sel endotel dan perubahan permeabilitas. Berbagai zat termasuk histamin, plasma kinin dan prostaglandin sudah

diidentifikasi sebagai mediator peradangan akut (Price & Wilson, 2006). Meskipun jenis pengaruh jejas bermacam-macam dan jaringan yang menyertai radang berbeda, tetapi mediator yang dilepaskan sama. Jadi infeksi yang disebabkan kuman, jejas listrik atau bahan kimia dan trauma mekanik semua akan memberi reaksi radang segera yang sama. Radang akut dapat terbatas hanya pada tempat jejas dan menimbulkan tanda-tanda dan gejala sistemik, maupun mengikutsertakan pertahanan tubuh sekunder seperti jaringan limfoid (Kumar dkk, 2007).

b. Radang kronik

Radang kronik disebabkan oleh rangsangan yang menetap, seringkali selama berminggu-minggu hingga berbulan-bulan, bahkan bertahun-tahun dan terjadi inflamasi aktif, jejas jaringan dan penyembuhan secara serentak. Radang kronik ditandai dengan hal-hal berikut:

1. Infiltrasi sel mononuclear (radang kronik) yang mencakup makrofag, limfosit dan sel plasma
2. Destruksi jaringan, sebagian besar diatur oleh sel radang
3. *Repair* (perbaikan) melibatkan proliferasi pembuluh darah baru (angiogenesis) dan fibrosis (Kumar dkk, 2007).

2.3 Limfosit

2.3.1 Definisi

Limfosit merupakan suatu famili sel yang berbentuk sferis dengan karakteristik morfologi yang sama. Limfosit dapat diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok berdasarkan molekul-molekul permukaan yang mencolok, yang dapat dikenali dengan metode imunositokimia. Limfosit juga mempunyai beberapa peranan fungsional dan semuanya berhubungan dengan reaksi imun dalam pertahanan terhadap serangan mikroorganisme, makro-molekul asing dan sel kanker (Junqueira & Carneiro, 2007). Limfosit adalah leukosit berinti satu dalam darah perifer. Jumlah limfosit berkisar 20-30% dari sel darah putih yang beredar. Pada sediaan darah, limfosit berupa sel bulat kecil berdiameter 7-12 μm dengan nukleus berlekuk yang

terpulas gelap dan sedikit sitoplasma biru terang. Tidak ada granul spesifik tetapi mungkin sedikit granul azurofil. Di bawah mikroskop elektron terlihat memiliki kompleks golgi, sepasang sentriol dan mitokondria. Reticulum endoplasma tidak ada, namun terdapat banyak ribosom bebas dalam sitoplasma (Fawcett, 2002).

Limfosit memiliki rentang usia sekitar 100 sampai 300 hari. Selama periode ini, sebagian besar dari sel ini secara kontinu beredar di antara jaringan limfoid, limfe, dan darah dengan menghabiskan waktu beberapa jam saja di dalam darah. Dengan demikian, hanya sebagian kecil limfosit total yang transit di daerah dalam setiap waktu tertentu (Sherwood, 2001).

Limfosit paling banyak ditemukan dalam nodus limfe, namun juga dijumpai dalam jaringan limfoid khususnya, seperti limpa, daerah submukosa saluran cerna, timus dan sumsum tulang. Jaringan limfoid tersebar di lokasi-lokasi yang sangat menguntungkan di dalam tubuh untuk menahan invasi organisme atau toksin sebelum dapat menyebar luas (Guyton & Hall, 2008).

2.3.2 Jenis Limfosit

Berdasarkan sifat fungsionalnya limfosit kecil digolongkan dalam dua kelompok besar, yaitu:

1. Limfosit T

Sel T timbul dari limfosit yang memerlukan maturasi dalam timus dan membentuk beberapa subkelas dengan fungsi spesifik. Kemudian berdiferensiasi menjadi sel T dewasa dan meninggalkan timus. Sel T yang telah matur menyebar ke seluruh tubuh melalui darah untuk mengisi jaringan limfoid ke setiap tempat. Sel T merupakan 65-75% dari limfosit darah. Sel ini berasal dari sumsum tulang dan bermigrasi ke timus, tempat sel T berproliferasi dan dibawa darah ke jaringan limfoid lain (Junqueira & Carneiro, 2007; Guyton & Hall, 2008). Terdapat tiga subpopulasi sel T, bergantung pada peran mereka setelah diaktifkan oleh antigen:

- a) Sel T sitotoksik, yang menghancurkan sel pejamu yang memiliki antigen asing, misalnya sel tubuh yang dimasuki oleh virus, sel kanker dan sel

cangkakan. Sasaran sel T sitotoksik yang paling sering adalah pejamu yang sudah terinfeksi virus.

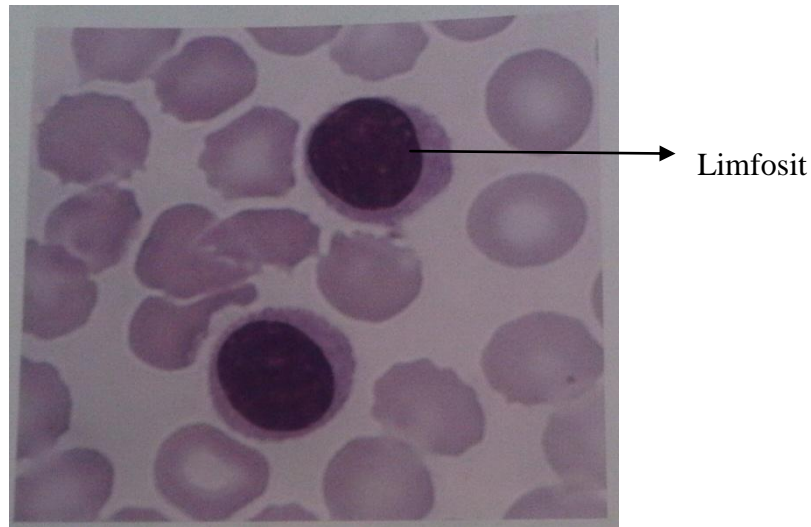
- b) Sel T penolong, yang meningkatkan perkembangan sel B aktif menjadi sel plasma, memperkuat aktivasi sel T sitotoksik dan sel T penekan (supresor) yang sesuai dan mengaktifkan makrofag. Sel T penolong meningkatkan banyak aspek respon imun, terutama melalui sekresi limfokin.
- c) Sel T penekan, yang menekan produksi antibodi sel B dan aktivasi sel T sitotoksik dan penolong (Sherwood, 2001).

2. Limfosit B

Limfosit B pertama kali ditemukan pada burung, tempat proses pematangannya berlangsung di jaringan limfoid terkait usus yang khas untuk burung yaitu bursa Fabricius; dari sinilah berasal nama limfosit B. Tempat pematangan dan diferensiasi sel B pada manusia masih belum jelas, walaupun secara umum diperkirakan berlangsung di sumsum tulang (Sherwood, 2001). Limfosit B terbentuk dan menjadi matang dalam sumsum tulang dan dibawa darah ke struktur limfoid sekunder, sel ini berproliferasi, bila teraktifkan dan berdiferensiasi menjadi sel plasma. Sel B merupakan 5-10% dari limfosit darah yang beredar pada manusia; masing-masing ditutupi 150.000 molekul IgM yang merupakan reseptor untuk antigen khusus. Beberapa sel aktif tidak menjadi sel plasma; sebagai gantinya, sel tersebut menjadi sel B memori yang bereaksi cepat pada paparan kedua terhadap antigen yang sama (Junqueira & Carneiro, 2007).

Limfosit B bertugas bila tubuh terpapar oleh benda asing dan mempunyai kemampuan untuk mengeluarkan antibodi spesifik (*humoral immunity*). Sebelum terpajan antigen yang spesifik, limfosit B dalam keadaan dormant (tidur). Kemudian bila ada antigen asing yang masuk, makrofag dalam jaringan limfoid akan memfagositosis antigen kemudian membawanya ke limfosit B terdekatnya. Limfosit B yang bersifat spesifik terhadap antigen akan membesar membentuk gambaran limfoblas, yang kemudian berdiferensiasi membentuk plasmablas, yang merupakan

prekursor sel plasma. Sel plasma yang matang kemudian menghasilkan antibodi gamma globulin. Antibodi ini masuk ke dalam cairan limfe dan diangkut darah sirkulasi (Sherwood, 2001).



Gambar 2 Sel limfosit (Sumber: Junqueira & Carneiro, 2007)

2.4 Lipopolisakarida

Lipopolisakarida (LPS) merupakan sebuah molekul berukuran besar yang mengandung lipid dan karbohidrat. Lipopolisakarida merupakan suprastuktur utama bakteri gram negatif dalam melindungi bakteri dari pemahaman imunitas host (Murray & Wilton, 2003). Lipopolisakarida (LPS) disebut juga dengan *endotoxin*, yaitu sebuah molekul berukuran besar yang mengandung lipid dan karbohidrat. LPS dapat dideteksi pada plak gigi dan permukaan akar gigi (Amin dkk, 2010).

Lipopolisakarida melekat pada membran luar melalui ikatan hidrofolik. Kehadiran lipopolisakarida dibutuhkan untuk fungsi banyak protein pada membran luar. Lipopolisakarida pada dinding gram negatif tersusun atas lipid A, inti polisakarida dan antigen O. Lipid A tersusun atas disakarida yang padanya melekat sejumlah rantai panjang asam lemak. Inti polisakarida mengandung gula (seperti: KDO, *keto-deoxyoctulonate*, dan *heptulose*) (Jawetz dkk, 2007).

Induksi lipopolisakarida pada masa erupsi gigi menunjukkan adanya deteksi osteoporosin (OPN) yang sangat kuat pada tulang alveolar terutama pada awal erupsi. Osteoporosin merupakan glikoprotein terfosforilasi, yang biasa disebut sebagai *bone sialoprotein I* atau *secreted phosphoprotein I* (SPPI). Bahan ini menyebabkan kemotaksis osteoklas ke daerah resorpsi tulang, sehingga terjadi peningkatan osteoklas di tulang alveolar dan mengakibatkan erupsi prematur (Indahyani dkk, 2007)

Efek patofisiologi lipopolisakarida adalah sama, apapun bakterinya kecuali untuk spesies bakteriosid, yang mempunyai struktur berbeda dan bersifat kurang toksik. Lipopolisakarida dalam aliran darah awalnya berikatan dengan protein dalam sirkulasi yang kemudian berinteraksi dengan protein dalam sirkulasi yang kemudian berinteraksi dengan reseptor pada makrofag dan monosit serta sel-sel lain dalam sistem retikuloendotelial, IL-1, TNF dan sitokin lain dilepaskan. Lipopolisakarida menyebabkan trombosit menempel pada endotel vaskular dan menyumbat pembuluh darah kecil yang menyebabkan nekrosis hemoragik atau iskemik pada berbagai organ (Jawetz dkk, 2007).

2.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah pemberian probiotik akan meningkatkan jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida *E.coli*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris. Dipilih jenis ini karena baik pada sampel maupun perlakuan lebih terkontrol, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya (Notoadmodjo, 2010).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah desain *post test only control group design* (Notoadmodjo, 2010).

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada bulan Juni-September 2011.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi Penelitian

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

3.4.2 Sampel Penelitian

1. Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 8 ekor tikus tiap kelompok perlakuan.

Adapun besar sampel didapat dari perhitungan rumus (steel & Torrie, 1995).

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

Keterangan:

n = jumlah sampel minimal

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

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

α = tingkat signifikansi (0,05)

β = 0,20

$\sigma^2_D/\delta^2 = 1 \rightarrow$ diasumsikan $\sigma^2_D = \delta^2$

maka, hasil perhitungan sampel minimal adalah sebagai berikut:

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

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

2. Kriteria Sampel Penelitian

Pemilihan sampel penelitian menggunakan teknik *purposive sampling*, yaitu sampel dipilih berdasarkan berbagai pertimbangan dari peneliti dengan kriteria-kriteria tertentu yang diterapkan berdasarkan tujuan penelitian.

Adapun kriteria sampel, antara lain:

- 1). Jenis wistar
- 2). Kondisi fisik sehat dan tidak mengalami kelainan
- 3). Jenis kelamin jantan
- 4). Umur 3 bulan dan berat badan 170-200 gram
- 5). Pakan yang sesuai dan seragam.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah:

- a. Pemberian Probiotik
- b. Induksi LPS

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel limfosit

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah:

- a. Hewan coba
- b. Prosedur penelitian

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Probiotik

Bakteri probiotik yang digunakan adalah *L. casei* ATCC 4224, dimana diaplikasikan pada hewan coba dengan cara disuntikkan pada sulkus gingiva gigi insisif pertama kanan rahang bawah bagian labial, dengan dosis 2×10^8 sel/ml dan menggunakan jarum insulin 30 G sebanyak 0,02 ml.

3.6.2 LPS

LPS yang digunakan berasal dari *E. coli* (Sigma), dimana diaplikasikan pada hewan coba dengan cara disuntikkan pada sulkus gingiva gigi insisif pertama kanan rahang bawah bagian labial, dengan dosis $5 \mu\text{g}/0,05$ ml PBS dan menggunakan jarum insulin 30 G sebanyak 0,02 ml.

3.6.3 Jumlah Sel Limfosit

Limfosit adalah leukosit mononuclear dalam darah perifer yang intinya berwarna gelap, mengandung kromatin tebal dan sitoplasma yang berwarna biru pucat.

Jumlah sel limfosit pada gingiva adalah banyaknya pembentukan sel limfosit gingiva setelah perlakuan secara histologis pada limfosit ini dengan mengamati limfosit secara umum menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x.

3.7 Bahan dan Alat Penelitian

3.7.1 Bahan Penelitian :

1. Tikus wistar jantan
2. LPS *E. coli* (Sigma)
3. Probiotik *L. casei*
4. Media Cair *Monitol Rogosa Salt Broth (MRS-B)*
5. Media Agar *Monitol Rogosa Salt Agar (MRS-A)*
6. Ketamin (KTM 1000)
7. *Phosphate Buffer Saline*
8. Eter
9. Formalin 10%
10. EDTA 10%
11. *Ammonium Hydroxide* 5%
12. *Ammonium Oxalate* 5%
13. Alkohol 70%, 80%, 95%, 100%
14. Xylol
15. Gliserin
16. *Meyer Egg Albumin*
17. *Embedding Paraffin* (Paraplast Plus)
18. *Dry Ice* (VWR International)
19. *Haematoksilin Eosin*
20. *Entellan*
21. Aquades steril
22. Spiritus
23. Kapas steril

24. Kertas saring (Whatmann filter paper No.1)
25. Minuman dan makanan standar tikus wistar (Feedmill-Malindo, Gresik).

3.7.2 Alat Penelitian :

1. Kandang pemeliharaan hewan coba
2. Kandang perlakuan hewan coba
3. Tempat makan dan minum hewan coba
4. Jarum insulin 30G (Terumo, Jepang)
5. Tabung reaksi (Pyrex)
6. Petridish tidak bersekat
7. Neraca (Ohaus, Jerman)
8. Inkubator (Binder, Jerman)
9. *Autoclave*
10. *Laminar Flow*
11. Gelas Ukur
12. *Erlenmeyer* (Pyrex)
13. *Beaker Glass*
14. Pengaduk
15. Ose
16. Lampu spiritus
17. *Cutter*
18. *Refrigerator*
19. Gunting bedah
20. Pinset
21. Botol untuk dekalsifikasi
22. *Vibrator* (Vortex)
23. Stopwatch (Diamond, Cina)
24. Besi bentuk L untuk alat cetak blok paraffin
25. Kompor
26. Panci

27. Mikrotom (Leica RM 2135)
28. *Microtom Blade System* (Tissue-Tek, Jepang)
29. *Block holder* mikrotom
30. *Waterbath* (Memmert)
31. *Hot Plate* (Labinco B.V., Belanda)
32. Oven (Memmert)
33. Kuas kecil
34. Mikroskop cahaya (Olympus)
35. *Obyek glass* (Citoplus)
36. *Deck glass*
37. Sarung tangan (Latex)
38. Masker

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Ethical Clearence

Sebelum dilakukan penelitian, maka hewan coba dan prosedur penelitian dilakukan pengurusan *ethical clearance* di Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.

3.8.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan dilakukan aklimatisasi selama seminggu sebelum diberi perlakuan untuk adaptasi tikus dengan tempat dan makanan.

3.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

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

- a. Kelompok I (8 ekor) merupakan kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan
- b. Kelompok II (8 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi LPS dan tidak diberi suntikan probiotik selama 5 hari
- c. Kelompok III (8 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi LPS serta diberikan suntikan bakteri probiotik bersama-sama mulai awal selama 5 hari

- d. Kelompok IV (8 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi LPS selama 5 hari kemudian dilanjutkan dengan suntikan bakteri probiotik selama 5 hari berikutnya.

3.8.4 Persiapan Bahan Perlakuan

Bahan yang dipakai pada kelompok perlakuan terdiri dari LPS *E. coli* (Sigma) yang dipakai untuk menginduksi dan menghasilkan infeksi pada jaringan periodontal. Bakteri probiotik yang digunakan adalah *L. Casei* ATCC 4224, dimana bakteri tersebut adalah bakteri probiotik yang sudah jadi.

a. Pembuatan Sediaan LPS

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

b. Pembuatan Sediaan Bakteri Probiotik *L. casei*

1) Pembuatan Media Cair *Monitol Rogosa Salt Broth* (MRS-B)

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

2) Pembuatan Media Agar *Monitol Rogosa Salt Agar* (MRS-A)

Pembuatan larutan *MRS-Agar* adalah dengan menimbang 6,62 gram *MRS-Agar* menggunakan neraca dan mengukur 100 ml aquades steril dengan gelas ukur. Kedua bahan tersebut dicampur dalam *erlenmeyer*, kemudian dipanaskan di atas kompor listrik sampai mendidih sambil diaduk dengan pengaduk agar homogen. Setelah itu, media disterilkan dalam *autoclave* dengan

suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian ditunggu sampai media tersebut dingin dan mengeras.

3) Suspensi

Indukan bakteri *L. casei* ATCC 4224 dikultur untuk keperluan perlakuan. Inokulasikan swap berisi bakteri yang sebelumnya diambil dari media cair *MRS-Broth* ke media agar *MRS-A* dengan menekan dan memutar, lalu membuat area melingkar dengan diameter sekitar 25 mm. Gunakan ose steril untuk menggores area yang telah diinokulasi sekitar 10 sampai 20 kali dan goresan ini untuk memudahkan penyebaran isolasi koloni. Kemudian dibuat suspensi ke dalam tabung reaksi sebanyak 2 ml yang diambil menggunakan ose steril dari media agar.

3.9 Prosedur Perlakuan

3.9.1 Pembedahan Hewan Coba

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

3.9.2 Aplikasi Bahan Perlakuan

- a. Infeksi pada jaringan periodontal dilakukan dengan induksi LPS *E. coli* (Sigma). LPS disuntikkan pada sulkus gingiva gigi insisif pertama kanan rahang bawah bagian labial sebanyak 0,02 ml, diberikan 1 kali sehari selama 5 hari.
- b. Pemberian bakteri probiotik dilakukan dengan menyuntikkan pada daerah yang sama seperti pada saat induksi LPS. Dosis yang dipakai adalah 0,02 ml, diberikan 1 kali sehari selama 5 hari. Pemberian bakteri probiotik ini dilakukan dengan dua cara, yaitu: untuk Kelompok III diberikan secara bersamaan dengan LPS, sedangkan untuk Kelompok IV diberikan setelah induksi LPS selama 5 hari dalam jangka waktu 5 hari.

3.9.3 Pengambilan Sampel Penelitian

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

3.9.4 Dekalsifikasi Sampel Penelitian

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

- (1) Sampel yang sudah difiksasi dicuci dengan air bersih yang mengalir pelan selama minimal 30 menit
- (2) Dimasukkan pada larutan EDTA yang sudah ada dan dilakukan vibrasi 2x agar proses dekalsifikasi merata
- (3) Untuk mengetahui proses dekalsifikasi sudah lengkap/selesai dilakukan pengetesan dengan cara mengambil 5 ml larutan yang digunakan untuk dekalsifikasi bahan dan dicampur dengan 5 ml campuran *Ammonium Hydroxide* 5%/ *Ammonium Oxalate* 5% (volumenya seimbang). Bahan tersebut dicampur hingga merata dan ditunggu semalaman. Bila tidak ada presipitat, maka proses dekalsifikasi sudah lengkap. Cara ini diulang dalam 3 hari sekali
- (4) Sampel yang sudah terdekalsifikasi lengkap dibersihkan dengan air mengalir dan segera ditransfer pada larutan ammonia selama 30 menit (*ammonia concentrated* 5 tetes dalam 100 ml *distilled water*) dengan tujuan untuk menghilangkan larutan dekalsifikasi yang tersisa
- (5) Setelah itu dicuci dengan air mengalir selama 24 jam.

3.9.5 Pemrosesan Jaringan

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

(1) Dehidrasi

Dehidrasi merupakan penarikan air dari dalam jaringan dengan menggunakan konsentrasi rendah ke tinggi (bertingkat). Tahapan dehidrasi antara lain:

- (1) Alkohol 70% : 15 menit
- (2) Alkohol 80% : 1 jam
- (3) Alkohol 95% : 2 jam
- (4) Alkohol 95% : 1 jam
- (5) Alkohol 100% : 1 jam
- (6) Alkohol 100% : 1 jam
- (7) Alkohol 100% : 1 jam

(2) *Clearing*

Clearing merupakan proses penjernihan jaringan menggunakan bahan-bahan *clearing*. Bahan-bahan yang dapat digunakan antara lain: xylol, toluen, dan benzen. Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember menggunakan xylol. Tahapan *clearing* antara lain:

- (1) Xylol : 1 jam
- (2) Xylol : 2 jam
- (3) Xylol : 2 jam

(3) Impregnasi

Impregnasi merupakan proses infiltrasi bahan *embedding* ke dalam jaringan pada suhu 56⁰-60⁰C. Caranya yaitu jaringan dibungkus dengan kertas saring yang sudah diberi label untuk menghindari kekeliruan identitas sampel. Kemudian dimasukkan ke dalam bahan *embedding* yaitu paraffin TD 56⁰-60⁰C. Tahapan impregnasi antara lain:

- (1) Paraffin (56⁰-58⁰C) : 2 jam
- (2) Paraffin (56⁰-58⁰C) : 2 jam
- (3) Paraffin (56⁰-58⁰C) : 2 jam

(4) *Embedding*

Embedding merupakan proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding*. Bahan-bahan yang dapat digunakan untuk menanam jaringan antara lain: paraffin, *cellulose*, dan *tissue text*. Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember menggunakan paraffin TD 56⁰-60⁰C.

(5) Penyayatan

Sebelum dilakukan penyayatan jaringan, sebelumnya dilakukan beberapa persiapan, antara lain:

- a. Mengolesi *obyek glass* dengan *meyer egg albumin*
- b. Menempelkan blok paraffin pada *block holder* mikrotom dengan bantuan pemanasan

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

- (1) Penyayatan menggunakan mikrotom, dimana sebelumnya pisau mikrotom dibersihkan dengan kasa/kertas saring yang telah dibasahi dengan xylol dengan arah tegak lurus
- (2) Mengatur ketebalan sayatan mikrotom sebesar 6 mm dengan arah buko-lingual
- (3) Mengambil sayatan yang telah diperoleh dengan kuas lalu letakkan di atas permukaan air *waterbath* dengan temperatur tetap 56⁰-60⁰C hingga sayatan mekar
- (4) Mengambil sayatan yang telah mekar dengan *obyek glass* yang telah diolesi dengan *meyer egg albumin*, dikeringkan di atas *hot plate*, kemudian dimasukkan dalam oven dengan suhu sekitar 30⁰-35⁰C minimal selama 12 jam (Syafriadi, dkk., 2008)

3.9.6 Pengecatan *Haematoksilin Eosin* (HE)

Pengecatan HE digunakan untuk melihat jumlah sel limfosit. Teknik pengecatan HE yang dilakukan adalah sesuai standar rutin Laboratorium Histologi

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Metode pengecatan *Haematoksilin Eosin* secara progresif antara lain:

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

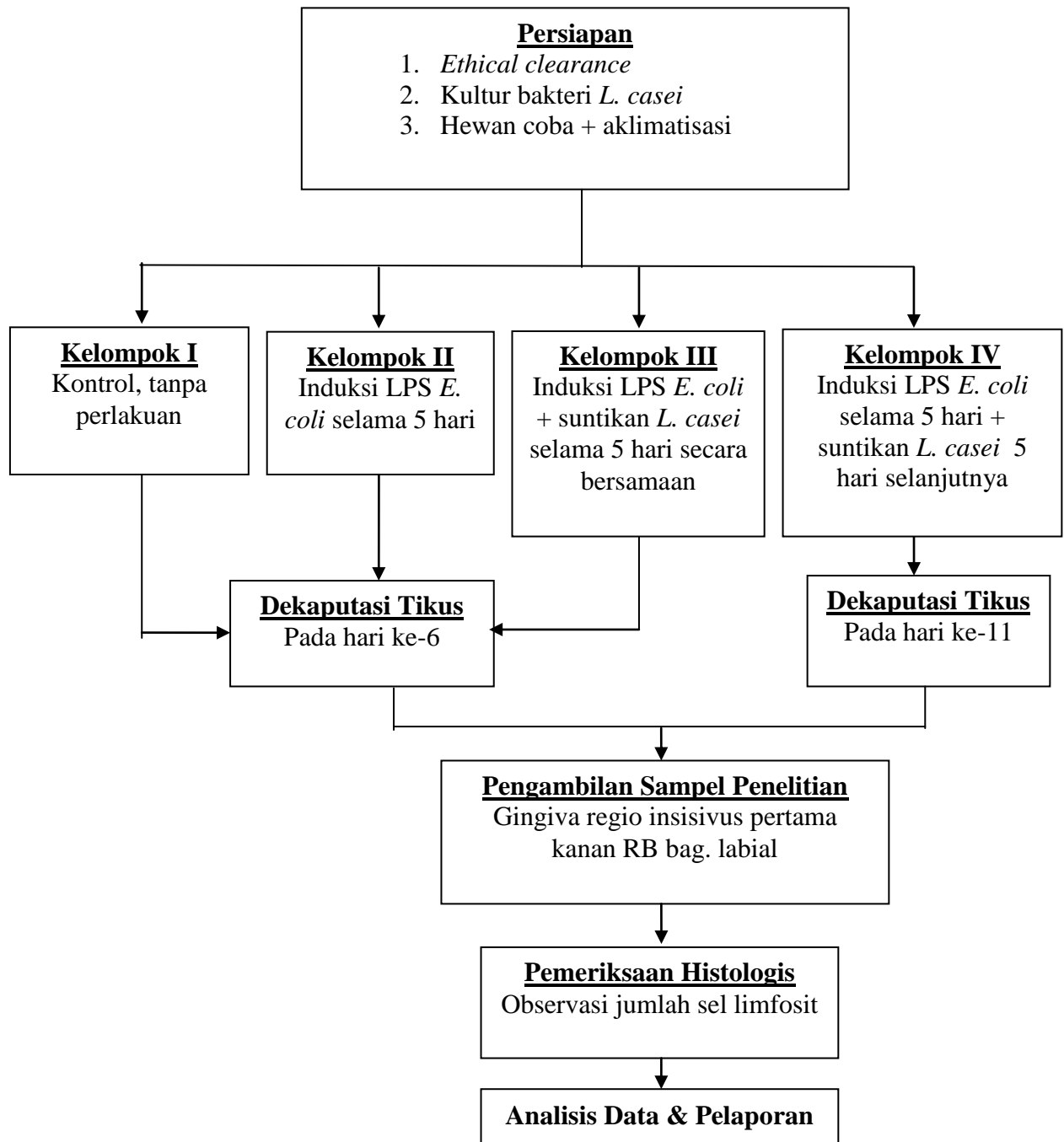
Sedangkan hasil pengecatan yang didapatkan antara lain: inti sel (biru), eritrosit (merah), sitoplasma (merah), dan otot (merah). Jumlah sel limfosit dihitung dengan bantuan mikroskop cahaya pada 5 *slide* dari masing-masing ulangan (Syafriadi, dkk, 2008)

3.10 Analisis Data

Data hasil penelitian ini diuji normalitasnya dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan diuji homogenitasnya dengan uji *Levene*. Hasil menunjukkan data terdistribusi

normal ($p > 0,05$) dan tidak homogen ($p < 0,05$), kemudian dianalisis dengan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis* ($p < 0,05$), dan dilanjutkan dengan uji statistik *Mann-Whitney* ($p < 0,05$).

3.11 Bagan Alur Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Alur Penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil dan Analisis Data

4.1.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian probiotik terhadap jumlah sel limfosit gingival tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida (LPS) *E. coli*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni – September 2011. Didapatkan data seperti tabel 4.1

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

Tabel 4.1 Hasil perhitungan rerata jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan.

No	Kelompok Perlakuan	Jumlah (N)	Rata-Rata (\bar{x})	Std. Deviasi (SD)
1	I	8	5.19	0.57
2	II	8	7.04	2.28
3	III	8	8.01	0.91
4	IV	8	8.07	2.04

Keterangan :

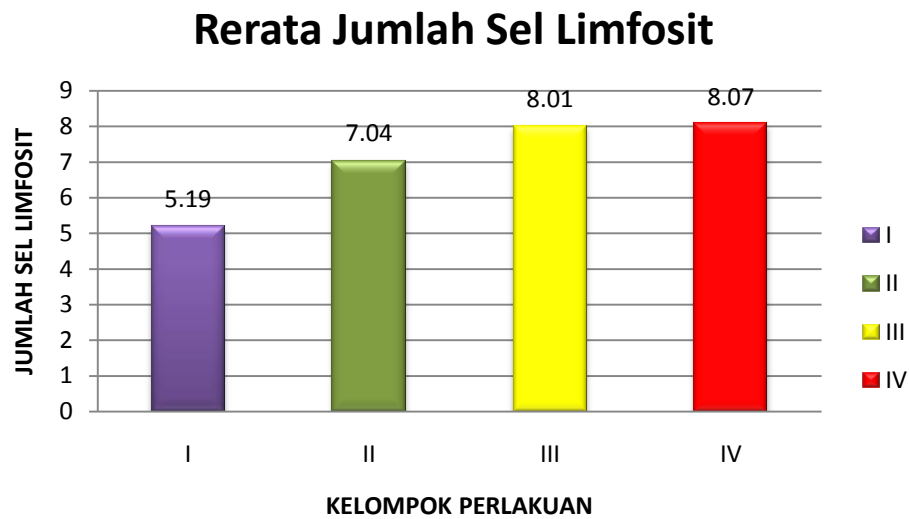
Kelompok I : Kontrol

Kelompok II : Induksi LPS

Kelompok III : Induksi LPS dan *L. casei* secara bersamaan selama 5 hari

Kelompok IV : Induksi LPS selama 5 hari dilanjutkan *L. casei* 5 hari berikutnya

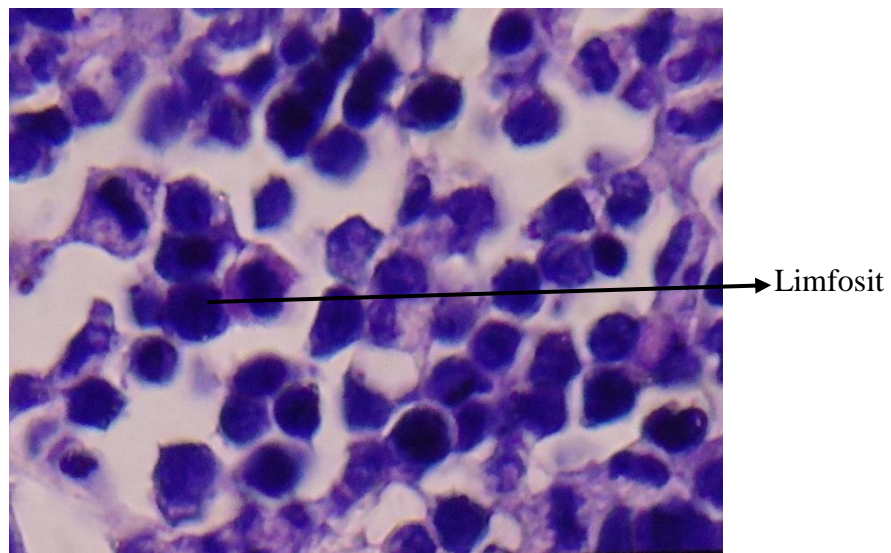
Tabel 4.1 menunjukkan bahwa jumlah sel limfosit terendah adalah pada kelompok I sebesar 5,19 sel, kemudian perlakuan kelompok II sebesar 7,04 sel, sedangkan pada kelompok III sebesar 8,01 sel dan kelompok IV memiliki jumlah sel limfosit terbanyak sebesar 8,07 sel. Untuk jelasnya dapat dilihat pada gambar 4.1



Keterangan : (I) kelompok I kontrol; (II) kelompok II induksi lipopolisakarida selama 5 hari; (III) kelompok III induksi lipopolisakarida dan *L. casei* secara bersamaan selama 5 hari; (IV) kelompok IV induksi lipopolisakarida selama 5 hari dilanjutkan *L. casei* 5 hari berikutnya.

Gambar 4.1 Grafik batang rerata jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan.

Secara mikroskopis gambaran histologi dari sel limfosit dilihat pada gambar berikut



Gambar 4.2 Gambaran histologi sel limfosit dengan pembesaran 1000x

4.1.2 Analisis Data

Data yang telah diperoleh selanjutnya di uji normalitasnya dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov*. Rangkuman hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Rangkuman hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan.

No	Kelompok Perlakuan	Sig
1	I	0.997
2	II	0.571
3	III	0.948
4	IV	0.830

Keterangan :

Kelompok I : Kontrol

Kelompok II : Induksi lipopolisakarida

Kelompok III : Induksi lipopolisakarida dan *L. casei* secara bersamaan selama 5 hari

Kelompok IV : Induksi lipopolisakarida selama 5 hari dilanjutkan *L. casei* 5 hari berikutnya

Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan probabilitas untuk semua kelompok perlakuan adalah lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$). Nilai tersebut mempunyai arti bahwa semua data terdistribusi normal.

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

Tabel 4.3 Rangkuman hasil uji homogenitas *Levene* jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan.

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9,516	3	28	0,000

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa nilai signifikansi sebesar 0.00 yang lebih kecil daripada nilai $\alpha=0.05$ yang ditetapkan. Berarti keempat kelompok perlakuan terhadap jumlah sel limfosit gingiva tidak identik atau memiliki varians yang tidak sama.

Data yang diperoleh adalah normal dan tidak homogen, maka selanjutnya dilakukan uji non parametrik, yaitu uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui perbedaan probiotik terhadap jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida *E. coli*. Rangkuman hasil analisis uji *Kruskal-Wallis* tercantum pada tabel 4.4

Tabel 4.4 Rangkuman hasil uji *Kruskal-Wallis* terhadap rerata jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan.

	data
Chi-Square	11.609
Df	3
Asymp. Sig.	.009

Hasil dari uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan angka probabilitas sebesar 0,009. Angka probabilitas yang lebih kecil daripada 0,05 ($p<0,05$) mempunyai arti adanya perbedaan yang bermakna terhadap rerata jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan pada semua kelompok.

Untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan bermakna selanjutnya dilakukan uji beda *Mann-Whitney* dengan tingkat kepercayaan 95%. Rangkuman hasil uji *Mann-Whitney* ditunjukkan pada tabel 4.5

Tabel 4.5 Rangkuman hasil uji *Mann-Whitney* terhadap rerata jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan.

Perlakuan	I	II	III	IV
I	-	0.225	0.01*	0.01*
II	0.225	-	0.792	0.400
III	0.01*	0.792	-	0.599
IV	0.01*	0.400	0.599	-

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

Kelompok I : Kontrol

Kelompok II : Induksi lipopolisakarida

Kelompok III : Induksi lipopolisakarida dan *L. casei* secara bersamaan selama 5 hari

Kelompok IV : Induksi lipopolisakarida selama 5 hari dilanjutkan *L. casei* 5 hari berikutnya

Hasil dari uji *Mann-Whitney* antara kelompok I dan III, I dan IV menunjukkan probabilitas antar kelompok perlakuan kurang dari 0,05 ($p < 0,05$), artinya terdapat perbedaan signifikan rerata jumlah sel limfosit. Akan tetapi, pada kelompok I dan II menunjukkan probabilitas sebesar 0,225 ($p > 0,05$), pada kelompok II dan III menunjukkan probabilitas sebesar 0,792 ($p > 0,05$), kemudian pada kelompok II dan IV menunjukkan probabilitas sebesar 0,400 ($p > 0,05$), serta pada kelompok III dan IV menunjukkan probabilitas sebesar 0,599 artinya tidak terdapat perbedaan signifikan rerata jumlah sel limfosit pada kelompok tersebut.

4.2 Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh pemberian probiotik terhadap jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida (LPS) *E. coli*.

Hasil yang didapatkan pada kelompok I memiliki jumlah sel limfosit paling kecil daripada kelompok yang lain. Kelompok II (induksi lipopolisakarida) memiliki jumlah sel limfosit yang lebih kecil jika dibandingkan dengan kelompok III dan IV. Sedangkan pada kelompok IV memiliki jumlah sel limfosit yang paling besar daripada kelompok yang lain.

Pada kelompok I (kontrol) didapatkan jumlah sel limfosit paling rendah dikarenakan pada kelompok I tidak diberi perlakuan. Pada kelompok II didapatkan hasil jumlah limfosit mengalami kenaikan dibandingkan kelompok I. Hal ini dikarenakan pada kelompok II tikus wistar diinduksi lipopolisakarida tanpa diberi probiotik sehingga terjadi peradangan. Proses radang melibatkan berbagai macam sel, misalnya leukosit yang berfungsi sebagai sel pertahanan tubuh. Sel leukosit seperti neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit, monosit berinteraksi satu sama lain dalam proses radang. Pada radang, terjadi adhesi antara leukosit dan sel endotel yang meningkat sehingga mengakibatkan peningkatan jumlah sel mediator radang yang salah satunya limfosit. Adhesi antara leukosit dan sel endotel ini sangat ditingkatkan sehingga meningkatnya sel mediator radang ke dalam jaringan. Sebaliknya pada keadaan normal, leukosit hanya sedikit melekat pada sel endotel (Mansjoer , 1999). Oleh karena itu maka jumlah limfosit kelompok II lebih meningkat.

Pada awal peradangan, arteriol dilatasi, aliran darah ke daerah radang bertambah yang diikuti dengan meningkatnya viskositas darah. Ketika viskositas darah naik dan alirannya melambat maka leukosit-leukosit mulai mengalami marginasi yaitu bergerak ketepi pembuluh darah kemudian mulai melekat pada endotel dan dilanjutkan emigrasi leukosit dari pembuluh darah ke jaringan sekitarnya (Price & Wilson, 2006). Radang akut merupakan respon tubuh terhadap rangsangan yang merusak dan diselesaikan oleh pergerakan plasma dan leukosit dari vaskuler ke jaringan yang rusak. Proses peradangan akut ini diinisiasi oleh darah yang menuju tempat terjadinya luka, yang memindahkan protein plasma dan leukosit-leukosit dalam jaringan. peningkatan aliran cairan yang menuju jaringan akan menyebabkan bengkak dan diikuti inflamasi (Alikhani dkk., 2003).

Mediator radang yang muncul pada radang kronik adalah limfosit, sel plasma, eosinofil (Kumar dkk, 2007). Pada proses radang fase awal yaitu dalam 24 jam pertama sel yang paling banyak bereaksi adalah sel neutrofil atau leukosit polimorfonuklear (PMN). Sesudah fase awal yang bisa berlangsung sampai 48 jam mulailah disusul oleh makrofag. Sesudah makrofag akan muncul limfosit T dengan

jumlah yang bermakna pada hari ke 5 dan mencapai puncak pada hari ke 7 (Pringguotomo dkk, 2002).

Limfosit berperan dalam memberikan respon imunologis seluler dan humoral pada peradangan saat terjadi peradangan kronis. Jenis limfosit yang berperan dalam peradangan adalah limfosit T dan limfosit B, tetapi limfosit T yang lebih memberikan peran penting dalam peradangan. Limfosit T apabila dirangsang dengan tepat akan mengeluarkan substansi yang larut yang disebut limfokin. Limfokin ini berperan dalam menstimulasi dan mengaktifkan makrofag untuk melakukan fungsi fagositiknya. Apabila keadaan tubuh baik maka radang akut akan segera berubah menjadi radang kronis yang kemudian diikuti dengan proses penyembuhan (Andreasen dkk., 2007, Kumar dkk., 2007).

Lipopolisakarida (LPS) adalah kompleks glikolipid yang merupakan komponen utama dinding luar bakteri gram negatif yang mampu menimbulkan stimulus pada sel-sel imun, baik *invitro* maupun *in vivo*. Substansi ini mempunyai relevansi klinis yang penting karena berperanan langsung dalam patogenesis infeksi bakteri gram negatif. Pada manusia, lipopolisakarida mengaktifkan sel monosit dan makrofag untuk memproduksi sitokin, protein adhesi sel dan enzim yang terlibat dalam produksi mediator proinflamasi (Susilowati dkk, 2009).

Lipopolisakarida bersifat endotoksin dan mengikat reseptor permukaan *Cluster of differentiation-14* (CD14)/*Toll-like receptor-4* (TLR4) yang mengakibatkan sekresi sitokin proinflamatori seperti IL-1 α , IL-1 β , TNF- α dan Prostaglandin E-2 (PGE2) (Indahyani dkk, 2007). Reseptor TNF- α berfungsi sebagai mediator inflamasi endogen dan mengatur banyak respon seluler termasuk aktivasi gen yang terlibat dalam inflamasi, proliferasi sel dan kematian sel. Produksi sitokin proinflamatori yang berlebihan ini akan mengakibatkan aktivasi respon sistemik yang dapat mempengaruhi permeabilitas vaskuler dan juga dapat menginduksi perubahan metabolik yang menyebabkan kematian sel (Arul dkk, 2001).

Berdasarkan hasil penelitian kelompok perlakuan yang diberi probiotik yaitu kelompok III dan kelompok IV memiliki jumlah limfosit yang lebih banyak

dibanding kelompok kontrol yang tidak diberi probiotik. Pemberian probiotik diharapkan dapat mengurangi jumlah bakteri patogen dalam usus, serta meningkatkan respon kekebalan. Pemberian Bakteri asam laktat seperti *L. casei* mampu memicu pertumbuhan dan menstimulasi pembentukan sel limfosit (Dhamayanti dkk, 2008).

Bakteri probiotik dapat meningkatkan pertahanan tubuh inang. Pemberian *L. casei* dapat meningkatkan pertahanan fagositosis pada mencit. Fagositosis merupakan sistem pertahanan tubuh non-spesifik. Aktivitas dan kapasitas fagositosis menggambarkan kemampuan sel pertahanan dalam mengeliminir antigen atau sel / jaringan yang rusak atau mati. Fagositosis dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kesehatan inang dan stress (Winarsih dkk, 2007).

Bakteri probiotik *L. casei* dapat mengaktifkan respon imun lokal dan sistemik dengan memproduksi sitokin, limfosit, antibodi, monosit dan makrofag yang dapat memfagositosis bakteri patogen (Fuller, 1997). Probiotik yang digunakan dalam rongga mulut dapat mengontrol bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit di dalam rongga mulut. Selain itu, probiotik juga mengontrol pertumbuhan bakteri patogen untuk mencegah terjadinya gingivitis. Probiotik juga memiliki pH yang rendah sehingga bakteri plak tidak dapat membentuk plak dan kalkulus yang menyebabkan penyakit periodontal (Amin dkk, 2010). Bakteri probiotik juga mempunyai efek anti tumor dan mempunyai efek klinis dalam pengobatan berbagai penyakit (Widodo dkk, 2003).

Senyawa yang dihasilkan oleh bakteri probiotik yang bersifat antimikroba di antaranya adalah asam organik, hidrogen peroksida, dan senyawa protein atau kompleks protein spesifik yang disebut bakteriosin. Asam laktat dan asetat merupakan komponen asam organik dari bakteri probiotik yang memiliki aktivitas antimikroba. Spesies *Lactobacillus* juga menghasilkan hidrogen peroksida yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh mikroba (Kusumawati dkk, 2008).

Kelompok IV didapatkan jumlah sel limfosit lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok III. Hal ini dikarenakan induksi lipopolisakarida selama 5 hari pada kelompok IV akan meningkatkan aktifitas pengeluaran limfosit karena adanya

peningkatan jumlah bakteri dan adanya pemberian probiotik selama 5 hari berikutnya akan merangsang pembentukan limfosit lebih banyak oleh karena itu kelompok IV mempunyai jumlah limfosit paling banyak.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diketahui pengaruh probiotik yaitu mampu meningkatkan jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan yang sebelumnya telah diinduksi lipopolisakarida *E. coli*, dimana pemberian lipopolisakarida selama 5 hari kemudian dilanjutkan dengan suntikan bakteri probiotik selama 5 hari berikutnya lebih efektif dalam meningkatkan jumlah sel limfosit daripada pemberian probiotik dan lipopolisakarida secara bersamaan.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian probiotik *L. casei* mempunyai pengaruh terhadap peningkatan jumlah sel makrofag gingiva tikus wistar jantan yang sebelumnya diinduksi lipopolisakarida *E.coli*.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh probiotik terhadap jumlah sel limfosit gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi bakteri penyebab penyakit periodontal lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Alikhani, M., Alikhani, Z., He, H., Liu, R., Popek, B.I., dan Graves, D.T. 2003. Lipopolysaccharides Indirectly Stimulate Apoptosis and Global Induction of Apoptotic Genes in Fibroblast. *J. Bio. Chemistry Des* 2003, 278 (52): 52901-52908
- Amin, M.N., Sari, D.S., Meilawaty, Z. 2010. Prospek Probiotik dalam Pencegahan Agresifitas Resorpsi Osteoklastik Tulang Alveolar yang Diinduksi Lipopolisakarida (LPS) pada Penyakit Periodontal. *Dentika Dental Journal. Vol 15, No. 2, 2010: 150-153*
- Andreasean, J.O., Andreasean, F. M., Andersson, L. 2007. *Textbook And Color Atlas Of Traumatic Injuries To The Teeth 4th Edition*. Copenhagen: Blackwell Munksgard. p 24
- Anonym. 2011. *Lactobacillus casei* [serial online]. <http://microbiologyglossary.wikispaces.com/Lactobacillus+casei>. [31 Desember 2011]
- Arina, Y.M.D. 2005. Mekanisme Pertahanan Jaringan Periodontal. *Stomatognathic (J. KG. Unej Sept 2005), 2(3): 14-18*
- Arul, M.C., Markus, H.L., Chandan, K.S., Terrence, R.B., Sunita, S.S., Vidya, J.S., Vaishale, A.P., dan Peter A.W. 2001. Molecular Signatures of Sepsis Multiorgan Gene Expression Profiles of Systemic Inflammation. *Am. J. Pathol. Oct 2001, 159(4):1199-1209*
- Deepa, D. & Mehta, D.S. 2009. Is The Role of Probiotics Friendly in the Treatment of Periodontal Diseases?. *J. Ind. Soc. Periodontology Jan - Apr 2009, 13 (1): 30-31*
- Dhamayanti, Y., Widodo, A., Sektiari B., dan Sugihartuti R. 2008. Pengaruh Pemberian *Crude chlorella* dan Probiotik Terhadap Jumlah Sel Limfosit pada Limpa Ayam Broiler yang Divaksinasi AI (Avian Influenza). *J. Of Poultry Disease. Universita Airlangga Juni 2008: 19-25*

- Dorland, W. A. N. *Kamus Kedokteran Dorland*. Alih Bahasa: Huriawati Hartanto, dkk: 2002. Jakarta: EGC. p 1265
- Fauziah, & Herawati, D., 2008. Aplikasi Subgingiva Gel Metronidasol 25% Sebagai Bahan Tambahan pada Scaling dan Root Planning. *Maj, Ked, Gi. 15(2): 183-186*
- Fawcett, Don W. 2002. *Buku Ajar Histologi*. Alih Bahasa: Jan Tambayong Ed. 12. Jakarta: EGC. p 121
- Fuller, R. 1997. *Probiotic 2: Applications and Practical Aspects*. Great Britain: Chapman & Hall. p 439 - 442
- Guyton, A.C., & Hall, J.E. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran edisi 11*. Jakarta: EGC. p 455 - 462
- Harti, A.S. 2009. Kajian Efek Sinergistik Probiotik dengan Prebotik. *Bomedika: Vol. 2 No. 1, Maret 2009-ISSN 1979-35X*
- Indahyani, D.E., Santoso, A.S., Utoro, T., H.N.E., M. 2007. Pengaruh Induksi Lipopolisakarida (LPS) terhadap Osteopontin Tulang Alveolaris Tikus pada Masa Erupsi Gigi. *Ind. J. Dent. 2007, 14(1): 2-7*
- Jawetz, Melnick, Adelberg. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC. p 28 - 30, 157 - 158
- Junqueira, C.L. & Carneiro, J. 2007. *Histologi Dasar Teks & Atlas*. Jakarta: EGC. p . 228 - 232, 254 - 255
- Krasse, P., Carlsson, B., Dahl, C., Paulsson, A., Nilsson, A., Sinkiewicz, G. 2005. Decreased Gum Bleeding and Gingivitis by the Probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swed. Dent. J. 2005; 30(2): 55-60*
- Kumar, Cotran, Robbins. 2007. *Buku Ajar Patologi edisi 7 volume 1*. Jakarta: EGC. p 35 - 59
- Kusumawati, N., Jenie, B.S.L., Setyahadi, S., Hariyadi, R.D. 2008. Aktivitas Antibakteri Laktobaseli Asal Makanan Fermentasi Indonesia Terhadap Patogen Dan Pengaruhnya Terhadap Mikroflora Usus Tikus. *J. Obat Bahan Alam 2008, 7(1):69-75*
- Mansjoer, S.1997. Efek Antiradang Minyak Atsiri Temu Putih (*Curcuma zeodaria Rosch*). *Media Farmasi Indonesia 8(1): 35-36*

- Murray, J. A. & Wilton, J. M. A. LPS from Periodontal Pathogen *P. gingivalis* Prevents Apoptosis of HL60- Derived Neutrophils *In Vitro*, *Infect Immun*, 2003; 71(12): 7232-7235
- Notoadmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT Rineka Cipta. p 59-60
- Praptiwi, Sulistyowati, E. Kustiyono. 2009. Pola Makan dan Pertumbuhan Bobot Tubuh Tikus yang Diinokulasi *Porphyromonas gingivalis* Sebelum dan Sesudah Terjadinya Periodontitis. *M. Med. Ind.* 2009, 43(5): 229-235
- Price, S. A. & Wilson, L. M. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Jakarta: EGC. p 57
- Pringgutoomo, Sudarto dkk. (2002). *Patologi I (UMUM) edisi ke-1*. Jakarta: Sagung Seto. p 89
- Rouge, C., Piloquet, H., Butel, M.J., Berger, B., Rochat, F., Ferraris, L., Des Robert, C., Legrand, A., de la Cochetie`re, M.F., N`Guyen, J.M., Vodovar, M., Voyer, M., Darmaun, D., Roze´, J.C. 2009. Oral Supplementation with Probiotics in Very-Low-Birth-Weight Preterm Infants: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 2009, 89: 1-8
- Sherwood, L. 2001. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Jakarta: EGC. p 356 - 388
- Staf Pengajar FK UI. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Jakarta: Bina Rupa Aksara. p 136
- Stamatova, I. MD., Meurman, J.H. Probiotics: Health Benefits in the Mouth. *American jou. Of Dent. Vol. 22(6) December, 2009: 229-238*
- Steel, R.G.D. & Torrie, J.H.. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama. p 145 - 147
- Sugano, N., Matsuoka, T., Koga, Y., Ito, K, 2007, Effects of Probiotics on Periodontal Disease. *Japan. J. Dent.* 43: 123-126
- Susanto, A., Rusyanti, Y., Hendiani, I. 2009. Kadar Protein C-Reaktif Setelah Perawatan Periodontal Non Bedah pada Pasien Periodontitis Kronis. *J. KG. Unpad Nov 2009: 1-29*

- Susilowati, H., Haniastuti, T., Santoso, A.S. 2009. Produksi Nitrit Oksida dan Aktivitas Fagositosis Makroga Mencit Setelah Stimulasi dengan Lipopolisakarida. *Maj. Ked. Gi., Juni 2009, 16(1): 19-24*
- Syafriadi, M., Subiyantoro, S., Setyorini, D., dan Joelijanto, R. 2008. *Petunjuk Praktikum Patologi Anatomi, Degenerasi dan Radang*. Jember: FKG Universitas Jember. Tidak dipublikasikan. p 2 - 7
- Vivekananda, M.R., Vandana, K.L. dan Bhat, K.G. 2010. Effect of the Probiotic *Lactobacilli reuteri (Prodentis)* in the Management of Periodontal Disease: a Preliminary Randomized Clinical Trial. *J. Oral Microbiology 2010, 2: 53-44*
- Wahyukundari, M. A. 2009. Perbedaan Kadar *Matrix Metall Oproteinas-8* Setelah *Scalling* dan Pemberian Tetrasiklin pada Penderita Periodontiti Kronis. *Jurnal PDGI, 58 (1): 1-6*
- Widodo, Suparno, Endang, W. 2003. Bioenkapsulasi Probiotik (*Lactobacillus casei*) dengan Pollard dan Tepung Terigu serta Pengaruhnya terhadap Viabilitas dan Laju Pengasaman. *Journal Teknologi Dan Industri Pangan. XIV(2): 98-106*
- Winarsih, Priosoeryanto, Lay, Wibaeen, KOMPIANG. 2007. Pengaruh Probiotik Terhadap Fagositosis Sel Polimorfonuklear Ayam broiler. *J. Med. Vet. Ind. 2007, 11(2): 37-4*

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Surat Ijin Penelitian



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL RI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎ (0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 1535 /H25.1.8/PL.5/2011
Lampiran : -
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.
Ka. Bag. BIOMEDIK FKG Universitas Jember
c.q PJMK. HISTOLOGI 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 | : Muhammad Nizar |
| 2. NIM | : 081610101024 |
| 3. Tahun Akademik | : 2010/2011 |
| 4. Fakultas | : Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5. Alamat | : Jl. Mastrip II/8 Jember |
| 6. Judul Penelitian | : Pemberian Probiotik Terhadap Jumlah Sel Limfosit Gingiva Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Lipopolisakarida E.Coli |
| 7. Lokasi Penelitian | : Lab. Histologi FKG UNEJ |
| 8. Data/Alat yg dipinjam | : Petridish, Autoclave, dll |
| 9. Waktu | : Juni 2011 -Selesai |
| 10. Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Pemberian Probiotik Terhadap Jumlah Sel Limfosit Gingiva Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Lipopolisakarida E.Coli |
| 11. Dosen Pembimbing | : 1. drg. M. Nurul Amin, M.Kes
2. drg. Zahara Meilawaty, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 22 Juni 2011

an, Dekan

Dekan I



Hardian Parnaadji, M.Kes, Sp.Prost

NIP. 1969041219996011001

Tembusan Kepada Yth.
PJMK Histologi FKG Universitas Jember

Acc. Sekbag. Biomedik 30/11/11

Lampiran B. Surat *Ethical Clearance*



KETERANGAN KELAIKAN ETIK PENELITIAN ("ETHICAL CLEARANCE")

No. 172/KKEP/FKG-UGM/EC/ 2011

Setelah Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:

Judul : "Pemberian Probiotik terhadap Jumlah Sel Limfosit
 Gingiva Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi
 Lipopolisakarida E.Coli"

Peneliti Utama : Muhammad Nizar

Penanggung jawab medis : drg. M. Nurul Amin, M.Kes
 drg. Zahara Meilawaty, MD.Sc.

Unit/Lembaga : FKG Universitas Jember

Tempat Penelitian : 1. Lab. Histologi FKG Universitas Jember
 2. Lab Fisiologi FKG Universitas Jember

Waktu Penelitian : Agustus 2011 - Selesai

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

Yogyakarta, 24 Agustus 2011

Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM


 drg. Suryono, S.H., Ph.D.

Lampiran C. Hasil Penghitungan Jumlah Sel Limfosit

Judul Penelitian : Pemberian Probiotik Terhadap Jumlah Sel Limfosit Gingiva Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Lipopolisakarida *E. coli*

Nama Peneliti / NIM : Muhammad Nizar / 081610101024

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

Fak. / Universitas : Fakultas Kedokteran Gigi / Universitas Jember

Tahun Penelitian : 2011

Perlakuan	Preparat								Rerata
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Kontrol	4.78	5.44	6.00	5.89	5.33	4.67	4.44	5.00	5.19
LPS	4.78	4.78	4.44	5.78	9.33	9.00	8.78	9.44	7.04
Bersamaan	7.78	9.33	7.56	6.33	8.44	8.67	8.44	7.56	8.01
Berurutan	6.44	8.22	10.67	5.89	6.67	7.11	11.56	8.00	8.07

Jember, 8 September 2011

Mengetahui,

Pemeriksa

Penanggung Jawab

Kepala Bagian Lab. Histo

Sri Wahyuningsih, A. Md
NIP. 197601211999032009

drg. Happy Harmono, M. Kes
NIP. 196709011997021001

DATA Jumlah Sel Limfosit

KELOMPOK	a	B	c	RERA-TA	KELOMPOK	a	b	c	RERA-TA
I.1	6	3	5	4.78	II.1	4	3	4	4.78
	4	3	4			5	6	6	
	7	5	6			4	7	4	
I.2	7	6	4	5.44	II.2	6	5	7	4.78
	6	4	6			5	3	6	
	3	7	6			3	4	4	
I.3	5	6	3	6.00	II.3	5	4	3	4.44
	5	4	6			4	4	3	
	8	12	5			5	5	7	
I.4	6	7	7	5.89	II.4	5	8	3	5.78
	5	4	5			7	5	7	
	6	6	7			5	6	6	
I.5	8	5	3	5.33	II.5	8	10	11	9.33
	11	4	5			7	9	9	
	4	3	5			6	11	13	
I.6	3	4	5	4.67	II.6	5	8	10	9.00
	5	3	6			8	9	11	
	6	6	4			12	11	7	
I.7	3	6	4	4.44	II.7	8	5	10	8.78
	5	6	4			11	8	7	
	3	4	5			9	10	11	
I.8	5	5	9	5.00	II.8	13	8	12	9.44
	4	3	6			14	7	6	
	5	4	4			9	7	9	

KELOMPOK	a	b	c	RERA-TA	KELOMPOK	a	b	c	RERA-TA
III.1	6	10	9	7.78	IV.1	6	5	5	6.44
	7	8	8			8	5	7	
	9	6	7			7	8	7	
III.2	12	8	7	9.33	IV.2	7	9	11	8.22
	9	8	11			7	6	9	
	11	7	11			9	7	9	
III.3	8	10	7	7.56	IV.3	8	10	11	10.67
	7	8	7			11	10	9	
	6	7	8			11	12	14	
III.4	6	8	7	6.33	IV.4	6	7	5	5.89
	5	6	9			5	7	7	
	6	5	5			5	5	6	
III.5	4	12	8	8.44	IV.5	7	7	8	6.67
	9	11	10			5	7	6	
	7	8	7			6	6	8	
III.6	6	8	7	8.67	IV.6	9	7	5	7.11
	13	10	7			8	7	8	
	9	11	7			6	6	8	
III.7	7	8	9	8.44	IV.7	12	10	12	11.56
	10	9	9			12	17	11	
	7	9	8			11	10	9	
III.8	7	9	7	7.56	IV.8	9	8	6	8.00
	6	9	7			7	9	6	
	8	8	7			12	8	7	

Jember, 8 September 2011

Mengetahui,

Pemeriksa

Penanggung Jawab
Kepala Bagian Lab. Histo

Sri Wahyuningsih, A. Md
NIP. 197601211999032009

drg. Happy Harmono, M. Kes
NIP. 196709011997021001

Lampiran D. Analisis Data Penelitian

D.1 Rerata Jumlah Sel Limfosit Gingiva pada Berbagai Perlakuan

ULANGAN	PERLAKUAN			
	KONTROL	LPS	BERSAMAAN	BERURUTAN
1	4.78	4.78	7.78	6.44
2	5.44	4.78	9.33	8.22
3	6.00	4.44	7.56	10.67
4	5.89	5.78	6.33	5.89
5	5.33	9.33	8.44	6.67
6	4.67	9.00	8.67	7.11
7	4.44	8.78	8.44	11.56
8	5.00	9.44	7.56	8.00
RERATA	5.19	7.04	8.01	8.07
SD	0.57	2.28	0.91	2.04

D.2 Uji Normalitas Kolmogrov-Smirnov

		kontrol	LPS	bersamaan	berurutan
N		8	8	8	8
Normal Parameters(a,b)	Mean	5,1938	7,0413	8,0138	8,0700
	Std. Deviation	,56886	2,28148	,91245	2,04445
Most Extreme Differences	Absolute	,141	,277	,184	,221
	Positive	,141	,214	,111	,221
	Negative	-,140	-,277	-,184	-,148
Kolmogorov-Smirnov Z		,400	,783	,522	,624
Asymp. Sig. (2-tailed)		,997	,571	,948	,830

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Descriptives

Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	8	5.1938	.56886	.20112	4.7182	5.6693	4.44	6.00
2	8	7.0413	2.28148	.80663	5.1339	8.9486	4.44	9.44
3	8	8.0138	.91245	.32260	7.2509	8.7766	6.33	9.33
4	8	8.0700	2.04445	.72282	6.3608	9.7792	5.89	11.56
Total	32	7.0797	1.94338	.34355	6.3790	7.7804	4.44	11.56

D.3 Uji Homogenitas Levene

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.516	3	28	.000

D.4 Uji Beda Kruskal-Wallis

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank
data	1	8	7.25
	2	8	16.63
	3	8	21.44
	4	8	20.69
	Total	32	

Test Statistics^{a,b}

	Data
Chi-Square	11.609
df	3
Asymp. Sig.	.009

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

D.5 Uji Beda Mann-Whitney antar Perlakuan

Mann-Whitney Tes Kelompok I dan Kelompok II

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
data	1	8	7.06	56.50
	2	8	9.94	79.50
	Total	16		

Test Statistics^b

	Data
Mann-Whitney U	20.500
Wilcoxon W	56.500
Z	-1.212
Asymp. Sig. (2-tailed)	.225
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.234 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Mann-Whitney Tes Kelompok I dan Kelompok III

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
data	1	8	4.50	36.00
	3	8	12.50	100.00
	Total	16		

Test Statistics^b

	Data
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.366
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Mann-Whitney Tes Kelompok I dan Kelompok IV

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
data	1	8	4.69	37.50
	4	8	12.31	98.50
	Total	16		

Test Statistics^b

	Data
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	37.500
Z	-3.205
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Mann-Whitney Tes Kelompok II dan Kelompok III

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
data 2	8	8.19	65.50
3	8	8.81	70.50
Total	16		

Test Statistics^b

	Data
Mann-Whitney U	29.500
Wilcoxon W	65.500
Z	-.263
Asymp. Sig. (2-tailed)	.792
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.798 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Mann-Whitney Tes Kelompok II dan Kelompok IV

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
data	2	8	7.50	60.00
	4	8	9.50	76.00
	Total	16		

Test Statistics^b

	Data
Mann-Whitney U	24.000
Wilcoxon W	60.000
Z	-.841
Asymp. Sig. (2-tailed)	.400
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.442 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Mann-Whitney Tes Kelompok III dan Kelompok IV

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
data	3	8	9.13	73.00
	4	8	7.88	63.00
	Total	16		

Test Statistics^b

	Data
Mann-Whitney U	27.000
Wilcoxon W	63.000
Z	-.526
Asymp. Sig. (2-tailed)	.599
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.645 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Lampiran E: Foto Alat Penelitian

Gambar E.1 Foto Alat Penelitian

A. Neraca; B. Blade, *scalpel* ; C. Pinset anatomis; D. Gunting; E. *Syringe* insulin merek Terumo; F. *Syringe* insulin 30G merek Terumo; G. Pinset cirurgis; H. Sarung tangan; I. Petridish bersekat; J. Masker; K. Baki alat



Gambar E.2 Mikroskop binokuler merek Leica



Gambar E.3 Inkubator (Binder, Jerman)



Gambar E.4 Mikromotom (Leica RM 2135)



Gambar E.5 *Waterbath* (Memmert)



Gambar E.6 Automatic staining (Sakura, Jepang)

Lampiran F. Foto Bahan Penelitian



Gambar F.1 Foto Bahan Penelitian

A. Turbo (makanan standart tikus); B. Formalin 10%; C. Air;
D. Lipopolisakarida *E.coli*; E. Ketamin; F. Aquabidest



Gambar F.2 Foto Untuk Pemrosesan dan Pewarnaan Histologi

1. Alkohol 100%; 2. Xilol; 3. Parafin; 4. Formic, Acid; 5. Alkohol 95%; 6.
Alkohol 80%; 7. Alkohol 70%; 8. Kristal Eosin; 9. Entellen; 10. Kristal
Hematoksilin; 11. *Object glass*; 12. *Deck glass*; 13. Minyak Emersi



Gambar F.3 Tikus wistar jantan dan kandang tikus

