

**PENGARUH PEMBERIAN VAKSINASI MENGGUNAKAN DINDING SEL
BAKTERI PORPHYROMONAS GINGIVALIS TERHADAP
BERAT LEMAK PERUT TIKUS PADA TIKUS WISTAR JANTAN
YANG DIINDUKSI DIET ATEROGENIK**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh :

Alan Vahlevi

NIM : 115070101111014

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2014

TUGAS AKHIR
PENGARUH PEMBERIAN VAKSINASI MENGGUNAKAN DINDING SEL
BAKTERI PORPHYROMONAS GINGIVALIS TERHADAP
BERAT LEMAK PERUT TIKUS PADA TIKUS WISTAR JANTAN
YANG DIINDUKSI DIET ATEROGENIK

Oleh :

Alan Vahlevi

NIM: 1150701111014

Telah Diikutsertakan dalam
Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional (PIMNAS) XXVI
Mataram, 9-13 September 2013

Pembimbing

Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM, SpMK (K)
NIP. 19480706 198002 1001

Mengetahui,
Ketua Program Studi

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

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum wr. wb.

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah SWT, yang telah memberikan petunjuk dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini, dengan judul "Pengaruh Pemberian Vaksinasi Menggunakan Dinding Sel Bakteri *Porphyromonas gingivalis* terhadap Berat Lemak Perut Tikus pada Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Aterosklerosis". Tugas akhir ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked) pada program pendidikan dokter umum Universitas Brawijaya Malang.

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. Dr. dr. Karyono Mintaroem spPA, selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan saya kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM, SpMK (K), sebagai pembimbing yang selalu memberi masukan, saran serta bimbingan dalam proses menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. dr. Bambang Prijadi, MS selaku Pembantu Dekan III FKUB atas bimbingan dan arahan selama proses penelitian, persiapan, karantina, dan presentasi PIMNAS.
4. Yang tercinta Mama Khusnul Khotimah dan Abah Husin Arofin beserta Adik-adikku, Fairosa Janah, Muhammad Habibilah Adha, Muhammad

Gatthan Saleh Husin serta keluarga besar penulis yang senantiasa memberikan dorongan, semangat, dan doa dalam menghadapi kendala teknis dan psikologis dalam menyelesaikan penelitian ini

5. DIKTI selaku penyelenggara PIMNAS 2013 dan penyedia dana penelitian
6. Untuk kakak-kakak kelompok PKM-P "HECTOR" Kak Aditya Indra M, Mbak Annisa Maulidia Mahdi, Mbak Wahyu Triadmajani, dan Mbak Tarbiyah Catur S yang telah banyak berbagi ilmu dan pengalamannya selama dalam penelitian.
7. Seluruh sahabat-sahabat dan teman-teman tercinta yang selalu memberikan dukungan dan semangat dalam menyelesaikan tugas akhir ini, yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu.
8. Petugas Laboratorium Kebidanan, Biomedik, Mikrobiologi, Fisiologi, Farmakologi, dan Patologi Anatomi FKUB yang telah membantu penulis.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan penelitian ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu, penulis memerlukan saran dan kritik yang membangun. Akhirnya, semoga penelitian ini dapat menambah wawasan dan memberi manfaat.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Malang, 30 November 2014

Penulis

ABSTRAK

Vahlevi, Alan. 2014. Pengaruh Pemberian Vaksinasi Menggunakan Dinding Sel Bakteri *Porphyromonas gingivalis* terhadap Berat Lemak Perut Tikus pada Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Aterosklerosis. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM, SpMK (K)

Oksidasi terhadap *low density lipoprotein* LDL menyebabkan terbentuknya *reactive aldehyde*, terutama *malondialdehyde* (MDA) dan menyebabkan LDL tidak dikenali oleh tubuh. MDA-LDL yang telah terbentuk kemudian akan berikatan dengan reseptor CD36 pada makrofag. Sehingga akan menyebabkan terbentuknya sitokin inflamasi, antara lain TNF- α dan IL-6. TNF- α dan IL-6 akan menyebabkan HSL & ATGL yang berperan pada proses lipolisis menurun. Penurunan proses lipolisis akan menyebabkan TG tidak bisa dipecah menjadi asam lemak bebas dan gliserol sehingga menyebabkan hipertropi adiposit. Hipertropi adiposit dapat menyebabkan obesitas. Obesitas ditandai dengan meningkatnya berat lemak perut tikus. Obesitas sendiri erat kaitannya dengan aterosklerosis. *Porphyromonas gingivalis* mengekspresikan *arginine-specific gingipain* (Rgp) pada dinding sel bakteri tersebut yang mampu bereaksi silang dan berikatan dengan MDA-LDL. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dari pemberian vaksinasi menggunakan dinding sel bakteri *P. gingivalis* terhadap berat lemak perut tikus pada tikus wistar jantan yang diinduksi diet aterogenik. Penelitian ini adalah eksperimen murni di laboratorium secara *in vivo* dengan metode *Randomized Post Test Only Controlled Group Design*. 25 tikus wistar jantan usia 7-8 minggu dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol positif, kontrol negatif, dinding sel-CFA/IFA 100 μ l, CFA/IFA 100 μ l, dinding sel 100 μ l yang diberi diet aterogenik selama 30 hari dan diinjeksi vaksin 2 minggu sekali sebanyak 3 kali secara intraperitoneal. Tikus dibedah pada hari ke-31 dan diambil sampel darah dan lemak perutnya. Uji spesifisitas antibodi yang dihasilkan dengan *western blot* dan pengukuran berat lemak perut tikus dengan timbangan. Pada penelitian ini vaksinasi dinding sel bakteri *P. gingivalis* mampu menginduksi pembentukan antibodi yang spesifik terhadap protein *arginine specific gingipain* (Rgp) pada dinding sel bakteri tersebut yang dapat bereaksi silang dan mengikat MDA-LDL dalam darah tikus sehingga dapat mencegah terjadinya hipertropi adiposit. Hal tersebut dibuktikan dengan hasil uji anova yang menunjukkan penurunan berat lemak perut tikus secara signifikan ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian vaksinasi menggunakan dinding sel bakteri *P. gingivalis* mampu menurunkan berat lemak perut tikus yang diinduksi aterosklerosis.

Kata kunci: aterosklerosis, vaksin, MDA-LDL, *arginine-specific gingipain* (Rgp), *Porphyromonas gingivalis*, berat lemak perut tikus

ABSTRACT

Vahlevi, Alan. 2014. The Effect of Vaccination Using *Porphyromonas gingivalis* Wall Against Abdominal Visceral Fat Weight in the Atherosclerosis Rat Model. Final Final Assignment, Faculty of Medicine Brawijaya University. Supervisors: (1) Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM, SpMK (K)

The oxidation of low density lipoprotein LDL causes the formation of reactive aldehydes, especially malondialdehyde (MDA) and causes LDL can not be recognized by the body. MDA-LDL that has formed will bind to the CD36 receptor on macrophages. So will cause the formation of inflammatory cytokines, including TNF- α and IL-6. TNF- α and IL-6 will cause the HSL and ATGL that play a role in the process of lipolysis decreased. Decreased lipolysis process will lead to TG can not be broken down into free fatty acids and glycerol, causing hypertrophic adipocytes. hypertrophic adipocytes can lead to obesity. In obese rat is characterized by increased abdominal visceral fat of rat. Obesity close relation to atherosclerosis. *Porphyromonas gingivalis* express arginine-specific gingipain (Rgp) on its cell wall that is capable to cross-react and bind to MDA-LDL. The objective of this research was to know the effect of vaccination using bacterial cell wall of *Porphyromonas gingivalis* against abdominal visceral fat weight in male wistar rats induced atherogenic diet. This research was an experimental laboratory research with posttest only controlled group design. 25 male rats (7-8 weeks) were divided into 5 groups, negative control, positive control, first group which was vaccinated by *Porphyromonas gingivalis* cell wall and CFA-IFA, second group which was vaccinated by *Porphyromonas gingivalis* cell wall only, and the last group which were vaccinated by CFA-IFA only. We gave all groups except negative control the atherogenic diet for 30 days. Vaccine were injected intraperitoneally three times at two-week interval. After 30 days, the rats were dissected to draw the blood for sample and measure the weight of abdominal visceral fat rat. Test specificity of antibodies was done by western-blot and rat abdominal fat weight measurement with balance scales. Results showed that administration of *Porphyromonas gingivalis* cell wall could induce specific antibody formation against arginine-specific gingipain (Rgp) that can cross-react and bind to MDA-LDL in the blood of rat, so can prevent process of adipocyte hypertrophy. This is evidenced by anova test showed the significant decrease of abdominal visceral fat weigh in atherosclerosis rats ($p < 0,05$). Based on the result, it can be concluded that vaccination using *Porphyromonas gingivalis* cell wall could decrease abdominal visceral fat weight in atherosclerosis rats model.

Keywords: Atherosclerosis, vaccination, MDA-LDL, arginine-specific gingipain (Rgp), *Porphyromonas gingivalis*, abdominal visceral fat

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	xi
Daftar Grafik	xii
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Lampiran.....	xiv
Daftar Singkatan.....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.1 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Keilmuan	5
1.4.2 Manfaat Aplikatif.....	5



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Aterosklerosis.....	6
2.1.1 Definisi Aterosklerosis	6
2.1.2 Epidemiologi Aterosklerosis	7
2.1.3 Faktor Resiko Aterosklerosis	8
2.1.4 Patogenesis Aterosklerosis	8
2.1.5 Gejala Klinis Aterosklerosis	12
2.1.6 Metode Diagnosis Aterosklerosis.....	13
2.1.7 Terapi Aterosklerosis	13
2.1.8 Hubungan Aterosklerosis dan Obesitas.....	14
2.2 Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	15
2.2.1 Taksonomi dan Morfologi Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	15
2.2.2 Faktor Virulensi Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	15
2.3 Prinsip Vaksinasi	16

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian	18
3.2 Hipotesis Penelitian.....	20

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	21
4.2 Populasi dan Sampel	22
4.3 Variabel Penelitian	23
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	24



4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian	24
4.5.1 Perawatan Tikus.....	24
4.5.2 Pembuatan Ransum Makanan Diet Normal.....	24
4.5.3 Pembuatan Ransum Makanan Diet Aterogenik	24
4.5.4 Kultur Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	25
4.5.5 Isolasi Dinding Sel dari Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	25
4.5.6 Penambahan Adjuvant	25
4.5.7 Pembedahan Tikus.....	25
4.5.8 Uji Spesifisitas Antibodi dengan <i>Western Blot</i>	25
4.5.9 Penimbangan Berat Lemak Perut	25
4.6 Definisi Istilah/Operasional	26
4.7 Prosedur Penelitian	26
4.7.1 Perawatan Tikus.....	26
4.7.2 Pembuatan Diet Normal	27
4.7.3 Pembuatan Diet Aterogenik.....	27
4.7.4 Kultur Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	28
4.7.5 Penambahan Adjuvant	28
4.7.6 Isolasi Dinding Sel dari Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	28
4.7.7 Injeksi Vaksin	29
4.7.8 Pembedahan Tikus.....	29
4.7.9 Uji Spesifisitas Antibodi dengan Menggunakan <i>Western Blot</i>	29
4.7.10 Penimbangan Berat Lemak Perut.....	30
4.8 Analisa Data.....	30

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian	31
5.1.1 Hasil Penimbangan Berat Lemak Perut.....	31
5.2 Analisis Data	32
5.2.1 Analisis Data Berat Lemak Perut.....	32

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Efektifitas Pemberian Vaksin Dinding Sel Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> Terhadap Penurunan Berat Lemak Perut Tikus	34
6.2 Potensi Penggunaan Vaksin Dinding Sel Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> pada Manusia	35
6.3 Efek Samping Pemberian Vaksin	36

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan	37
7.2 Saran	37

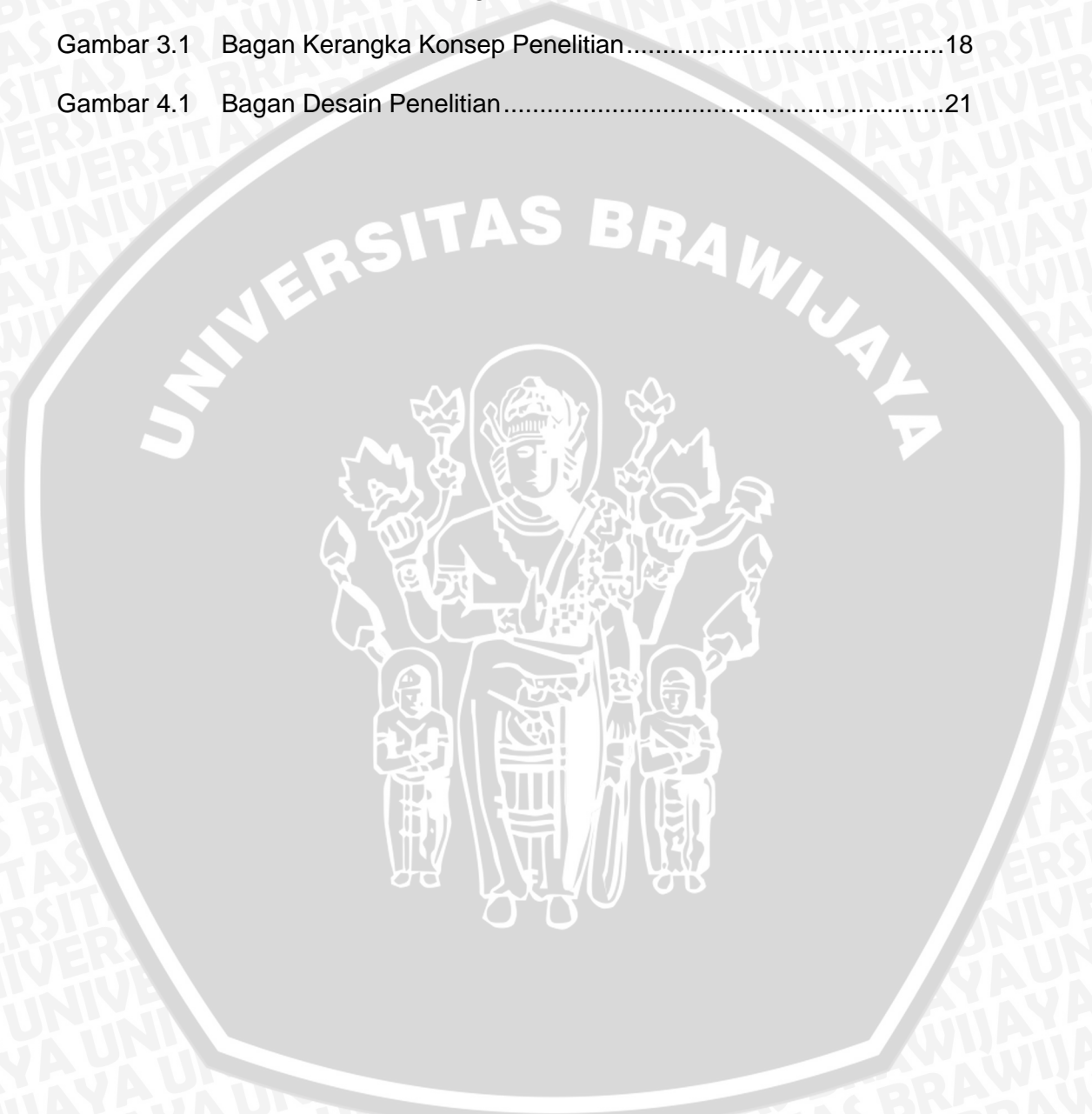
Daftar Pustaka.....	38
---------------------	----

Lampiran	42
----------------	----



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Proses Skematik Patogenesis Aterosklerosis8
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep Penelitian.....18
Gambar 4.1 Bagan Desain Penelitian.....21



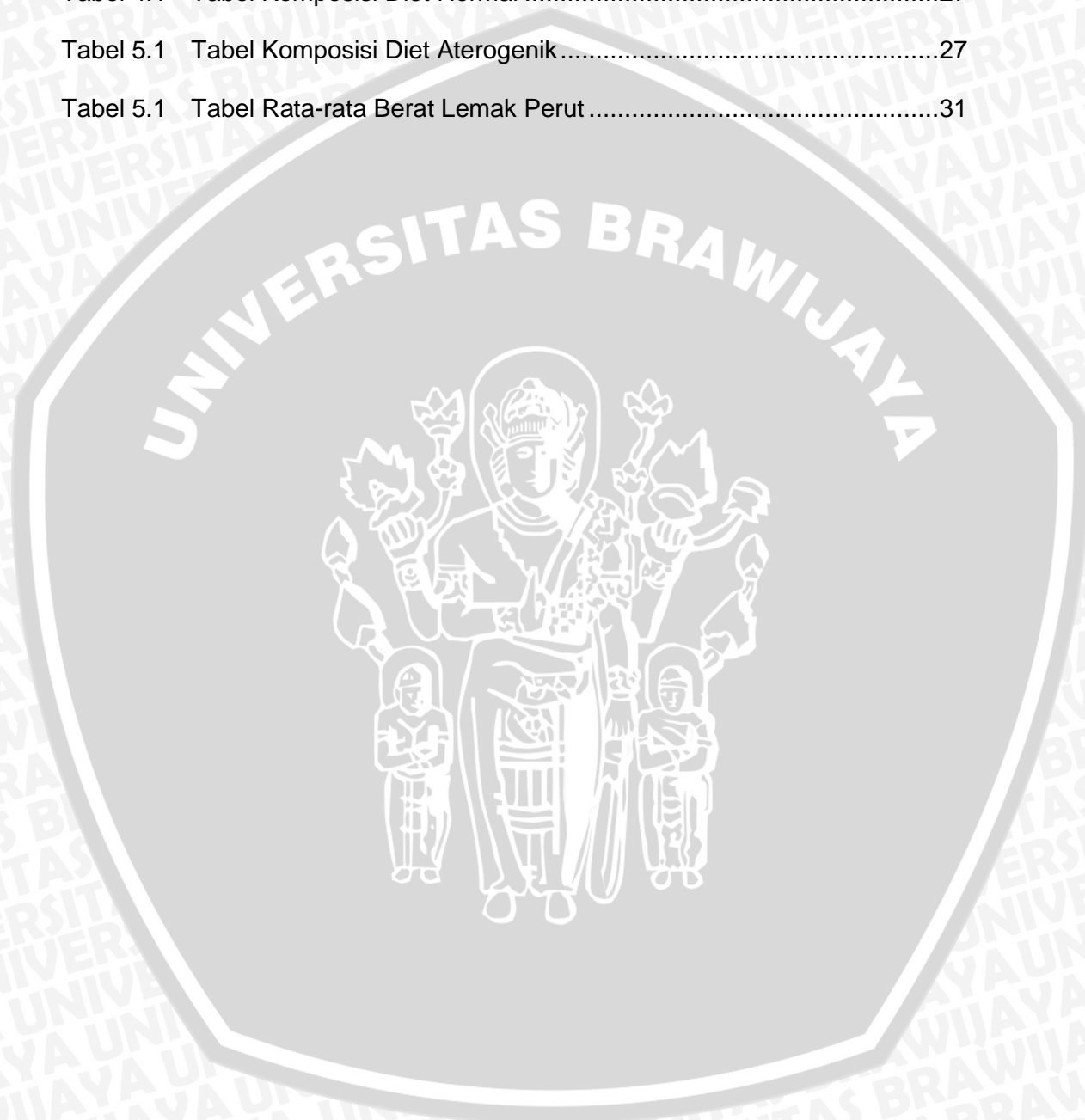
DAFTAR GRAFIK

Grafik 5.1 Berat lemak perut / abdominal visceral fat.....31



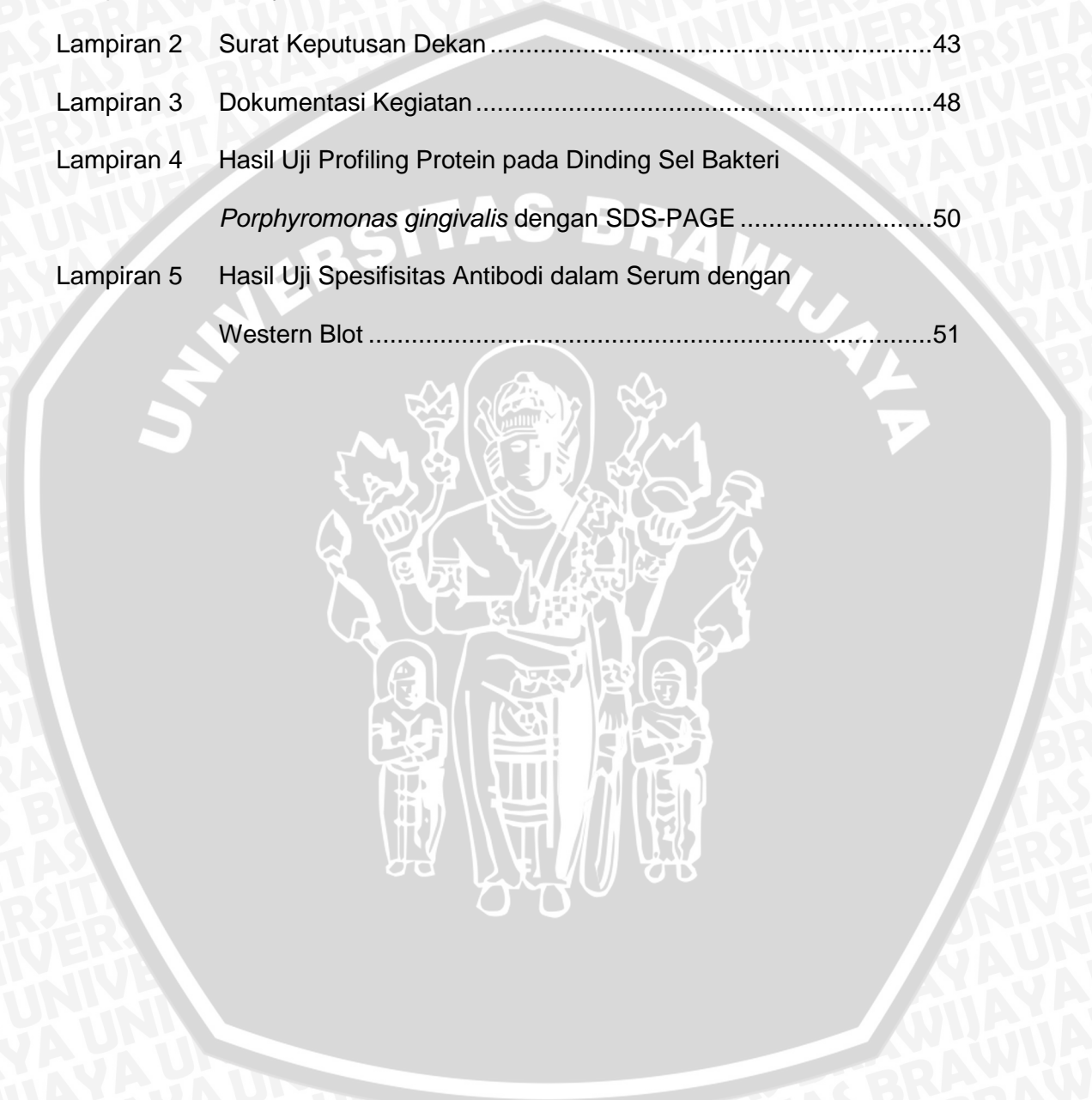
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Tabel Komposisi Diet Normal	27
Tabel 5.1	Tabel Komposisi Diet Aterogenik.....	27
Tabel 5.1	Tabel Rata-rata Berat Lemak Perut	31



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Pernyataan Keaslian Tulisan.....	42
Lampiran 2	Surat Keputusan Dekan	43
Lampiran 3	Dokumentasi Kegiatan	48
Lampiran 4	Hasil Uji Profiling Protein pada Dinding Sel Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> dengan SDS-PAGE	50
Lampiran 5	Hasil Uji Spesifisitas Antibodi dalam Serum dengan Western Blot	51



DAFTAR SINGKATAN

ACAT	Acyl Coenzyme Aracylcholesterol Trasferase
Apo A1	Apolipoprotein A1
ApoB	Apolipoprotein B
ATGL	Adipose triglyceride lipase
CD-36	Cluster Differentiation – 36
CE	Cholesteryl Ester
CFA	Complete Freund's Adjuvant
COPD	<i>Chronic Obstructive Pulmonary Disease</i>
COX	Cyclooxygenase
CT-Scan	Computed Tomography – Scan
DTT	Dithiothreitol
EKG	Elektrokardiografi
ELISA	Enzym Link Immunosorbant Assay
FC	Free Cholesterol
FcR	Reseptor Fc
HDL	Level High Density Lipoprotein
HSL	Hormone Sensitive Lipase
ICAM – 1	Intracellular Adhesion Molecule – 1
IFA	Incomplete Freund's Adjuvant
IL-1	Interleukin-1
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
LDL	Low Density Lipoprotein

LPS	Lipopolisakarida
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein – 1
MDA	Malondialdehyde
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NO	Nitrit Oxide
OxLDL	Oxidized Low Density Lipoprotein
PJK	Penyakit Jantung Koroner
RgP	Arginine-specific Gingipain
ROS	Reactive Oxygen Species
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electroforesis
SR	Scavenger Receptor
TBS-skim milk	Tris Buffer Saline-skim milk
TBS-tween	Tris Buffer Saline-tween
TEMED	Tetramethyldiamine
TG	Triglyceride
TMB	Tetramethylbenzidine
TNF- α	Tumor Necrosis Factor – α
TSA	Trypticase Soy Agar
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule – 1
WHO	World Health Organization