

**PERBANDINGAN KADAR MALONDIALDEHID (MDA)
TERHADAP PEMBERIAN OUTER MEMBRANE PROTEIN
(OMP) *Porphyromonas gingivalis* MURNI DAN DENGAN
AJUVAN CFA/IFA PADA TIKUS MODEL HIPERTENSI**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

Nella Rosyalina Damayanti

125070100111014

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PERBANDINGAN KADAR MALONDIALDEHID (MDA) TERHADAP PEMBERIAN OUTER MEMBRANE PROTEIN (OMP) *Porphyromonas* *gingivallis* MURNI DAN DENGAN AJUVAN CFA/IFA PADA TIKUS MODEL HIPERTENSI

Oleh:
Nella Rosyalina Damayanti
125070100111014

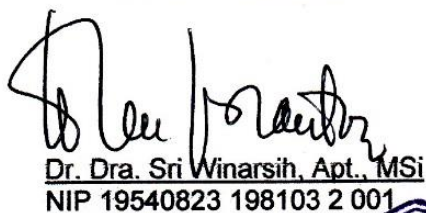
Telah diuji pada
Hari : Senin
Tanggal : 11 Januari 2016
Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I



dr. Nurul Hidayati, MSc
NIP. 19770706 200501 2 001

Penguji II/Pembimbing I



Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., MSi
NIP 19540823 198103 2 001

Penguji III/Pembimbing II



dr. Novi Khila Firani, M. Kes., SpPK
NIP 19761102 200312 2 001



Tenggetahui,
Ketua Jurusan Pendidikan Dokter

Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.Par.K.
NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah memberikan petunjuk dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Perbandingan Kadar Malondialdehid (MDA) terhadap Pemberian *Outer Membrane Protein (OMP) Porphyromonas gingivalis* Murni dan dengan Ajuvan CFA/IFA pada Tikus Model Hipertensi”.

Penulis menyadari bahwa baik dalam perjalanan studi maupun penyelesaian penelitian ini banyak memperoleh bimbingan dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa syukur dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya kepada penulis sehingga bisa menyelesaikan semua urusan.
2. Dr. dr. Sri Andarini, M. Kes, selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan saya kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, M.Si dan dr. Novi Khila Firani, M.Kes., SpPK sebagai pembimbing yang sabar membimbing saya, selalu menyempatkan untuk memberikan bimbingan di tengah kesibukan, dan selalu memberikan semangat sehingga saya dapat menyelesaikan tugas akhir ini.
4. dr. Nurul Hidayati, MSc selaku penguji yang dengan baik hati menyempatkan waktunya untuk hadir menguji saya.
5. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB khususnya dr. Soemardini, MPd dan mbak Betty Anggraeni Permatasari, SAP yang telah membantu saya dalam melengkapi administrasi tugas akhir.

6. DIKTI selaku pemberi dana dana penelitian.
7. Mbak Suci, Mas Yuda, Mas Slamet, Mas Ali, Bu Ferida, Mas Memet, Mas Haris, selaku analis laboratorium di Biomedik, Mikrobiologi, Farmakologi, dan Faal yang telah membantu dalam melakukan penelitian.
8. Ayah, ibu, adik Sandana Nurhalizah, adik Fatima Azzahra, dan keluarga besar atas doa, kasih sayang, bantuan finansial, dan dorongan untuk menyelesaikan tugas akhir ini.
9. Teman-teman penelitian Hyten-Vacc: Septha, Ervin, Novita, dan Putri. Terimakasih atas pengalaman yang tidak terlupakan dalam penelitian ini.
10. An Nahl 1 dan sahabat an nahl (Tina, Hanna, mbak Jannah, mbak Lilis, Qonita, Ani, Alif, Oci, Mahda, Billin, Fia, Keke, Dewi, Fifi, Sari) yang selalu memberikan semangat, doa, dan dukungan.
11. Teman seperjuangan BPI-BPH LSIM 2015 dan staff-staffku LCC 2015.
12. Murobbi dan mutarobbi yang selalu memberikan penyejuk hati setiap pekan.
13. KAMMI 2012 dan keluarga sampai surga (insyaAllah) yang selalu memberikan semangat juang.
14. Teman-teman Pendidikan dokter 2012 beserta semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Akhir kata, besar harapan agar Tugas Akhir ini dapat dirasakan manfaatnya bagi semua pihak. Penulis sadar Tugas Akhir ini masih belum sempurna. Oleh karena itu, saran dan kritik membangun sangat diharapkan oleh penulis agar penelitian selanjutnya dapat lebih baik dan memberikan manfaat bagi masyarakat khususnya di bidang kesehatan.

Malang, 11 Januari 2016

Penulis

ABSTRAK

Damayanti, Nella Rosyalina. 2016. **Perbandingan Kadar Malondialdehid (MDA) terhadap Pemberian *Outer Membrane Protein (OMP) Porphyromonas gingivalis* Murni dan dengan Ajuvan CFA/IFA pada Tikus Model Hipertensi**. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., MSI (2) dr. Novi Khila Firani, M. Kes, SpPK

Hipertensi merupakan penyakit kronis yang paling diderita di dunia. Hal ini dipengaruhi oleh peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berhubungan dengan disfungsi endotel. Peningkatan ROS menyebabkan peroksidasi lipid yang menghasilkan produk Malondialdehid (MDA). *Outer membrane protein (OMP) Porphyromonas gingivalis*, bakteri yang menyebabkan periodontitis, memiliki protein gingipain yang diketahui memiliki *cross reaction* dengan MDA-LDL. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian OMP bakteri *P. gingivalis* terhadap Kadar MDA pada tikus model hipertensi. Penelitian ini adalah eksperimen murni di laboratorium secara *in vivo* dengan metode *Randomized Post Test Only Controlled Group Design*. Hewan coba 25 tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan usia 7-8 minggu dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol positif, kontrol negatif, perlakuan 1 (OMP 100 μ l), perlakuan 2 (OMP+CFA/IFA 200 μ l), perlakuan 3 (CFA/IFA 100 μ l). Pada awal penelitian, ketiga kelompok perlakuan tikus diinjeksikan OMP secara intraperitoneal sesuai dengan ketentuan. Setelah 2 minggu kemudian dilakukan pemberian garam DOCA secara subkutan yaitu 10 mg/kgBB 2 kali seminggu selama 5 minggu. Pemberian OMP ulangan diberikan selama 3 kali setiap 10 hari secara intraperitoneal. CFA diberikan pada saat injeksi pertama kali, sedangkan IFA diinjeksikan sebagai ulangan sebanyak 3 kali setiap 10 hari sekali. Kemudian dilakukan pengukuran tekanan darah tikus dan dilakukan pembedahan untuk mengukur kadar MDA. Hasil analisis dengan uji *Kruskal Wallis* menunjukkan penurunan kadar MDA ($p=0,000$). Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian OMP *P. gingivalis* dapat menurunkan kadar MDA pada tikus model hipertensi.

Kata Kunci: Hipertensi, *Reactive Oxygen Species* (ROS), *Outer Membrane Protein* (OMP), *Porphyromonas gingivalis*, Malondialdehid (MDA).

ABSTRACT

Damayanti, Nella Rosyalina. 2016. **Comparison of Malondialdehyde (MDA) Level between Administration of Pure Outer Membrane Protein (OMP) *Porphyromonas gingivalis* and with Addition CFA/IFA Adjuvant in Hypertension Rat Model.** Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, University of Brawijaya. Supervisors: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., MSi (2) dr. Novi Khila Firani, M. Kes, SpPK

Hypertension is a chronic disease that most affects the world. This is influenced by the increase in Reactive Oxygen Species (ROS) associated with endothelial dysfunction. Increased ROS caused lipid peroxidation that produced malondialdehyde (MDA). Outer membrane protein (OMP) *Porphyromonas gingivalis*, bacteria causing periodontitis, has gingipain protein is known to have cross-reaction with MDA-LDL. This study aimed to verify the effect of administration of OMP *P. gingivalis* to the levels of MDA level in Hypertension rat models. This is a pure experimental research in the laboratory using in vivo methods with Post Test Only Randomized Controlled Group Design. Animals, 25 Wistar rats (*Rattus norvegicus*) male 7-8 weeks of age, were divided into 5 groups: positive control, negative control, treatment 1 (OMP 100µl), treatment 2 (OMP+CFA/IFA 200µl), and treatment 3 (CFA/IFA 100µl). At the beginning of the study, three treatment groups of mice were injected OMP intraperitoneally in accordance with the provisions. After 2 weeks, DOCA salt was given subcutaneously ie 10 mg/kgBW twice a week for 5 weeks. Administration of OMP was repeated 3 times in every 10 days intraperitoneal. CFA was given only with first OMP injection, while IFA was injected as repeat 3 times every 10 days. Then the measurement of blood pressure of mice and surgery conducted to measure the levels of MDA. The results of the analysis with the Kruskal Wallis test showed decreased levels of MDA ($p=0.000$). From these results it can be concluded that the administration of *P. gingivalis*' OMP can reduce levels of MDA in hypertension rat models.

Keyword: Hypertension, Reactive Oxygen Species (ROS), Outer Membrane Protein (OMP), *Porphyromonas gingivalis*, Malondialdehyd (MDA).

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
 BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	4
1.4.1 Manfaat Akademik	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
 BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	5
2.1.1 Taksonomi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	5
2.1.2 Karakteristik <i>Porphyromonas gingivalis</i>	5

2.1.3 Outer Membrane Protein (OMP) <i>Porphyromonas gingivalis</i>	6
2.2 Hipertensi.....	9
2.2.1 Definisi dan Klasifikasi Hipertensi	9
2.2.2 Diagnosis Hipertensi	9
2.2.3 Tatalaksana Hipertensi	10
2.2.3.1 Terapi Non Farmakologi	10
2.2.3.2 Terapi Farmakologi.....	12
2.2.4 Patogenesis Hipertensi.....	13
2.2.4.1 Peran <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS) dalam Hipertensi	16
2.2.4.2 Inflamasi pada Hipertensi	16
2.3 Malondialdehid (MDA) dan Metode Pengukuran MDA	19
2.3.1 Peran Malondialdehid (MDA) dalam Hipertensi	20
2.4 Garam <i>Deoxycorticosterone Acetat</i> (DOCA)	22
2.6 Vaksinasi.....	24

BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep.....	26
3.2 Hipotesis Penelitian.....	27

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	28
4.2 Sampel Penelitian	28
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian.....	29
4.4 Variabel Penelitian	29

4.4.1 Variabel Bebas (Independen)	29
4.4.2 Variabel Tergantung (Dependen)	29
4.5 Definisi Operasional	30
4.6 Alat dan Bahan Penelitian	30
4.6.1 Alat dan Bahan untuk Perawatan Hewan Coba	30
4.6.2 Alat dan Bahan untuk Induksi Hipertensi	31
4.6.3 Alat dan Bahan untuk Kultur Bakteri <i>P. gingivalis</i>	31
4.6.4 Alat dan Bahan untuk Isolasi OMP <i>P. gingivalis</i>	31
4.6.5 Alat dan Bahan untuk Penambahan Ajuvan.....	31
4.6.6 Alat dan Bahan untuk Penyuntikan Vaksin.....	31
4.6.7 Alat dan Bahan untuk Pembedahan Tikus	31
4.6.8 Alat dan Bahan untuk Pengukuran Kadar MDA	31
4.7 Metode Pengumpulan Data.....	32
4.7.1 Perawatan Hewan Coba.....	32
4.7.2 Induksi Hipertensi	32
4.7.3 Kultur Bakteri <i>P. gingivalis</i>	32
4.7.4 Isolasi OMP <i>P. gingivalis</i>	33
4.7.5 Penambahan Ajuvan	34
4.7.6 Penyuntikan Vaksin	34
4.7.7 Pembedahan Tikus.....	34
4.7.8 Pengecekan Kadar Malondialdehid (MDA)	34
4.8 Pengolahan Data.....	35
4.9 Diagram Alur Penelitian.....	36

BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian	37
5.1.1 Hasil identifikasi Bakteri	37
5.1.2 Hasil <i>Profiling Outer Membrane Protein (OMP) Porphyromonas gingivalis</i>	37
5.1.3 Hasil Pengukuran Tekanan Darah dan Kadar MDA	38
5.2 Analisis Data	41

BAB 6. PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Pemberian <i>Outer Membrane Protein (OMP) Porphyromonas gingivalis</i> terhadap Kadar Malondialdehid (MDA)	45
6.2 Keterbatasan Penelitian	49

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

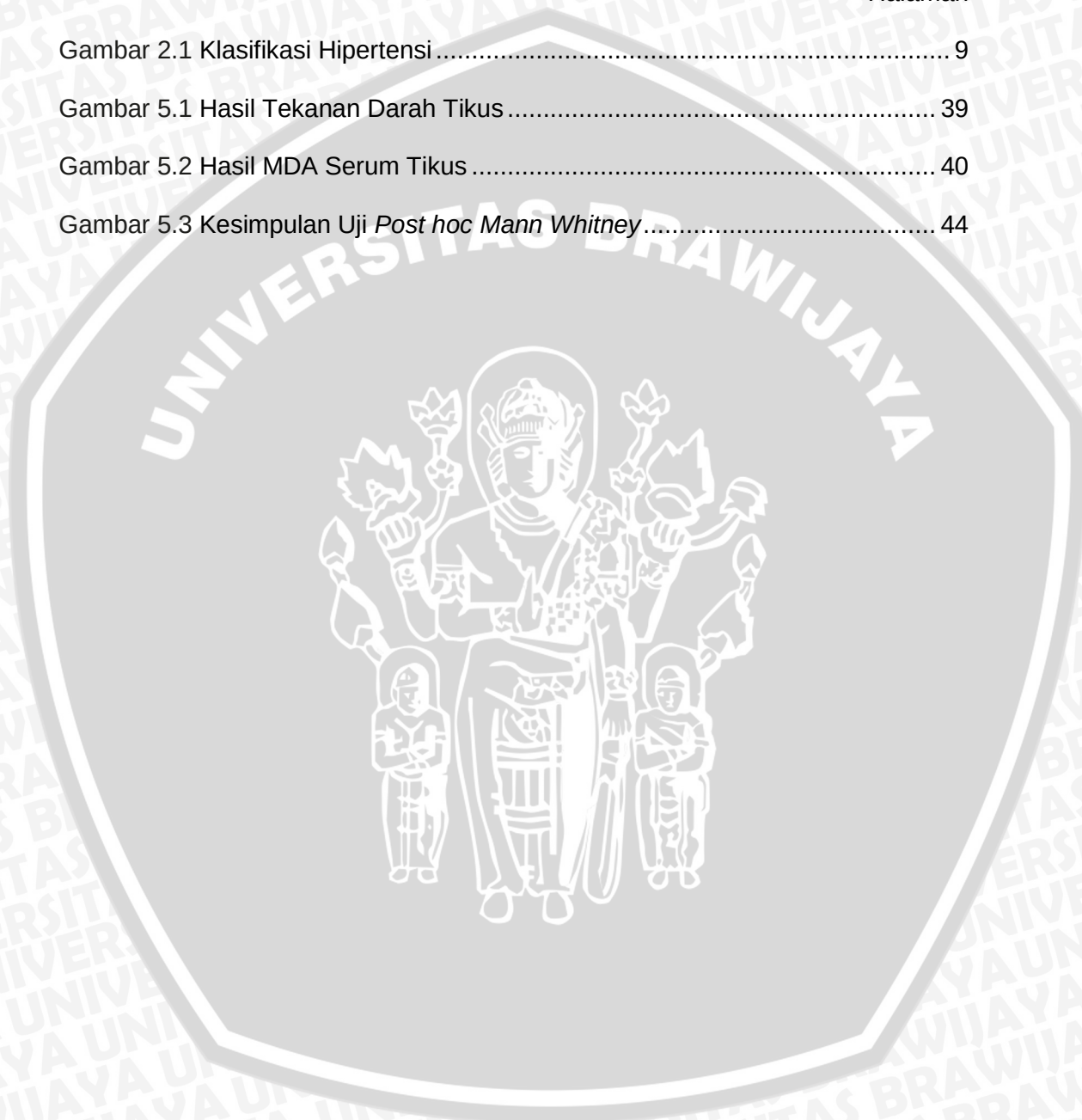
7.1 Kesimpulan	50
7.2 Saran	50

DAFTAR PUSTAKA	51
----------------------	----

LAMPIRAN-LAMPIRAN	61
-------------------------	----

DAFTAR TABEL

	Halaman
Gambar 2.1 Klasifikasi Hipertensi	9
Gambar 5.1 Hasil Tekanan Darah Tikus	39
Gambar 5.2 Hasil MDA Serum Tikus	40
Gambar 5.3 Kesimpulan Uji <i>Post hoc Mann Whitney</i>	44



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	6
Gambar 2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i> pada Agar Darah	6
Gambar 2.3 Outer Membrane Protein (OMP) <i>P. gingivalis</i>	8
Gambar 2.4 Diagnosis Hipertensi	10
Gambar 2.5 Terapi Hipertensi.....	13
Gambar 2.6 Patogenesis Disfungsi Endotel.....	14
Gambar 2.7 Relaksasi Vaskuler yang Bergantung Endotelin	19
Gambar 2.8 Reaksi dalam Pengukuran MDA	20
Gambar 2.9 Enzim NADPH Oksidase.....	22
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian	26
Gambar 4.1 Alur Penelitian.....	36
Gambar 5.1 Pewarnaan Gram <i>P. gingivalis</i>	37
Gambar 5.2 Hasil Profiling Outer Membrane Protein (OMP) <i>P. gingivalis</i> dengan SDS PAGE	38
Gambar 5.3 Rerata Tekanan Darah Tikus	39
Gambar 5.4 Rerata Kadar MDA Serum Tikus.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Pernyataan Keaslian Tulisan.....	61
Lampiran 2 Surat Pernyataan Kelaikan Etik.....	62
Lampiran 3 Data Hasil Pengukuran Tekanan Darah.....	63
Lampiran 4 Data Hasil Pengukuran Kadar MDA.....	65
Lampiran 5 <i>Output</i> SPSS.....	66
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian.....	71



DAFTAR SINGKATAN

ACEi : *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor*

ARB : *Angiotensin Receptor Blocker*

CE : *Cholesteryl Esther*

CFA : *Complete Freud's Adjuvant*

CRP : *C Reative protein*

DNA : *Deoxyribo Nucleic Acid*

DOCA : *Deoxycorticosterone Acetat*

eNOS : *endothelial Nitric Oxide Synthase*

ET_A : *Endotelin tipe A*

ET_B : *Endotelin tipe B*

ICAM-1 : *Intracellular Adhesive Molecule 1*

IgA : *Imunoglobulin A*

IgG : *Imunoglobulin G*

IgM : *Imunoglobulin M*

IFA : *Incomplete Freud's Adjuvant*

IL-1 β : *Interleukin 1 β*

IL-6 : *Interleukin 6*

IL-8	: Interleukin 8
LDL	: Low Density Lipoprotein
MCP-1	: Monocyte Chemotactic Protein 1
NO	: Nitric Oxide
MDA	: Malondialdehyde
MDA-LDL	: Malondialdehyde modified Low Density Lipoprotein
NaCl	: Natrium Clorida
NADPH oksidase	: Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen Oksidase
NOG	: <i>n</i> -octyl β -D-glucopyranoside
OMP	: Outer Membrane Protein
PC	: Phosphorylcholine
<i>P. gingivalis</i>	: Porphyromonas gingivalis
POVPC	: 1-palmitoyl-2-(5-oxovaleroyl)-sn-3-phosphorylcholine
PUFA	: Polyusaturated fatty acid
ROS	: Reactive Oxygen Species
SR	: Scavanger Receptor
TBA	: Thiobarbituric Acid

TBARS : Thiobarbituric Acid Reactive Substances

TCA : Trichloroacetic Acid

TH₁ : T Helper 1

TH₂ : T Helper 2

TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha

VCAM-1 : Vascular Adhesive Molecule 1

