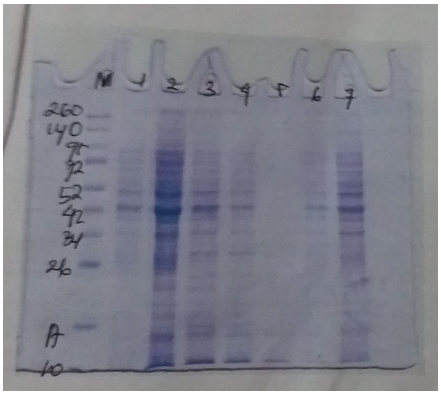
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Pengukuran Berat Molekul OMP *P. gingivalis*

Pengukuran berat molekul menggunakan metode SDS-Page dengan menggunakan sampel *P. gingivalis whole cell lysat* (sel bakteri utuh) dengan pengenceran 1:100 dan 1:10, protein OMP dan pellet *P. gingivalis* yang telah diisolasi OMPnya dengan pengenceran 1:100 dan 1:10.



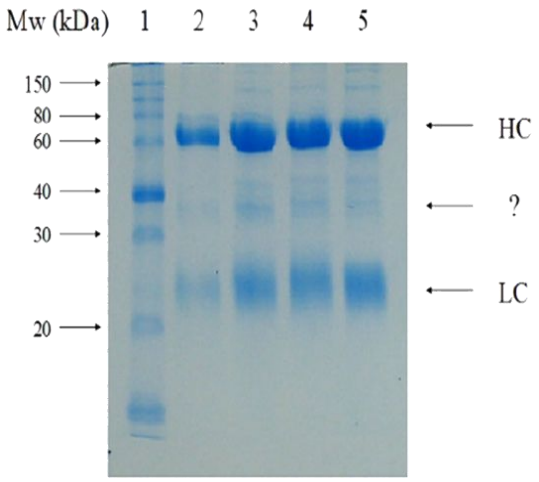
Gambar 5.1 Gambar hasil SDS-PAGE OMP *P. gingivalis*

Pada gambar 5.1 diperoleh dua protein pertama yang paling menonjol pada OMP hasil isolasi dari *P. gingivalis* yaitu protein dengan berat molekul 42 kDa dan 52 kDa

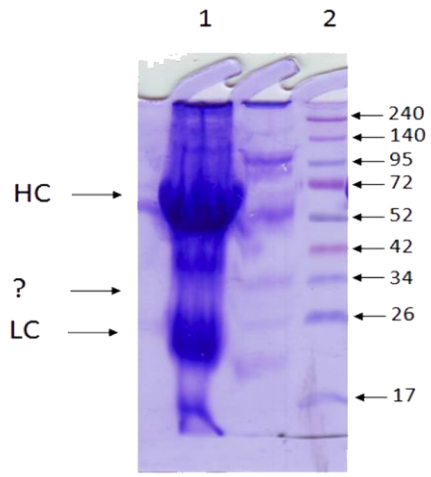
5.2 Keberadaan Antibodi IgY

Antibodi imunoglobulin Y (IgY) merupakan sebuah antibodi yang memiliki banyak manfaat, dimana anitbodi ini dapat ditemukan pada kuning telur ayam. Ayam yang telah diinduksi dengan bakteri *P. gingivalis* diharapkan dapat menghasilkan antibodi IgY yang spesifik terhadap bakteri *P. gingivalis.*

Pengambilan *a*ntibodi IgY dalam kuning telur ayam harus melewati suatu prosedur, yakni presipitasi menggunakan PEG 6000. Setelah antibodi IgY didapatkan, dilakukan uji SDS-PAGE. Uji SDS-Page ini digunakan untuk dapat mengetahui keberadan IgY berdasarkan berat molekulnya. Proses elektroforesis (SDS-PAGE) ekspresi IgY menggunakan metode standar oleh Laemmli (1970). Hasil uji berupa gambaran berat molekul dari antibodi yang diuji. Hasil gambaran berat molekul dibandingkan dengan gambaran berat molekul dari antibodi IgY berdasarkan teori. Berikut hasil dari uji SDS-PAGE:



Gambar 5.2 Gambar hasil SDS-PAGE IgY menurut teori (Pauly, D; Chacana P.A)



Gambar 5.3 Gambar hasil SDS PAGE IgY hasil penelitian

Gambar 5.2 menunjukkan hasil uji SDS-PAGE antibodi IgY menurut teori (Pauly *et al*, 2011), dimana antibodi ini memiliki 2 rantai yakni *heavy chain* dan *light chain. Heavy chain* terdapat pada kisaran angka 60-80 kDa serta *light chain* terdapat pada kisaran angka 20-30 kDA. Serta terdapat sedikit fragmen kecil yang memiliki berat molekul sekitar 35 kDa. Pada gambar 5.3 menunjukkan hasil uji SDS-PAGE antibodi IgY hasil penelitian. Dimana terdapat gambaran *heavy chain* dan *light chain. Heavy chain* terdapat pada kisaran angka 52-72 kDa serta *light chain* pada kisaran 17-26 kDa. Serta terdapat sedikit fragmen kecil yang memiliki berat molekul sekitar 26-34 kDa.

Apabila dibandingkan, kedua hasil SDS-PAGE ini menunjukan kemiripan, sehingga dapat dikatakan hasil uji SDS-PAGE pada antibodi IgY hasil penelitian berhasil dan mendekati teori. Kemudian dapat disimpulkan bahwa terdapat antibodi IgY pada kuning telur ayam mingu ke empat setelah penyuntikan.

5.3 Konsentrasi Antibodi IgY

Setelah dilakukan uji SDS-PAGE untuk mengetahui keberadan antibodi IgY, dilakukan pengukuran konsentrasi antibodi IgY. Pengukuran ini menggunakan alat *nanodrop.* Hasil dari pengukuran ini adalah antibodi IgY hasil penelitian memilki konsentrasi sebesar 10,44 mg/ml.

5.4 Efektifitas Antibodi IgY terhadap Bakteri *P.gingivalis*

Setelah prosedur identifikasi keberadaan antibodi IgY dan pengukuran konsentrasi dilakukan, tahap selanjutnya adalah pengujian efektifitas antibodi IgY terhadap bakteri *P. gingivalis.* Untuk mengetahui efektifitas antibodi IgY digunakan uji Dot Blot. Uji Dot Blot adalah uji serologis yang digunakan untuk melihat efektifitas antara antigen dan antibodi yang spesifik. Dot blot merupakan suatu metode yang dikembangkan pada penelitian semi kuantitatif pada uji imun untuk mendeteksi antigen. Dot blot digunakan untuk mengetahui jenis antigen bukan berat molekul protein. Namun demikian estimasi konsentrasi antigen dapat diketahui pada blot tersebut tetapi kurang akurat karena sulit untuk dikatakan akurat terhadap warna yang timbul pada blot tersebut. Metode ini cukup baik digunakan pada uji atau screening dengan sampel yang cukup banyak (Rantam, 2003). Hasil dari uji ini berupa gambaran dot yang memiliki warna. Dimana warna yang lebih gelap menunjukan bahwa antigen dan antibodi efektif, begitu juga sebaliknya warna yang lebih terang menunjukan bahwa antigen dan antibodi kurang efektif. Lalu dot di interpretasi menggunakan program *Corel Photopaint* untuk mendapatkan data kuantitatif. Pada interpretasi ini, untuk dot yang memiliki hasil angka lebih kecil menunjukan semakin kuat efektifitas antara zat yang direaksikan, begitu juga sebaliknya hasil angka lebih besar menunjukan

efektifitas yang kurang kuat antara zat yang direaksikan. Berikut hasil dari uji Dot Blot:

Tabel 5.1 Tabel hasil uji dot blot kelompok kontrol

	Antibodi	Antigen
A	134,74	260,02
B	128,19	201,30
C	133,63	249,45
D	231,64	224,14
E	232,77	226,29

Tabel 5.2 Tabel hasil uji dot blot kelompok perlakuan

	1	2	3	4	5
A	73,52	26,64	34,85	69,57	49,66
B	58,92	64,43	127,66	190,03	209,35
C	13,44	52,94	127,68	191,41	184,06
D	67,20	120,74	162,45	223,62	212,48
E	101,59	56,47	171,85	220,52	219,54

Keterangan:

1: 1/1	A: 1/1
2: 1/5	B: 1/5
3: 1/25	C: 1/25
4: 1/125	D: 1/125
5: 1/625	E: 1/625

Pada uji Dot Blot terdapat 2 kelompok yakni kelompok kontrol dan kelompok perlakukan. Untuk kelompok kontrol terdiri atas reaksi antara antibodi dengan pelarut biasa serta antigen dengan pelarut biasa. Pada kelompok perlakuan terdiri atas reaksi antara antibodi dan antigen dengan berbagai konsentrasi pelarutan. Dimana setiap antibodi atau antigen yang direaksikan dilarutkan dengan berbagai macam perbandingan, yakni 1/1, 1/5, 1/25, 1/125, dan 1/625.

Data hasil uji Dot Blot pada kelompok kontrol menunjukan dot reaksi antara antibodi dengan pelarut biasa menunjukan reaksi positif, ditandai dengan timbulnya warna noda keunguan pada pengenceran 1/1, 1/5 dan 1/25. Sedangkan pada dot reaksi antara antigen dengan pelarut biasa menunjukan reaksi negatif, ditandai dengan warna dot cenderung putih. Data kuantitatif berdasarkan interpretasi melalui program *Corel Photopaint* menunjukan nilai intensitas warna dot untuk kelompok kontrol paling tinggi 260,02 untuk reaksi antigen dengan pengenceran 1/1 dan paling rendah 128,19 untuk reaksi antigen dengan pengenceran 1/5.

Data hasil uji Dot Blot pada kelompok perlakuan menunjukan dot reaksi antara antibodi dan antigen menunjukan reaksi positif, ditandai dengan adanya warna noda keunguan pada hampir di seluruh pengenceran. Data kuantitatif berdasarkan interpretasi melalui program *Corel Photopaint* menunjukan nilai intenstias warna dot untuk kelompok perlakuan paling tinggi 223,62 untuk reaksi antibodi dan antigen dengan pengenceran 1/125 dan paling rendah 13,44 untuk reaksi antibodi dengan pengenceran 1/1 dan antigen dengan pengenceran 1/25.

Dengan membandingkan intensitas warna dot untuk kelompok kontrol dan perlakuan memiliki selisih dalam *range* 36,4 – 114,75. Hal tersebut menujukan

bahwa terdapat antibodi poliklonal yang mempunyai afinitas, aviditas dan spesifitas yang tinggi terhadap antigen, yang ditunjukan dengan menghasilkan warna noda yang tajam pada Dot Blot (Rantam, 2003).

5.5 Dosis Efektif Antibodi IgY terhadap Bakteri *P.gingivalis*

Berdasarkan hasil uji Dot Blot yang telah dilakukan, dot reaksi antibodi dengan pengenceran 1/1 dan antigen dengan pengenceran 1/25 memiliki nilai interpretasi paling rendah yakni 13,44. Hal ini menunjukan bahwa dengan pengenceran antibodi 1/1 dan antigen 1/25 menghasilkan antibodi yang paling efektif dan spesifik berikatan dengan antigen. Sehingga dosis efektif antibodi IgY yang dapat secara efektif dan spesifik mengikat antigen adalah dengan pengenceran antibodi 1/1 pada antigen dengan pengenceran 1/25.