

**HUBUNGAN DMF-T/def-t DENGAN SEKRESI HBD-1
SALIVA PADA KELOMPOK ANAK BERKARIES
DAN BEBAS KARIES**

SKRIPSI



Oleh:

TAMIMA IZZAT NABELLA

NIM: 021411131074

KG-256/17
Nab
h

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2017

LEMBAR PENGESAHAN
HUBUNGAN DMF-T/def-t DENGAN SEKRESI HBD-1
SALIVA PADA KELOMPOK ANAK BERKARIES
DAN BEBAS KARIES
SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Pendidikan Dokter Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas
Airlangga Surabaya

Oleh:

TAMIMA IZZAT NABELLA

021411131074

Menyetujui

Pembimbing Utama



(Dr. Hendrik Setia Budi, drg., M.Kes.)

NIP. 197206101999031002

Pembimbing Serta

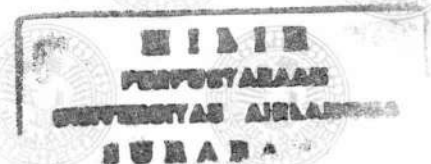


(Dr. Retno Indrawati, drg., M.Si.)

NIP. 195911121987012001

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

2017



PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

Skripsi ini telah diuji pada tanggal 18 Desember 2017

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

- 1. Prof. Dr. Jenny Sunariani, drg., MS. (Ketua Penguji)**
- 2. Prof. Dr. Tuti Kusumaningsih, drg., M.Kes. (Anggota Penguji)**
- 3. Wisnu Setjari Juliastuti, drg., M.Kes. (Anggota Penguji)**
- 4. Dr. Hendrik Setia Budi, drg., M.Kes. (Pembimbing Utama)**
- 5. Dr. Retno Indrawati, drg., M.Si. (Pembimbing Serta)**

SURAT PERNYATAAN ORISINILITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Tamima Izzat Nabella
NIM : 021411131074
Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi
Fakultas : Kedokteran Gigi
Jenjang : Sarjana strata 1 (S1)

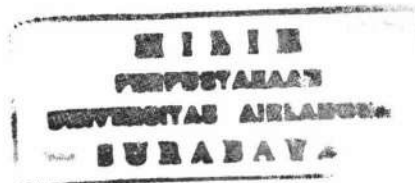
Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

HUBUNGAN DMF-T/def-t DENGAN SEKRESI HBD-1 SALIVA PADA KELOMPOK ANAK BERKARIES DAN BEBAS KARIES

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat. Maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian lembar pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 18 Desember 2017



Tamima Izzat Nabella

NIM. 021411131074

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul **“HUBUNGAN DMF-T/def-t DENGAN SEKRESI HBD-1 SALIVA PADA KELOMPOK ANAK BERKARIES DAN BEBAS KARIES”** ini dapat diselesaikan. Perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. R. Darmawan Setijanto, drg., M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Dr. Muhammad Luthfi, drg., M. Kes selaku Ketua Departemen Biologi Oral yang telah memberikan izin dalam pembuatan skripsi.
3. Dr. Hendrik Setia Budi, drg., M.Kes. selaku Dosen Pembimbing utama yang turut memberikan masukan, evaluasi, koreksi dan telah meluangkan waktu selama penyusunan skripsi.
4. Dr. Retno Indrawati, drg., M.Si. selaku Pembimbing Serta yang telah mempercayai saya pada penelitian kolaborasi, meluangkan waktu, pikiran dan kesabaran dalam memberikan bimbingan, masukan, arahan dari pembuatan proposal hingga skripsi.
5. M.Kes. Prof. Dr. Jenny Sunariani, drg., Prof. Dr. Tuti Kusumaningsih, drg., MS. Wisnu Setjari Juliastuti, drg., M.Kes.selaku Tim Penguji Proposal dan skripsi yang telah memberikan saran serta arahan yang membangun dan sangat berarti untuk kesempurnaan skripsi ini.
6. Seluruh dosen dan staf Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
7. dr Mawar dan Perawat Pondok Pesantren Qomarudding, Bungah Gresik.
8. Pak Iswayudi yang telah membantu membaca elisa di ITD.
9. drg josep dan drg afin yang telah memberikan bimbingan dan membantu dalam proses pengambilan sampel dan penumpatan pada anak berkaries.

9. Dien Nisa Aulia yang telah menjadi rekan kolaborasi penelitian *human beta defensin*.

10. Terima kasih tak terhingga kepada kedua orang tua saya Bapak Rumadi dan Ibu Mulyo Utami S.H yang telah memberikan doa, semangat dan dukungan yang tiada henti.

11. Pejuang skripsi Angkatan 2014 serta teman teman pejuang skripsi Biologi Oral yang telah melalui hari-hari pembuatan skripsi bersama dan memberikan dukungan satu sama lain.

12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang terkait dalam pembuatan skripsi ini.

Akhir kata, semoga Tuhan Yang Maha Esa senantiasa melimpahkan karunia-Nya dan membalas segala amal budi serta kebaikan pihak-pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini dan semoga dapat memberikan manfaat kepada masyarakat dan rekan yang membaca.

Surabaya, Desember 2017

Penulis

RELATIONSHIP OF DMF-T WITH HBD-1 SALIVA ON THE GROUP OF THE CHILDREN CARIES AND CARIES FREE

ABSTRACT

Background: DMF-T / def-t (Decay Missing Filled Teeth) is an index for assessing dental and oral health status in this case dental caries. Dental caries is a multifactorial disease with factors such as teeth and saliva, microorganisms, food, and time that affect each other. Human Beta-Defensins-1 (HBDs) is an AMP, Antimicrobial peptides (AMPs) as an adaptive immune system in oral health is a factor that affects the susceptibility and development of dental caries that exhibits activity in mutant Streptococcus bacteria. **Objective:** To prove the DMF-T / def-t relationship with levels of HBD-1 saliva secretion in carious and caries-free children groups. **Method:** The type of this research is observational analytic with cross sectional study design, with the division of 3 groups namely; group 1 (DMF-T / def-t = 0, caries-free), group 2 (DMF-T / def-t = 1-3, low caries), group 3 (DMF-T / def-t > 6, caries high). **Result:** DMF-T / def-t index (1,000) obtained HBD-1 concentration (-0.451). Low DMF-T / def-t index has high HBD-1 concentration, whereas high DMF-T / def-t index has low HBD-1 concentration. The value of $p < (0.05)$ correlated significantly between the DMF-T / def-t index with salivary HBD-1 concentrations. **Conclusions:** There was a DMF-T / def-t relationship with the level of HBD-1 saliva secretion in the carious and free caries group caries.

Keywords: DMF-T / def-t, Saliva, Streptococcus mutans, Caries, human beta defensin-1.

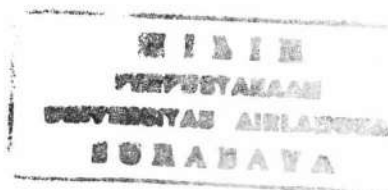
IR
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

HUBUNGAN DMF-T/def-t GIGI DENGAN SEKRESI HBD-1 SALIVA PADA KELOMPOK ANAK BERKARIES DAN BEBAS KARIES

ABSTRAK

Latar Belakang: DMF-T/def-t (*Decay Missing Filled Teeth*) adalah indeks untuk menilai status kesehatan gigi dan mulut dalam hal ini karies gigi. Karies gigi merupakan penyakit multifaktorial dengan faktor penyebab seperti gigi dan saliva, mikroorganisme, makanan, serta waktu yang saling mempengaruhi satu sama lainnya. *Human Beta-Defensins-1* (HBDs) merupakan AMP, *Antimicrobial peptides* (AMPs) sebagai sistem imun adaptif pada kesehatan rongga mulut merupakan faktor yang mempengaruhi kerentanan dan perkembangan karies gigi yang menunjukkan aktivitas pada bakteri *Streptococcus mutans*. **Tujuan:** Membuktikan hubungan DMF-T/def-t dengan kadar sekresi HBD-1 saliva pada kelompok anak berkaries dan bebas karies. **Metode:** Jenis penelitian ini adalah obeservasional analitik dengan rancangan penelitian *cross sectional*, dengan pembagian 3 kelompok yaitu; kelompok 1 (DMF-T/def-t =0, bebas karies), kelompok 2 (DMF-T/def-t=1-3, karies rendah), kelompok 3 (DMF-T/def-t >6, karies tinggi). **Hasil:** Indeks DMF-T/def-t (1.000) diperoleh konsentrasi HBD-1 (-0.451). Indeks DMF-T/def-t rendah memiliki konsentrasi HBD-1 tinggi, sedangkan indeks DMF-T/def-t tinggi memiliki konsentrasi HBD-1 rendah. Nilai $p < (0.05)$ berkorelasi secara signifikan antara indeks DMF-T/def-t dengan konsentrasi HBD-1 saliva. **Kesimpulan:** Terdapat hubungan DMF-T/def-t dengan kadar sekresi HBD-1 saliva pada kelompok anak berkaries dan bebas karies.

Kata Kunci : DMF-T/def-t, Saliva, *Streptococcus mutans*, *Caries*, *human beta defensin-1*.





DAFTAR ISI

Sampul Dalam.....	i
Lembar Pengesahan	ii
Penetapan Panitia Penguji Skripsi.....	iii
Surat Pernyataan Orisinalitas	iv
Ucapan Terima Kasih.....	v
Abstract	vii
Abstrak	viii
Daftar Isi.....	ix
Daftar Tabel	x
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Lampiran.....	xii
Daftar Singkatan.....	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Decay Missing Filling Teeth (DMF-T)</i>	4
2.2 Karies Gigi	6
2.2.1 Prevalensi Karies Gigi	6
2.2.2 Etiologi Karies Gigi	6
2.2.3 Induksi Sitokin Pro-inflamasi Karies.....	9
2.3 Saliva.....	10
2.3.1 Saliva sebagai cairan diagnostik	10
2.3.2 Peran Saliva dalam Proteksi Karies	11
2.4 Senyawa <i>Antimicrobial Peptides (AMP)</i>	13
2.4.1 Target AMP pada Membran Mikroba.....	15
2.5 Defensin	17
2.5.1 α -defensin.....	17
2.5.2 β -defensin.....	17
2.5.3 θ -defensin.....	17
2.6 <i>Human Beta-defensin</i>	17
2.6.1 <i>Human Beta-defensin 1</i>	18
2.7 Metode <i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)</i>	19
2.8 Hubungan DMFT dengan HBD 1	20
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	22
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian.....	22
3.3 Hipotesis Penelitian.....	23

BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN	
4.1 Jenis Penelitian.....	24
4.2 Sampel.....	24
4.2.1 Kriteria Sampel	24
4.2.2 Besar Sampel.....	25
4.3 Variabel Penelitian.....	25
4.3.1 Variabel Bebas	25
4.3.2 Variabel Terikat	26
4.3.3 Variabel Terkendali.....	26
4.4 Definisi Operasional Variabel.....	26
4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian	27
4.6 Bahan dan Alat Penelitian.....	26
4.6.1 Bahan Penelitian.....	26
4.6.2 Alat Penelitian.....	27
4.7 Langkah Kerja.....	27
4.7.1 Pengumpulan Data Sampel	27
4.7.2 Pengambilan Saliva.....	27
4.7.3 Kadar HBD-1 dalam Saliva dengan Metode Elisa.....	28
4.7.3.1 Persiapan Sampel	28
4.7.3.2 Prosedur <i>Sandwich</i> ELISA.....	29
4.8 Analisis Hasil Penelitian	29
4.9 Alur Penelitian	30
 BAB 5. ANALISIS DAN HASIL	
5.1 Data Penelitian	31
5.2 Analisis dan Hasil Penelitian	32
 BAB 6. PEMBAHASAN	33
 BAB 7. SIMPULAN DAN SARAN	
7.1 Simpulan	36
7.2 Saran.....	36
 DAFTAR PUSTAKA	37
 Lampiran.....	43

DAFTAR TABEL

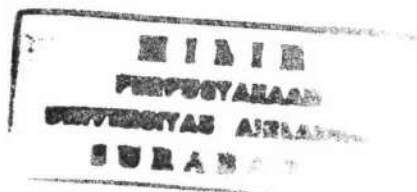
Tabel 2.4 Target AMP yang sering terdapat dalam rongga mulut.....	15
Tabel 5.1 Rerata dan simpangan baku kelompok sampel bebas karies (K1), DMF-T/def-t rendah (K2), dan DMF-T/def-t tinggi (K3) pada konsentrasi HBD-1 saliva.....	32
Tabel 5.2 Hasil uji <i>Spearman's</i>	15

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kategori DMF-T menurut WHO.....	5
Gambar 2.2.1 Faktor utama penyebab karies.....	9
Gambar 2.2.2 Keseimbangan demineralisasi dan remineralisasi.....	9
Gambar 2.4.1 Ilustrasi skema aktivitas <i>immunomodulatory</i> AMPs.....	17
Gambar 3.1 Kerangka konseptual Penelitian.....	23
Gambar 4.8 Alur penelitian.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Keterangan Kelaikan Etik.....	43
Lampiran 2 Kuesioner Penelitian.....	44
Lampiran 3 Hasil Uji Statistik.....	50
Lampiran 4 Hasil Penelitian.....	52
Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian.....	56
Lampiran 6 Daftar Singkatan.....	66



BAB 1
PENDAHULUAN



BAB 1

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Karies merupakan penyakit gigi dan mulut yang paling sering dijumpai di masyarakat, terutama pada anak-anak. Berdasarkan data RISKESDAS 2013, prevalensi karies di Indonesia mencapai 53.02%. Karies gigi di Indonesia cenderung meningkat dari tahun ke tahun. Karies gigi merupakan penyakit multifaktorial dengan faktor-faktor penyebab seperti gigi dan saliva, mikroorganisme, makanan, serta waktu yang saling mempengaruhi satu sama lainnya. Kelompok utama yang terserang karies gigi adalah kelompok usia 6-14 tahun dengan indeks DMF-T sebesar 2,21

DMF-T (Decay Missing Filled Teeth) adalah indeks untuk menilai status Kesehatan gigi dan mulut dalam hal ini karies gigi. Angka D adalah gigi yang berlubang karena karies gigi, angka M adalah gigi yang dicabut karena karies gigi, angka F adalah gigi yang ditambal atau di-tumpat karena karies dan dalam keadaan baik. Nilai DMF-T adalah penjumlahan $D + M + F$. (Dale, 2006; Tao, *et al.*, 2005).

Untuk menilai status kesehatan gigi sulung digunakan nilai *def-t* (*decay exfoliated filling teeth*) Nilai *def-t* adalah angka yang menunjukkan jumlah gigi sulung dengan karies pada anakusia 9-12 tahun. Huruf *d* adalah gigi sulung yang berlubang karena karies, *e* adalah gigi sulung yang hilang karena tanggal prematur atau pencabutan. *F* adalah gigi sulung yang telah ditumpatkarena karies. Nilai *def-t* adalah penjumlahan dari $d + e + f$. (Rahman, 2016)

Bakteri rongga mulut dapat menyebabkan proses inflamasi, menginduksi respon sistem imun bawaan maupun adaptif pada *host*. Sitokin mengatur banyak aspek dalam respon imun. Pada sirkulasi leukosit, sitokin telah terbukti mempengaruhi ekspresi dari adhesi kemokin yang terkait. Dalam sistem respon imun bawaan, mikroba patogen rongga mulut memiliki bentuk ikatan molekular dengan bentuk reseptor sejenis pada sel *host*, termasuk sel dendritik yang kemudian mengaktifkan respon inflamasi bersamaan dengan dilepaskannya sitokin pro-inflamasi, seperti IL-1 β , IL-6, IL-8 dan TNF- α (Gornowicz *et al.*, 2012).

Selama ini beberapa cara telah dilakukan dalam pencegahan karies gigi, antara lain dengan menyikat gigi dengan benar, pemberian topikal aplikasi *fluor* dan menggunakan obat kumur, tetapi belum menunjukkan hasil yang maksimal. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Antimicrobial Peptides* (AMPs) adalah antibodi yang memberikan pertahanan terhadap patogen. Peptida ini sangat penting di rongga mulut dan berperan sebagai antimikroba. Antimicrobial peptides (AMPs) dalam saliva adalah kontributor penting untuk menjaga keseimbangan antara kesehatan dan penyakit sebagai bagian dari respon imun bawaan inang. AMP dianggap dapat mempengaruhi kerentanan dan perkembangan karies gigi pada kesehatan rongga mulut. (Chusna *et al.*, 2016)

Human beta-defensins (HBDs) merupakan keluarga AMP, yang bekerja sebagai respons imun. *Human Beta Defensin-1* (HBD-1) diekspresikan dalam jaringan rongga mulut, dan disekresikan dalam saliva. HBD-1 sebagai kekebalan bawaan, juga sebagai chemoattractants untuk sel T dan sel dendrit pada mikroorganisme. Ekspresi HBD-1 bersifat konstitutif, dan belum diketahui

kosentrasinya dalam saliva secara fisiologis, sehingga perlu dilakukan penelitian apakah ada hubungan antara DMF-T/def-t dengan sekresi HBD-1 saliva sebagai cara baru untuk mencegah karies dan kandidat biomarker untuk penilaian risiko karies gigi. (Mubayrik *et al.*, 2014).

2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat hubungan DMF-T/def-t dengan kadar sekresi HBD-1 saliva pada kelompok anak berkaries dan bebas karies?

3. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Membuktikan hubungan DMF-T/def-t dengan kadar sekresi HBD-1 saliva pada kelompok anak berkaries dan bebas karies.

2. Tujuan Khusus

1. Mengkorelasikan DMF-T/def-t = 0 dengan kadar sekresi HBD-1 saliva pada kelompok anak bebas karies gigi.
2. Mengkorelasikan DMF-T/def-t = 1 –3 (karies rendah) dengan kadar sekresi HBD-1 saliva pada kelompok anak berkaries.
3. Mengkorelasikan DMF-T/def-t = 6 > (karies tinggi) dengan kadar sekresi HBD-1 saliva pada kelompok anak berkaries.

4. Manfaat Penelitian

Teori: Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang indeks DMF-T/def-t karies gigi pada kadar HBD-1 saliva.

Praktis: Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai rujukan/ dasar penunjang diagnosa karies gigi melalui kadar HBD-1 saliva.

BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Decay Missing Filling Teeth (DMF-T)*

Angka DMF-T menggambarkan banyaknya karies yang diderita seseorang. DMF-T pada karies gigi dihitung per gigi, artinya gigi yang memiliki karies lebih dari 1 (misal karies pada gigi molar 1 permanen terdapat karies di oklusal dan di bukal maka karies tetap dihitung "satu"). Berbeda dengan indeks karies DMF-S (Surface) maka karies dihitung perpermukaan, jadi pada kasus diatas karies/dcay dihitung "dua". Pada indeks DMF-T juga tidak membedakan kedalam karies, misalnya karies superficial, media atau profunda. Indeks DMF-T (DMF-Teeth) untuk gigi permanen *Decay* : Jumlah gigi karies yang tidak ditambal / yang masih dapat ditambal. *Missing* : Jumlah gigi yang indikasi untuk dicabut / gigi yang telah hilang karena karies. *Filling* : Jumlah gigi yang telah ditambal dan masih baik.

Rumus yang digunakan untuk menghitung DMF-T :

$$DMF-T = D + M + F$$

$$DMF-T \text{ rerata} = \frac{\text{Jumlah } D + M + F}{\text{Jumlah orang yg diperiksa}}$$

Kategori DMF-T menurut WHO :

1. 0,0 – 1,1 = sangat rendah
2. 1,2 – 2,6 = rendah
3. 2,7 – 4,4 = sedang
4. 4,5 – 6,5 = tinggi
5. 6,6 > = sangat tinggi

$$\text{Prevalensi karies} = \frac{\text{Jumlah DMF-T}}{\text{Jumlah orang yang diperiksa}} \times 100\%$$

Gambar 2.1 Kategori DMF-T menurut WHO (Rahman, 2016)

Skor DMF-T	Tingkat keparahan
0,0 – 1,1	Sangat rendah
1,2 – 2,6	Rendah
2,7 – 4,4	Sedang
4,5 – 6,5	Tinggi
6,6 >	Sangat tinggi

Indeks DMF-T pertama kali diperkenalkan oleh Klein dan Palmer sampai saat ini masih dipakai di seluruh dunia dan secara umum digunakan untuk menilai status kesehatan gigi dan mulut dalam hal karies gigi permanen. Indeks DMF-T adalah angka yang menyatakan adanya karies gigi (*decayed*), kehilangan gigi yang diakibatkan (*missing*) dan tumpatan (*filling*) pada seluruh gigi permanen. Indikator utama pengukuran DMF-T menurut WHO adalah pada anak usia 12 tahun. Selain itu ada pula pengukuran indeks def-t (*decayed, exfoliation, filling*) dan d,f (*decayed, filled*). Indeks def-t digunakan untuk menghitung jumlah gigi sulung yang mengalami karies. *Decayed* adalah gigi sulung yang mengalami karies dan masih bisa ditambal, *indicated for extraction* yaitu terdapat karies yang membentuk lubang besar pada gigi sulung yang tidak dapat ditambal lagi sehingga diindikasikan untuk dicabut atau tanggal yang diakibatkan oleh karies, dan *filled* yaitu gigi sulung yang karies dan sudah direstorasi. (Rahman, 2016)

Klasifikasi tingkat keparahan karies gigi pada usia 12 tahun atau lebih dikategorikan menjadi lima katagori, tingkat keparahan sangat rendah dengan nilai DMF-T sebesar 0,0 – 1.1. Kemudian tingkat keparahan rendah dengan nilai DMF-T sebesar 1,2 -2,6. Tingkat keparahan sedang dengan nilai DMF-T sebesar 2,7 – 4,4. Dan tingkat keparahan tinggi dengan nilai DMF-T sebesar 4,5 – 6,5,

serta tingkat keparahan sangat tinggi dengan nilai DMF-T sebesar $> 6,6.7$ (Tjahja and Ghani, 2015)

2.2 Karies Gigi

2.2.1 Prevalensi Karies Gigi

Karies merupakan penyakit gigi dan mulut yang paling sering dijumpai di masyarakat, terutama pada anak-anak. Berdasarkan data RISKESDAS 2013 prevalensi nasional penderita karies aktif sebesar 53.2%. Jawa Timur memiliki angka prevalensi karies gigi yang tinggi untuk kelompok usia anak-anak. (Riskesdas, 2013)

Karies gigi di Indonesia cenderung meningkat dari tahun ke tahun. Pada tahun tujuh puluhan DMF-T adalah 0,07, meningkat menjadi 2,3 di tahun delapan puluhan dan meningkat lagi menjadi 2,7 di tahun sembilan puluhan. Penyebab umum terjadinya karies gigi adalah proses fermentasi yang disebabkan oleh mikroorganisme didalam rongga mulut dengan mengubah gula menjadi asam organik yang mengakibatkan gigi berlubang dalam waktu yang lama. Jika karies gigi dibiarkan dan tidak dicegah, maka akan berdampak sangat merugikan bagi masyarakat terutama pada anak-anak sekolah. (Dyah *et al.*, 2013)

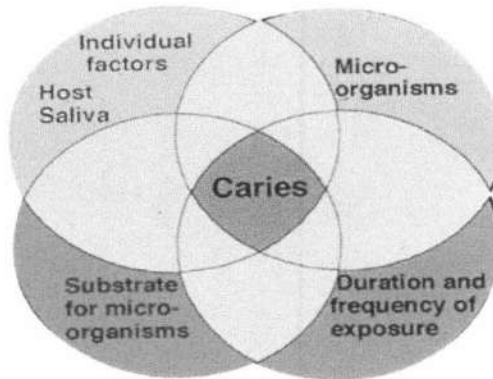
2.2.2 Etiologi Karies Gigi

Karies gigi adalah suatu penyakit umum yang terjadi pada manusia dan menjadi masalah kesehatan rongga mulut di negara berkembang. Biasanya menjadi penyebab paling sering kehilangan gigi pada anak-anak dan remaja, dan dapat terjadi pada semua kelompok usia (Jawed, 2012). Selain nyeri dan gigi tanggal, kerusakan pada gigi dapat mempengaruhi kesehatan anggota tubuh lainnya

sehingga mengganggu aktivitas, dapat memicu terjadinya infeksi dan berbagai kasus berbahaya lainnya.

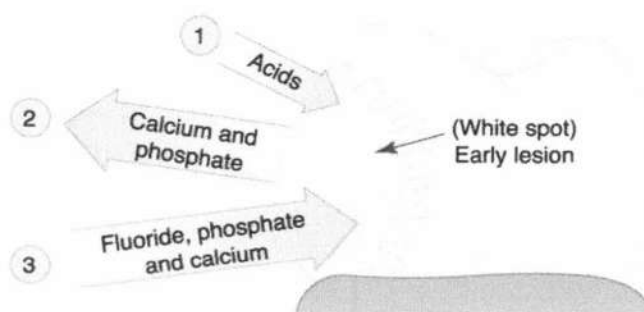
Karies merupakan proses disolusi enamel dan dentin pada pit, fissure, dan daerah interdental gigi, dapat meluas ke daerah bukal dan lingual. Karies disebabkan oleh bakteri asam yang terdapat dalam biofilm dan menempel pada permukaan gigi dengan adanya senyawa karbohidrat terutama golongan sukrosa. Besar asupan sukrosa yang sama pada individu (*host*) yang berbeda dapat menunjukkan tingkat keparahan karies yang berbeda. Mikroflora pada biofilm yang berhubungan dengan karies sebagian besar adalah gram positif dan bersifat sakarolitik, utamanya bakteri yang mensekresikan asam. Kelompok bakteri streptokokus, seperti *S. mutans*, *S. sobrinus* dan laktobasilus penting dalam inisiasi dan progresivitas karies. Tingginya keparahan karies sebanding dengan tingginya jumlah *S. mutans*. Keadaan rongga mulut dapat merubah sifat *S. mutans* yang semula sebagai flora normal menjadi oportunistik patogen. (Pannu *et al.*, 2013)

Karies gigi merupakan penyakit multifaktor, faktor utama yang memegang peran penting yaitu: *host* atau tuan rumah, agen (mikroorganisme), substrat (karobohidrat) dan waktu. Kondisi yang saling mendukung seperti *host* yang rentan, mikroorganisme yang kariogenik, substrat mencukupi dan tersedianya waktu yang lama merupakan proses untuk terbentuknya karies. Beberapa aspek seperti mikrobiologi, saliva, komposisi mineral gigi, ultra-struktur gigi, proses difusi, dan kinetika demineralisasi (pengembalian demineralisasi yang disebut remineralisasi serta faktor yang membantu proses tersebut) (Featherstone, 2008).



Gambar 2.2.1. Faktor utama penyebab karies (Bird and Debbie, 2005).

Demineralisasi diawali oleh plak flora asidogenik dan aliran saliva rendah sehingga menyebabkan kemampuan pembersihan yang lambat, sistem buffer yang rendah, serta penurunan suplai kalsium untuk memperbaiki jaringan gigi yang rusak (Jawed, 2012). Kerusakan jaringan keras yang diikuti kerusakan zat organiknya dapat mengakibatkan invasi bakteri lebih jauh ke dalam gigi, yaitu lapisan dentin serta dapat mencapai pulpa (Widayati, 2006). Proses demineralisasi dan remineralisasi merupakan keadaan yang dinamis, stabil, dan terus berjalan pada keadaan rongga mulut yang sehat. Kondisi rongga mulut yang tidak sehat atau tidak seimbang mengakibatkan proses remineralisasi tidak dapat menetralkan sehingga terjadi karies.



Gambar 2.2.2. Keseimbangan demineralisasi dan remineralisasi; Permukaan gigi terpapar asam yang terdapat pada plak dan saliva (1), Fosfat dan kalsium larut dari

enamel mengalami demineralisasi (2), Fluoride, fosfat dan kalsium kembali mengisi enamel dan terjadi proses remineralisasi (3) (Bird and Debbie, 2005).

2.2.2 Induksi Sitokin Proinflamasi Karies

Streptococcus mutans adalah faktor etiologi karies gigi dan telah banyak penelitian yang mengungkapkan hubungan antara karies gigi dan *S. mutans*. Beberapa penelitian juga menilai hubungan antara perkembangan lesi karies dengan respon sel imunokompeten. Sitokin merupakan mediator penting selama terjadi inflamasi dan infeksi, selain berperan mengendalikan respon inflamasi terhadap infeksi bakteri. Sel-sel hidup pada *host* mensekresi molekul ini sebagai sinyal parakrin atau autokrine untuk merekrut sel-sel sistem imun (kemokin), menghasilkan radang (sitokin proinflamasi) atau mengatur respon inflamasi (sitokin anti-inflamasi). Peran sitokin pada patogenesis karies gigi tidak terlalu jelas, namun produksi sitokin proinflamasi dapat diinduksi oleh komponen *S. mutans* (Eslami *et al.*, 2016; Horst *et al.*, 2011).

Kolonisasi bakteri rongga mulut menyebabkan proses inflamasi, menginduksi respon sistem imun bawaan maupun adaptif pada *host*. Sitokin mengatur banyak aspek dalam respon imun. Pada sirkulasi leukosit, sitokin telah terbukti mempengaruhi ekspresi dari adhesi kemokin yang terkait. Dalam sistem respon imun bawaan, mikroba patogen rongga mulut memiliki bentuk ikatan molekular dengan bentuk reseptor sejenis pada sel *host*, termasuk sel dendritik yang kemudian mengaktifkan respon inflamasi bersamaan dengan dilepaskannya sitokin pro-inflamasi, seperti IL-1 β , IL-6, IL-8 dan TNF- α (Gornowicz *et al.*, 2012). Sistem sitokin yang sempurna membatasi invasi mikroba namun menjaga keseimbangan antara pro dan anti-inflamasi sehingga tercipta lingkungan yang mendukung perbaikan jaringan (Horst *et al.*, 2011). Pada penelitian Gornowicz *et*

al. (2012), terdapat hubungan antara produksi *tumour necrosis faktor a* (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) dan interleukin-8 (IL-8) saliva dengan penyakit karies gigi. TNF- α , IL-6 dan IL-8 pada saliva akan bermanfaat sebagai alat diagnosis dan monitoring karies gigi. Saliva dapat berperan sebagai cairan diagnostik noninvasif maupun biomarker ketika terjadi inisiasi hingga perkembangan suatu penyakit.

2.3 Saliva

2.3.1 Saliva sebagai Cairan Diagnostik

Kelenjar saliva atau kelenjar ludah merupakan kelenjar majemuk yang terdiri atas gabungan kelompok alveoli berbentuk kantong dan membentuk lubang-lubang kecil. Saluran-saluran yang terdapat pada tiap alveol bersatu membentuk saluran lebih besar dan mengangkut sekretnya ke saluran utama, dan melalui saluran tersebut sekret kelenjar ludah berupa ludah / saliva dikeluarkan ke rongga mulut. Pada manusia terdapat tiga kelenjar ludah utama, yaitu kelenjar protis, kelenjar submandibularis, dan kelenjar sublingualis. Fungsi kelenjar ludah adalah menghasilkan saliva. Saliva merupakan cairan bersifat alkali, mengandung musin, enzim pencerna zat tepung (ptialin) dan sedikit zat padat (Pearce, 2002).

Salah satu fungsi yang dimiliki saliva yakni membantu membersihkan mulut dari sisa makanan, debris sel, dan bakteri yang akhirnya akan menghambat pembentukan plak (Kidd, 2016). Jumlah volume normal saliva mencapai 800-1500 ml/hari dengan pH sekitar 6.0-7.0. Pada sekresi saliva terdapat banyak antimikroba dan protein imunomodulator yang berkontribusi untuk lubrikasi mukosa dan melapisi jaringan, remineralisasi gigi dan sebagai buffer. Kandungan tersebut termasuk histatin, proline tinggi protein, staterin, karbonik anhidrase,

sIgA, laktoferin, laktoperoksidase, lisozim, amilase, dan protein yang diklaim memiliki kemampuan anti HIV (Wong 2008, p. 60).

Dewasa ini saliva mulai dikembangkan sebagai cairan diagnostik yang dapat digunakan sebagai media deteksi pilihan karena memiliki beberapa keunggulan secara diagnostik dan logistik dibandingkan serum. Hal ini karena untuk pengambilan spesimen saliva cukup aman, tanpa ada penusukan jarum, mudah, sederhana, dapat dilakukan berulang-ulang tanpa memerlukan tenaga kesehatan yang sangat terlatih dan berpengalaman, serta tanpa membuat pasien menderita (Istindiah, 2003).

Penggunaan saliva sebagai cairan diagnostik karena saliva memiliki salah satu dari kriteria utama cairan diagnostik ideal yakni cairan non-invasiv (Greabu, 2014) dalam saliva juga terdapat biomarker seperti material genetik (seperti DNA, RNA) dan molekul protein yang dapat menggambarkan keadaan fisiologi seseorang (Javaid *et al.*, 2015).

Biomarker yang terdapat dalam darah dan urin dapat dideteksi dalam sampel saliva. Dalam review yang dilakukan oleh Malamud dan Isaac (2010) menyebutkan bahwa penggunaan saliva dan sampel mulut lainnya dapat digunakan untuk diagnostik penyakit sistemik dan penyakit mulut. Saliva sebagai cairan diagnostik dapat digunakan pada penderita usia anak-anak dan pada pasien yang kurang kooperatif dalam pengambilna spesimen cairan tubuh lain (misal, darah dan serum).

2.3.2 Peran Saliva dalam Proteksi Karies

Saliva dianggap sebagai cairan proteksi terhadap karies gigi yang memiliki komposisi dan sifat yang khusus. Pada jumlah pH fluida saliva yang mengalir dan

tingkat kadar kalsium. Kenaikan yang konstan dalam kalsium saliva pada konsentrasi rendah sangat membantu untuk mengurangi pembentukan karies. Mekanisme yang mengatur deposisi kalsium pH saliva terhadap penurunan yang signifikan dalam perubahan keseimbangan kimia dari permukaan gigi dan meningkatkan kelarutan hidroksiapatit. (Jawed, 2012).

Pertahanan rongga mulut secara natural yang dapat melindungi atau mencegah perkembangan karies. Sistem pertahanan saliva berperan penting dalam menjaga kesehatan rongga mulut dan mencegah karies. Pertahanan sistem imun dan sekresi peptida antimikroba termasuk faktor yang menghambat atau demineralisasi yang terkena pada permukaan gigi. Reaksi terhadap buffer dan protein pada kalsium fosfat sebagai antimikroba pada aktivitas terhadap mikroorganisme dan membersihkan pada kavitas rongga mulut. (Tao *et al.*, 2005)

Saliva mengandung plak bakteri dengan fermentasi karbohidrat yang menghasilkan asam dapat menurunkan pH pada permukaan enamel, dentin dan sementum. Hal ini dapat mempengaruhi struktural gigi yang kemudian mengendapkan pada gigi yang berdekatan akan menyebabkan inflamasi kronis periodonsium. Infeksi bakteri pembentuk biofilm, merusak tulang alveolar dan ligamen periodontal. Jika tidak ditangani, gingivitis dapat berkembang menjadi periodontitis, serta menyebabkan lesi pada jaringan lunak dan keras. (Malamud and Isaac, 2011)

Peran protektif terhadap karies juga dimiliki oleh saliva, selain mampu menunjukkan jumlah bakteri rongga mulut, saliva mengandung beberapa agen antibakteri yang secara mekanis dapat membersihkan patogen dan memiliki kapasitas buffer yakni berfungsi mengurangi konsentrasi asam pada permukaan

gigi (Javaid, 2015). Sifat khusus dan komposisi yang dimiliki menjadikan saliva sebagai cairan pelindung terhadap karies gigi, termasuk pH, *flow rate*, dan *calcium level*. Tingkat optimum kalsium pada saliva cukup bertanggung jawab terhadap penyediaan kalsium menahan demineralisasi dan membantu menekan terjadinya karies. (Jawed, 2012)

Pada saliva terdapat juga antibakteri alami yang mampu melawan bakteri karies seperti *Streptococcus mutans*. Antibakteri tersebut berupa Anti Microba Peptides (AMP) yang dihasilkan oleh kelenjar saliva dan disekresikan bersama saliva. Terdapat beberapa jenis AMP sesuai dengan stukturanya dan komposisinya, meskipun berbeda sifat anti bakteri yang dimiliki tetap sama dan menjadi pertahanan baris pertama untuk *host* (Hans, 2014).

2.4 Senyawa Antimicrobial Peptides (AMP)

Pertahanan peptida antimikroba atau *host defense* adalah sistem kekebalan bawaan yang ditemukan pada semua organisme multiselular. Antimikroba yang berbentuk heliks sebagai fungsi batas membran sel terhadap mikroorganisme yang dapat menyebabkan kelainan dinding sel. Dengan menggunakan urutan dari famili struktur heliks antimikroba seperti *cathelicidins*, *cecropins*, and *magainins*, menunjukkan bahwa dapat berlipat ganda dengan peptida antimikroba ke oligomer heliks sebagai fungsional inert. (Ryan et al, 2013)

AMPs terdapat dalam genom dan diproduksi oleh prokaryotes pada tubuh. Pada organisme yang lebih tinggi, AMPs merupakan komponen penting dari kekebalan bawaan, melindungi hospes terhadap infeksi. Bakteri menghasilkan AMP untuk membunuh bakteri lain. AMP menunjukkan aktivitas antimikroba yang sangat luas dapat mencakup bakteri gram positif dan gram negatif serta

jamur, virus, dan protozoa uniseluler. Selain memiliki aktivitas antimikroba langsung, beberapa AMPs memiliki kemampuan sebagai respon imun bawaan dari *host* dan secara tidak langsung membunuh sel patogen. (Mahlapuu et al, 2016)

Peptida antimikroba merupakan aspek penting dari sistem pertahanan sebagai kontrol kolonisasi bakteri dan infeksi. Penelitian telah berkembang bahwa senyawa peptida antimikroba sebagai manifestasi fungsi lain selain efek antimikroba. Fungsi ini menghambat *chemotaxis* dari berbagai jenis sel inang dari respon imun bawaan dan adaptif. Dalam hal ini aktivitas antimikroba, homeostasis alpha-defensin dan LL-37, serta beta-defensin, terdapat dalam lokasi jaringan khusus di epitel *junctional* dan epitel rongga mulut. (Diamond et al., 2009)

Defensin dan cathelicidin memiliki spektrum antimikroba yang luas terhadap bakteri Gram negatif dan Gram positif dan *Candida albicans*, serta efektif secara *in vitro* pada mikroorganisme oral, seperti *Streptococcus mutans*, *P. gingivalis*, dan *A. actinomycetemcomitans*. Kedua AMP tersebut bekerja secara sinergi dengan antimikroba lain (Tao et al. 2005).

Tabel 2.4 AMPs yang sering terdapat dalam rongga mulut (Khurshid et al. 2015).

Antimicrobial peptides	Year	Site of expression
α -Defensins (HNP-1)	1985	Neutrophils (azurophilic granules), gingival crevicular fluid and bone marrow
α -Defensins (HNP-2)	1985	Neutrophils (azurophilic granules), gingival crevicular fluid and bone marrow
α -Defensins (HNP-3)	1985	Neutrophils (azurophilic granules), gingival crevicular fluid and bone marrow
α -Defensins (HNP-4)	1989	Neutrophils
β -Defensins (hBD-1)	1995	Suprabasal layer of stratified epithelium and saliva
β -Defensins (hBD-2)	1997	Gingival epithelium and saliva
β -Defensins (hBD-3)	2001	Skin and salivary gland
Histatin-1	1988	Saliva (parotid and submandibular)
Histatin-3	1988	Saliva (parotid and submandibular)
Histatin-5	1988	Saliva (parotid and submandibular)
Adrenomedullin	1993	Epithelium
Cathelicidins (LL-37)	1995	Neutrophils, inflamed epithelia, submandibular glands and saliva

2.4.1 Target AMP pada Membran Mikroba

Bakteri pada umumnya dibagi menjadi dua family yaitu gram-positif dan gram-negatif, berdasarkan perbedaan dalam struktur sel *envelope*. Pada bakteri gram positif, membran sitoplasma dikelilingi oleh peptidoglikan lapisan tebal, sedangkan membran sitoplasma gram-negatif Bakteri dikelilingi oleh lapisan peptidoglikan lapisan tipis dan juga membran luar. (Mahlapuu, 2016)

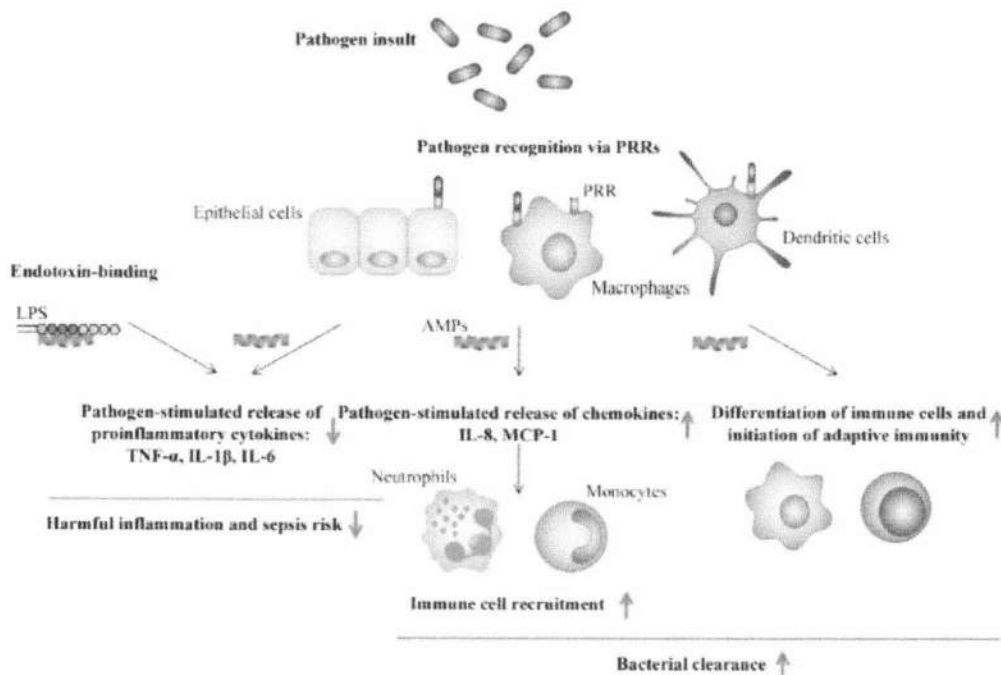
Daya antimikroba dari *Lactobacillus* dapat terjadi karena terbentuknya senyawa-senyawa antimikroba. Senyawa antimikroba tersebut dapat berupa asam laktat, hidrogen peroksida (H_2O_2), diasetil, karbon dioksida (CO_2) dan bakteriosin. Plantaricin yang memiliki aktivitas antimikroba pada bakteri gram negatif dan bakteri gram positif adalah plantaricin F. Plantaricin ini memiliki kemampuan stabil pada suhu tinggi dan pH yang rendah sehingga dapat dimanfaatkan untuk keperluan fermentasi. Selain itu, mempunyai aktivitas dalam menghambat bakteri yang menyebabkan *foodborne disease*, antara lain *L. monocytogenes*, *Salmonella* sp., *P. aeruginosa*, dan *S. aureus*. (Yulinery and Hidayat, 2013)

Mekanisme plantaricin F dalam menyerang inangnya adalah dengan cara membuat pori pada membran. Terdapat dua mekanisme utama, yaitu model *barrel stave* dan model *carpet*. Model *barrel stave* memiliki mekanisme yaitu peptida dari bakteriosin berasosiasi dengan membran target, pada saat konsentrasi batas ambang tercapai, peptida yang berasosiasi membuat pori dengan permukaan hidrofobik menghadap keluar dan permukaan hidrofilik menghadap ke dalam, pori pada bagian lapisan lipid untuk membantu penembusan, sedangkan model *carpet* memiliki mekanisme dengan peptida dari bakteriosin yang tidak berstruktur

membentuk struktur α -heliks saat kontak dengan lingkungan membran target berinteraksi dengan *phospholipid bilayer* kemudian membungkus membran target.

(Yulinery and Hidayat, 2013)

Patogen masuk melalui reseptor patogen (PRRs) seperti TLRs, oleh sel epitel, makrofag, dan sel dendritik, menyebabkan pembunuhan melalui fagositosis serta pelepasan sitokin proinflamasi dan kemokin oleh sel, kemudian merangsang system kekebalan pada tempat yang terinfeksi. AMP secara tidak langsung melakukan pembunuhan patogen dengan merangsang kemotaksis dan diferensiasi sel imun, sekaligus mencegah peradangan dan sepsis yang berbahaya dengan penghambatan pelepasan sitokin proinflamasi serta pembilasan langsung endotoksin bakteri seperti LPS. (Mahlapuu, 2016)



Gambar 2.4.1 Ilustrasi skema aktivitas *immunomodulatory* AMPs (Mahlapuu, 2016)

2.5 Defensin

Tiga subfamili defensin manusia telah diidentifikasi: α -defensins, β -defensins, dan θ -defensins. Seperti yang akan dibahas, defensin dapat dibedakan dengan fitur struktural di tingkat gen dan peptida. Aktivitas defensin sebagai antimikroba yang sebanding pada manusia. Evolusi dari keturunan umum α dan β -defensin keduanya peptida kationik dari 18-45 asam amino kationik. (Yuan *et al.*, 2016)

2.5.1 α -defensin

Defensin ini ditemukan sebagai *human neutrophil peptide* dan ditemukan pada neutrofil berbentuk azurofilik. Defensin ini menyerang mikroorganisme yang telah difagositosis oleh neutrofil dan makrofag (Christian, 2013)

2.5.2 β -defensin

Defensin ini ditemukan pada merupakan karakteristik dari jaringan epitel. *Human b-defensin-1* (HBD-1) terdapat dalam ginjal, dan tingkat lebih rendah di pankreas, mukosa kelenjar ludah, epitel saluran napas, sistem urogenital perempuan, dan plasenta. (Dhople *et al.*, 2006).

2.5.3 θ -defensin

Defensin tidak diekspresikan pada sel manusia (peptida tumbuhan antimikroba). (Christian, 2013).

2.6 Human β -defensin

Human Beta Defensins (HBDs) merupakan kelompok kationik kecil peptida kaya sistein antimikroba dengan spektrum luas terhadap aktivitas sejumlah patogen termasuk spesies *Candida*. HBD adalah turunan peptida antimikroba yang baik sebagai pertahanan yang efektif terhadap *host*. Penelitian

paling intensif HBD sejauh ini adalah HBD-1, 2, dan 3, terdeteksi dalam rongga mulut pada epitel gingiva, saliva, dan cairan sulkus gingiva. (lu *et al.*, 2006)

HBD telah ditemukan pada epitel gingiva, kelenjar ludah dan saliva, dan cairan crevicular gingiva (GCF). Penelitian terbaru menunjukkan pentingnya defensin dan *cathelicidins* sebagai agen antimikroba di rongga mulut. *Human Beta-Defensins* (HBDs) secara luas dinyatakan terdapat dalam jaringan mulut dan di epitel gingiva (Ebrahem, 2013).

Mekanisme defensin sebagai respon imun melalui kemotaksis yang *immature* pada sel dendritik dan sel T (dengan berinteraksi dengan reseptor kemokin CCR6). Beta-defensins bisa menjadi penghubung antara respon imun bawaan dan adaptif. (Signat *et al.*, 2011).

Human Beta-Defensins (HBDs) sebagai *suppress* terhadap produksi pro inflammatory. Sitokin sebagai respon terhadap antigen mikroba spesifik, mengaktifkan dan degranulasi sel mast, menghambat produksi glukokortikoid, dan meningkatkan kekebalan spesifik antigen (Ebrahem, 2013).

2.6.1 Human Beta-defensin 1

HBD-1 terus diekspresikan dan berperan dalam flora normal menjadi oportunistik. Ekspresi HBD-1 terletak pada lapisan suprabasal pada epitel dan saliva. (Khurshid, *et al.*, 2015) HBD-1 aktif terhadap bakteri gram positif-negatif dan mikroorganisme. (lu *et al.*, 2006) Ekspresi HBD-1 tidak dipengaruhi oleh sitokin. Sebagian besar penelitian menemukan HBD-1 dalam berbagai epithelia dan menunjukkan regulasi dari HBD-1 sebagai respon terhadap peradangan. (Ebrahem, 2013)

Tingkat ekspresi HBD-1 berkorelasi dengan HBD-2 dan HBD-3. Tidak ada perbedaan yang diamati antara tingkat ekspresi HBD-1 pada sampel jaringan sehat dan tidak sehat. Selanjutnya, sebuah penelitian menunjukkan bahwa HBD-1 secara konstitutif diekspresikan dalam kultur sel keratinosit dan tidak teregulasi bila terkena mediator inflamasi. (Signat *et al.*, 2011)

2.7 Metode *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA)

Penyebaran konsentrasi peptida atau protein dalam tubuh berperan penting dalam menjaga homeostatis metabolisme, dipengaruhi oleh berbagai keadaan fisiologis maupun patofisiologis. Konsentrasi peptida dalam cairan biologis dapat diukur dengan berbagai metode, yang paling umum digunakan adalah ELISA. *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) digunakan sebagai alat diagnostik pada bidang kedokteran dan sebagai *quality control* yang penting pada berbagai industri. ELISA dapat digunakan sebagai alat analisis pada penelitian biomedik untuk identifikasi dan menghitung antigen maupun antibodi spesifik pada sebuah sampel, prosedur pengujian memiliki prinsip dasar yang sama dengan *radioimmunoassay* (RIA). Antigen dan antibodi berlabel enzim digunakan pada ELISA untuk mendeteksi molekul biologis, jenis enzim yang paling banyak digunakan adalah alkaline phosphatase dan glukosa oksidasi. ELISA dapat menyajikan pengukuran berarti terkait konsentrasi antigen maupun antibodi. Perkembangan ELISA sejak awal penemuannya hingga saat ini memiliki beberapa tipe, antara lain: direct, indirect, sandwich dan kompetitif (Gan and Kruti, 2013; Aydin, 2015).

Pada penelitian ini dikembangkan uji ELISA langsung (*direct ELISA*) dan tidak langsung (*indirect ELISA*) dengan menggunakan antibodi monoklonal

(*blocking* ELISA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji *direct* ELISA tidak dapat digunakan dengan baik karena terjadi positif palsu. Uji *blocking* ELISA bereaksi lebih baik dan dapat dikembangkan lebih lanjut untuk mendeteksi antibodi terhadap penyakit. Dapat disimpulkan bahwa pengembangan teknik deteksi dini terhadap penyakit dengan mempergunakan antibodi monoklonal dapat diterapkan dalam upaya pengawasan penyakit dan surveilans. (Sendow *et al.*, 2015)

Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) adalah teknik yang efektif dalam menentukan diagnosa penyakit. Beberapa kelebihan teknik diagnostik konvensional dan molekuler yang merupakan penggunaan ekonomis reagen, sensitivitas tinggi, relative sederhana dan cepat, tepat dalam jumlah besar pada sampel, dan mudah. Deteksi bakteri mulai dari 10^2 - 10^5 sel / ml, sedangkan untuk virus mulai dari 1-10 ng / ml. Waktu yang dibutuhkan untuk tes ELISA Mulai dari 5-48 jam. Model dan komponen ELISA Kit untuk beberapa patogen virus dan bakteri. Setiap patogen membutuhkan kit yang berbeda. Kit ELISA tidak hanya sebagai deteksi dan identifikasi patogen, tetapi juga untuk studi ekologi patogen dengan studi epidemiologi penyakit. (Suryadi, 2009)

2.8 Hubungan DMF-T dengan HBD1

Human Beta-Defensins (hBDs) berkorelasi dalam karies gigi. Karies gigi diukur dengan indeks DMF-T/def-t untuk mengetahui hubungan dengan saliva pada karies gigi dan bebas karies gigi pada kadar HBD-1 saliva dengan teknik sandwich ELISA. Analisis statistik dilakukan untuk mengetahui hubungan antara karies gigi kadar saliva HBD-1 dengan alfa 0,05. Tingkat HBD-1 secara signifikan lebih tinggi pada anak bebas karies. (Lips, *et al.*, 2017)

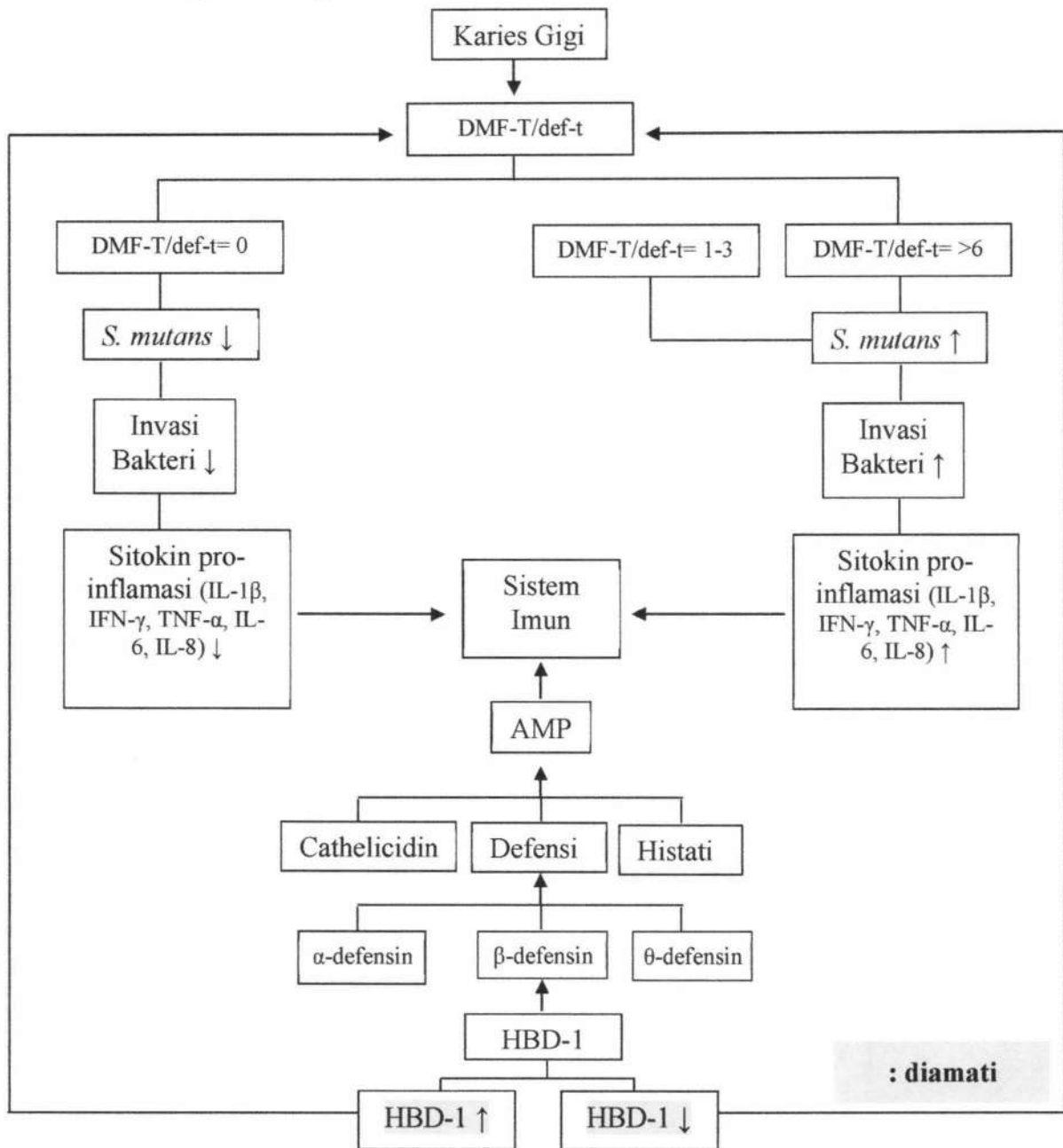
HBD-1 saliva berkorelasi dengan karies gigi. Resiko pada gigi yang karies diukur dengan indeks DMF-T/def-t; yaitu (*Decay*) gigi karies, hilang karena dicabut (*Missing/exfoliated*), dan tumpatan pada gigi (*Filling*) berhubungan dengan HBD-1 dapat didiagnosis secara klinis. Mekanisme HBD-1 sebagai *innate immunity* terhadap perkembangan karies dipengaruhi jangka waktu yang panjang dan akan menjadi kronis. (Mubayrik *et al.*, 2014)

BAB 3
KERANGKA KONSEPTUAL
DAN HIPOTESIS PENELITIAN

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual

Faktor eksternal dan internal rongga mulut saling mempengaruhi kondisi kesehatan rongga mulut. *Decay Missing Filled Teeth/ decay exfoliated filling teeth* (DMF-T/def-t) merupakan indeks untuk menilai status kesehatan rongga mulut.

Sisa makanan (debris) menjadi salah satu faktor penyebab terjadinya karies gigi. Kondisi rongga mulut yang tidak seimbang akan merubah kondisi flora normal menjadi oportunistik patogen, sehingga terjadi peningkatan jumlah dari *Streptococcus mutans*.

Rongga mulut sendiri memiliki sistem pertahanan bawaan berupa saliva yang mengandung *Antimicrobial Peptides* (AMP), memiliki spektrum luas dalam membunuh mikroorganisme termasuk bakteri, virus dan jamur. Pada saliva dapat ditemukan tiga jenis AMP yaitu cathelicidin, defensin dan histatin. Pada penelitian ini akan diamati sekresi dari defensin saliva. Terdapat tiga jenis defensin saliva pada rongga mulut yaitu α -defensin, β -defensin, dan θ -defensin. HBD-1 merupakan anggota dari Beta-defensin. HBD-1 aktif melawan bakteri gram negative dan mikroorganisme sehingga dapat meregulasi terhadap peradangan.

Karies merupakan kondisi inflamasi yang ditandai dengan peningkatan jumlah bakteri *S. mutans* kemudian menstimulasi epitel untuk melepaskan sitokin proinflamasi (IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-8), kemudian terjadi peningkatan kadar HBD-1. Selanjutnya HBD-1 akan melakukan *antimicrobial action* dalam melawan bakteri dengan merusak permeabilitas dinding sel. Sehingga, jumlah bakteri *S. mutans* akan terus menurun dan kadar HBD-1 kembali normal.

3.3 Hipotesis

Terdapat hubungan DMF-T/def-t dengan kadar sekresi HBD-1 saliva pada kelompok anak berkaries dan bebas karies.

BAB 4
METODOLOGI PENELITIAN



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah obeservasional analitik dengan rancangan penelitian *cross sectional*, dengan pembagian 3 kelompok yaitu; kelompok 1 (DMF-T/def-t =0, bebas karies), kelompok 2 (DMF-T/def-t=1-3, karies rendah), kelompok 3 (DMF-T/def-t >6, karies tinggi).

4.2 Sampel

Sampel penelitian yang digunakan adalah saliva yang diambil dari siswa sekolah dasar (SD) yang bebas karies dan berkaries di Pondok Pesantren Qomaruddin Gresik yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dengan menggunakan teknik sampling *purposive random sampling*.

4.2.1 Kriteria Sampel

Kriteria inklusi adalah kriteria yang memenuhi syarat variabel penelitian, antara lain:

- a. Sampel laki-laki atau perempuan (belum menstruasi) berusia 9-10 tahun.
- b. Sampel bebas karies.
- c. Sampel dengan karies dengan nilai indeks DMF-T/def-t 1-3 (karies rendah) dan DMF-T/def-t >6 (karies tinggi).
- d. Siswa tidak sedang mendapatkan pengobatan yang bersifat menekan imun.

Kriteria eksklusi adalah kriteria yang telah memenuhi syarat variabel penelitian atau telah sesuai dengan kriteria inklusi namun karena suatu sebab menjadi *drop out*, antara lain:

- a. Siswa sedang sakit waktu diambil sampel.
- b. Saliva bercampur darah.
- c. Saat pengambilan sampel siswa mengalami kelainan rongga mulut, seperti sariawan.

4.2.2 Besar Sampel

Jumlah sampel pada penelitian ini ditentukan dengan rumus Lemeshow.

(Lemeshow *et al.*, 1990)

$$n = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 P(1-P)N}{d^2(N-1) + Z_{1-\alpha/2}^2 P(1-P)}$$

Keterangan rumus:

- n: jumlah sampel
- P: proporsi kemungkinan anak yang menderita karies
- d: batas toleransi *sampling error* atau *limit error*
- α : derajat kepercayaan
- N: jumlah populasi

Jumlah populasi (N) adalah 88 siswa, nilai proporsi yang kemungkinan menderita karies (P) yaitu 90%, batas toleransi kesalahan (d) yang dilakukan adalah 10% = 0,10, dengan nilai $\alpha = 0.05$, maka nilai $Z_{1-\alpha/2}^2 = 1,96$. Sehingga jumlah sampel yang didapatkan adalah 14.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah:

Indeks DMF/def-t.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah:

Kadar sekresi HBD-1 saliva.

4.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini antara lain:

- a. Hasil *screening* kuesioner yang diberikan pada siswa.
- b. Tidak ada luka atau gangguan lain dalam rongga mulut.
- c. Tidak sedang mendapatkan pengobatan.
- d. Teknik pengambilan sampel saliva.
- e. Konsentrasi dan jumlah bahan dalam prosedur ELISA.

4.4 Definisi Operasional Variabel

- a. Kelompok DMF-T/def-t adalah nilai indeks karies gigi pada kelompok usia anak 9-10. Kelompok bebas karies adalah siswa dengan indeks DMF-T/def-t =0. Kelompok karies adalah siswa dengan indeks DMF-T/def-t 1-3 (karies rendah) dan siswa dengan indeks DMF/def-t >6 (karies tinggi). *Decay Missing Filled Teeth/ decay exfoliated filling teeth* (DMF-T/def-t) adalah pengukuran tingkat keparahan karies gigi. Pengukuran dilakukan melalui pemeriksaan klinis rongga mulut dengan mengukur indeks DMF-T/def-t.
- b. Pengambilan sampel saliva adalah metode pengambilan saliva secara langsung dari anak berkaries dan bebas karies ke dalam tabung sentrifuge 15 ml sebanyak 5 ml, saliva yang diambil adalah *whole saliva* tanpa stimulasi dengan teknik *passive droll*.
- c. Kadar HBD-1 adalah konsentrasi HBD-1 yang tersekresi dalam saliva dan diukur menggunakan metode ELISA dalam satuan pg/ml.

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan pada bulan September – November 2017 di Pondok Pesantren Qomaruddin, Bungah Gresik, Jawa Timur. Pembacaan Elisa pada bulan November 2017 di Institute of Tropical Disease (ITD) Universitas Airlangga dan sentrifugasi sampel saliva di Research Center Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur.

4.6 Bahan dan Alat Penelitian

4.6.1 Bahan Penelitian

- a. Saliva dari kelompok karies dan bebas karies.
- b. Human Beta-defensin 1 ELISA kit merk *Bioassay Technology Laboratory* (*anti HBD-1 antibody; streitavidin-HRP; wash buffer; substrate solution A; substrate solution B; stop solution*).

4.6.2 Alat Penelitian

Alat penelitian menggunakan; *conical cup* steril, tabung *cryovial* 15 ml, eppendorf 1,5 ml, lemari pendingin dengan suhu -30°C , *ice box*, masker, aca mulut, sonde lurus, *handpiece*, *handscoon*, alat sentrifuge dengan suhu -4°C , mikropipet, elisa mikroplat, *microplate wash* (Bio-Rad), ELISA reader (Bio-Rad *micropalate reader*) dan *stopwatch*.

4.7 Langkah Kerja

4.7.1 Pengumpulan Data Sampel

Siswa yang akan dijadikan sampel mengisi lembar kuisisioner yang diberikan. Kuisisioner yang diberikan antara lain berisi: identitas siswa, kriteria pengukuran indeks DMF-T/def-t pada kondisi rongga mulut. (lampiran 3)

4.7.2 Pengambilan Saliva

Siswa diinstruksikan agar tidak makan sekitar 1 jam sebelum pengambilan saliva (diperbolehkan minum air). Menghindari *intake* makanan manis dan yang mengandung kafein. Sebelum pengambilan saliva siswa diminta untuk berkumur kurang lebih 1 menit dengan air bersih dan matang, setelah berkumur tunggu kurang lebih 5 menit. Pengambilan saliva pada pukul 8-10 pagi dengan metode *passive droll* yaitu dengan cara menundukkan kepala dan saliva yang terkumpul di dalam mulut dikeluarkan ke dalam tabung *cryovial*. Sampel saliva yang telah diperoleh harus segera diproses di laboratorium kurang dari 2 jam. (Khurshid *et al.*, 2016; Navazesh and Kumar, 2008).

Pengumpulan saliva dilakukan hingga terkumpul sebanyak 5 ml. Sampel saliva yang telah diperoleh disimpan dalam *ice box* setelah itu sampel dipindah ke dalam lemari pendingin dengan suhu -30° C agar sampel bertahan dalam jangka waktu yang cukup lama. (Aro *et al.*, 2017).

4.7.3 Kadar HBD-1 dalam Saliva dengan Metode ELISA

4.7.3.1 Persiapan Sampel

Saliva dalam tabung *cryovial* dikeluarkan dari lemari pendingin, dan dibiarkan hingga mencapai suhu kamar, kemudian di sentrifus dengan kecepatan 2400 g selama 10 menit -4° C. Sentifugasi dilakukan dengan tujuan memisahkan supernatan dalam saliva, supernatan akan terbentuk dengan jelas setelah dilakukan sentrifuge, terpisah dari sel-sel yang terdapat dalam *whole* saliva (Aro *et al.*, 2017). Supernatan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf dan disimpan ke dalam lemari pendingin dengan suhu -30° C hingga waktu pengujian ELISA).

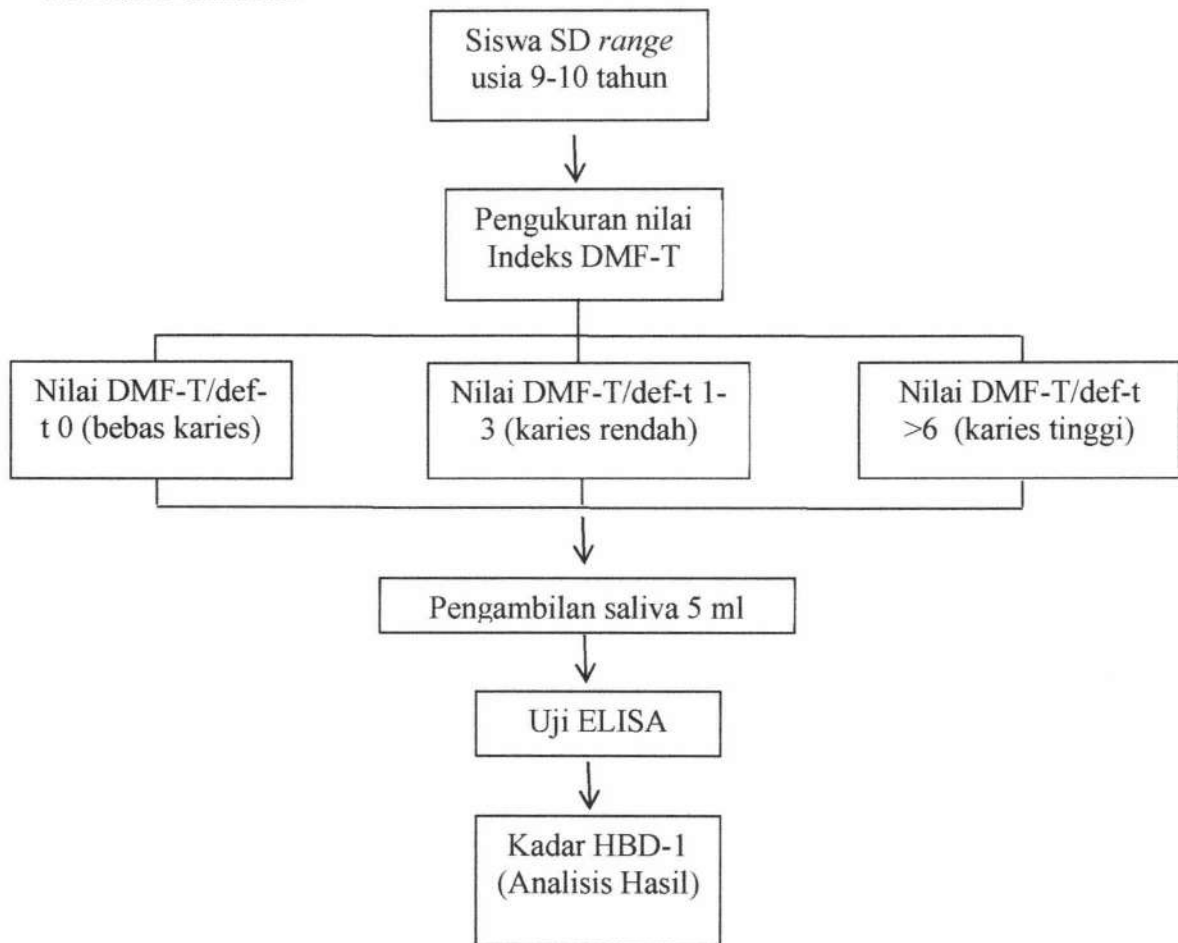
4.7.3.2 Prosedur Sandwich ELISA

1. Sampel supernatan saliva dikeluarkan dari lemari pendingin hingga mencapai suhu ruang.
2. ELISA kit dikeluarkan dari lemari pendingin kurang lebih 30 menit hingga seluruh reagen mencapai suhu ruang.
3. Sampel supernatan saliva sebanyak 40 μ l dimasukkan ke dalam well, ditambah 10 μ l *anti* HBD-1 *antibody*, kemudian ditambah 50 μ l *streptavidin-HRP*.
4. Sampel supernatan saliva dan reagen dalam *plate* dicampur menggunakan *micromixer*.
5. *Plate* ditutup dengan *sealer* dan diinkubasi dalam ruang gelap dengan suhu 37° C selama 60 menit.
6. Menyiapkan *wash buffer* yang dilarutkan dengan aquades dengan perbandingan 10ml: 290ml, kemudian dimasukkan kedalam tabung *microplate wash*.
7. *Sealer* dilepas dari *plate* dan mikroplate dimasukkan ke dalam *microplate wash*, *plate* dicuci sebanyak 5 kali. Kemudian *plate* dikeringkan dengan cara diketuk ringan hingga kering.
8. *Substrate solution* A dan *substrate solution* B ke setiap *well*. Hindari paparan sinar matahari secara langsung saat penambahan *substrate solution*.
9. *Plate* ditutup kembali dengan *sealer* kemudian diinkubasi dalam ruang gelap dengan suhu 37° C.
10. Stop solution 50 μ l dimasukkan setiap *well*.
11. Pembacaan ELISA dengan hasil OD dan konsentrasi kadar menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm.

4.8 Analisis Hasil Penelitian

Korelasi hasil kadar HBD-1 saliva dari kelompok sampel setelah pemeriksaan ELISA dianalisis uji normalitas, uji homogenitas.

4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.9 Alur Penelitian.

BAB 5
ANALISIS DAN HASIL

BAB 5

HASIL PENELITIAN



5.1 Data Penelitian

Hasil data penelitian kadar HBD-1 pada anak berkaries dan bebas karies, diperoleh dari 3 kelompok; yaitu kelompok DMF-T/def-t= 0 (free karies), DMF-T/def-t= 1-3 (karies rendah), DMF-T/def-t= >6 (karies tinggi). Perlakuan pada ketiga kelompok dilakukan pemeriksaan rongga mulut terlebih dahulu untuk mendapatkan indeks DMF-T/def-t. Kemudian diambil saliva sebanyak 5 ml dan dibagi sesuai dengan kriteria bebas karies, indeks DMF-T/def-t rendah dan DMF/def-t tinggi. Pengambilan data dilakukan sebanyak 9 kali kunjungan pada bulan 11 September - 15 November 2017 di Pondok Pesantren Qomaruddin.

Tabel 5.1 Rerata DMF-T/def-t dan konsentrasi HBD-1 saliva pada masing-masing kelompok.

SAMPEL	DMF-T/def-t	Konsentrasi HBD-1
	Mean±SD	Mean±SD
Kelompok 1 (bebas karies)	0	1000.8 ± 339.38
Kelompok 2 (karies rendah)	1.86±0.83	1036.8 ± 366.9
Kelompok 3 (karies tinggi)	7.80±2.68	709.93 ± 243.30

Sampel bebas karies sebagai kontrol menunjukkan bahwa pada penelitian ini diperoleh indeks DMF-T/def-t= 0 (bebas karies) dengan rerata konsentrasi HBD-1 saliva sebesar 1000.8 ± 339.38 g/ml. (Tabel 5.1)

Sampel indeks DMF-T/def-t rendah menunjukkan bahwa pada penelitian ini diperoleh rerata indeks DMF-T/def-t= 1-3 (karies rendah) sebesar 1.86 ± 0.83 dengan rerata konsentrasi HBD-1 sebesar 1036.8 ± 366.9 pg/ml. Rerata indeks DMF/def-t= >6 (karies tinggi) menunjukkan bahwa pada penelitian ini diperoleh

sebesar 7.80 ± 2.68 dengan rerata konsentrasi HBD-1 sebesar 709.93 ± 243.30 pg/ml.

5.2 Analisis dan Hasil Penelitian

Sebelum dilakukan uji kadar HBD-1 saliva, data yang diperoleh terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan homogenitas terhadap data hasil penelitian. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*. (Tabel 5.2)

Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan probabilitas masing masing kelompok perlakuan, yaitu kelompok bebas karies nilai dari sampel Kelompok 1 DMF-T/def-t= 0 (bebas karies) < alpha (0,5) maka distribusi data DMF-T/def-t konstan. Sedangkan nilai dari sampel kelompok 2 pada DMF-T/def-t= 1-3 (karies rendah) dan kelompok 3 DMF-t/def-t= > 6 (karies tinggi) dari data konsentrasi > alpha (0,5) maka distribusi data konsentrasi normal.

Tabel 5.2 Hasil uji *Spearman's*

uji Spearman's	DMF-T/def-t	Konsentrasi	P
DMF	1.000	-0.451	0.002
Konsentrasi	-0.451	1.000	

Nilai p (0.002) < alpha (0.05) menunjukkan bahwa nilai DMF-T/def-t pada konsentrasi HBD-1 saliva berkorelasi secara signifikan. Nilai $r < 0$ menunjukkan bahwa korelasi antara DMF-T/def-t dan HBD-1 saliva berhubungan terbalik, yang artinya DMF-T/def-t rendah memiliki kadar HBD-1 saliva pada konsentrasi yang meningkat, sedangkan DMF-T/def-t tinggi memiliki kadar HBD-1 saliva pada konsentrasi yang rendah.

BAB 6
PEMBAHASAN

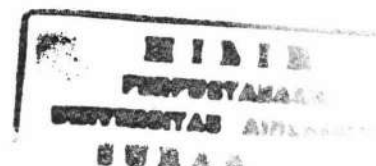
BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan DMF-T/def-t dengan sekresi *Human Beta Defensin-1* (HBD-1) saliva pada kelompok anak berkaries dan bebas karies. Sebelum pengambilan sampel saliva pada kelompok anak berkaries dilakukan pemeriksaan rongga mulut terlebih dahulu dan diukur nilai indeks DMF-T/def-t. Sampel saliva yang sudah diambil sebanyak 5 ml pada tabung centrifuge dibagi menjadi dua yaitu, DMF/def-t rendah dan DMF/def-t tinggi. Hasil penelitian ini menunjukkan kadar HBD-1 saliva yang berbeda pada kelompok DMF/def-t rendah dan DMF/def-t tinggi. Penelitian ini melibatkan siswa SD siswa sekolah di pesantren Qomaruddin Gresik dengan fasilitas perawatan gigi.

Konsentrasi HBD-1 saliva pada keadaan bebas karies, menunjukkan bahwa pada penelitian ini diperoleh indeks DMF/def-t= 0 pada konsentrasi HBD-1 saliva pada kelompok anak bebas karies gigi rerata sebesar 1000.8 ± 339.38 pg/ml. Kadar HBD-1 saliva pada rongga mulut dapat diukur pada saat kondisi normal. Pada keadaan normal, peptida ini dapat dideteksi. HBD-1 saliva diproduksi pada jaringan epitel saliva dan *gingival crevicular fluid* yang dihasilkan ketika terjadi peradangan. (Ebrahem, 2013)

HBD-1 saliva memiliki peran mencegah bakteri komensal dalam rongga mulut menjadi bakteri patogen. Sedangkan HBD-2 saliva dan HBD-3 saliva merupakan antimikroba yang induksibel (kadar dapat meningkat apabila terjadi



rangsangan dari mikroba) dan berperan efektif melawan bakteri patogen (Dale *et al.*, 2006)

Pada indeks DMF-T/def-t rendah dengan rerata sebesar 1.86 ± 0.83 diperoleh konsentrasi HBD-1 saliva sebesar 1036.8 ± 366.9 pg/ml. Hal ini disebabkan karena adanya karies dengan frekuensi rendah. Sifat patogenitas dari bakteri karies rendah dapat dihambat dengan adanya HBD-1. Sedangkan pada indeks DMF-T/def-t tinggi dengan rerata sebesar 7.80 ± 2.68 diperoleh konsentrasi HBD-1 saliva sebesar 709.93 ± 243.30 pg/ml. Hal ini disebabkan karena HBD-1 tidak mampu menghambat patogenitas bakteri karies gigi, kemudian digantikan dengan HBD-2 yang berfungsi untuk memperkuat aktivitas antimikroba pada defensins terhadap bakteri patogen yang menginvasi, sehingga jumlah HBD-1 lebih rendah. (Ebrahem, 2013)

Produksi HBD-2 ketika terdapat inflamasi kronis dimana pada inflamasi tersebut terdapat mediator inflamasi yang dapat meningkatkan produksi HBD-2. Mediator inflamasinya berupa IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-8. (Gornowicz *et al.*, 2012)

Dari hasil tersebut perlu diketahui DMF-T/def-t dengan sekresi HBD-1 saliva sebagai cara baru untuk mencegah karies dan kandidat biomarker untuk penilaian risiko karies gigi. *Streptococcus mutans* adalah faktor etiologi karies gigi dan telah banyak penelitian yang mengungkapkan hubungan antara karies gigi dan *S. mutans*. Beberapa penelitian juga menilai hubungan antara perkembangan lesi karies dengan respon sel imunokompeten. Sitokin merupakan mediator penting selama terjadi inflamasi dan infeksi, selain berperan mengendalikan respon inflamasi terhadap infeksi bakteri. Sel-sel hidup pada *host*

mensekresi molekul ini sebagai sinyal parakrin atau autokrine untuk merekrut sel-sel sistem imun (kemokin), menghasilkan radang (sitokin proinflamasi) atau mengatur respon inflamasi (sitokin anti-inflamasi). Peran sitokin pada patogenesis karies gigi tidak terlalu jelas, namun produksi sitokin proinflamasi dapat diinduksi oleh komponen *S. mutans* (Eslami *et al.*, 2016; Horst *et al.*, 2011).

BAB 7
KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 7

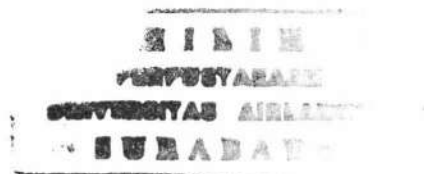
SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

Terdapat hubungan DMF-T/def-t dengan kadar sekresi HBD-1 saliva pada kelompok anak berkaries dan bebas karies.

7.2 Saran

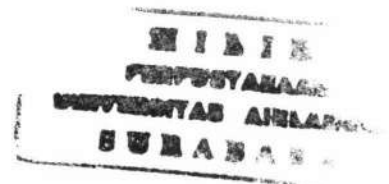
Berdasarkan hasil penelitian hubungan DMF-T/def-t dengan kadar konsentrasi HBD-1 saliva pada kelompok berkaries dan bebas karies, maka diharapkan adanya penelitian lebih lanjut tentang hubungan DMF-T/def-t dengan kadar konsentrasi HBD-1 saliva pada kelompok anak berkaries sebelum dan sesudah penumpatan.



DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Alhamda S. 2011. *Dental and Oral Hygiene Status with Dental Caries Status (Study in Student Age Group 12 Years in Elementary School City of Bukittinggi*. Jurusan Keperawatan Gigi, Politeknik Kesehatan Padang. (27) 2. h 108 – 115.
- Aro K, Fang Wei, David T, Wong and Michael Tu. 2017. *Saliva Liquid Biopsy for Point-of-Care Application*. *Frontiers in Public Health*. Vol 5 pp. 1-9.
- Christian J, 2015. Kadar HBD-2 Pada Pasien Periodontitis Kronis. (Karya Tulis Akhir). Program Pendidikan Spesialis Periodonsia. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. h 10-20.
- Chusna DM, Dini A, dan Yunita A. 2016. Imunisasi Intranasal Protein Adhesi Pili *Streptococcus pneumoniae* Untuk Meningkatkan Respon Imun Mukosa dan Mencegah *Pneumonia* Melalui Peningkatan S-IgA. Universitas Jember. h 2-13.
- Dale BA, Renchuan T, Janet RK, Richard JJ. 2006. *Oral Antimicrobial Peptides and Biological Control of Caries*. *BMC Oral Health*, 6(13). pp.1-7.
- Daniel M and Isaac RRC. 2011 *Saliva as a Diagnostic Fluid*. *Dent Clin North Am*. January ; 55(1): pp. 159–178.
- Dhople V, Krukemeyer A, Ramamoorthy A. 2006. *The human beta-defensin-3, an antibacterial peptide with multiple biological functions* *Biochimica et Biophysica Acta*. 1758, pp. 1499–1512.
- Diamond G, Nicholas B, Aaron W, and Kevin OK. 2009. *The Roles of Antimicrobial Peptides in Innate Host Defense*. *Curr Pharm Des*; 15(21): pp. 2377–2392.



- Mahlapuu M, Joakim H, Lovisa R, and Camilla B. 2016. *Antimicrobial Peptides: An Emerging Category of Therapeutic Agents*. pp. 1-12.
- Malamud, Daniel and Isaac RRC, 2010. *Saliva as a Diagnostic Fluid*. *National Institute of Health, Dent Clin North Am*. January: 55(1). pp. 159-178.
- Mubayrik AFB, Deelay K, Patir A, Koruyucu M, Seymen F, Vieira AR. 2014. *DEFBI polymorphisms and caries in primary dentition*. *J Pak Dent Assoc*; 23(2): pp 66-69.
- Navazesh, Mahvash and Satish KSK. 2008. *Measuring salivary flow- Challenges and opportunities*. *JADA*. pp 1-6.
- Pannu P *et al.*, 2013. *Correlation between the salivary Streptococcus mutans and dental caries experience in adult population of Chandigarh, India*. *Europe J of Dent*. 7(2): pp. 191-194.
- Pearce, Evelyn C. 2002. *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama. pp. 182-184.
- Riskesdas, 2013. *Ministry of Health and National Institute of Health Research and Development National report on basic health research*. Jakarta, Indonesia, (and additional analysis). Ministry of Health, Republic of Indonesia, Jakarta.
- Rouabhia, Mahmoud. 2002. *Interaction between host and oral commensal microorganisms are key events in health and disease status*. *Can J Infect Dis*. 13 (1) pp.47-51
- Ryan L, *et al.* 2013. *Anti-antimicrobial Peptides Folding-Mediated Host Defense Antagonist*. Pub; JBC Papers in Press. pp 1.

- Signat B, Christine R, Pierre P. and Danielle D. 2011. Role of *Fusobacterium nucleatum* in Periodontal Health and Disease. Department of Oral Biology, Faculty of Dental Surgery, University Paul Sabatier, Toulouse, France Biol. 13: 25-36.
- Sendow I, R.M. Abdul Adjid, Atik Ratnawati, dan Muharam Saepulloh. 2015. Pengembangan Teknik *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) Menggunakan Antibodi Monoklonal Untuk Mendeteksi Antibodi Penyakit *Bovine Ephemeral Fever*. ISSN 1978-225X. pp 1-4.
- Spielmann N and David T. Wong 2011. *Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives*. *Oral Dis*; 17(4): 345–354.
- Taupiek Rahman, Rosihan Adhani, Triawanti. 2016. Hubungan Antara Status Gizi Pendek (Stunting) Dengan Tingkat Karies Gigi. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi* 1 (1). h 1-6.
- Tao, et al. 2005. *Salivary Antimicrobial Peptide Expression and Dental Caries Experience in Children*. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, pp. 3883–3888.
- Tanumihardja M, Daniel DFR. 2016. Gambaran status karies pada anak usia 12-15 tahun yang mengkonsumsi air minum kemasan di SMP Nusantara. *Makassar Dent J*; 6(3): h 149-156
- Tjahja I.N, and Ghani, L. 2015. Pemeriksaan Karies Gigi pada Beberapa Kelompok Usia oleh Petugas dengan Latar Belakang Berbeda di Provinsi Kalimantan Barat. h 1-8.
- Widayati, N. 2014. Faktor Yang Berhubungan Dengan Karies Gigi Pada Anak Usia 4-6 Tahun. Departemen Epidemiologi Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga. h 2.

Wong DT (ed.) 2008. *Salivary Diagnostics. America Dent Assoc: WileyBlackwell.*
pp. 1-5.

Yadi Suryadi, Ifa Manzila, dan M. Machmud. 2009. Tinjauan Potensi Pemanfaatan Perangkat Diagnostik ELISA serta Variannya untuk Deteksi Patogen Tanaman. *Jurn AgroBiogen* 5 2009(1): h 39-48.

Yuan-yuan Qi, Xu-jie Zhou, Fa-juan Cheng, and Hong Zhang. 2016. *Elevated Plasma α -Defensins (HNP1-3) Levels Correlated with IgA1 Glycosylation and Susceptibility to IgA Nephropathy*, Article ID 8123138, p. 7.

Yulinery, T and Nurhidayat, N. 2013. Aktivitas Antimikroba dan Analisis Gen Plantarisin F dari Isolat *Lactobacillus* Asal Buah-buahan Tropis. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. ISSN 1693-1831. 11 (2), h. 147-155

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1
Keterangan Kelaikan Etik



UNIVERSITAS AIRLANGGA FACULTY OF DENTAL MEDICINE
HEALTH RESEARCH ETHICAL CLEARANCE COMMISSION

ETHICAL CLEARANCE CERTIFICATE
 Number : 132/HRECC.FODM/VIII/2017

Universitas Airlangga Faculty Of Dental Medicine Health Research Ethical Clearance Commission has studied the proposed research design carefully, and therefore, shall herewith certify that the research entitled :

"HUBUNGAN ANTARA *DECAY MISSING FILLING TEETH* (DMF-T) DENGAN SEKRESI HBD-1 SALIVA PADA KELOMPOK ANAK BERKARIES DAN BEBAS KARIES"

Principal Researcher : **TAMIMA IZZAT NABELLA**

Unit/Institution/Place of Research : - *Institute of Tropical Diseases (ITD)*
 Universitas Airlangga Surabaya
 - *Research Center Fakultas Kedokteran Gigi*
 Universitas Airlangga Surabaya

CERTIFIED TO BE ETHICALLY CLEARED

Surabaya, August 21st, 2017
 Chairman,



Prof. M. Rubianto, Dr., drg., MS., Sp.Perio(K)
 Official No.195009081978021001



LAMPIRAN 2
Kuesioner Penelitian



LEMBAR KUESIONER PENELITIAN SKRIPSI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS AIRLANGGA

Tanggal / Bulan / Tahun <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>		No. Responden <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>																																		
Informasi Umum: (Nama) _____ Jen. Kelamin(L/P) <input type="checkbox"/> Tgl Lahir (Tgl/Bln/Thn) <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/> Umur <input type="text"/> <input type="text"/> Etnis: _____ Kelas: <input type="text"/> <input type="text"/> Pekerjaan Orangtua: _____ Kota/desa: _____ Tempat tinggal (lokasi geografis): _____ Kebiasaan Buruk: _____ Temuan Pemeriksaan Ekstra Oral _____																																				
Status Umum: Berat badan (kg) : <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Lingkar pinggang (cm) : <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> BMI : <input type="text"/> <input type="text"/> Tinggi badan (cm) : <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> pH saliva : <input type="text"/> Lingkar kepala (cm): <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Flowrate saliva (ml/menit): <input type="text"/> <input type="text"/>																																				
Status Gigi Geligi : 17 16 15 14 13 12 11 21 22 23 24 25 26 27 55 54 53 52 51 61 62 63 64 65 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> 85 84 83 82 81 71 72 73 74 75 47 46 45 44 43 42 41 31 32 33 34 35 36 37		<table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Gigi Sulung</th> <th>Gigi Tetap</th> <th>Status</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>A</td><td>0</td><td>Sehat</td></tr> <tr><td>B</td><td>1</td><td>Gigi lubang/karies</td></tr> <tr><td>C</td><td>2</td><td>Tumpatan dgn karies</td></tr> <tr><td>D</td><td>3</td><td>Tumpatan tanpa karies</td></tr> <tr><td>E</td><td>4</td><td>Gigi dicabut krn karies</td></tr> <tr><td>-</td><td>5</td><td>Gigi dicabut krn sebab lain</td></tr> <tr><td>F</td><td>6</td><td>Fissure sealant</td></tr> <tr><td>G</td><td>7</td><td>Protesa cekat / mahkota cekat / implant / veneer</td></tr> <tr><td>-</td><td>8</td><td>Gigi tidak tumbuh</td></tr> <tr><td>-</td><td>9</td><td>Lain-lain / tidak termasuk kriteria</td></tr> </tbody> </table>		Gigi Sulung	Gigi Tetap	Status	A	0	Sehat	B	1	Gigi lubang/karies	C	2	Tumpatan dgn karies	D	3	Tumpatan tanpa karies	E	4	Gigi dicabut krn karies	-	5	Gigi dicabut krn sebab lain	F	6	Fissure sealant	G	7	Protesa cekat / mahkota cekat / implant / veneer	-	8	Gigi tidak tumbuh	-	9	Lain-lain / tidak termasuk kriteria
Gigi Sulung	Gigi Tetap	Status																																		
A	0	Sehat																																		
B	1	Gigi lubang/karies																																		
C	2	Tumpatan dgn karies																																		
D	3	Tumpatan tanpa karies																																		
E	4	Gigi dicabut krn karies																																		
-	5	Gigi dicabut krn sebab lain																																		
F	6	Fissure sealant																																		
G	7	Protesa cekat / mahkota cekat / implant / veneer																																		
-	8	Gigi tidak tumbuh																																		
-	9	Lain-lain / tidak termasuk kriteria																																		
Status Periodontal : 17 16 15 14 13 12 11 21 22 23 24 25 26 27 55 54 53 52 51 61 62 63 64 65 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> 85 84 83 82 81 71 72 73 74 75 47 46 45 44 43 42 41 31 32 33 34 35 36 37		Perdarahan Gingiva : 0 = Keadaan gusi sehat 1 = Ada perdarahan 9 = Gigi eksklusi X = Gigi tidak ada																																		

Skor DMF-t :			
Keparahan : <input type="checkbox"/> 0 = tdk ada tanda erosi 1 = erosi pada email 2 = erosi pada dentin 3 = keterlibatan pulpa Jumlah Gigi Erosi <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Keparahan : <input type="checkbox"/> 0 = tdk ada tanda cedera 1 = cedera sudah dirawat 2 = fraktur pd email 3 = fraktur email, dentin 4 = keterlibatan pulpa 5 = gigi hilang karena trauma 6 = cedera krn hal lain 9 = gigi dieklusi Jumlah Gigi Trauma <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Kondisi : <input type="checkbox"/> 0 = tdk ada lesi 1 = Ya, < 2 minggu 2 = Ya, ≥ 2 minggu	Status : <input type="checkbox"/> 0 = tdk perlu perawatan 1 = perlu, tidak segera 2 = perlu, segera



LEMBAR KUESIONER PENELITIAN SKRIPSI
 FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS AIRLANGGA

Tanggal / Bulan / Tahun

No. Responden

Jawablah beberapa pertanyaan tentang diri kalian dan kondisi gigi kalian

1. Nama _____		Jen. Kelamin(L/P) <input type="checkbox"/>	Kelas: <input type="text"/>
Alamat _____			
2. Berapa usiamu saat ini? _____ (tahun)			
3. Bagaimana aktivitas kalian sehari-sehari?			
Bangun pagi	pukul:	s/d	
Sekolah	pukul:	s/d	
Les / kursus	pukul:	s/d	
Lain-lain,	pukul:	s/d	
Lain-lain,	pukul:	s/d	
Tidur	pukul:	s/d	
4. Bagaimana kondisi gigi dan gusi kalian?			
	Gigi	Gusi	
Baik	(.....)	(.....)	
Buruk	(.....)	(.....)	
Tidak tahu	(.....)	(.....)	
5. Seberapa sering kalian merasakan sakit gigi atau merasa tidak nyaman pada gigi kalian selama 12 bulan terakhir ini?			
Sering	(.....)		
Kadang-kadang	(.....)		
Jarang	(.....)		
Tidak pernah	(.....)		
Tidak tahu	(.....)		
Silakan menjawab pertanyaan mengenai pemeliharaan kesehatan gigi dan mulut kalian			
6. Seberapa sering kalian pergi ke dokter gigi dalam 12 bulan terakhir?			
Sekali	(.....)		
Dua kali	(.....)		
Tiga kali	(.....)		
Empat kali	(.....)		
Lebih dari empat kali	(.....)		
Saya tidak pernah ke dokter gigi 12 bulan terakhir ini	(.....)		
Saya tidak pernah menerima perawatan gigi dari dokter gigi	(.....)		
Saya tidak tahu / tidak ingat	(.....)		

Jika kalian tidak pernah ke dokter gigi dalam 12 bulan terakhir, lanjut ke no.7			
7. Apa alasan kalian datang ke dokter gigi pada kunjungan terakhir kalian?			
Sakit atau terdapat masalah pada gigi, gusi, atau mulut	(.....)		
Perawatan atau perawatan lanjutan	(.....)		
Kontrol rutin gigi	(.....)		
Saya tidak tahu / tidak ingat	(.....)		
8. Seberapa sering kalian menyikat gigi?			
Tidak pernah	(.....)		
Beberapa kali dalam sebulan (2-3 kali)	(.....)		
Seminggu sekali	(.....)		
Beberapa kali dalam seminggu (2-6 kali)	(.....)		
Sekali dalam sehari	(.....)		
Dua kali dalam sehari	(.....)		
9. Apakah kalian menggunakan salah satu alat bantu di bawah ini untuk membersihkan gigi atau gusi kalian?			
	Ya	Tidak	
Sikat gigi	(.....)	(.....)	
Tusuk gigi kayu	(.....)	(.....)	
Benang gigi	(.....)	(.....)	
Arang	(.....)	(.....)	
Siwak	(.....)	(.....)	
Lain-lain, sebutkan.....	(.....)	(.....)	
10. a. Apakah kalian menggunakan pasta gigi saat menyikat gigi? (Ya) (Tidak)			
b. Apakah pasta gigi yang kalian gunakan mengandung fluor? (Ya) (Tidak)			
(Tidak tahu)			
11. Akibat kondisi gigi dan mulut kalian, apakah kalian sering mengalami masalah dibawah ini selama 12 bulan terakhir?			
	Ya	Tidak	Tidak tahu
a. Saya tidak menyukai penampilan gigi saya	(.....)	(.....)	(.....)
b. Saya kadang menghindari tertenyum dan tertawa karena kondisi gigi saya	(.....)	(.....)	(.....)
c. Anak-anak lain mengejek gigi saya	(.....)	(.....)	(.....)
d. Sakit gigi dan tidak nyaman pada gigi membuat saya tidak masuk sekolah	(.....)	(.....)	(.....)
e. Saya kesulitan menggigit makanan yang keras	(.....)	(.....)	(.....)
f. Saya kesulitan mengunyah	(.....)	(.....)	(.....)

12. Seberapa sering kalian makan atau minum jenis makanan/minuman di bawah ini, meskipun dalam jumlah kecil?						
	(1) Tidak pernah		(4) Beberapa kali dalam seminggu			
	(2) Beberapa kali dalam sebulan		(5) Setiap hari			
	(3) Sekali dalam seminggu		(6) Beberapa kali dalam sehari			
	1	2	3	4	5	6
Buah segar	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)
Biskuit, kue, kue manis, roti, dll	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)
Minuman soda	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)
Selai atau madu	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)
Permen karet yang mengandung gula	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)
Permen atau gula-gula	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)
Susu manis	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)
Teh manis	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)
Kopi manis	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)
Lain-lain, sebutkan.....	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)	(.....)
13. Apakah pendidikan terakhir ayah / wali?						
Tidak sekolah	(.....)					
Tidak lulus SD	(.....)					
Lulus SD / Sederajat	(.....)					
Lulus SMP / Sederajat	(.....)					
Lulus SMA / Serderajat	(.....)					
Lulus Perguruan Tinggi (Diploma, S1, S2, S3)	(.....)					
Tidak ada laki-laki dewasa di rumah	(.....)					
Tidak tahu	(.....)					
14. Apa pekerjaan ayah / wali?						

15. Apakah pendidikan terakhir ibu / wali?						
Tidak sekolah	(.....)					
Tidak lulus SD	(.....)					
Lulus SD / Sederajat	(.....)					
Lulus SMP / Sederajat	(.....)					
Lulus SMA / Serderajat	(.....)					
Lulus Perguruan Tinggi (Diploma, S1, S2, S3)	(.....)					
Tidak ada laki-laki dewasa di rumah	(.....)					
Tidak tahu	(.....)					
16. Apa pekerjaan ibu / wali?						

17. Apakah di rumah memiliki :		
	Jumlah	
TV	(.....)	(.....)
Kulkas / Lemari es	(.....)	(.....)
Kipas angin	(.....)	(.....)
AC	(.....)	(.....)
Sepeda motor	(.....)	(.....)
Mobil	(.....)	(.....)
TERIMA KASIH ATAS KERJASAMANYA		

Lampiran 3

Hasil Uji Statistik

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
f	1.00	15	1.8667	.83381	.21529	1.4049	2.3284	1.00	3.00
	2.00	15	7.8000	2.67795	.69144	6.3170	9.2830	6.00	14.00
	3.00	15	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	Total	45	3.2222	3.71660	.55404	2.1056	4.3388	.00	14.00
nc.	1.00	15	1036.7669	366.89084	94.73081	833.5895	1239.9442	573.08	1766.40
	2.00	15	710.0939	243.36444	62.83643	575.3232	844.8647	140.72	1106.33
	3.00	15	1000.7314	339.25726	87.59585	812.8570	1188.6058	48.48	1472.40
	Total	45	915.8641	346.65441	51.67619	811.7176	1020.0106	48.48	1766.40

Tests of Normality^c

	kel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Conc.	1.00	.156	15	.200*	.924	15	.222
	2.00	.236	15	.025	.923	15	.215
	3.00	.208	15	.079	.880	15	.048
Dmf	1.00	.251	15	.012	.799	15	.004
	2.00	.351	15	.000	.711	15	.000

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

c. dmf konstan pada kelompok bebas karies yaitu: 0

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Dmf	.207	45	.000	.820	45	.000
Conc.	.084	45	.200*	.978	45	.525

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Correlations

		dmf	concpre
Spearman's rho	Correlation Coefficient	1.000	-.451**
	Dmf Sig. (2-tailed)	.	.002
	N	45	45
	Correlation Coefficient	-.451**	1.000
	Conc. Sig. (2-tailed)	.002	.
	N	45	45

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

LAMPIRAN 4

Hasil Penelitian

11/21/2017 16:02 PM

Title
 Protocol
 Date/Time 11/21/2017 15:48:07
 Technician
 Plate ID
 Unit
 Reader Setup Endpoint Single 450.0nm Mix off Temp ""
 Reader Model # iMark
 Reader Serial # 17539
 Reader Version # 1.04.02.E Build 00
 Comments

Using Standard Data Set from Current Experiment.
 Linear Fit: $Y = \text{slope} * X + \text{intercept}$
 20/50/80%: $X = 205.287 / 805.838 / 1406.389$ $Y = 0.167 / 0.375 / 0.584$
 intercept: 0.096 (+/-0.047), slope: 0.000 (+/-0.000)
 chi2=0.155, RMS=0.125, r^2=0.811

Standards Report:

Std #	Conc	Well	Replicates	Mean	SD	%CV
1	37.5	B11	0.030	0.028	0.004	12.627
		B12	0.025			
2	75	C11	0.045	0.048	0.005	10.312
		C12	0.052			
3	150	D12	0.083	0.083	(*)	(*)
4	300	E11	0.192	0.198	0.008	4.275
		E12	0.205			
5	800	F11	0.421	0.452	0.044	9.710
		F12	0.482			
6	1200	G11	0.666	0.656	0.014	2.157
		G12	0.646			
7	2400	H12	0.722	0.722	(*)	(*)

Sample Report:

Sample ID	Well	Replicates	Mean	Conc
A-41.11	A5	0.304	0.304	569.025
A-41.17	A6	0.480	0.480	1106.330
A-41.25	A3	0.400	0.400	878.618

MPM 6 build 2.8.9 Page 1

11/21/2017 16:02 PM

A-42.16	A4	0.370	0.370	792.147
A-42.24	A10	0.450	0.450	1022.740
A-42.26	A1	0.450	0.450	1022.740
A-43.03	A2	0.439	0.439	988.151
A-43.08	A7	0.418	0.418	927.620
A-43.11	A9	0.122	0.122	74.426
A-52.04	A8	0.398	0.398	869.972
B-41.01	B10	0.415	0.415	918.973
B-41.17	B9	0.236	0.236	405.903
B-41.20	B5	0.388	0.388	841.148
B-42.03	B2	0.326	0.326	662.438
B-42.06	B3	0.582	0.582	1403.218
B-43.16	B1	0.436	0.436	979.503
B-43.19	B6	0.270	0.270	503.905
B-43.27	B7	0.376	0.376	809.441
B-51.02	B4	0.416	0.416	821.855
B-52.06	B8	0.316	0.316	636.486
C-41.07	C7	0.349	0.349	728.733
C-41.12	C10	0.466	0.466	1068.858
C-41.19	C3	0.630	0.630	1538.692
C-41.21	C8	0.406	0.406	893.031
C-42.04	C9	0.378	0.378	812.323
C-42.14	C1	0.476	0.476	1087.682
C-43.04	C8	0.380	0.380	820.871
C-43.11	C5	0.394	0.394	858.442
C-43.20	C2	0.538	0.538	1273.510
C-51.05	C4	0.294	0.294	573.083
D-41.14	D7	0.344	0.344	714.321
D-41.15	D5	0.207	0.207	319.431
D-41.16	D3	0.708	0.708	1766.402
D-41.18	D1	0.558	0.558	1334.040
D-42.19	D2	0.113	0.113	48.484

MPM 6 build 2.8.9 Page 2

11/21/2017 16:02 PM

D-43.04	D8	0.300	0.300	587.495
D-43.26	D10	0.380	0.380	820.971
D-51.03	D9	0.388	0.388	841.148
D-52.01	D4	0.340	0.340	702.792
D-52.07	D6	0.145	0.145	140.721
E-41.06	E5	0.356	0.356	751.793
E-41.10	E10	0.338	0.338	697.027
E-42.13	E2	0.544	0.544	1293.667
E-42.16	E7	0.408	0.408	898.796
E-42.25	E1	0.439	0.439	988.151
E-43.08	E3	0.568	0.568	1362.854
E-43.14	E8	0.347	0.347	722.969
E-51.03	E6	0.344	0.344	714.321
E-52.04	E4	0.320	0.320	645.143
E-52.07	E9	0.252	0.252	449.139
F-41.08	F1	0.484	0.484	1117.859
F-41.09	F8	0.285	0.286	547.141
F-41.24	F6	0.242	0.242	423.198
F-42.12	F2	0.606	0.606	1472.396
F-42.20	F10	0.213	0.213	336.725
F-42.27	F9	0.413	0.413	913.208
F-43.04	F5	0.351	0.351	734.498
F-43.27	F3	0.570	0.570	1365.747
F-51.02	F7	0.607	0.607	1475.279
F-52.06	F4	0.334	0.334	688.380
G-41.07	G3	0.380	0.380	918.088
G-41.11	G8	0.384	0.384	832.500
G-41.13	G1	0.466	0.466	1066.856
G-41.21	G4	0.342	0.342	711.439
G-41.26	G6	0.278	0.278	526.965
G-42.15	G2	0.382	0.382	826.736
G-42.22	G9	0.366	0.366	786.382



MPM 5 build 2.8.9

Page 3


. 11/21/2017 16:02 PM

G-43.07	G10	0.430	0.430	962.209
G-43.12	G5	0.386	0.386	838.265
G-51.05	G7	0.292	0.292	567.318
H-41.09	H4	0.352	0.352	737.381
H-41.14	H3	0.474	0.474	1091.918
H-41.16	H6	0.552	0.552	1316.746
H-41.20	H8	0.392	0.392	855.560
H-41.24	H2	0.444	0.444	1002.563
H-42.02	H1	0.382	0.382	826.796
H-42.08	H10	0.436	0.436	965.268
H-43.14	H5	0.434	0.434	973.739
H-43.21	H9	0.413	0.413	913.206
H-52.01	H7	0.464	0.464	1053.093



LAMPIRAN 5**Dokumentasi Penelitian****1. Pengambilan sampel saliva di SD Qommarudin Gresik (Oktober-
November 2017)**


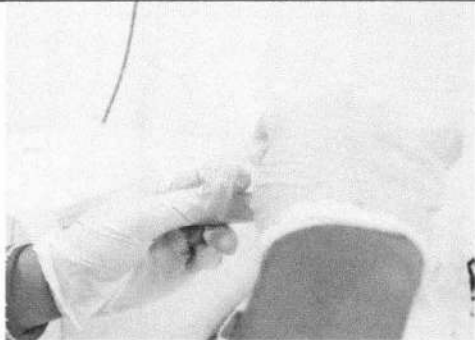
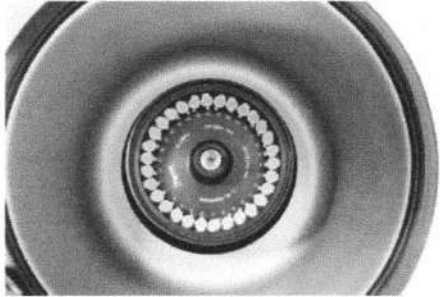

No.	Jam Kegiatan	Deskripsi Kegiatan	Foto Kegiatan
1.	09.00	Pengambilan sampel saliva dari anak yang telah di <i>screening</i> kondisi tubuh secara umum dan kondisi rongga mulut	
2.	10.00-12.00	Pengisian kuisisioner dan pengukuran berat badan, tinggi badan, lingkar kepala dan lingkar pinggang	



			
--	--	--	---

3.	10.20-11.00	Pemeriksaan kesehatan rongga mulut dengan kriteria inklusi dan diambil saliva.	
----	-------------	--	--

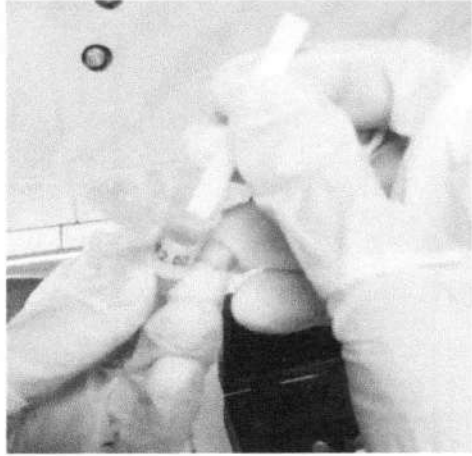
2. Persiapan sampel saliva (Senin, 20 November 2017)


No.	Jam Kegiatan	Deskripsi Kegiatan	Foto Kegiatan
1.		Sampel saliva yang telah terkumpul disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu -30°C hingga waktu pengujian sampel	
2.	10.00-10.20	Sampel saliva yang akan digunakan, dipindahkan dari lemari pendingin dengan suhu -30°C ke lemari pendingin dengan suhu 4°C kurang lebih selama 20 menit	
3.	10.20-11.00	Sampel saliva selanjutnya ditawing dengan menggunakan kedua telapak tangan hingga konsistensi kembali menjadi cair	

			
4.	11.00-11.10	Sampel dipindahkan ke dalam tabung eppendorf (1,5 ml)	
5.	11.10-11.20	Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 2400g selama 10 menit dalam suhu -4 °C	 
6.	11.20-11.45	Supernatan yang terbentuk kemudian dipindahkan ke dalam tabung eppendorf baru dengan menggunakan mikropipet	

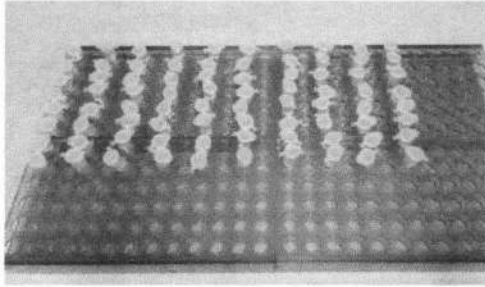

			
7.		Sampel disimpan kembali dalam lemari pendingin dengan suhu -30 °C hingga akan dilakukan pengujian ELISA	


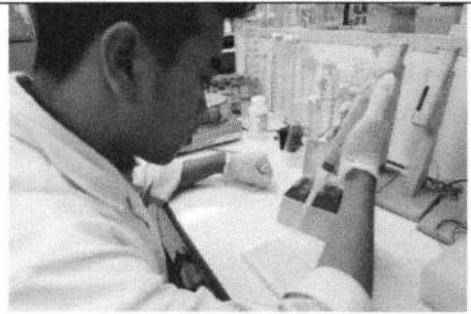

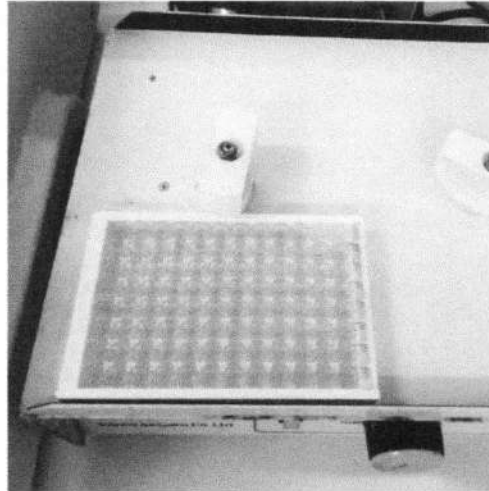
3. Pengukuran pH saliva (Senin, 20 November 2017)

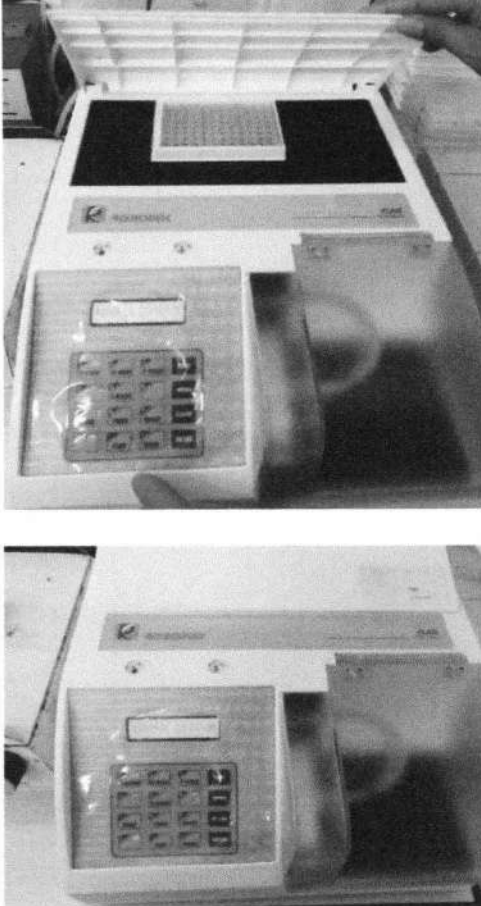
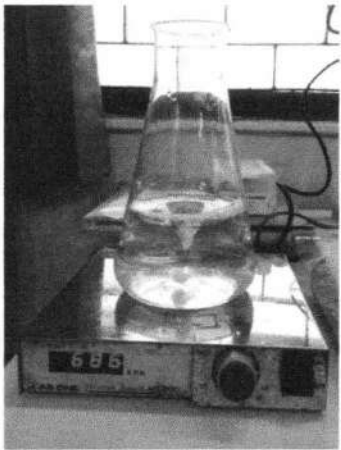
No.	Jam Kegiatan	Deskripsi Kegiatan	Foto Kegiatan
1.	11.45 – 12.00	Sampel saliva pada suhu ruang diukur pH nya dengan pH <i>strip</i> dan indikator pH.	

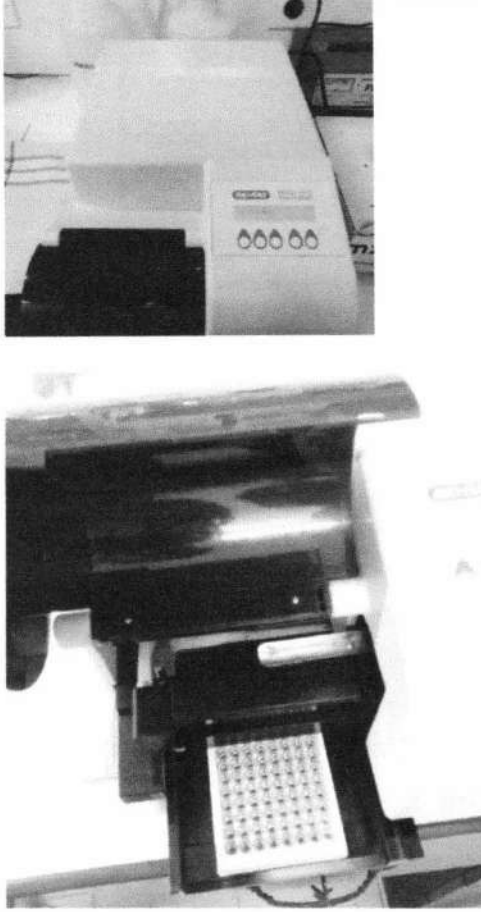

			
--	--	--	--




4. Prosedur ELISA (Selasa-Kamis, 21-23 November 2017)

No.	Jam Kegiatan	Deskripsi Kegiatan	Foto Kegiatan
1.	13.00-13.30	Sampel saliva yang akan digunakan dikeluarkan dari lemari pendingin kurang lebih 30 menit hingga mencapai suhu ruang	
2.	13.00-13.30	ELISA kit yang akan digunakan dikeluarkan dari lemari pendingin kurang lebih 30 menit hingga seluruh reagen bersuhu ruang	
3.	13.30-13.40	Dilakukan <i>fortex</i> pada sampel agar sampel homogen	

			
4.	13.40-13.50	Supernatan sampel saliva sebanyak 40 μ l dimasukan dalam <i>well</i> , ditambah 10 μ l <i>anti-DEFB1/HBD1 antibody</i> , kemudian ditambah 50 μ l <i>streptavidin-HRP</i>	
5.	13.50-13.55	Supernatan sampel dan reagen dalam plate dicampur menggunakan <i>micromixer</i>	 

6.	13.55-14.55	Plate ditutup dengan <i>sealer</i> dan diinkubasi dalam ruang gelap dengan suhu 37°C selama 60 menit	
7.	14.55-15.00	Menyiapkan <i>wash buffer</i> yang dilarutkan dengan aquades dengan perbandingan 10 ml : 290 ml, dan kemudian dimasukkan kedalam tabung <i>microplate wash</i>	

8.	15.00-15.10	<p><i>Sealer</i> dilepas dan mikroplate dimasukkan ke dalam <i>microplate wash</i>, plate dicuci sebanyak 5 kali. Setelah selesai plate dikeringkan dan diketuk-ketuk ringan hingga benar-benar kering</p>	
9.	15.10-15.20	<p>Sebanyak 50μl <i>substrate solution A</i> dimasukkan ke dalam tiap <i>well</i>, kemudian ditambahkan 50μl <i>substrate solution B</i> ke dalam tiap <i>well</i>. Hindari paparan sinar secara langsung saat penambahan <i>substrate solution</i></p>	

10.	15.20-15.30	Plate ditutup dengan <i>sealer</i> kemudian diinkubasi dalam ruang gelap dengan suhu 37°C selama 10 menit	
11.	15.30-15.40	Sebanyak 50µl <i>stop solution</i> dimasukkan ke dalam masing-masing <i>well</i> .	
12.	15.40	Pembacaan OD dan konsentrasi kadar menggunakan <i>microplate reader</i> dengan panjang gelombang 450 nm	

Catatan: Dilakukan pembacaan satu ELISA kit dalam satu hari dengan *range* waktu pengerjaan yang sama.

LAMPIRAN 6

Daftar Singkatan

Singkatan	Lengkapnya	Artinya
d	Decay	Berlubang karena karies
m	Missing	Hilang karena karies
e	Exfoliated	Hilang karena prematur
f	Filling	Penumpatan
t	Teeth	Gigi
IL-1B	Interleukin 1 beta	Produk Proinflamasi
IL-6	Interleukin 6	Produk Proinflamasi
IL-8	Interleukin 8	Produk Proinflamasi
TNF- α	Tumor Necrosis Factor Alpha	Produk Proinflamasi
H ₂ O ₂	Hidrogen Peroksida	Cairan Kental
CO ₂	Karbon Dioksida	Zat asam arang
HBD	Human Beta Defensine	Sistem kekebalan tubuh
HBD-1	Human Beta Defensine 1	Sistem kekebalan tubuh
α -defensin	Alpha defensine	Famili defensine
β -defensin	Beta defensine	Famili defensine
θ -defensin	Teta defensine	Famili defensine
AMP	Antimicrobial Peptide	Respon imun
WHO	World Health Organization	Organisasi Kesehatan
pH	Potensial Hidrogen	Derajat Keasaman
PRRs	Pattern Recognition Reception	Reseptor patorgen
TLRs	Toll Like Receptors	Reseptor Patogen
		Bakteri endotoksin
LPS	Lipopolisakarida	Cairan Crevicular
GCF	Ginggiva Crevicular Fluid	Ginggiva
CCR6	Chemokine Receptor	Reseptor Kemokin