

PENGARUH LAMA PAPARAN LIPOPOLISAKARIDA (LPS) *Phorpyromonas gingivalis* SEBAGAI INDUKTOR PERIODONTITIS TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*)

Okky Dessy.R¹ Dr. dr. Setyawati ,S.K.Mkes drg. Diena Fuadiyah, M.Si¹,

Okkydessy.r@gmail.com, dienafuadiyah@gmail.com

Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

Abstract

The chronic infections such as periodontitis that enters the body will activate various inflammatory mediators like TNF α IL5 and IL6. This will cause changes in the metabolism of fatty acids in the liver as well, as the expected increase in total cholesterol, triglycerides and LDL and lower HDL levels. These changes in lipid metabolism and atherosclerosis lesions so will increase the risk of coronary heart disease risk. The purpose of this study was to prove the effects of long exposure to lipopolysaccharide of *P. gingivalis* as induction periodontitis on cholesterol levels in Wistar rats. 32 rats will be divided into three groups. Group 1 mice induced a LPS for 28 days while the group 2 induced a LPS for 60 days and the negative groups is a group of mice that were not treated. We are giving induction 3 times a week. Giving induction performed insivius intrasulkular on the teeth of the lower jaw then the sample will be identified on day 28 and 60. We will taking blood from the heart to measure total cholesterol levels. Total cholesterol measurement was conducted by elektrospektrofotometerik. Data were analyzed using ANOVA oneway and will be followed by post hoc multiple comparasion. Based on the statistical result showed that total cholesterol levels increased significantly in Wistar rats that had been induced by LPS *P. Gingivalis*, $\alpha < 0,05$. Long exposure to LPS *P. Gingivalis* can increase total cholesterol levels in male Wistar rats, but still need to do further research to see the effect of LPS from other bacteria on cholesterol levels of mice with the different experience.

Keywords: Periodontitis, Lipopolysaccharide, *Porphyromonas Gingivalis*, Cholesterol Total

Received: Juli 2024

Reviewed: Juli 2024

Published: Juli 2024

Plagiarism Checker No 234

Prefix DOI : Prefix DOI :

10.8734/Nutricia.v1i2.365

Copyright : Author

Publish by : Nutricia



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

A. Pendahuluan

Penyakit gigi dan mulut merupakan penyakit tertinggi ke enam yang dialami oleh masyarakat Indonesia menurut Survei Kesehatan Rumah Tangga.¹ Penyakit gigi dan mulut yang mempunyai prevalensi cukup tinggi di Indonesia yaitu karies dan penyakit periodontal. Prevalensi penyakit periodontal pada semua kelompok umur mencapai 96,58% di Indonesia. Periodontitis termasuk peradangan kronik jaringan periodontal dengan angka insidensi terkalkulasi sebesar 2,1% di Indonesia.²

Periodontitis adalah infeksi bakteri rongga mulut yang merupakan suatu reaksi inflamasi yang terjadi pada jaringan pendukung gigi yaitu ligamen periodontal dan jaringan sekitarnya termasuk gingiva, tulang alveolar, dan sementum.³ Etiologi primer periodonitis adalah bakteri patogen spesifik seperti *Phorphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteriodes forsythus* dan *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serta beberapa etiologi sekunder lainnya.⁴

Beberapa penelitian menyatakan bahwa periodontitis berhubungan dengan aterosklerosis. Hubungan ini disebabkan oleh infeksi bakteri periodontitis yang memicu profil abnormal lipid yang disebut hiperlipidemia dengan karakteristik tingginya kadar kolesterol LDL (*low density lipoprotein*), trigliserida dan kolesterol total sekaligus rendahnya kadar kolesterol HDL (*high density lipoprotein*). Hiperlipidemia adalah salah satu faktor resiko aterosklerosis.⁵

Paparan bakteri periodontitis yaitu *P. gingivalis* secara sistemik dapat meningkatkan sirkulasi endotoksin seperti LPS dan komponen bakteri lainnya dalam darah. LPS dapat mengaktifkan suatu rangkaian sitokin inflamatorik yang menimbulkan komplikasi vaskular dan koagulasi terkait aterosklerosis. Sitokin yang berasal dari monosit, seperti *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) dan *interleukin* (IL) 1, 6 dan 8 mempunyai efek yang kuat terhadap sintesis protein hepatic, katabolisme jaringan, dan metabolisme lipid.⁶

Abnormalitas lipid yang berkaitan dengan infeksi pada manusia dan hewan percobaan, meliputi peningkatan kadar LDL, Trigliserida dan Kolesterol total sekaligus penurunan kadar HDL.⁶ Abnormalitas lipid terjadi karena peran dari peningkatan sitokin dalam tubuh akibat dari paparan LPS. Sitokin mengubah metabolisme lipid di usus, hati, jaringan adiposa dan jaringan lain. Hasil akhir dari perubahan ini menyebabkan kadar *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) meningkat dalam sirkulasi darah.⁷

Periodontitis pada umumnya merupakan penyakit inflamasi kronis yang berjalan lambat, lamanya periodontitis menentukan lamanya inflamasi yang terjadi pada tubuh sehingga berdampak terjadinya paparan sistemik yang berulang. Lamanya periodontitis berhubungan dengan jumlah bakteri yang menginfeksi. Semakin banyak bakteri yang menginfeksi maka semakin besar kecenderungan untuk terjadi bakterimia, hal ini menyebabkan tubuh akan meningkatkan jumlah sel radang. Respon radang memicu tubuh untuk meningkatkan metabolisme lipid.¹⁰

Hubungan lamanya periodontitis dengan kadar LDL dan HDL telah dibuktikan oleh penelitian Nugraha dkk bahwa perubahan kadar HDL tidak signifikan pada model tikus periodontitis karena kurangnya lamanya inflamasi yang terjadi. Lamanya penelitian yang hanya 28 hari tidak memberikan perubahan yang signifikan terhadap kadar HDL dibandingkan kelompok kontrol.¹¹ Berdasarkan hasil penelitian oleh Paquette dkk yang melakukan penelitian tentang hubungan penyakit kardiovaskular, inflamasi dan infeksi periodontal menyimpulkan bahwa lama yang optimal untuk mendapatkan perubahan signifikan kadar HDL pada tikus periodontitis adalah 60 hari.¹²

Penelitian yang dilakukan oleh Nugraha dan Paquette menunjukkan bahwa lamanya penelitian 28 hari dan 60 hari mendapatkan hasil penelitian yang berbeda. Perbedaan hasil penelitian ini yang berkaitan dengan infeksi periodontal terhadap kadar kolesterol total dan adanya kemungkinan pengaruh lamanya paparan lipopolisakarida terhadap kadar trigliserida serta HDL dan LDL, jadi peneliti ingin membuktikan pengaruh lamanya paparan lipopolisakarida (LPS) *Phorpyromonas gingivalis* sebagai induktor periodontitis pada tikus terhadap kadar kolesterol total.

B. Metode Penelitian

1. Rancangan Penelitian.

Penelitian ini menggunakan desain *True Experimental in vivo* dengan metode *Randomized Posttest Only Controlled Group Design* untuk mengetahui perbedaan kadar Trigliserida serum tikus yang telah diinduksi oleh LPS *P.gingivalis* selama 28 hari dan 60 hari.

2. Sampel Penelitian.

Sampel penelitian adalah hewan model tikus strain wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang diperoleh dari Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Jumlah pengulangan penelitian sebanyak 9 kali, sehingga dibutuhkan 27 ekor hewan coba.

3. Lokasi dan Waktu Penelitian.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Oktober sampai Desember 2015.

4. Variabel Penelitian.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lama paparan LPS *Phorpyromonas gingivalis* sebagai induksi periodontitis, yaitu 28 hari dan 60 hari. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar Trigliserida darah. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah cara menginduksi LPS *P.gingivalis* dan dosis LPS *P.gingivalis*.

C. Prosedur Penelitian

Persiapan Hewan Coba.

Tikus wistar jantan ditimbang menggunakan neraca analitik. Hewan coba kemudian diadaptasi selama satu minggu lalu dimasukkan dalam kandang berukuran 30x20 cm, setiap kandang berisi satu tikus.

Persiapan Bahan Perlakuan.

Bahan yang dipakai pada kelompok perlakuan terdiri dari LPS *P. gingivalis* Ultrapure (Catalog # tlr1-ppglps) produksi InvivoGen sebagai induktor periodontitis sehingga menghasilkan kerusakan pada jaringan periodontal.

Pembuatan Sediaan LPS.

Sediaan LPS-PG Ultrapure yang sudah jadi diperoleh dari laboratorium fisiologi sebanyak 1 mg. Pembuatan stok LPS didapat dengan mencampurkan 10 µg LPS dalam 2 ml PBS pada tabung reaksi. Kemudian LPS dikemas dalam mikrotube, untuk menghindari LPS terkontaminasi maka satu mikrotube untuk satu kali induksi, sehingga dibutuhkan 24 mikrotube, 12 mikrotube berisi LPS sebanyak 0,02 ml x 18 tikus untuk induksi 28 hari, 12 mikrotube lainnya berisi LPS sebanyak 0,02 ml x 9 tikus untuk induksi 60 hari setelah itu sediaan disimpan dalam suhu -20°C.

Injeksi Bahan Perlakuan.

Infeksi pada jaringan periodontal dilakukan dengan induksi LPS *P. Gingivalis*. LPS ditempatkan pada sekitar sulkus gingiva gigi insisivus pertama kanan RB bagian labial dengan dosis 5µg/0,05 ml PBS. Induksi menggunakan jarum insulin 30G sebanyak 0,02 ml, diberikan 3 kali seminggu. Kelompok perlakuan dibagi menjadi 2 yaitu kelompok perlakuan yang diinduksi periodontitis selama 28 hari dan kelompok perlakuan yang diinduksi periodontitis selama 60 hari.¹¹

Pengambilan Darah Hewan Coba.

Sebelum hewan coba dikorbankan, terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan periodontitis dengan cara pemeriksaan klinis dan menghitung kedalaman poket periodontal. Hewan coba dikorbankan menggunakan eter dosis lethal. Pengambilan darah dilakukan melalui jantung (*intracardial*) dengan menggunakan spuit sebanyak 3-5 ml kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi. Tabung reaksi didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar dan selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 1500-2000 rpm selama 15 menit. Serum didapat diambil menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf untuk selanjutnya dilakukan pengukuran kadar Trigliserida.¹³

Pemeriksaan kadar Kolesterol Total

Serum darah hewan coba yang diambil dari jantung. Setelah didapatkan nilai absorbansi serum darah dari alat spektrofotometer maka nilai absorbansi tersebut dimasukkan dalam rumus :

$$\text{Kadar kolesterol total} = \frac{As}{Ast} \times \text{kadar standart (200mg/dL)}$$

Keterangan : As = absorbansi sampel rata – rata $\{(As_1 + As_2)/2\}$

Ast = absorbansi standart

Analisa Data.

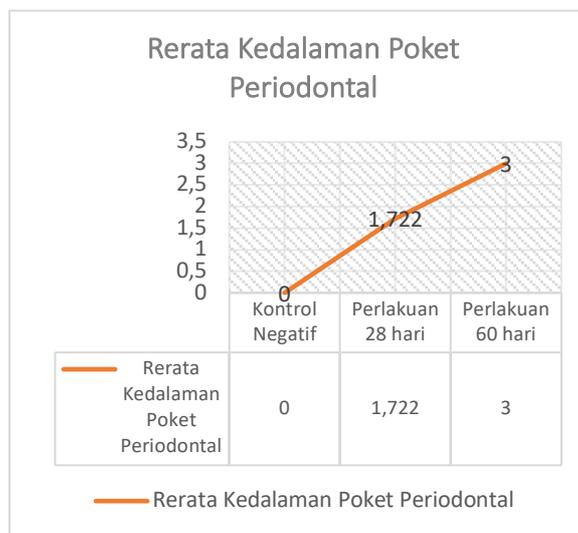
Hasil pengukuran hewan coba kontrol maupun perlakuan dilakukan uji normalitas dengan *kolmogorov smirnov test* dan uji homogenitas menggunakan *Levene test*. Apabila data terdistribusi normal dan homogen maka analisis data yang digunakan adalah uji One Way digunakan untuk mengetahui pengaruh lama paparan LPS *P.gingivalis* sebagai induksi periodontitis terhadap kadar kolesterol total antara kontrol negatif dengan perlakuan. Apabila data terdistribusi tidak normal atau tidak homogen maka digunakan uji *Kruskal Wallis*. Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc Tukey* sebagai lanjutan One Way Anova atau uji *Mann Whitney* sebagai uji lanjutan *Kruskal Wallis*. Selanjutnya dilakukan uji

korelasi-regresi untuk mengetahui kekuatan hubungan antara lama paparan LPS *P.gingivalis* sebagai induksi periodontitis terhadap kadar Triglicerida. Jika data terdistribusi normal dilakukan uji korelasi *Pearson*, dan jika data terdistribusi tidak normal dilakukan uji *Spearman*.

D. Hasil Penelitian

Hasil Pemeriksaan Periodontitis dan Kolesterol Total

Sebelum dilakukan pengambilan sampel, dipastikan dahulu hewan coba sudah mengalami periodontitis dengan pemeriksaan klinis dan pengukuran kedalaman poket periodontal



Gambar 5.2 Diagram Garis Rerata Kedalaman Poket Periodontal

Pemeriksaan klinis menunjukkan gambaran gingiva pada kelompok perlakuan 1 dan 2 lebih berwarna kemerahan, bengkak dan berdarah ketika di probing dibandingkan kelompok kontrol. Berdasarkan pemeriksaan kedalaman poket dan pemeriksaan klinis, disimpulkan bahwa pada induksi hari ke 28, tikus sudah mengalami periodontitis.

Setelah itu pada hari ke 28 dan 60 sample akan dieutanasia dan diambil darah dari jantung untuk diukur kadar kolesterol total pada tikus yang telah diinduksi oleh LPS

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error |
|-------|----|----------|----------------|------------|
| K Neg | 9 | 42.05111 | 11.671203 | 3.890401 |
| 28 hr | 9 | 43.56178 | 7.412372 | 2.470791 |
| 60 hr | 9 | 60.91689 | 18.271745 | 6.090582 |
| Total | 27 | 48.84326 | 15.415195 | 2.966656 |

Tab ng/dL pada Masing-masing Kelompok

Dari tabel di atas menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan yang diinduksi LPS *P.gingivalis* menunjukkan hasil kadar kolesterol total yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Tabel juga menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 2 yang diinduksi LPS *P.gingivalis* selama 60 hari memiliki nilai kadar kolesterol total paling tinggi dibandingkan kelompok kontrol dan perlakuan 1 yang diinduksi LPS *P.gingivalis* selama 28 hari.

E. Analisis Data

Berdasarkan pengujian normalitas data dengan uji *Kolmogrov-Smirnov* dan *Sapiro-Wilk* pada penelitian ini didapatkan nilai signifikansi $\alpha = 0,177$ (lebih besar dari 0.05) pada semua kelompok, sehingga α diterima dan dapat disimpulkan bahwa variabel data pada penelitian ini menyebar mengikuti sebaran normal dengan demikian syarat kenormalan telah terpenuhi sehingga dapat melakukan pengujian dengan *Oneway ANOVA*. Dari uji statistic *pearson* terlihat bahwa nilai $R = 0,518$ dan nilai $\alpha = 0,06$ (lebih kecil dari 0.05), hal ini menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan antara lama paparan

Ips dari *p.gingivalis* terhadap kadar kolesterol total tikus dengan arah hubungan yang positif (dilihat dari nilai R) atau berbanding lurus yang artinya semakin lama paparan Ips dari *p.gingivalis* maka kadar kolesterol total akan semakin meningkat, pada uji kolerasi regresi juga didapatkan nilai α 0,06 (lebih kecil dari 0,05) hal ini juga menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan antara lama paparan induksi Ips *p.gingivalis* terhadap kadar kolesterol total tikus. Berdasarkan pengujian homogenitas varians dengan uji *Levene Statistic* pada penelitian ini didapatkan nilai signifikansi $\alpha = 0.343$ (lebih besar dari 0.05). Dengan demikian dapat disimpulkan data memiliki sebaran normal dan ragam yang homogen sehingga dapat dilakukan pengujian dengan Oneway ANOVA. Berdasarkan pengujian oneWay ANOVA, pada penelitian ini didapatkan nilai signifikansi $\alpha = 0.010$ (lebih kecil dari 0.05) H_0 ditolak dan H_1 diterima sehingga lama paparan dari induksi Ips dari *p.gingivalis* dapat meningkatkan kadar kolesterol total tikus wistar jantan setelah itu dilakukan analisis lanjutan menggunakan uji *Post Hoc Test Multiple Comparison* untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai nilai signifikan paling besar dalam meningkatkan kadar kolesterol total. Analisis lanjutan mengenai pasangan kelompok mana yang dapat meningkatkan kadar kolesterol total tikus wistar secara signifikan adalah dengan menggunakan uji *Post Hoc Multiple Comparison* (lampiran 8) menggunakan teknik Tukey HSD, pada uji *Post Hoc Multiple Comparison* akan dibandingkan antara kelompok negatif dengan kelompok perlakuan satu dan dua. Berdasarkan uji tersebut terlihat bahwa antara kelompok negatif dengan kelompok perlakuan 1 tidak menunjukkan perbedaan bermakna demikian juga antara kelompok 1 bila dibandingkan dengan kelompok negative terdapat perbedaan kadar kolesterol total yang bermakna bila kelompok negatif dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2 sehingga dalam table pada table homogenous subsets kelompok negatif dan kelompok perlakuan 1 dikelompokkan dalam satu kelompok notasi ,sedangkan kelompok perlakuan 2 berada pada kelompok notasi yang berbeda.

F. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh lama paparan Lipopolisakarida (LPS) *P.gingivalis* sebagai induksi periodontitis terhadap kadar kolesterol total.

Hasil analisa data dengan menggunakan Oneway-Anova dan diteruskan dengan uji analisa post hoc multiple comparison menunjukkan terdapat peningkatan kadar kolesterol total tikus wistar yang signifikan pada kelompok perlakuan 1 maupun kelompok perlakuan 2, hal ini selaras dengan pendapat beberapa ahli bahwa infeksi kronis dari LPS dapat memicu terjadinya periodontitis yang akan berpengaruh pada kadar kolesterol total pada tikus wistar. Periodontitis menyebabkan terjadi kerusakan jaringan dan penurunan tinggi tulang alveolar. Kerusakan jaringan dan tulang alveolar ini merupakan respon dari *host* terhadap bakteri yang menyerang jaringan.

Proses perusakan jaringan ini diawali oleh bakteri yang menghasilkan suatu produk bakteri dan enzim seperti hyalurodinase , kolagenase dan protease. Dekstruksi jaringan periodontal yang terjadi pada penyakit periodontal disebabkan oleh sistem imun tubuh sebagai respon terhadap bakteri dan produknya. Sistem imun tubuh menstimulasi proses inflamasi pada host dengan melepaskan berbagai mediator inflamasi antara lain interleukin IL-1 α , IL- β ,IL-6,TNF α dan PGE₂ yang secara langsung maupun tidak langsung berperan dalam dekstruksi tulang. Komponen system imun lain yang berperan penting dalam melawan penyakit periodontal adalah limfosit ,fagosit dan system komplemen.

Pada penyakit periodontal yang dapat menyebabkan paparan bakteri , endotoksin serta LPS yang berulang , paparan ini akan menyebabkan LPS yang berada pada dental plak berdifusi ke sirkulasi sistemik dan akan mengaktifkan berbagai respon sistemik , salah satunya adalah adanya pengaktifan dari respon antibodi, adanya pengaktifan dari respon antibodi ini akan menyebabkan respon inflamasi terganggu , terjadi hiperkoagulasi yang terjadi karena tingginya kadar sitokin.

Derivat sitokin yang aktif ini seperti monosit, TNF α , IL-1 ,IL-6 dan IL -8 akan mempengaruhi metabolisme lipid. Derivat sitokin tersebut memiliki efek yang kuat terhadap sintesis protein hepatic seperti peningkatan sintesis fibrinogen, katabolisme jaringan dan metabolisme lemak. Dengan adanya TNF α , IL-1 akan menghambat produksi dari lipoprotein lipase sehingga menyebabkan metabolisme lipid terganggu sehingga terjadi peningkatan kadar kolesterol total dan LDL.

Pada tikus hiperkolesterol terjadi karena adanya peningkatan sintesis kolesterol hepatic, penurunan pembersihan LDL, konversi dari kolesterol empedu dan sekresi kolesterol yang masuk ke dalam empedu sehingga akan terjadi peningkatan pada pengiriman kolesterol ke sistem imun. Infeksi dan inflamasi akan menginduksi Acute Phase Respon (APR) yang akan menyebabkan berbagai perubahan pada lemak dan metabolisme lemak. Plasma trigliserida meningkat karena adanya peningkatan sekresi VLDL sebagai hasil dari lipolisis jaringan adiposa, peningkatan de novo hepatic dan supresi dari oksidasi asam lemak. Mekanisme molekular terjadi karena adanya penurunan berbagai protein di APR yang akan mempengaruhi koordinasi dan penurunan dari berbagai reseptor neural hormon. APR akan menginduksi perubahan respon host terhadap bakteri, virus dan parasit sehingga akan menyebabkan perubahan pada struktur dan fungsi lipoprotein yang akan berkontribusi menyebabkan aterogenesis.

G. Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa lama paparan dari induksi LPS *phorpiromonas gingivalis* berpengaruh terhadap kadar kolesterol total pada tikus wistar jantan.

Saran

1. Perlu adanya penelitian lanjutan untuk mengembangkan penelitian ini dengan menambah jumlah sampel.
2. Perlu adanya penelitian lanjutan untuk mengembangkan penelitian ini mengenai penambahan lama paparan terhadap kadar kolesterol tikus wistar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Indonesia. Departemen Kesehatan. 2005. Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 2004 vol. 2: Status Kesehatan Masyarakat Indonesia. Jakarta
2. Beck James D, Eke Paul, Heiss Gerardo, et al. *Coronary Heart Disease : Periodontal Disease and Coronary Heart Disease, A Reappraisal of the Exposure*. American Heart Association, Inc. 2005. Available from : <http://circ.ahajournals.org/cgi/content/full/CIRCULATIONAHA.104.511998/DCI> Accessed August 11, 2010
3. Albandar JM. 2005. *Epidemiology of Aggressive Periodontitis in a South Brazilian*
4. Fermin A. Caranza, Dr Odont, fact. 2006. *Clinical Periodontologi* 11th. Elsevier Pte Ltd. Singapore.
5. Franklin H. Epstein, M.D., Editor. *Atherosclerosis - An Inflammatory Disease*. *Journal Medicine*.; (340):115-126.
6. Jaramilo A., Lafaurie GI., Millan LV., Ardila CM., Duque A., Novoa C., Lopez D and Contreras A. 2013. Association Between Periodontal Disease And Plasma Levels Of Cholesterol And Triglycerides. *Journal Colombia Med*; 44 (2):80-6
7. Joseph K., Moshe Y. F., Avishai G and Marc H. 2002. Association Between Periodontal Pockets and Elevated Cholesterol And Low Density Lipoprotein Cholesterol Levels. *Journal Periodontol.*; (73):494-500.
8. Kartika Wangsarharja. 2005. Penyakit periodontal sebagai faktor resiko penyakit jantung koroner. Juli – September. Vol 24 No 3.
9. Levine L, V Baev, R Lev, A Stabholz and M Ashkenazi. 2006. *Aggressive Periodontitis Among Young Israeli Army Personnel*. *J Periodontol* 77:1392- 6
10. Lusari, John Gunawan. 2012. Analisis C-Reactive Protein pada Penderita Jantung Koroner dengan Periodontitis. Universitas Indonesia. Tesis tidak dipublikasikan.
11. Marda A.N., Agustin W.S.D dan I Dewa A.S. 2014. Kadar LDL dan HDL dalam Darah Model Tikus Periodontitis. *E-jurnal Pustaka Kesehatan*.; 2(1): 29-33.
12. Weerapan K, Min-sun K, Riaz AM, Judy KS, Arthur HM, Kenneth RF, Carl G. 2004. Effect of Infection and Inflammation on Lipid and Lipoprotein Metabolism: Mechanism and Consequences to the Host. *Journal of Lipid Research*. Vol 45. San Francisco: Faculty of Medicine

13. Nugraha, MA., Suci, AW., Susilawati, DA. 2014. *Kadar LDL dan HDL Dalam Darah Model Tikus Periodontitis*. Jilid 2. No 1. e-jurnal Pustaka Kesehatan. Diakses 28 Februari 2010 pukul 13.30
14. Paquette DW, Nadine Bradola, Timoyhy CN. *Cardiovascular disease, inflammation and periodontal infection*. *Periodontology* 2000. 2007; Vol. 44 : 113-26. Available from:<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.16000757.2006.00196.x/abstract>. Diakses 12 Januari 2015
15. Ross R. Atherosclerosis- and inflammatory disease. *New Engl J med* 1999;340:115-116.
16. Ross R. Artherosclerosis and inflammatory diseas .*new England J med* : volume 340 number 2;2.115-26.
17. Tiejian W., Maurizio T., Robert J.G., Karen L.F., Joan P.D., and Christopher T.S. 2000. Examination of the Relation Between Periodontal Health Status and Cardiovascular Risk Factors: Serum Total and High Density Lipoprotein Cholesterol, C-reactive protein, and Plasma Fibrinogen. *American Journal of Epidemicology*.; 151 (3): 273-82.
18. Wangsarahardja, Kartika. Penyakit Periodontal. 2006. Sebagai Faktor Risiko Penyakit Jantung Coroner. *Jurnal Universa Medicina*.; 24(3): 136-144.