

**HUBUNGAN ANTARA *BODY MASS INDEX* (BMI)
DENGAN SEKRESI HBD-3 SALIVA
PADA ANAK BERKARIES DAN BEBAS KARIES**

SKRIPSI



Oleh:

DIEN NISA AULIA

NIM: 021411131077

KG 246 /
Aul /17
h

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2017**

LEMBAR PENGESAHAN

**HUBUNGAN ANTARA *BODY MASS INDEX* (BMI)
DENGAN SEKRESI HBD-3 SALIVA
PADA ANAK BERKARIES DAN BEBAS KARIES**

SKRIPSI

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

Oleh:

DIEN NISA AULIA

NIM: 021411131077

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta



Dr. Retno Indrawati, drg., M.Si

NIP. 195911121987012001



Dr. Muhammad Luthfi, drg., M.Kes

NIP. 196703061996011001

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2017



PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

Skripsi ini telah diuji pada 8 Desember 2017

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

- 1. Dr. Anis Irmawati, drg., M.Kes (Ketua Penguji)**
- 2. Dr. Retno Indrawati, drg., M.Si (Pembimbing Utama/Anggota Penguji)**
- 3. Dr. Muhammad Luthfi, drg., M.Kes (Pembimbing Serta/Anggota Penguji)**
- 4. Prof. Dr. Jenny Sunariani, drg., MS (Anggota Penguji)**
- 5. Dr. Pratiwi Soesilawati, drg., M.Kes (Anggota Penguji)**

SURAT PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Dien Nisa Aulia
NIM : 021411131077
Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi
Fakultas : Kedokteran Gigi
Jenjang : Sarjana (S1)



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

HUBUNGAN ANTARA *BODY MASS INDEX* (BMI) DENGAN
SEKRESI HBD-3 SALIVA
PADA ANAK BERKARIES DAN BEBAS KARIES

Apabila pada suatu saat nanti terbukti melakukan tindak plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 15 Desember 2017



Dien Nisa Aulia
021411131077

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji dan syukur kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir berbentuk skripsi ini sesuai dengan waktu yang telah direncanakan. Skripsi ini berjudul “Hubungan Antara *Body Mass Index* (BMI) dengan Sekresi HBD-3 Saliva Pada Anak Berkaries dan Bebas Karies”.

Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. R. Darmawan Setijanto, drg., M. Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Dr. Muhammad Luthfi, drg., M.Kes. selaku Kepala Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
3. Dr. Retno Indrawati, drg., M.Si. selaku dosen pembimbing utama yang telah menghibahkan penelitian kepada penulis, mencurahkan perhatian serta dorongan yang tiada henti kepada penulis hingga selesainya skripsi ini.
4. Dr. Muhammad Luthfi, drg., M.Kes selaku dosen pembimbing serta yang telah memberikan bimbingan, masukan berupa saran dan kritik, serta motivasi selama pembuatan skripsi.
5. Seluruh dosen dan sekretaris departemen Biologi Oral yang memberikan arahan, bantuan serta solusi dalam penulisan skripsi ini.
6. Ayah (Drs. H. Achmad Rofi'i), Ibu (Sumarni), Kakak (Mardiah Rahma Umami, S.Pi, M.Si), Adik (Ilmi Shofi Azmi) tersayang yang selalu memberikan doa dan motivasi untuk menyelesaikan skripsi.

7. Semua pihak yang telah membantu selama melakukan penelitian:
Prof. Dr. Seno Pradopo, drg., SU.Ph.D., Sp.KGA(K); Joseph Leonardo, drg; Afin Aslihatul Ummah, drg ; Tamima; drg. Mawar dan anggota Puskestren Qommarudin Gresik; Pak Yudi; dan laboran *Research Center* FKG UNAIR (Mas Eta, Mas Rahman, Mas Bram, Mbak Sary).
8. Teman-teman terbaik penulis Dewa, *BISMILLAH* (Yanti, Nay, Ninis, Vitra, Zhafira, Qonita, Windy), *10mm* (Nifa, Dyah, Made, Siska, Fania, Rizka, Nihal, Urfa, Nimas), dan *Seradokk* (Ade, Tyas, Amalia, Renanda, Galuh).
9. Teman-teman skripsi departemen Biologi Oral, Cingulum 2014, semua adik kelas yang penulis sayangi, dan seluruh teman yang senantiasa membantu penulis dalam menyelesaikan berbagai kendala yang dihadapi.

Surabaya, Desember 2017

Penulis

THE RELATION BETWEEN BODY MASS INDEX (BMI) WITH SALIVARY HBD-3 SECRETION IN CHILDREN WITH CARIES AND CARIES-FREE

ABSTRAK

Background: Mukosal epithelium of oral cavity and salivary defense triggers production of proinflammatory cytokines (IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-8) and activate innate immune system. Human beta defensin (HBD) has a broad spectrum antimicrobial properties and its more effective in opportunistic bacterial pathogens. Immune system is affected by Body Mass Index (BMI), such as nutritional and physical condition. BMI score represent the condition of adipose tissue and blood vessel structures impact the number of immune cells and cytokines production, affect to innate immune system and HBD-3 levels secretion. **Purpose:** The aim of this study was to prove the relation HBD-3 levels and BMI, also difference levels of HBD-3 saliva in caries and caries-free children in two BMI groups. **Methods:** This study was passed the ethical test in Faculty Of Dentistry Airlangga University. Saliva was collected without stimulation using passive droll technique (5 ml) from elementary school students (9-10 y.o) in Pondok Pesantren Qommarudin, Gresik. Based on body weigh (kg) and body height (m) student devided into four groups: 1) caries-free BMI ≤ 15 kg/m² (n=14); 2) caries-free BMI ≥ 16 kg/m² (n=14); 3) caries DMF ≥ 3 BMI ≤ 15 kg/m² (n=17); 4) caries DMF ≥ 3 BMI ≥ 16 kg/m² (n=17). Hbd-3 levels tested by Bioassay Technology Laboratory ELISA kit. **Result:** There was a relation between BMI and HBD-3 levels in the caries group ($p < 0.05$, $p = 0.009$) with medium level of association. HBD-3 levels in the cariess group showed significant differences ($p < 0.05$, $p = 0.007$), but no significant differences in the caries-free group ($p > 0.05$, $p = 0.189$). **Conclusion:** Levels of HBD-3 secretion in caries children are influenced by individual BMI conditions.

Keywords: Innate immune system, proinflammatory cytokines, saliva defense, adiposa tissue



HUBUNGAN ANTARA *BODY MASS INDEX* (BMI) DENGAN SEKRESI HBD-3 SALIVA PADA ANAK BERKARIES DAN BEBAS KARIES

ABSTRAK

Latar belakang: Epitel mukosa rongga mulut dan pertahanan saliva memicu diproduksinya sitokin proinflamasi (IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-8) dan mengaktifkan sistem *innate immune*. *Human beta defensin* memiliki sifat antimikroba dengan spektrum luas dan bekerja lebih efektif pada bakteri *opportunistik pathogen*. Sistem imun dipengaruhi oleh *Body Mass Index* (BMI), seperti kondisi fisik dan nutrisi. Skor BMI menggambarkan kondisi jaringan adiposa dan struktur pembuluh darah yang berakibat pada jumlah sel imun dan produksi sitokin yang berpengaruh terhadap sistem imun dan sekresi HBD-3. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan keterkaitan kadar HBD-3 dengan BMI, juga perbedaan kadar sekresi HBD-3 pada anak berkaries dan bebas karies dalam dua kelompok BMI. **Metode:** Penelitian telah melalui uji layak etik di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Saliva diambil tanpa stimulasi dengan teknik *passive droll* (5ml) dari siswa sekolah dasar (9-10 tahun) di Pondok Pesantren Qommarudin, Gresik. Berdasarkan berat badan (kg) dan tinggi badan (m) siswa dikelompokkan menjadi empat group: 1) bebas karies BMI ≤ 15 kg/m² (n=14); 2) bebas karies BMI ≥ 16 kg/m² (n=14); 3) berkaries DMF ≥ 3 BMI ≤ 15 kg/m² (n=17); 4) berkaries DMF ≥ 3 BMI ≥ 16 kg/m² (n=17). Kadar HBD-3 diuji dengan *Bioassay Technology Laboratory ELISA kit*. **Hasil:** Terdapat hubungan antara BMI dengan kadar HBD-3 pada kelompok berkaries ($p < 0.05$, $p = 0.009$) dengan tingkat hubungan sedang. Kadar HBD-3 pada kelompok berkaries menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$, $p = 0.007$), namun tidak ada perbedaan yang signifikan pada kelompok bebas karies ($p > 0.05$, $p = 0.189$). **Kesimpulan:** Kadar sekresi HBD-3 pada anak berkaries dipengaruhi oleh kondisi BMI individu.

Kata kunci: Sistem *innate immune*, sitokin proinflamasi, pertahanan saliva, jaringan adiposa



DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DALAM.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI.....	iii
SURAT PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS	iv
UCAPAN TERIMAKASIH.....	v
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 <i>Body Mass Index</i> (BMI).....	6
2.2 Karies Gigi.....	8
2.2.1 Prevalensi Karies Gigi.....	8

2.2.2 Etiologi Karies Gigi	8
2.2.3 Induksi Sitokin Proinflamasi Karies.....	11
2.3 Hubungan BMI dan Karies Gigi	12
2.4 Saliva.....	13
2.4.1 Saliva sebagai cairan diagnostik.....	13
2.4.2 Peran Saliva dalam Proteksi Karies.....	14
2.5 Senyawa <i>Antimicrobial Pemptides</i> (AMP)	16
2.5.1 Target AMP pada Membran Mikroba.....	17
2.6 Defensin.....	18
2.6.1 Alfa Defensin	19
2.6.2 Beta Defensin	20
2.7 Hubungan BMI dengan Sistem Imun.....	22
2.8 Teori ELISA	22
BAB 3.KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	25
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	25
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian.....	26
3.3 Hipotesis Penelitian.....	27
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	28
4.1 Jenis Penelitian.....	28
4.2 Sampel.....	28
4.2.1 Kriteria Sampel.....	28
4.2.2 Besar Sampel.....	29
4.3 Variabel Penelitian	30
4.3.1 Variabel Bebas	30

4.3.2	Variabel Terikat.....	30
4.3.3	Variabel Terkendali.....	30
4.4	Definisi Operasional.....	30
4.5	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	31
4.6	Bahan dan Alat Penelitian	31
4.6.1	Bahan Penelitian.....	31
4.6.2	Alat Penelitian	31
4.7	Langkah Kerja.....	32
4.7.1	Pengumpulan Data Sampel	32
4.7.2	Pengambilan Saliva	32
4.7.3	Kadar HBD-3 dalam Saliva dengan Metode Elisa.....	33
4.7.3.1	Persiapan Sampel	33
4.7.3.2	Langkah Kerja <i>Sandwich</i> ELISA	33
4.8	Analisis Hasil Penelitian	35
4.9	Alur Penelitian.....	35
	BAB 5. HASIL PENELITIAN	36
5.1	Data Penelitian	36
5.2	Analisa Data.....	37
	BAB 6. PEMBAHASAN	40
	BAB 7. PENUTUP.....	47
7.1	Kesimpulan	47
7.2	Saran	47
	DAFTAR PUSTAKA	48
	LAMPIRAN.....	55

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 AMP yang sering terdapat dalam rongga mulut	17
Tabel 5.1 Rerata dan simpangan baku kadar HBD-3.....	36
Tabel 5.2 Rerata dan simpangan baku skor BMI dan kadar HBD-3 untuk kelompok bebas karies dan berkaries.....	37
Table 5.3 Hasil uji normalitas data penelitian.....	37
Tabel 5.4 Hasil signifikansi uji t sampel independen	38
Tabel 5.5 Hasil uji normalitas skor BMI dan kadar HBD-3 kelompok bebas karies dan berkaries.....	39
Tabel 5.6 Hasil signifikansi dan koefisien korelasi uji <i>Spearman's</i> skor BMI dengan kadar HBD-3	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kelompok skor BMI anak laki-laki dan perempuan.....	6
Gambar 2.2 Faktor utama penyebab karies.....	10
Gambar 2.3 Keseimbangan demineralisasi dan remineralisasi.....	10
Gambar 2.4 Ilustrasi AMP saat membunuh mikroorganisme.....	18
Gambar 2.5 Mekanisme kerja <i>Human beta defensin</i>	21
Gambar 2.6 Prinsip <i>direct sandwich</i> ELISA.....	24
Gambar 3.1 Kerangka konseptual Penelitian	25
Gambar 4.1 Alur penelitian.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Penelitian.....	55
Lampiran 2 Hasil penghitungan statistik.....	58
Lampiran 3 Sertifikat uji laik etik	62
Lampiran 4 Kuesioner pengambilan sampel.....	63
Lampiran 5 Foto penelitian	69





BAB 1
PENDAHULUAN

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Body Mass Index (BMI) merupakan metode sederhana yang secara umum digunakan untuk mengelompokkan individu ke dalam kategori berat badan kurang, normal, kelebihan berat badan, serta obesitas. Penghitungan BMI dilakukan dengan cara membagi berat badan dalam kilogram dengan tinggi badan kuadrat dalam meter. Hasil dari pengukuran BMI adalah berupa skor. Beberapa referensi mengatakan bahwa validitas skor BMI berhubungan dengan ras, usia dan jenis kelamin. *Body Mass Index* juga dapat berperan sebagai indikator untuk memprediksi suatu kejadian penyakit dan kematian dari suatu individu (Dagan *et al.*, 2013). Karies gigi merupakan salah satu kejadian penyakit yang berhubungan dengan BMI (Khaled *et al.*, 2016).

Menurut data *World Health Organization* (WHO), terdapat 60-90% anak usia sekolah dan hampir 100% orang dewasa mengalami gigi berlubang (WHO, 2012). Di Indonesia karies gigi masih menjadi permasalahan nasional dewasa ini. Menurut Lembaga Nasional Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013 dari Departemen Kesehatan Indonesia, dalam Kusumaningsih *et.al* (2015) sebanyak 75% anak-anak di Jawa Timur didiagnosis menderita karies gigi. Karies gigi merupakan sebuah proses dalam rongga mulut yang melibatkan berkembangnya dental plak pada permukaan gigi secara tidak terkendali dalam kurun waktu yang

cukup lama. Proses yang terjadi merubah plak menjadi asam ($\text{pH} \leq 5$). Perubahan pH yang terjadi menyebabkan terjadinya demineralisasi pada permukaan gigi, selanjutnya proses tersebut akan dinetralkan oleh saliva untuk meningkatkan pH kembali atau disebut remineralisasi. Apabila proses demineralisasi terjadi secara berlebihan tanpa diikuti proses remineralisasi yang seimbang maka lesi karies akan muncul dan mulai terlihat (Kidd, 2005). Etiologi dari karies gigi bersifat multifaktorial. Ada 3 faktor yang menjadi penyebab utama karies gigi, diet berupa karbohidrat (terutama golongan sukrosa), infeksi bakteri *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), dan respon dari *host* (*innate immune* atau imunitas bawaan) (Tao *et al.*, 2005).

Saliva menjadi salah satu sistem pertahanan yang memiliki peran penting dalam menjaga kondisi rongga mulut dan mencegah karies. Pertahanan ini antara lain *self clearance* mekanik secara sederhana, aktifitas buffer, *Ca phosphate binding protein*, *immune surveillance* dan sekresi peptida antimikroba atau *Anti Microbial Peptides* (AMP) (Tao *et al.*, 2005). Peptida ini merupakan antimikroba alami yang dapat ditemukan dalam saliva, epitel dan netrofil. Pada rongga mulut memberikan pertahanan pertama terhadap spektrum patogen yang luas (Dale *et al.* 2006).

Defensin merupakan peptida antimikroba dan berperan penting dalam sistem *innate immune*. *Innate immune* akan melawan kolonisasi bakteri sebagai pertahanan *host* terhadap karies, infeksi virus maupun infeksi jamur, serta berperan melawan penyakit periodontal (Tribble and Richard, 2010). Pada manusia telah diidentifikasi tiga subfamili dari defensin, dibedakan secara struktural: α -defensin, β -defensin, θ -defensin (Ebrahim, 2013). Beberapa

penelitian menunjukkan bahwa jenis defensin α dan β terdapat dalam rongga mulut. *Human alfa defensin* banyak terdapat pada cairan krevikular gingiva, contohnya HNP (*Human Neutrophil Peptide*) 1-4, HD (*Human Defensin*) 5-6 dan NP (*Neutrophil Peptide*) 1 dan 5 (Zuzanna, 2013). *Human beta defensin* (HBD) terdapat dalam saliva berfungsi sebagai *salivary defense*, berperan dalam menjaga kondisi kesehatan rongga mulut dan mencegah karies. *Human beta defensin* memiliki tiga subfamili yakni HBD-1, -2 dan -3. *Human beta defensin* memiliki dua peran yang berbeda, HBD-1 terekspresi secara konstitutif berperan dalam menghambat flora normal menjadi flora oportunistik, sedangkan HBD-2, -3 merupakan biomarker respon terhadap lipopolisakarida (LPS) bakteri, peptidoglikan dan *leptoteichoic acid* bakteri, mediator proinflamasi, serta interferon. Mekanisme kerja yang dimiliki efektif terhadap hampir semua patogen (Abiko *et al.*, 2007; Winter and Matthias, 2012). Ketidakseimbangan kondisi rongga mulut dapat terjadi karena adanya gangguan faktor lokal atau karena penurunan imunitas sistemik. Meskipun telah diketahui karies dipengaruhi oleh faktor makanan dan merupakan penyakit infeksi bakteri, kerentanan karies mungkin juga dipengaruhi oleh faktor AMP dari *host* (Tao *et al.*, 2005).

Penelitian yang dilakukan Tau *et al.* (2005) menunjukkan bahwa terdapat ekspresi peptida antimikroba pada saliva anak yang menderita karies gigi. Penelitian lain menyatakan bahwa HBD-2 efektif dalam melawan mikroba aerob dan anaerob, bakteri gram negatif dan gram positif, serta jamur *Candida albicans*. Pada penelitian ini akan dilakukan pengukuran kadar sekresi HBD-3 saliva pada sampel saliva anak bebas karies dan berkaries dalam dua kelompok skor BMI yang berbeda.

Jumlah nutrisi seimbang dan memadai erat kaitannya dengan kebutuhan tubuh, termasuk kebutuhan respon imun (Parmar *et al.*, 2016). *Body Mass Index* sering dikaitkan dengan nutrisi atau diet yang dikonsumsi. Kualitas dari nutrisi yang dikonsumsi dapat dilihat dari pengetahuan individu mengenai kebutuhan nutrisi. Pengetahuan nutrisi, kebiasaan, dan pola hidup saling mempengaruhi variasi dari skor BMI (Brien, 2007). Kondisi BMI individu mempengaruhi jumlah dan struktur jaringan adiposa tubuh. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa BMI berkaitan erat dengan jumlah sel leukosit, monosit, total neutrofil dan memodulasi parameter sistem imun (Osama, 2015). Lalita *et al.* (2004) menyatakan jaringan adiposa memproduksi banyak sitokin proinflamasi termasuk TNF- α , IL-1 β , IL-6, dan IL-8 pada individu dengan skor BMI tinggi. Selanjutnya sitokin proinflamasi ini akan mempengaruhi kerja dari sistem imun dan merangsang sel-sel *innate immune* untuk memproduksi peptida antimikroba, termasuk HBD-3 saliva.

Pengamatan kondisi respon *innate immune* dalam rongga mulut pada keadaan berkaries gigi dapat dilakukan dengan melihat kadar defensin dalam saliva karena kadar sekresi dipengaruhi kondisi rongga mulut dan invasi mikroba. Sifat sebagai cairan diagnostik yang dimiliki saliva dapat dimanfaatkan sebagai biomarker untuk mengetahui kondisi fisiologi tubuh karena saliva mengandung material genetik dan molekul protein. Penggunaan sampel saliva juga lebih mudah karena sifatnya yang non-invasif, pengambilan spesimen yang mudah tanpa penusukan jarum dan dapat dilakukan berulang, sehingga mudah diaplikasikan pada anak-anak dan pasien yang kurang kooperatif (Javaid *et al.*, 2013).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat hubungan BMI dan perbedaan kadar sekresi HBD-3 saliva pada kelompok BMI ≤ 15 kg/m² dan BMI ≥ 16 kg/m² berkaries dan bebas karies.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis hubungan BMI dengan kadar sekresi HBD-3 saliva pada pasien karies dan bebas karies.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis kadar sekresi dan perbedaan kadar sekresi HBD-3 saliva pada anak bebas karies dengan BMI ≤ 15 kg/m² dan BMI ≥ 16 kg/m².
2. Menganalisis kadar sekresi dan perbedaan kadar sekresi HBD-3 saliva pada anak berkaries dengan BMI ≤ 15 kg/m² dan BMI ≥ 16 kg/m².
3. Menganalisis hubungan kondisi BMI dengan kadar sekresi HBD-3 saliva.

1.4 Manfaat Penelitian

- Hasil penelitian secara teoritis diharapkan mampu memberikan informasi dan pengetahuan mengenai hubungan BMI dengan kadar sekresi HBD-3 saliva.
- Hasil penelitian diharapkan mampu dikembangkan secara praktis untuk pengamatan kondisi *innate immune* dalam rongga mulut.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

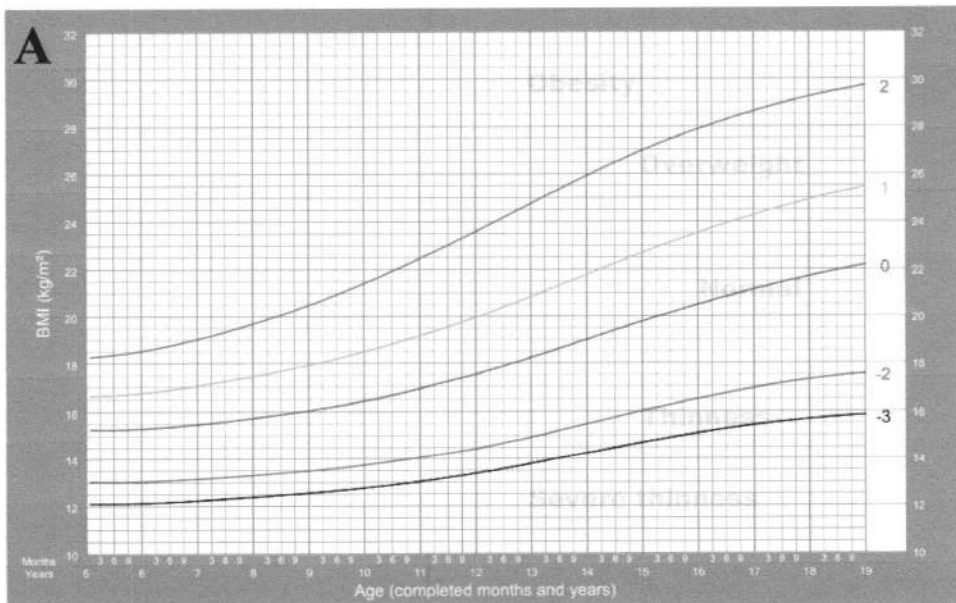


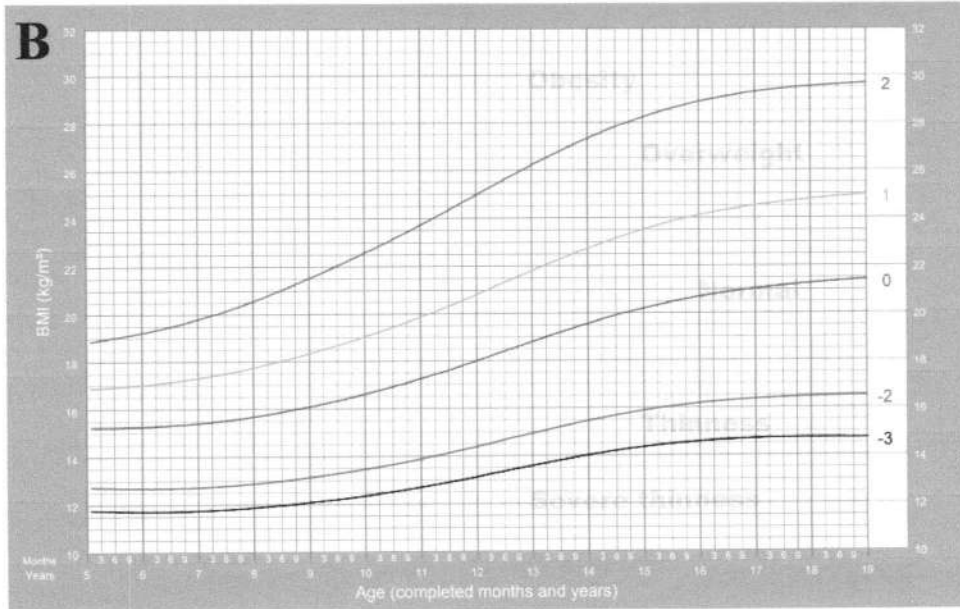
2.1 *Body Mass Index* (BMI)

Body Mass Index (BMI) merupakan perhitungan yang digunakan untuk mendefinisikan karakter antropometri berdasarkan berat badan (BB) dan tinggi badan (TB) dalam beberapa kelompok. Secara luas BMI dapat digunakan sebagai faktor resiko prevalensi beberapa masalah kesehatan dan menentukan tingkat kesehatan masyarakat. Pada tahun 1995, WHO menetapkan BMI menjadi empat kelompok: berat dibawah normal, normal, berat diatas normal, dan obesitas (Frank, 2015).

Body Mass Index dapat pula menentukan status gizi individu, perhitungan BMI menggunakan rumus (Depkes, 2013):

$$BMI = \frac{BB \text{ (kg)}}{TB^2 \text{ (m)}}$$





Gambar 2.1 (A) Kelompok skor BMI untuk anak laki-laki usia 5-19 tahun, (B) Kelompok skor BMI untuk anak perempuan usia 5-19 tahun (WHO, 2007)

Gizi atau nutrisi yang dikonsumsi dapat mempengaruhi skor BMI individu, sehingga diet sering dikaitkan dengan BMI. Pengetahuan mengenai nutrisi penting untuk menentukan diet yang akan dikonsumsi, selain itu kebiasaan dan pola hidup juga dapat mempengaruhi kondisi BMI. Pada beberapa penelitian yang telah dilakukan, terlihat perbedaan BMI yang cukup besar dan signifikan antara kelompok yang mengonsumsi daging dan kelompok yang mengonsumsi sayuran. Sehingga, konsumsi diet berprotein (asupan energi) dan diet berserat dinilai sebagai faktor penting dalam penentu BMI (Spencer *et al.*, 2003; Brien, 2007).

Pada laki-laki dan perempuan dewasa memiliki skor yang berbeda untuk kriteria kelompok BMI, sehingga jenis kelamin merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi BMI (Bruce *et al.*, 2007). Menurut WHO 2007, pada anak-anak yakni usia 5 sampai 17 tahun tidak ada perbedaan skor untuk kriteria kelompok

BMI baik laki-laki maupun perempuan. Secara sosiodemografis BMI juga dapat dipengaruhi oleh status ekonomi dan ras. Status ekonomi menengah ke atas biasanya memiliki tingkat kesehatan dan taraf hidup yang baik, serta pemenuhan nutrisi yang cukup. Pada usia anak-anak hubungan antara status ekonomi dan BMI hampir tidak terlihat, namun akan terlihat pada usia dewasa. Sedangkan secara kelompok ras, ras kulit hitam biasanya menunjukkan skor BMI yang lebih tinggi dibandingkan dengan ras lain (Hanson and Edith, 2007; Jessica *et al.*, 2016).

2.2 Karies Gigi

2.2.1 Prevalensi Karies Gigi

Karies gigi atau gigi berlubang merupakan penyakit gigi dan mulut yang paling banyak terjadi di semua lapisan masyarakat. Prevalensi kejadian karies gigi di dunia menurut data *World Health Organization* (WHO), terdapat 60-90% anak usia sekolah dan hampir 100% orang dewasa mengalami gigi berlubang (WHO, 2012). Indonesia memiliki 93.998.727 penduduk yang menderita karies aktif. 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 yakni 75% (Riskesdas, 2013). Data tersebut menunjukkan bahwa prevalensi karies gigi pada anak-anak cukup tinggi.

2.2.2 Etiologi Karies Gigi

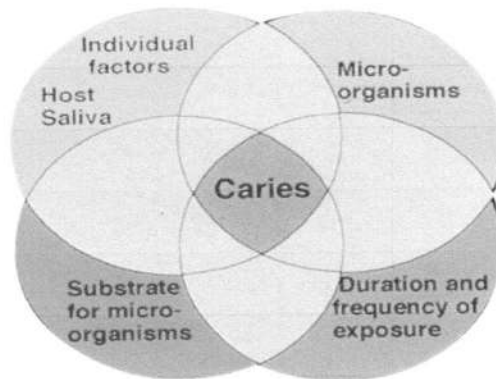
Karies gigi adalah suatu kelainan yang umum terjadi pada manusia dan menjadi masalah kesehatan masyarakat yang serius di negara berkembang.

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 pada individu (*host*) yang berbeda dapat menunjukkan tingkat keparahan karies yang berbeda. Mikroflora yang berhubungan dengan karies sebagian besar adalah gram positif dan bersifat sakarolitik, terutama bakteri yang mensekresikan asam. Kelompok bakteri *Streptococcus*, seperti *S. mutans* berperan penting dalam inisiasi dan progresivitas karies (Levine, 2011). Hasil penelitian Pannu *et al.* (2013) menunjukkan bahwa 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.

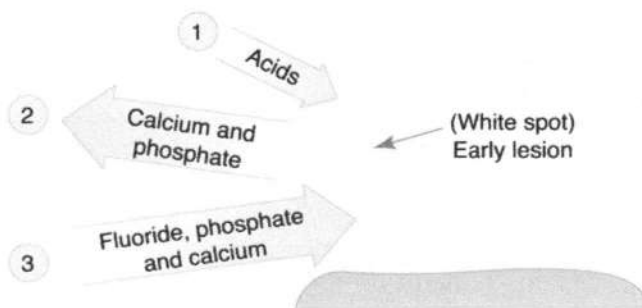
Karies gigi merupakan penyakit multifaktor, faktor utama yang memegang peran penting yaitu: *host* atau tuan rumah, agen (mikroorganisme), substrat (karbohidrat) dan waktu. Kondisi yang saling mendukung seperti *host* yang rentan, mikroorganisme yang kariogenik, substrat mencukupi dan tersedianya waktu yang lama merupakan proses untuk terbentuknya karies (Pinatuli and Hamada, 2008). Beberapa aspek seperti mikrobiologi, saliva, komposisi mineral

gigi, ultra-struktur gigi, proses difusi, dan keseimbangan proses mineralisasi turut berperan dalam terbentuknya karies (Featherstone, 2008).



Gambar 2.2 Faktor utama penyebab karies (Bird and Debbie, 2005).

Kerusakan jaringan keras yang diikuti kerusakan zat organik dapat mengakibatkan invasi bakteri lebih jauh ke dalam gigi, yaitu lapisan dentin serta dapat mencapai pulpa (Kumala, 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 menetralsir sehingga terjadi karies.



Gambar 2.3 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).

2.2.3 Induksi Sitokin Proinflamasi Karies

Streptococcus mutans merupakan 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 dan berperan mengendalikan respon 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 membran sel *S. mutans* (Eslami *et al.*, 2016; Horst *et al.*, 2011).

Kolonisasi bakteri rongga mulut yang berlebihan, 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 tetap menjaga keseimbangan antara pro- dan anti-inflamasi sehingga tercipta lingkungan yang

mendukung perbaikan jaringan (Horst *et al.*, 2011). Pada penelitian Gornowicz *et al.* (2012) menyatakan terdapat hubungan antara produksi *tumour necrosis faktor* α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) dan interleukin-8 (IL-8) saliva dengan karies gigi. TNF- α , IL-6 dan IL-8 pada saliva dapat bermanfaat sebagai media diagnosis dan monitoring karies gigi. Saliva berperan sebagai cairan diagnostik non-invasive maupun biomarker ketika terjadi inisiasi hingga perkembangan suatu penyakit.

2.3 Hubungan BMI dan Karies Gigi

Peran penting nutrisi dalam pemeliharaan kesehatan tubuh, proses pertumbuhan dan kaitan nutrisi dengan karies gigi sudah banyak diketahui. Pemilihan nutrisi dan asupan gizi berperan dalam kesehatan gigi, efek yang sering muncul adalah kesehatan gigi yang buruk berupa karies. Diet yang kekurangan zat protein dan mikronutrien akan berdampak negatif pada pertumbuhan dan perkembangan anak. Hubungan antara karies gigi dan BMI pada anak-anak telah dievaluasi di berbagai negara dan memberikan hasil yang konsisten. Di beberapa negara maju, frekuensi konsumsi karbohidrat, *snack*, *soft drink*, dan makanan manis cukup tinggi sehingga menjadi alasan meningkatnya kegemukan dan karies gigi. Anak-anak dengan BMI di bawah normal dan anak-anak dengan kategori obesitas lebih rentan menderita karies (Merrilyn *et al.*, 2012; Edalat *et al.*, 2014).

Faktor yang mempengaruhi terjadinya *onset* lesi karies antara lain *hygiene*, komposisi dan frekuensi diet, status sosial ekonomi, imunoglobulin saliva, jumlah bakteri dan *intake* fluor. Nilai berat badan yang tinggi berkaitan dengan resiko kesehatan umum yang buruk, penurunan aktivitas fisik dan meningkatnya *intake* energi menyebabkan terjadi *overweight* dengan cepat. Sehingga karies pada BMI tinggi sering dikaitkan dengan tingkat diet yang dikonsumsi (Mojarad and Haeri,

2011). Malnutrisi juga dapat menjadi penyebab karies gigi, defisiensi protein atau *intake* energi dapat menyebabkan malnutrisi protein energi, penurunan *flow* saliva, pembentukan kalkulus, level karies yang tinggi, dan pertumbuhan yang lambat. Pada malnutrisi kronik meningkatkan kerentanan terjadinya karies pada gigi permanen, yang mungkin terjadi karena hipoplasia enamel dan hipofungsi saliva (Merrilyn *et al.*, 2012).

2.4 Saliva

2.4.1 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 saliva dikeluarkan ke rongga mulut. Pada manusia terdapat tiga kelenjar saliva utama, yaitu kelenjar parotis, kelenjar submandibularis, dan kelenjar sublingualis. Saliva merupakan cairan bersifat alkali, mengandung musin, enzim pencerna zat tepung (ptialin) dan beberapa 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. 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 (Kidd, 1991; Wong, 2008).

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-invasif (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 pengambilan spesimen cairan tubuh lain (misal, darah dan serum).

2.4.2 Peran Saliva dalam Proteksi Karies

Saliva memiliki fungsi sebagai monitoring bakteri rongga mulut. Jumlah bakteri *Streptococcus mutans* dan *Lactobacilli* dalam saliva yang meningkat dikaitkan dengan peningkatan prevalensi karies (Malathi, 2013). Pada populasi

dengan tingkat aktivitas karies tinggi ditemukan $>1 \times 10^6$ mL⁻¹ *S. mutans* dan / atau 1×10^5 mL⁻¹ *Lactobacillus*, sedangkan pada populasi dengan tingkat aktivitas karies rendah ditemukan $<1 \times 10^5$ mL⁻¹ *S. mutans* dan / atau 1×10^4 mL⁻¹ *Lactobacillus*. Struktur dan fungsi bakteri saliva telah diteliti sebagai penanda potensial prediktif untuk onset karies (Zhang *et al.* 2016). Saliva memegang beberapa fungsi yang sangat penting dalam menjaga kesehatan lingkungan rongga mulut. Penelitian proteomik menunjukkan bahwa dalam saliva mengandung sekitar 2400 senyawa spesifik untuk rentang yang luas dari penyakit. Sekitar 5% molekul dikaitkan dengan motilitas seluler, 5% dihubungkan dengan proliferasi sel, sebanyak 10% berelasi dengan jalur sinyal molekuler, sementara 20% dari protein berkaitan dengan kekebalan tubuh (Greabu, 2015).

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. Mekanisme yang meregulasi deposit kalsium saliva adalah pH, penurunan yang signifikan pada pH lokal merubah keseimbangan kimia pada permukaan gigi dan meningkatkan kelarutan hidroksiapatit (Jawed, 2012).

Pada saliva terdapat juga antibakteri alami yang mampu melawan bakteri karies seperti *Streptococcus mutans*. Antibakteri tersebut berupa *Antimicrobial*

Peptides (AMP) yang dihasilkan oleh kelenjar saliva dan disekresikan bersama saliva. Terdapat beberapa jenis AMP sesuai dengan stuktur dan komposisinya, meskipun berbeda sifat anti bakteri yang dimiliki tetap sama dan menjadi pertahanan baris pertama untuk *host* (Hans, 2014).

2.5 Senyawa *Antimicrobial Peptides* (AMP)

Imunitas bawaan memodulasi antimikroba peptida kation kecil dengan aktivitas melawan bakteri gram positif dan negatif, parasit, jamur dan virus. Sistem imun bawaan juga memperbanyak perlindungan secara fisik dan kimia, misal pada kulit dan selaput lendir memproduksi AMP (Hancock and Sahl, 2006). Peptida ini memiliki distribusi yang luas pada tubuh manusia sebagai antimikroba. Sampai saat ini sudah terdapat 106 peptida pertahanan yang telah diidentifikasi pada manusia (Wang, 2014).

Epitel rongga mulut dan saliva merupakan sistem pertahanan sentral di rongga mulut, karena tiga anggota utama dari famili AMP ditemukan pada rongga mulut. Ketiganya dibedakan menurut karakteristik biokimia dan strukturnya, antara lain: 1) α -heliks tanpa sistein (*cathelicidin*, LL37); 2) peptida dengan tiga ikatan disulfida (α - dan β -defensin); 3) peptida dengan proporsi tinggi dari asam amino tertentu, misalnya histatin (Dale *et al.*, 2006). Jumlah AMP dalam saliva bervariasi antar individu, secara khas mengepresikan respon terhadap bakteri rongga mulut yang cocok dijadikan sebagai biomarker diagnosis penyakit mulut (Güncü *et al.*, 2015). Salah satunya AMP mempengaruhi kerentanan terhadap karies serta perkembangannya.

Defensin dan *cathelicidin* memiliki spektrum antimikroba yang luas terhadap bakteri gram-negatif, gram-positif, dan *Candida albicans*, serta efektif

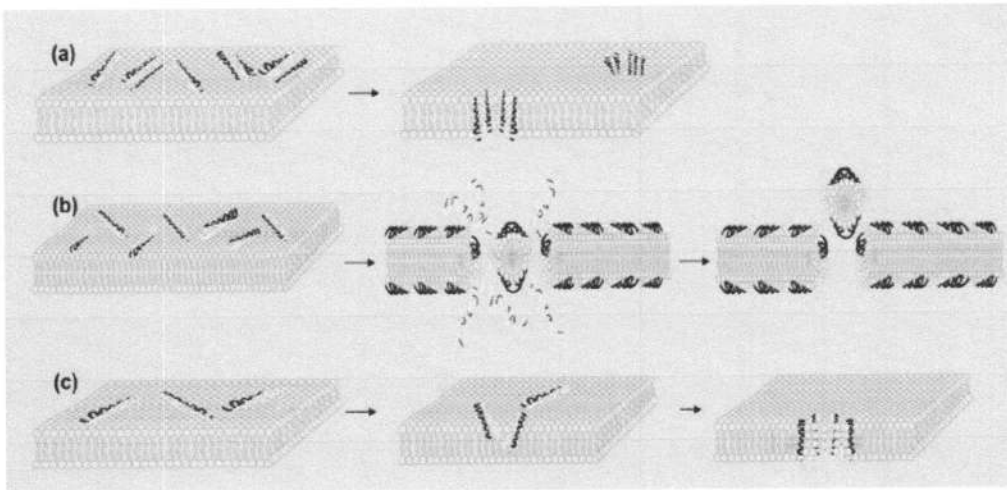
secara *in vitro* pada mikroorganisme oral, seperti *S. mutans*, *P. gingivalis*, dan *A. actinomycetemcomitans*. Kedua AMP tersebut bekerja secara sinergi dengan antimikroba lain (Tao *et al.* 2005).

Tabel 2.1 AMP 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

2.5.1 Target AMP pada Membran Mikroba

Mekanisme perlawanan AMP terhadap mikroba pada prinsipnya dihubungkan dengan terganggunya membran sel mikroba (Khurshid *et al.* 2016). Gambaran mekanisme AMP dalam membunuh mikroorganisme terdapat 3 model, yaitu *Barrel-steve model*, *carpet model*, dan *toroidal model*. Dalam *Barrel-steve model* peptida memposisikan melekat pada membran sel, menyebabkan terjadinya agregasi peptida dan perubahan pada lipid bilayer. Dengan demikian peptida hidrofobik menyelaraskan dengan lipid inti dan peptida hidrofilik membentuk lubang akses di bagian dalam membran. *Carpet model* menggambarkan pembentukan lapisan yang berkepanjangan akibat gangguan membran karena pengikatan peptida ke permukaan luar (fosfolipid) membran sel. Pada *toroidal model*, perlekatan peptida memulai agregasi dan mendesak monolayer lipid untuk membengkok terus-menerus melalui pori-pori yang terbentuk. Dengan demikian inti akan dilapisi oleh peptida yang masuk ke dalam sel (Bocchinfuso *et al.*, 2009).



Gambar 2.4 Ilustrasi AMP saat membunuh mikroorganisme (a) Barrel-stave model, (b) *carpet model* dan (c) toroidal model (Khurshid *et al.* 2015).

HNP dan HBD menjalankan efek antibakteri dengan merubah permeabilitas membran sel bakteri (Güncü *et al.* 2015). Menurut Ganz and Weiss (1997) dalam Liu *et al.* (2001) AMP mampu menonaktifkan mikroorganisme dalam spektrum luas, utamanya dengan pembentukan lubang (pori-pori) atau dengan mengganggu permeabilitas membran sel mikroba. Aktivitas AMP dapat menyebabkan kematian mikroba dengan mekanisme lain selain memberikan gangguan pada membran sel yang diikuti lisisnya sel. Banyak bukti menunjukkan beberapa AMP mampu berinteraksi dengan interselular target dan menginduksi kerusakan sel seperti dinding sel, DNA, RNA dan proses sintesis protein (Guilhelmelli *et al.*, 2013).

2.6 Defensin

Defensin awalnya disintesis sebagai *preproteins* dan mengalami proses pematangan sehingga secara biologis menjadi peptida aktif. Defensin merupakan peptida kationik yang memiliki berat molekul 3-5 kDa terdiri oleh 20-

40 asam amino, memiliki tiga ikatan disulfida intra molekuler yang mempertahankan kestabilan struktur enam residu sistein di dalamnya. Defensin dikalsifikasikan menjadi α -, β -, θ - berdasar panjang, lokasi, posisi sistein dan lipatan rantai peptida. Defensin tereksresi secara luas pada tubuh manusia dan memiliki kemampuan membunuh semua jenis bakteri gram positif dan negatif, jamur, serta virus (Greer *et al.* 2013; Zuzanna, 2013; Khushid *et al.* 2015).

Dalam Khurshid *et al.* (2015) memaparkan bahwa lokasi gen α - dan β - defensin berdekatan dengan kromosom 8p22-p23. Defensin dalam rongga mulut dapat ditemukan pada mukosa, gingiva, epitel lidah, dan kelenjar ludah. Sintesis dan pelepasan defensin diinduksi oleh sinyal bakteri dan virus, sitokin inflamasi dan faktor pertumbuhan (Dale and Krisnaprakornkit, 2001; Winter and Matthias, 2012). Defensin meningkatkan aktivitas kemotaktik monosit dan limfosit, juga ikut serta dalam proses penyembuhan jaringan dan fibrinolisis (Kaiser and Diamond, 2000).

2.6.1 Alfa Defensin

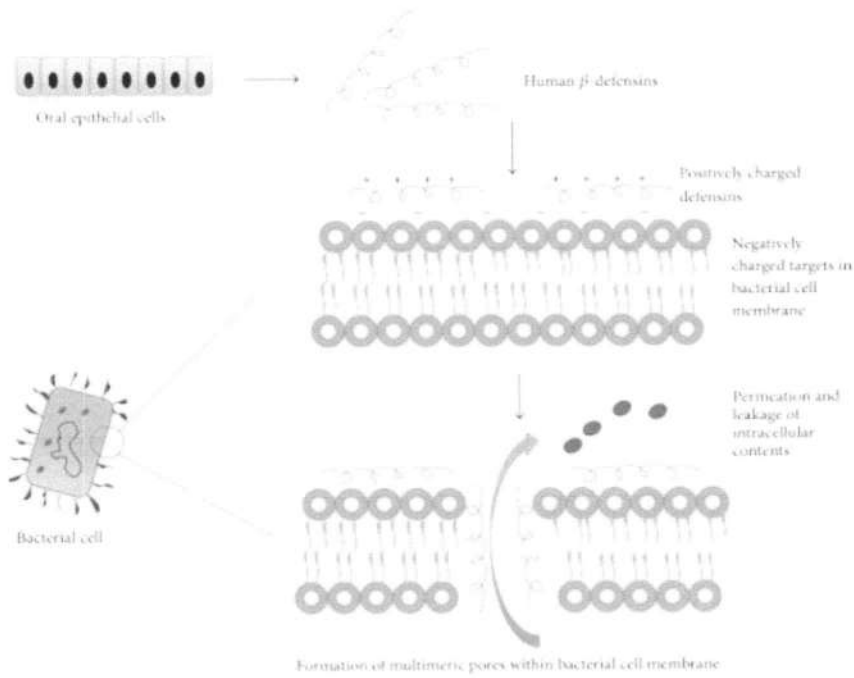
Kelompok alfa defensin terdiri dari 12 zat: HNP (*Human Neutrophil Peptide*) 1-4, HD (*Human Defensin*) 5-6, NP (*Neutrophil Peptide*) 1 dan 5, criptidin 3 dan 4, serta RMAD (*Rhesus Macaque Myeleoid α -defensin*) 3 dan 4. α -defensin paling banyak diproduksi oleh netrofil, pada rongga mulut keadaan normal α -defensin dapat ditemukan pada *junctional epithelium* dan dalam cairan krevikular (Zuzanna, 2013).

Alfa defensin adalah peptida dengan kandungan arginin tinggi, terdiri dari 29-35 asam amino dan memiliki susunan sistein C1-C6, C2-C4 dan C3-C5.

Molekul HNP-1-4 terdapat dalam granula azurofilik dari neutrofil. Kandungan defensin dalam neutrofil hampir mencapai 99% adalah molekul HNP-1-3, sedangkan HNP-4 sekitar seratus kali lipat lebih rendah. Molekul HD-5 dan HD-6 terdapat pada sel-sel *paneth* dan granulosit dalam epitel usus halus, sehingga keduanya disebut defensin *enteric* dan tidak ditemukan di rongga mulut (Ekarat, 2010).

2.6.2 Beta Defensin

HBD (*Human Beta Defensin*) memiliki kesamaan struktural tertentu dengan alfa defensin, meskipun ukuran beta defensin sedikit lebih besar. Keduanya adalah kationik di alam karena adanya residu arginin dan lisin pada strukturnya. Beta defensin berasal dari epitel yang menunjukkan sifat sebagai antimikroba dan imunomodulator. Peptida antimikroba ini telah diidentifikasi sebagai komponen *innate host defense* dan memiliki kontribusi dalam menjaga kesehatan dan pertahanan mukosa. Selain itu beta defensin juga berperan sebagai *chemoattracting* sel T, sel dendrit imatur, sel B, neutrofil dan makrofag dalam meningkatkan *adaptive immunity* (Gosh *et al.*, 2007). Beta defensin yang memiliki karakter kationik, dalam mekanisme kerjanya akan berikatan dengan kutub negatif fosfolipid dari membran mikroba dan mengakibatkan rusaknya membran (Clavellina, 2012).



Gambar 2.5 Mekanisme kerja *human beta defensin* (Clavellina, 2012).

Beta defensin diekspresikan pada berbagai epitel (kulit, urogenital, saluran pernafasan, mata, jaringan rongga mulut dan kelenjar saliva). Terdapat empat beta defensin yang telah diketahui, yakni HBD-1, HBD-2, HBD-3, HBD-4, dari keempat jenis hanya HBD-1,2,3 yang terdapat dalam rongga mulut. Human Beta Defensin-1 terekspresi secara konstitutif berperan dalam menghambat flora normal menjadi flora oportunistik, sedangkan ekspresi HBD-2,3 merupakan biomarker respon terhadap lipopolisakarida (LPS), *leptoteichoic acid* bakteri, mediator proinflamasi, interferon dan lebih efektif terhadap hampir semua patogen (Abiko *et al*, 2007; Winter and Matthias, 2012).

Ekskresi HBD-2-3 pada rongga mulut diinduksi oleh protein membran sel bakteri (LPS, *leptoteichoic acid*), mediator proinflamasi seperti IL-1 β , TNF- α , IFN- γ dan setelah berinteraksi langsung dengan bakteri atau jamur. Berbeda dengan HBD-1 yang diekspresikan secara kontitusif, dan selalu ada dalam keadaan

normal, sehingga berperan mencegah flora normal menjadi oportunistik patogen sementara HBD-2-3 lebih efektif terhadap bakteri oportunistik patogen (Sudjarwo, 2013).

2.7 Hubungan BMI dengan Sistem Imun

Skor BMI yang rendah sering terjadi di masyarakat. Kebanyakan berat badan rendah disebabkan karena ketidakseimbangan antara *intake* energi dan energi yang digunakan. Fenomena ini biasanya terlihat dengan ditandai gangguan kesehatan gigi, hilangnya nafsu makan dan pemilihan nutrisi yang buruk. Malnutrisi memiliki efek yang cukup besar pada fungsi sistem imun dan kerentanan terhadap penyakit, sehingga perbaikan gizi untuk mencapai nilai BMI normal dapat membantu mengembalikan fungsi sistem imun (Lawrence *et al.*, 2010; John *et al.*, 2011). Jaringan adiposa pada individu memproduksi banyak sitokin proinflamasi termasuk TNF- α , IL-1 β , IL-6, dan IL-8. Peningkatan kadar tanda-tanda inflamasi seperti TNF- α , IL-6 dan *C-reactive protein* (CRP) secara khas ditemukan pada individu dengan BMI tinggi. Pada penelitian yang telah dilakukan, subyek dengan BMI tinggi secara signifikan memiliki level serum TNF- α , IL-6 dan CRP lebih tinggi (Lalita *et al.*, 2004).

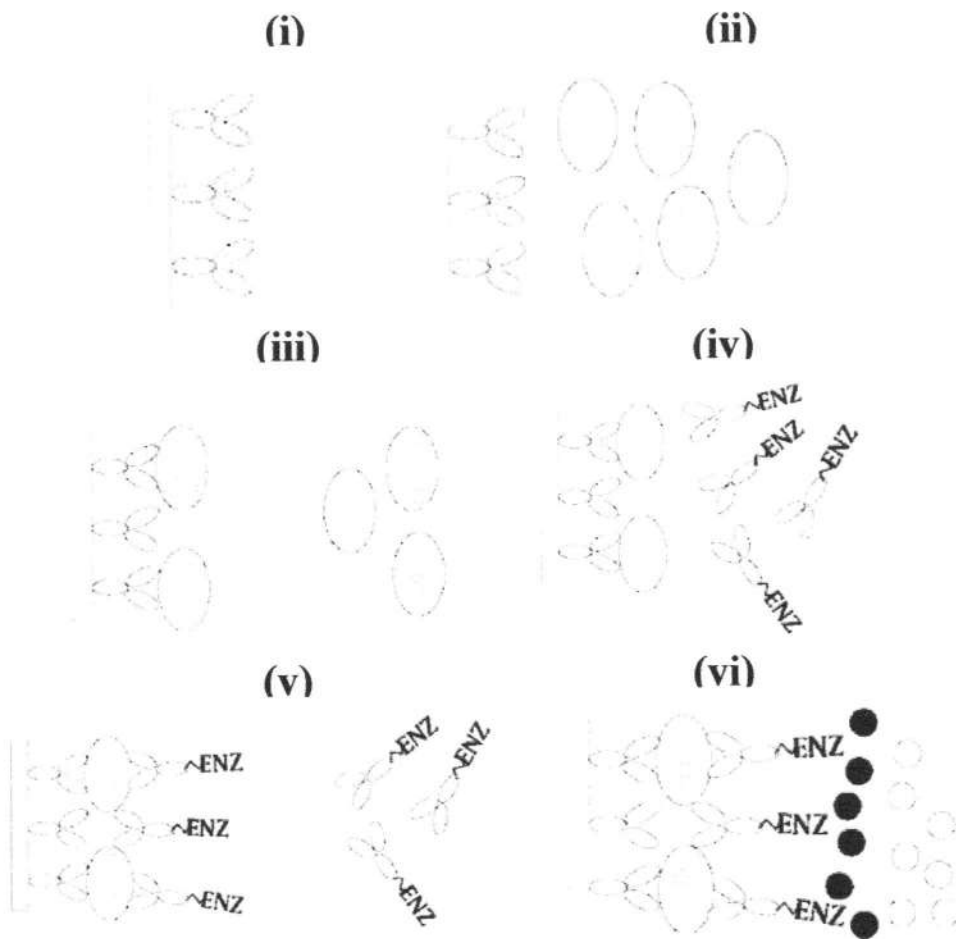
2.8 Teori ELISA

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).

Metode *sandwich* terbagi menjadi dua jenis yaitu *direct sandwich* dan *indirect sandwich*. Pada penelitian ini digunakan metode *direct sandwich* dengan merek dagang ELISA kit “*Bioassay Technology Laboratory*”. Prinsip dari *direct sandwich* ELISA (Gambar 2.6) melibatkan pelekatan antibodi dalam fase padat (i dan ii). Antibodi berupa *captured antibody* kemudian ditambahkan dengan antigen yang sebelumnya diencerkan dalam *blocking buffer* untuk menghindari ikatan non-spesifik *Blocking buffer* tidak boleh mengandung antigen apa pun yang mungkin berikatan dengan antibodi (iii). Setelah proses inkubasi dan pencucian kompleks antibodi-antigen berikatan dalam fase padat (iv). *Captured antigen* kemudian dideteksi oleh penambahan dan inkubasi *enzyme-labeled* antibodi spesifik (v). Demikian adalah *direct conjugate binding* dengan target antigen pada *captured antigen*. Antibodi kedua dapat sejenis dengan *captured*, atau dari spesies

lain yang memiliki antibodi serupa. Setelah tahap inkubasi dan pencucian, ikatan enzim dikembangkan dengan penambahan substrat atau *chromogen* sehingga terjadi perubahan warna. Kemudian dilakukan penambahan *stop solution* dan terakhir dilakukan pembacaan dengan spektrofotometer (vi) (Crowther, 2001).



Gambar 2.6 Prinsip *direct sandwich* ELISA (Crowther, 2001).



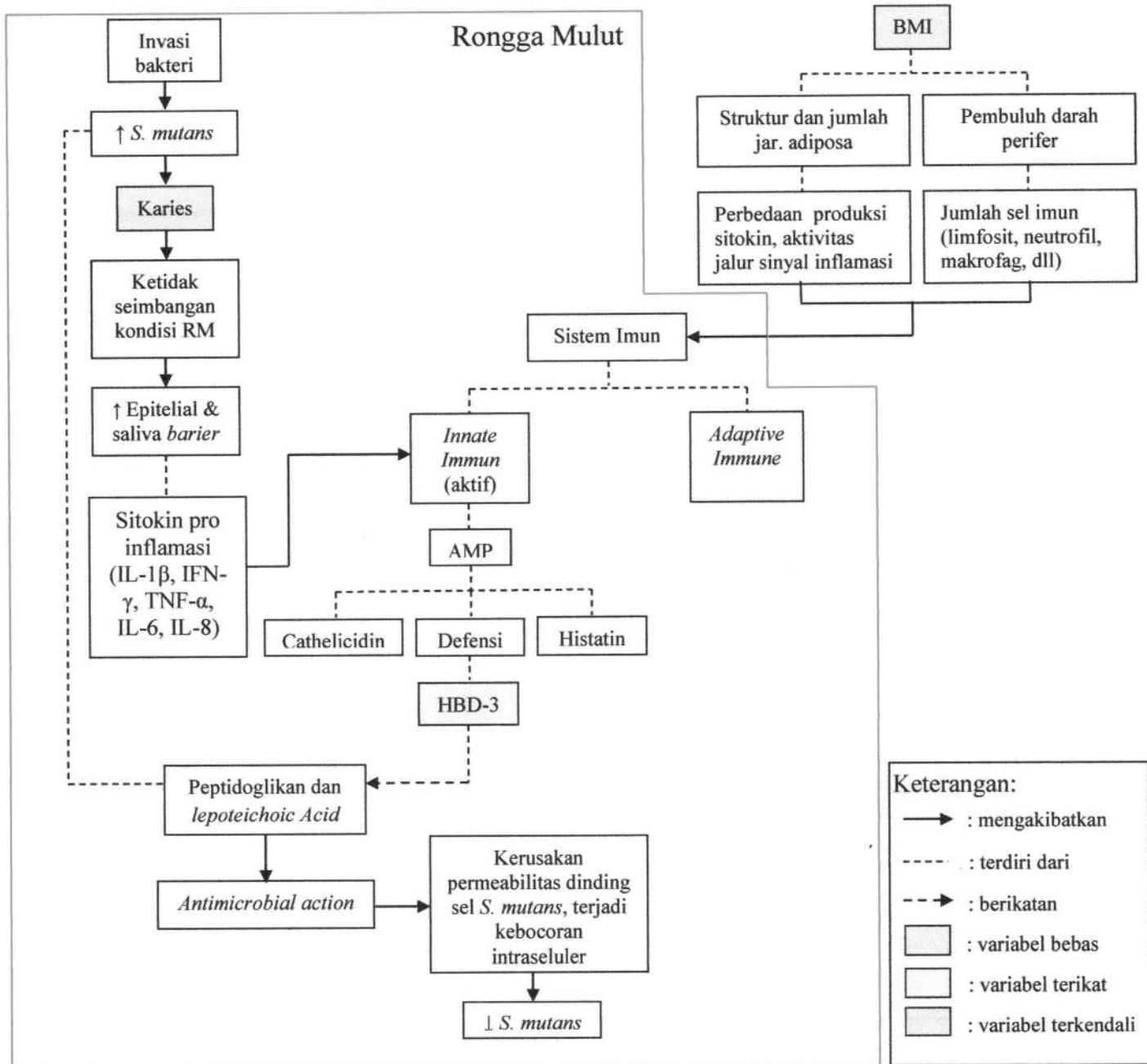
BAB 3

**KERANGKA KONSEPTUAL
DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka konseptual penelitian.

3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian

Invasi bakteri pada rongga mulut terjadi ketika ada perubahan kondisi rongga mulut, bakteri yang semula bersifat flora normal berubah menjadi patogen dan berpotensi menyebabkan beberapa penyakit dalam rongga mulut. Keadaan tersebut salah satunya menyebabkan peningkatan jumlah bakteri *S. mutans*, yakni salah satu faktor etiologi karies. Karies ditandai dengan kerusakan jaringan enamel, dentin, bahkan hingga pulpa gigi. Karies yang terus berlangsung dengan peningkatan jumlah *S. mutans* mengakibatkan ketidak seimbangan kondisi rongga mulut. Kondisi tersebut meningkatkan sistem pertahanan dalam rongga mulut, yakni pertahanan pertama melalui epitel mukosa dan saliva. Sistem pertahanan yang terjadi berupa pengiriman sinyal untuk dilepaskannya sitokin proinflamasi (IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-8) yang kemudian mengaktifkan sistem *innate immune*.

Sistem imun manusia terdiri dari *innate immune* dan *adaptive immune*. Salah satu sistem *innate immune* dalam rongga mulut manusia adalah AMP (*Antimicrobial Peptides*), AMP diproduksi oleh epitel mukosa rongga mulut dan epitel kelenjar saliva dan terekspresi dalam saliva. *Antimicrobial Peptides* dalam rongga mulut terdapat tiga jenis yakni cathelicidin, defensin, dan histatin. Pada penelitian ini akan diukur kadar sekresi dari defensin yakni beta defensin-3 atau dikenal dengan *Human Beta Defensin-3* (HBD-3). Selain berperan dalam sistem *innate immune*, beta defensin juga membantu meningkatkan sistem *adaptive immune*.

Kondisi individu yang berkaitan dengan sistem imun antara lain *body mass index* (BMI). Pengukuran BMI dilakukan dengan membagi berat badan (kg) dan

tinggi badan (m) kuadrat untuk menentukan status fisik dan gizi individu. Pada beberapa penelitian menyatakan bahwa BMI mempengaruhi struktur dan jumlah jaringan adiposa, serta pembuluh darah perifer dalam tubuh, sehingga berkaitan dengan jumlah sel imun (seperti: limfosit, neutrofil, makrofag) dalam tubuh, produksi sitokin dan respon jalur sinyal inflamasi. Jumlah sel imun, produksi sitokin dan respon jalur sinyal inflamasi merupakan komponen yang mengaktifkan dan menjaga keseimbangan sistem imun.

Sistem *innate immune* rongga mulut yang telah aktif karena adanya sitokin proinflamasi kemudian mensekresi HBD-3 sebagai bentuk pertahanan terhadap invasi bakteri *S. mutans*. *Human Beta Defensin-3* yang bermuatan positif berikatan dengan dinding sel bakteri (peptidoglikan dan *lipoteichoic acid*) yang bermuatan negatif, kemudian terjadi *antimicrobial action* yang menyebabkan rusaknya permeabilitas dinding sel bakteri *S. mutans* sehingga terjadi kebocoran intraselular yang mengakibatkan kematian sel, dan terjadi penurunan jumlah *S. mutans*.

3.3 Hipotesis Penelitian

- Terdapat perbedaan kadar sekresi HBD-3 saliva pada kelompok anak berkaries dengan $BMI \leq 15 \text{ kg/m}^2$ dan $BMI \geq 16 \text{ kg/m}^2$.
- Terdapat perbedaan kadar sekresi HBD-3 saliva pada kelompok anak bebas karies dengan $BMI \leq 15 \text{ kg/m}^2$ dan $BMI \geq 16 \text{ kg/m}^2$.
- Terdapat hubungan BMI dengan kadar sekresi HBD-3 saliva pada kelompok berkaries dan bebas karies.



BAB 4
METODE PENELITIAN

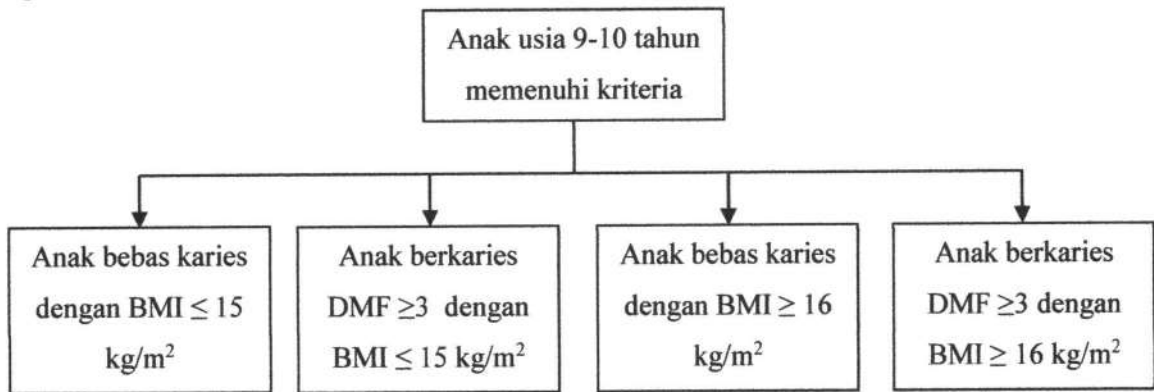
BAB 4

METODE PENELITIAN



4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah observasional analitik dengan rancangan penelitian obeservasional *cross sectional*.



4.2 Sampel

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

4.2.1 Kriteria Sampel

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

- Sampel laki-laki dan perempuan berusia 9-10 tahun.
- Sampel perempuan belum pernah mengalami menstruasi.
- Sampel berkaries dan bebas karies.

- d. Keadaan umum siswa dinyatakan sehat, menurut keadaan umum pada saat diambil sampel serta berdasarkan data dari kuesioner (lampiran 3).
- e. 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 sakit saat diambil sampel.
- b. Saliva bercampur darah.
- c. Saat pengambilan sampel siswa mengalami kelainan rongga mulut, misal sariawan.

4.2.2 Besar Sampel

Jumlah sampel pada penelitian ini ditentukan dengan rumus Lemeshow (Lemeshow *et al.*, 1990)

$$n = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 P(1-P)N}{d^2(N-1) + Z_{1-\alpha/2}^2 P(1-P)} = 14$$

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) yaitu 0,10, dengan nilai $Z_{1-\alpha/2}^2 = 1,96$. Sehingga dari hasil penghitungan sampel, didapat jumlah sampel minimum sebanyak 14 .

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah:

Kelompok BMI.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah:

Kadar HBD-3 saliva.

4.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini sebagai berikut:

- 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 bebas karies adalah siswa dengan indeks DMF=0, dan kelompok karies adalah siswa dengan indeks DMF ≥ 3
- b. Pengambilan sampel saliva adalah metode pengumpulan saliva secara langsung dari anak berkaries dan bebas karies ke dalam tabung sentrifugasi sebanyak 5 ml, saliva yang diambil adalah *whole saliva* tanpa stimulasi dengan teknik *passive droll*.

- c. *Body Mass Index* adalah pengukuran status proporsionalitas antara berat badan dan tinggi badan. Pengukuran berat dilakukan menggunakan timbangan berat badan dan pengukuran tinggi dilakukan dengan pengukur tinggi badan.
- d. *Human beta defensin-3* (HBD-3) merupakan protein antimikroba dalam saliva yang diukur kadarnya (ng/ml).

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober sampai dengan bulan November 2017 di *Institute of Tropical Diseases* Universitas Airlangga dan *Research Center* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya, Jawa Timur.

4.6 Bahan dan Alat Penelitian

4.6.1 Bahan Penelitian

- a. Supernatan saliva dari kelompok karies dan bebas karies.
- b. Human Beta-defensin 3 ELISA kit merk Bioassay Technology Laboratory (*anti-HBD3 antibody; streptavidin-HRP; wash buffer; substrate solution A; substrate solution B; stop solution*).

4.6.2 Alat Penelitian

- a. Masker
- b. *Handscoon*
- c. Kaca mulut
- d. Sonde lurus
- e. Tabung sentrifugasi 15 ml
- f. Eppendorf 1,5 ml

- g. *Ice box* dan *ice pack*
- h. Lemari pendingin
- i. Alat sentrifugasi dengan suhu
- j. Mikropipet dan tip
- k. Elisa mikroplat
- l. *Microplate wash* (Bio-Rad)
- m. ELISA reader (Bio-Rad *microplate reader*)
- n. *Stopwatch*

4.7 Langkah Kerja

4.7.1 Pengumpulan Data Sampel

Anak yang akan dijadikan sampel mengisi lembar kuesioner yang diberikan. Kuesioner yang diberikan antara lain berisi: identitas siswa, kriteria fisik (tinggi badan, berat badan, lingkar kepala), OHI indeks, indeks DMF, pH saliva, *flow rate* saliva, kondisi rongga mulut lainnya dan status ekonomi keluarga. Data berat badan dan tinggi badan digunakan untuk menentukan perhitungan BMI. Pengambilan data menggunakan metode antropometri sehingga dilakukan juga pengukuran lingkar perut untuk korelasi pendukung hasil penelitian ini.

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. Waktu pengambilan saliva dilakukan sekitar pukul 8-10 pagi. Teknik yang digunakan adalah *passive droll* yaitu dengan cara menundukkan kepala dan saliva yang terkumpul di dalam mulut dikeluarkan ke dalam tabung sentrifugasi. Pengumpulan saliva dilakukan hingga terkumpul sebanyak 5 ml. Sampel saliva disimpan dalam dalam *ice box* berisi *ice pack* dengan suhu 0° C sampai -20° C selama perjalanan ke laboratorium. Sampel saliva yang telah diperoleh kemudian dipindah ke dalam lemari pendingin dengan suhu -30° C agar sampel bertahan dalam jangka waktu yang cukup lama.

4.7.3 Kadar HBD-3 dalam Saliva dengan Metode ELISA

4.7.3.1 Persiapan Sampel

Saliva dalam tabung sentrifugasi dikeluarkan dari lemari pendingin, dan dibiarkan hingga mencapai suhu kamar, kemudian di sentrifus dengan kecepatan 2400g selama 10 menit dengan suhu -4° C. Sentifugasi dilakukan dengan tujuan memisahkan sel-sel dalam *whole saliva* dan memperoleh supernatan saliva. Supernatan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf dan disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu -30° C hingga waktu pengujian.

4.7.3.2 Langkah Kerja *Sandwich* ELISA

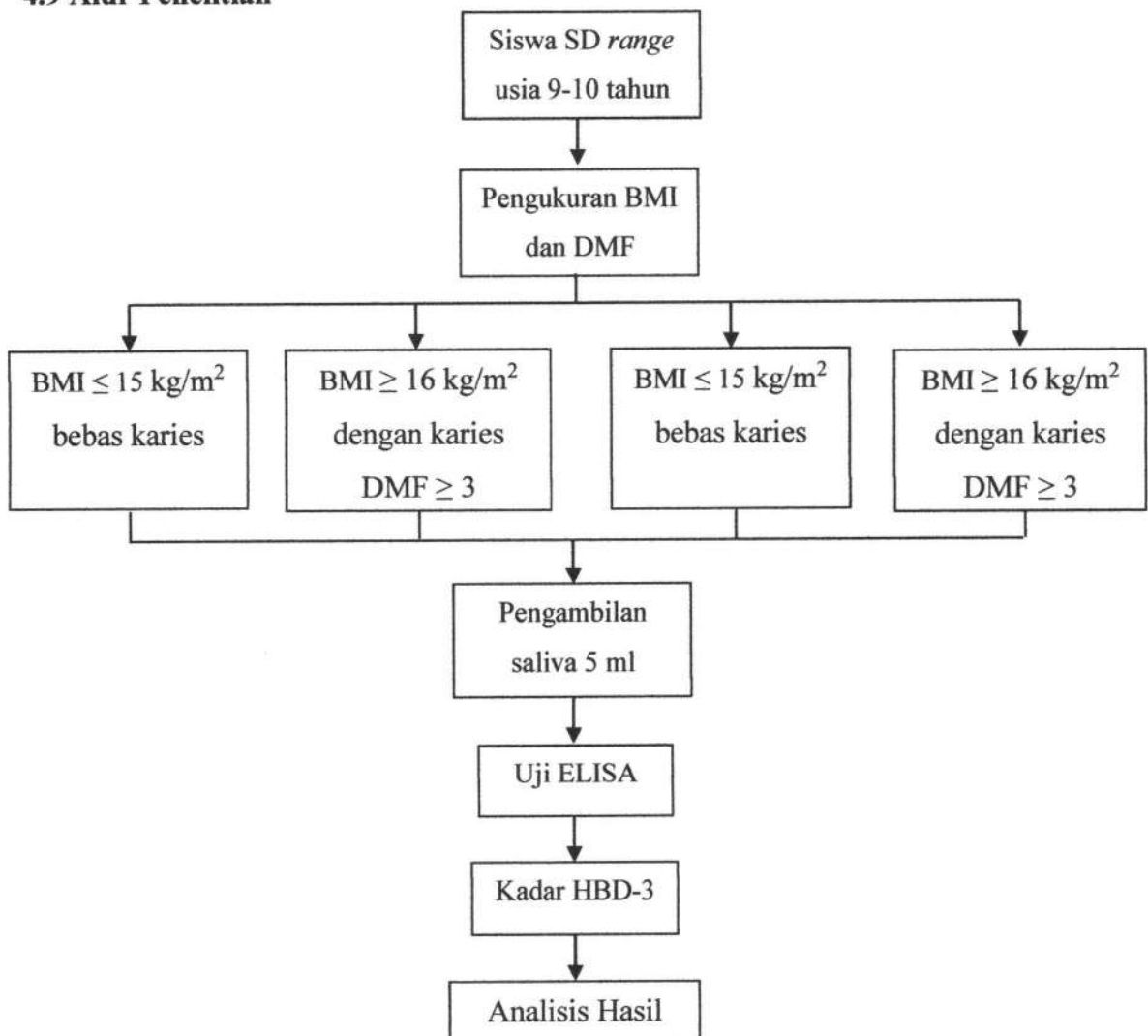
1. Supernatan sampel dikeluarkan dari lemari pendingin hingga mencapai suhu ruang.
2. ELISA kit dikeluarkan dari lemari pendingin kurang lebih 30 menit hingga seluruh reagen mencapai suhu ruang

3. Supernatan sampel saliva sebanyak 40 μ l dimasukkan dalam *well*, ditambah 10 μ l *anti-DEFB3/HBD3 antibody*, kemudian ditambah 50 μ l *streptavidin-HRP*
4. Supernatan sampel 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 10 ml : 290 ml, dan kemudian dimasukkan kedalam tabung *microplate wash*
7. *Sealer* dilepas dan mikroplate dimasukkan ke dalam *microplate wash*, plate dicuci sebanyak 5 kali. Setelah selesai plate dikeringkan dan diketuk-ketuk ringan hingga benar-benar kering
8. Sebanyak 50 μ l *substrate solution A* dimasukkan ke dalam tiap *well*, kemudian ditambahkan 50 μ l *substrate solution B* ke dalam tiap *well*. Hindari paparan sinar secara langsung saat penambahan *substrate solution*
9. Plate ditutup dengan *sealer* kemudian diinkubasi dalam ruang gelap dengan suhu 37°C selama 10 menit
10. Sebanyak 50 μ l *stop solution* dimasukkan ke dalam masing-masing *well*
11. Pembacaan OD dan konsentrasi kadar menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm

4.8 Analisis Hasil Penelitian

Hasil kadar HBD-3 dari kelompok sampel setelah pemeriksaan ELISA dianalisis dengan uji normalitas, uji homogenitas, uji t sampel independen dan uji korelasi.

4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur penelitian.



BAB 5
HASIL PENELITIAN

BAB 5
HASIL PENELITIAN



5.1 Data Penelitian

Saliva dari 62 anak dari siswa SD Qommaruddin di wilayah Gresik, dikelompokkan sebagai berikut:

- A. Kelompok 1: Bebas karies dengan BMI ≤ 15 kg/m² sebanyak 14 orang
- B. Kelompok 2: Bebas karies dengan BMI ≥ 16 kg/m² sebanyak 14 orang
- C. Kelompok 3: Berkaries DMF ≥ 3 dengan BMI ≤ 15 kg/m² sebanyak 17 orang
- D. Kelompok 4: Berkaries DMF ≥ 3 dengan BMI ≥ 16 kg/m² sebanyak 17 orang

Penghitungan skor BMI dan pemeriksaan kadar HBD-3 dengan metode ELISA pada semua sampel yang diteliti didapatkan hasil yang dapat dilihat pada lampiran 1, rerata dan simpangan baku kadar HBD-3 pada masing-masing kelompok dapat ditunjukkan pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Rerata dan simpangan baku kadar HBD-3 masing-masing kelompok.

Kelompok sampel	Kadar HBD-3 X \pm SD (ng/ml)
Kelompok 1	3.366 \pm 0.892
Kelompok 2	2.941 \pm 0.772
Kelompok 3	3.262 \pm 0.742
Kelompok 4	2.579 \pm 0.636

Dari data yang terkumpul diperoleh rerata dan simpangan baku skor BMI dan kadar HBD-3 untuk kelompok bebas karies dan berkaries yang ditunjukkan pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Rerata dan simpangan baku skor BMI dan kadar HBD-3 untuk kelompok bebas karies dan berkaries.

Kelompok sampel	Skor BMI $X \pm SD$ (kg/m ²)	Kadar HBD-3 $X \pm SD$ (ng/ml)
Bebas karies	17.46 ± 3.60	3.153 ± 0.847
Berkaries	17.05 ± 4.24	2.920 ± 0.764

5.2 Analisa Data

Hasil dari kadar HBD-3 untuk masing-masing kelompok dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *One-Sample Komogorov-Smirnov* dengan hasil yang dapat ditunjukkan pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil uji normalitas kadar HBD-3 pada kelompok sampel.

Kelompok sampel	Sig. (p)
Kelompok 1	0.20
Kelompok 2	0.20
Kelompok 3	0.20
Kelompok 4	0.20

Pada setiap kelompok sampel memiliki nilai signifikansi $p > 0.05$ maka semua kelompok data penelitian berdistribusi normal.

Data kelompok sampel dilakukan uji homogenitas yang dapat dilihat pada lampiran 2. Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa varians data adalah homogen sehingga analisis data memenuhi persyaratan untuk selanjutnya dilakukan uji t sampel independen untuk membedakan perbedaan kadar HBD-3 antara kelompok bebas karies BMI $\leq 15 \text{ kg/m}^2$ dan BMI $\geq 16 \text{ kg/m}^2$, serta antara kelompok berkaries BMI $\leq 15 \text{ kg/m}^2$ dan BMI $\geq 16 \text{ kg/m}^2$.

Pada hasil uji t sampel independen (lampiran 2) didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 5.4 Hasil signifikansi uji t sampel independen.

Kelompok	Bebas karies		Karies	
	BMI $\leq 15 \text{ kg/m}^2$	BMI $\geq 16 \text{ kg/m}^2$	BMI $\leq 15 \text{ kg/m}^2$	BMI $\geq 16 \text{ kg/m}^2$
Sig. (p)	0.189		0.007	

Diperoleh $p=0.189$ sehingga $p>0.05$, berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar HBD-3 pada kelompok bebas karies BMI $\leq 15 \text{ kg/m}^2$ dan BMI $\geq 16 \text{ kg/m}^2$. Pada kelompok berkaries BMI $\leq 15 \text{ kg/m}^2$ dan BMI $\geq 16 \text{ kg/m}^2$ didapatkan nilai $p<0.05$ yakni $p=0.007$ yang berarti ada perbedaan yang signifikan pada kedua kelompok ini.

Hasil dari data skor BMI dan kadar HBD-3 pada kedua kelompok sampel bebas karies dan berkaries dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *One-Sample Komogorov-Smirnov* (lampiran 2) dengan hasil yang dapat dilihat pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Hasil uji normalitas skor BMI dan kadar HBD-3 kelompok bebas karies dan berkaries.

Kelompok sampel	Skor BMI Sig. (p)	Kadar HBD-3 Sig. (p)
Bebas karies	0.008	0.20
Berkaries	0.015	0.20

Pada kelompok bebas karies ataupun berkaries didapatkan nilai signifikansi normalitas skor BMI $p < 0.05$ yang berarti tidak berdistribusi normal. Pada nilai signifikansi kadar HBD-3 kelompok bebas karies dan berkaries diperoleh nilai $p > 0.05$ yang berarti berdistribusi normal.

Dilakukan uji korelasi dengan uji *Spearman's* (lampiran 2) untuk melihat hubungan antara skor BMI dengan kadar HBD-3 pada masing-masing kelompok sampel, sehingga diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 5.6 Hasil signifikansi dan koefisien korelasi uji *Spearman's* skor BMI dengan kadar HBD-3 pada kelompok bebas karies dan berkaries.

Kelompok sampel	Sig. (p)	Koefisien korelasi (r)
Bebas karies	0.199	-0.250
Berkaries	0.009	-0.443

Kelompok bebas karies menunjukkan nilai signifikansi $p = 0.199$ sehingga $p > 0.05$, berarti tidak terdapat korelasi antara skor BMI dan kadar HBD-3. Nilai signifikansi pada kelompok berkaries $p = 0.009$, sehingga $p < 0.05$ yang berarti terdapat korelasi antara skor BMI dan kadar HBD-3 dengan koefisien korelasi $r = -0.443$, menunjukkan berhubungan terbalik dengan kekuatan hubungan sedang.



BAB 6
PEMBAHASAN

BAB 6

PEMBAHASAN



Peptida antimikroba merupakan salah satu sistem pertahanan bawaan / *innate immune*. Pertahanan mukosa dalam menjaga keseimbangan kondisi rongga mulut sangat dimodulasi oleh interaksi antara faktor kekebalan *host* dan kolonisasi mikroflora. Lingkungan hidup mikroflora dalam plak gigi terus-menerus terbentuk karena adanya faktor-faktor yang terdapat dalam rongga mulut. Beberapa peptida antimikroba yang telah ditemukan terdapat dalam saliva dan memiliki aktivitas antibakteri melawan bakteri patogen dalam rongga mulut termasuk *S.mutans*, yakni etiologi utama penyebab karies gigi (Ekarat, 2010).

Peptida ini memiliki distribusi yang luas pada tubuh manusia dan memiliki spektrum luas dalam melawan berbagai mikroorganisme termasuk bakteri gram positif, bakteri gram negatif, jamur, parasit dan virus (Hancock, 2001; Wang, 2014).

Human beta defensin merupakan peptida antimikroba yang dapat ditemukan pada sel epitel mukosa rongga mulut, *gingival crevicular fluid*, dan epitel kelenjar saliva (Colombo *et al.*, 2016). Tao *et al.* (2005) menyatakan bahwa *human beta defensin* utamanya HBD-2 dan HBD-3 banyak terdapat dalam rongga mulut pada tempat yang terinfeksi dan efektif untuk mencegah terjadinya infeksi bakteri *S.mutans*. HBD-1 memiliki peran mencegah bakteri komensal dalam rongga mulut menjadi bakteri patogen, sedangkan HBD-2 dan HBD-3 merupakan antimikroba yang induksibel (kadar dapat naik bila terjadi rangsangan dari mikroba) dan berperan efektif melawan bakteri patogen (Dale *et al.*, 2006).

Penelitian ini melakukan pengukuran kadar HBD-3 pada dua kelompok sampel dengan skor BMI $\leq 15 \text{ kg/m}^2$ dan $\geq 16 \text{ kg/m}^2$ berdasarkan dari data yang telah diperoleh. Skor BMI $\leq 15 \text{ kg/m}^2$ untuk anak usia 9-10 tahun termasuk dalam kategori normal, sedangkan untuk skor BMI $\geq 16 \text{ kg/m}^2$ termasuk dalam kategori gemuk (WHO, 2007).

Pada hasil penelitian yang telah dilakukan, menunjukkan adanya perbedaan kadar HBD-3 antara kelompok bebas karies BMI $\leq 15 \text{ kg/m}^2$ dengan kelompok bebas karies BMI $\geq 16 \text{ kg/m}^2$, rerata kadar HBD-3 pada kelompok BMI $\leq 15 \text{ kg/m}^2$ lebih tinggi dari pada kelompok BMI $\geq 16 \text{ kg/m}^2$. Namun, tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa sekresi HBD-3 tetap terjadi pada kondisi bebas karies, didukung oleh pendapat dari Dhople pada tahun 2006 yang melaporkan bahwa analisis dengan menggunakan metode *real-time reverse-transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR) mendeteksi adanya HBD-3 pada mukosa rongga mulut dan kelenjar saliva pada keadaan inflamasi maupun tidak ada inflamasi, adanya kadar HBD-3 ini juga disebabkan karena rangsangan bakteri komensal (Dhople *et al.*, 2006). Pada kondisi rongga mulut dan epitel mukosa yang sehat kadar HBD-3 terekspresi lebih tinggi dibanding kadar HBD-2. Kadar HBD-2 dan HBD-3 memungkinkan diekspresikan epitel rongga mulut dalam konsentrasi tinggi, hal ini dapat menentukan tingkat pertahanan yang diberikan epitel mukosa terhadap invasi mikroba (Ghosh *et al.*, 2007).

Pada kelompok berkaries BMI $\leq 15 \text{ kg/m}^2$ dan BMI $\geq 16 \text{ kg/m}^2$ terdapat perbedaan kadar HBD-3 yang signifikan, rerata kadar HBD-3 pada kelompok BMI $\leq 15 \text{ kg/m}^2$ lebih tinggi dibanding kelompok BMI $\geq 16 \text{ kg/m}^2$. *Streptococcus*

mutans menginduksi TLR permukaan sel yakni TLR-2 bersama dengan TLR-1 atau TLR-6 pada sel epitel rongga mulut, karena adanya peptidoglikan dan *lepotheicoic acid* pada dinding sel bakteri, selanjutnya mengaktifasi NF-kB untuk menginduksi diproduksi sitokin proinflamasi TNF- α , IL-1 β , IFN- γ , IL-6, IL-8 yang mengaktifkan sistem *innate immune* dan mensekresikan AMP yang salah satunya adalah HBD-3 (Gornowicz *et al.*, 2012; Kawasaki, 2014).

Dari hasil penelitian dapat dilihat bahwa rerata kadar HBD-3 saliva pada kelompok bebas karies lebih tinggi dari pada kelompok berkaries. Karakteristik yang dimiliki AMP yakni tersusun dari berbagai asam amino, sehingga mudah terjadi perubahan struktur dan mengganggu kondisi permukaan AMP. Peptida yang tersusun pada permukaan AMP akan bereaksi jika berinteraksi dengan membran sel target yang sesuai (Bahar and Dacheng, 2013). Ketika terjadi infeksi bakteri berbagai macam AMP terekspresi dalam rongga mulut seperti *cathelicidin*, LL-37, HNP 1-4, HBD 1-3 dan histatin (Dale *et al.*, 2006; Zuzanna, 2013). Berbagai AMP dalam rongga mulut saling bekerjasama melawan bakteri dengan melakukan mekanisme *microbial killing*. Kation sebagai karakter yang dimiliki AMP berikatan dengan kutub negatif fosfolipid dari membran mikroba dan mengakibatkan rusaknya membran sel (Clavellina, 2012). Jumlah ikatan antara peptidoglikan dan *lepotheicoic acid* bakteri dengan TLR-2 yang meningkat mengirimkan sinyal untuk meningkatkan berbagai sekresi AMP, AMP yang struktur permukaannya lebih sensitif terhadap peptidoglikan dan *lepotheicoic acid* bakteri secara langsung melakukan mekanisme *microbial killing* dan berpengaruh pada kadar sekresi HBD-3. Diduga bahwa HBD-3 merespon *S. mutans* agar tetap

dalam keadaan normal sehingga tidak terjadi karies dan bekerjasama dengan AMP lain dalam melakukan mekanisme antimikroba ketika terjadi karies gigi.

Terlihat nilai rerata kadar HBD-3 pada kelompok BMI ≤ 15 kg/m² lebih besar daripada kelompok BMI ≥ 16 kg/m², baik pada kondisi berkaries maupun bebas karies. Hal ini menunjukkan bahwa BMI dari individu mempengaruhi sekresi HBD-3. Hasil uji korelasi menunjukkan tidak ada hubungan skor BMI dan kadar HBD-3 pada kelompok bebas karies, namun terdapat hubungan dengan tingkat hubungan sedang antara skor BMI dan kadar HBD-3 pada kelompok berkaries.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa BMI berkaitan erat dengan jumlah sel leukosit, monosit, total neutrofil dan memodulasi parameter sistem imun (Osama, 2015). Pada individu dengan BMI tinggi mengalami perubahan kadar hormon dan nutrisi yang beredar, seperti glukosa dan lipid. Sel imun yang bersirkulasi pada jaringan perifer terpapar lingkungan yang tinggi energi, yakni konsentrasi hormon metabolik yang berubah sehingga mempengaruhi fungsi dari sel imun tersebut (Millner and Melinda, 2012).

Perubahan kadar hormon yang terjadi dapat dipengaruhi oleh perbedaan jenis kelamin dari individu. Pada penelitian ini digunakan sampel saliva dari anak laki-laki dan perempuan usia 9 sampai 10 tahun dengan kriteria anak perempuan belum pernah mengalami menstruasi. Anak perempuan di Indonesia mengalami menstruasi pertama paling sering pada usia sekitar 13 tahun (Unicef, 2015). Penelitian yang dilakukan Batubara *et al.* (2010) menyatakan bahwa pada 4.145 remaja putri dari seluruh bagian Indonesia mengalami menstruasi pertama di usia 12-14 tahun. Penelitian lain menyebutkan pada usia antara 12 sampai 13 tahun

seorang perempuan mengalami menstruasi pertama (Sanctis *et al.*, 2014). Status kondisi umum untuk setiap anak pada penelitian ini juga dilihat dari data kesehatan tiap anak yang dimiliki unit kesehatan pondok pesantren. Konsumsi makanan keseharian juga ditanyakan pada pengisian kuesioner karena nutrisi mempengaruhi kondisi BMI (Brien, 2007). Setiap anak pada penelitian ini merupakan santri pondok pesantren sehingga dianggap memiliki tingkat konsumsi diet yang sama atau homogen.

Perbedaan jenis kelamin yang mempengaruhi hormon juga berpengaruh terhadap proses pertumbuhan individu. Jenis kelamin mempengaruhi efek yang timbul dari hormon seks dan interaksi pada sistem jaringan adiposa, karena distribusi jaringan adiposa dalam tubuh bervariasi sesuai dengan jenis kelamin (Law *et al.*, 2014). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa imunitas sel dan humoral lebih aktif pada perempuan dibanding pada laki-laki, salah satunya hormon seks steroid yang berperan sebagai regulator proses inflamasi. Perbedaan tersebut akan terlihat ketika individu telah memasuki usia dewasa atau telah mengalami masa pubertas (Robert *et al.*, 2011; Muenchhoff, 2014).

Terlihat rasio yang konstan antara jumlah sel stroma jaringan adiposa dan adiposit secara independen dengan BMI individu. Berdasarkan beberapa penelitian menyatakan bahwa periode perkembangan jaringan adiposa paling sensitif terjadi pada usia anak-anak (Harmelen *et al.*, 2003). Gen dan lingkungan berpengaruh terhadap nilai BMI individu, BMI tinggi berhubungan dengan banyak penyakit metabolik, beberapa penelitian menunjukkan respon sel imun pada jaringan adiposa memiliki peran penting dalam meregulasi homeostatis (Brestoff, 2015).

Jaringan adiposa tidak hanya berfungsi sebagai massa penyimpanan lemak, tetapi juga diketahui sebagai jaringan yang mensekresikan banyak adipokin, sitokin dan kemokin. Sitokin yang diproduksi antara lain sitokin proinflamasi termasuk TNF- α , IL-1 β , IL-6, dan IL-8 (Lalita *et al.*, 2004). Peningkatan jumlah jaringan adiposa akan meningkatkan produksi sitokin yang akan memicu rangkaian proses inflamasi yang bersifat patofisiologi. Individu dengan BMI tinggi dikaitkan dengan *chronic low-grade inflammation* karena adanya kelainan produksi mediator dan jalur sinyal proses inflamasi. Inflamasi yang terjadi menyebar pada beberapa bagian tubuh, seperti hati, pankreas, dan otot. Salah satu proses inflamasi yang terlibat adalah ketika neutrofil, eosinofil, monosit dan limfosit menembus masuk ke jaringan adiposa. Peningkatan produksi kemokin dan sitokin proinflamasi dapat memicu efek lokal pada endotelium yang menyebabkan peningkatan adhesi sel vaskular dan intraselular, serta permeabilitas vaskular. Hal ini memungkinkan sel seperti *polymorphonuclear* (PMN) dan *mononuclear phagocytes* (monosit) keluar menuju ekstrasvaskular (Maria-Castro, 2016). Akumulasi makrofag pada jaringan adiposa yang juga memproduksi molekul proinflamasi dan melepaskan *chemoattractants* semakin mempertahankan proses inflamasi yang berlangsung sehingga inflamasi yang terjadi bersifat kronis. Peningkatan produksi sitokin oleh jaringan adiposa yang terjadi terus-menerus menyebabkan gangguan metabolik dan imunologi (Maria-Castro, 2016).

Didukung dengan pendapat Vitseva *et al.* (2008) yang mengungkapkan bahwa TLR dapat diinduksi dalam jaringan adiposa dan dikaitkan dengan aktivasi TNF- α dan NF- κ B, serta berpengaruh terhadap mekanisme pelepasan sitokin.

Kelebihan TNF- α , IL-6 dan IL-1 β yang diproduksi pada jaringan adiposa dapat dieksresikan ke dalam darah dan berpotensi memiliki efek samping terhadap permeabilitas vaskular. Produksi sitokin yang berkelanjutan mempengaruhi imunitas seluler, ada kemungkinan bahwa paparan kronis pada sitokin proinflamasi dapat mengurangi sensitivitas sel imun ketika terjadi infeksi yang sebenarnya (Millner and Melinda, 2012). Dilaporkan juga bahwa kelebihan konsumsi atau penyimpanan nutrisi berpotensi membebani aktivitas jalur sinyal yang mempengaruhi sistem imun dan metabolisme karena kedua sistem ini terkait erat dan saling bergantung. Berbagai sitokin dan *signaling protein* memiliki peran dalam sistem metabolisme maupun sistem imun (Iyer *et al.*, 2010).



BAB 7
SIMPULAN DAN SARAN

BAB 7
SIMPULAN DAN SARAN



7.1 Kesimpulan

- Tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar HBD-3 saliva kelompok anak bebas karies dengan BMI ≤ 15 kg/m² dan BMI ≥ 16 kg/m².
- Terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar HBD-3 saliva kelompok anak berkaries dengan BMI ≤ 15 kg/m² dan BMI ≥ 16 kg/m².
- Tidak ada hubungan antara skor BMI dengan kadar HBD-3 saliva pada kelompok bebas karies.
- Terdapat hubungan antara skor BMI dengan kadar HBD-3 saliva pada kelompok berkaries.

7.2 Saran

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat perbandingan kadar sekresi human beta defensin dan human alfa defensin pada kondisi infeksi di rongga mulut.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kadar HBD-3 saliva pada infeksi mikroba *opportunistic pathogen* lain dalam rongga mulut.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai hubungan BMI dengan sekresi defensin pada usia dewasa.



DAFTAR PUSTAKA



DAFTAR PUSTAKA

- Abiko Y, Saitoh M, Nishimura M *et al.* 2007. Role of β -defensin in oral epithelial health and disease. *Medical Molecular Morphology* 40 (44) pp. 179-184.
- Aydin S. 2015. A short history, principles, and type of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. Elsevier: *Peptides* 72 pp. 4-15.
- Bahar AA and Ren D. 2013. Antimicrobial Peptides. *Pharmaceuticals (Basel)* Dec: 6 (12) pp. 1543-1575.
- Batubara JRL, Soesanti F, Van de Waal HD. 2010. Age at Menarche in Indonesian Girl: A National Survey. *Acta Med Indones-Indones J Intern Med* 42 (2) pp. 78-81.
- Bird DL and Robinson DS. 2005. *Modern Dental Assisting*. 8th ed. UK: Elsevier.
- Bocchinfuso G, Palleschi A, Orioni B *et al.* 2009. Different mechanism of action of antimicrobial peptides insights from fluorescence spectroscopy experiments and molecular dynamics simulations. *J. Pept. Sci.* 15 (9) pp. 550-558.
- Brestoff JR and Artis D. 2015. Immune regulation of metabolic homeostasis in health and disease. *Cell* March 26; 161(1) pp. 146-160
- Brien GO. 2007. Nutrition Knowledge and body mass index. *Health Educ Res* 22 (4) pp. 571-575.
- Bruce MA, Sims M, Miller S, Elliot V, Ladipo M. 2007. One Size Fit All? Race, Gender, and Body Mass Index among U.S Adults. *J Natl Med Assoc.* 99 (10).
- Clavellina VZ, Ruiz M, Flores-Espinosa P *et al.* 2012. Tissue-specific human beta defensin (HBD)-1, HBD-2, HBD-3 secretion profile from human amniochorionic membranes stimulated with *Candida albicans* in two-compartment tissue culture system. *Reprod Biol Endocrinol.* 10(70).
- Colombo NH, Ribas LFF, Pereira JA, Kreling PF *et al.* 2016. Antimicrobial peptides in saliva of children with severe early childhood caries. Elsevier: *Arch Oral Biol.*
- Crowther JR. 2001. *The ELISA Guidebook*. New Jersey: Humana Press Inc. pp. 17-18.

- Dagan SS, Segev S, Novikov I and Dankner R. 2013. Waist circumference VS body mass index in Associated with Cardiorespiratory Fitness in Healthy Men and Women: A Cross Sectional Analysis of 403 Subjects. *Nutr J.*, 12(12).
- Dale BA, Taro R, Kimball JR, Jurevic RJ. 2006. Oral Antimicrobial Peptides and Biological Control of Caries. *BMC Oral Health*, 6(13) pp. 1-7.
- Dale BA and Krisanaprakornkit. 2001. Defensin antimicrobial peptides in the oral cavity. *J Oral Pathol Med* 30 (6) pp. 321-327.
- Dhople V, Krukemeyer A, Ramamoorthy A. 2006. Elsevier BBA-Biomembranes 1758 pp. 1499-1512.
- Ebrahim MA. 2013. Expression of human beta defensins (HBDs) 1, 2 and 3 in gingival cervicular fluid of patient affected by local aggressive periodontitis. *Saudi Dent J* 25 pp. 75-82.
- Edalat A, Abbaszadeh M., Eesvandi M. *et al.* 2014. The Relationship of Severe Early Childhood Caries and Body Mass Index in a Group of 3- to 6-years-old Children in Shiraz. *J Dent Shiraz Univ Med Sci.* June; 15(2) pp. 68-73.
- Ekarat P. 2010. The role of salivary antimicrobial peptides in shaping *Streptococcus mutans* ecology. University of Iowa. Iowa Research online pp:10-18.
- Eslami H *et al.* 2016. Evaluation of Relationship between *Streptococcus mutans*, Dental Caries and IL-1 α and IL-6. *J Periodontal Implant Dent* 8 (1) pp. 33-36.
- Featherstone, JDB. 2008. Dental caries: a dynamic disease process. *Aust Dent J.* 53 pp. 286-291.
- Frank QN. 2015. Body Mass Index: Obesity, BMI and Healthy. *Nutr Today* 5 (3) May/June.
- Gornowicz A *et al.* 2012. Pro-inflammatory cytokines in saliva of adolescents with dental caries disease. *Ann Agric Environ Med.* 19 (4) pp. 711-716.
- Gosh SK, Gerken TA *et al.* 2007. Quantification of Human β -defensin-2 and -3 in Body Fluids: Application for Studies of Innate Immunity. *Clin Chem* 53(4) pp. 757-764.

- Greabu M and Calenic B. 2015. Saliva: A Diagnostic Fluid for Oral and General Disease. *Organic Chem Curr Res.* 4(1) pp. 1-4.
- Greer ACZ *et al.* 2013. Defensins and LL-37: a review of function in gingival epithelium. *Periodontol* 63 (1) pp. 67-69
- Guilhelmelli F, Vilela N, Patricia A *et al.* 2013. Antibiotic development challenges: the various mechanisms of action of antimicrobial peptides and of bacterial resistance. *Front Microbiol* 4 pp. 1-12.
- Güncü GN, Yilmaz D *et al.* 2015. Salivary Antimicrobial Peptides in Early Detection of Periodontitis. *Front Cell Infect Microbiol* 5 pp. 1-6.
- Hancock RE. 2001. Cationic peptides: effectors in innate immunity and novel antimicrobials. *Lancet Infect Dis* 1 pp. 156-164.
- Hancock R. and Sahl HG. 2006. Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. *Nat Biotechnol.* 24 (12) pp. 1551-1557.
- Hans M and Hans VM. 2014. Epithelial Antimicrobial Peptides: Guardian of the Oral Cavity. *Hindawi Pub Co-International Journal of Peptides* pp. 1-13.
- Hanson, Margaret and Edith Chen. Socioeconomic Status, Race, and Body Mass Index: The Mediating Role of Physical Activity and Sedentary Behaviors during Adolescence. *Journal of Pediatric Psychology* vol.32 no.3 pp. 250-259.
- Harmelen TS, Lee YM *et al.* 2003. Effect of BMI and age on adipose tissue cellularity and differentiation capacity in women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27 pp. 889-895.
- Horst OV *et al.* 2011. Caries induced cytokine network in the odontoblast layer of human teeth. *BMC immunology* 12 (9).
- Istindiah HN dan Auerkari EI. 2003. Penggunaan Saliva untuk Mendeteksi Kanker. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia* 10 (Edisi Khusus). h. 279-283.
- Iyer A, Fairlie DP, Prins JB, Hammock BD, Brown L. 2010. Inflammatory lipid mediators in adipocyte function and obesity. *Macmillan Nat Rev Endocrinol* 6.

- Javaid MA, Samed AS, Durand R *et al.* 2016. Saliva as diagnostic tool for oral and systemic disease. *J Oral Biol Craniofac Res* 6 pp. 66-75.
- Jawed M, Khan RN *et al.* 2012. Protective Effects of Salivary Factors in Dental Caries in Diabetic Patient of Pakistan. *Hindawi Pub-Exp Diabetes Res.* pp. 1-5.
- Jessica T, Samuel EJ, Robin B. 2016. Height, body mass, index, and socioeconomic status: mendelian randomisation study in UK Biobank. *BMJ* pp. 352-362.
- John RK, Jenkins CA, Shepherd BE *et al.* 2011. An Optimal Body Mass Index Range Associated With Improved Immune Reconstitution Among HIV-Infected Adults Initiating Antiretroviral Therapy. *CID* 53.
- Joly S, Maze C, McCray PB *et al.* 2004. Human β -Defensin 2 and 3 Demonstrate Strain-Selective Activity against Oral Microorganisms. *J Clin Microbiol* 42 (3) pp. 1024-1029.
- Kaiser V and Diamond G. 2000. Expression of mammalian defensin genes. *J Leukoc Biol* 68 pp. 779-784.
- Kawasaki T and Kawai T. 2014. Toll-like receptor signaling pathways. *Front Immunol* September 5 (461) pp. 1-8.
- Khaled A, Mohamed WS, Moustafa A *et al.* 2016. The Association Between Body Mass Index and Dental Caries: Cross-Sectional Study. *J Clin Med Res.* 8 (2) pp. 147-152.
- Khurshid Z, Naseem M, Sheikh Z *et al.* 2016. Oral antimicrobial peptides: Types and role in the oral cavity. *Saudi Pharm J.* 24 pp. 515-524.
- Khurshid Z, Zohaib S, Najeeb S *et al.* 2016. Human Saliva Collection Devices for Proteomics: An Update. *International J Mol Sci.* 17 (846) pp. 1-10.
- Kidd EAM, Joyston S, dan Bechal. 1991. *Dasar-dasar Karies-Penyakit dan Penanggulangannya.* Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. pp.54-76.
- Kidd EAM. 2005. *Essential of Dental Caries 3^{ed}.* New York: Oxford University Press. p. 2.
- Kumala P *et al.* 2006. *Kamus Saku Kedokteran Dorland.* Jakarta; EGC.
- Kusumaningsih T, Sudarsono SM, Indrawati R *et al.* 2015. The Expression of TLR-2 And NOD-2 in Gingival Epithelium of Rat After Prebiotic

- Lactobacillus reuti* Supplementation to Inhibit *Streptococcus mutans* Growth. *J Biol Res* 21 (1) pp.30-34.
- Lalita K, Pei-Ra Ling, Blackburn GL *et al.* 2004. Serum Levels of Interleukin-6 and C-Reactive Protein Correlate With Body Mass Index Across the Board Range of Obesity. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* Nov-Dec; 28(6) pp. 410-415.
- Law J, Bloor I, Budge H and Symonds ME. 2014. The influence of sex steroids on adiposa tissue growth and function. *Horm Mol Biol Clin Invest* 19(1) pp. 13-24.
- Lawrence JC, Margolick J, Kahan S *et al.* 2010. Effect of Nutritional Supplements on Immune Function and Body weight in Malnourished Adults. *Nutr Metab Insights* 3 pp. 25-35.
- Levine M. 2011. Susceptibility to Dental Caries and the Salivary Proline-Rich Proteins. Hindawi Pub Co: *International Journal of Dentistry* pp. 1-13.
- Liu AY, Destroumieux D, Wong AV *et al.* 2001. Human β -defensin-2 Production in Keratinocytes is Regulated by Interlukin-1, Bacteria, and the State of Differentiation. *J Invest Dermatol* 118 (2) pp. 275-281.
- Malamud D and Rodriguez-Chavez IR. 2011. Saliva as a Diagnostic Fluid. *National Institute of Health Dent Clin North Am.* January: 55(1) pp. 159-178.
- Malathi N, Mythili S and Vasanthi HR. 2014. Salivary Diagnostic: A Brief Review. Hindawi Publishing Corporation ISRN Dentistry pp. 1-8.
- Maria-Castro, A., L.E. Macedo-de la Concha, C.A. Pantoja-Melendes. Low-grade inflammation and its relation to obesity and chronic degenerative diseases. *Rev Med Hosp Gend Mex* 2016: 110 pp.1-5.
- Merrilyn H, Skouteris H, Boganin C *et al.* 2012. Body mass index and dental caries in children and adolescents: a systematic review of literature published 2004 to 2011. *BioMed Central* 1 (57) pp. 1-26.
- Millner JJ and Beck MA. 2012. Micronutrients, immunology and inflammation The Impact of obesity on the immune response to infection. *Proc Nutr Soc.* May ; 71(2) pp. 298-306.

- RISKESDAS, Ministry of Health and National Institute of Health Research and Development: National report on basic health research. Ministry of Health, Republic of Indonesia, Jakarta.
- Mojarad and Maybodi H. 2011. Association Between Dental Caries and Body Mass Index Among Hamedan Elementary School Children in 2009. *J Dent (Tehran)* 8(4).
- Muenchoff M and Goulder PJR. 2014. Sex Difference in Pediatric Infectious Diseases. *JID* 209 pp. 120-126.
- Osama HA. 2015. Association Between the Immune System Response and Body Mass Index Among Hepatitis C Virus Saudi Patient. *Eur J Basic Med Sci.* 5 (4) pp. 61-66.
- Pannu P *et al.* 2013. Correlation between the salivary *Streptococcus mutans* and dental caries experience in adult population of Chandigarh, India. *Eur J Dent.* 7(2) pp. 191-194.
- Pearce EC. 2002. *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis.* Jakarta: Gramedia Pustaka Utama. h. 182-184.
- Pinatuli S and Hamada T. 2008. *Menuju Gigi dan Mulut Sehat; Pencegahan dan Pemeliharaan.* Medan: USU Press.
- Robert R, Ghazali DA, Favreau F, Mauco G, Hauet T and Goujon J. 2011. Gender difference and sex hormone production in rodent renal ischemia reperfusion injury and repair. *J Inflamm (Lond)* 8(14) pp. 1-9.
- Sanctis V, Bernasconi S, Bianchin L, Bona G, Bozzola M, Buzi F, Carlo DS, Rigon F, Tato L, Tonini G, Perissinotto E. 2014. Onset of menstrual cycle and menses features among secondary school girl in Italy: A questionnaire study on 3.783 students. *Indian J Endocrinol Metab* 18 pp 1-10.
- Spencer EA, Appleby PN, Davey GK *et al.* 2003. Diet and body mass index in 38000 EPIC-Oxford meat-eaters, fish-eaters, vegetarians and vegans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27 pp. 728-734.
- Sudjarwo KE. 2013. *KADAR Human Beta Defensin 2 (HBD-2) pada Kelompok Karies dan Bebas Karies.* Skripsi, Universitas Airlangga Surabaya. h. 18-19.

- Tao R, Richard J, Juveric, Kimbery K, Coulton *et al.* 2005. Salivary Antimicrobial Peptide Expression and Dental caries Experience in Children. *Antimicrob Agents Chemoter.* 49 (9) pp. 3883-3888.
- Tribble GD and Lamont RJ. 2010. Bacterial invasion of epithelial cells and spreading in periodontal tissue. *NIH Public Access Periodontol* 2000; 52(01) pp. 68-83.
- Vitsetva OI, Tanriverdi K, Tchkonja TT, Kirkland JL *et al.* 2008. Inducible Toll-like Receptor and NF-Kb Regulatory Pathway Expression in Human Adipose Tissue. *Obesity (Silver Spring)* May; 16(5) pp. 932-937.
- Wang G. 2014. Human antimicrobial peptides and proteins. *Pharmaceuticals* 7 (5). pp. 545-594.
- Winter J and Wenghoefer M. 2012. Human Defensins: Potential Tools for Clinical Application. *Polymers* 4 pp. 691-709.
- Wong DT. 2008. *Salivary Diagnostic*. New Delhi: Wiley-Blackwell. p. 60
- WHO (World Health Organization). *Oral Health*. [serial online]. 2012 [cited 2017 Feb 27] Available from URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/en/>
- Zhang C, Cheng X, Li J *et al.* 2016. Saliva in the diagnostic of diseases. *Int J Oral Sci.* 8 pp. 133-137.
- Zuzanna S. 2013. Defensins and their role in the maintainanca of the oral cavity homeostatis-a literature review. *Cent Eur J Immunol* 38 (1) p. 112.



LAMPIRAN



Lampiran 1 Hasil penelitian

1. Kelompok bebas karies BMI ≤ 15 kg/m²

No.	Nama	BMI (kg/m ²)	Hasil		pH	Flowrate Saliva (ml/min)
			OD	CONC. (ng/ml)		
1.	1-1	13.46	0.575	3.784	7	0.26
2.	1-2	13.47	0.498	3.024	7	0.09
3	1-3	14.20	0.554	3.577	7	0.38
4.	1-4	15.02	0.734	5.354	7	0.17
5.	1-5	15.33	0.646	4.485	6	0.23
6.	1-6	15.38	0.603	4.061	7	0.19
7.	1-7	15.50	0.471	2.757	7	0.23
8.	1-8	15.66	0.391	1.967	8	0.25
9.	1-9	15.89	0.550	3.357	7	0.16
10.	1-10	13.29	0.498	3.120	6	0.10
11.	1-11	13.90	0.145	2.204	7	0.50
12.	1-12	14.18	0.473	2.777	6	0.13
13.	1-13	15.20	0.564	3.675	6	0.33
14.	1-14	15.27	0.494	2.984	6	0.55
	Rata-rata	14.69	0.514	3.366	6.17	0.25
	SD	0.90	0.135	0.892	0.61	0.14

2. Kelompok bebas karies BMI ≥ 16 kg/m²

No.	Nama	BMI (kg/m ²)	Hasil		pH	Flowrate Saliva (ml/min)
			OD	CONC. (ng/ml)		
1.	2-1	16.30	0.496	3.004	7	0.27
2.	2-2	16.54	0.620	4.228	7	0.11
3	2-3	16.66	0.337	1.434	6	0.27
4.	2-4	17.58	0.566	3.695	7	0.25
5.	2-5	17.75	0.461	2.658	7	0.31
6.	2-6	21.02	0.429	2.342	7	0.11
7.	2-7	23.56	0.534	3.379	7	0.20
8.	2-8	25	0.460	2.648	7	0.03
9.	2-9	22.72	0.593	3.962	7	0.17
10.	2-10	17.79	0.432	2.372	7	0.18
11.	2-11	21.39	0.482	2.866	6	0.16
12.	2-12	22.36	0.561	3.546	6	0.18
13.	2-13	24.43	0.362	2.046	7	0.19
14.	2-14	20.11	0.454	2.994	6	0.16
	Rata-rata	20.22	0.485	2.941	6.71	0.18
	SD	3.10	0.083	0.772	0.46	0.07

3. Kelompok berkaries DMF ≥ 3 dengan BMI ≤ 15 kg/m²

No.	Nama	BMI (kg/m ²)	DMF	Hasil		pH	Flowrate Saliva (ml/min)
				OD	CONC. (ng/ml)		
1.	3-1	12.28	3	0.392	1.977	7	0.21
2.	3-2	12.75	6	0.554	3.577	7	0.21
3.	3-3	13.25	6	0.654	4.564	6	0.11
4.	3-4	13.29	7	0.451	2.792	6	0.1
5.	3-5	13.66	5	0.532	3.359	6	0.33
6.	3-6	13.72	13	0.419	2.243	7	0.11
7.	3-7	13.88	7	0.530	3.340	6	0.27
8.	3-8	13.88	10	0.518	3.221	6	0.2
9.	3-9	13.90	3	0.583	3.863	7	0.50
10.	3-10	13.92	4	0.508	3.122	7	0.31
11.	3-11	14.03	5	0.520	3.241	6	0.33
12.	3-12	14.10	3	0.594	3.972	6	0.26
13.	3-13	14.18	7	0.440	2.451	7	0.13
14.	3-14	15.20	3	0.489	3.675	6	0.33
15.	3-15	15.20	12	0.638	4.406	6	0.11
16.	3-16	13.90	5	0.538	3.419	7	0.25
17.	3-17	14.61	5	0.418	2.234	6	0.31
	Rata-rata	13.86	6.11	0.516	3.262	6.41	0.23
	SD	0.74	3.03	0.075	0.742	0.74	0.10

4. Kelompok berkaries DMF ≥ 3 dengan BMI ≥ 16 kg/m²

No.	Nama	BMI (kg/m ²)	DMF	Hasil		pH	Flowrate Saliva (ml/min)
				OD	CONC. (ng/ml)		
1.	4-1	17.79	6	0.493	2.974	7	0.25
2.	4-2	22.36	3	0.444	2.490	6	0.18
3.	4-3	20.11	7	0.488	2.757	6	0.16
4.	4-4	18.98	6	0.465	2.698	6	0.11
5.	4-5	17.64	6	0.492	2.964	7	0.15
6.	4-6	17.15	10	0.469	2.737	7	0.2
7.	4-7	34	7	0.404	2.095	7	0.13
8.	4-8	22.22	6	0.427	2.322	6	0.13
9.	4-9	20.83	4	0.348	1.542	6	0.26
10.	4-10	20.46	4	0.314	1.206	6	0.15
11.	4-11	20.45	5	0.411	2.164	6	0.38
12.	4-12	20.13	6	0.541	3.448	6	0.13
13.	4-13	19.48	8	0.488	2.925	7	0.18
14.	4-14	18.96	7	0.515	3.191	7	0.62
15.	4-15	18.07	8	0.464	2.688	7	0.35
16.	4-16	17.75	8	0.396	2.016	7	0.06
17.	4-17	17.75	7	0.559	3.626	7	0.07
	Rata-rata	20.24	6.24	0.454	2.579	6.52	0.20
	SD	3.88	1.72	0.064	0.636	0.51	0.13

Lampiran 2 Hasil penghitungan statistik

1. Rerata dan standar deviasi sampel

-Data kadar HBD-3 keempat kelompok sampel

Descriptives

Concentration

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1.00	14	3.3661	.89231	.23848	2.8509	3.8813	1.97	5.35
2.00	14	2.9410	.77252	.20646	2.4950	3.3870	1.43	4.23
3.00	17	3.2621	.74271	.18013	2.8803	3.6440	1.98	4.56
4.00	17	2.5790	.63691	.15447	2.2515	2.9065	1.21	3.63
Total	62	3.0258	.80461	.10218	2.8215	3.2301	1.21	5.35

-Data skor BMI dan kadar HBD-3 kelompok bebas karies dan berkaries

BMI 1 Kadar 1 = Bebas karies

BMI 2 Kadar 2 = Berkaries

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
BMI 1	28	13.29	25.00	17.4629	3.60111
Kadar 1	28	1.43	5.35	3.1536	.84709
BMI 2	34	12.28	34.00	17.0553	4.24891
Kadar2	34	1.21	4.56	2.9206	.76442
Valid N (listwise)	28				

2. Uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov*

-Uji normalitas data keempat kelompok sampel

Tests of Normality

	NO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Concentration	1.00	.109	14	.200*	.970	14	.881
	2.00	.110	14	.200*	.986	14	.996
	3.00	.131	17	.200*	.966	17	.738
	4.00	.156	17	.200*	.970	17	.820

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

a. Lilliefors Significance Correction

-Uji normalitas kelompok bebas karies dan berkaries

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BMI 1	.195	28	.008	.876	28	.003
Kadar 1	.096	28	.200*	.987	28	.972

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

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BMI 2	.169	34	.015	.807	34	.000
Kadar 2	.057	34	.200*	.992	34	.997

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

a. Lilliefors Significance Correction

3. Uji homogenitas *Levene*

-Data kadar HBD-3 keempat kelompok sampel

Test of Homogeneity of Variances

Concentration

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.412	3	58	.745

4. Uji t sampel independen
 Uji t sampel independen untuk kelompok 1 dan 2

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Equal variances assumed	.151	.701	1.348	26	.189	.42514	.31544	-	1.07353
Concentration Equal variances not assumed			1.348	25.478	.190	.42514	.31544	-	1.07418
								.22324	
								.22389	

- Uji t sampel independen untuk kelompok 3 dan 4

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Equal variances assumed	.237	.630	2.879	32	.007	.68312	.23730	.19976	1.16648
Concentration Equal variances not assumed			2.879	31.273	.007	.68312	.23730	.19932	1.16692

5. Uji korelasi *Spearman's* skor BMI dengan kadar HBD-3 untuk kelompok bebas karies dan berkaries

Correlations			bmi1	kadar1
Spearman's rho		Correlation Coefficient	1.000	-.250
	BMI 1	Sig. (2-tailed)	.	.199
		N	28	28
		Correlation Coefficient	-.250	1.000
	Kadar 1	Sig. (2-tailed)	.199	.
		N	28	28

Correlations			bmi2	kadar2
Spearman's rho		Correlation Coefficient	1.000	-.443**
	BMI 2	Sig. (2-tailed)	.	.009
		N	34	34
		Correlation Coefficient	-.443**	1.000
	Kadar 2	Sig. (2-tailed)	.009	.
		N	34	34

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

Lampiran 3 Sertifikat uji laik etik



UNIVERSITAS AIRLANGGA FACULTY OF DENTAL MEDICINE
HEALTH RESEARCH ETHICAL CLEARANCE COMMISSION

ETHICAL CLEARANCE CERTIFICATE

Number : 150/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 BODY MASS INDEX (BMI) DENGAN
SEKRESI HBD-3 SALIVA PADA PASIEN ANAK BERKARIES DAN
BEBAS KARIES"**

Principal Researcher : DIEN NISA AULIA
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 22th, 2017
Chairman,

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

Lampiran 4 Kuesioner pengambilan sampel



LEMBAR KUESIONER PENELITIAN SKRIPSI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS AIRLANGGA

Tanggal / Bulan / Tahun												No. Responden					
<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"/>					
Informasi Umum:																	
(Nama)				Jen. Kelamin(L/P)		Tgl Lahir (Tgl/Bln/Thn)				Umur							
				<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"/>							
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 :																	
												Gigi Gigi Status					
												Sulung Tetap					
17 16 15 14 13 12 11 21 22 23 24 25 26 27												A 0 Sehat					
55 54 53 52 51 61 62 63 64 65												B 1 Gigi lubang/karies					
<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"/>												C 2 Tumpatan dgn karies					
<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"/>												D 3 Tumpatan tanpa karies					
85 84 83 82 81 71 72 73 74 75												E 4 Gigi dicabut krn karies					
47 46 45 44 43 42 41 31 32 33 34 35 36 37												- 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="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 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 diekslusi 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

<p>1. Nama _____</p> <p>Alamat _____</p>	<p>Jen. Kelamin(L/P)</p> <p style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></p>	<p>Kelas: <input type="text"/> <input type="text"/></p>																
<p>2. Berapa usiamu saat ini? _____ (tahun)</p>																		
<p>3. Bagaimana aktivitas kalian sehari-sehari?</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td>Bangun pagi</td> <td>pukul:s/d.....</td> </tr> <tr> <td>Sekolah</td> <td>pukul:s/d.....</td> </tr> <tr> <td>Les / kursus</td> <td>pukul:s/d.....</td> </tr> <tr> <td>Lain-lain,.....</td> <td>pukul:s/d.....</td> </tr> <tr> <td>Lain-lain,.....</td> <td>pukul:s/d.....</td> </tr> <tr> <td>Tidur</td> <td>pukul:s/d.....</td> </tr> </table>			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.....				
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.....																	
<p>4. Bagaimana kondisi gigi dan gusi kalian?</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">Gigi</td> <td style="text-align: center;">Gusi</td> </tr> <tr> <td>Baik</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> <tr> <td>Buruk</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> <tr> <td>Tidak tahu</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> </table>				Gigi	Gusi	Baik	(.....)	(.....)	Buruk	(.....)	(.....)	Tidak tahu	(.....)	(.....)				
	Gigi	Gusi																
Baik	(.....)	(.....)																
Buruk	(.....)	(.....)																
Tidak tahu	(.....)	(.....)																
<p>5. Seberapa sering kalian merasakan sakit gigi atau merasa tidak nyaman pada gigi kalian selama 12 bulan terakhir ini?</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td>Sering</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> <tr> <td>Kadang-kadang</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> <tr> <td>Jarang</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> <tr> <td>Tidak pernah</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> <tr> <td>Tidak tahu</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> </table>			Sering	(.....)	Kadang-kadang	(.....)	Jarang	(.....)	Tidak pernah	(.....)	Tidak tahu	(.....)						
Sering	(.....)																	
Kadang-kadang	(.....)																	
Jarang	(.....)																	
Tidak pernah	(.....)																	
Tidak tahu	(.....)																	
<p style="text-align: center;">Silakan menjawab pertanyaan mengenai pemeliharaan kesehatan gigi dan mulut kalian</p>																		
<p>6. Seberapa sering kalian pergi ke dokter gigi dalam 12 bulan terakhir?</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td>Sekali</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> <tr> <td>Dua kali</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> <tr> <td>Tiga kali</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> <tr> <td>Empat kali</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> <tr> <td>Lebih dari empat kali</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> <tr> <td>Saya tidak pernah ke dokter gigi 12 bulan terakhir ini</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> <tr> <td>Saya tidak pernah menerima perawatan gigi dari dokter gigi</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> <tr> <td>Saya tidak tahu / tidak ingat</td> <td style="text-align: center;">(.....)</td> </tr> </table>			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	(.....)
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 tersenyum 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 5 Foto penelitian

1. Pengambilan sampel saliva



Pengukuran tinggi dan berat badan.



Screening keadaan rongga mulut.

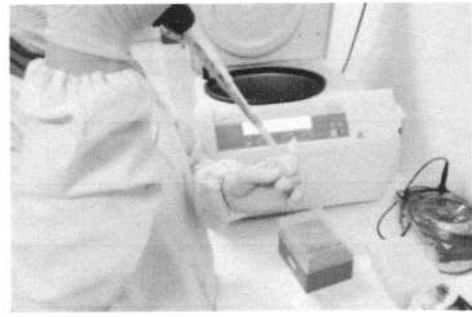
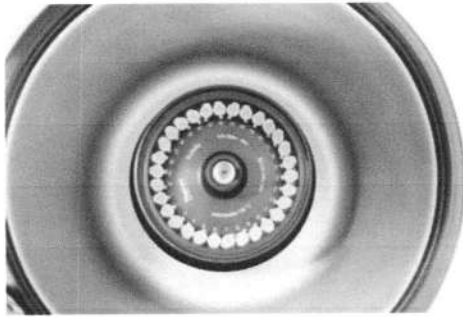


Pengambilan saliva dengan metode *passive drool* tanpa stimulasi sebanyak 5 ml.

2. Persiapan sampel saliva



Sampel saliva disimpan dalam lemari pendingin suhu -30°C .



Proses sentrifugasi hingga untuk memperoleh supernatan saliva.

3. Prosedur ELISA

