

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Kadar IL-1 β pada Tikus Percobaan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas vaksin *immunoglobulin Y (Ig Y)* dalam kuning telur ayam (*Gallus gallus domesticus*) terhadap ekspresi IL-1 β pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi bakteri *P.gingivalis*. Sampel yang digunakan sebanyak 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang terdiri dari : kelompok kontrol negatif (K-), kelompok kontrol positif (K+) atau OMP, dan tiga kelompok perlakuan (P1, P2, P3) dengan dosis masing- masing sebesar 15 $\mu\text{g/ml}$, 30 $\mu\text{g/ml}$, 45 $\mu\text{g/ml}$. Kemudian dihitung titer IL-1 β dengan menggunakan ELISA Kit IL-1 β Rat.

Tabel 5.1 menunjukkan bahwa rerata kadar IL-1 β pada kontrol negatif (K-) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K+) dengan pemberian OMP bakteri *P.gingivalis* saja tanpa pemberian vaksin IgY menunjukkan kadar lebih tinggi dan memiliki perbedaan yang signifikan. Dimana hal ini diduga bahwa *P.gingivalis* mengeluarkan produk virulensi di daerah yang diinjeksikan bakteri tanpa pemberian *Immunoglobulin Y* sebagai vaksin dan imunoterapi, sehingga pada saat diakhir penelitian dengan melihat kadar dari IL-1 β menggunakan ELISA- Kit tampak peningkatan yang sangat tinggi dibandingkan kelompok perlakuan dan kontrol lainnya.

Kelompok Perlakuan (P1, P2, P3) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K-) menunjukkan data yang tidak signifikan. Hasil analisis dihitung menggunakan uji statistik menunjukkan bahwa kadar IL-1 β pada kelompok perlakuan mendapatkan hasil yang tidak signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif K(-) dengan nilai $p=0,935$, P2 dengan nilai $p= 0,998$, P3

dengan nilai $p = 0,510$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa IgY yang diberikan secara injeksi oral dengan dosis 15 mikrogram/ml dapat digunakan sebagai vaksin dan imunoterapi juga efektif terhadap perlakuan tikus yang diberikan bakteri *P.gingivalis*. Pemberian dosis ditentukan dengan acuan pada penelitian sebelumnya mengenai potensi IgY pada *vibrio cholera* yang efektif pada dosis 20 mikrogram/ml (Jiwintarum, 2014). Keberhasilan imunoterapi dengan menggunakan Ig Y ini, disebabkan karena mekanisme kerja dari Ig Y tersebut yang dapat mengikat faktor virulen dari bakteri *P.gingivalis* kemudian dilemahkan dan dimusnahkan serta dapat mencegah melekatnya dan berkolonisasinya *P. gingivalis* pada sulkus gingiva. Pada saat penelitian, didapatkan 1 ekor tikus mengalami pembengkakan 1 jam setelah diinjeksikan vaksin Ig Y hal ini dapat disebabkan beberapa faktor diantaranya kondisi badan tikus yang sistem imunnya lemah dan kurang tepat saat meletakkan jarum di sulkus gingiva tikus.

Kelompok Perlakuan (P1, P2, P3) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K+) menunjukkan data yang signifikan, dimana semakin tinggi dosis vaksin yang diberikan pada tikus putih, maka kadar IL-1 β mengalami penurunan ($r = 0,480$, $p = 0,00$), akan tetapi dengan dosis vaksin *immunoglobulin Y* sebesar 15 $\mu\text{g/ml}$ sudah mampu untuk menurunkan secara signifikan kadar IL-1 β . Hasil penelitian juga dipengaruhi dengan lama penyimpanan vaksin dan serum darah tikus. Penyimpanan vaksin *immunoglobulin Y* di dalam *ice box* pada saat perjalanan kurang lebih selama 1 jam sebelum diinjeksikan ke tikus memungkinkan dapat mempengaruhi kandungan maupun efektifitas dari vaksin terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*, sehingga menyebabkan efektivitas konsentrasi pada beberapa perlakuan memiliki hasil yang kurang optimal. Pemantauan suhu penyimpanan vaksin sangat penting dalam menetapkan secara cepat apakah vaksin masih layak digunakan atau tidak, atau rentan dan

mudah rusak. Suhu yang baik untuk mengelola vaksin adalah $2^{\circ} - 8^{\circ}\text{C}$ dan faktor lain yang dapat mempengaruhi rusaknya vaksin yakni belum melampaui masa kadaluarsa, kualitas pengelola vaksin dan cara membawa vaksin dari satu tempat ke tempat lain. Rantai dingin (*cool chain*) adalah suatu prosedur yang digunakan untuk menjaga vaksin pada suhu tertentu sampai disuntikkan atau diteteskan pada sasaran (*Pracoyo et al, 2013*). Aktivitas IgY dapat dipertahankan cukup lama pada suhu 37°C . Aktivitas IgY masih baik sampai jangka waktu 6 bulan dan bahkan dapat dipertahankan selama 10 tahun pada penyimpanan suhu 4°C (*Michael et al. 2010*). Pengukuran kadar IL- 1β pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan ELISA Kit IL- 1β *Rat*. Beberapa prosedur membutuhkan ketelitian yang tinggi. Pengambilan sampel darah yang tidak hati-hati dapat membuat sel darah merah yang terambil akan mengalami *lisis* dan membuat serum darah yang dihasilkan kurang sempurna. Hal ini dapat mengganggu pembacaan kadar IL- 1β pada ELISA *reader*. Selain itu sejumlah prosedur pengkondisian serum agar terbaca oleh ELISA reader membutuhkan ketepatan pembuatan standart, ukuran pengambilan serum darah dan jumlah waktu.

Uji kolerasi pearson menunjukkan hasil $p=0.00$ dengan nilai $r=0,480$, hal ini menunjukkan bahwa vaksin immunoglobulin Y dapat menurunkan kadar IL- 1β sebesar 48%. Sisanya dapat disebabkan karena faktor lain seperti faktor fisiologis, psikologis, dan pola makan yang dapat mempengaruhi kondisi saat dilakukannya penelitian. Uji korelasi ini menunjukkan hubungan antara dua variabel atau lebih dan merupakan angka yang menunjukkan arah dan juga kuatnya hubungan antar dua variabel atau lebih. Hubungan 2 variabel atau lebih yang menunjukkan angka negatif, maka berarti bahwa bila dosis yang digunakan dinaikkan, maka konsentrasi atau kadar dari variabel yang diteliti menurun. Pada penelitian ini ditunjukkan dengan peningkatan konsentrasi vaksin *immunoglobulin*

Y dengan kadar IL-1 β . Semakin tinggi dosis vaksin *Immunoglobulin Y* yang diberikan, maka kadar IL-1 β akan menurun. Menurut teori mengenai vaksinasi yang dijelaskan *Shulman 1993*, menjelaskan bahwa vaksinasi pertama hanya menimbulkan proses pengenalan dimana antigen yang masuk akan berikatan dengan limfosit yang reseptor antigennya sesuai dengan bentuk epitop dari antigennya. Akibatnya hanya sel limfosit yang mengadakan proliferasi dan pematangan, sehingga menghasilkan sel – sel efektor dan *clone sel* penguat yang bersifat spesifik, dan apabila diberikan vaksinasi booster yang terdiri dari antigen yang sama dengan antigen yang merangsang pembentukan, maka dengan cepat terbentuk reaksi imun dengan menghasilkan titer antibodi yang lebih tinggi dan bertahan lebih lama (*Jiwintarum, 2014*).

. Pemberian vaksin pada tikus menggunakan syringe 0,3ml. Pada penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa injeksi vaksin maupun bakteri pada tikus dilakukan pada gigi molar tikus, namun pada saat akan dilakukan injeksi, gigi yang dimiliki tikus dan serupa dengan gigi manusia adalah gigi insisivus, sedangkan gigi lain pada tikus kurang dapat dibedakan bentuknya dan tidak memiliki kemiripan dengan gigi manusia. Pada akhir penelitian sampel 30 ekor tikus tetap hidup dan tidak ada sampel yang mati.

Kelemahan dari hasil penelitian ini adalah belum diketahui secara pasti efektifitasnya bila digunakan pada manusia dan belum mengetahui seara pasti apakah tikus mengalami kondisi benar- benar periodontitis, gingivitis ataupun trauma. Kelemahan lainnya yakni mengenai waktu saat injeksi *P.gingivalis* yang terlalu singkat, karena pada awal penelitian diharapkan tikus mengalami periodontitis, namun beberapa sumber menyebutkan bahwa kondisi periodontitis akan berlangsung dalam hitungan bulan.

Penelitian selanjutnya diharapkan penelitian ini dikembangkan dengan menemukan vaksin maupun ekstrak lainnya untuk mencegah peningkatan kadar

IL-1 β . Penggunaan alat-alat yang berteknologi tinggi dapat dilakukan untuk meminimalisir kesalahan yang dapat terjadi dan dilakukan pemeriksaan klinis untuk melihat secara klinis bahwa kondisi tikus telah mengalami periodontitis dengan probing menggunakan probe, pemeriksaan kerusakan tulang dan resesi gingiva.

6.2 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Penyimpanan serum darah tikus percobaan selama kurang lebih 2 bulan dalam pendingin kemungkinan menyebabkan hasil dari beberapa sampel kurang baik.
2. Tidak melakukan pemeriksaan klinis yang menunjukkan bahwa kondisi tikus sudah periodontitis atau belum.

