



**AGREGASI TROMBOSIT DAN LAJU ENDAP DARAH (LED)  
PADA MODEL TIKUS PERIODONTITIS**

**SKRIPSI**

Oleh  
**Iman Santoso Adji**  
**131610101060**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**



**AGREGASI TROMBOSIT DAN LAJU ENDAP DARAH (LED)  
PADA MODEL TIKUS PERIODONTITIS**

**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  
Iman Santoso Adji  
131610101060

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. ALLAH SWT atas curahan rahmat, hidayah, ilmu dan rizki yang diberikan sepanjang hidup saya;
2. Nabi Muhammad SAW, yang menjadi tauladan bagi saya di dunia maupun di akhirat;
3. Ibunda tersayang, Sri Asih Wuryanti Nugrahani, S.Pd dan Ayahanda Ir. Isrochmad Hadijanto yang selalu memberi saya limpahan kasih sayang, pendidikan, doa, semangat dan dukungan moral maupun materiil;
4. Adik saya Bagus Noviyanto yang telah menemani dan mewarnai hidup saya;
5. Dosen-dosen yang telah mendidik dan mengajarkan banyak ilmu untuk saya selama menjalani pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
6. Pahlawan tanpa tanda jasa dari TK sampai SMA yang telah mengajarkan saya ilmu yang bermanfaat;
7. Almamater saya Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;

**MOTTO**

Bahwa tiada yang orang dapatkan, kecuali yang ia usahakan,  
dan bahwa usahanya akan kelihatan nantinya.  
(terjemahan Surat *An Najm* ayat 39-40)\*)

Kamu sekalian adalah pemimpin dan akan dimintai pertanggung jawaban  
atas yang dipimpinnya.  
(H.R. Bukhari Muslim)

\*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2010. *Al Qur'an dan Terjemah untuk Wanita*. Bandung: Penerbit Hilal.

\*) Muhammad Fuad Abdul Baqi. 2010. *Shahih al-Bukhari*. Yogyakarta Penerbit Pustaka As Sunnah

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Iman Santoso Adji

NIM : 131610101060

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul : "Agregasi Trombosit Dan Laju Endap Darah (LED) Pada Model Tikus Periodontitis" 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, 3 Januari 2017

Yang menyatakan,

Iman Santoso Adji

NIM. 131610101060

**SKRIPSI**

**AGREGASI TROMBOSIT DAN LAJU ENDAP DARAH (LED)  
PADA MODEL TIKUS PERIODONTITIS**

Oleh

Iman Santoso Adji

NIM. 131610101060

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : drg. Rendra Chriestedy Prasetya, MDSc.

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Suhartini, M.Biotech

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Agregasi Trombosit dan Laju Endap Darah (LED) pada Model Tikus Periodontitis” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi pada:

Hari, tanggal : Selasa, 3 Januari 2017

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua

Penguji Anggota

drg. Budi Yuwono, M.Kes  
NIP. 196709141999031002

Dr. drg. Purwanto, M.Kes  
NIP. 195710241986031002

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

drg. Rendra Chriestedy Prasetya, MDSc  
NIP. 198305312008011003

drg. Suhartini, M.Biotech  
NIP. 197909262006042002

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Prof  
NIP. 196901121996011001

## RINGKASAN

**Agregasi Trombosit dan Laju Endap Darah (LED) pada Model Tikus Periodontitis;** Iman Santoso Adji; 131610101060; 2017; 66 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Agregasi trombosit adalah kemampuan trombosit melekat satu sama lain untuk membentuk suatu sumbatan. Sedangkan *Laju Endap Darah* (LED) merupakan kecepatan pengendapan sel darah merah dari suatu sampel darah yang diperiksa dalam suatu alat tertentu selama 1 jam yang dinyatakan dalam mm/jam. Periodontitis berisiko menyebabkan kondisi inflamasi sistemik dalam tubuh. Saat terjadi kondisi inflamasi sistemik maka kadar fibrinogen dalam darah akan meningkat. Peningkatan jumlah fibrinogen yang beredar dalam darah akan meningkatkan viskositas darah, agregasi trombosit, laju endap darah (LED), dan adhesi leukosit. Hubungan antara periodontitis, agregasi trombosit dan laju endap darah (LED) telah banyak diteliti secara observasional. Namun, hingga saat ini belum ada penelitian eksperimental menggunakan hewan coba yang telah dilakukan dan dapat menjelaskan hubungan sebab akibat antara periodontitis, agregasi trombosit dan laju endap darah (LED). Oleh karena itu peneliti melakukan penelitian eksperimental menggunakan hewan coba untuk menganalisis agregasi trombosit dan laju endap darah (LED) pada model tikus periodontitis.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen laboratoris dengan rancangan *the post test only control group design*. Objek penelitian adalah 16 ekor tikus yang dibagi dalam 4 kelompok, kelompok kontrol, kelompok P1 dengan perlakuan selama 14 hari, kelompok P2 dengan perlakuan selama 21 hari, dan kelompok P3 dengan perlakuan selama 28 hari. Hewan coba diberi perlakuan injeksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada sulkus bukal molar rahang bawah kiri tiga kali seminggu dan pemasangan *wire ligature* pada rahang bawah kiri. Periodontitis ditunjukkan oleh resorpsi tulang alveolar (berdasarkan gambaran klinis dan radiologis tulang alveolar). Pada akhir penelitian hewan coba di dekapitasi dan diambil darahnya secara *intracardial* sebanyak  $\pm 6$ ml. Pengukuran agregasi trombosit dengan metode spektrofotometrik dan mikroskopik. Pengukuran laju endap darah dengan metode westgren. Data dianalisis dengan metode *One Way Anova*.

Hasil Penelitian menunjukkan nilai agregasi trombosit dan LED pada kelompok periodontitis 1, periodontitis 2, dan periodontitis 3 mengalami peningkatan bermakna ( $p < 0,05$ ) dibandingkan kelompok kontrol. Kelompok periodontitis 1 menunjukkan peningkatan hasil pengukuran agregasi trombosit dan LED yang bermakna ( $p < 0,05$ ) jika dibandingkan kelompok kontrol. Kelompok periodontitis 2 menunjukkan nilai agregasi trombosit dan LED tertinggi. Kelompok periodontitis 3 menunjukkan penurunan nilai agregasi trombosit dan LED yang bermakna ( $p < 0,05$ )



dibandingkan kelompok periodontitis 2 namun tetap lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Berdasarkan penelitian tentang agregasi trombosit dan laju endap darah pada model tikus periodontitis dapat disimpulkan bahwa terdapat peningkatan yang bermakna nilai agregasi trombosit dan laju endap darah pada model tikus periodontitis. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, menggunakan adenosine diphosphate (ADP) sebagai indukor agregasi trombosit, pengukuran viskositas darah, kadar fibrinogen, dan kadar IL-6 pada model tikus periodontitis.



## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, karunia dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Agregasi Trombosit dan Laju Endap Darah (LED) pada Model Tikus Periodontitis”. 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. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Rendra Chriestedy P, MDSc selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Suhartini, M.Biotech selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan ilmu, bimbingan, saran dan motivasi serta penuh kesabaran membimbing saya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
3. drg. Budi Yuwono, M.Kes., selaku Dosen Penguji Ketua dan Dr. drg. Purwanto, M.Kes., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah banyak memberi masukan demi kesempurnaan skripsi ini;
4. Proyek Penelitian Hibah Kompetensi DRPM DIKTI tahun 2016 yang diketuai Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes yang telah mendanai sebagian penelitian ini sehingga dapat terselesaikan;
5. Dr. drg. Banun Kusumawardhani, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan nasihat, saran dan motivasi;
6. Ibunda tercinta Sri Asih Wuryanti Nugrahani, S.Pd dan Ayahanda tercinta Ir. Isrochmad Hadijanto., yang telah memberikan kasih sayang, ilmu, teladan, doa dan motivasi bagi saya;
7. Adikku tercinta, Bagus Noviyanto atas segala kasih sayang, keceriaan dan canda tawanya;

8. Teman-teman Pejuang Ateros, Christian Agung P, Moch. Fahmi, Lusi Hesti P, Natasha Destanti H, Cholida Rachmatia, dan Usnida Mubarakah yang selama ini sudah bekerjasama dalam menyelesaikan penelitian ini;
9. Teman-teman Mastrip K4 Official, Andika Sulistian, Aditya Pristyhari, dan M Fahmi terimakasih atas dukungannya selama ini;
10. Mas Agus, Mas Erwan, dan Pak Pin yang telah banyak membantu dalam penelitian saya sehingga dapat berjalan dengan lancar;
11. Teman-teman Kontrakan Pak RT, Yas'a Nuruha, Rahajeng Intan, dan Richa Arum terimakasih atas dukungan dan tumpangan wifinya sehingga memudahkan saya dalam mengerjakan skripsi ini;
12. Teman-teman seperjuangan saya di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember angkatan 2013. Terimakasih atas segala kebersamaannya. Semoga kita semua menjadi dokter gigi yang amanah dan sukses membangun bangsa sesuai slogan kita “FKG 2013 Jaya-Jaya Membangun Bangsa”;
13. Semua pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, terima kasih kalian semua.

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, 3 Januari 2017

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	<b>2</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	<b>2</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1 Trombosit</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2 Agregasi Trombosit</b> .....	<b>4</b>
<b>2.3 Laju Endap Darah</b> .....	<b>6</b>
2.3.1 Definisi Laju Endap Darah .....	6
2.3.2 Fungsi Pemeriksaan Laju Endap Darah .....	6

2.3.3 Fase-Fase Laju Endap Darah .....	7
2.3.4 Nilai Laju Endap Darah .....	7
2.3.5 Faktor Faktor yang Mempengaruhi Laju Endap Darah .....	8
2.3.6 Faktor yang Meningkatkan Laju Endap Darah .....	9
2.3.7 Faktor yang Menurunkan Laju Endap Darah .....	9
<b>2.4 Periodontitis .....</b>	<b>9</b>
2.4.1 Etiologi .....	9
2.4.2 Patogenesis .....	10
<b>2.5 <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....</b>	<b>11</b>
2.5.1 Klasifikasi .....	11
2.5.2 Habitat .....	11
2.5.3 Morfologi .....	12
<b>2.6 Hubungan Periodontitis Terhadap Agregasi Trombosit Dan Laju Endap Darah (LED) .....</b>	<b>12</b>
<b>2.7 Kerangka konsep .....</b>	<b>14</b>
<b>2.8 Hipotesis .....</b>	<b>14</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>15</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian .....</b>	<b>15</b>
<b>3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....</b>	<b>15</b>
<b>3.3 Variabel Penelitian .....</b>	<b>15</b>
3.3.1 Variabel Bebas .....	15
3.3.2 Variabel Terikat.....	16
3.3.3 Variabel Terkendali .....	17
<b>3.4 Populasi dan Sampel Penelitian .....</b>	<b>18</b>
3.4.1 Populasi Penelitian .....	18
3.4.2 Sample Penelitian .....	18

3.4.3	Besar Sampel .....	18
<b>3.5</b>	<b>Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>19</b>
3.5.1	Alat Penelitian .....	19
3.5.2	Bahan Penelitian .....	20
<b>3.6</b>	<b>Prosedur Penelitian .....</b>	<b>21</b>
3.6.1	Tahap Persiapan dan Pembagian Kelompok Hewan Coba ...	21
3.6.2	Persiapan Bahan Perlakuan .....	21
3.6.3	Pelaksanaan Penelitian .....	22
3.6.4	Pengambilan Sampel Darah .....	23
3.6.5	Pembuatan Suspensi Trombosit .....	23
3.6.6	Pembuatan Preparat Suspensi Trombosit .....	23
3.6.7	Pengukuran Agregasi Trombosit .....	23
3.6.8	Pengukuran Laju Endap Darah .....	24
<b>3.7</b>	<b>Analisis Data .....</b>	<b>24</b>
<b>3.8</b>	<b>Alur Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>27</b>
<b>4.1</b>	<b>Hasil Penelitian .....</b>	<b>27</b>
4.1.1	Periodontitis Pada Hewan Coba .....	27
4.1.2	Agregasi Trombosit .....	28
4.1.3	Laju Endap Darah .....	30
4.1.4	Analisis Data .....	31
<b>4.2</b>	<b>Pembahasan .....</b>	<b>33</b>
<b>BAB 5.</b>	<b>Kesimpulan Dan Saran .....</b>	<b>37</b>
5.1	Kesimpulan .....	37
5.2	Saran .....	37
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	<b>.....</b>	<b>38</b>
<b>LAMPIRAN</b>	<b>.....</b>	<b>42</b>

**DAFTAR TABEL**

Tabel 4.1 Agregasi Trombosit Darah Hewan Coba .....	28
Tabel 4.2 Laju Endap Darah Hewan Coba .....	30
Tabel 4.3 Uji Normalitas <i>Shapiro-wilk</i> Agregasi Trombosit .....	31
Tabel 4.4 Uji Normalitas <i>Shapiro-wilk</i> Laju Endap Darah .....	32
Tabel 4.5 Uji Homogenitas <i>Levene-test</i> Agregasi Trombosit dan Laju Endap Darah .....	32
Tabel 4.6 Uji <i>One Way Anova</i> Agregasi Trombosit dan Laju Endap Darah .....	32
Tabel 4.7 Uji <i>Least Significant Difference</i> Agregasi Trombosit .....	33
Tabel 4.8 Uji <i>Least Significant Difference</i> Laju Endap Darah .....	33

**DAFTAR GAMBAR**

2.1 <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	11
2.2 Skema Kerangka Konsep .....	14
3.1 <i>wire ligation</i> pada servikal gigi molar bawah kiri .....	22
4.1 Gambaran Klinis Tulang Alveolar .....	27
4.2 Gambaran Radiologis Tulang Alveolar .....	27
4.3 Hasil Pengukuran Agregasi Trombosit .....	29
4.4 Gambaran Mikroskopik Agregasi Trombosit .....	29
4.5 Hasil Pengukuran Laju Endap Darah .....	31



**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran A. Gambaran Klinis Dan Radiologis Tulang Alveolar .....	42
Lampiran B. Hasil Pemeriksaan .....	46
Lampiran C. Analisis Data .....	50
Lampiran D. Identifikasi <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	54
Lampiran E. Sertifikat Hewan Coba .....	56
Lampiran F. Berat Badan Tikus .....	57
Lampiran G. Surat Keterangan Layak Etik Penelitian .....	58
Lampiran H. Ijin Penelitian .....	59
Lampiran I. Alat dan Bahan Penelitian .....	62
Lampiran J. Pelaksanaan Penelitian .....	64

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Periodontitis merupakan salah satu jenis penyakit periodontal dengan prevalensi tinggi di dunia. Menurut WHO tahun 2006, prevalensi periodontitis lebih dari 75%. Periodontitis menjadi salah satu penyakit dengan persebaran paling luas di dunia. Periodontitis merupakan infeksi atau peradangan pada jaringan penyangga gigi (WHO, 2016).

Penyebab periodontitis ada banyak faktor, terutama disebabkan oleh berkoloninya bakteri patogen seperti *Porphyromonas gingivalis*. *Porphyromonas gingivalis* banyak ditemukan dalam plak gigi dan bakteri tersebut menyebabkan perubahan patologik jaringan periodontal dengan pengaktifan respons imun dan inflamatori *host*, dan secara langsung mempengaruhi sel-sel periodonsium. Salah satu produk *Porphyromonas Gingivalis*, adalah lipopolisakarida (LPS) yang dapat masuk ke dalam jaringan periodontal kemudian menyebabkan periodontitis sehingga merusak pembuluh darah dengan mempengaruhi sel endotel, metabolisme lemak, dan peningkatan jumlah fibrinogen (Carranza *et al.*, 2008).

Orang dengan periodontitis berisiko mengalami peningkatan jumlah fibrinogen yang beredar dalam darahnya. Hal ini sering dihubungkan dengan inflamasi sistemik. Fibrinogen memiliki fungsi penting, yaitu membentuk bekuan darah pada proses koagulasi. Selain itu fibrinogen juga berfungsi meningkatkan viskositas darah, agregasi trombosit, laju endap darah (LED), dan adhesi leukosit (Handayani, 2013). Peningkatan kadar fibrinogen dalam plasma darah menyebabkan eritrosit dan trombosit lebih mudah beragregasi. Hal ini menyebabkan inflamasi akan disertai dengan laju endap darah dan agregasi trombosit yang meningkat melalui pemeriksaan yang objektif (Kumar *et al.*, 2012).

Agregasi trombosit merupakan suatu proses dimana trombosit akan saling melekat dengan trombosit lain. Pembuluh darah yang rusak akan menyempit dan

melepaskan endotelin sehingga trombosit akan beragregasi pada tempat luka dan menarik platelet lain untuk menutup bocoran dengan sumbatan platelet. Proses agregasi trombosit memerlukan *adenosine diphosphate* (ADP), ion kalsium, dan fibrinogen. ADP merupakan penginduksi utama untuk agregasi trombosit, perubahan bentuk trombosit, dan sekresi trombosit (Vogel, 2002)

Laju endap darah (LED) disebut juga *erythrocyte sedimentation rate* (ESR) atau *sedimentation rate* (*sed rate*) atau *bezinking-snelheid der erythrocyten* (BSE) adalah kecepatan pengendapan sel-sel eritrosit di dalam tabung berisi darah yang telah diberi antikoagulan dalam waktu satu jam (Bridgen, 2005; Norderson, 2004). Peningkatan nilai LED menunjukkan suatu proses inflamasi dalam tubuh seseorang, atau adanya kerusakan jaringan (Norderson, 2004).

Hubungan antara periodontitis, agregasi trombosit dan laju endap darah (LED) telah banyak diteliti secara observasional. Namun, hingga saat ini belum ada penelitian eksperimental menggunakan hewan coba yang telah dilakukan dan dapat menjelaskan hubungan sebab akibat antara periodontitis, agregasi trombosit dan laju endap darah (LED). Oleh karena itu peneliti melakukan penelitian eksperimental menggunakan hewan coba untuk menganalisis agregasi trombosit dan laju endap darah (LED) pada model tikus periodontitis.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Apakah terdapat peningkatan kadar agregasi trombosit pada model tikus periodontitis?
2. Apakah terdapat peningkatan kadar laju endap darah (LED) pada model tikus periodontitis?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui kadar agregasi trombosit pada model tikus periodontitis.
2. Mengetahui kadar laju endap darah (LED) pada model tikus periodontitis.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat yang dapat diperoleh dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan tentang pengaruh periodontitis terhadap agregasi trombosit dan laju endap darah (LED).
2. Penelitian ini diharapkan sebagai dasar pertimbangan melakukan diagnosis sebuah penyakit inflamasi.
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk pengembangan penelitian-penelitian selanjutnya.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Trombosit

Platelet atau Trombosit merupakan salah satu komponen darah tepi yang berbentuk diskoid tanpa inti dan berperan dalam berbagai proses hemostasis dan pertahanan alami manusia. Platelet atau Trombosit mempunyai karakter berbentuk bulat, berdiameter 2-4  $\mu\text{M}$ , tidak mempunyai nukleus tetapi memiliki banyak vesikel dan granula dan kadar normal 150.000-400.000 sel setiap  $\mu\text{L}$  darah. Umur trombosit dalam darah adalah 5-9 hari. Dalam trombosit dijumpai berbagai granula: seperti  $\alpha$  granula padat, dan granula lisosomal, Granula  $\alpha$  merupakan granula yang terbanyak, berkisar, 50-80 granula per butir trombosit dan menyusun 10% dari volume platelet (Wijaya, 2010).

Sel platelet atau trombosit berasal dari fragmentasi sitoplasma megakariosit sumsum tulang. Interval waktu semenjak diferensiasi sel induk sampai produksi platelet berkisar sekitar 10 hari. Jumlah sel platelet yang bersirkulasi dalam darah tepi sangat tergantung jumlah sel megakariosit, volume sitoplasma megakariosit, umur platelet dan sekuestrasi oleh limpa. (Hoffbrand *et al.*, 2002).

Tubuh manusia memiliki kemampuan alami untuk menghentikan perdarahan yang disebut hemostasis. Hemostasis merupakan upaya yang dilakukan oleh tubuh untuk melindungi diri dari proses pendarahan. Trombosit mempunyai peran penting dalam hemostasis yaitu untuk pembentukan dan stabilisasi sumbat trombosit yang terjadi melalui dua tahap yaitu adhesi trombosit dan agregasi trombosit (Guyton dan Hall, 2012).

### 2.2 Agregasi Trombosit

Agregasi trombosit adalah kemampuan trombosit melekat satu sama lain untuk membentuk suatu sumbatan. Sel endotel akan rusak pada pembuluh darah yang

terluka, sehingga jaringan ikat dibawah endotel akan terbuka. Hal tersebut menyebabkan terjadinya adhesi trombosit yaitu proses melekatnya trombosit pada permukaan yang terluka terutama serat kolagen dan agregasi trombosit yaitu trombosit akan melekat pada trombosit lain. Proses agregasi trombosit memerlukan *adenosine diphosphate* (ADP), ion kalsium, dan fibrinogen. Peran ion kalsium adalah untuk membentuk ikatan diantara fibrinogen yang melekat pada dinding trombosit (Oesman dan Setiabudy, 2009).

Trombosit memberikan respon terhadap cedera jaringan dengan melekat pada tempat cedera, kemudian melepaskan granula-granula mengandung mediator kimiawi yang meningkatkan agregasi. Agregasi trombosit awal terjadi akibat kontak permukaan pembuluh darah dan pembebasan ADP dari trombosit lain yang melekat ke permukaan endotel; hal ini disebut gelombang agregasi primer. Seiring dengan makin banyaknya trombosit yang terlibat, maka lebih banyak ADP yang dibebaskan sehingga terjadi gelombang agregasi sekunder disertai rekrutmen trombosit yang lebih banyak. Perubahan bentuk awal dan agregasi primer masih reversibel, sedangkan gelombang agregasi sekunder merupakan suatu fenomena ireversibel. Agregasi berkaitan dengan perubahan bentuk trombosit dari diskoid menjadi sferikal dengan pseudopoda (Nneka NI et al, 2012).

Faktor-faktor yang dilepaskan oleh trombosit dan jaringan yang cedera menyebabkan aktivasi serangkaian tahap koagulasi. Keadaan ini menyebabkan pembentukan trombin, yang selanjutnya mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Pengikatan silang berikutnya pada untai fibrin tersebut menstabilkan bekuan (Stringer, 2008). Selanjutnya, sistem koagulasi akan memproduksi fibrin yang saling berikatan silang yang membentuk bekuan fibrin atau trombus yang memperkuat proses penutupan luka. Proses rekanalisasi pembuluh darah dapat dilakukan melalui fibrinolisis (Despopoulos dan Silbernagl, 2003).

Agregasi platelet ini ditingkatkan oleh trombin (IIA) yang berikatan dengan reseptor yang diaktivasi oleh protease (PAR 1 dan PAR 4) dan distabilisasi oleh GP

Iib/IIIa yang diekspresikan pada permukaan platelet, yang mengarah pada ikatan fibrinogen dan agregasi platelet (Despopoulos dan Silbernagl, 2003). Reseptor P2Y1 dan P2Y12 merupakan reseptor untuk ADP dan ketika terstimulasi akan mengaktifasi GP Iib/IIIa dan COX 1 yang meningkatkan sekresi dan daya adesi platelet sehingga memudahkan untuk berikatan dengan fibronektin subendotelial. Tromboksan A2 (TXA2) merupakan produk dari COX 1 yang mengaktifasi agregasi platelet sedangkan PGI2 atau prostasiklin dihasilkan oleh sel endotel untuk menghambat aktivasi agregasi platelet (Brunton, 2006).

## 2.3 Laju Endap Darah

### 2.3.1 Definisi Laju Endap Darah

Laju Endap Darah merupakan kecepatan pengendapan sel darah merah dari suatu sampel darah yang diperiksa dalam suatu alat tertentu yang dinyatakan dalam mm/jam. Laju Endap Darah merupakan indikator nonspesifik bagi perkembangan penyakit (Isbister dan Pittiglio, 1999). LED juga diistilahkan dalam bahasa asing BBS (*Blood Bezenking Snelheid*), BSR (*Blood Sedimentation Rate*), ESR (*Erythrocyte Sedimentation Rate*) dan dalam bahasa Indonesia adalah KPD (Kecepatan Pengendapan Darah) (Depkes, 1992). Nilai LED dapat digunakan sebagai indikasi inflamasi dan akan meningkat pada berbagai penyakit (Nordensen, 2002).

### 2.3.2 Fungsi Pemeriksaan Laju Endap Darah

1. Untuk mengevaluasi pasien dengan gejala tidak dapat dijelaskan atau dengan status yang dapat memperburuk kesehatan (inflamasi atau infeksi tertentu yang belum diketahui penyebabnya).
2. Untuk memonitor perkembangan penyakit.
3. Digunakan untuk memantau aktivitas arteritis temporalis, polimialgia reumatika, inflamasi arthritis dan beberapa infeksi.
4. Sebagai indeks rasa sakit atau sebagai acuan untuk melihat beberapa infeksi spesifik pada kasus-kasus tertentu (Brigden, 2005).

### 2.3.3 Fase-fase Laju Endap Darah

#### a. Fase pertama (fase pembentukan rouleaux)

Pada fase ini terjadi rouleaux formasi yaitu eritrosit mulai saling menyatukan diri. Waktu yang dibutuhkan adalah dari beberapa menit hingga 30 menit. Adanya makromolekul dengan konsentrasi tinggi di dalam plasma, dapat mengurangi sifat saling menolak di antara sel eritrosit, dan mengakibatkan eritrosit lebih mudah melekat satu dengan yang lain, sehingga memudahkan terbentuknya rouleaux. Rouleaux adalah gumpalan eritrosit yang terjadi bukan karena antibodi atau ikatan konvalen, tetapi karena saling tarik-menarik di antara permukaan sel. Bila perbandingan globulin terhadap albumin meningkat atau kadar fibrinogen sangat tinggi, pembentukan rouleaux dipermudah hingga LED meningkat.

#### b. Fase kedua (fase pengendapan cepat)

Fase ini disebut juga fase pengendapan maksimal, karena telah terjadi agregasi atau pembentukan rouleaux atau dengan kata lain partikel-partikel eritrosit menjadi lebih besar dengan permukaan yang lebih kecil sehingga menjadi lebih cepat pula pengendapannya. Kecepatan pengendapan pada fase ini adalah konstan. Waktunya 30 menit sampai 120 menit.

#### c. Fase ketiga (fase pengendapan lambat/ pepadatan)

Fase ini terjadi pengendapan eritrosit yang sangat lambat. Dalam keadaan normal dibutuhkan waktu setengah jam hingga satu jam untuk mencapai fase ketiga tersebut. Pengendapan eritrosit ini disebut sebagai laju endap darah dan dinyatakan dalam mm/jam.

### 2.3.4 Nilai Laju Endap Darah

#### a. Nilai Normal Laju Endap Darah

Nilai normal LED berdasarkan metode Westergen adalah sebagai berikut :

##### 1) Pada orang dewasa :

- a) Laki-laki dibawah 50 tahun : 0-15 mm/jam
- b) Laki-laki diatas 50 tahun : 0-20 mm/jam



c) Wanita dibawah 50 tahun : 0-20 mm/jam

d) Wanita diatas 50 tahun : 0-30 mm/jam

2) Pada anak-anak :

a) Bayi yang baru lahir : 0-2 mm/jam

b) Anak-anak dan remaja : 3-13 mm/jam

3) Pada Tikus :

a) Tikus berkelamin jantan : <0,7 mm/jam

b) Tikus berkelamin betina : <1,8 mm/jam

### 2.3.5 Faktor-Faktor yang mempengaruhi Laju Endap Darah

#### a. Faktor eritrosit

Faktor terpenting yang menentukan kecepatan endapan eritrosit adalah ukuran atau masa dari partikel endapan. Pada beberapa penyakit dengan gangguan fibrinogen plasma dan globulin, dapat menyebabkan perubahan permukaan eritrosit dan peningkatan LED, LED berbanding terbalik dengan viskositas plasma.

#### b. Faktor plasma

Beberapa protein plasma mempunyai muatan positif dan mengakibatkan muatan permukaan eritrosit menjadi netral, hal ini menyebabkan gaya menolak eritrosit menurun dan mempercepat terjadinya agregasi atau endapan eritrosit. Beberapa protein fase akut seperti fibrinogen dan globulin memberikan kontribusi terjadinya agregasi. Selain itu kadar kolesterol yang meningkat juga berbanding lurus dengan peningkatan nilai LED (Kiswari, 2014).

#### c. Faktor teknik dan mekanik

Faktor terpenting pemeriksaan LED adalah tabung harus betulbetul tegak lurus, perubahan dan menyebabkan kesalahan sebesar 30%. Selain itu selama pemeriksaan rak tabung tidak boleh bergetar atau bergerak. Panjang

diameter bagian dalam tabung LED juga mempengaruhi hasil pemeriksaan. (Kiswari, 2014).

### 2.3.6 Faktor yang meningkatkan Laju Endap Darah

- a. Jumlah eritrosit kurang dari normal.
- b. Ukuran eritrosit yang lebih besar dari ukuran normal, sehingga lebih mudah atau cepat membentuk rouleaux, sehingga LED dapat meningkat.
- c. Peningkatan kadar fibrinogen dalam darah akan mempercepat pembentukan rouleaux, sehingga LED dapat meningkat.
- d. Tabung pemeriksaan digoyang/bergetar akan mempercepat pengendapan, LED dapat meningkat.
- e. Suhu saat pemeriksaan lebih tinggi dari suhu ideal ( $>20$  C) akan mempercepat pengendapan, sehingga LED dapat meningkat.

### 2.3.7 Faktor yang menurunkan Laju Endap Darah.

Eritrosit dengan bentuk abnormal atau tidak teratur, seperti sel sabit atau sferosit akan menghambat pembentukan *rouleaux* sehingga menurunkan LED. Lekositosis berat, polisitemia, abnormalitas protein (*hyperviskositas*), faktor teknik (problem pengenceran, darah sampel beku, tabung LED pendek, getaran pada saat pemeriksaan). (Kiswari, 2014).

## 2.4 Periodontitis

Periodontitis merupakan peradangan atau inflamasi yang menyerang jaringan pendukung gigi. Jaringan periodonsium atau jaringan pendukung gigi terdiri dari gingiva, ligamen periodontal, tulang alveolar dan sementum. Periodontitis dikenal sebagai *bacterial inflammatory disease*, yaitu suatu infeksi mikrobial yang merangsang respon inflamasi pada jaringan periodonsium dan mengakibatkan kerusakan jaringan periodonsium. Proses ini ditandai dengan adanya kerusakan perlekatan jaringan gingiva, resorpsi tulang alveolar, migrasi *junctional epithelium* ke arah apikal dan pembentukan *pocket* periodontal (Caranza., 2012).

#### 2.4.1 Etiologi

Periodontitis dapat disebabkan oleh karena bakteri patogen seperti *porphyromonas gingivalis* yang berkoloni pada plak gigi. Plak gigi merupakan massa kompleks yang berisi bakteri dan produk metabolismenya (Caranza, 2012). Ada sekitar 10 spesies bakteri yang telah diidentifikasi sebagai bakteri penyebab periodontitis, terutama bakteri batang gram negatif. *Actinobasillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus* dan *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri gram negatif yang paling sering dikaitkan dengan keadaan periodontitis (Mansons; 2004).

#### 2.4.2 Patogenesis

Bakteri subgingival berkontribusi langsung terhadap kerusakan jaringan pendukung gigi dengan mengeluarkan substansi berbahaya, tetapi yang paling berpengaruh dalam patogenesis periodontitis adalah aktifnya respon inflamasi-imun host yang menyebabkan kerusakan jaringan. Adanya bakteri patogen pada subgingival memicu respon inflamasi-imun host pada jaringan periodontal. Hal ini ditandai dengan kesalahan regulasi dan peningkatan produksi sitokin inflamasi (seperti interleukin dan tumor necrosis factor  $\alpha$ ), prostanoïd (seperti prostaglandin E2) (Caranza, 2012). Bakteri plak memproduksi enzim protease yang mampu memecah struktur protein pada jaringan periodontal seperti kolagen, elastin dan fibronectin. Protease dari bakteri dapat mengacaukan respons inflamasi, merusak keutuhan jaringan, dan memfasilitasi bakteri menginvasi jaringan (Caranza, 2012). *Porphyromonas gingivalis* menghasilkan dua jenis *cysteine proteases* yang terlibat dalam pathogenesis periodontitis. Lebih dikenal sebagai gingipains dan termasuk lysine spesifik gingipain Kgp dan arginine spesifik gingipains RgpA dan RgpB. Gingipains ini dapat mengganggu sistem imun, mengganggu respon inflamasi-imun, dan meningkatkan kerusakan jaringan. Gingipains ini dapat menurunkan konsentrasi sitokin dari dalam sel dan mengurai dan menonaktifkan TNF. Gingipains dapat juga menstimulasi sekresi sitokin melalui aktivasi *protease-activated receptors* (PARs).

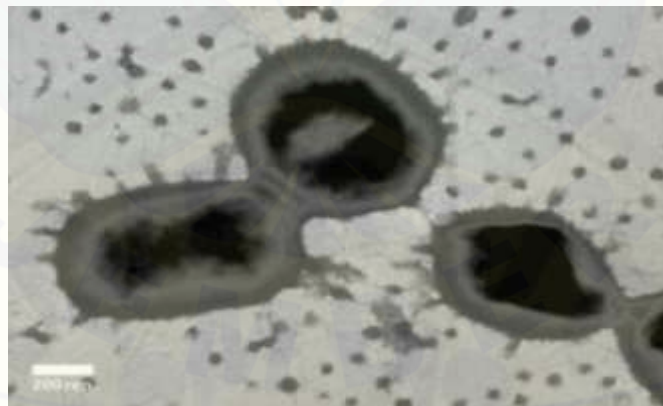
Contohnya, RgpB mengaktifkan dua jenis PARs (PAR-1 and PAR-2), dengan begitu menstimulasi sekresi sitokin dan Rgp dan Kgp gingipains menstimulasi sekresi IL-6 dan IL-8 dari monosit melalui aktivasi dari PAR-1, PAR-2 dan PAR-3.

## 2.5 *Porphyromonas gingivalis*

### 2.5.1 Klasifikasi

Dalam sistem taksonomi, *P.gingivalis* diklasifikasikan sebagai berikut (Olsen *et al.*, 1999) :

<i>Kingdom</i>	: <i>Bacteria</i>
<i>Superphylum</i>	: <i>Bactroidetes/Chlorobi group</i>
<i>Phylum</i>	: <i>Bacteroidetes</i>
<i>Class</i>	: <i>Bacteroides</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Bacteroidales</i>
<i>Family</i>	: <i>Porphyromonadaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Porphyromonas</i>
<i>Species</i>	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>



**Gambar 2.1** *Porphyromonas gingivalis*

### 2.5.2 Habitat

*Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri yang berada pada berbagai tempat dalam tubuh manusia seperti saluran pencernaan dan saluran genital wanita,

serta diberbagai lokasi infeksi dalam tubuh. *Porphyromonas gingivalis* juga merupakan flora normal dalam rongga mulut khususnya pada bagian sub gingiva dan dapat ditemukan pada infeksi jaringan periodontal dan endodontal. Habitat utama bakteri ini pada poket periodontal orang yang sedang menderita periodontitis. (Amano *et al.*, 1996).

### 2.5.3 Morfologi

*Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri anaerob gram negatif yang tidak berspora dan tidak memiliki alat gerak. Bakteri ini berbentuk *bacill* dengan panjang 0,5-2  $\mu\text{m}$ . Pertumbuhannya sangat dipengaruhi oleh adanya protein jenis *hydrolysates*, seperti: *tryptiase*, *protease peptone*, dan ekstrak *yeast*. Temperatur maksimal untuk bakteri bakteri ini dapat tumbuh adalah 37° C. Dinding sel peptidoglikanya mengandung lisin sebagai asam diamino. Pertumbuhan bakteri yang signifikan dapat dipengaruhi oleh tersedianya karbohidrat. Substrat nitrogenous seperti *protease peptone*, *tryptiase* dan ekstrak *yeast* dapat meningkatkan pertumbuhan dari bakteri ini. Produk fermentasi yang utama dari media yang terkandung dalam substrat ini adalah n-butirat, propanal dan asam asetat dengan tingkat yang lebih rendah untuk isobutil, iso valerat, suksinat dan asam fenilasetat (Olsen *et al.*, 2010).

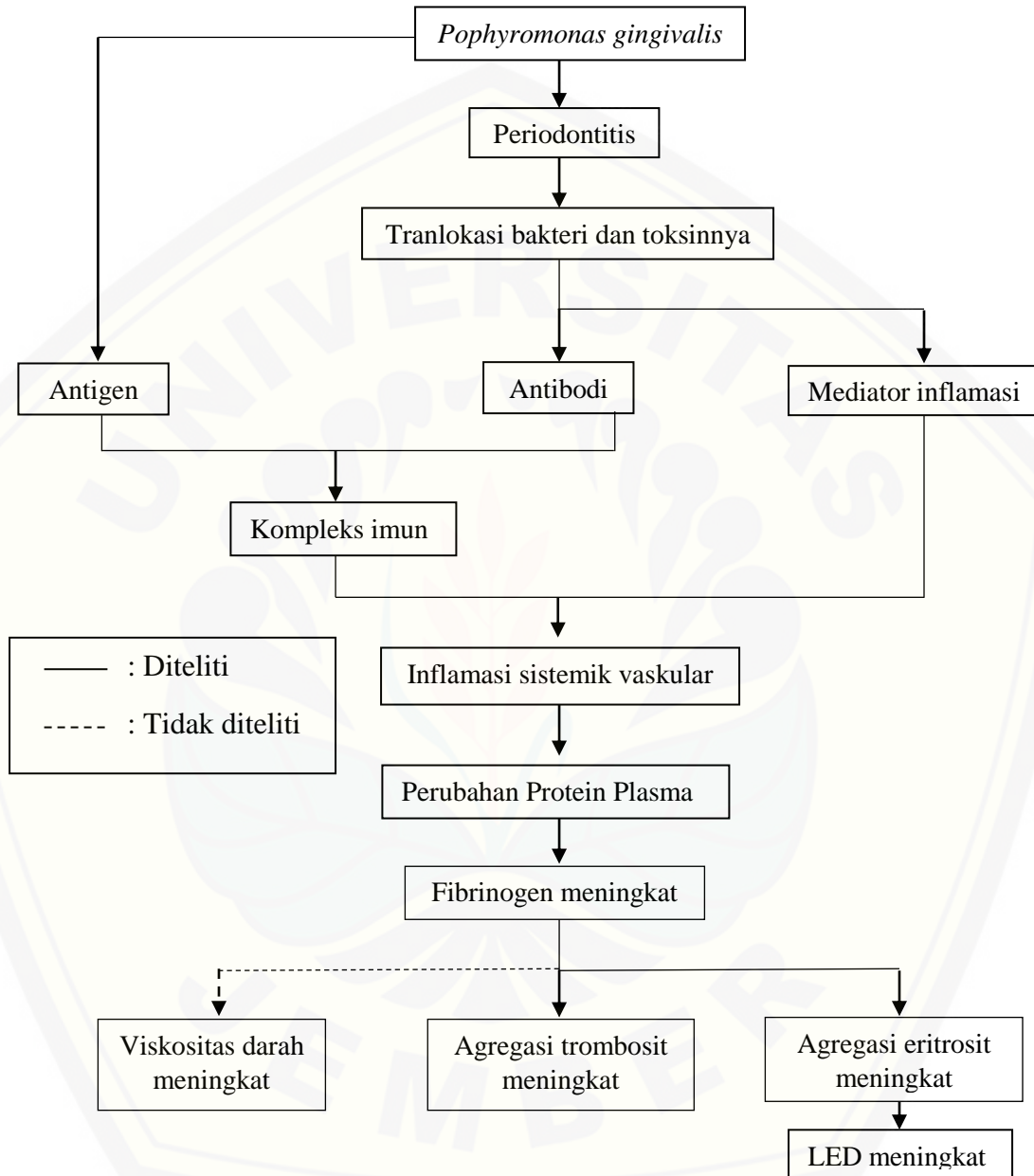
## 2.6 Hubungan Periodontitis Terhadap Agregasi Trombosit Dan Laju Endap Darah (LED)

*P. gingivalis* merupakan salah satu bakteri gram negatif yang dapat menyebabkan periodontitis dengan mengeluarkan produk seperti lipopolisakarida (LPS). Periodontitis dapat menyebabkan kondisi inflamasi sistemik vaskular. (Hatta., 2011). Kondisi inflamasi sistemik vaskular akan meningkatkan pelepasan sitokin proinflamasi seperti interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) dan *tumor necrosis factor* (TNF) yang merupakan mediator inflamasi yang paling penting. TNF menginduksi produksi IL-1, yang kemudian mengarahkan sintesis IL-6. Peningkatan

kadar IL-6 menyebabkan meningkatnya sekresi fibrinogen oleh sel-sel hepatosit (Kumar *et al.*, 2012).

Fibrinogen merupakan mayor plasma protein, dan oleh karena itu sedikit peningkatan dari kadar fibrinogen akan dapat secara signifikan berdampak pada viskositas darah, agregasi trombosit, dan agregasi eritrosit. Fibrinogen berperan dalam proses agregasi trombosit sebagai molekul adhesi terhadap trombosit dan sel endotelial. Fibrinogen akan bertindak sebagai jembatan molekul diantara sepasang trombosit yang berdekatan dan teraktivasi. (Dalimunthe., 2013). Peningkatan fibrinogen mengakibatkan eritrosit saling mendekat, menumpuk dan membentuk *rouleaux*. Dalam bentuk *rouleaux* eritrosit akan menjadi lebih berat dan semakin cepat mengendap. Semakin banyak eritrosit yang membentuk *rouleaux*, maka nilai LED akan semakin besar (Nonderson, 2002).

## 2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.2 Skema Kerangka Konsep

## 2.7 Hipotesis

Periodontitis dapat meningkatkan kadar agregasi trombosit dan laju endap darah

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen laboratoris dengan rancangan *the post test only control group design*, yaitu melakukan pengamatan atau pengukuran setelah perlakuan dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol (Notoatmodjo, 2005).

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium *Bioscience* Universitas Jember. Proses perlakuan hewan coba, pengambilan sampel darah dan pemeriksaan laju endap darah di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pembuatan suspensi bakteri *P. Gingivalis* dan pemeriksaan agregasi trombosit dilaksanakan di Laboratorium *Bioscience* Universitas Jember. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September sampai dengan Oktober 2016. Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

### 3.3 Variabel Penelitian

#### 3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah model tikus periodontitis.

##### a. Definisi Operasional

Model tikus periodontitis adalah simulasi periodontitis kronis pada hewan coba yang ditandai oleh resorpsi tulang alveolar secara horizontal ke arah apikal yang dilihat melalui foto klinis dan foto radiologis. Tikus periodontitis dibuat dengan memasang *wire ligature* pada servikal gigi molar rahang bawah kiri dan injeksi *P. gingivalis* pada sulkus gingiva gigi



molar kiri rahang bawah bagian bukal dengan konsentrasi 0,5 McFarland (setara  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml) sebanyak 50  $\mu$ l tiga kali seminggu setiap hari senin, rabu dan jumat selama 14 hari, 21 hari, dan 28 hari.

#### b. Parameter

Adanya periodontitis ditandai dengan gambaran klinis dan radiografis resorpsi horizontal tulang alveolar.

#### c. Metode Pengukuran

Pengamatan klinis periodontitis ditunjukkan dengan posisi *alveolar crest* yang lebih ke apikal. Pengamatan radiografis periodontitis ditunjukkan adanya gambaran radiolusen pada daerah *alveolar crest*.

### 3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah agregasi trombosit dan laju endap darah, yang ditandai dengan meningkatnya atau menurunnya nilai agregasi trombosit dan laju endap darah pada tikus wistar model periodontitis.

#### 1. Definisi Operasional

Agregasi trombosit adalah densitas optikal suspensi trombosit pada tabung reaksi yang diamati menggunakan alat spektrofotometer secara spektrofotometrik dan mikroskopik untuk melihat ada/tidak agregat trombositnya.

Laju endap darah adalah kecepatan pengendapan sel-sel darah merah di dalam tabung berisi darah yang diletakkan secara vertikal dan telah diberi anti-koagulan tertentu dalam waktu satu jam.

#### 2. Parameter

Nilai densitas optikal dari suspensi trombosit dan kecepatan laju endap darah dalam satuan mm/jam.

#### 3. Metode Analisis

Darah diambil secara intrakardial kemudian disentrifuge dan diambil supernatannya lalu disuspensikan dalam *Hank's Balanced Salt Solution*

(HBSS) sehingga didapatkan suspensi trombosit. Lalu dilakukan pengukuran dengan menggunakan metode spektrofotometrik.

Darah yang diambil secara intrakardial dimasukkan dalam tabung berisi anti-koagulan (EDTA) lalu dilakukan pengukuran menggunakan metode *westgren*.

### 3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dari penelitian ini adalah :

a. Kriteria hewan coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus wistar jantan dengan umur 3-4 bulan, berat badan 150-200 gram, dan kondisi fisik baik.

b. Pakan dan minum tikus

Semua kelompok tikus diberikan pakan standar merk turbo, Indonesia dan minum *ad libitum*.

c. Tempat dan cara pemeliharaan tikus

Tikus ditempatkan pada kandang dengan ukuran 30x30cm. Setiap kandang berisi 4 ekor tikus. Kandang dibersihkan secara berkala 4 hari sekali.

d. *Porphyromonas gingivalis*.

*P. gingivalis* digunakan sebanyak 0,05 ml dengan konsentrasi  $2 \times 10^9$  CFU/ml. Pemberian tiga kali seminggu pada hari senin, rabu, dan jumat. Frekuensi injeksi tersebut untuk membentuk infeksi kronis pada hewan coba.

e. Pemasangan *Wire Ligature*

Pemasangan *wire ligature* berbentuk U dengan diameter kawat 0,5 mm pada servikal gigi molar bawah kiri.

f. Prosedur penelitian

Prosedur penelitian terdiri dari tahap perlakuan selama 14 hari, 21 hari dan 28 hari.

g. Pengambilan sampel darah setelah paparan *Porphyromonas gingivalis*.

### 3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.4.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) kelompok kontrol dan kelompok yang mengalami periodontitis.

#### 3.4.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian memiliki kriteria sebagai berikut :

a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah jenis tikus yang digunakan dalam penelitian tikus Wistar (*Rattus norvegicus*), jenis kelamin jantan, berat badan tikus 150-200 gram, umur 3-4 bulan, pakan yang seragam, yaitu diet normo kolesterol standar berupa pakan merk turbo dan minum secara *ad libitum*, dan kondisi sehat ditandai dengan nafsu makan baik dan perilaku normal.

b. Kriteria Eksklusi

Kriteria Eksklusi adalah tikus yang sakit dan mati selama penelitian.

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 sampel.

#### 3.4.3 Besar Sampel

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

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

Keterangan :

n : besar sampel tiap kelompok

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

Z : 1,96

$\sigma$  : standar deviasi sampel

d : kesalahan yang masih dapat di toleransi

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

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

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

$$n \geq 3,84$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan rumus di atas, jumlah sampel minimum yang harus digunakan adalah 4 sampel untuk masing-masing kelompok. Pada penelitian ini menggunakan 16 ekor tikus sebagai sampel yang terbagi secara acak dalam 4 kelompok.

### 3.5 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.5.1 Alat Penelitian

Alat – alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah :

- a) Centrifuge
- b) Spektrofotometer
- c) Tabung dari westegren
- d) Rak dari Wetegren
- e) Kandang hewan coba
- f) Wadah pakan
- g) Wadah minum
- h) Timbangan neraca
- i) Jarum insulin 26G (Terumo, Jepang)
- j) *cuvet spektro*
- k) Tang
- l) Model rahang hewan coba
- m) Pinset

- n) Rat Dental Chair
- o) Tabung falcon 15ml
- p) Pipet mikro yellow tips
- q) Pipet mikro blue tips
- r) Pinset anatomis
- s) Pinset *chirurgis*
- t) Gunting
- u) *Scalpel*
- v) Masker
- w) Sarung tangan
- x) Mikroskop cahaya
- y) *Refrigerator*
- z) Objek glass

#### 3.5.2 Bahan Penelitian

- a) Bahan kultur bakteri agar TSA (*Tryptone Soya Agar*)
- b) NaCl fisiologis 0,9%
- c) Tikus wistar jantan
- d) *P. gingivalis* (Tipe ATCC 33277)
- e) Pakan standar (Turbo, Indonesia)
- f) Air minum (Aqua, Indonesia)
- g) Kloroform
- h) Aquades
- i) Kapas steril
- j) HBSS (*Hank's Balanced Salt Solution*)
- k) Larutan citras Naticus 2,8%
- l) *Vacumtube* EDTA
- m) Kawat diameter 0,5 mm (Wipla dental werksatten, Jerman)
- n) Giemsa

o) *immersion oil*

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Tahap Persiapan dan Pembagian Kelompok Hewan Coba

Penelitian ini akan dilakukan pada hewan coba tikus dengan kriteria yang sudah ditentukan. Hewan coba diadaptasikan terhadap lingkungan kandang selama 1 minggu sebelum perlakuan dan juga dilakukan pengukuran berat badan pada hewan coba. Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok secara acak, yaitu:

- 1) Kelompok Kontrol (4 ekor) merupakan kelompok yang tidak diberi perlakuan.
- 2) Kelompok Periodontitis 1 (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi perlakuan injeksi 0,05 ml dengan konsentrasi  $2 \times 10^9$  CFU/ml dan pemasangan *wire ligature* selama 14 hari.
- 3) Kelompok Periodontitis 2 (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi perlakuan injeksi 0,05 ml dengan konsentrasi  $2 \times 10^9$  CFU/ml dan pemasangan *wire ligature* selama 21 hari.
- 4) Kelompok Periodontitis 3 (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi perlakuan injeksi 0,05 ml dengan konsentrasi  $2 \times 10^9$  CFU/ml dan pemasangan *wire ligature* selama 28 hari.

#### 3.6.2 Persiapan Bahan Perlakuan

##### a. Pembuatan suspensi *P. gingivalis*

*Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 (MediMark, France) ditanam pada TSA (Oxoid, England) yang mengandung 10% darah domba, 0,4  $\mu$ l/ml vitamin K<sub>1</sub> dan 5  $\mu$ l/ml hemin, kemudian ditumbuhkan selama 14 hari pada suhu 37°C dalam inkubator anaerobik 80% N<sub>2</sub>, 10 % H<sub>2</sub> dan 10% CO<sub>2</sub>. Untuk membuat suspensi bakteri, maka bakteri disubkultur dan diinkubasi selama 3 hari. Selanjutnya, dipanen dengan ose plastik steril dan dilarutkan dalam larutan salin. Berdasarkan penelitian pendahuluan, konsentrasi *P.gingivalis* untuk periodontitis eksperimental ditentukan

sebesar  $2 \times 10^9$  CFU/ml yang sebanding dengan 6,67 standar McFarland (Kusumawardani, 2012), dan 1 standar McFarland sebanding dengan  $3 \times 10^8$  CFU/ml yang diukur dengan densitometer.

b. *Wire ligature*

*Wire ligature* berukuran diameter 0,5mm dipasangkan pada servikal gigi molar kiri rahang bawah. Pembuatan *wire ligature* dilakukan dengan melakukan pencetakan terlebih dahulu. Model rahang didapat dari hewan coba yang telah didekaputasi dan diambil rahangnya. 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* dibentuk menyerupai huruf U menggunakan tang koil dan dipasang memeluk mesial dari molar tikus, kemudian *wire ligature* ditekan kebawah secara hati-hati agar tepat berada di servikal gigi, posisi akhir dari *wire ligature* adalah di atas sulkus gingiva agar tidak menyebabkan iritasi.



**Gambar 3.1** *wire ligature* berbentuk U dengan diameter kawat 0,5 mm pada servikal gigi molar bawah kiri.

3.6.3 Pelaksanaan Penelitian

Tikus dipasangkan *wire ligature* dan injeksi *P.gingivalis* pada gigi molar pertama rahang bawah kiri tiga kali dalam seminggu selama 14 hari, 21 hari dan 28 hari. Konsentrasi *P. gingivalis* yang digunakan adalah 0,05 ml /  $2 \times 10^9$  CFU/ml. Injeksi *P.gingivalis* diberikan tiga kali seminggu pada hari senin, rabu, dan jumat supaya terjadi infeksi kronis jaringan periodontal.

#### 3.6.4 Pengambilan sampel darah.

Pengambilan sampel darah diakhir penelitian tikus dipuaskan selama 10 jam sebelum dilakukan pengambilan darah (Hardini, 2006). Sebelum dilakukan pengambilan sampel darah, semua peralatan dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70%. Kemudian, tikus diambil dari kandang dan dianastesi dengan cara memasukkan tikus ke dalam tabung yang berisikan kasa yang telah dibasahi oleh *chloroform* hingga tikus hilang kesadaran (Kolondam *et al.*, 2008). Setelah itu, hewan difiksasi sedemikian rupa dan dilakukan pembedahan torax sampai organ jantung terlihat. Kemudian, darah diambil secara intracardial menggunakan *disposable syringe* sebanyak  $\pm 6$  ml. Darah yang telah diambil dimasukkan dalam *vacumtube* berisi antikoagulan EDTA.

#### 3.6.5 Pembuatan Suspensi Trombosit

Preparasi suspensi trombosit diawali dengan mensentrifuse 5ml darah dengan kecepatan 600 rpm selama 10 menit. Supernatan yang mengandung serum dan trombosit diambil, kemudian disentrifuse kembali dengan kecepatan 1700 rpm selama 10 menit. Pelet yang mengandung trombosit dicuci dengan HBSS sebanyak 2 kali. Maka didapatkan PPP (*platelet poor plasma*) yang kemudian disuspensikan kedalam 2,5ml HBSS. Dengan demikian suspensi trombosit siap dilakukan pengukuran dengan alat spektrofotometer (Purwanto, 2009).

#### 3.6.6 Pembuatan Preparat Suspensi Trombosit

Suspensi trombosit yang telah siap diambil sebanyak 10 $\mu$ l menggunakan pipet mikro *yellow tips*. Kemudian suspensi trombosit tersebut dituang pada objek glass. Buat hapusan dengan sekali gerakan sehingga suspensi trombosit terdistribusi rata pada permukaan objek glass. Lakukan fiksasi dengan methanol 2,5% selama 3 menit. Terakhir lakukan pengecatan dengan giemsa selama 10 menit dan bilas dengan air mengalir. Preparat suspensi trombosit siap dilakukan pemeriksaan (Purwanto, 2009).



### 3.6.7 Pengukuran Agregasi Trombosit

Pengukuran agregasi trombosit dilakukan di laboratorium *Bioscience* Universitas Jember menggunakan sampel darah yang telah diambil secara intrakardial pada hewan coba. Uji agregasi trombosit dilakukan dengan metode spektrofotometrik dan mikroskopik. Parameter agregasi trombosit adalah densitas optikal medium cair pada tabung reaksi yang berisi suspensi trombosit. Prinsipnya semakin besar tingkat agregasi trombosit, maka semakin besar berkurangnya densitas optikal. Pengamatan mikroskopik juga dilakukan guna melihat ada atau tidaknya trombosit yang beragregasi. Hal ini dilakukan sebagai konfirmasi bahwa berkurangnya densitas optikal suspensi trombosit dikarenakan adanya agregasi trombosit bukan karena faktor lainnya. Pemeriksaan spektrofotometrik dilakukan dengan menuang 1 ml suspensi trombosit ke dalam *cuvet* spektro. Pengukuran dilakukan dengan panjang gelombang 334 nm menggunakan alat spektrofotometer. Setelah itu keluar besar densitas optikal suspensi trombosit dengan satuan absorben (abs). Pemeriksaan mikroskopik dilakukan pada preparat suspensi trombosit menggunakan mikroskop *inverted* dengan perbesaran 1000x. pemeriksaan mikroskopik dengan perbesaran 1000x dibantu dengan *immersion oil* (Purwanto, 2009).

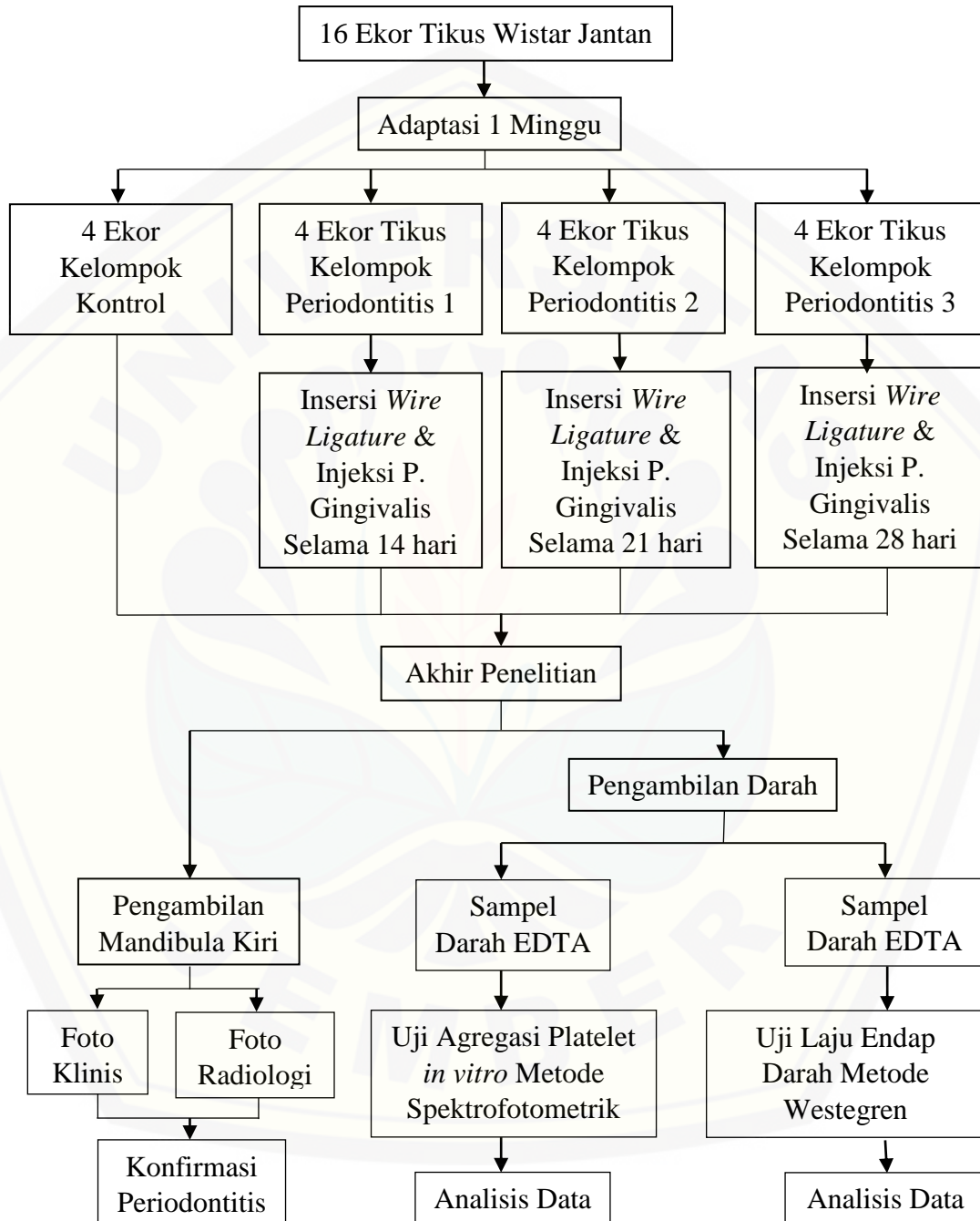
### 3.6.8 Pengukuran Laju Endap Darah

Kemudian dilakukan pengukuran laju endap darah di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember menggunakan sampel darah yang telah diambil. Pengukuran laju endap darah menggunakan metode Westegren. Prinsip dari metode ini adalah darah vena dan antikoagulan tertentu dimasukkan kedalam tabung tertentu dan dicatat kecepatan pengendapan dari eritrosit leukosit. Teknik pengukuran metode ini pertama-tama darah vena dengan EDTA diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% dengan perbandingan 1:4 kemudian dihisap kedalam tabung Westegen sampai tanda 0. Lubang atas tabung ditutup dengan jari lalu ditempatkan di rak Westegren dengan keadaan tepat vertikal, kemudian hasil dibaca setelah satu jam.

### 3.7 Analisa Data

Penelitian ini menghasilkan data kuantitatif berupa data rasio yang menunjukkan hasil perhitungan agregasi trombosit dengan metode spektrofotometrik dan laju endap darah dengan metode Westegren. Data yang didapat diproses dengan program SPSS. Data yang didapat dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Data yang diperoleh kemudian di uji statistik parametrik *Independent One Way ANOVA* kemudian dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* untuk membandingkan tiap variabel antara kelompok kontrol dengan kelompok periodontitis.

### 3.8 Alur Penelitian



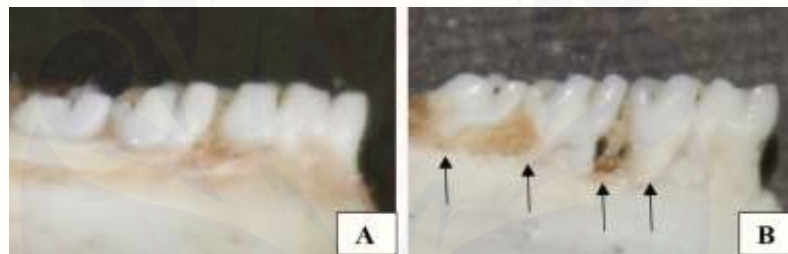
Gambar 3.2 Bagan Alur Penelitian

## BAB. 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

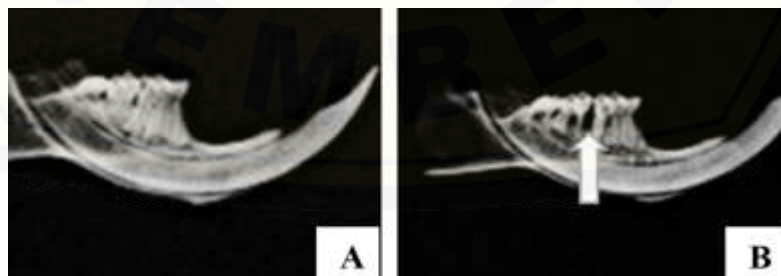
### 4.1 HASIL PENELITIAN

#### 4.1.1 Periodontitis pada Hewan Coba

Hasil penelitian sesuai waktu yang telah ditentukan pada hewan coba menunjukkan adanya periodontitis. Periodontitis pada hewan coba dapat dikonfirmasi dengan adanya resorpsi tulang alveolar secara horizontal ke arah apikal. Pemeriksaan klinis menunjukkan bahwa terjadi resorpsi *alveolar crest* secara horizontal ke arah apikal pada rahang bawah kiri model tikus periodontitis (Gambar 4.1). Pemeriksaan radiologis menunjukkan adanya gambaran radiolusen pada daerah tulang alveolar rahang bawah kiri model tikus periodontitis (Gambar 4.2).



**Gambar 4.1** Gambaran klinis tulang alveolar mandibula kiri hewan coba setelah jaringan lunak dibersihkan. Pada kelompok kontrol (A) tulang alveolar dalam keadaan normal yang ditandai dengan tulang alveolar yang tidak mengalami resorpsi. Pada kelompok periodontitis (B) menunjukkan adanya periodontitis yang ditandai posisi *alveolar crest* yang lebih ke apikal (tanda panah).



**Gambar 4.2** Gambaran radiografis tulang alveolar mandibula kiri hewan coba. Pada kelompok kontrol (A) menunjukkan tulang alveolar dalam keadaan normal yang

ditandai dengan tulang alveolar yang tidak mengalami resorpsi. Pada kelompok periodontitis (B) menunjukkan periodontitis yang ditandai adanya gambaran daerah radiolusen pada tulang alveolar (tanda panah).

#### 4.1.2 Agregasi Trombosit

Prinsip pemeriksaan agregasi trombosit dengan metode spektrofotometrik ini adalah semakin rendah nilai *optical density* suspensi trombosit maka semakin tinggi nilai agregasi trombositnya. Hasil pemeriksaan agregasi trombosit pada plasma darah model tikus periodontitis menunjukkan rata-rata tingkat agregasi trombosit yang lebih tinggi pada kelompok perlakuan jika dibandingkan kelompok kontrol. Kelompok periodontitis 2 dengan perlakuan selama 21 hari menunjukkan hasil pengukuran agregasi trombosit tertinggi disusul kelompok periodontitis 3 dengan lama perlakuan selama 28 hari dan kelompok periodontitis 1 dengan lama perlakuan 14 hari. Hasil pemeriksaan agregasi trombosit pada plasma darah hewan coba kelompok kontrol dan kelompok periodontitis ditunjukkan pada tabel 4.1 dan gambar 4.3. Sedangkan hasil pemeriksaan mikroskopik pada preparat suspensi trombosit untuk mengkonfirmasi terdapat adanya agregat trombosit ditunjukkan pada gambar 4.4.

**Tabel 4.1** Hasil pengukuran agregasi trombosit

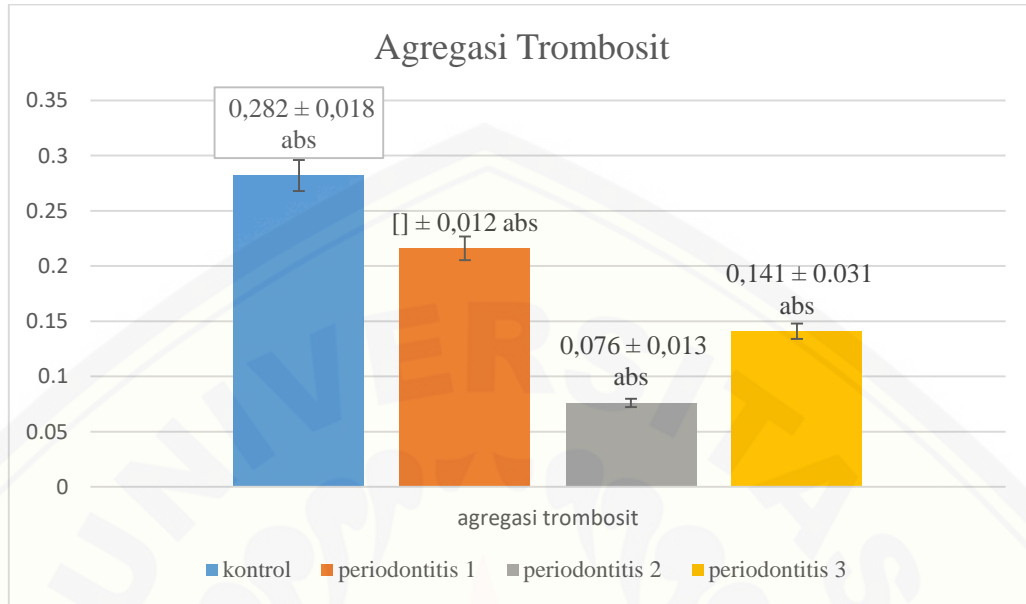
Sampel	Agregasi Trombosit ( <i>optical density</i> )			
	Kontrol	Periodontitis 1	Periodontitis 2	Periodontitis 3
<b>1</b>	0,269	0,204	0,073	0,161
<b>2</b>	0,276	0,208	0,094	0,131
<b>3</b>	0,308	0,231	0,064	0,170
<b>4</b>	0,276	0,221	0,074	0,102
<b>Rata-rata±SD</b>	0,282±0.018	0,216±0.012	0,076±0.013	0,141±0.031

SD : standar deviasi

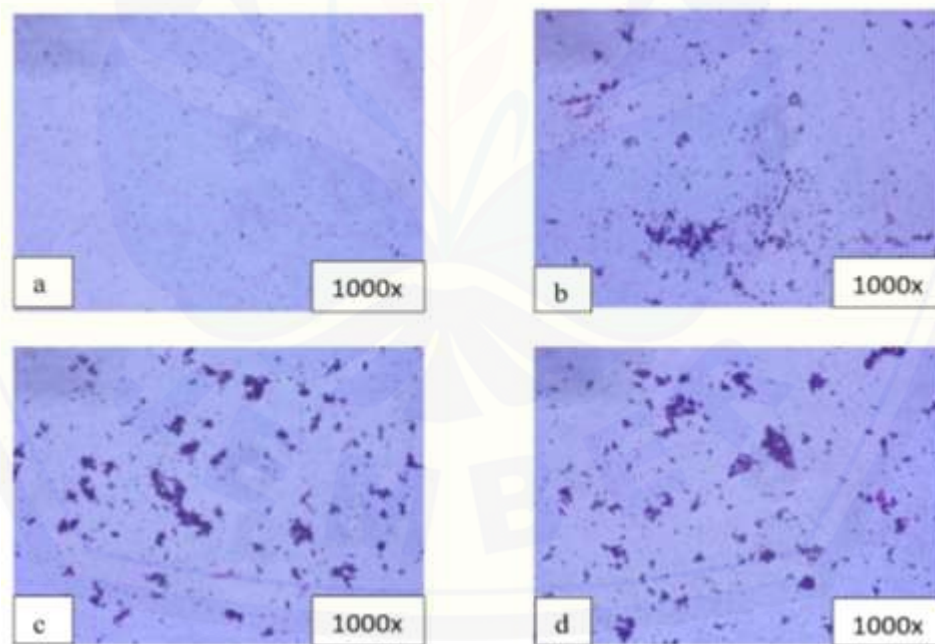
Periodontitis 1 : kelompok perlakuan selama 14 hari

Periodontitis 2 : kelompok perlakuan selama 21 hari

Periodontitis 3 : kelompok perlakuan selama 28 hari



**Gambar 4.3** Hasil pengukuran agregasi trombosit



**Gambar 4.4** Agregasi Trombosit pada suspensi trombosit plasma darah hewan coba (a) kelompok kontrol, (b) kelompok periodontitis 1 dengan perlakuan selama 14 hari, (c) kelompok periodontitis 2 dengan perlakuan selama 21 hari, (d) kelompok

periodontitis 3 dengan perlakuan selama 28 hari yang diamati dengan mikroskop inverted pembesaran 1000x.

#### 4.1.3 Laju Endap Darah

Prinsip pengukuran laju endap darah dengan metode westegren adalah semakin cepat terjadi pengendapan sel darah merah selama satu jam maka semakin tinggi nilai laju endap darahnya. Hasil pemeriksaan laju endap darah pada hewan coba menunjukkan rata-rata tingkat laju endap darah yang lebih tinggi pada kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kelompok periodontitis 1 dengan perlakuan selama 14 hari menunjukkan peningkatan hasil pengukuran laju endap darah jika dibandingkan kelompok kontrol. Kelompok periodontitis 2 dengan perlakuan selama 21 hari menunjukkan nilai laju endap darah tertinggi. Kelompok periodontitis 3 dengan perlakuan selama 28 hari menunjukkan penurunan nilai laju endap darah jika dibandingkan kelompok periodontitis 2 namun tetap lebih tinggi jika dibandingkan kelompok kontrol, dan periodontitis 1. Hasil pemeriksaan laju endap darah pada darah hewan coba kelompok kontrol dan kelompok periodontitis ditunjukkan pada tabel 4.2 dan gambar 4.5.

**Tabel 4.2** Hasil pengukuran laju endap darah

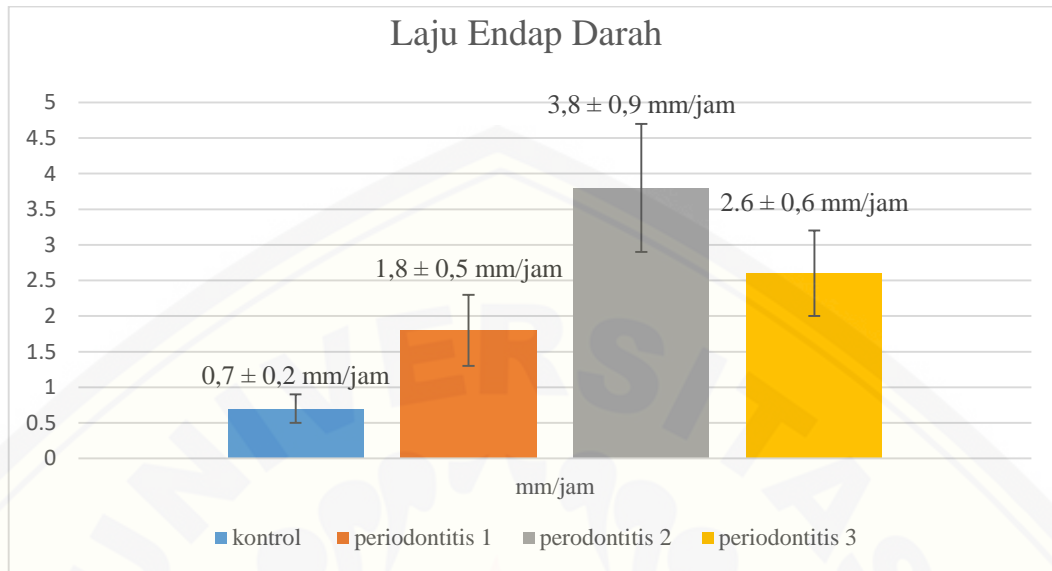
Sampel	Laju Endap Darah (mm/jam)			
	Kontrol	Periodontitis 1	Periodontitis 2	Periodontitis 3
<b>1</b>	0,7	2	5	3
<b>2</b>	0,5	1,5	3,5	2,5
<b>3</b>	1	2,5	4	2,5
<b>4</b>	0,5	1,5	3	2
<b>Rata-rata±SD</b>	0,7±0,2	1,8±0,5	3,8±0,9	2,6±0,6

SD : standar deviasi

Periodontitis 1 : kelompok perlakuan selama 14 hari

Periodontitis 2 : kelompok perlakuan selama 21 hari

Periodontitis 3 : kelompok perlakuan selama 28 hari



**Gambar 4.5** Hasil pengukuran laju endap darah

#### 4.1.4 Analisis Data

##### a. Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

Hasil uji normalitas *Shapiro-wilk* untuk agregasi trombosit (tabel 4.3) dan laju endap darah (tabel 4.4) menunjukkan data terdistribusi normal. Uji homogenitas *Levene-test* untuk agregasi trombosit dan laju endap darah (tabel 4.5) menunjukkan data terdistribusi homogen.

**Tabel 4.3** Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* agregasi trombosit

Kelompok	<i>P</i>	Keterangan
Kontrol	0,076*	Normal
Periodontitis 1	0,638*	Normal
Periodontitis 2	0,424*	Normal
Periodontitis 3	0,623*	Normal

*p* : Nilai signifikansi

\* : Hasil yang signifikan ( $p > 0,05$ )



**Tabel 4.4** Uji Normalitas *Shapiro-wilk* laju endap darah

Kelompok	<i>p</i>	Keterangan
Kontrol	0,220*	Normal
Periodontitis 1	0,272*	Normal
Periodontitis 2	0,850*	Normal
Periodontitis 3	0,406*	Normal

*p* : Nilai signifikansi

\* : Hasil yang signifikan ( $p > 0,05$ )

**Tabel 4.5** Uji Homogenitas *Levene-test* agregasi trombosit dan laju endap darah

Kelompok	<i>p</i>	Keterangan
Agregasi Trombosit	0,099*	Homogen
LED	0,303*	Homogen

*p* : Nilai signifikansi

\* : Hasil yang signifikan ( $p > 0,05$ )

#### b. Uji *One Way Anova* dan *Least Significant Difference*

Hasil uji *One Way Anova* agregasi trombosit dan laju endap darah (tabel 4.6) menunjukkan hasil yang bermakna ( $p < 0,05$ ). Setelah diketahui hasil uji *One Way Anova* untuk agregasi trombosit dan laju endap darah terdapat perbedaan bermakna, maka analisis data dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda. Hasil uji LSD (tabel 4.7) menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) antara semua kelompok pengukuran agregasi trombosit. Hasil uji LSD untuk kelompok pengukuran laju endap darah (tabel 4.8) menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna  $p = 0,09$  ( $p > 0,05$ ) antara kelompok periodontitis 1 dan periodontitis 3. Sedangkan hasil uji LSD untuk kelompok yang lain menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) antar kelompoknya.

**Tabel 4.6** Uji *One Way Anova* agregasi trombosit dan laju endap darah

Kelompok	<i>p</i>	Keterangan
Agregasi Trombosit	0,000*	Signifikan
LED	0,000*	Signifikan

*p* : Nilai signifikansi

\* : Hasil yang signifikan ( $p < 0,05$ )

**Tabel 4.7** Uji *Least Significant Difference* agregasi trombosit

Kelompok Penelitian	Kontrol	Periodontitis 1	Periodontitis 2	Periodontitis 3
Kontrol	-	0,000*	0,000*	0,000*
Periodontitis 1	0,000*	-	0,000*	0,000*
Periodontitis 2	0,000*	0,000*	-	0,000
Periodontitis 3	0,000*	0,000*	0,001*	-

Kontrol : kelompok tanpa perlakuan

Periodontitis 1 : kelompok perlakuan selama 14 hari

Periodontitis 2 : kelompok perlakuan selama 21 hari

Periodontitis 3 : kelompok perlakuan selama 28 hari

\* : Hasil yang signifikan ( $p < 0,05$ )

**Tabel 4.8** Uji *Least Significant Difference* laju endap darah

Kelompok Penelitian	Kontrol	Periodontitis 1	Periodontitis 2	Periodontitis 3
Kontrol	-	0,014*	0,000*	0,001*
Periodontitis 1	0,014*	-	0,000*	0,099
Periodontitis 2	0,000*	0,000*	-	0,012
Periodontitis 3	0,001*	0,099	0,012*	-

Kontrol : kelompok tanpa perlakuan

Periodontitis 1 : kelompok perlakuan selama 14 hari

Periodontitis 2 : kelompok perlakuan selama 21 hari

Periodontitis 3 : kelompok perlakuan selama 28 hari

\* : Hasil yang signifikan ( $p < 0,05$ )

## 4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini terdapat dua parameter yang diamati, yaitu nilai agregasi trombosit dan nilai laju endap darah sebagai variabel terikat. Sampel darah yang digunakan pada penelitian ini berasal dari model tikus periodontitis sebagai variabel

bebas. Agregasi trombosit diamati untuk melihat ada tidaknya peningkatan nilai agregasi trombosit pada sampel plasma darah model tikus periodontitis. Laju endap darah diamati untuk melihat ada tidaknya peningkatan nilai laju endap darah pada sampel darah model tikus periodontitis. Penelitian ini mengamati peningkatan nilai agregasi trombosit dan laju endap darah dari kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan yang dibedakan berdasarkan lama perlakuan yang diberikan pada hewan coba. Perlakuan berupa injeksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan pemasangan *wire ligature* yang mengakibatkan kondisi periodontitis dan menginduksi kondisi inflamasi sistemik pada hewan coba.

Agregasi trombosit merupakan kemampuan trombosit untuk saling melekat satu dengan yang lain dalam membentuk suatu sumbatan (Despopoulos dan Silbernagl, 2003). Trombosit merupakan sel yang tidak berinti namun mitokondrianya mampu melepas *adenosine diphosphate* (ADP) (Guyton dan Hall, 2008). ADP yang dilepaskan oleh trombosit dapat merangsang perlekatan antar trombosit. Hal ini diikuti dengan pelepasan isi granul yang dapat merangsang trombosit lain untuk beragregasi. Selain ADP agen seperti epinefrin, kolagen, fibrinogen, trombin, kompleks imun dan faktor yang mengaktifasi trombosit (*platelet-activating factor*) dapat menginduksi agregasi trombosit (Suliarni, 2003).

Laju Endap Darah (LED) adalah kecepatan mengendapnya eritrosit dari suatu sampel darah yang diperiksa dalam suatu alat tertentu yang dinyatakan dalam mm/jam (Depkes, 1992). Nilai LED dapat digunakan sebagai indikasi inflamasi dan meningkat pada berbagai penyakit (Nordensen, 2002). Nilai LED ditentukan oleh keseimbangan faktor prosedimentasi, terutama fibrinogen dan beberapa faktor penghambat sedimentasi yang disebut eritrosit bermuatan negative (zeta potensial). Saat terjadi inflamasi menyebabkan sel-sel darah merah bergerak saling mendekat dan menumpuk membentuk *rouleaux*. Hal ini menyebabkan sel darah merah menjadi lebih berat dan semakin cepat mengendap (Widmann, 1995).

Periodontitis atau infeksi periodontal dipercaya dapat menginduksi terjadinya inflamasi sistemik (Rose dan Mealey, 2004). Proses inflamasi sistemik merangsang hepar untuk meningkatkan produksi fibrinogen (Yunita, 2012). Fibrinogen berpengaruh kuat terhadap, hemostasis, hemeorologi, agregasi, trombosit, dan fungsi endotel. Sehingga merupakan salah satu faktor yang menentukan viskositas dan aliran darah (Mc Coll.B.W.*et,al* 2008), dan (Cheung *et al.*, 2008). Pada kondisi inflamasi sistemik dalam keadaan stabil sekalipun terdapat peningkatan kadar fibrinogen (Gan WQ, 2004). Peningkatan jumlah fibrinogen ini akan menyebabkan peningkatan viskositas plasma dan peningkatan agregasi trombosit serta eritrosit (Baron, 1990).

Saat terjadi inflamasi, berbagai interleukin yang berasal dari sel granulosit yang mengalami kerusakan merangsang sel-sel hepar untuk meningkatkan produksi fibrinogen dan melepaskannya dalam plasma darah. Fibrinogen dapat membentuk lapisan tipis pada permukaan sel darah merah yang menyebabkan hilangnya muatan negatif pada permukaan eritrosit. Hal ini memicu sel darah membentuk *roulaeux* dan semakin berat sehingga lebih cepat mengendap menghasilkan peningkatan nilai LED (Greenberg, 1996; Roitt dan Lehner, 1998).

Pada penelitian ini, nilai agregasi trombosit dan LED terendah terjadi pada kelompok kontrol. Hal ini dikarenakan hewan coba pada kelompok kontrol dalam keadaan sehat dan tidak menderita inflamasi sistemik. Pada kelompok periodontitis 1 dengan lama perlakuan 14 hari terjadi peningkatan nilai agregasi trombosit dan LED karena kadar fibrinogen meningkat yang diinduksi oleh IL-6 sebagai bentuk respon dari kondisi inflamasi sistemik yang disebabkan oleh periodontitis. Peningkatan tertinggi nilai agregasi trombosit dan LED pada kelompok periodontitis 2 dengan lama perlakuan 21 hari. Hasil ini menunjukkan tingkat inflamasi sistemik tertinggi terjadi pada hari ke-21. Hal ini dikarenakan peningkatan kadar IL-6 dan fibrinogen tertinggi terjadi pada hari ke-21. Terjadinya penurunan nilai agregasi trombosit dan LED pada kelompok periodontitis 3 dengan lama perlakuan 28 hari disebabkan oleh kondisi inflamasi sistemik yang menurun karena sudah memasuki fase penyembuhan

dan adaptasi. Hal ini menyebabkan kadar IL-6 dan fibrinogen dalam plasma darah menurun sehingga tingkat agregasi trombosit dan eritrosit juga menurun tetapi tetap lebih tinggi dari kelompok kontrol.

Hasil penelitian menunjukkan kesesuaian dengan penelitian sebelumnya oleh Ceri A *et al* (2014) yang menunjukkan terjadinya peningkatan kadar IL-6 dalam tubuh sebagai bentuk respon terhadap infeksi pada hari ke 14. Selanjutnya peningkatan kadar IL-6 tertinggi terjadi pada hari ke-21 yang ditandai dengan terjadinya atropi jaringan. Pada hari ke-28 terjadi penurunan kadar IL-6 yang ditunjukkan dengan mulai terbentuknya kolagen sebagai tanda terjadinya proses perbaikan jaringan (Ceri A *et al.*, 2014). IL-6 merangsang sintesis hepatic beberapa protein plasma, khususnya fibrinogen. Peningkatan kadar fibrinogen dapat menyebabkan eritrosit dan trombosit lebih mudah beragregasi (Kumar *et al.*, 2012). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat peningkatan nilai agregasi trombosit dan LED pada suatu kondisi inflamasi sistemik yang disimulasikan pada model tikus periodontitis.

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian tentang agregasi trombosit dan laju endap darah pada model tikus periodontitis dapat disimpulkan bahwa terdapat peningkatan yang bermakna nilai agregasi trombosit dan laju endap darah pada model tikus periodontitis.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berkaitan dengan penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan pengujian agregasi trombosit dengan metode lain yang menggunakan *adenosine diphosphate* (ADP) sebagai induktor.
2. Perlu penelitian lanjut untuk meneliti viskositas darah, peningkatan kadar fibrinogen, dan IL-6 pada model tikus periodontitis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amano, A., A. Sharma., J. Y. Lee., H. T. Sojar., dan Periathamby. 1996. *Structural Domains of Porphyromonas gingivalis Recombinant Fimbrillin That Mediate Binding to Salivary Proline-Rich Protein and Statherin. Infection And Immunity* Vol. 64 No. 5, 1631–1637.
- Baron, D. N. 1990. *Kapita Selekt Patologi Klinik*, Edisi 4, EGC, Jakarta
- Bridgen, M. L. 2005. *Clinical Utility of the Erythrocyte Sedimentation Rate*. Canada: Cancer Agency
- Brunton, L. L. 2006. *The Pharmacological Basis Therapeutics. 11<sup>th</sup> Edition*. New York: Mc Graw Hill.
- Carranza *et al.* 2008. *Glickman's Clinical Periodontology. 10<sup>th</sup> Edition*. Philadelphia : WB. Saunders Co.
- Caranza, F.A., M. G. Newman., H. H. Takei., dan P. R. Klokkevold. 2012. *Caranza's Clinical Eleventh Edition*. Philadelphia London : Elsevier Saunders.
- Ceri, A. F., W. J. Gareth., M. Rachel. 2014. *Interleukin-6 Signaling Drives Fibrosis in Unresolved Inflammation*. Dublin Ireland : Cell Press.
- Cheung, E. Y. L., M. J. Bos, et al. 2008. *Variation in fibrinogen FGG and FGA genes and risk of stroke-The Rotterdam study. Thrombosis and Haemostasis* 100(2): 308-313.
- Dalimunthe, H. S. 2013. *Hubungan Kadar Fibrinogen Dengan Hasil Pemeriksaan Transcranial Doppler (Tcd) Pada Penderita Stroke Iskemik Akut*. Medan. Universitas Sumatra Utara.
- Depkes. 1992. *Petunjuk Teknis Pemberantasan Nyamuk Penular Penyakit Demam Berdarah Dengue*. Dirjen PPM-PLP. Jakarta: Depkes.
- Despopoulos, A. dan S. Silbernagl. 2003. *Color Atlas of Physiology. 5th Edition*. New York: Stuttgart.

- Gan, W. Q., S. F. Man., A. Senthilselvan., D. D. Sin., 2004. *Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic review and a metaanalysis. Thorax.* 2004;59:574-80.
- Gawaz, M. 2001. *Blood Platelet.1 ed.* Stuttgart; Georg Thieme Verlag; p.42-9;92-3.
- Greenberg, M. S. 1996. *Hematologic Disease; Burkets Oral Medicine.* Philadelphia: Lippincot.
- Guyton, A. C. dan J. E. Hall. 2012. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. 11th ed.* Jakarta: EGC.
- Handayani, T. W. 2013. *Penilaian Kadar Fibrinogen Pada Subjek Sindroma Metabolik Dan Obesitas. Tesis.* Medan. Universitas Sumatra Utara.
- Hatta, M. 2011. *Penyakit Periodontal Dan Hubungannya Dengan Aterosklerosis. Skripsi.* Makassar. Universitas Hasaniddin.
- Hardini, D., Z. Yuwanta., dan Supadmo. 2006. *The change in cholesterol content of long chain fatty acid egg during processing and its influence to the Rattus novergicus L. blood cholesterol content. JITV ;* 11 (4): 260-25.
- Hoffbrand, A. V., J. E. Pettit dan P. A. Moss. 2002. *Trombosit, Pembekuan Darah, dan Hemostasis. Dalam: Hoffbrand, A.V., Pettit, J.E., dan Moss, P.A.H. 2002. Kapita Selektta Hematologi. Edisi Keempat.* Jakarta: EGC.
- Isbister, J. P dan Pittligio, D. H. 1999. *Hematologi Klinik Alih Bahasa : Deny H. Ronardy dari Clinical Hematology.* Jakarta : Perpustakaan Nasional.
- Kiswari, R. 2014. *Hematologi dan Transfusi.* Jakarta : Erlangga, 2014.
- Kolondam BJ, Pokatong W, Tallei T. 2008. *Kadar Trigliserida dan Kolestrol Tikus Wistas (Rattus Novergicus) Setelah Konsumsi Virgin Coconut Oil. Biosaintifika(1):* 35-44.
- Kumar, V., R. S. Cotran., dan S. L. Robbins. 2012. *Buku Ajar Patologi Edisi 7.* Jakarta: EGC.
- Manson, J. D., B. M. Eley. 2004. *Periodontics. Edinburgh, London : An imprint of Elsevier.*



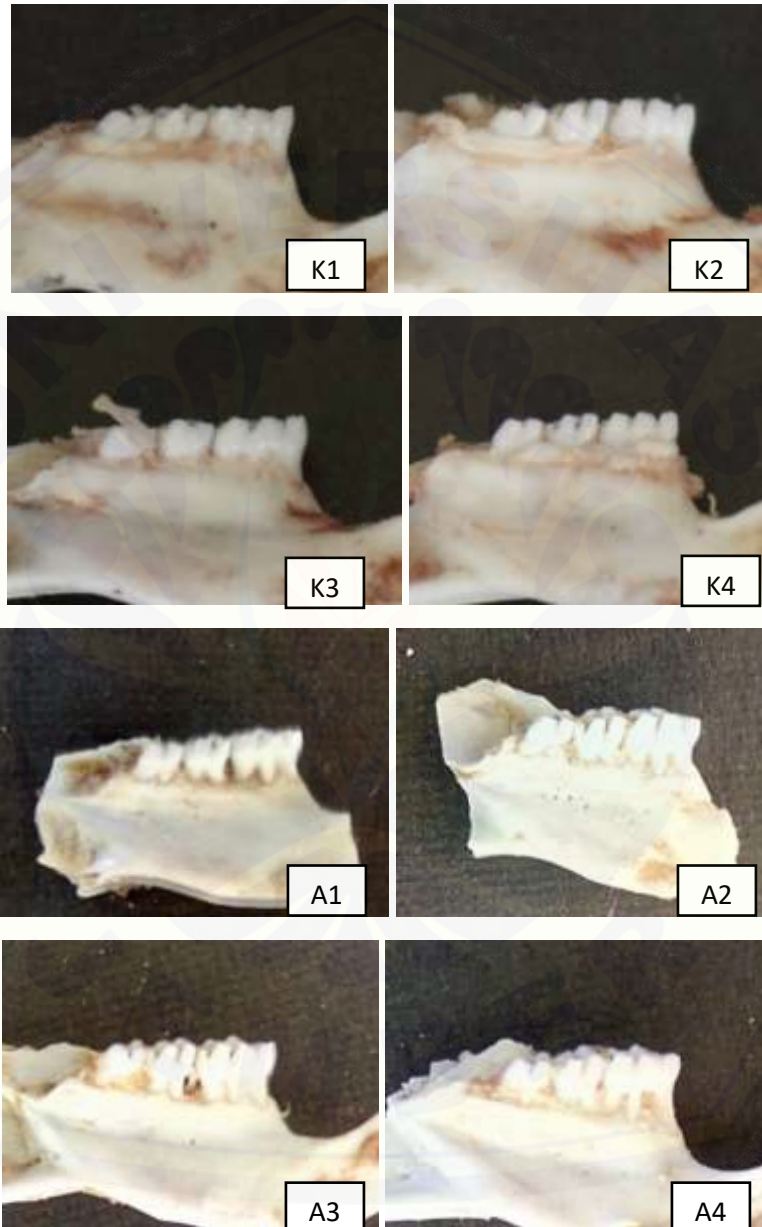
- McColl BW, N. J. Rothwell, S. M. Allan. 2008. *Inflamasi Sistemik Mengubah Kinetika Gangguan Serebrovaskular Persimpangan Ketat Setelah Stroke Eksperimental Pada Tikus*. J Neurosci 28: 9.451-62.
- Nonderson, N.J. 2002. *Health A to Z : Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR)*. Ontario: Ontario Association of Medical Disease.
- Nneka N. I, M. A. Uchenna, E. C. Chinyere, E. A. Ikechukwu, O. O. Onyemaechi, dan E. J. Nwobi. 2012. *Platelet activity in patients with type 2 diabetes in eastern Nigeria*. Res. J. Pharmacol. 2012;6(3):48-51.
- Oesman, F. dan R. D. Setiabudy, 2009. *Fisiologi Hemostasis dan Fibrinolisis. In Hemostasis dan Trombosis. 4th ed*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Olsen, I., N. Ozmeric, dan N. R. Preus. 2000. *Genetic Diversity of Porphyromonas gingivalis and its possible importance to pathogenicity*. Acta Odontol. Scand.
- Purwanto. 2009. *Peran Streptococcus Mutans Dan Monosit Pada Degradasi Kolagen Tipe IV Dan Agregasi Kolagen-Platelet*. Disertasi. Malang. Universitas Brawijaya.
- Roitt, I. M, dan T. Lehner, T. 1998. *Immunology oral disease*. Oxford: Robbins Ed.7 Vol.1. Jakarta: EGC.
- Rose, L.F, dan B. L. Mealey. 2004. *Periodontics: Medicine, Surgery, and Implants*. Saint Louis : Elsevier Mosby.
- Suliarni, 2003. *Aktifitas Faktor VII Pada Sepsis*. Tesis. Medan. Universitas Sumatra Utara.
- Vogel, H. G. 2002. *Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assay. 2<sup>nd</sup> Edition*. Berlin: Springer.
- Widmann, F.K. 1995. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium Edisi 9*. Penerjemah Siti Boediana K,R.
- Wijaya, L. 2010. *Plasma Kaya Trombosit Menurunkan Ekspresi Senescence-Associated- $\beta$  Galactosidase Sel Fibroblast*. Tesis. Denpasar: Universitas Udayana.

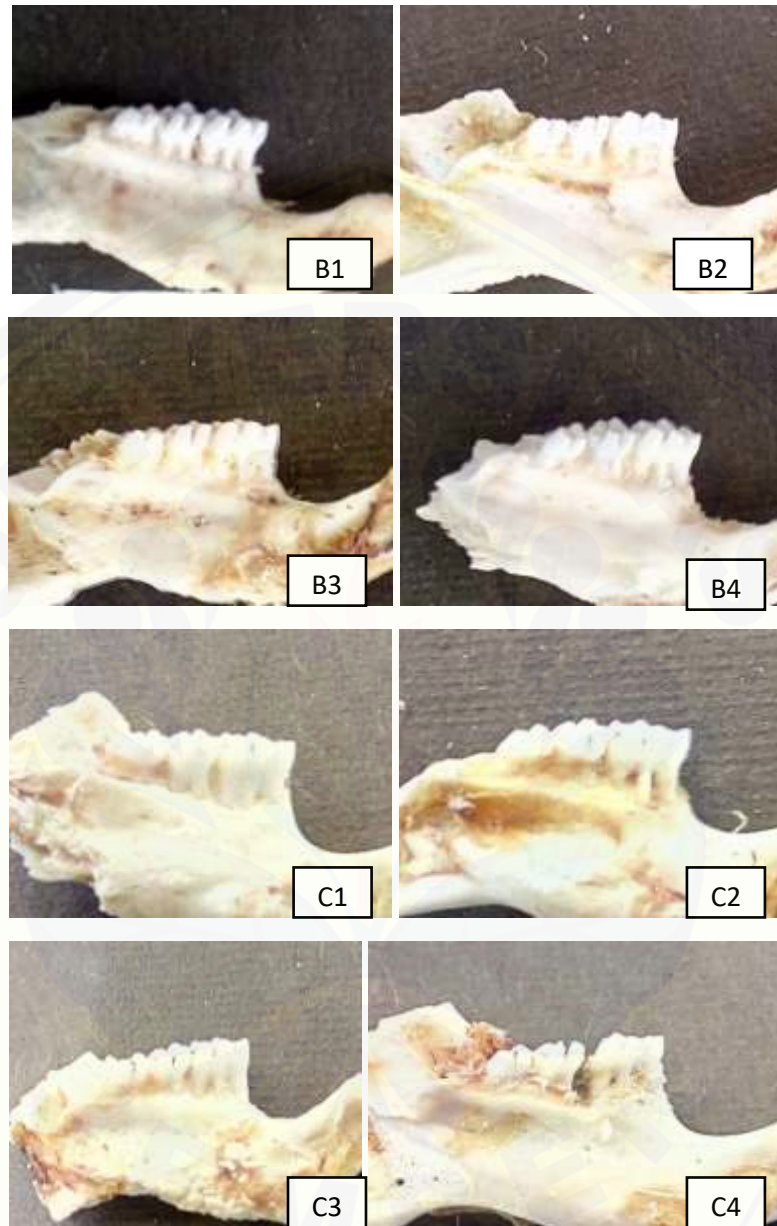
World Health Organization (WHO). 2006. *The World Health Report 2006: Working Together For Health*. Geneva. Switzerland.

Yunita, 2012. Pengukuran Kadar Fibrinogen Sebagai Petanda Inflamasi Sistemik Pada Pasien Penyakit Paru Obstruktif Kronik. Skripsi. Aceh. Universitas Syiah Kuala.

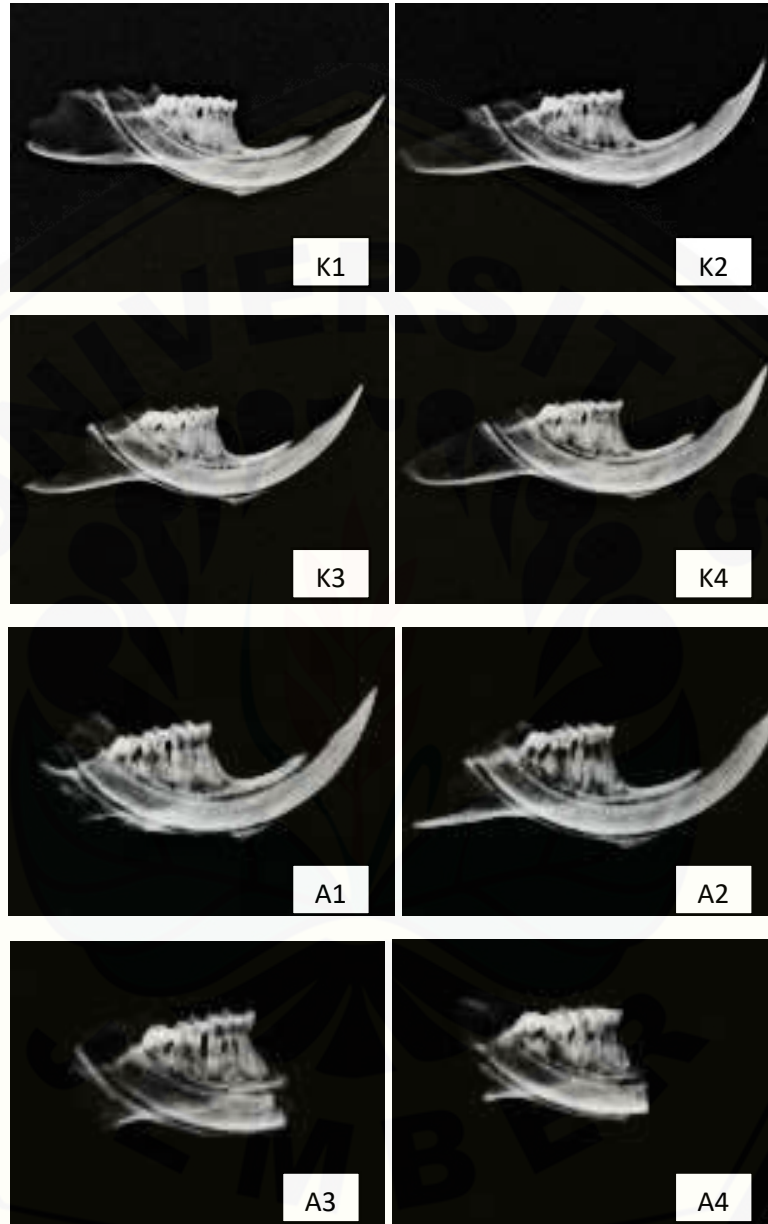


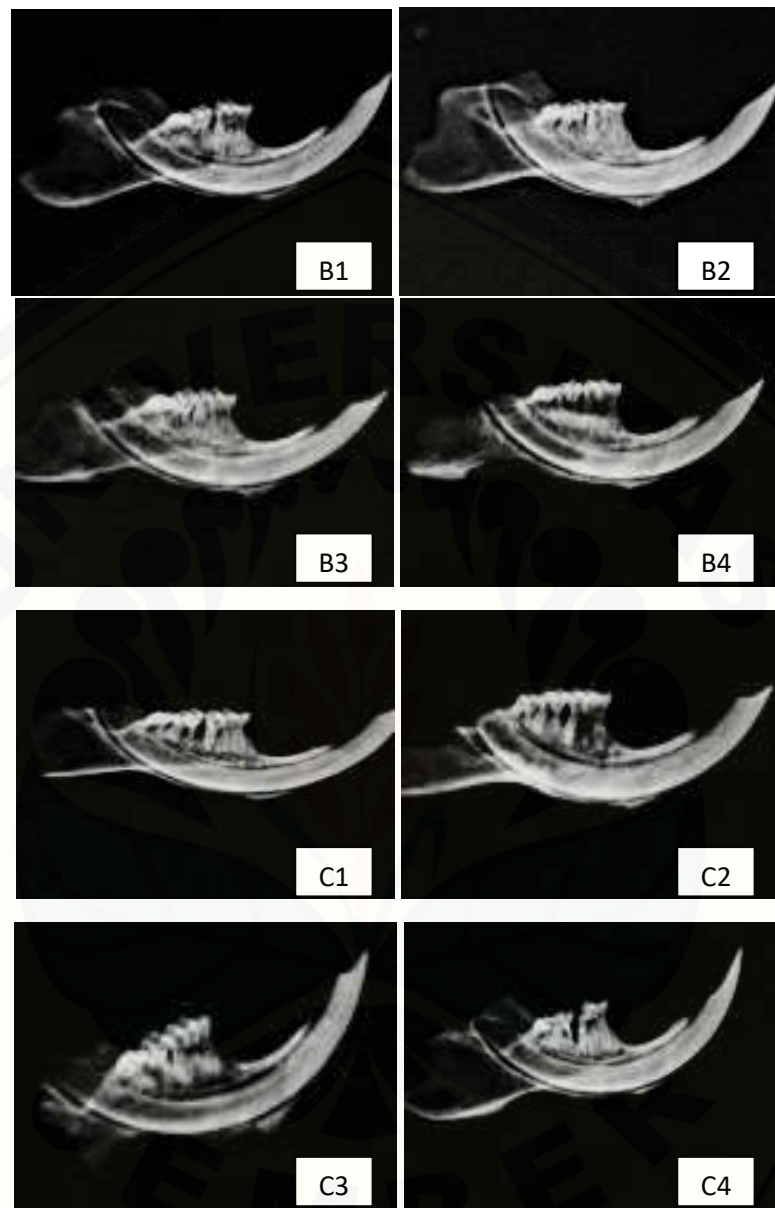
**Lampiran A. Gambaran Klinis Dan Radiologis Tulang Alveolar**





**Gambar A.1** Foto klinis mandibula. (K1, K2, K3, dan K4) Kelompok kontrol yang menunjukkan tulang alveolar dalam keadaan normal. (A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, B4, C1, C2, C3, dan C4) Kelompok periodontitis yang menunjukkan adanya resorpsi tulang alveolar.

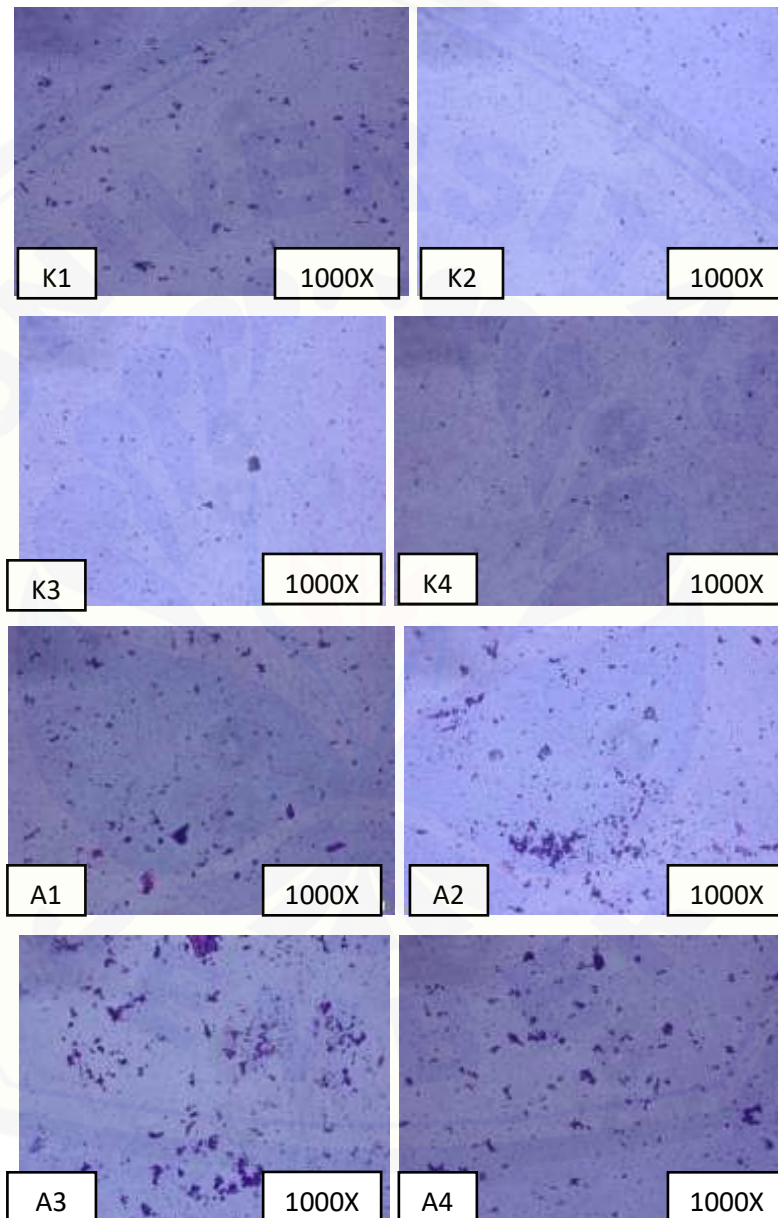


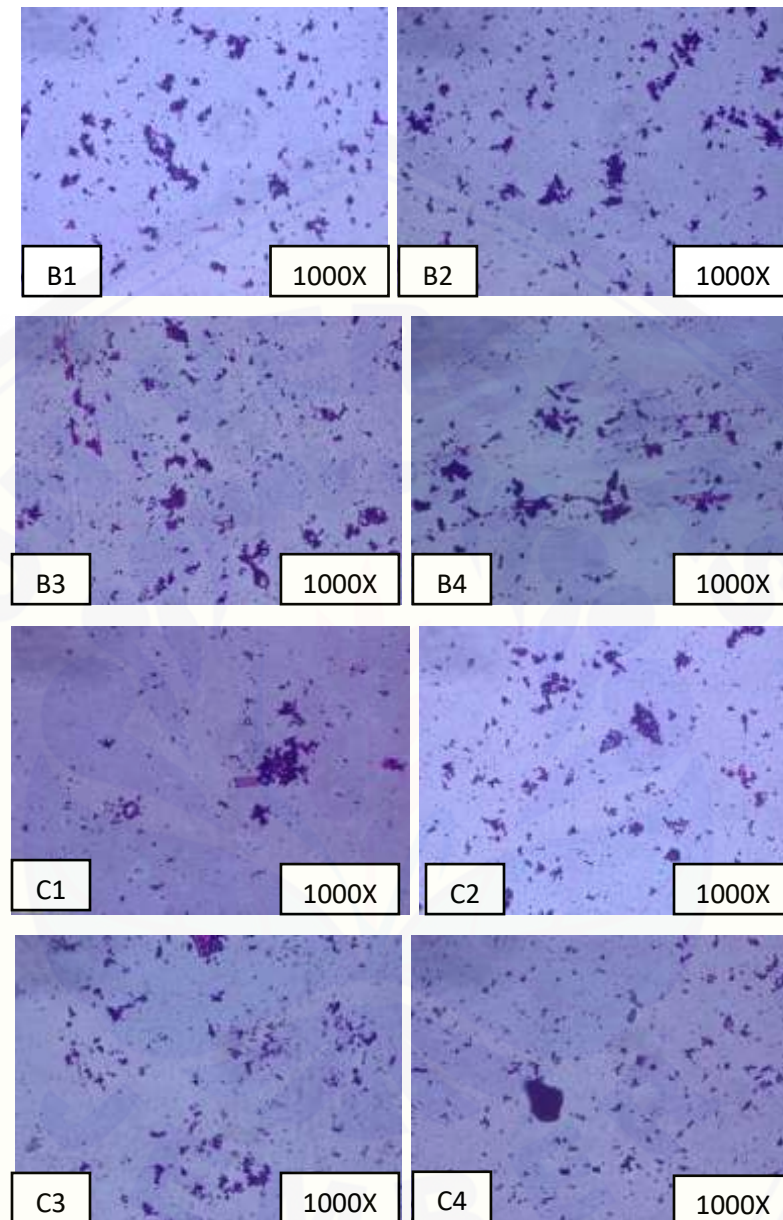


**Gambar A.1** Foto Radiologis mandibula. (K1, K2, K3, dan K4) Kelompok kontrol yang menunjukkan tulang alveolar dalam keadaan normal. (A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, B4, C1, C2, C3, dan C4) Kelompok periodontitis yang menunjukkan adanya resorpsi tulang alveolar.

## Lampiran B. Data Hasil Pemeriksaan

### B.1 Data Hasil Pemeriksaan Agregasi Trombosit Darah Hewan Coba





**Gambar B.2** Lapang pandang mikroskopik agregasi trombosit. (K1, K2, K3, dan K4) Kelompok kontrol yang menunjukkan trombosit dalam keadaan normal yang tersebar merata tidak beragregasi. (A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, B4, C1, C2, C3, dan C4) Kelompok periodontitis yang menunjukkan trombosit dalam keadaan aktif saling beragregasi sama lain.



## Hasil Pengamatan Agregasi Trombosit

Sample	Agregasi Trombosit ( <i>optical density</i> )			
	Kontrol	Periodontitis 14 hari	Periodontitis 21 hari	Periodontitis 28 hari
1	0,269	0,204	0,073	0,161
2	0,276	0,208	0,094	0,131
3	0,308	0,231	0,064	0,170
4	0,276	0,221	0,074	0,102
5	0,275	0,185	0,031	0,174
6	0,282	0,200	-	0,180
Rata-rata	0,282	0,216	0,76	0,141

Mengetahui,  
Wakil Direktur I  
RSGM UNEJ

drg. Sulistiyani, M.Kes.  
NIP. 196601311996012001

Memeriksa,  
Analisis Laboratorium Bioscience  
FKG UNEJ

Yohanes Erwan Sarosa, A.Md.Ak  
NIP. 197903182010121002

## B.3 Data Hasil Pemeriksaan Laju Endap Darah Hewan Coba

## Hasil Pengamatan Laju Endap Darah

Sample	Laju Endap Darah (mm/jam)			
	Kontrol	Periodontitis 14 hari	Periodontitis 21 hari	Periodontitis 28 hari
1	0,7	2	5	3,5
2	0,5	1,5	3,5	2,5
3	1	2,5	4	2,5
4	0,5	1,5	3	2
5	1	3	5	2,5
6	1	3	-	2
Rata-rata	1	2,5	4,5	2,6

Mengetahui,

Ketua Bagian Biomedik  
FKG UNEJdrg. Subartini, M.Biotech.  
NIP. 197909262006042002

Memeriksa,

Analisis Laboratorium Patologi Klinik  
FKG UNEJSetyo Pinandi, A.Md.  
196002141999031001

**Lampiran C. Analisis Data**

**C1. Hasil Anaisis Data Agregasi Trombosit**

**Tests of Normality**

model	tikus periodontitis	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
agregasi trombosit	kontrol	.390	4	.	.784	4	.076
	perio1	.241	4	.	.937	4	.638
	perio2	.321	4	.	.899	4	.424
	perio3	.241	4	.	.935	4	.623

a. Lilliefors Significance Correction

**Test of Homogeneity of Variances**

agregasi trombosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.622	3	12	.099

**ANOVA**

agregasi trombosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.096	3	.032	81.504	.000
Within Groups	.005	12	.000		
Total	.101	15			

Multiple Comparisons

agregasi trombosit

LSD

(I) model tikus periodontis	(J) model tikus periodontis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	perio1	,066250*	,014020	.000	,03570	,09680
	perio2	,206000*	,014020	.000	,17545	,23655
	perio3	,141250*	,014020	.000	,11070	,17180
perio1	kontrol	-,066250*	,014020	.000	-,09680	-,03570
	perio2	,139750*	,014020	.000	,10920	,17030
	perio3	,075000*	,014020	.000	,04445	,10555
perio2	kontrol	-,206000*	,014020	.000	-,23655	-,17545
	perio1	-,139750*	,014020	.000	-,17030	-,10920
	perio3	-,064750*	,014020	.001	-,09530	-,03420
perio3	kontrol	-,141250*	,014020	.000	-,17180	-,11070
	perio1	-,075000*	,014020	.000	-,10555	-,04445
	perio2	,064750*	,014020	.001	,03420	,09530

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**C2. Hasil Anaisis Data Laju Endap Darah**

**Tests of Normality**

model	tikus periodontitis	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
laju endap darah	kontrol	.271	4	.	.848	4	.220
	perio1	.283	4	.	.863	4	.272
	perio2	.192	4	.	.971	4	.850
	perio3	.329	4	.	.895	4	.406

a. Lilliefors Significance

Correction

**Test of Homogeneity of Variances**

laju endap darah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.357	3	12	.303

**ANOVA**

laju endap darah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	21.607	3	7.202	20.433	.000
Within Groups	4.230	12	.353		
Total	25.838	15			

Multiple Comparisons

laju endap darah

LSD

(I) model tikus periodonti tis	(J) model tikus periodonti tis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	perio1	-1,2000*	,4198	.014	-2,115	-,285
	perio2	-3,2000*	,4198	.000	-4,115	-2,285
	perio3	-1,9500*	,4198	.001	-2,865	-1,035
perio1	kontrol	1,2000*	,4198	.014	,285	2,115
	perio2	-2,0000*	,4198	.000	-2,915	-1,085
	perio3	-,7500	,4198	.099	-1,665	,165
perio2	kontrol	3,2000*	,4198	.000	2,285	4,115
	perio1	2,0000*	,4198	.000	1,085	2,915
	perio3	1,2500*	,4198	.012	,335	2,165
perio3	kontrol	1,9500*	,4198	.001	1,035	2,865
	perio1	-,7500	,4198	.099	-,165	1,665
	perio2	-1,2500*	,4198	.012	-2,165	-,335

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran D. Identifikasi *Porphyromonas gingivalis*

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 : Iman Santoso Adji  
NIM : 131610101060  
Fakultas : Kedokteran Gigi  
Keperluan : Identifikasi bakteri *Porphyromonas gingivalis*

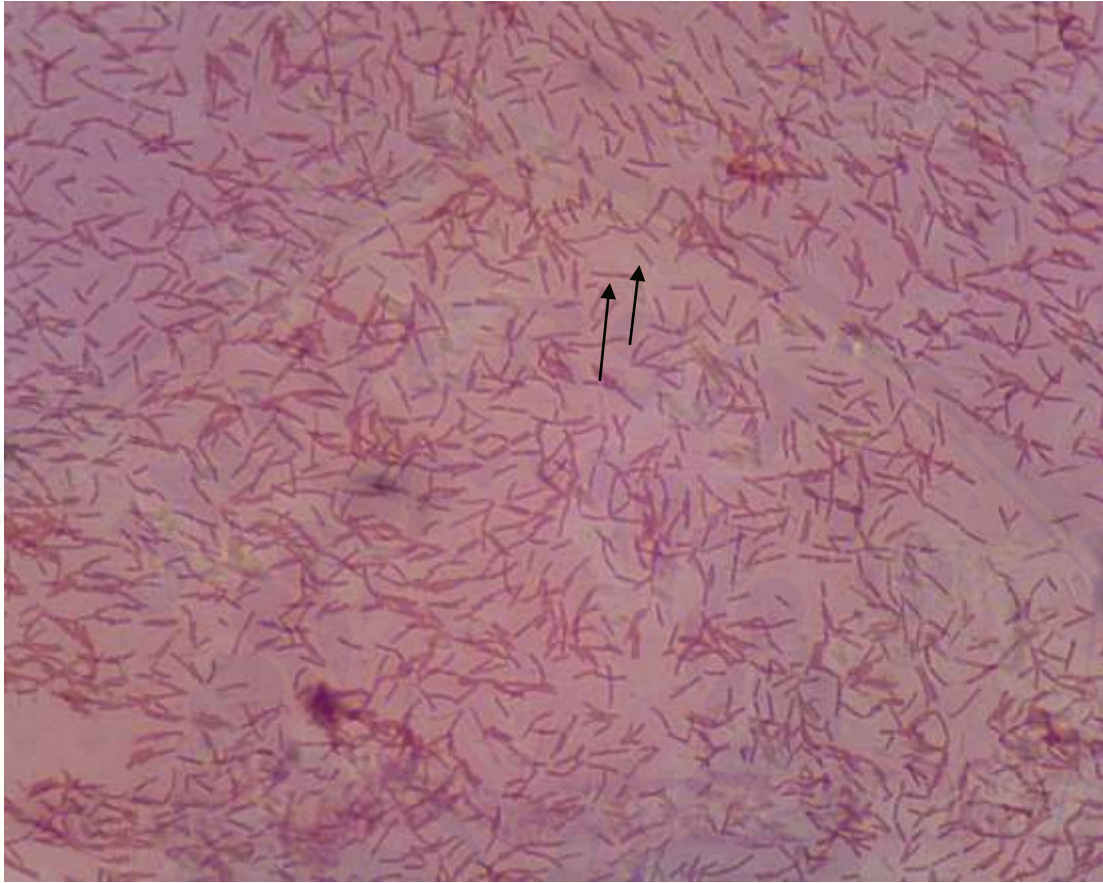
Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan menggunakan pengecatan Gram dan diamati secara mikroskopis menunjukkan sel bakteri basilus *Gram negatif* dan tidak terkontaminasi.

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



**Gambar D.1** Hasil uji identifikasi bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram menunjukkan sel berwarna merah (gram negatif) dan berbentuk batang/basil.



**Lampiran E. Surat Hewan Coba**

Malang, 11 Juni 2016.

Surat Pernyataan.

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Suwati .

Alamat : Jl. Sudimoro rt.5 Rw-7 Malang

Bersedia menyediakan akses wisata jantan pada tanggal 12 Juli 2016 dengan berat 150 gr, guna penelitian mahasiswa FK G Unej .

Demikian surat ini saya buat, dengan keadaan sadar .

Malang, 11 Juni 2016



Suwati

## Lampiran F. Berat Badan Tikus

F.1 Tabel Berat Badan Tikus Wistar Jantan

Kelompok	Berat Badan Tikus (Gram)				
	Sampel	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3	Minggu 4
Kontrol	1	173	176	185	202
	2	166	180	194	215
	3	160	178	189	195
	4	188	192	201	210
Periodontitis 1	1	155	164	193	184
	2	160	177	179	180
	3	179	175	186	177
	4	170	180	190	184
Periodontitis 2	1	152	171	178	187
	2	166	169	177	186
	3	175	185	198	206
	4	169	180	177	190
Periodontitis 3	1	180	185	196	182
	2	182	175	182	180
	3	175	190	195	175
	4	185	195	202	195

**Lampiran G. Surat Keterangan Layak Etik 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 : 100/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

## Lampiran H. Ijin Penelitian



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

Nomor : 4160/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                    | : Iman Santoso Adji   |
| 2  | NIM                     | : 131610101060  |
| 3  | Semester/Tahun          | : 2016/2017   |
| 4  | Fakultas                | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 5  | Alamat                  | : Perum Mastrip K7  |
| 6  | Judul Penelitian        | : Agregasi Trombosit Dan Laju Endap Darah Pada Model Tikus Periodontitis                  |
| 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 Agregasi Trombosit Dan Laju Endap Darah Pada Model Tikus Periodontitis |
| 11 | Dosen Pembimbing        | : 1. drg. Rendra Christedy P, MDSc<br>: 2. drg. Suhartini, M.Biotech                      |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



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



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 57 Jember ☎(0331) 333536, Faks. 331991

Nomor : **4161**/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                    | : Iman Santoso Adji   |
| 2  | NIM                     | : 131610101060  |
| 3  | Semester/Tahun          | : 2016/2017   |
| 4  | Fakultas                | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 5  | Alamat                  | : Perum Mastrip K7  |
| 6  | Judul Penelitian        | : Agregasi Trombosit Dan Laju Endap Darah Pada Model Tikus Periodontitis                  |
| 7  | Lokasi Penelitian       | : Laboratorium Patologi Klinik FKG Universitas Jember                                     |
| 8  | Data/alat yang dipinjam | : Kandang Tikus   |
| 9  | Waktu                   | : Agustus – November 2016   |
| 10 | Tujuan Penelitian       | : Untuk Mengetahui Agregasi Trombosit Dan Laju Endap Darah Pada Model Tikus Periodontitis |
| 11 | Dosen Pembimbing        | : 1. drg. Rendra Christedy P, MDSc<br>: 2. drg. Suhartini, M.Biotech                      |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an, Dhan  
Pembimbing I.  
  
Dr. drg. D. S. Susilawati, M. Kes.  
NIP. 196109831986022001



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

Nomor : 4406 /UN25.8.TL/2016  
Perihal : Ijin Penelitian

19 DEC 2016

Kepada Yth  
Direktur RSGM Universitas Jember  
Di  
Jakarta

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                    | : Imam Santoso Adji  |
| 2   | NIM                     | : 131610101060   |
| 3   | Semester/Tahun          | : 2016/2017  |
| 4   | Fakultas                | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 5   | Alamat                  | : Perum. Mastrip Blok K No. 50 Jember  |
| 6   | Judul Penelitian        | : Agregasi Trombosit Dan :Laju Endap Darah Pada Model Tikus Periodontitis                  |
| 7   | Lokasi Penelitian       | : Lab. Bioscience RSGM Universitas Jember  |
| 8   | Data/alat yang dipinjam | : Spektrofotometer, Centrifuge, Mikropipet   |
| 9   | Waktu                   | : Agustus 2016 s/d Oktober 2016  |
| 10  | Tujuan Penelitian       | : Untuk Mengetahui Agregasi Trombosit Dan :Laju Endap Darah Pada Model Tikus Periodontitis |
| 11. | Dosen Pembimbing        | : 1. drg. Rendra Chriestedy P, MDSc<br>2. drg. Suhartini, M.Biotech                        |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

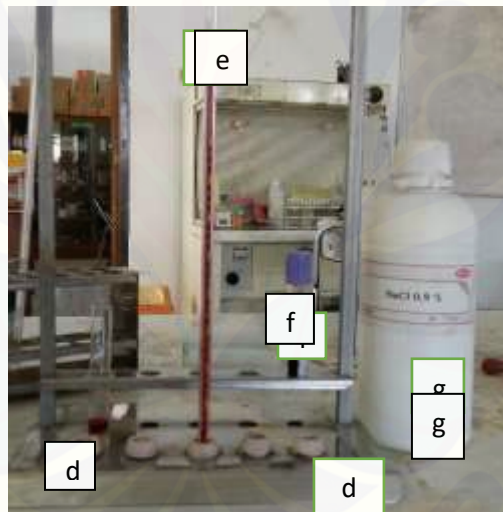
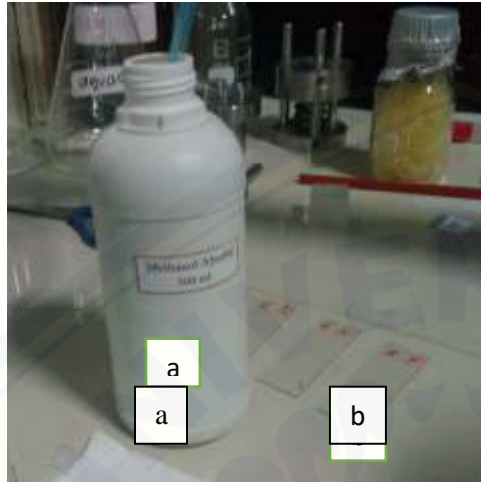


Dr. R. R. Hardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Prof  
01121996011001

**Lampiran I. Alat dan Bahan Penelitian**

Keterangan :

- a. Mikro pipet
- b. Vibrator (vortex)
- c. Centrifuge
- d. Spektrofotometer
- e. Tabung Falcon

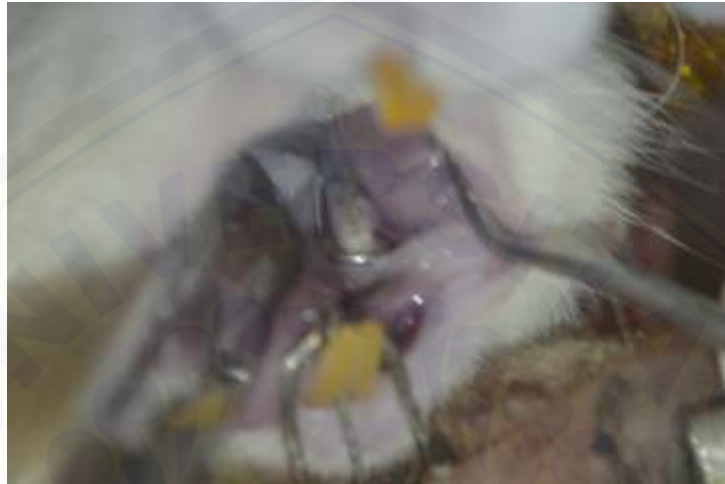


Keterangan :

- a. Metanol absolute
- b. Objek glass
- c. Rat Dental Chair
- d. Rak westgren
- e. Tabung westgren
- f. Vacumtube
- g. NaCl 0,9%



**Lampiran J. Pelaksanaan Penelitian**



**Gambar F.1** Pemasangan *Ligature Wire*



**Gambar F.2** Injeksi suspensi bakteri *P. gingivalis*



**Gambar F.3** Anastesi inhalasi chloroform



**Gambar F.4** Pengambilan darah secara intracardial sebanyak 6ml



**Gambar F.5** Proses pembuatan suspensi trombosit



**Gambar F.6** Proses perhitungan laju endap darah metode Westegren