



KADAR ADIPONEKTIN PADA *GINGIVAL CREVICULAR FLUID* TIKUS DIABETES MELITUS YANG DIINDUKSI BAKTERI *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*

SKRIPSI

Oleh

Paramita Rachmawati Zulkarnain

NIM 141610101023

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



KADAR ADIPONEKTIN PADA *GINGIVAL CREVICULAR FLUID* TIKUS DIABETES MELITUS YANG DIINDUKSI *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*

SKRIPSI

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

Oleh:

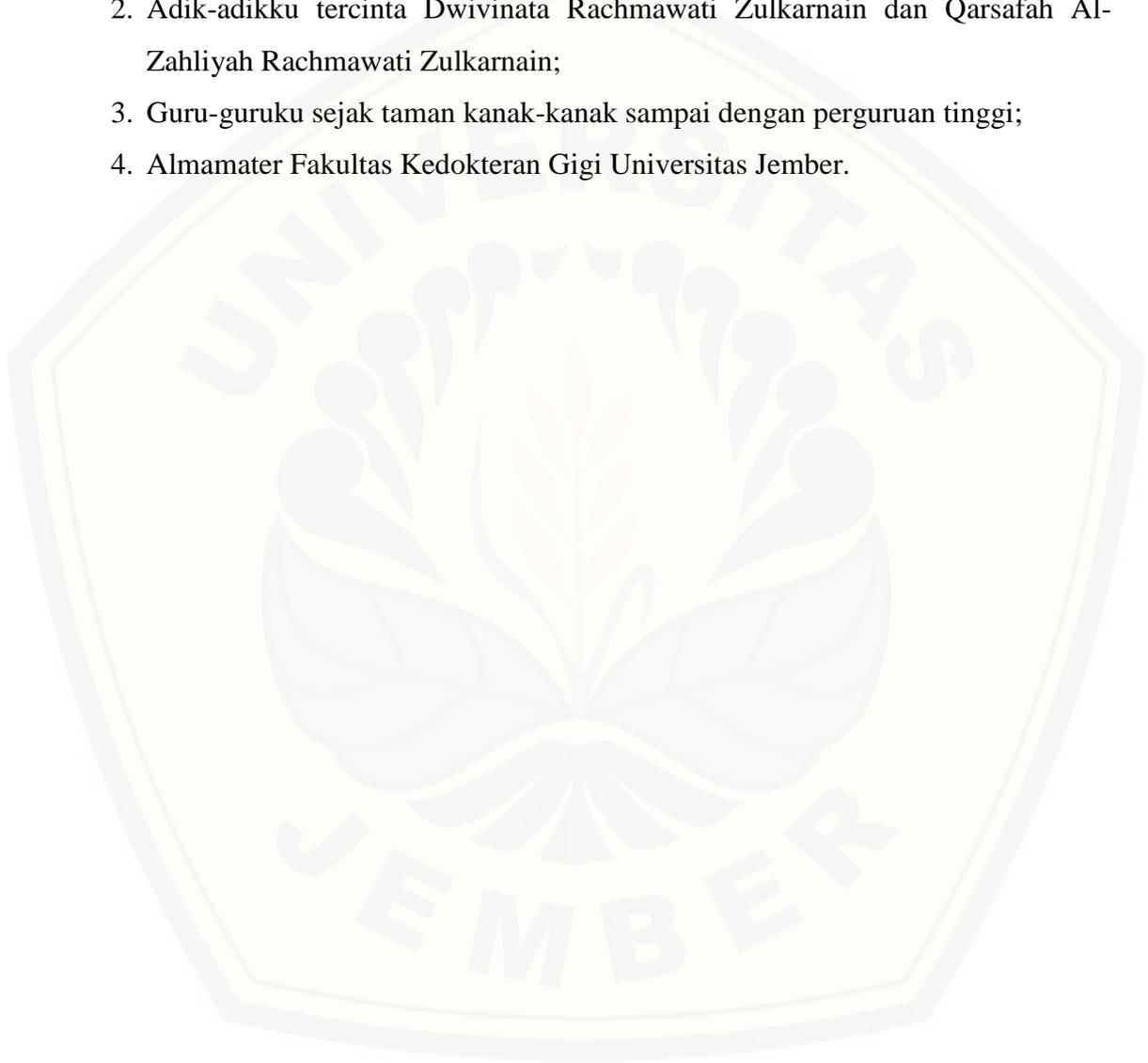
Paramita Rachmawati Zulkarnain
NIM 141610101023

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Zulkarnain Idul Adzha dan Ibunda Lilik Rahmawati yang tercinta dan telah memberikan segala yang terbaik dalam hidup ini;
2. Adik-adikku tercinta Dwivinata Rachmawati Zulkarnain dan Qarsafah Al-Zahliyah Rachmawati Zulkarnain;
3. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



MOTTO

“Barang siapa bersungguh-sungguh, sesungguhnya kesungguhannya itu adalah untuk dirinya”

(terjemahan QS. Al-Ankabut ayat 6)*

“ Bukanlah termasuk akhlak seorang beriman, yaitu orang yang tidak pernah merasa cukup dan bersikap iri, kecuali dalam hal mencari ilmu”

(HR. Al-Baihaqi dari Muadz)**

“Bersabarlah sesaat sehingga kau memperoleh kebahagiaan selama miliaran tahun”

(Dr. Musthafa Murad)***

- *) Departemen Agama RI. 2014. *A-Qur'an dan Terjemahannya*. Jakarta: CV. Darus Sunnah
- **) Rahman, Fauzi. 2015. *Wanita yang Dirindukan Surga*. Bandung: Mizania
- ***) Murad, Mustafa. 2016. *10 Wanita Ahli Surga*. Bandung: Mizania

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Paramita Rachmawati Zulkarnain

NIM : 141610101023

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Kadar Adiponektin pada *Gingival Crevicular Fluid* Tikus Diabetes Melitus yang Diinduksi *Porphyromonas Gingivalis*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, Februari 2017

Yang menyatakan,

Paramita Rachmawati Zulkarnain

NIM 141610101023

SKRIPSI

**KADAR ADIPONEKTIN PADA *GINGIVAL CREVICULAR FLUID* TIKUS
DIABETES MELITUS YANG DIINDUKSI *PORPHYROMONAS*
*GINGIVALIS***

Oleh:

**Paramita Rachmawati Zulkarnain
NIM 141610101023**

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : drg. Agustin Wulan Suci D., MDSc

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Peni Pujiastuti, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Kadar Adiponektin pada *Gingival Crevicular Fluid* Tikus Diabetes Melitus yang Diinduksi *Porphyromonas Gingivalis*” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Utama

Penguji Anggota

Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes.

NIP. 197005091999032001

drg. Melok Aris Wahyukundari, M.Kes, Sp.Perio

NIP. 197104092005012000

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

drg. Agustin Wulan Suci D, MDSc

NIP. 197908142008122000

drg. Peni Pujiastuti, M.Kes

NIP. 196705171996012001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember

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

NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Kadar Adiponektin pada *Gingival Crevicular Fluid* Tikus Diabetes Melitus yang Diinduksi *Porphyromonas Gingivalis*; Paramita Rachmawati Zulkarnain; 141610101023; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Diabetes melitus merupakan salah satu sindrom metabolik yang prevalensinya semakin meningkat baik tipe 1 maupun tipe 2 dan dapat memicu terjadinya hiperglikemia, akibatnya terjadi pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan stress oksidatif. Keadaan tersebut dapat menimbulkan kerentanan terhadap penyakit periodontal yang merupakan komplikasi dari diabetes melitus. Penyakit periodontal disebabkan oleh aktivitas utama dari *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) yang memiliki faktor virulensi dan dapat memicu keluarnya mediator pro-inflamasi yang dapat memperparah peradangan yang terjadi sehingga dibutuhkan suatu *marker* peradangan untuk membantu menentukan tingkat keparahan suatu peradangan. Marker tersebut adalah adiponektin yang terdapat pada serum *Gingival Crevicular Fluid* (GCF). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar adiponektin pada GCF tikus diabetes melitus yang diinduksi *P. gingivalis*.

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan pada bulan September sampai Desember 2017 di Laboratorium Fisiologi, Mikrobiologi, dan Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Jumlah keseluruhan sampel penelitian yang digunakan sebanyak 12 sampel; terdiri dari 3 kelompok penelitian yaitu kontrol, P1 (injeksi *P. gingivalis*), P2 (injeksi *streptozotocin* (STZ)), dan P3 (injeksi STZ dan *P. gingivalis*) dengan besar sampel sebanyak 3 untuk setiap kelompok penelitian. Prosedur penelitian terdiri dari persiapan hewan coba, persiapan bahan perlakuan, pembuatan media kultur dan suspensi *P. gingivalis*, pembuatan larutan STZ, prosedur perlakuan dengan injeksi bahan, pengambilan sampel GCF, dan uji *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Kelompok kontrol tidak dilakukan

induksi, kelompok P1 diinjeksi 0,05 ml *P. gingivalis* pada area sulkus gingiva distobukal dan distopalatal gigi molar pertama rahang atas, kelompok P2 diinjeksi dengan STZ dengan dosis bertingkat, dan kelompok P3 diinjeksi keduanya. Setelah itu dilakukan pengambilan sampel GCF dengan paper point no.15 pada sulkus gingiva hewan coba, 1 hari setelah injeksi terakhir. Kemudian sampel dilakukan uji ELISA untuk melihat kadar adiponektin pada serum GCF tersebut.

Data hasil pengamatan didapatkan rata-rata kelompok kontrol (4,45), P1 (3,68), P2 (3,58), dan P3 (3,56). Kemudian dilakukan analisis secara statistik dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji *Levene* maka didapatkan data hasil penelitian berdistribusi normal dan tidak homogen sehingga dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik *Kruskall Wallis*. Hasil uji *Kruskall Wallis* didapatkan nilai signifikansi (p) sebesar 0,008 ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada seluruh kelompok penelitian. Setelah uji *Kruskall Wallis*, maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok penelitian yang ditandai dengan nilai signifikansi ($p < 0,05$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa adiponektin dapat digunakan sebagai *marker* peradangan. Kadar adiponektin tertinggi ditemukan pada kelompok kontrol yang tidak mengalami peradangan sedangkan kadar adiponektin terendah ditemukan pada kelompok P3 yang diinduksi STZ dan *P. gingivalis*. Kemungkinan, induksi keduanya memicu peningkatan peradangan dan penurunan kadar adiponektin.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah peradangan yang dipicu oleh induksi *P. gingivalis* dan diabetes melitus dapat menurunkan kadar adiponektin pada GCF hewan coba.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Kadar Adiponektin pada *Gingival Crevicular Fluid* Tikus Diabetes Melitus yang Diinduksi *Porphyromonas Gingivalis*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusun skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tuaku tercinta; Papa Zulkarnain Idul Adzha dan Mama Lilik Rahmawati, yang tidak pernah lelah memberikan doa, nasihat, semangat, dukungan serta perhatian yang penuh dengan kasih sayang;
2. drg. Rahardyan Parnaadji, M. Kes., Sp. Pros sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. drg. Agustin Wulan Suci D, MD.Sc sebagai dosen pembimbing utama dan drg. Peni Pujiastuti, M.Kes sebagai dosen pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan dan motivasi dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
4. Dr. drg. Banun Kusumawardani, M. Kes., sebagai dosen penguji ketua dan drg. Melok Aris Wahyukundari, M.Kes, Sp.Perio, sebagai dosen penguji anggota yang telah meluangkan waktu untuk membaca, memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi ini;
5. drg. Nadie Fatimatuzzahro, MD.Sc sebagai dosen pembimbing akademik yang telah memberikan saran, motivasi dan bimbingan selama ini;
6. Adik-adikku yang tercinta, Dwivinata Rachmawati Zulkarnain dan Qarsafah Al-Zahliyah Rachmawati Zulkarnain yang telah menjadi keceriaan, semangat, motivasi, dan memberikan do'a selama ini;
7. Keluarga besar Harianto dan keluarga besar Ali Munawar yang telah memberikan doa dan mendukung cita-citaku menjadi seorang dokter gigi;

8. Sahabatku sejak maba Nadia Farhatika, Anindhita Virliana Juniar, dan Narita Ajeng Loviana yang selalu ada di saat suka maupun duka dan selalu sabar mendengarkan keluh kesahku selama perkuliahan;
9. Teman-temanku Soleh Soleha Grace Valencia H., Devica Dwi Ratna P., M. Maulana Akbari, dan Thariq Ibnu T. yang telah menjadi partner in crime;
10. Teman-teman 24/7 Ahmad Mufin R., M. Naufan Azmi, M. Ilmam Faqih, Bimandaru Nurrisqi, yang telah memberi motivasi selama perkuliahan dan penyusunan skripsi ini;
11. Teman-teman Ukhti Soleha Tazqia Jamil P., Arimbi Gupitasari, Aisha Rahma F., Yunita Fatma, Maqdisi Firdaus yang membantu dalam banyak hal;
12. Teman-teman yang terlibat dalam penelitian ini, Intan Rizka F, Usnida Mubarakah, Nadia Kurniasih, Tira Aisah P., Dea Lovinda, dan Safira Niza, yang telah memberikan bantuan dan kerjasamanya selama penelitian ini;
13. Staff Laboratorium Biomedik dan Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
14. Staff Akademik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
15. Teman-teman KKN PPM 04 Bangsalsari dan seperantauan dari Gresik;
16. Seluruh teman-teman LECI FKG 2014, terima kasih atas motivasi, kerja sama, kekeluargaan, dan kekompakkannya selama ini; dan
17. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, maka saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan untuk membantu melengkapi skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi kita dalam bidang kedokteran gigi.

Jember, Februari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

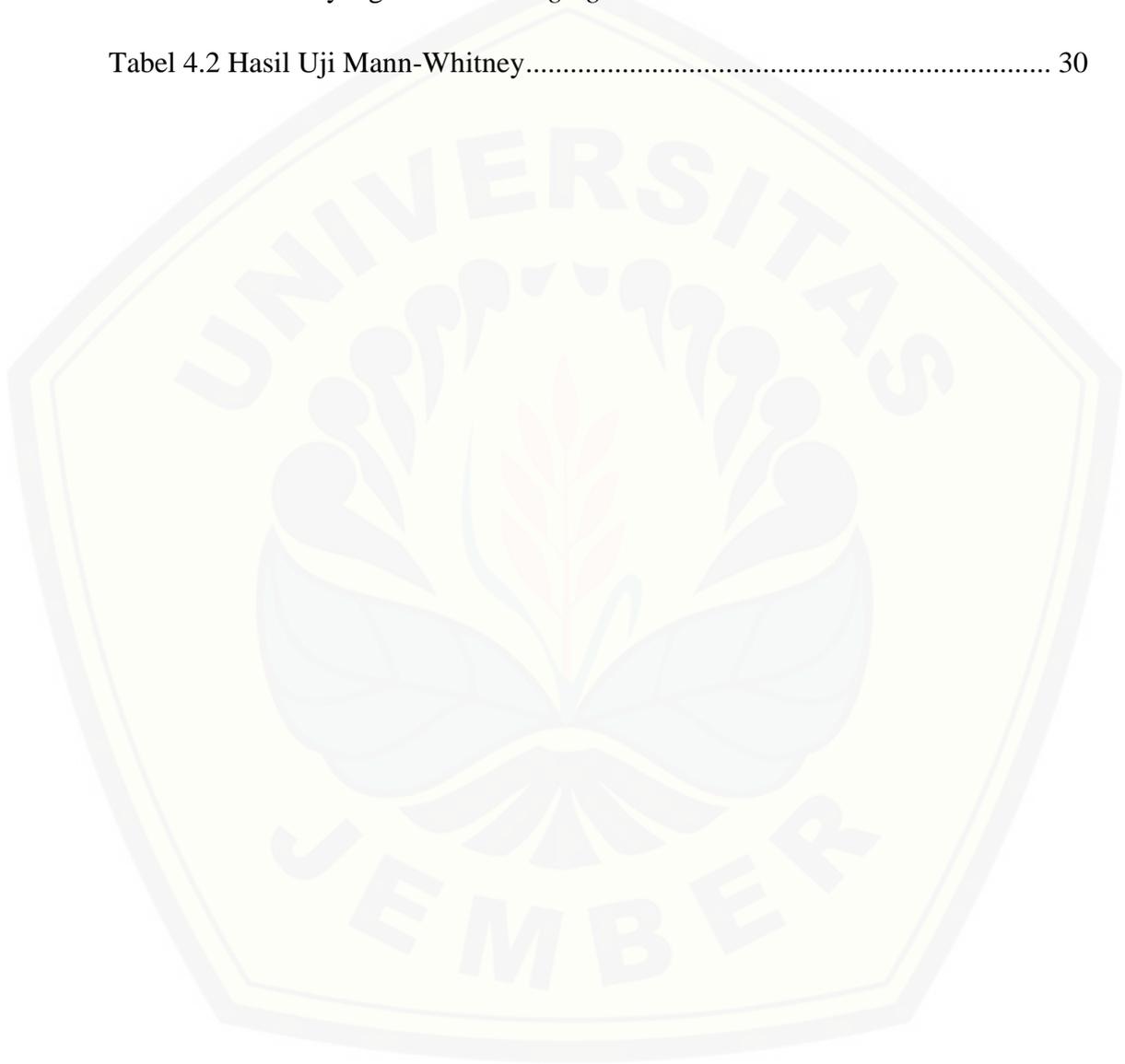
	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Diabetes Melitus.....	5
2.1.1 Pengertian	5
2.1.2 Klasifikasi	5
2.1.3 Prevalensi.....	6
2.1.4 Komplikasi.....	6
2.1.5 Patogenesis Komplikasi.....	7
2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	7
2.2.1 Morfologi	7
2.2.3 Faktor virulensi	8
2.2.4 Penyakit Periodontal	9
2.3 Adiponektin	10

2.3.1 Pengertian	10
2.3.2 Mekanisme Peranan	10
2.4 <i>Gingival Crevicular Fluid</i>	11
2.5 Kerangka Konsep	13
2.6 Hipotesis	14
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	15
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	15
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.3 Identifikasi Variabel Penelitian	15
3.3.1 Variabel Bebas	15
3.3.2 Variabel Terikat	15
3.3.3 Variabel Terkendali	16
3.4 Definisi Operasional.....	16
3.4.1 Infeksi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	16
3.4.2 Diabetes Melitus	16
3.4.3 Kadar Adiponektin <i>Gingival Crevicular Fluid</i>	17
3.5 Populasi dan Sampel Penelitian	17
3.5.1 Populasi Penelitian.....	17
3.5.2 Sampel Penelitian	17
3.5.3 Jumlah Sampel Penelitian.....	17
3.5.4 Kelompok Penelitian.....	18
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	18
3.6.1 Alat penelitian.....	18
3.6.2 Bahan Penelitian	20
3.7 Prosedur Penelitian.....	21
3.7.1 Tahap Persiapan Hewan Coba	21
3.7.2 Persiapan Bahan Perlakuan.....	22
3.7.3 Pembuatan Media Kultur <i>Porphyromonas gingivalis</i>	22
3.7.4 Pembuatan Suspensi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	23
3.7.5 Pembuatan Larutan STZ	23
3.7.6 Prosedur Perlakuan	23

3.7.7 Prosedur Pengambilan Sampel <i>Gingival Crevicular Fluid</i>	24
3.7.8 Pengukuran Kadar Glukosa Darah dan Berat Badan.....	24
3.7.9 Uji ELISA	25
3.8 Analisis data	27
3.9 Alur Penelitian.....	28
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Hasil Penelitian.....	29
4.2 Analisis Data	29
4.3 Pembahasan	30
5.1 Kesimpulan.....	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Rata-rata hasil pengukuran kadar adiponektin GCF tikus diabetes melitus yang diinduksi <i>P. gingivalis</i>	29
Tabel 4.2 Hasil Uji Mann-Whitney.....	30



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.1 Kerangka konsep	13
Gambar 1.2 Penurunan kadar adiponektin pada kondisi diabetes melitus tipe 1 yang diperparah dengan penyakit periodontal	32



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN A. Surat Keterangan Layak Etik Penelitian	43
LAMPIRAN B. Identifikasi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	44
LAMPIRAN C. Alat dan Bahan Penelitian	45
LAMPIRAN D. Perhitungan Dosis <i>Streptozotocin</i>	51
LAMPIRAN E. Prosedur Penelitian	53
LAMPIRAN F. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Tikus	56
LAMPIRAN G. Data Hasil Perhitungan dengan Uji ELISA.....	63
LAMPIRAN H. Hasil Uji Statistik	65

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam era globalisasi saat ini terdapat pergeseran pola hidup yang menyebabkan semakin tingginya prevalensi penderita diabetes melitus. Data dari International Diabetes Federation (IDF) pada tahun 2017 ditemukan 425 juta orang dewasa di dunia menderita diabetes melitus dan Indonesia berada pada peringkat ketujuh di dunia dengan angka kejadian mencapai 120 juta penderita dan ditemukan 10 juta kasus baru setiap tahunnya. Menurut Riskesdas, prevalensi orang dengan diabetes di Indonesia meningkat dari 5,7% pada tahun 2007 menjadi 6,9% pada tahun 2013. Menurut WHO, mayoritas penderita diabetes di dunia merupakan penderita diabetes tipe 2 namun diabetes tipe 1 memiliki tingkat keparahan yang lebih tinggi karena sampai saat ini belum dapat dicegah secara dini.

Diabetes melitus tipe 1 terjadi akibat pankreas tidak cukup memproduksi insulin sehingga tubuh memerlukan pemberian insulin setiap hari (ketergantungan insulin), apabila kebutuhan insulin tidak terpenuhi akibatnya terjadi hiperglikemia dan pembentukan *Advanced Glycation End-product* (AGEs). Kondisi ini memicu peningkatan sekresi insulin secara terus menerus yang semakin lama dapat menurunkan sensitivitas insulin dan terjadi resistensi insulin. Gangguan produksi insulin ini akan memicu stress oksidatif dan inflamasi sistemik yang nantinya dapat bermanifestasi pada inflamasi lokal salah satunya pada jaringan periodontal (Hartanti, 2013; Verma dan Hussain, 2017).

Kondisi diabetes melitus dapat memperparah peradangan pada jaringan periodontal oleh karena penyebab utama peradangan pada jaringan periodontal adalah aktivitas bakteri periodontal terutama *P. gingivalis*. Peradangan jaringan periodontal selama ini diketahui sebagai komplikasi dari adanya diabetes melitus. Akan tetapi, beberapa penelitian mengungkapkan bahwa terdapat hubungan timbal balik antara diabetes melitus dengan keadaan jaringan periodontal dimana peradangan jaringan periodontal juga menyebabkan hiperglikemia walaupun mekanismenya masih belum jelas. Diabetes melitus dan peningkatan patogenitas

bakteri periodontal menyebabkan peningkatan sitokin pro-inflamasi salah satunya TNF- α , akan tetapi peningkatan mediator peradangan ini dapat menekan produksi adiponektin dimana adiponektin dapat berfungsi sebagai mediator pro-inflamasi dan anti-inflamasi. TNF- α dan adiponektin erat kaitannya dengan patogenesis resistensi insulin dan penurunan sistem imunitas. Adiponektin berperan dalam sensitivitas insulin dan anti-inflamasi sehingga apabila terjadi penurunan kadarnya maka perannya pun akan terganggu. Beberapa penelitian dalam kasus diabetes melitus, adiponektin dikatakan sebagai mediator pro-inflamasi karena saat awal peradangan kadarnya akan meningkat dan sebaliknya dikatakan sebagai mediator anti-inflamasi pada peradangan yang cukup lama kadarnya akan menurun. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa mekanisme peranan adiponektin sebagai mediator pro-inflamasi dan anti-inflamasi belum jelas (Goodson dkk, 2009; Wijaksana, 2016).

Porphyromonas gingivalis pada sulkus gingiva akan melakukan adhesi dan berkolonisasi melalui molekul adhesin yaitu lipopolisakarida (LPS). Bakteri dan produknya tersebut merangsang host untuk mengeluarkan mekanisme pertahanan seluler, salah satunya peningkatan jumlah PMN. Akan tetapi aktivitas PMN dan produk akan meningkatkan radikal bebas dalam proses fagositosis yang disebut dengan ROS (Puspaningrum dkk, 2015). ROS memicu terjadinya stress oksidatif dan peningkatan sitokin pro-inflamasi sehingga dapat menimbulkan inflamasi pada jaringan periodontal. Inflamasi ini memudahkan bakteri melakukan penetrasi ke endotel dan menyebabkan endotoksemia yakni keberadaan endotoksin (toksin yang dihasilkan oleh bakteri) ke dalam darah sehingga terjadi invasi ke sel endotel vaskular (Yekti dkk, 2014).

Stress oksidatif dan invasi ke sel endotel berpengaruh pada disfungsi mitokondria untuk menghasilkan ATP sebagai sumber energi dan pada Retikulum Endoplasma (RE) sebagai tempat terjadinya diferensiasi jaringan adiposa. Disfungsi mitokondria yang dapat berpengaruh pada penurunan jumlah ATP ini menyebabkan RE mengalami stres yang berdampak pada terganggunya fungsi RE dalam mekanisme diferensiasi jaringan adiposa yang berperan dalam menghasilkan adiponektin sebagai mediator anti-inflamasi, walaupun pada

beberapa literatur belum diketahui secara jelas diferensiasi dari jaringan adiposa yang mana yang mengalami gangguan atau perubahan. Adiponektin yang berperan sebagai mediator anti inflamasi ini berperan penting dalam mekanisme pertahanan tubuh melawan patogen yang terdapat pada rongga mulut (Koh dkk, 2007).

Perubahan adiponektin secara sistemik kemungkinan juga terjadi pada lingkungan di sekitar jaringan periodontal terutama sulkus gingiva, walaupun tidak terdapat jaringan adiposa sebagai tempat produksi adiponektin dalam jaringan periodontal. Beberapa penelitian masih belum dapat mengungkapkan darimana asal dari adiponektin pada jaringan periodontal, salah satunya GCF. Akan tetapi perubahan adiponektin pada darah dalam hal ini serum kemungkinan berkorelasi positif pada perubahan kadar adiponektin dalam GCF yang merupakan derivat dari serum darah. Perubahan adiponektin pada GCF kemungkinan disebabkan karena penyakit periodontal dapat mengganggu ekspresi dari reseptor adiponektin dan memicu peningkatan sitokin pro-inflamasi. Komposisi dan perannya itulah yang menjadikan GCF dapat dijadikan sebagai *diagnostic marker* atau penanda keadaan jaringan periodontal (Ekaputri, S. dkk, 2010; Yamaguchi dkk, 2010).

Dengan adanya pengukuran kadar adiponektin diharapkan dapat menentukan tingkat keparahan dari diabetes tipe 1 sehingga dapat dilakukan evaluasi secara dini. Sejauh ini penelitian mengenai GCF sebagai *diagnostic marker* atau penanda keadaan jaringan periodontal sudah banyak dilakukan namun belum ada yang menghubungkan antara pengaruh infeksi *P. gingivalis* terhadap penyakit diabetes melitus tipe 1 yang dilihat melalui kadar adiponektin. Berdasarkan uraian di atas perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh infeksi *P. gingivalis* terhadap perubahan kadar adiponektin GCF pada model tikus diabetes.

1.2 Rumusan Masalah

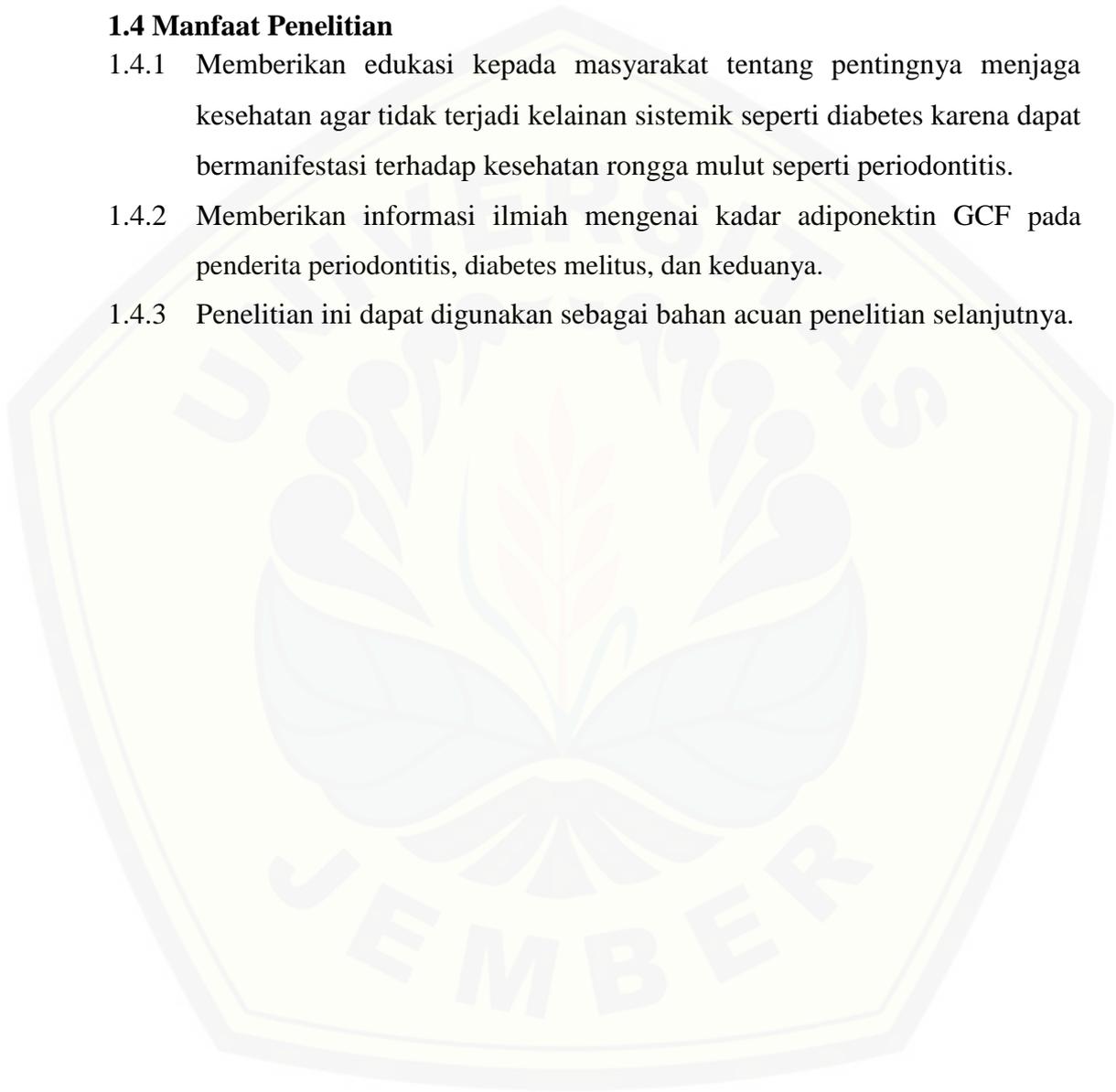
Bagaimana kadar adiponektin pada GCF tikus diabetes melitus yang diinduksi *P. gingivalis*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar adiponektin pada GCF tikus diabetes melitus yang diinduksi *P. gingivalis*.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Memberikan edukasi kepada masyarakat tentang pentingnya menjaga kesehatan agar tidak terjadi kelainan sistemik seperti diabetes karena dapat bermanifestasi terhadap kesehatan rongga mulut seperti periodontitis.
- 1.4.2 Memberikan informasi ilmiah mengenai kadar adiponektin GCF pada penderita periodontitis, diabetes melitus, dan keduanya.
- 1.4.3 Penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan acuan penelitian selanjutnya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

2.1.1 Pengertian

Diabetes melitus merupakan suatu penyakit gangguan endokrin yang menyebabkan kegagalan maupun ketidaksempurnaan pankreas dalam memproduksi insulin. Karakteristik utama dari penyakit ini adalah adanya hiperglikemia yakni kadar gula darah yang tidak terkontrol (Shita, 2015). Gejala umum yang dialami oleh penderita penyakit ini adalah adanya poliuria (sering kencing), polidipsia (sering haus), polifagia (sering lapar), dan berat badan yang menurun. Keadaan yang lebih parah dapat ditemui apabila kadar gula darah semakin menjauhi nilai normal. Seseorang dikatakan dalam kondisi diabetes apabila kadar gula darahnya >200 mg/dL (Boel, 2003).

2.1.2 Klasifikasi

a. Diabetes tipe 1

Diabetes tipe 1 atau juga bisa disebut IDDM *Insulin Dependent Diabetes Melitus* (IDDM) ini merupakan jenis diabetes dengan ketergantungan terhadap insulin akibat kerusakan sel β pankreas sehingga pankreas tidak mampu memproduksi insulin. Mekanisme pada tipe 1 ini biasanya idiopatik atau tidak dapat dijelaskan karena gejala yang muncul mendadak dan sangat progresif. Biasanya pasien dijumpai memiliki berat badan rendah dengan kadar gula darah puasa >140 mg/dL (Arisman, 2013).

b. Diabetes tipe 2

Diabetes tipe 2 atau juga bisa disebut *Non-Insulin Dependent Diabetes Melitus* (NIDDM) ini merupakan jenis diabetes dimana pankreas masih mampu memproduksi insulin namun sel target menjadi tidak peka terhadap insulin atau biasa disebut dengan resistensi insulin. Diabetes tipe 2 ini juga dapat berubah menjadi ketergantungan terhadap insulin apabila kondisi semakin parah (Putri, 2013).

2.1.3 Prevalensi

Prevalensi diabetes melitus di dunia setiap detiknya selalu mengalami peningkatan. Hal tersebut dibuktikan oleh laporan statistik dari IDF yang menyebutkan bahwa angka kejadian penderita diabetes akan naik 3 persen atau 7 juta orang setiap tahun termasuk di Indonesia. Laporan dari Riskesdas pada tahun 2013, penderita diabetes di atas usia 15 tahun di Indonesia mencapai 6,9% penduduk atau setara dengan 121.191.564 jiwa. Data tersebut diperkuat dengan laporan terakhir pada tahun 2015, ditemukan ada 10 juta kasus baru penderita diabetes di Indonesia. Pada tahun 2015 ditemukan ada 415 juta kasus dan pada tahun 2017 ditemukan terdapat 425 juta kasus. Sedangkan estimasi atau perkiraan terakhir dari IDF setiap tahunnya jumlah tersebut akan mengalami peningkatan dan diperkirakan pada tahun 2035 jumlah tersebut akan meningkat menjadi 592 juta orang.

2.1.4 Komplikasi

Penyebab utama dari terjadinya komplikasi pada penderita diabetes melitus adalah kadar gula darah yang tinggi dan menyebabkan kerusakan pembuluh darah, baik pembuluh darah arteri maupun pembuluh darah vena. Kerusakan ini terjadi ditandai dengan penyempitan pembuluh darah sehingga suplai makanan ke berbagai organ menjadi terganggu. Diabetes tipe 2 sering menimbulkan komplikasi baik komplikasi makrovaskular maupun mikrovaskular. Komplikasi makrovaskular menjadi penyebab utama kematian penderita diabetes melitus tipe 2 karena melibatkan pembuluh darah besar yaitu pembuluh darah koroner, pembuluh darah otak dan pembuluh darah perifer. Sedangkan komplikasi mikrovaskular menimbulkan lesi spesifik diabetes yang menyerang kapiler dan arteriola retina (retinopati diabetik), glomerulus ginjal (nefropati diabetik) dan saraf-saraf perifer (neuropati diabetik) (Edwina, 2015).

Komplikasi dari diabetes melitus dapat merusak berbagai sistem organ, seperti mata, jantung, paru-paru, lambung, hati, ginjal, sistem saraf, bahkan rongga mulut (Tandra, 2014). Dalam rongga mulut, komplikasi diabetes ditandai dengan adanya resorpsi tulang alveolar, banyaknya kalkulus, gingivitis,

periodontitis, xerostomia, kandidiasis, kelainan glandula saliva, dan *burning mouth syndrome* (BMS) (Yekti, 2014). Xerostomia terjadi akibat disfungsi kelenjar saliva. Pada penderita diabetes ditemukan kadar glukosa yang tinggi baik pada saliva maupun pada GCF yang berakibat pada peningkatan perlekatan karena asupan makanan yang cukup dan menimbulkan akumulasi plak. Kondisi inilah yang menyebabkan terjadinya karies dan perkembangan penyakit periodontal (Ermawati, 2012).

2.1.5 Patogenesis Komplikasi

Terjadinya komplikasi berawal dari adanya penyempitan pembuluh darah. Penyempitan ini terjadi karena produksi gula darah yang berlebih menempel pada dinding pembuluh darah dan terjadilah proses oksidasi dimana terjadi reaksi antara gula darah dengan protein yang berada pada dinding pembuluh darah dan menyebabkan AGEs yaitu senyawa berbahaya yang terbentuk ketika kelebihan protein dan gula saling mengikat satu sama lain. Nantinya, AGEs ini akan merusak dinding pembuluh darah menyebabkan timbulnya plak dari lemak jenuh sehingga pembuluh darah menjadi kaku, keras dan mengalami penyumbatan. Penyumbatan ini akan mengurangi suplai nutrisi pada jaringan sehingga memudahkan terjadinya peradangan (Tandra, 2014).

2.2 *Porphyromonas gingivalis*

2.2.1 Morfologi

Porphyromonas gingivalis adalah spesies gram negatif, berpigmen hitam, asakarolitik, non-motil yang membutuhkan kondisi anaerobik untuk tumbuh, dan adanya heme atau hemin serta vitamin K dalam milieunutrien (Bostanci dan Belibasakis, 2012)

2.2.2 Taksonomi

Taksonomi dari *P. gingivalis* adalah sebagai berikut (Coykendall, 1980):

Spesies : *Porphyromonas gingivalis*

Genus : *Porphyromonas*

Famili	: <i>Porphyromonadaceae</i>
Ordo	: <i>Bacteroidales</i>
Kelas	: <i>Bacteroidia</i>
Filum	: <i>Bacteroidetes</i>

2.2.3 Faktor virulensi

a. Kapsul

Porphyromonas gingivalis yang berkapsul lebih besar menimbulkan faktor virulensi dibandingkan dengan yang tidak berkapsul. Selain itu, *P. gingivalis* yang tidak berkapsul juga tidak memiliki kemampuan untuk invasi ke dalam sel sehingga mudah dirusak saat proses fagositosis dan dimakan oleh makrofag. Sedangkan *P. gingivalis* yang berkapsul memiliki kemampuan dalam memodulasi respon host ke dengan mensistesis sitokin pro-inflamasi seperti IL-1, IL-6, dan IL-8 (How, 2016).

b. Fimbriae

Fimbriae dari *P. gingivalis* cukup tipis, menonjol, dan berada pada bagian terluar dari sel. Terdapat dua jenis fimbriae dari *P. gingivalis* yakni long fimbriae atau mayor fimbriae dan short fimbriae atau fimbriae minor. Long fimbriae bertanggung jawab untuk perlekatan organisme, mengikat dan mengaktifkan berbagai sel inang (seperti epitel manusia, endotel, dan sel-sel limpa, serta monosit darah perifer) yang mengakibatkan pelepasan sitokin inflamasi dan beberapa molekul adhesi. Sedangkan short fimbriae berperan dalam menstimulasi sitokin proinflamasi seperti interleukin-1 (IL-1), IL-1 β , IL-6, dan tumor necrosis factor- α (TNF- α) (Enersen dkk, 2013).

c. Lipopolisakarida

LPS merupakan molekul penting dan terbesar dalam membran luar dari bakteri. LPS mengandung endotoksin yaitu toksin yang dihasilkan oleh bakteri. Pada beberapa studi ditemukan bahwa LPS merupakan faktor virulensi terbesar dari *P. gingivalis* karena direspon oleh sel-sel inflamator sehingga mengakibatkan inflamasi dengan melepaskan sitokin proinflamasi (IL-1, IL-6, IL-8, dan TNF- α),

mengganggu proses diferensiasi osteoblas, dan mineralisasi sel ligamen periodontal (Nitawati dkk, 2014).

2.2.4 Penyakit Periodontal

Penyakit periodontal merupakan penyakit yang mengenai jaringan pendukung gigi yang umum terjadi yaitu pada gingiva dan tulang alveolar. Pada gingiva disebut dengan gingivitis yakni peradangan atau inflamasi pada margin gingiva dan pada tulang alveolar disebut periodontitis. Etiologi utama dari penyakit tersebut adalah kalkulus dan plak. Gingivitis ditandai dengan gingiva yang berwarna kemerahan, membulat, lunak dan mengalami perdarahan saat probing sedangkan pada periodontitis akan ditemui adanya poket periodontal, peradangan gingiva serta hilangnya perlekatan (Wilson, 1996).

Terdapat banyak faktor yang dapat mempengaruhi patogenesis terjadinya penyakit periodontal salah satunya adalah akumulasi plak. Akumulasi plak merupakan etiologi utama pada patogenesis penyakit periodontal. Akumulasi plak tersebut mengandung bakteri sebagai agen kerusakan. Bakteri inilah yang melakukan perlekatan (adhesi) dan berkolonisasi pada sulkus gingiva yang menyebabkan destruksi. LPS bakteri plak gigi akan merangsang sel seperti makrofag dan fibroblast untuk memproduksi mediator pro-inflamasi seperti IL-1, PGE-2 TNF- α , dan matriks metalloproteinase (MMP) yang berperan dalam mekanisme kerusakan jaringan pada penyakit periodontal. MMP ini akan mengawali terjadinya destruksi matriks ekstraseluler gingiva seperti kolagen dan merangsang terjadinya resorpsi tulang. Mediator ini menghambat proses diferensiasi osteoblas dan menghambat produksi mediator sel osteoblas akibatnya terjadi peningkatan jumlah osteoklas. Osteoblas berperan dalam proses degenerasi tulang sedangkan osteoklas berperan dalam proses destruksi tulang (How, 2016).

Secara tidak langsung bakteri melakukan upaya destruksi jaringan dengan menghindari dan memanipulasi pertahanan tubuh. Dalam keadaan seperti ini, tubuh berusaha menyeimbangkan dengan memproduksi antibodi dan sitokin anti-inflamasi. Meskipun penumpukan plak merupakan penyebab utama terjadinya gingivitis dan periodontitis, akan tetapi masih banyak faktor lain sebagai

penyebabnya yang merupakan multifaktor, meliputi interaksi antara mikroorganisme pada jaringan periodontal dan kapasitas daya tahan tubuh (Nurul, 2002).

2.3 Adiponektin

2.3.1 Pengertian

Jaringan adiposa menghasilkan sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6, dan IL-8 dan mediator anti inflamasi seperti adiponektin, leptin, resistin, dan visfatin. Adiponektin merupakan sekresi dari jaringan adiposa yang sangat penting perannya dalam metabolisme lemak dan glukosa, peningkatan sensitifitas insulin, anti-inflamasi, dan anti-aterogenik. Pada pasien dengan diabetes melitus ditemukan kadar adiponektin yang rendah karena terjadinya mekanisme resistensi insulin. Hal tersebut juga terjadi pada pasien dengan kelainan obesitas. Adiponektin sering dikaitkan dengan individu yang mengalami diabetes tipe 2 dan individu yang mengalami obesitas. Dalam kedua individu tersebut adiponektin berperan meningkatkan sensitivitas insulin (Coelho dkk, 2013; Noor, 2013).

2.3.2 Mekanisme Peranan

Adiponektin memiliki dua reseptor yakni AdipoR1 dan AdipoR2 yang berfungsi dalam mengaktifkan jalur AMP-Kinase dan *Peroksisom Proliferator Active Receptor Alpha* (PPAR). Kedua mekanisme tersebut menghasilkan peningkatan sensitivitas insulin, mengatur metabolisme glukosa dan mengurangi peradangan. Apabila terjadi suatu gangguan pada kedua reseptor tersebut maka akan menimbulkan penurunan biogenesis mitokondria dimana metabolisme glukosa menghasilkan ATP yang diperlukan oleh mitokondria. Kekurangan ATP tersebut menimbulkan terjadinya stress oksidatif pada retikulum endoplasma di jaringan adiposa dan menyebabkan penurunan diferensiasi jaringan adiposa untuk mensekresi adiponektin (Yamauchi, 2008).

Penurunan kadar adiponektin menjadi suatu tanda adanya resistensi insulin. Resistensi insulin merupakan penurunan tingkat kepekaan dari insulin sehingga dibutuhkan insulin yang lebih banyak. Seperti yang telah kita ketahui

bahwa mekanisme resistensi insulin dapat dipengaruhi dari tiga faktor yakni gangguan pre reseptor, reseptor dan post reseptor. Gangguan pre reseptor dapat disebabkan oleh antibodi insulin dan insulin itu sendiri. Gangguan reseptor dapat disebabkan oleh penurunan jumlah reseptor dan kepekaan reseptor. Sedangkan gangguan post reseptor disebabkan oleh gangguan pada proses fosforilasi dan pada signal transduksi di dalam sel otot. Mekanisme terganggunya resistensi insulin di sini, dikaitkan dengan faktor ganggua reseptor yakni pada reseptor AdipoR1 dan AdipoR2 yang dapat menyebabkan resistensi insulin (Merentek, 2006).

2.4 Gingival Crevicular Fluid

GCF merupakan suatu eksudat dari pembuluh darah yang dapat ditemui pada keadaan sehat maupun mengalami inflamasi. Pada keadaan inflamasi, GCF mengandung beberapa produk peradangan sedangkan pada keadaan transisi dari jaringan periodontal sehat menjadi mengalami inflamasi terjadi peningkatan netrofil. Semakin parah penyakit periodontal maka dalam komponen GCF tersebut banyak ditemukan sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6, dan lain-lain (Gupta, 2012).

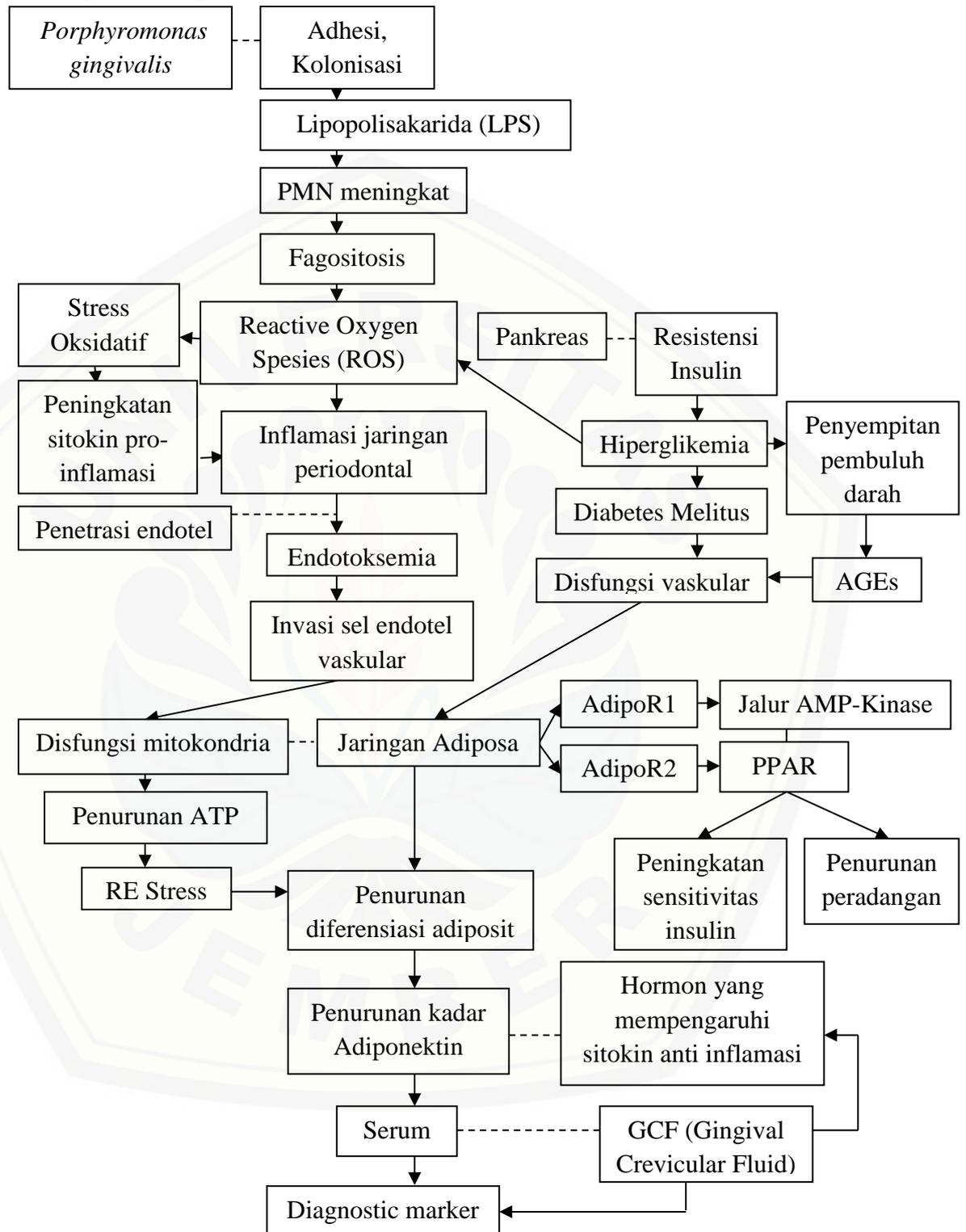
GCF terdiri dari beberapa komponen antara lain komponen seluler (neutrofil, monosit atau makrofag, limfosit, limfosit T, limfosit B), molekul organik (albumin, globulin, lipoprotein, fibrinogen), molekul anorganik (sodium, potasium, kalsium, magnesium, fosfat), enzim (lisozim, gelatin, kolagenase, alkaline fosfat, dehydrogenase, elastase, asam fosfat), dan produk bakteri (endotoksin, asam fosfat) (Rahnama dkk, 2014). Jumlah GCF meningkatkan secara bertahap mulai pukul 6 pagi sampai 10 malam dan perlahan berkurang setelah itu. Untuk meningkatkan produksi GCF bisa dengan mengunyah makanan kasar atau melakukan pijat gingiva (Khurshid dkk, 2017). Kisaran pH sulkus gingiva bervariasi antara 6,5 dan 8,5. Hal tersebut bergantung pada jenis yang mendominasi di sana (Barros dkk, 2016).

Cairan ini dapat diperoleh dari sulkus gingiva atau poket periodontal apabila dalam keadaan inflamasi dari sekitar gigi yang mengalami inflamasi. GCF

mengandung serum, leukosit, sel periodonsium, di rongga mulut dan juga sitokin atau mediator inflamasi baik pro-inflamasi maupun anti-inflamasi dalam jumlah yang cukup signifikan sehingga dapat digunakan sebagai indikator keadaan jaringan periodontal. Indikator di sini dimaksudkan indikator keadaan penyakit saat ini, prediksi perkembangan penyakit di masa depan, atau prediksi permulaan penyakit di masa depan (Ekaputri, 2010).



2.5 Kerangka Konsep



Gambar 1.1 Kerangka konsep

2.6 Hipotesis

Induksi *P. gingivalis* dapat mempengaruhi kadar adiponektin GCF pada model tikus diabetes melitus.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris secara *in vivo* dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*, yaitu melakukan pengamatan dan pengukuran setelah perlakuan dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol (Notoatmodjo, 2010). Penelitian ini merupakan serangkaian penelitian dana hibah oleh Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia pada bidang PKM-Penelitian tahun 2016. Pada penelitian ini dilakukan pengukuran kadar adiponektin pada serum darah dan GCF hewan coba, namun pada skripsi ini hanya akan membahas mengenai kadar adiponektin pada GCF hewan coba.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan September sampai dengan Desember 2017. Penelitian dilaksanakan ditempat berikut:

- a. Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk perlakuan hewan coba.
- b. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk pembuatan dan peremajaan media suspensi *P. gingivalis*.
- c. Laboratorium Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk uji ELISA.

3.3 Identifikasi Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah infeksi *P. gingivalis* pada model tikus diabetes melitus.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar adiponektin pada GCF.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah hewan coba, pakan dan minum hewan coba, STZ, dan *P. gingivalis*. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan dengan umur minimal 3 bulan, memiliki berat badan antara 200 gram sampai 250 gram dan dalam keadaan sehat. Pakan dan minum hewan coba adalah pakan standar sebanyak 30 gram dan minum air sebanyak 100 cc per hari. *P. gingivalis* yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 0,05 ml dengan konsentrasi 2×10^9 CFU/ml. *Streptozotocin* yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 40 mg/kgBB pada hari pertama, 35 mg/kgBB pada hari kedua, 30 mg/kgBB pada hari ketiga, 25 mg/kgBB pada hari keempat dan 20 mg/kgBB pada hari kelima.

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Infeksi *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis didapatkan dari media kultur, yaitu dengan BHI-A yang diperkaya hemin dan vitamin K. Infeksi *P. gingivalis* adalah injeksi 0,05 ml *P. gingivalis* ATCC 33277 dengan konsentrasi 2×10^9 CFU/ml (sebanding dengan 6,67 standar McFarland) pada area sulkus gingiva distobukal dan distopalatal gigi molar pertama rahang atas sebanyak 7 kali dalam interval 3 hari sekali. Jadi, jumlah total hari sebanyak 19 hari.

3.4.2 Diabetes Melitus

Diabetes Melitus adalah model tikus dalam keadaan diabetes karena diinduksi STZ secara intraperitoneal dengan dosis bertingkat sebanyak lima kali injeksi dengan total injeksi selama lima hari. Injeksi dimulai dengan dosis 40 mg/kgBB pada hari pertama, 35 mg/kgBB pada hari kedua, 30 mg/kgBB pada hari ketiga, 25 mg/kgBB pada hari keempat dan 20 mg/kgBB pada hari kelima. Pada model tikus setiap hari dilakukan pemeriksaan Kadar Glukosa Darah (KGD) dan dinyatakan diabetes apabila Kadar Glukosa Darah (KGD) sewaktu > 200 mg/dl.

3.4.3 Kadar Adiponektin GCF

Penghitungan kadar adiponektin GCF dilakukan dengan ELISA kit ab1087846 (Bioassay) yang akan dibaca menggunakan ELISA reader di bawah panjang gelombang 450 nm. Semua prosedur yang terdiri dari preparasi sampel, preparasi larutan standar, preparasi washing, dan penghitungan sudah dijelaskan pada protap.

3.5 Populasi dan Sampel Penelitian

3.5.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian yang digunakan adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan.

3.5.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan.

3.5.3 Jumlah Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan rumus berikut: (*Institute for Laboratory Animal Research, 2003*)

$$n = \frac{\log \beta}{\log p}$$

Keterangan:

β = probabilitas melakukan kesalahan (0,05)

p = proporsi hewan coba yang tidak terpapar

n = jumlah sampel

Dalam penelitian ini terdapat 4 perlakuan yaitu 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol sehingga nilai p yang digunakan:

$$p = \frac{1}{4} = 0,25$$

$$n = \frac{\log 0,05}{\log 0,25} = \frac{1,301}{0,602}$$
$$n = 2,161$$
$$n \approx 3$$

Berdasarkan rumus di atas maka jumlah sampel minimal yang harus digunakan adalah 3 sampel untuk masing-masing kelompok. Penelitian ini menggunakan subyek untuk tiap kelompok sebanyak 3 ekor tikus, yang terbagi dalam 4 kelompok sehingga jumlah keseluruhan sebanyak 12 ekor tikus.

3.5.4 Kelompok Penelitian

a. Kelompok kontrol (K)

Kelompok yang tidak diberi perlakuan sama sekali.

b. Kelompok perlakuan 1 (P1)

Kelompok model tikus yang diinduksi *P. gingivalis*.

c. Kelompok perlakuan 2 (P2)

Kelompok model tikus yang dibuat dalam kondisi diabetes melitus dengan cara menginjeksikan STZ.

d. Kelompok perlakuan 3 (P3)

Kelompok model tikus dibuat dalam kondisi diabetes melitus dan diinduksi *P. gingivalis*.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

a. Alat untuk kultur bakteri terdiri dari:

- 1) Tabung *erlenmeyer*
- 2) *Autoclave* (Mommert, Jerman)
- 3) Rak tabung
- 4) Tabung reaksi
- 5) Petridisk tidak bersekat
- 6) *Vortex* (Labinco, Belanda)

- 7) *Desiccator*
 - 8) Pipet mikro (Hummapete, Jerman)
 - 9) Inkubator (Daihan Labtech, India)
 - 10) Laminar flow cabinet
- b. Alat untuk pemeliharaan hewan coba terdiri dari:
- 1) Kandang
 - 2) Wadah pakan
 - 3) Wadah minum
 - 4) Timbangan
- c. Alat untuk proses pemberian *P. gingivalis* ATCC 33277, terdiri dari:
- 1) *Rat dental chair*
 - 2) Syringe kecil kapasitas 1 ml (Terumo, Jepang)
 - 3) Lampu senter
 - 4) *Falcon tube*
- d. Alat untuk proses pemberian STZ (Bioworld, USA) terdiri dari:
- 1) Jarum insulin 26G (Terumo, Jepang)
 - 2) *Rat dental chair*
 - 3) Syringe kecil kapasitas 1 ml (Terumo, Jepang)
 - 4) Lampu senter
 - 5) *Falcon tube*
- e. Alat untuk mengecek kadar gula darah terdiri dari:
- 1) Blood lancets (One Med, China)
 - 2) Glukometer (Easy Touch, Taiwan)
 - 3) Glukometer *test strip* warna hijau (Easy Touch, Taiwan)
- f. Alat untuk pengambilan sampel GCF terdiri dari:
- 1) Pinset berkerat (Dentica, USA)
 - 2) Paper point no.15 (Dental plus, China)
 - 3) Eppendorf

g. Alat untuk hitung kadar adiponektin terdiri dari:

- 1) ELISA kit ab1087846 (Bioassay)
- 2) Blue tip
- 3) Yellow tip
- 4) Mikropipet
- 5) Mikropipet channel 8
- 6) Centrifuge
- 7) *Vortex*

h. Alat untuk terminasi tikus terdiri atas :

- 1) Papan wax yang terbuat dari sterofoam dan dilapisi plastik
- 2) Jarum tuberkulin (One Med, China)
- 3) Pinset (OneMed, China)
- 4) Gunting bedah (OneMed, China)
- 5) Sarung tangan (Sensi, Indonesia)

3.6.2 Bahan Penelitian

a. Bahan pembuatan sediaan *Porphyromonas gingivalis* terdiri dari:

- 1) *P. gingivalis* ATCC 33277
- 2) NaOH 1ml
- 3) *Brain Heart Infusion Agar* (BHI-A) 3,7 gram (Gamma Scientific Biolab, Indonesia)
- 4) Hemin 50 µg (Biomedicals. Inc., Perancis)
- 5) Vitamin K 10 µ (Sigma-Aldrich, Jerman)
- 6) Yearst Estrak 500 µl
- 7) Aquades steril 100 ml

b. Bahan pembuatan suspensi *P. gingivalis* terdiri dari:

- 1) *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B) 0,37 gram (Gamma Scientific Biolab, Indonesia)
- 2) Hemin 50 µg (Biomedicals. Inc., Perancis)
- 3) 1 µl vitamin K (Sigma-Aldrich, Jerman)
- 4) 50 µl ekstrak yeast

5) 10 ml aquades

c. Bahan injeksi *P. gingivalis* terdiri dari:

1) *P. gingivalis* tipe ATCC 33277 0,5 µg/ 0,05 ml dengan konsentrasi 2×10^9 CFU/ml tiap kali.

d. Bahan pembuatan model tikus diabetes melitus terdiri dari:

- 1) Tikus wistar jantan
- 2) STZ (Bioworld, USA)
- 3) Aquades steril
- 4) Larutan buffer sitrat 0,1 M

e. Bahan untuk pemeliharaan tikus terdiri dari:

- 1) Pakan standar AD2 pellet (Comfeed, Indonesia)
- 2) Air mineral (Aqua, Indonesia)

f. Bahan tambahan terdiri dari:

- 1) Alkohol 70% (OneMed, Indonesia) dan betadine
- 2) Masker dan *handscoon*
- 3) Sekam
- 4) Kloroform absolut untuk anestesi
- 5) Bahan untuk hitung kadar adiponektin yang terdapat di dalam ELISA kit ab1087846

3.7 Prosedur Penelitian

Peneliti menggunakan tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan dalam penelitian ini. Adapun langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:

3.7.1 Tahap Persiapan Hewan Coba

- a. Persiapan dimulai dengan pengajuan *ethical clearence* kepada bagian etika dan advokasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta untuk mendapatkan perizinan pelaksanaan penelitian.
- b. Hewan coba yang digunakan adalah 16 subjek tikus yang akan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu :
 - 1) Kelompok kontrol (K) yaitu kelompok yang tidak diberi perlakuan sama sekali.

- 2) Kelompok perlakuan 1 (P1), yaitu model tikus yang diinduksi *P. gingivalis*.
 - 3) Kelompok perlakuan 2 (P2), yaitu model tikus dibuat dalam kondisi diabetes melitus dengan diinduksi STZ.
 - 4) Kelompok perlakuan 3 (P3), yaitu model tikus dibuat dalam kondisi diabetes melitus dan terinfeksi *P. gingivalis*.
- c. Hewan dilakukan adaptasi terhadap tempat dan makanan selama seminggu sebelum diberi perlakuan. Setiap kandang ditempatkan satu ekor tikus dan kandang dibersihkan setiap hari pada pagi hari. Makanan yang diberikan 30 gram per hari dengan minum 100 cc. Sebelum dilakukan perlakuan semua hewan coba dilakukan penimbangan berat badan dan pemeriksaan kadar gula darah sewaktunya.

3.7.2 Persiapan Bahan Perlakuan

Bahan yang digunakan pada kelompok perlakuan adalah *P. gingivalis* ATCC 33277 dengan konsentrasi 2×10^9 CFU/ml (sebanding dengan 6,67 standar McFarland) sebanyak 0,5 μ g/ 0,05 ml yang bertujuan untuk menyebabkan infeksi pada jaringan periodontal hewan coba (Kusumawardani, 2012).

Pada persiapan bahan diabetogenik, STZ yang digunakan untuk menginduksi diabetes melitus ditimbang terlebih dahulu, dengan dosis bertingkat, dengan dosis 40 mg/kgBB, 35 mg/kgBB, 30 mg/kgB, 25 mg/kgBB, dan 20 mg/KgBB. Kemudian STZ dihitung untuk mendapatkan takaran dosis dalam ml (Hikmah dkk., 2015).

3.7.3 Pembuatan Media Kultur *Porphyromonas gingivalis*

Pertama dilakukan pembuatan media kultur *P. gingivalis*, yaitu dengan BHI-A yang diperkaya hemin dan vitamin K. Untuk membuatnya dibutuhkan *hemin solution* sebanyak 50 μ l, vitamin K 10 μ l, ekstrak *yeast* 500 μ l, dan BHI-A sebanyak 3,7 gram dalam 100 ml akuades steril yang dicampur pada tabung *erlemeyer* kemudian dihomogenkan. Selanjutnya, tabung ditutup menggunakan kapas dan disterilkan pada *autoclave* dengan suhu 121⁰ selama 15 menit. Media

tersebut dibagi empat, masing-masing 25 ml lalu dimasukkan ke dalam *petridish* tidak bersekat lalu ditunggu sampai padat. Satu ose *P. gingivalis* jenis ATCC 33277 murni diinokulasi pada masing-masing *petridish* kemudian diinkubasi selama 2x24 jam (Fitriyana dkk., 2013).

3.7.4 Pembuatan Suspensi *Porphyromonas gingivalis*

Sebelumnya dilakukan pembuatan media cair sebanyak 10 ml, yaitu dari 0,37 gram BHI-B, 1 µl vitamin K, 5 µl hemin serta 50 µl ekstrak *yeast*. Selanjutnya dilakukan pembuatan suspensi *P. gingivalis*. Pada media cair diberi satu ose *P. gingivalis* yang berasal dari pembiakan di media agar BHI-A. Suspensi *P. gingivalis* yang didapat lalu dimasukkan *desiccator* dan diinkubasi selama 2x24 jam. Setelah diinkubasi, suspensi *P. gingivalis* diukur konsentrasinya hingga didapatkan 12×10^9 CFU/ml. Selanjutnya dibuatkan preparat dengan pengecatan gram untuk menentukan dalam keadaan baik dan tidak terkontaminasi (Fitriyana dkk., 2013).

3.7.5 Pembuatan Larutan STZ

STZ yang telah ditimbang sesuai berat badan hewan coba kemudian dihitung untuk mendapatkan takaran dosis (dalam ml) dengan cara dilarutkan dengan aquades dan ditetesi dengan larutan buffer sitrat 0,1 M sampai didapatkan larutan STZ dengan pH 4,5. Larutan STZ tersebut kemudian dicampur hingga homogen dan disimpan pada suhu 4°C (Hikmah dkk., 2015).

3.7.6 Prosedur Perlakuan

Pada kelompok perlakuan 1 (P1), tikus di injeksi 0,05 ml *P. gingivalis* ATCC 33277 dengan konsentrasi 2×10^9 CFU/ml pada area sulkus gingiva distobukal dan distopalatal gigi molar pertama rahang atas. Injeksi diulang setiap tiga hari sekali selama 19 hari (Kusumawardani, 2012). Pada kelompok perlakuan 2 (P2) dan kelompok perlakuan 3 (P3) dilakukan induksi STZ dengan dosis bertingkat, dimulai dengan dosis 40 mg/kgBB pada hari pertama, 35 mg/kgBB pada hari kedua, 30 mg/kgBB pada hari ketiga, 25 mg/kgBB pada hari keempat

dan 20 mg/KgBB pada hari kelima. Induksi STZ dilakukan secara intraperitoneal yang dimulai dengan cara menyemprotkan alkohol pada area injeksi kemudian melakukan injeksi STZ, kemudian diolesi *povidon iodine* (Hikmah dkk., 2015). Untuk kelompok perlakuan 3 (P3), pada hari keenam dilakukan injeksi 0,05 ml *P. gingivalis* ATCC 33277 dengan konsentrasi 2×10^9 CFU/ml pada area sulkus gingiva distobukal dan distopalatal gigi molar pertama rahang atas. Injeksi diulang setiap tiga hari sekali selama 19 hari (Kusumawardani, 2012). Setelah selesai perlakuan, hewan coba dimasukkan dalam kandang dan dilakukan pengambilan GCF satu hari setelah injeksi terakhir.

3.7.7 Prosedur Pengambilan Sampel *Gingival Crevicular Fluid*

Gigi dibersihkan dengan kapas untuk mengontrol saliva kemudian dilakukan pengambilan sampel GCF dengan paper point nomor 15 (ukuran paling kecil agar dapat masuk sepenuhnya ke dalam sulkus gingiva hewan coba), selama 30 detik. Paper point diposisikan horizontal dari mesial gigi molar 1 sampai distal gigi molar 3 menyentuh bagian sulkus gingiva. Kita perlu berhati-hati pada saat pengambilan sampel GCF agar tidak menimbulkan perlukaan pada daerah sulkus gingiva yang nantinya akan menyebabkan kontaminasi dan mempengaruhi hasil. Setelah pengambilan sampel, paper point dimasukkan ke dalam 0,5 mL eppendorf tube dan disimpan pada suhu -60°C , sampai dilakukannya uji ELISA. sebelum dilakukan uji ELISA eppendorf tube ditambahkan larutan *Phosphate Buffer Solutions* (PBS) lalu dilakukan 2500x sentrifuge pada suhu kamar selama 20 menit sehingga didapatkan supernatan dari sampel GCF yang ditambahkan larutan PBS tersebut. Setelah itu dilakukan uji ELISA dengan ELISA kit (Dharmayanti, 2012).

3.7.8 Pengukuran Kadar Glukosa Darah (KGD) dan Berat Badan (BB)

Melakukan pengukuran kadar glukosa darah pada hewan coba dengan mengambil darahnya dari pembuluh darah vena ekor tikus. Tikus dikatakan dalam kondisi diabetes apabila KGD sewaktunya > 200 mg/dl (Boel, 2003). Pemeriksaan KGD pada kelompok perlakuan 1 (P1) dilakukan setiap akan melakukan injeksi *P.*

gingivalis selama 19 hari perlakuan. Pemeriksaan KGD kelompok perlakuan 2 (P2) dilakukan selama lima hari setiap akan dilakukan injeksi STZ. Pemeriksaan KGD kelompok perlakuan 3 (P3) dilakukan selama lima hari setiap akan dilakukan injeksi STZ dan setiap akan melakukan injeksi *P. gingivalis* selama 19 hari injeksi. Berat badan pada hewan coba juga diukur pada waktu yang sama dengan pemeriksaan KGD.

3.7.9 Uji ELISA

a. Prosedur Pengujian

Tahapan preparasi standar dilakukan dengan menyiapkan 7 ependorf tube yang kemudian pada masing-masing ependorf tube dimasukkan 80 µl standar dilution. Biarkan ependorf tube (1) memiliki konsentrasi murni yakni 1280ng/L. Kemudian masukkan 80 µl standar solution pada ependorf tube (2), homogenkan dengan vortex. Lalu ambil 80 µl larutan yang telah dihomogenkan tadi dan masukkan pada ependorf tube (3). Maka, konsentrasi larutan pada ependorf tube (2) menjadi 640ng/L. Setelah dimasukkan 80 µl cairan dari ependorf tube (2) homogenkan cairan pada ependorf tube (3). Lalu ambil 80 µl larutan yang telah dihomogenkan tadi dan masukkan pada ependorf tube (4). Maka, konsentrasi larutan pada ependorf tube (3) menjadi 320ng/L. Setelah dimasukkan 80 µl cairan dari ependorf tube (3) homogenkan cairan pada ependorf tube (4). Lalu ambil 80 µl larutan yang telah dihomogenkan tadi dan masukkan pada ependorf tube (5). Maka, konsentrasi larutan pada ependorf tube (4) menjadi 160ng/L. Setelah dimasukkan 80 µl cairan dari ependorf tube (4) homogenkan cairan pada ependorf tube (5). Lalu ambil 80 µl larutan yang telah dihomogenkan tadi dan masukkan pada ependorf tube (6). Maka, konsentrasi larutan pada ependorf tube (5) menjadi 80ng/L. Setelah dimasukkan 80 µl cairan dari ependorf tube (5) homogenkan cairan pada ependorf tube (6). Lalu ambil 80 µl larutan yang telah dihomogenkan tadi dan masukkan pada ependorf tube (7). Maka, konsentrasi larutan pada ependorf tube (6) menjadi 40ng/L. Ependorf tube (7) tidak digunakan sebagai standar namun bisa ditambahkan konsentrasi standar baru yakni standar 0ng/L dimana standar tersebut kosong (tidak berisi cairan apapun).

Selanjutnya melakukan tahapan preparasi sampel. Sampel yang sebelumnya diambil dengan menggunakan paper point dan disimpan dalam endorf tube yang ditutup selotip parafin selama 1 bulan pada suhu -60°C . Pada tahap ini peneliti menyipakan endorf tube kedua dengan ukuran yang lebih besar dari endorf tube pertama yang digunakan sebagai wadah awal sampel. Beri lubang pada ujung bawah endorf tube pertama dengan menggunakan jarum. Masukkan endorf tube pertama pada endorf tube kedua. Beri PBS dengan pH 7,4 sebanyak $50\mu\text{l}$ menggunakan mikropipet dengan mengalirkan pada dinding paper point. Lakukan sentrifugasi 2000-3000 rpm selama 20 menit. Keluarkan endorf pertama dari endorf kedua dan kemudian didapati cairan PBS telah turun pada endorf kedua. Sampel siap dilakukan uji ELISA.

Tahapan selanjutnya adalah menyiapkan larutan standar dan larutan sampel yang ditempatkan pada well. Dalam menyiapkan larutan well standar, tambahkan tepat $50\mu\text{l}$ larutan standar pada tiap well standar, kemudian tambahkan tepat $50\mu\text{l}$ streptavidin-HRP kemudian homogenkan dengan cara mengetuk perlahan. Lalu tutup well dengan *seal plate membran* dan lakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit.

Dalam menyiapkan larutan well sampel, tambahkan tepat $40\mu\text{l}$ sampel dan tepat $10\mu\text{l}$ ADP antibodi, tepat $50\mu\text{l}$ streptavidin-HRP. Lalu tutup dengan *seal plate membran*. Kemudian kocok perlahan untuk mencampurkannya dan lakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit.

Kemudian siapkan *washing solution* dengan (20X) pengenceran. Pengenceran dilakukan dengan aquadest steril. Maksud dari pengenceran 20X adalah peneliti menggunakan perbandingan dengan cara mengambil 10 ml *washing concentrate* dari 20 ml *washing concetrates* yang telah disediakan pada ELISA kit, masukkan pada tabung ukuran 500 ml lalu tambahkan 190 ml aquadest steril kemudian homogenkan sehingga didapatkan jumlah 200 ml . Yang nantinya akan disebut sebagai konsentrasi *washing buffer* sebanyak 20X pengenceran.

Selanjutnya memasuki tahapan *washing* dengan cara membuang larutan pada well menggunakan mikropipet channel 8 (masing-masing berisi $200\mu\text{l}$).

Kemudian tambahkan *washing buffer* (20X) pada masing-masing well menggunakan mikropipet channel 8 (masing-masing berisi 200 μ l). Lakukan sebanyak 5 kali pengulangan pencucian. Setelah 5 kali pengulangan, apabila masih terdapat sisa cairan, buang sisa cairan menggunakan kertas serap atau *tissue*.

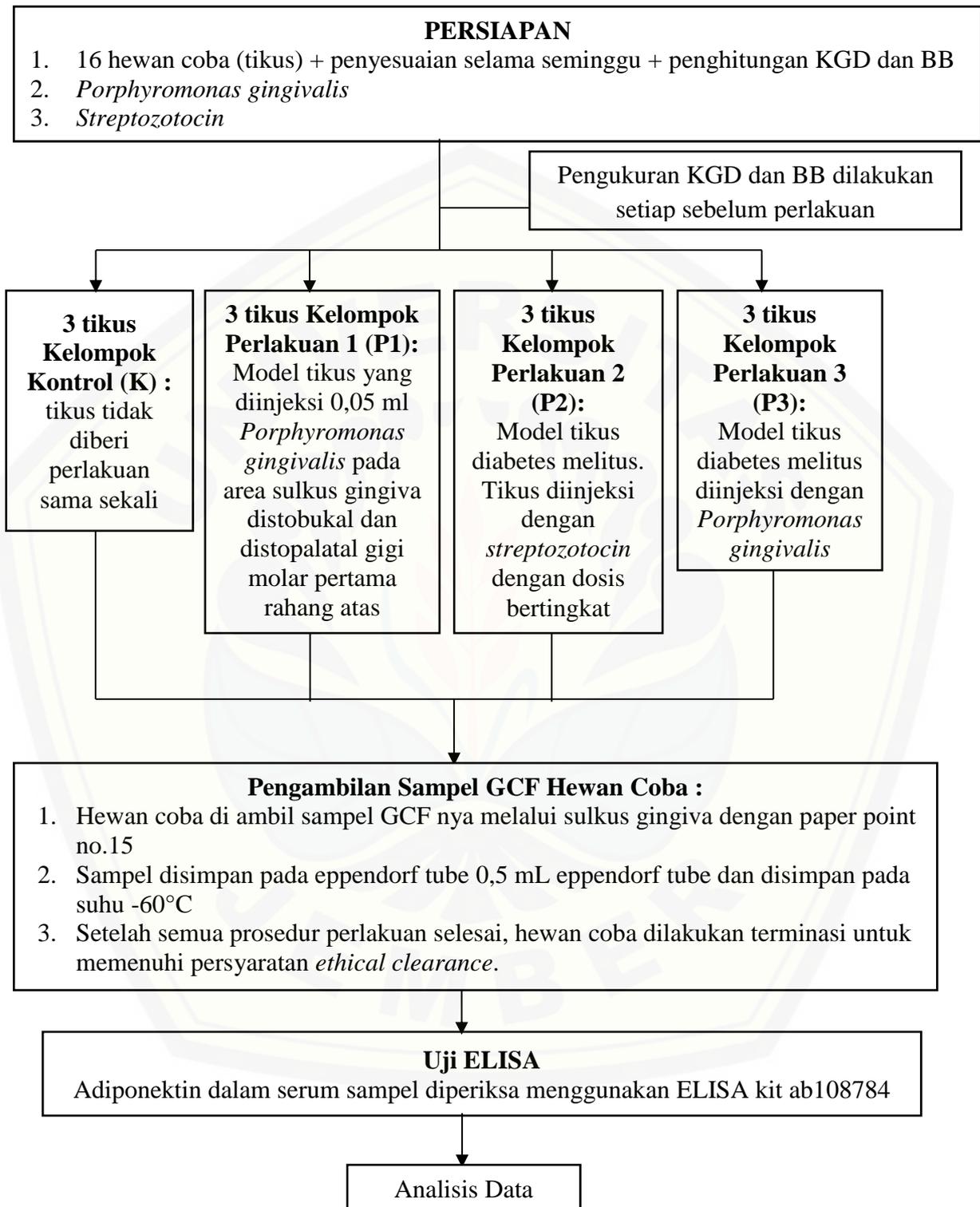
Untuk mengetahui terjadinya perubahan warna, peneliti perlu menambahkan tepat 50 μ l larutan chromogen A dan chromogen B pada masing-masing well. Homogenkan dengan mengetuk secara perlahan untuk mencampurkannya. Kemudian tutup dengan *seal plate membran* dan lakukan inkubasi selama 10 menit pada suhu 37° jauhkan dari cahaya untuk melihat terjadinya perubahan warna. Tahapan selanjutnya adalah menambahkan tepat 50 μ l stop solution pada masing-masing well untuk menghentikan reaksi (segera terjadi perubahan warna biru ke kuning).

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil well kosong, kemudian hitung penyerapan (OD) pada masing-masing well satu per satu dibawah panjang gelombang 450 nm, yang harus dilakukan selama 10 menit setelah menambahkan stop solution. Menurut standar konsentrasi dan hubungan nilai OD, dihitung berdasarkan regresi linier persamaan standar kurva. Selanjutnya menurut sampel nilai OD, hitung hubungan konsentrasi dari sampel.

3.8 Analisis data

Pada penelitian ini, hasil data yang didapatkan dianalisis menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov* untuk mengetahui data yang dihasilkan terdistribusi normal atau tidak dan uji *Levene* untuk mengetahui homogenitas data. Data yang terdistribusi normal dan homogen yang kemudian dilakukan uji statistik parametrik yaitu *one way Anova* dan dilanjutkan dengan *Least Significant Different* (LSD). Jika data yang dihasilkan terdistribusi normal namun tidak homogen maka dilakukan uji statistik non-parametrik yaitu *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan *Mann-Whitney Test* Semua uji ini menggunakan tingkat kemaknaan % ($\alpha=0,05$) (Subekti, 2014).

3.9 Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa peradangan yang dipicu oleh induksi bakteri *P. gingivalis* dan diabetes melitus dapat menurunkan kadar adiponektin pada GCF hewan coba.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, penulis dapat memberikan saran sebagai berikut:

- 5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kadar adiponektin pada GCF tikus secara kontinyu baik sebelum, saat, dan sesudah perlakuan sehingga dapat diketahui perubahan kadar adiponektin yang lebih baik.
- 5.2.2 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui tingkat keparahan penyakit periodontal dengan perubahan kadar adiponektin.
- 5.2.3 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat keterlibatan adiponektin sebagai sitokin anti-inflamasi atau hasil dari regulasi hormon.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-azawy, V., Abdulwahid, S., dan Batool, H. 2014. A comparative Study on Serum Leptin and Adiponectin levels in Periodontitis Patients with and without Diabetes Mellitus Type 2. *Ijsr - International Journal Of Scientific Research*. 3(5): 1-4.
- Arisman. 2013. *Obesitas, Diabetes Melitus, dan Dislipidemia: Konsep: Teori, dan Penanganan Aplikatif Seri Buku Ajar Ilmu Gizi*. Jakarta: EGC.
- Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. 2013. *Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar Indonesia (Riskesdas)*. Desember. Jakarta.
- Barros, S. P. , R. Williams, S. Offenbacher, dan T. Morelli. 2016. Gingival Crevicular as a Source of Biomarkers for Periodontitis. *Periodontol 2000*. 2016 February ; 70(1): 53–64.
- Boel, T. 2003. Manifestasi Rontgenografi Diabetes Melitus di Rongga Mulut. *JKGUI (Edisi Khusus)*. 10: 12-15.
- Bostanci, N., dan Georgios N. B. 2012. *Porphyromonas gingivalis*: an Invasive and Evasive Opportunistic Oral Pathogen. *FEMS Microbiol Lett*. 333 : 1-9.
- Chen, S. J., Chi, H. Y., Yi, C. H., Bor, J. L., Simon, H., Ping, T. L. 2012. Relationships between Inflammation, Adiponektin, and Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *Journal Plos One*. 7(9): 1-5.
- Coelho, M., T. Oliveira, dan R. Fernandes. 2013. Biochemistry of Adipose Tissue: An Endocrine Organ. *Arch Med Sci* 2. 2: 191-200.
- Coykendall. 1980. *Porphyromonas gingivalis*. BacDive—the Bacterial Diversity Metadatabase (<http://bacdive.dsmz.de>) [Diakses 5 Mei 2017].
- Dewi, M. 2007. Resistensi Insulin Terkait Obesitas: Mekanisme Endokrin Dan Intrinsik Sel. *Jurnal Gizi dan Pangan*. 2(2): 49-54.
- Dharmayanti, A.W.S. 2012. Deoxyypyridinoline Level in Gingival Crevicular Fluid as Alveolar Bone Loss Biomarker in Periodontal Disease. *Dent. J. (Maj. Ked. Gigi)*. 45(2): 102-106.
- Edwina, D. A., A. Manaf, dan E. Efrida. 2015. Pola Komplikasi Kronis Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Rawat Inap di Bagian Penyakit Dalam RS. Dr. M. Djamil Padang Januari 2011 - Desember 2012. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 4(1): 102-106.
- Ekaputri, S. dan S. L. C. Masulili. 2010. Cairan Sulkus Gingiva Sebagai Indikator Keadaan Jaringan Periodontal. *Majalah Kedokteran Gigi*. 17(1): 81-86.

- Enersen, M., K. Nakano, dan A. Amano. 2013. Porphyromonas gingivalis fimbriae. *Journal of Oral Microbiology*. 5: 1-10.
- Ermawati, T. 2012. Periodontitis dan Diabetes Melitus. *Stomatognathic (J. K. G UNEJ)*. 9(3): 152-154.
- Fantuzzi, G. 2013. Adiponectin in inflammatory and immune-mediated diseases. *Cytokine*. 64: 1-10.
- Fitriyana, N., Y. M. D. Arina, H. Harmono, dan I. D. A. Susilawati. Pemaparan bakteri Porphyromonas gingivalis mempengaruhi produksi superoksida netrofil. *Dentofasial*. 12(3): 152-158.
- Furugen, R., Hayashida, H., Kitamura, M., dan Saito, T. 2010. Relationship between adipokines and periodontitis. *Japanese Dental Science Review*. 46(2): 159-164.
- Gackowska, L., Litwin, M., Trojanek, J., Eljaszewicz, A., Kubiszewska, i., Niemirska, A., Wierzbicka, A., dan Michalkiewicz, J. 2015. Expression of Adiponectin Receptors on Peripheral Blood Leukocytes of Hypertensive Children Is Associated with the Severity of Hypertension. *BioMed Research International*. 15: 1-11.
- Garaulet, M., Juan, J., Fatima, P., dan Fransisco, J. 2007. Adiponectin, the controversial hormone. *Public Health Nutrition*. 10(10A): 1145-1150.
- Ghadge, A. A., Khaire, A. A., dan Kuvalekar, A. A. 2018. Adiponectin: A potential therapeutic target for metabolic syndrome. *Cytokine & Growth Factor Reviews*.
- Goodson, J. M., Groppo, D., Halem, S., dan Carpino, E. Is Obesity an Oral Bacterial Disease. *J Dent Res*. 2009. 88(6): 519-523.
- Gupta, G. 2012. Gingival crevicular fluid as a periodontal diagnostic indicator- I: Host derived enzymes and tissue breakdown products. *Journal of Medicine and Life*. 5(4): 390-397.
- Gupta, V., Mishra S., Mishra, S., Kumar, S., dan Gupta, V. Association of Leptin: Adiponectin ratio and metabolic risk markers in postmenopausal women. *Immunology Letters*. 196: 63-67.
- Hartanti. 2013. Efek Kontrol Glikemik Terhadap Penyakit Periodontal Penderita Diabetes Melitus. *IDJ*. 2(2); 97-102.
- Headley, C. A., Disilvestro, D., Bryant, K. E., Hemann, C., Chen, A., Das, A., Ziouzenkova, O., Durand, G., dan Villamena, F.A. 2016. Nitrones reverse hyperglycemia-induced endothelial dysfunction in bovine aortic endothelial cells. *Biochemical Pharmacology*. 104: 108-117.

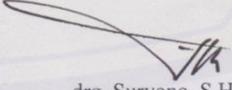
- How, K. Y., K. P. Song, dan K. G. Chan. 2016. Porphyromonas gingivalis: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line. *Frontiers in Microbiology*. 7(53): 1-14.
- Hikmah, N., A. D. P. Shita, dan H. Maulana. 2015. Rat Diabetic Blood Glucose Level Profile with Stratified Dose Streptozotocin (SD-STZ) and Multi Low Dose Streptozotocin (MLD-STZ) Induction Methods. *The Journal of Tropical Life Science*. 5 (1): 30-34.
- Karbowska, J. dan Kochan, Z. Role Of Adiponectin In The Regulation Of Carbohydrate And Lipid Metabolism. *Journal Of Physiology And Pharmacology*. 2006, 57(6): 103-113.
- Kowluru, R. A. dan Mishra, M. 2015. A Review Oxidative stress, mitochondrial damage and diabetic retinopathy. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1852: 2474-2483.
- Kristina, H., Sartono, N., dan Rusdi. 2016. Kadar Peroksida Lipid Dan Aktivitas Superoksida Dismutase Serum Darah Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Bioma*. 12(1): 1-11.
- Institute for Laboratory Animal Research. 2003. Guidelines for The Care and Use of Mamals in Neuroscience and Behavior Reserch. Washington DC: The National Academies Press: 177.
- International Diabetes Federation (IDF). 2015. www.idf.org/membership/wp [Diakses tanggal 5 Mei 2017].
- Khurshid, Z., M. Mali, M. Naseem, S. Najeeb, dan M. S. Zafar. 2017. Human Gingival Crevicular Fluids (GCF) Proteomics: An Overview. *Dent. J.* 5(12).
- Koh, E. H., J. Y. Park, H. S. Park, M. J. Jeon, J. W. Ryu, M. Kim, S. Y. Kim, M. S. Kim, S. W. Kim, I. S. Park, J. H. Youn, dan K. U. Lee. 2007. Original Article Essential Role of Mitochondrial Function in Adiponectin Synthesis in Adipocytes. *Diabetes*. 56(12): 2973-2981.
- Kusumawardani, Banun. 2012. Dampak Infeksi Porphyromonas gingivalis pada Jaringan Periodontal Maternal Terhadap Pertumbuhan Janin : Analisis Pengaruh Ekspresi TLR-2, TLR-4, TNF, IL-10 dan caspase-3 pada Plasenta Tikus terhadap Penurunan Berat Plasenta, Berat Janin, dan Panjang Janin. *Disertasi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Liu, C., Feng, X., Li, Q., Wang, Y., Li, Q., Hua, M. 2016. Adiponectin, TNF- α and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Journal Elsevier Cytokine*. 86: 100-109.

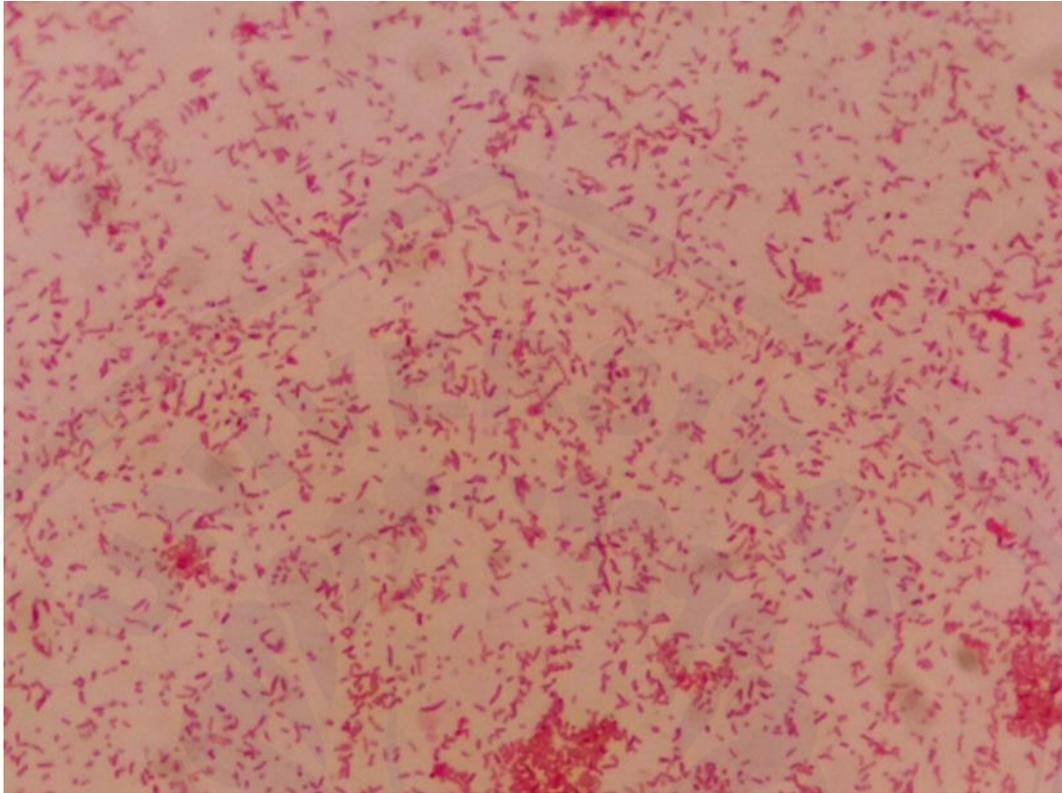
- Mather, K., Tohru, F., Yuji, M., Sharon, E., dan George, A. 2008. Adiponectin, Change in Adiponectin, and Progression to Diabetes in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes*. 57: 980-986.
- Mirza, S., Hossain, M., Mathews, C., Martinez, P., Pino, P., Gay, J.L., Rentfro, A., McCormick, J. B., dan FisherHoch, S.P. 2012. Type 2-diabetes is associated with elevated levels of TNF-alpha, IL-6 and adiponectin and low levels of leptin in a population of Mexican Americans: A cross-sectional study. *Cytokine*. 57: 136-142.
- Merentek, E. 2006. Resistensi Insulin Pada Diabetes Melitus Tipe 2. *Cermin Dunia Kedokteran No. 150*. Poliklinik Endokrin Metabolik, Bagian Penyakit Dalam Rumah Sakit Umum Gowa: Makassar.
- Moussa, S.A. 2008. Oxidative Stress In Diabetes Mellitus. *Romanian J. Biophys.* 18 (3): 225-236.
- Nitawati, N. P. M., Robin, D. M. C., dan Syafriadi, M., 2014, Respon Limfosit T Sitotoksik Pada Gingivitis Setelah Pemberian Kurkumin. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2(1): 42-49.
- Noor, T. R. D. N. Pakasi, F. Mangarengi, I. Patellongi, J. M. F. Adam, dan I. A. Samad. 2013. Kadar Adiponektin Serum Antara Diabetes Terkontrol dan Tidak Terkontrol Pada Pendertia Diabetes Melitus Tipe 2 Obesitas Sentral. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. 1-13.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Pustaka.
- Nurul, D. 2002. Infeksi Dalam Bidang Periodonsia. *JKGUI*. 9(1): 14-16.
- Pereira, R.I., Snell-Bergeon, J.K., Erickson, C., Schauer, I.E., Bergman, B.C., rewers, M., dan Maahs, D.M. 2012. Adiponectin Dysregulation and Insulin Resistance in Type 1 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 97(4): 642-647.
- Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. 2014. Diabetes Melitus.
- Puspaningrum, E. K., R. Hendari, dan R. Mujayanto. 2015. Ekstrak Cymbopogon Citratus Dan Eugenia Aromaticum Efektif Untuk Penyembuhan Gingivitis. *ODONTO Dental Journal*. 2(2): 47-51.
- Putri, N. H. K. dan M. A. Isfandiari. 2013. Hubungan Empat Pilar Pengendalian Dm Tipe 2 Dengan Rerata Kadar Gula Darah. *Jurnal Berkala Epidemiologi*. 1(2): 234-243.
- Rahmawati, A. 2014. Mekanisme Terjadinya Inflamasi Dan Stres Oksidatif Pada Obesitas. *El-Hayah*. 5(1): 1-8.

- Rahnama, M., L. Czupkallo, M. K. Czupkallo, dan M. Lobacz. 2014. Gingival crevicular fluid – composition and clinical importance in gingivitis and periodontitis. *Pol J Public Health Medical University of Lublin*. 124(2): 96-98.
- Riset Kesehatan Dasar. 2013. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia: 223-227.
- Shita, A.D.P. 2015. Perubahan Level TNF- α dan IL-1 pada Kondisi Diabetes Mellitus. *Prosiding Dentistry Scientific Meeting II Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember*. Jember: UPT Penerbitan UNEJ.
- Sholeha, D.L.S. 2017. Hitung Jenis Leukosit Pada Model tikus Diabetes yang Diinduksi *Porphyromonas gingivalis*. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi.
- Stren, J. H., Rutkowski, J. M., dan Schere, P. E. . 2017. Adiponectin, Leptin, and Fatty Acids in the Maintenance of Metabolic Homeostasis Through Adipose Tissue Crosstalk. *Cell Metab*. 23(5): 770-784.
- Subandrate. 2016. Hubungan Kadar Glukosa Darah dengan Peroksidasi Lipid pada Pasien Diabetes Melitus tipe 2. *CDK-242*. 43(7): 487-489.
- Subekti, R. 2014. Uji Friedman Sebagai Pendekatan Analisis Nonparametrik Untuk Menguji Homogenitas Rata-Rata. *Workshop Analisa Data Statistika Lanjut Dengan Pendekatan Nonparametrik*.
- Sun, W. L., Chen, L. L., Zhang, S. Z., Ren, Y. Z., dan Qin, G. M. 2010. Changes of adiponectin and inflammatory cytokines after periodontal intervention in type 2 diabetes patients with periodontitis. *Archives of Oral Biology* 55(12): 970-974.
- Tandra, H. 2014. *Strategi Mengalahkan Komplikasi Diabetes dari Kepala sampai Kaki*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Ulfita, S.N. 2017. Pengaruh Infeksi *Porphyromonas gingivalis* Terhadap Jumlah Total Leukosit Pada Model tikus Diabetes Melitus. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi.
- Ullah, A., Khan, A., dan Khan, I. 2016. Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 24: 547-553.
- Verma, S. dan Hussain, M. J. 2017. Obesity and diabetes: An update. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 11: 73-79.
- World Health Organization. 2017. Diabetes. www.who.int/mediacentre/factsheets [Diakses tanggal 9 Maret 2018].

- Wijaksana, I K E. 2016. Infectobesity Dan Periodontitis: Hubungan Dua Arah Obesitas Dan Penyakit Periodontal. *Odonto Dental Journal*. 3(1): 67-73.
- Wilson, T. G. Dan K. S. Kornman. 1996. *Fundamental of Periodontics*. China: Quintessence Publishing.
- Yamaguchi, N., Hamachi, T., Kamio, N., Akifusa, S., Masuda, K., Nakamura, Y., Nonaka, K., Maeda, K., Hanazawa, S., Yamashita, Y. 2010. Expression levels of adiponectin receptors and periodontitis. *Journal Of Periodontal Research*. 45: 296-300.
- Yamauchi, T. dan Kadowaki, T. 2008. Review Physiological and pathophysiological roles of adiponectin and adiponectin receptors in the integrated regulation of metabolic and cardiovascular Diseases. *International Journal of Obesity*. 32: 13-18.
- Yekti, N., Dkk. 2014. Analisa Profil Kadar C-Reactive Protein Pada Status Kesehatan Periodontal Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 (Studi Di Rumah Sakit Islam Sultan Agung Semarang). *ODONTO Dental Journal*. 1(2): 19-24.
- Zhu, J. Bin, G., Ling, Z., Yuting, H., Beilei, L., Xin, C., Suhan, Z., dan Haiyang, Y. 2017. Association of circulating leptin and adiponectin with periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health*. 17(104): 1-14.

LAMPIRAN A. Surat Keterangan Layak Etik Penelitian

 <p>UNIT ETIKA DAN ADVOKASI FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS GADJAH MADA Sekretariat: Fakultas Kedokteran Gigi UGM Jl. Denta Sekip Utara Yogyakarta Telp. (0274) 902671</p>	
<p>KETERANGAN KELAIKAN ETIK PENELITIAN ("ETHICAL CLEARANCE") No.00650/KKEP/FKG-UGM/EC/2016</p>	
<p>Setelah Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:</p>	
Judul	: PERAN <i>Porphyromonas gingivalis</i> TERHADAP PERUBAHAN KADAR ADIPONEKTIN PADA KEPARAHAN PENYAKIT DIABETES MELITUS
Peneliti Utama	: Usnida Mubarakah
Anggota Peneliti	: 1. Intan Rizka Fitria 2. Nadia Kurniasih 3. Tira Aisah Puspasari 4. Paramita Rachmawati Zulkarnain
Penanggung Jawab Medis	: drg. Agustin Wulan Suci, MDSc
Unit/Lembaga	: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Lokasi Penelitian	: 1. Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember 2. Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Waktu Penelitian	: Mei 2016 – Selesai
<p>Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.</p>	
<p>Yogyakarta, 4 Mei 2016</p>	
Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan	Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM
 drg. Diatri Nani Ratih, M.Kes., Sp. KG, Ph.D.	 drg. Suryono, S.H, Ph.D

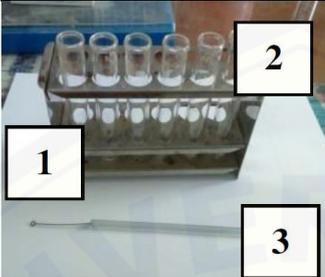
LAMPIRAN B. Identifikasi *Porphyromonas gingivalis*

Gambar A. Hasil uji identifikasi *P. gingivalis* menunjukkan gram negatif dengan pewarnaan gram. Keterangan: basilus gram negatif dengan pengamatan mikroskop perbesaran 1000x.

LAMPIRAN C. Alat dan Bahan Penelitian

C.1 Alat Penelitian

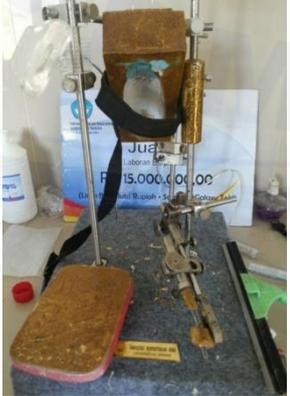
a. Alat Kultur

Gambar	Keterangan
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Tabung Reaksi 2. Rak Tabung Reaksi 3. Ose
	<p><i>Autoclave</i></p>
	<p>Inkubator</p>
	<p>Petridish tidak bersekat</p>
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Spektronik 2. <i>Vibrator</i>

b. Alat Pemelihara Hewan Coba

Gambar	Keterangan
	1. Kandang 2. Tempat minum 3. Pakan
	Timbangan neraca

c. Alat Perlakuan Hewan Coba

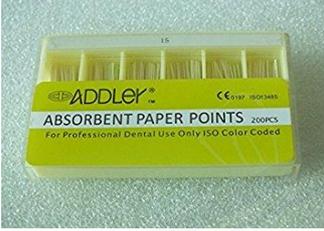
Gambar	Keterangan
	Jarum insulin 26G
	<i>Rat dental chair</i>

	<p><i>Falcon tube</i></p>
	<p>Neraca Ohaus</p>

d. Alat Pemeriksaan Kadar Gula Darah

<p>Gambar</p>	<p>Keterangan</p>
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Glukometer 2. Glukometer <i>test strip</i> warna hijau
	<p><i>Blood lancet</i></p>

e. Alat Pengambil Sampel

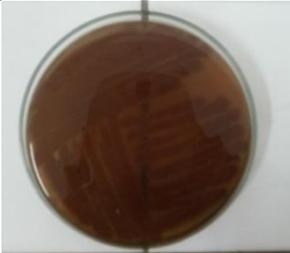
Gambar	Keterangan
	<p><i>Paper point no.15</i></p>
	<p>Pinset berkerat</p>
	<p><i>Eppendorf tube</i></p>

f. Alat hitung kadar adiponektin

Gambar	Keterangan
	<p>ELISA kit ab1087846 (Bioassay)</p>
	<p>Blue tip dan yellow tip</p>

	Mikropipet
	Mikropipet channel 8
	Centrifuge
	Vortex

C.2 Bahan Penelitian

Gambar	Keterangan
	<p><i>Porphyromonas gingivalis</i> tipe ATCC 33277</p>

	Tikus Wistar Jantan
	<ol style="list-style-type: none">1. <i>Streptozotocin</i>2. Buffer sitrat 0,1 M
	ELISA kit ab1087846 (Bioassay)
	<i>Chloroform</i> absolut

LAMPIRAN D. Perhitungan Dosis StreptozotocinPerhitungan Dosis *Streptozotocin* pada Hewan Coba Perlakuan 2 (P2)

Waktu induksi	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4
Hari pertama	$\frac{264}{1000} \times 40$ = 10,56 mg $\frac{10,56}{6} \times 0,5$ = 0,88 cc	$\frac{263}{1000} \times 40$ = 10,52 mg $\frac{10,52}{6} \times 0,5$ = 0,877cc	$\frac{263}{1000} \times 40$ = 10,52 mg $\frac{10,52}{6} \times 0,5$ = 0,877cc	$\frac{263}{1000} \times 40$ = 10,52 mg $\frac{10,52}{6} \times 0,5$ = 0,877cc
Hari Kedua	$\frac{264}{1000} \times 35$ = 9,24 mg $\frac{9,24}{6} \times 0,5$ = 0,77cc	$\frac{263}{1000} \times 35$ = 9,205 mg $\frac{9,205}{6} \times 0,5$ = 0,767 cc	$\frac{263}{1000} \times 35$ = 9,205 mg $\frac{9,205}{6} \times 0,5$ = 0,767 cc	$\frac{263}{1000} \times 35$ = 9,205 mg $\frac{9,205}{6} \times 0,5$ = 0,767 cc
Hari Ketiga	$\frac{264}{1000} \times 30$ = 7,92 mg $\frac{7,92}{6} \times 0,5$ = 0,66 cc	$\frac{263}{1000} \times 30$ = 7,89 mg $\frac{7,89}{6} \times 0,5$ = 0,657 cc	$\frac{263}{1000} \times 30$ = 7,89 mg $\frac{7,89}{6} \times 0,5$ = 0,657 cc	$\frac{263}{1000} \times 30$ = 7,89 mg $\frac{7,89}{6} \times 0,5$ = 0,657 cc
Hari Keempat	$\frac{264}{1000} \times 25$ = 6,6 mg $\frac{6,6}{6} \times 0,5$ = 0,55 cc	$\frac{263}{1000} \times 25$ = 6,575 mg $\frac{6,575}{6} \times 0,5$ = 0,548 cc	$\frac{263}{1000} \times 25$ = 6,575 mg $\frac{6,575}{6} \times 0,5$ = 0,548 cc	$\frac{263}{1000} \times 25$ = 6,575 mg $\frac{6,575}{6} \times 0,5$ = 0,548 cc
Hari Kelima	$\frac{264}{1000} \times 20$ = 5,28 mg $\frac{5,28}{6} \times 0,5$ = 0,44 cc	$\frac{263}{1000} \times 20$ = 5,26 mg $\frac{5,26}{6} \times 0,5$ = 0,43 cc	$\frac{263}{1000} \times 20$ = 5,26 mg $\frac{5,26}{6} \times 0,5$ = 0,43 cc	$\frac{263}{1000} \times 20$ = 5,26 mg $\frac{5,26}{6} \times 0,5$ = 0,43 cc

Perhitungan Dosis *Streptozotocin* pada Hewan Coba Perlakuan 3 (P3)

Waktu induksi	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4
Hari pertama	$\frac{253}{1000} \times 40$ = 10,20 mg $\frac{10,20}{6} \times 0,5$ = 0,843 cc	$\frac{257}{1000} \times 40$ = 10,28 mg $\frac{10,28}{6} \times 0,5$ = 0,856 cc	$\frac{251}{1000} \times 40$ = 10,04 mg $\frac{10,04}{6} \times 0,5$ = 0,836 cc	$\frac{261}{1000} \times 40$ = 10,04 mg $\frac{10,04}{6} \times 0,5$ = 0,87 cc
Hari Kedua	$\frac{253}{1000} \times 35$ = 8,855 mg $\frac{8,855}{6} \times 0,5$ = 0,73 cc	$\frac{257}{1000} \times 35$ = 8,995 mg $\frac{8,995}{6} \times 0,5$ = 0,75 cc	$\frac{251}{1000} \times 35$ = 8,785 mg $\frac{8,785}{6} \times 0,5$ = 0,732 cc	$\frac{261}{1000} \times 35$ = 9,135 mg $\frac{9,135}{6} \times 0,5$ = 0,761 cc
Hari Ketiga	$\frac{253}{1000} \times 30$ = 7,59 mg $\frac{7,59}{6} \times 0,5$ = 0,63 cc	$\frac{257}{1000} \times 30$ = 7,71 mg $\frac{7,71}{6} \times 0,5$ = 0,64 cc	$\frac{251}{1000} \times 30$ = 7,53 mg $\frac{7,53}{6} \times 0,5$ = 0,657 cc	$\frac{261}{1000} \times 30$ = 7,83 mg $\frac{7,83}{6} \times 0,5$ = 0,65 cc
Hari Keempat	$\frac{253}{1000} \times 25$ = 6,325 mg $\frac{6,325}{6} \times 0,5$ = 0,527 cc	$\frac{257}{1000} \times 25$ = 6,425 mg $\frac{6,425}{6} \times 0,5$ = 0,535 cc	$\frac{251}{1000} \times 25$ = 6,275 mg $\frac{6,275}{6} \times 0,5$ = 0,523 cc	$\frac{261}{1000} \times 25$ = 6,525 mg $\frac{6,525}{6} \times 0,5$ = 0,544 cc
Hari Kelima	$\frac{253}{1000} \times 20$ = 5,06 mg $\frac{5,06}{6} \times 0,5$ = 0,44 cc	$\frac{257}{1000} \times 20$ = 5,14 mg $\frac{5,14}{6} \times 0,5$ = 0,428 cc	$\frac{251}{1000} \times 20$ = 5,02 mg $\frac{5,02}{6} \times 0,5$ = 0,418 cc	$\frac{261}{1000} \times 20$ = 5,22 mg $\frac{5,22}{6} \times 0,5$ = 0,435 cc

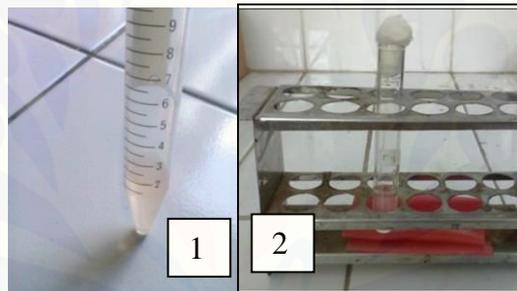
LAMPIRAN E. Prosedur Penelitian

E.1 Persiapan Hewan Coba



Gambar E.1 Adaptasi hewan coba dengan kondisi lingkungan kandang

E.2 Persiapan Bahan Penelitian



Gambar E.2 Persiapan bahan penelitian yang terdiri dari A) stok larutan *Streptozotocin* dan B) suspensi *Porphyromonas gingivalis*

E.3 Injeksi *Porphyromonas gingivalis*



Gambar E.3 Injeksi *Porphyromonas gingivalis* pada area sulkus gingiva distopalatal molar pertama kanan dan kiri rahang atas

E.4 Injeksi *Streptozotocin*



Gambar E.4 Injeksi *Streptozotocin* secara intraperitoneal

E.5 Pengambilan GCF

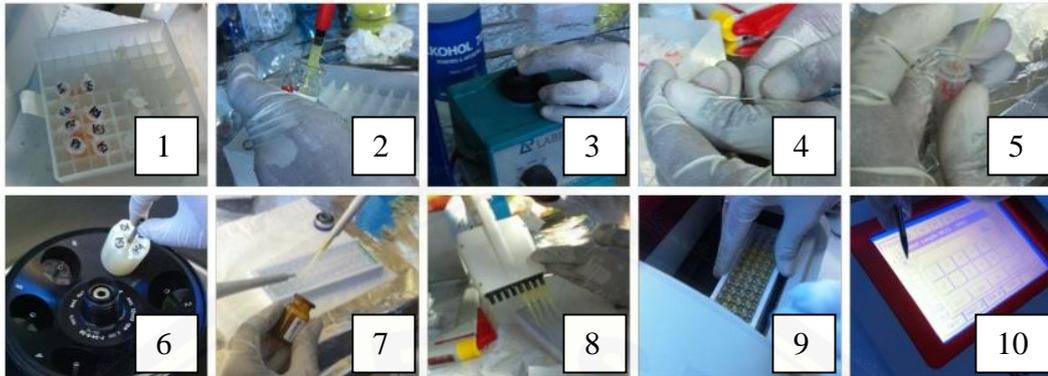


Gambar E.5 Proses pengambilan sampel GCF tikus

E.6 Prosedur terminasi tikus



Gambar E.6 Proses dekapitasi tikus menggunakan kloroform absolut

E.7 Prosedur perhitungan kadar adiponektin dengan uji ELISA

Gambar E.6 1) Sampel GCF yang disimpan dalam eppendorf tube; 2) Prosedur preparasi standar; 3) tahapan homogenkan dengan vortex; 4) tahapan memberi lubang dengan jarum pada ujung eppendorf tube pertama; 5) tahapan preparasi sampel dengan pemberian PBS menggunakan mikropipet dengan mengalirkan pada dinding paper point; 6) tahapan centrifugasi 2000-3000 rpm selama 20 menit; 7) tahapan preparasi sampel dengan larutan yang tersedia dalam ELISA kit ab1087846 menggunakan mikropipet; 8) tahapan washing dengan menggunakan washing buffer menggunakan mikropipet channel 8 yang dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan untuk mengetahui adanya perubahan warna; 9) tahapan memasukkan well ke dalam ELISA reader; 10) tahapan pembacaan sampel di bawah panjang gelombang 450 nm

LAMPIRAN F. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Tikus**Kelompok Kontrol**

Kelompok	Kadar Glukosa Darah (mg/dl)			Berat Badan (gram)
	Hewan Coba	Kontrol	Rata-rata	
Hari ke 1	1	115	60,5	213
	2	44		183
	3	57		185
	4	26		182
Hari ke 5	1	99	81	207
	2	85		204
	3	94		209
	4	46		195
Hari ke 21	1	47	82	198
	2	108		218
	3	103		214
	4	70		198
Sebelum dekapitasi	1	87	81,25	200
	2	106		205
	3	85		198
	4	47		189

Kelompok P1 (Induksi *P. gingivalis*)

Kelompok	Kadar Glukosa Darah (mg/dl)			Berat Badan (gram)
	Hewan Coba	P1 (pg)	Rata-rata	
Sebelum induksi PG I	1	95	93	205
	2	89		202
	3	90		201
	4	98		198
Sebelum induksi PG II	1	110	108	208
	2	108		204
	3	109		200
	4	105		203
Sebelum induksi PGIII	1	115	109	211
	2	110		213
	3	112		206
	4	99		199
Sebelum induksi PG IV	1	120	111	215
	2	115		209
	3	116		204
	4	93		195
Sebelum induksi PG V	1	184	153,75	216
	2	148		209
	3	137		213
	4	146		202

Sebelum induksi PG VI	1	134	167,5	203
	2	146		207
	3	167		213
	4	223		210
Sebelum induksi PG VII	1	143	143,25	203
	2	134		211
	3	138		208
	4	158		201

Kelompok P2 (Induksi STZ)

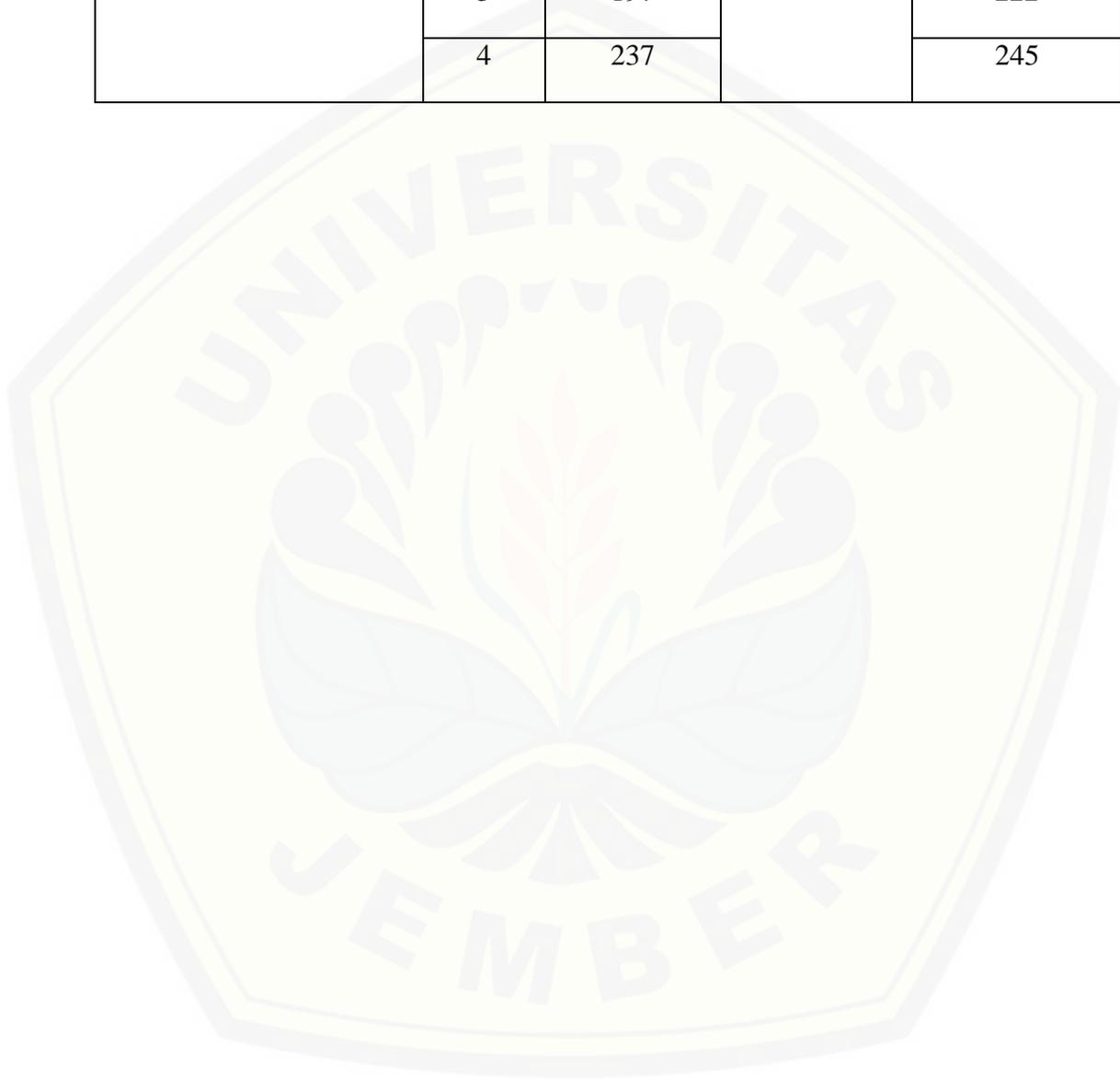
Kelompok	Kadar Glukosa Darah (mg/dl)			Berat Badan (gram)
	Hewan Coba	P2 (dm)	Rata-rata	
Sebelum induksi STZ I	1	120	123,25	264
	2	116		263
	3	167		263
	4	90		263
Sebelum induksi STZ II	1	282	304,75	231
	2	284		236
	3	562		225
	4	91		249
Sebelum induksi STZ III	1	383	326,5	222
	2	160		247
	3	380		238
	4	383		221
Sebelum induksi STZ IV	1	497	296	239
	2	351		242
	3	164		237
	4	172		224
Sebelum induksi STZ V	1	469	429,75	248
	2	211		223
	3	525		228
	4	514		212

Kelompok P3 (Induksi STZ dan induksi *P. gingivalis*)

Kelompok	Kadar Glukosa Darah (mg/dl)			Berat Badan (gram)
	Hewan Coba	P3 (dmpg)	Rata-rata	
Sebelum induksi STZ I	1	96	91,5	253
	2	86		257
	3	96		251
	4	88		261
Sebelum induksi STZ II	1	93	170	225
	2	124		234
	3	222		257
	4	241		239
Sebelum induksi STZ III	1	247	300,75	246
	2	128		257
	3	327		279
	4	501		231
Sebelum induksi STZ IV	1	172	311	264
	2	292		237
	3	475		228
	4	305		253
Sebelum induksi STZ V	1	439	404,5	244
	2	360		236
	3	453		272

	4	366		252
Sebelum induksi PG I	1	406	367,25	240
	2	352		239
	3	394		222
	4	317		247
Sebelum induksi PG II	1	341	310	217
	2	322		221
	3	351		210
	4	226		230
Sebelum induksi PGIII	1	218	266	268
	2	289		256
	3	322		260
	4	235		268
Sebelum induksi PG IV	1	220	217,25	263
	2	212		252
	3	201		272
	4	236		242
Sebelum induksi PG V	1	224	217,5	258
	2	208		244
	3	198		234
	4	240		246
Sebelum induksi PG VI	1	226	216	247
	2	198		234
	3	199		227

	4	241		253
Sebelum induksi PG VII	1	215	216,3	233
	2	mati		mati
	3	197		222
	4	237		245



LAMPIRAN G. Data Hasil Perhitungan dengan Uji ELISA

Tabel Data Kadar Adiponektin GCF Kelompok Perlakuan

Kelompok	Hewan Coba	Mean
Kontrol	1	4,665
	2	4,400
	3	4,294
Induksi <i>P. gingivalis</i>	1	3,734
	2	3,675
	3	3,644
Induksi STZ	1	3,639
	2	3,599
	3	3,512
Induksi STZ dan <i>P. gingivalis</i>	1	3,662
	2	3,393
	3	3,644

Tabel Data Kadar Adiponektin Serum Darah Kelompok Perlakuan

Kelompok	Hewan Coba	Mean
Kontrol	1	3,884
	2	3,879
	3	3,653
Induksi <i>P. gingivalis</i>	1	3,932
	2	3,795
	3	4,336
Induksi STZ	1	3,303
	2	3,444
	3	3,482
Induksi STZ dan <i>P. gingivalis</i>	1	3,662
	2	4,898
	3	4,129

LAMPIRAN H. Hasil Uji StatistikUji Normalitas (*Kolmogorov-Smirnov Test*)**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		adiponektin
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.84408
	Std. Deviation	.409434
Most Extreme Differences	Absolute	.202
	Positive	.202
	Negative	-.094
Kolmogorov-Smirnov Z		.989
Asymp. Sig. (2-tailed)		.282

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas (*Levene Test*)**Test of Homogeneity of Variances**

Adiponektin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.615	7	16	.016

Uji *Kruskall-Wallis***Kruskal-Wallis Test****Ranks**

Group		N	Mean Rank
Adiponektin	diabetes serum	3	2.67
	periodm serum	3	18.17
	kontrol serum	3	14.33
	perio serum	3	18.00
	diabetes gcf	3	6.00
	periodmgcf	3	7.33
	kontrolgcf	3	21.67
	perio gcf	3	11.83
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	adiponektin
Chi-Square	18.966
Df	7
Asymp. Sig.	.008

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: group

Hasil Uji *Mann-Whitney*

Mann-Whitney Test**Ranks**

	Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Adiponektin	diabetes serum	3	2.00	6.00
	diabetes gcf	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics

	adiponektin
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.052
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: group

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test**Ranks**

	Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Adiponektin	periodm serum	3	4.83	14.50
	Periodmgcf	3	2.17	6.50
	Total	6		

Test Statistics

	adiponektin
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	6.500
Z	-1.771
Asymp. Sig. (2-tailed)	.077
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: group

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kontrol serum	3	2.00	6.00
Adiponektin Kontrolgcf	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics

	adiponektin
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: group

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
perio serum	3	5.00	15.00
Adiponektin Periogcf	3	2.00	6.00
Total	6		

Test Statistics

	adiponektin
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.051
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: group

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

	Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Adiponektin	diabetes gcf	3	3.00	9.00
	Periodmgcf	3	4.00	12.00
	Total	6		

Test Statistics

	adiponektin
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-.655
Asymp. Sig. (2-tailed)	.513
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 ^b

a. Grouping Variable: group

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

	Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Adiponektin	diabetes gcf	3	2.00	6.00
	Kontrolgcf	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics

adiponektin	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: group

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diabetes gcf	3	2.00	6.00
Adiponektin Periogcf	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics

adiponektin	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: group

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Periodmgcf	3	2.00	6.00
Adiponektin Kontrolgcf	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics

	adiponektin
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: group

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

	Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Adiponektin	Periodmgcf	3	2.50	7.50
	Periogcf	3	4.50	13.50
	Total	6		

Test Statistics

	adiponektin
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	7.500
Z	-1.328
Asymp. Sig. (2-tailed)	.184
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^b

a. Grouping Variable: group

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

	group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Adiponektin	kontrolgcf	3	5.00	15.00
	periogcf	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics

	adiponektin
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.049
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: group

b. Not corrected for ties.

