

**EFEKTIVITAS VAKSIN IMMUNOGLOBULIN Y (IgY) TERHADAP
Porphyromonas gingivalis DARI KUNING TELUR AYAM (*Gallus gallus
domesticus*) TERHADAP KADAR MMP-8 PADA TIKUS WISTAR**

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Gigi



Oleh :

Ijma Gruvieta Putri

NIM. 145070400111028

PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI

**EFEKTIVITAS VAKSIN IMMUNOGLOBULIN Y (IgY) TERHADAP
Porphyromonas gingivalis DARI KUNING TELUR AYAM (*Gallus gallus
domesticus*) TERHADAP KADAR MMP-8 PADA TIKUS WISTAR**

Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Telah diuji pada:

Hari: Kamis

Tanggal: 8 Februari 2018

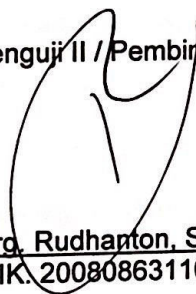
Telah dinyatakan lulus oleh:

Penguji I



drg. Viranda Sutanti, M.Si
NIK. 2013048408272001

Penguji II / Pembimbing 1



drg. Rudhanton, Sp.Perio
NIK. 2008086311081001

Penguji III / Pembimbing 2



drg. Diena Fuadiyah, M.Si
NIK. 2014058612292001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya



drg. R. Setyohadi, MS
NIP. 195802121985031003

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Efektivitas Vaksin Immunoglobulin Y (IgY) terhadap *Porphyromonas gingivalis* dari Kuning Telur Ayam (*Gallus gallus domesticus*) terhadap Kadar MMP-8 pada Tikus Wistar” dapat diselesaikan tepat pada waktunya.

Dengan selesainya skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada:

1. drg. R. Setyohadi, MS sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
2. drg. Kartika Andari Wulan, Sp.Pros sebagai ketua program studi Sarjana Kedokteran Gigi yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
3. drg. Viranda Sutanti, M.Si sebagai penguji ujian skripsi yang memberikan masukan untuk menyempurnakan naskah skripsi.
4. drg. Rudhanton, Sp.Perio sebagai pembimbing pertama, yang telah memberikan arahan, masukan dan senantiasa memberi semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Drg. Diena Fuadiyah, MSi sebagai pembimbing kedua, yang dengan sabar telah membimbing untuk bisa menulis dengan baik, memberi arahan dan masukan sehingga skripsi ini dapat selesai dengan lancar.
6. Segenap anggota Tim Pengelola Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, yang telah membantu melancarkan urusan administrasi, sehingga penulis dapat melaksanakan skripsi dengan lancar.

7. Para analis di laboratorium Biokimia yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.
8. Yang tercinta Bapak Budi Wiyoto, ibunda Lely Indah Mindarti serta adik tercinta Dian Gusti Akbar dan Lelyta Ananda Putri yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan dan doa.
9. Sahabat-sahabat yang selalu ada dalam situasi dan kondisi apapun Amalia Hanum Marissa, Elsavira Askandar, Dena Savira Andriani dan Novita Harera Paramadina . Terima kasih untuk supportnya, sukses bareng ya!
10. Partner yang selalu sabar, Sandy Kurnia Arifda Ramadhan. Terimakasih buat arahan, masukan, kata semangat dan doanya selama ini. Sukses selalu!
11. Teman-teman seperjuangan FKG angkatan 2014, sukses bersama yaa!
12. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 4 Februari 2018

Penulis

ABSTRAK

Putri, Ijma Gruvieta. 2018. *Efektivitas Vaksin Immunoglobulin Y (IgY) Terhadap Porphyromonas gingivalis Dari Kuning Telur Ayam (Gallus gallus domesticus) Terhadap Kadar MMP-8 Pada Tikus Wistar*. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1.) Rudhanton, drg., Sp.Perio. (2.) Diena Fuadiyah, drg., M.Si.

Periodontitis adalah proses inflamasi pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh kelompok mikroorganisme spesifik menghasilkan kerusakan ligamen periodontal dan tulang alveolar yang ditandai dengan pembentukan poket, resesi maupun keduanya. Salah satu bakteri yang dominan pada periodontitis adalah *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*). Proses inflamasi periodontitis diikuti oleh pelepasan sitokin dan enzim kolagenase seperti *Matriks Metalloproteinase* (MMP). MMP-8 dikenal predominan dan bentuk paling umum dari penyakit periodontal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas vaksin Immunoglobulin Y (IgY) terhadap *Porphyromonas gingivalis* dari kuning telur ayam (*Gallus gallus domesticus*) terhadap kadar MMP-8 pada tikus wistar. Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental design*) di laboratorium secara in vivo dengan tikus wistar sebagai hewan coba. Metode penelitian ini adalah dengan mengisolasi IgY dari ayam yang telah diinjeksi bakteri *P. gingivalis*. Setelah itu memberi perlakuan pada 30 ekor tikus dengan lima kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), dan tiga kelompok perlakuan (P1, P2, P3) dengan dosis masing-masing sebesar 15 µg/ml, 30 µg/ml, dan 45 µg/ml. Aplikasi vaksin IgY diberikan secara intrasulkus pada gigi insisivus tikus. Keesokan harinya dilakukan injeksi antigen selama 3 hari sekali selama 2 minggu kemudian tikus didekaputasi. Pengukuran kadar MMP-8 dari serum darah tikus menggunakan ELISA kit MMP-8 *Rat*. Data penelitian berupa kadar MMP-8 yang dianalisis statistika dengan uji one way analysis of variant (ANOVA). Berdasarkan hasil statistik one way ANOVA didapatkan nilai ($p > 0,05$; $p = 0,070$). Kesimpulan dari penelitian ini yaitu belum terdapat perbedaan yang signifikan pada tiap kelompok perlakuan. Namun, vaksin IgY dengan dosis 45µg/ml paling efektif untuk menurunkan kadar MMP-8.

Kata Kunci: IgY, kadar MMP-8, *Porphyromonas gingivalis*.

ABSTRACT

Putri, Ijma Gruvieta. 2018. *Effectiveness of Immunoglobulin Y (IgY) Vaccine to Porphyromonas gingivalis from Hen's Egg Yolk (Gallus gallus domesticus) to MMP-8 Levels in Rats*. Final Assignment, Dentistry Faculty of Brawijaya University. Supervisors: (1.) Rudhanton, drg., Sp.Perio. (2.) Diena Fuadiyah, drg., M.Si.

Periodontitis is an inflammatory process in the tissue of dental support caused by a specific group of microorganisms resulting in periodontal ligament and alveolar bone damage marked by pocket formation, recession or both. Periodontitis is dominated by *Porphyromonas gingivalis* (P.gingivalis) bacteria. The inflammatory process of periodontitis is followed by the release of cytokines and collagenase enzymes such as the *Metalloproteinase Matrix* (MMP). MMP-8 is known to be predominant and it is the most common form of periodontal disease. The study aimed to investigate the effectiveness of Immunoglobulin Y (IgY) vaccine to *Porphyromonas gingivalis* from hen's egg yolk (*Gallus gallus domesticus*) to MMP-8 levels in rats. This study used true experimental design in laboratory by in vivo with wistar rats as experimental animals. This research method was by extracting the IgY from chicken with P. gingivalis bacteria. Thereafter, it was followed by giving treatment to 30 rats with five groups, namely the negative control group (K-), positive control group (K +), and three treatment groups (P1, P2, P3) with each dose of 15 µg / ml, 30 µg / ml, and 45 µg / ml. The application of the vaccine was given intra-sulcus to the rat's incisors. In the next day, antigen injection once for 3 days for 2 weeks was done and then the rats were decapitated. The measurement of MMP-8 levels from rat blood serum used ELISA kit of MMP-8 Rat. The research data were MMP-8 level analysed statistically using one way analysis of variant (ANOVA). The statistical result of one way ANOVA was ($p > 0,05$; $p = 0,070$) value. The conclusion of this research was that there was no significant difference in each treatment group. However, the 45 µg/ml dose of IgY vaccine was the most effective at lowering MMP-8 levels.

Keywords: IgY, MMP-8 levels, *Porphyromonas gingivalis*.

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Persetujuan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	x
Daftar Tabel	xi
Daftar Lampiran	xii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Vaksin	5
2.1.1 Prinsip Vaksin	6
2.2 Sistem Imun	7
2.2.1 Respon Imun Non Spesifik	8
2.2.2 Respon Imun Spesifik	9
2.3 Immunoglobulin Y (IgY)	11
2.3.1 Definisi Immunoglobulin	11
2.3.2 Definisi IgY	11
2.3.3 Fungsi IgY	11
2.3.4 Perbedaan IgY dengan IgG	12

2.4	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	14
2.4.1	Klasifikasi <i>P. gingivalis</i>	14
2.4.2	Karakteristik <i>P. gingivalis</i>	15
2.4.3	Peran <i>P. gingivalis</i> dalam Patogenesis Periodontitis	15
2.5	Kuning Telur Ayam Sebagai Sumber Immunoglobulin Y	16
2.6	<i>Matriks Metalloproteinase</i> (MMPs)	18

BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1	Kerangka Konsep.....	19
3.2	Hipotesis Penelitian.....	20

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1	Rancangan Penelitian	21
4.2	Populasi dan Sampel	21
4.2.1	Kriteria Inklusi	21
4.2.2	Kriteria Eksklusi	21
4.2.3	Metode Pengambilan Sampel	22
4.2.4	Estimasi Jumlah Sampel	22
4.3	Variabel Penelitian	23
4.3.1	Variabel Bebas	23
4.3.2	Variabel Terikat	23
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian	23
4.4.1	Lokasi	23
4.4.2	Waktu	23
4.5	Alat dan Bahan	24
4.5.1	Alat/Instrumen Penelitian	24
4.5.2	Bahan Penelitian	25
4.6	Definisi Operasional	25
4.7	Prosedur Penelitian	26
4.7.1	Pemberian Pakan Tikus	26
4.7.2	Pemilihan Tikus Galur Wistar	26
4.7.3	Identifikasi Bakteri <i>P. gingivalis</i>	26
4.7.4	Pembuatan Suspensi <i>P. Gingivalis</i>	26
4.7.5	Pemilihan Ayam	27
4.7.6	Produksi Antibodi IgY <i>P. gingivalis</i>	27

4.7.7 Uji SDS-PAGE	28
4.7.8 Uji <i>Western Blot</i>	28
4.7.9 Membuat Tikus Model Peridontitis	29
4.7.10 Aplikasi Antibodi IgY	29
4.7.11 Pengambilan Sampel	29
4.7.12 Pengukuran Kadar MMP-8	29
4.8 Alur Prosedur Penelitian	30
4.9 Analisis Data	31
 BAB V HASIL PENELITIAN	
5.1 Hasil Penelitian	33
5.1.1 Uji SDS-PAGE	33
5.1.2 Uji <i>Western Blot</i>	34
5.1.3 Pengukuran Kadar MMP-8	34
5.2 Analisis Data	36
5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas	36
5.2.2 Uji <i>One Way ANOVA (Analysis of Varian)</i>	36
5.2.3 Uji <i>Post Hoc Tukey HSD</i>	37
5.2.4 Uji Korelasi dan Regresi	38
 BAB VI PEMBAHASAN	 49
 BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1 Kesimpulan	46
7.2 Saran	46
 DAFTAR PUSTAKA	 47
 LAMPIRAN	 51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Imunitas Aktif dan Pasif	7
Gambar 2.2 Mekanisme Imunitas Bawaan dan Imunitas Adaptif	8
Gambar 2.3 Struktur Immunoglobulin	11
Gambar 2.4 Perbedaan Struktur IgY dengan IgG	13
Gambar 2.5 Bakteri <i>P. gingivalis</i> dengan Pewarnaan Zhou	14
Gambar 2.6 Gambaran Mikroskopis <i>P.gingivalis</i>	15
Gambar 4.1 Diagram Alur Prosedur Penelitian	31
Gambar 5.1 Hasil SDS-PAGE IgY Menurut Teori	33
Gambar 5.2 Hasil SDS-PAGE IgY Hasil Penelitian	33
Gambar 5.3 Profil SDS-PAGE dari IgY dengan OMP <i>P.gingivalis</i> Menurut Literatur	34
Gambar 5.4 Hasil Uji <i>Western Blot</i> IgY dan OMP <i>P.gingivalis</i>	34
Gambar 5.5 Rerata Kadar MMP-8 Setelah Pemberian Vaksin IgY	35

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Kadar MMP-8	35
Tabel 5.2 Hasil Uji <i>Post Hoc Tukey HSD</i>	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Pernyataan Keaslian Tulisan	51
Lampiran 2	Keterangan Kelaikan Etik	52
Lampiran 3	Sertifikat Hasil Uji <i>Porphyromonas gingivalis</i>	53
Lampiran 4	Hasil Uji Statistik	54
Lampiran 5	Dokumentasi Penelitian.....	58

ABSTRAK

Putri, Ijma Gruvieta. 2018. *Efektivitas Vaksin Immunoglobulin Y (IgY) Terhadap Porphyromonas gingivalis Dari Kuning Telur Ayam (Gallus gallus domesticus) Terhadap Kadar MMP-8 Pada Tikus Wistar*. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1.) Rudhanton, drg., Sp.Perio. (2.) Diena Fuadiyah, drg., M.Si.

Periodontitis adalah proses inflamasi pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh kelompok mikroorganisme spesifik menghasilkan kerusakan ligamen periodontal dan tulang alveolar yang ditandai dengan pembentukan poket, resesi maupun keduanya. Salah satu bakteri yang dominan pada periodontitis adalah *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*). Proses inflamasi periodontitis diikuti oleh pelepasan sitokin dan enzim kolagenase seperti *Matriks Metalloproteinase* (MMP). MMP-8 dikenal predominan dan bentuk paling umum dari penyakit periodontal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas vaksin Immunoglobulin Y (IgY) terhadap *Porphyromonas gingivalis* dari kuning telur ayam (*Gallus gallus domesticus*) terhadap kadar MMP-8 pada tikus wistar. Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental design*) di laboratorium secara in vivo dengan tikus wistar sebagai hewan coba. Metode penelitian ini adalah dengan mengisolasi IgY dari ayam yang telah diinjeksi bakteri *P. gingivalis*. Setelah itu memberi perlakuan pada 30 ekor tikus dengan lima kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), dan tiga kelompok perlakuan (P1, P2, P3) dengan dosis masing-masing sebesar 15 µg/ml, 30 µg/ml, dan 45 µg/ml. Aplikasi vaksin IgY diberikan secara intrasulkus pada gigi insisivus tikus. Keesokan harinya dilakukan injeksi antigen selama 3 hari sekali selama 2 minggu kemudian tikus didekaputasi. Pengukuran kadar MMP-8 dari serum darah tikus menggunakan ELISA kit MMP-8 Rat. Data penelitian berupa kadar MMP-8 yang dianalisis statistika dengan uji one way analysis of variant (ANOVA). Berdasarkan hasil statistik one way ANOVA didapatkan nilai ($p > 0,05$; $p = 0,070$). Kesimpulan dari penelitian ini yaitu belum terdapat perbedaan yang signifikan pada tiap kelompok perlakuan. Namun, vaksin IgY dengan dosis 45µg/ml paling efektif untuk menurunkan kadar MMP-8.

Kata Kunci: IgY, kadar MMP-8, *Porphyromonas gingivalis*.

ABSTRACT

Putri, Ijma Gruvieta. 2018. *Effectiveness of Immunoglobulin Y (IgY) Vaccine to Porphyromonas gingivalis from Hen's Egg Yolk (Gallus gallus domesticus) to MMP-8 Levels in Rats*. Final Assignment, Dentistry Faculty of Brawijaya University. Supervisors: (1.) Rudhanton, drg., Sp.Perio. (2.) Diena Fuadiyah, drg., M.Si.

Periodontitis is an inflammatory process in the tissue of dental support caused by a specific group of microorganisms resulting in periodontal ligament and alveolar bone damage marked by pocket formation, recession or both. Periodontitis is dominated by *Porphyromonas gingivalis* (P.gingivalis) bacteria. The inflammatory process of periodontitis is followed by the release of cytokines and collagenase enzymes such as the *Metalloproteinase Matrix* (MMP). MMP-8 is known to be predominant and it is the most common form of periodontal disease. The study aimed to investigate the effectiveness of Immunoglobulin Y (IgY) vaccine to *Porphyromonas gingivalis* from hen's egg yolk (*Gallus gallus domesticus*) to MMP-8 levels in rats. This study used true experimental design in laboratory by in vivo with wistar rats as experimental animals. This research method was by extracting the IgY from chicken with P. gingivalis bacteria. Thereafter, it was followed by giving treatment to 30 rats with five groups, namely the negative control group (K-), positive control group (K+), and three treatment groups (P1, P2, P3) with each dose of 15 µg / ml, 30 µg / ml, and 45 µg / ml. The application of the vaccine was given intra-sulcus to the rat's incisors. In the next day, antigen injection once for 3 days for 2 weeks was done and then the rats were decapitated. The measurement of MMP-8 levels from rat blood serum used ELISA kit of MMP-8 Rat. The research data were MMP-8 level analysed statistically using one way analysis of variant (ANOVA). The statistical result of one way ANOVA was ($p > 0,05$; $p = 0,070$) value. The conclusion of this research was that there was no significant difference in each treatment group. However, the 45 µg/ml dose of IgY vaccine was the most effective at lowering MMP-8 levels.

Keywords: IgY, MMP-8 levels, *Porphyromonas gingivalis*.