

AKTIVITAS IgY POLIKLONAL
Aggregatibacter actinomycetemcomitans DAN
Porphyromonas gingivalis
TERHADAP HAMBATAN KOLONISASI
Fusobacterium nucleatum DAN *Streptococcus sanguis*

SKRIPSI

KKA
KK
KE-126/18
les
a



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Oleh:

OKTAVIANI SUCI LESTARI

NIM: 021511133128

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2018

AKTIVITAS IgY POLIKLONAL
Aggregatibacter actinomycetemcomitans DAN
Porphyromonas gingivalis
TERHADAP HAMBATAN KOLONISASI
Fusobacterium nucleatum DAN *Streptococcus sanguis*

SKRIPSI

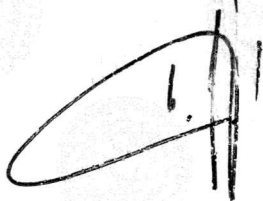
Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Pendidikan Dokter Gigi Di Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Airlangga Surabaya

Oleh:

OKTAVIANI SUCI LESTARI
NIM: 021511133128

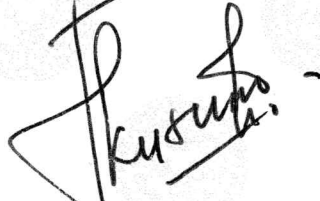
Menyetujui

Pembimbing Utama



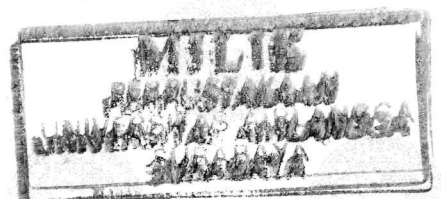
Dr. Rini Devijanti R. drg., M.Kes
NIP. 196412161990022001

Pembimbing Serta



Prof. Dr. Tuti Kusumaningsih, drg., M.Kes
NIP. 195210231983032001

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2018



PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

Skripsi ini telah diuji pada tanggal 23 November 2018

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

- 1. Dr. Hendrik Setia B., drg., M.Kes.**
(Ketua Penguji)
- 2. Prof. Dr. Jenny Sunariani, drg., MS.**
(Anggota Penguji)
- 3. Prof. Dr. Tuti Kusumaningsih, drg., M.Kes**
(Anggota Penguji/Pembimbing Serta)
- 4. Dr. Rini Devijanti Ridwan, drg., M.Kes.**
(Anggota Penguji/Pembimbing Utama)
- 5. Dr. Anis Irmawati, drg., M. Kes.**
(Anggota Penguji)

SURAT PERNYATAAN TENTANG ORISINILITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Oktaviani Suci Lestari
NIM : 021511133128
Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi
Fakultas : Kedokteran Gigi
Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

AKTIVITAS IgY POLIKLONAL
Aggregatibacter actinomycetemcomitans DAN
Porphyrromonas gingivalis
TERHADAP HAMBATAN KOLONISASI
Fusobacterium nucleatum DAN *Streptococcus sanguis*

Apabila pada suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya



Oktaviani Suci Lestari

NIM. 021511133128

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah S.W.T, atas rahmat dan kehendak-nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini tepat pada waktunya. Skripsi yang berjudul “Aktivitas IgY Poliklonal *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Porphyromonas gingivalis* terhadap Hambatan Kolonisasi *Fusobacterium nucleatum* dan *Streptococcus sanguis*” ini diajukan dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk menyelesaikan Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

Usaha dan doa merupakan hal yang penting dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini. Skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik juga dikarenakan banyaknya macam bantuan, bimbingan, dan dukungan yang saya dapatkan dari beberapa pihak. Pada kesempatan ini, saya ingin mengucapkan terima kasih khususnya kepada:

1. Dr. R. Darmawan Setijanto, drg., M. Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Dr. Muhammad Luthfi, drg., M. Kes. selaku Ketua Departemen Biologi Oral yang telah memberi ijin untuk pembuatan skripsi di Departemen Biologi Oral.
3. Dr. Rini Devijanti Ridwan, drg., M. Kes. selaku dosen pembimbing utama yang selalu sabar membimbing saya dalam penulisan skripsi ini, memberikan solusi saat saya kesulitan, meluangkan waktu untuk saya konsultasi, dan mengingatkan saya untuk segera mengerjakan dan menyelesaikan skripsi ini sehingga memotivasi saya untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
4. Prof. Dr. Tuti Kusumaningsih, drg., M. Kes. selaku dosen pembimbing serta, yang selalu sabar dan meluangkan waktu untuk membimbing saya, mengajarkan tata penulisan yang baik dan benar sehingga menambah pengetahuan saya dalam hal penulisan.

5. Prof. Dr. Jenny Sunariani, drg., M.S., Dr. Anis Irmawati, drg., M. Kes., dan Dr. Hendrik Setia B., drg., M. Kes. selaku dosen penguji yang memberikan masukan dan arahan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik
6. Seluruh dosen dan staf Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
7. Mas Eta Radhianto selaku staf Research Center yang membantu saya dalam melakukan penelitian ini.
8. Mas Zam-zam yang membantu saya dalam menganalisis data hasil penelitian saya.
9. Orang tua saya tercinta yaitu Joko Santoso, S.H., M.Hum., dan Dra. Maemanah, yang selalu mendoakan saya dalam segala hal yang positif, mendukung saya, mengingatkan saya untuk mengerjakan skripsi saya, menjadi tempat keluh kesah saat saya mengalami kesulitan. Kakak dan adik saya yang selalu memberi dukungan kepada saya.
10. Keluarga besar saya, yang selalu mendoakan dan mendukung saya agar dapat menyelesaikan skripsi saya ini.
11. Seluruh teman-teman saya di FKG UNAIR dan di luar Surabaya, yang memberi dukungan kepada saya.

Saya menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih membutuhkan kritik dan saran yang membangun untuk penulisan ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, November 2018

Penulis

**ACTIVITY OF
Aggregatibacter actinomycetemcomitans AND
Porphyromonas gingivalis POLYCLONAL IgY TO
 COLONIZATION INHIBITION OF
Fusobacterium nucleatum AND *Streptococcus sanguis***

ABSTRACT

Background: The prevalence of periodontitis in Indonesia is quite high at 70%. *F. nucleatum* and *S. sanguis* have a role in the formation of dental plaque which is the cause of periodontitis. IgY as a controller of biological plaques. IgY is present in serum and egg yolk. IgY can bind to the surface components of bacteria. *F. nucleatum* and *S. sanguis* have the same type IV pili as *A. actinomycetemcomitans*. *SsaB* on *S. sanguis* is a *fimA* homolog, *fimA* is a element of *P. gingivalis*. *F. nucleatum* and *P. gingivalis* have the same OMP molecular mass. **Purpose:** To determine the activity of *A. actinomycetemcomitans* and *P. gingivalis* polyclonal IgY that can inhibit colonization of *F. nucleatum* and *S. sanguis*. **Methods:** IgY samples were diluted with PBS. Holes were made of agar, add 10 μ l antigen (*F. nucleatum*/*S. sanguis*) into the middle hole, then add 10 μ l PBS, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 dilution of *A. actinomycetemcomitans* or *P. gingivalis* polyclonal IgY into the surrounding hole. Incubation at 37 °C, results are observed after 24-48 hours. **Result:** *A. actinomycetemcomitans* and *P. gingivalis* polyclonal IgY groups in serum against *F. nucleatum* and *S. sanguis* showed precipitation lines at 1:1 and 1:2 dilutions, whereas in egg yolk at 1:1 dilutions. There was no statistically significant differences in each dilution ($p>0.05$) and there were no difference between serum and egg yolk ($p>0.05$). **Conclusion:** *A. actinomycetemcomitans* and *P. gingivalis* polyclonal IgY in serum and egg yolk have activities that can inhibit colonization of *F. nucleatum* and *S. sanguis*.

Keywords: IgY, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus sanguis*.

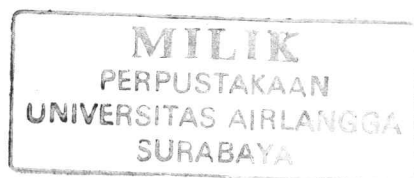
MILIK
 PERPUSTAKAAN
 UNIVERSITAS AIRLANGGA
 SURABAYA

AKTIVITAS IgY POLIKLONAL
***Aggregatibacter actinomycetemcomitans* DAN**
Porphyromonas gingivalis
TERHADAP HAMBATAN KOLONISASI
Fusobacterium nucleatum* DAN *Streptococcus sanguis

ABSTRAK

Latar Belakang: Prevalensi periodontitis di Indonesia cukup tinggi yaitu 70%. *F. nucleatum* dan *S. sanguis* berperan dalam pembentukan plak gigi yang merupakan penyebab periodontitis. IgY sebagai pengendali plak biologis. IgY terdapat dalam serum dan kuning telur. IgY dapat berikatan dengan komponen permukaan bakteri. *F. nucleatum* dan *S. sanguis* memiliki pili tipe IV sama seperti *A. actinomycetemcomitans*. SsaB pada *S. sanguis* merupakan homolog fimA, fimA merupakan unsur permukaan *P. gingivalis*. *F. nucleatum* dan *P. gingivalis* memiliki massa molekul OMP sama. **Tujuan:** Untuk mengetahui aktivitas IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dan *P. gingivalis* yang dapat menghambat kolonisasi *F. nucleatum* dan *S. sanguis*. **Metode:** Sampel IgY diencerkan dengan PBS. Agar dibuatkan lubang, 10µl antigen (*F. nucleatum* atau *S. sanguis*) dimasukkan ke lubang tengah, kemudian 10µl PBS, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 pengenceran IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* atau *P. gingivalis* dimasukkan ke lubang sekitarnya. Inkubasi pada suhu 37°C, hasil diamati setelah 24-48 jam. **Hasil:** Kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dan *P. gingivalis* dalam serum terhadap *F. nucleatum* dan *S. sanguis* menunjukkan garis presipitasi pada pengenceran 1:1 dan 1:2, sedangkan dalam kuning telur pada pengenceran 1:1. Berdasarkan analisis statistika, tidak ada perbedaan yang signifikan pada tiap pengenceran ($p > 0.05$) dan tidak ada perbedaan antara serum dan kuning telur ($p > 0.05$). **Kesimpulan:** IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dan *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur mempunyai aktivitas yang dapat menghambat kolonisasi *F. nucleatum* dan *S. sanguis*.

Kata kunci: IgY, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus sanguis*.



DAFTAR ISI

SAMPUL DALAM.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI.....	iv
SURAT PERNYATAAN TENTANG ORISINILITAS.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
<i>ABSTRACT</i>	viii
ABSTRAK.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan.....	6
1.3.1 Tujuan Umum.....	6
1.3.2 Tujuan Khusus.....	6
1.4 Manfaat.....	7
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	7
1.4.2 Manfaat Praktis.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Immunoglobulin.....	8
2.1.1 Immunoglobulin Y (IgY).....	9
2.1.1.1 Aplikasi Immunoglobulin Y (IgY).....	10
2.1.1.2 Manfaat Y (IgY).....	11
2.1.1.3 IgY spesifik <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	11
2.1.1.4 IgY spesifik <i>Porphyromonas gingivalis</i>	12
2.2 <i>Fusobacterium nucleatum</i>	13
2.3 <i>Streptococcus sanguis</i>	15

2.4 Faktor Virulensi	15
2.4.1 <i>Pili/Fimbriae</i>	16
2.4.2 <i>Outer Membrane Protein (OMP)</i>	17
2.5 Mekanisme Virulensi	18
2.5.1 Adhesi (Perlekatan)-Kolonisasi	18
2.5.2 Invasi	19
2.6 Periodontitis.....	20
2.6.1 Periodontitis Agresif	22
2.6.2 Periodontitis Kronis	23
2.7 Uji Presipitasi (Reaksi Antigen-Antibodi)	23
 BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	 25
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	25
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual.....	26
3.3 Hipotesis Penelitian.....	26
 BAB 4 METODE PENELITIAN	 27
4.1 Jenis Penelitian.....	27
4.2 Rancangan Penelitian	27
4.3 Sampel Penelitian	27
4.3.1 Sampel.....	27
4.3.2 Jumlah Replikasi.....	27
4.4 Variabel Penelitian	28
4.5 Definisi Operasional Variabel.....	28
4.6 Waktu dan Lokasi Penelitian	29
4.7 Bahan dan Alat.....	29
4.8 Cara Kerja	30
4.9 Prosedur Analisis Data	32
4.10 Alur Penelitian.....	33
 BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	 35
5.1 Pengamatan hambatan kolonisasi bakteri <i>F. nucleatum</i> dan <i>S. sanguis</i> kelompok IgY poliklonal <i>A. actinomycetemcomitans</i>	35
5.1.1 Pengamatan garis presipitasi pada kelompok IgY poliklonal <i>A. actinomycetemcomitans</i> dalam serum dan kuning telur	

terhadap bakteri <i>F. nucleatum</i>	36
5.1.2 Pengamatan garis presipitasi pada kelompok IgY poliklonal <i>A. actinomycetemcomitans</i> dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri <i>S. sanguis</i>	38
5.1.3 Perbedaan efek kelompok IgY poliklonal <i>A. actinomycetemcomitans</i> dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri <i>F. nucleatum</i> dan <i>S. sanguis</i>	40
5.2 Pengamatan hambatan kolonisasi bakteri <i>F. nucleatum</i> dan <i>S. sanguis</i> kelompok IgY poliklonal <i>P. gingivalis</i>	42
5.2.1 Pengamatan garis presipitasi kelompok IgY poliklonal <i>P. gingivalis</i> dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri <i>F. nucleatum</i>	42
5.2.2 Pengamatan garis presipitasi kelompok IgY poliklonal <i>P. gingivalis</i> dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri <i>S. sanguis</i>	45
5.2.3 Perbandingan hasil kelompok IgY poliklonal <i>P. gingivalis</i> dalam serum dan kuning telur.....	47
 BAB 6 PEMBAHASAN	 48
 BAB 7 PENUTUP	 52
7.1 Kesimpulan	52
7.2 Saran.....	52
 DAFTAR PUSTAKA	 53
LAMPIRAN	61

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Perbandingan tipe immunoglobulin antara unggas dan mamalia.....	8
Tabel 5.1.1	Analisis data kelompok IgY poliklonal <i>A. actinomycetemcomitans</i> terhadap <i>F. nucleatum</i>	37
Tabel 5.1.2	Analisis data kelompok IgY poliklonal <i>A. actinomycetemcomitans</i> terhadap <i>S. sanguis</i>	39
Tabel 5.1.3	Perbandingan hasil kelompok IgY poliklonal <i>A. actinomycetemcomitans</i> dalam serum dan kuning telur.....	41
Tabel 5.2.1	Analisis data kelompok IgY poliklonal <i>P. gingivalis</i> terhadap <i>F. nucleatum</i>	43
Tabel 5.2.2	Analisis data kelompok IgY poliklonal <i>P. gingivalis</i> terhadap <i>S. sanguis</i>	46
Tabel 5.2.3	Perbandingan hasil kelompok IgY poliklonal <i>P. gingivalis</i> dalam serum dan kuning telur.....	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur Immunoglobulin.....	8
Gambar 5.1	Garis presipitasi kelompok IgY poliklonal <i>A. actinomycescomitans</i> dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri <i>F. nucleatum</i> dan <i>S. sanguis</i>	35
Gambar 5.1.1	Diagram hasil kelompok IgY poliklonal <i>A. actinomycescomitans</i> terhadap bakteri <i>F. nucleatum</i>	36
Gambar 5.1.2	Diagram hasil kelompok IgY poliklonal <i>A. actinomycescomitans</i> terhadap bakteri <i>S. sanguis</i>	39
Gambar 5.2	Garis presipitasi kelompok IgY poliklonal <i>P. gingivalis</i> dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri <i>F. nucleatum</i> dan <i>S. sanguis</i>	42
Gambar 5.2.1	Diagram hasil kelompok IgY poliklonal <i>P. gingivalis</i> terhadap bakteri <i>F. nucleatum</i>	43
Gambar 5.2.2	Diagram hasil kelompok IgY poliklonal <i>P. gingivalis</i> terhadap bakteri <i>S. sanguis</i>	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Sertifikat Laik Etik.....	61
Lampiran 2	Dokumentasi.....	63
Lampiran 3	Analisis Statistik.....	64



DAFTAR SINGKATAN

GagP	<i>Generalized aggressive Periodontitis</i>
IgA	Imunoglobulin A
IgD	Imunoglobulin D
IgE	Imunoglobulin E
IgG	Imunoglobulin G
IgM	Imunoglobulin M
IgY	Imunoglobulin Y
LAgP	<i>Localized Aggressive Periodontitis</i>
LPS	Lipopolisakarida
OMP	<i>Outer Membrane Protein</i>
SsaB	<i>Saliva-Binding Protein</i>

BAB 1
PENDAHULUAN



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit gigi dan mulut yang banyak dijumpai di Indonesia. Penelitian Notohartoyo dan Sihombing (2015) yang mencakup 33 propinsi, 497 kabupaten/kota di Indonesia didapatkan hasil bahwa dari 722.329 orang yang berumur ≥ 15 tahun, prevalensi jaringan periodontal sehat sebesar 4,79% atau 34.614 orang, sedangkan prevalensi untuk jaringan periodontal yang tidak sehat sebesar 95,21% atau 687.715 orang (Notohartoyo & Sihombing, 2015). Prevalensi periodontitis di Indonesia cukup tinggi yaitu sebesar 70% (Wardhana *et al.*, 2015). *Global Burden of Disease Study* (GBD) menunjukkan bahwa: (i) periodontitis merupakan penyakit pada urutan ke-6 di seluruh dunia, dengan prevalensi keseluruhan 11,2% dan sekitar 743 juta orang terkena, dan (ii) penyakit periodontal meningkat 57,3% dari 1990 hingga 2010 (Tonetti *et al.*, 2017).

Gingivitis umumnya terjadi dalam waktu 10 sampai 21 hari, setelah terbentuknya plak gigi dengan kondisi *oral hygiene* yang buruk dan tidak diobati, dapat berlanjut ke periodontitis (Han *and* Shin, 2016). Periodontitis adalah hasil dari ketidakseimbangan ekologis dalam komunitas mikroba pada biofilm gigi sehingga mendukung pertumbuhan bakteri patogen (Xu *et al.*, 2018). *Streptococcus sanguis* (*S. sanguis*) merupakan bakteri pionir pada permukaan gigi, bakteri ini berperan penting dalam proses maturasi plak karena kemampuannya untuk agregat dengan bakteri lain dan menyebabkan penyakit

periodontal (Safitri *et al.*, 2017). Inisiasi dan perkembangan periodontitis disebabkan oleh bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*), *Treponema denticola* (*T. denticola*), *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*) dan *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) (Stingu *et al.*, 2008). Bakteri *A. actinomycetemcomitans* merupakan agen etiologi utama LAgP (*localized aggressive periodontitis*) dan juga terlibat dalam periodontitis kronis dan infeksi non-oral yang berat (Åberg *et al.*, 2015). Bakteri *P. gingivalis* merupakan bakteri anaerob Gram-negatif, terlibat sebagai patogen utama dalam etiologi periodontitis kronis (Xu *et al.*, 2018). Bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis* memiliki peran dalam pembentukan plak gigi yang merupakan penyebab periodontitis. Plak gigi adalah suatu biofilm yang mengandung sejumlah spesies bakteri penyebab penyakit infeksi (Hung *et al.*, 2016). Penghambatan pembentukan matriks plak dan penghambatan inisiasi agregasi bakteri dapat mencegah kolonisasi awal bakteri sehingga kolonisasi akhir juga tidak terbentuk (Hayati *et al.*, 2018).

Selama dua dekade terakhir, dokter gigi menggunakan terapi antibiotik untuk terapi penyakit periodontal (Kapoor *et al.*, 2012). Antibiotik ideal digunakan untuk pengobatan penyakit periodontal (Prabhu *et al.*, 2014). Antibiotik menekan pertumbuhan mikroorganisme atau membunuh mikroorganisme. Antimikroba ini dapat digunakan secara sistemik atau lokal (Kumar *et al.*, 2012). Antibiotik biasanya digunakan dalam pengobatan untuk menghilangkan infeksi yang disebabkan invasi oleh mikroorganisme patogen (Pejčić *et al.*, 2010). Selain itu, cara yang lain adalah menggunakan obat kumur. Obat kumur dapat mencegah

pembentukan plak. *Chlorhexidine* adalah komponen utama obat kumur. *Chlorhexidine*, dikembangkan pada tahun 1950 dan dianggap sebagai standar emas hingga saat ini, merupakan agen anti plak. Obat kumur *chlorhexidine gluconate* dapat secara signifikan mengurangi bakteri plak dan mencegah perkembangan gingivitis. *Chlorhexidine* memiliki kemampuan untuk membantu menghambat perlekatan mikroorganisme sehingga mencegah pertumbuhan dan perkembangan biofilm (Kumar, 2017; Prasad *et al.*, 2015).

Saat ini, resistensi mikroba merupakan tantangan besar secara global, dengan meningkatnya jumlah *strain*, termasuk bakteri rongga mulut komensal dan patogen, yang menjadi resisten terhadap antibiotik yang umum digunakan (Rahman *et al.*, 2013). Selain itu, iritasi oral dan gejala alergi lokal telah dilaporkan sebagai efek samping penggunaan obat kumur *chlorhexidine gluconate*. Obat kumur tersebut juga memiliki efek samping seperti perubahan warna kecoklatan pada gigi dan dorsum lidah, gangguan rasa, ulserasi mukosa mulut, dll. (Kumar, 2017; Prasad *et al.*, 2015).

Adanya keterbatasan ini, diperlukan pendekatan terapi baru yaitu dengan cara dilakukan eksplorasi imunoterapi pasif oral dengan menggunakan IgY sebagai pengendali plak biologis (Rahman *et al.*, 2013). Imunoglobulin Y (IgY) merupakan salah satu kelas antibodi yang terdapat dalam serum darah dan kuning telur kelompok amfibi, reptil dan unggas (Cahyaningsih, 2016). IgY adalah antibodi poliklonal yang telah terbukti sebagai antibodi yang efisien dalam pencegahan dan pengobatan beberapa penyakit (Zeynalian *et al.*, 2017). Biaya penggunaan IgY murah dan dapat dihasilkan melalui proses produksi yang mudah sehingga menjadikannya antibodi yang menarik untuk penelitian dan diagnosis

(Amro *et al.*, 2017). Keuntungan utama penggunaan antibodi IgY dalam kaitannya dengan antibodi yang diproduksi pada mamalia yaitu produksi IgY kurang invasif, karena tidak memerlukan darah atau bahkan kematian hewan untuk mendapatkan antibodi dalam jumlah besar (Montini *et al.*, 2017). IgY dapat diaplikasikan untuk diagnostik dan antibiotik alternatif. Fungsi bakteriostatik IgY didapat dari interaksi IgY dengan komponen permukaan bakteri (Guimarães *et al.*, 2009). IgY dapat menghambat pelekatan bakteri ke sel *host*. IgY juga dapat digunakan sebagai imunisasi pasif untuk mengobati dan mencegah penyakit pada manusia dan hewan (Barati *et al.*, 2016).

Imunoglobulin unggas yang utama yakni IgY terdapat dalam serum dan kuning telur (Polanowski *et al.*, 2012). Terdapat kontroversi mengenai konsentrasi IgY dalam kuning telur dan IgY dalam serum. Beberapa penulis melaporkan tidak ada perbedaan di antara kuning telur dan serum, sedangkan penulis yang lain mendeteksi konsentrasi IgY yang lebih tinggi dalam kuning telur (Schade *et al.*, 2005). Beberapa laporan menunjukkan bahwa konsentrasi IgY lebih rendah dalam kuning telur daripada dalam serum (He *et al.*, 2014). Imunoglobulin Y spesifik (IgY) yang terdapat dalam kuning telur berasal dari ayam yang telah diimunisasi dengan antigen spesifik. IgY berhasil dikembangkan terhadap berbagai macam antigen termasuk protein, peptida, hormon lipid dan komponen karbohidrat dari virus, bakteri, jamur, tumbuhan dan hewan. IgY banyak digunakan sebagai imunisasi pasif untuk menyembuhkan banyak penyakit infeksi (Dubie *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2012).

Beberapa cara kerja IgY dalam melawan aktivitas patogen yaitu aglutinasi bakteri, penghambatan adhesi, serta opsonisasi diikuti oleh fagositosis dan

penetralisasi racun. Penghambatan adhesi dianggap sebagai mekanisme utama dari fungsi IgY (Li *et al.*, 2015). IgY dapat berikatan pada komponen tertentu pada permukaan bakteri seperti *outer membrane protein* (OMP), lipopolisakarida (LPS), *flagella*, dan *fimbriae* (atau *pili*) (Chalghoumi *et al.*, 2009). Bakteri *A. actinomycetemcomitans* diidentifikasi memiliki *pili* tipe IV (Kinane and Mombelli, 2012). *Pili* tipe IV juga diekspresikan oleh patogen Gram-positif seperti *Clostridium perfringens* dan *Streptococcus sanguis* (Kline *et al.*, 2009). *Genomic screening* juga menunjukkan *pili* tipe IV terdapat pada *F. nucleatum* (Zijngel *et al.*, 2012). *Pili* bakteri *P. gingivalis* mengandung *fimA* (Hospenthal *et al.*, 2017). Bakteri *S. sanguis* mengandung *SsaB* pada permukaannya, yang merupakan homolog *fimA*. Homolog tersebut berhubungan dengan adhesi bakteri, memungkinkan memainkan peran yang sama (InterPro, 2018). *P. gingivalis* dan *F. nucleatum* memiliki *outer membrane protein* dengan massa molekul 40-kDa (Wu, 2014; Namikoshi *et al.*, 2003). Adanya persamaan yang dimiliki bakteri-bakteri tersebut, memungkinkan IgY dapat mengenali bakteri tersebut sehingga dapat terjadi interaksi dengan bakteri tersebut.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti ingin mengetahui aktivitas dari IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dan IgY poliklonal *P. gingivalis* terhadap hambatan kolonisasi bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* mempunyai aktivitas yang dapat menghambat kolonisasi bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*?

2. Apakah IgY poliklonal *P. gingivalis* mempunyai aktivitas yang dapat menghambat kolonisasi bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

1. Untuk mengetahui aktivitas IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* yang dapat menghambat kolonisasi *F. nucleatum* dan *S. sanguis*.
2. Untuk mengetahui aktivitas IgY poliklonal *P. gingivalis* yang dapat menghambat kolonisasi *F. nucleatum* dan *S. sanguis*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui aktivitas IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam serum dan kuning telur terhadap hambatan kolonisasi bakteri *F. nucleatum*.
2. Mengetahui aktivitas IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam serum dan kuning telur terhadap hambatan kolonisasi bakteri *S. sanguis*.
3. Mengetahui aktivitas IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur terhadap hambatan kolonisasi bakteri *F. nucleatum*.
4. Mengetahui aktivitas IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur terhadap hambatan kolonisasi bakteri *S. sanguis*.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam perkembangan ilmu pengetahuan tentang aktivitas IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dan IgY poliklonal *P. gingivalis* terhadap hambatan kolonisasi bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi pilihan alternatif untuk tindakan preventif pada periodontitis.

BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA



BAB 2

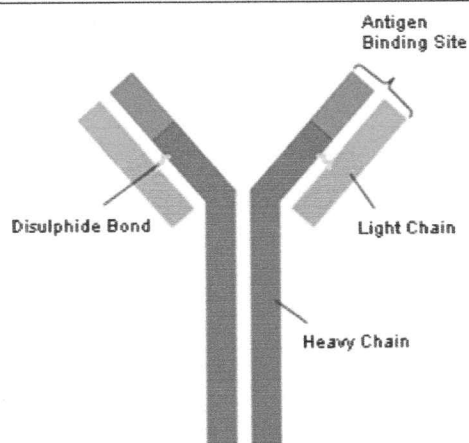
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Immunoglobulin

Imunoglobulin merupakan glikoprotein atau disebut antibodi, yang disekresi oleh sel plasma untuk merespon antigen dan dianggap sebagai produk yang sangat mempengaruhi imunitas humoral (Amro *et al.*, 2017). Semua imunoglobulin memiliki struktur empat rantai sebagai unit dasarnya. IgY terdiri dari dua rantai ringan identik (L) dan dua rantai berat identik (H) yang disatukan oleh ikatan disulfida antar rantai dan oleh interaksi non-kovalen (Chailyan *et al.*, 2012). Unggas menghasilkan tiga tipe imunoglobulin (IgM, IgY dan IgA) dan mamalia menghasilkan lima tipe imunoglobulin (IgM, IgD, IgG, IgE dan IgA) (Müller *et al.*, 2015).

Tabel 2.1 Perbandingan tipe imunoglobulin antara unggas dan mamalia (Müller *et al.*, 2015).

Vertebrate class	Immunoglobulin isotype				
Mammals	IgM	IgD	IgG	IgE	IgA
Avian species	IgM		IgY		IgA



Gambar 2.1 Struktur imunoglobulin (Dubie *et al.*, 2015).

2.1.1 Imunoglobulin Y (IgY)

Imunoglobulin Y (IgY) merupakan salah satu kelas antibodi yang terdapat dalam serum darah dan kuning telur kelompok amfibi, reptil dan unggas (Cahyaningsih, 2016). IgY adalah antibodi poliklonal yang telah terbukti sebagai antibodi yang efisien dalam pencegahan dan pengobatan beberapa penyakit (Zeynalian *et al.*, 2017). IgY mengandung dua rantai polipeptida berat dan dua rantai polipeptida ringan, berbentuk Y dan terdapat dua *binding sites* untuk antigen (Munhoz *et al.*, 2014). Tipe imunoglobulin unggas yang utama yakni IgY terdapat dalam serum dan kuning telur. Serum IgY ditransfer secara selektif ke kuning telur melalui reseptor pada permukaan membran kuning telur yang spesifik untuk translokasi IgY (FcRY) (Polanowski *et al.*, 2012). Ayam dapat digunakan untuk produksi antibodi. Injeksi yang dilakukan biasanya dengan cara injeksi intramuskular, tetapi injeksi subkutan juga telah banyak dilakukan (Carlander, 2002). Terdapat kontroversi mengenai konsentrasi IgY dalam kuning telur dan IgY dalam serum. Beberapa penulis melaporkan tidak ada perbedaan di antara kuning telur dan serum, sedangkan penulis yang lain mendeteksi konsentrasi IgY yang lebih tinggi dalam kuning telur (Schade *et al.*, 2005). Beberapa laporan menunjukkan bahwa konsentrasi IgY lebih rendah dalam kuning telur daripada dalam serum (He *et al.*, 2014). Konsentrasi berbagai IgY mungkin dikaitkan dengan teknik yang berbeda yang digunakan untuk ekstraksi, pemurnian, dan konsentrasi IgY oleh penulis yang berbeda (Agrawal *et al.*, 2016).

2.1.1.1 Aplikasi Imunoglobulin Y (IgY)

Antibodi pada kuning telur ayam atau IgY telah berhasil diaplikasikan untuk ilmiah, diagnostik, profilaktik, dan tujuan teraupetik (Dubie *et al.*, 2015). Pada masalah pencernaan, IgY poliklonal efektif digunakan untuk mengelola diare akut pada penderita anak-anak. Sedangkan dalam masalah mulut, IgY dapat diaplikasikan untuk mencegah bakteri penyebab karies, perlindungan lokal yang efektif terhadap plak gigi dan karies gigi. IgY berikatan dengan komponen permukaan bakteri *S. mutans* dapat menghambat metabolik penting untuk pertumbuhan, perlekatan dan kolonisasi bakteri tersebut. Selain karies, periodontitis juga berperan penting dalam penyakit gigi. Pada tahun 2007 didemonstrasikan bahwa IgY terhadap protein membran *P. gingivalis* menghambat perkembangan biofilm patogen pada permukaan gigi dan berkaitan dengan penyakit periodontal. Untuk masalah pernafasan, antibodi IgY sebagai profilaktik melawan infeksi *P. aeruginosa* (Müller *et al.*, 2015; Rajeswari *et al.*, 2018, Naidu, 2000).

Pada umumnya IgY yang dimasukkan melalui oral memiliki target yang spesifik. Beberapa mekanisme untuk perlindungan *host*: (1) penghambatan adhesi mikroba ke permukaan sel; (2) penekanan kolonisasi virus dengan mencegah penyebaran sel ke sel; (3) aglutinasi bakteri dengan hasil immobilisasi mikroba; (4) penghambatan aktivitas enzim; (5) netralisasi aktivitas toksin (Rahman *et al.*, 2013).

Tindakan utama yang dilakukan IgY adalah pengikatan antibodi pada komponen tertentu tertentu pada permukaan bakteri seperti *outer membrane protein* (OMP), lipopolisakarida (LPS), *flagella*, dan *fimbriae* (atau *pili*).

Dihipotesiskan bahwa komponen permukaan sel ini dapat dengan mudah dikenali dan diikat oleh antibodi. Pengikatan ini dapat menyebabkan penurunan fungsi biologis dari komponen-komponen yang berperan penting dalam pertumbuhan bakteri dan perlekatan sel. Antibodi melindungi terhadap adhesi bakteri dan mencegah invasi pada tindakan tersebut (Chalghoumi *et al.*, 2009).

2.1.1.2 Manfaat Imunoglobulin Y (IgY)

Penggunaan IgY sebagai alternatif terapeutik ini memberikan manfaat seperti: (1) produksi IgY adalah alternatif non-invasif untuk metode saat ini; (2) pemeliharaan ayam tidak mahal; (3) hewan coba mudah ditangani; (4) menghindari pendarahan hewan laboratorium berulang-ulang; (5) sangat efektif dalam hal biaya untuk konsentrasi IgY yang tinggi dalam kuning telur (Müller *et al.*, 2015).

Imunoglobulin Y pada imunoterapi mempunyai beberapa ciri yang menarik seperti: 1). kurangnya reaktivitas dengan sistem komplemen pada tubuh manusia dan Fc reseptor manusia sehingga dapat mencegah peradangan non-spesifik; 2). tidak termasuk penggunaan senyawa beracun atau aditif; 3). kolesterol dan trigliserida dapat dikontrol hingga tingkat rendah; 4). IgY memberikan efek antimikroba dan efek imunostimulan yang menguntungkan (Rahman *et al.*, 2013).

2.1.1.3 IgY spesifik *A. actinomycetemcomitans*

IgY telah terbukti efektif mencegah dan mengobati beberapa patogen. Secara singkat, untuk menghasilkan antibodi IgY spesifik, ayam petelur diimunisasi (diinjeksi) dengan patogen asing spesifik yang dapat menginduksi

respon imun, termasuk produksi antibodi yang beraktivitas melawan penyakit spesifik tersebut. Antibodi ini kemudian ditransfer ke kuning telur dan disimpan dalam jumlah besar. Imunisasi *booster* biasanya diberikan untuk memastikan transfer antibodi lanjutan dari serum ayam ke kuning telur. Antibodi ini kemudian diekstrak dari kuning telur dan diproses untuk diberikan langsung ke hewan atau dimasukkan ke dalam diet (Li *et al.*, 2015). IgY ini banyak digunakan sebagai imunisasi pasif untuk menyembuhkan banyak penyakit (Xu *et al.*, 2012). IgY spesifik memiliki target spesifik dan tergantung pada interaksi antigen-antibodi terhadap benda asing. IgY spesifik *A. actinomycetemcomitans* dapat digunakan sebagai pencegahan alternatif akumulasi plak yang dapat menyebabkan periodontitis karena IgY spesifik *A. actinomycetemcomitans* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. actinomycetemcomitans* (Febrianti, 2017).

A. actinomycetemcomitans adalah bakteri Gram negatif, fakultatif anaerob *cocobacillus* yang mengkolonisasi rongga mulut manusia, terkait dengan etiologi periodontitis agresif dan juga dapat dideteksi dalam rongga mulut pasien periodontitis kronis (Brígido *et al.*, 2014).

2.1.1.4 IgY spesifik *Porphyromonas gingivalis*

IgY spesifik banyak digunakan sebagai imunisasi pasif untuk menyembuhkan banyak penyakit. Untuk pengobatan penyakit mulut, IgY spesifik yang ditargetkan terhadap *P. gingivalis* dikembangkan untuk digunakan dalam pengobatan periodontitis (Xu *et al.*, 2012).

P. gingivalis merupakan bakteri anaerob Gram-negatif, terlibat sebagai patogen utama dalam etiologi periodontitis kronis. IgY spesifik *P. gingivalis* ini

memiliki kemampuan mengikat yang tinggi terhadap bakteri patogen dan akan mengubah permukaan bakteri tersebut, sehingga dapat mencegah pertumbuhan bakteri dan adhesi (Xu *et al.*, 2018).

Menurut Hamajima *et al.*, IgY spesifik dapat berikatan dengan OMP dari bakteri *P. gingivalis* yang menghambat bakteri ini untuk melakukan koagregasi (Handajani *et al.*, 2016). IgY spesifik *P. gingivalis* dapat mengurangi jumlah mikroba. Hal tersebut menunjukkan bahwa IgY poliklonal *P. gingivalis* efektif dalam mengontrol mikroorganisme periodontal (Xu *et al.*, 2018).

Pada penelitian sebelumnya, terkait dengan imunisasi pasif IgY spesifik *P. gingivalis* dalam pengobatan penyakit periodontal, mengungkapkan bahwa IgY jenis ini dapat mengurangi kedalaman *probing* dan tingkat *P. gingivalis* dalam plak subgingival pada pasien periodontitis selama pengobatan penyakit periodontal (Xu *et al.*, 2012).

2.2 *Fusobacterium nucleatum*

F. nucleatum adalah bakteri anaerob *Gram negatif*, sering ditemukan di rongga mulut baik pada individu yang sakit maupun yang sehat. Bakteri ini terlibat dalam penyakit periodontal yaitu periodontitis. *F. nucleatum* berperan peran penting selama perkembangan periodontitis, dengan memfasilitasi adhesi dan koagregasi berbagai bakteri, berperan penting dalam pembentukan plak gigi, dan mendukung keparahan peradangan dan resorpsi tulang (de Molon *et al.*, 2015; Han, 2015).

F. nucleatum berperan penting dalam pembentukan biofilm subgingival dengan menjembatani koloni awal (*Streptococci* dan *Actinomyces*) dan koloni

akhir (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) yang terkait dengan lesi periodontal aktif (Lagha *et al.*, 2017). *F. nucleatum* juga dapat mengikat berbagai sel mamalia, salah satunya adalah sel epitel mulut. Selanjutnya, *F. nucleatum* menginvasi sel epitel mulut tersebut. Perlekatan dan invasi adalah mekanisme penting untuk kolonisasi, penyebaran, penghindaran pertahanan *host*, dan induksi respon *host* (Han, 2015). *F. nucleatum* dapat berinteraksi dengan *P. gingivalis* dan *A. actinomycetemcomitans*, interaksi tersebut dapat meningkatkan kemampuan adhesi dan invasi *P. gingivalis* dan *A. actinomycetemcomitans* ke sel epitel gingiva manusia. Koinfeksi *F. nucleatum* dengan *P. gingivalis* atau *A. actinomycetemcomitans* dapat menghambat respon imun bawaan *host* (Y. Li *et al.*, 2015).

Prevalensi *F. nucleatum* yang meningkat berhubungan dengan tingkat keparahan penyakit, perkembangan inflamasi dan kedalaman poket (Han, 2015). *F. nucleatum* diketahui memiliki potensi untuk menjadi patogen periodontal dengan menggunakan produksi metabolit beracun. Komponen beracun ini memiliki kemampuan untuk menahan proliferasi sel-sel normal di sekitarnya dari periodonsium (fibroblas). Karena itu menyebabkan hilangnya tulang alveolar diikuti oleh hilangnya gigi (Pranati *et al.*, 2017).

Dengan tidak adanya *F. nucleatum*, jumlah koloni akhir yang terkait dengan kerusakan periodontal berkurang secara signifikan. Bakteri ini juga terdeteksi dengan prevalensi yang lebih tinggi pada pasien dengan kedalaman *probing* yang meningkat (Ding and Tan, 2016).

2.3 *Streptococcus sanguis*

Streptococcus sanguis adalah bakteri anaerob Gram positif yang termasuk flora normal dari rongga mulut. Namun, *S. sanguis* juga telah diidentifikasi sebagai salah satu agen mikroba penyebab penyakit periodontal (Khosropanah *et al.*, 2012).

Streptococcus sanguis berperan sebagai perintis dan membantu pembentukan biofilm (Pramesti, 2016). Pada penelitian Lancy dkk. menunjukkan bahwa *S. sanguis* dapat bergabung dengan *B. matruchotii* dan *F. nucleatum* untuk membentuk struktur *corncob* dan menempelkan dirinya ke permukaan akar gigi dan gigi yang dapat menyebabkan penyakit mulut. *S. sanguis* berperan penting dalam proses adhesi karena menempel langsung ke permukaan dan memfasilitasi adhesi koloni selanjutnya (Hung *et al.*, 2016). *S. sanguis* berfungsi sebagai pengikat untuk perlekatan mikroorganisme *oral* lain yang mengkolonisasi permukaan gigi, membentuk plak gigi, dan berkontribusi pada perkembangan karies dan penyakit periodontal (Xu *et al.*, 2007).

2.4 Faktor Virulensi

Faktor-faktor virulensi adalah molekul yang membantu bakteri mengkolonisasi *host* di tingkat sel (Sharma *et al.*, 2017). Kemampuan bakteri untuk mengkolonisasi dan menginfeksi organisme *host* sangat bergantung pada kapasitas mereka untuk menempel pada permukaan seluler dari *host*. Adhesi tidak hanya memperkenalkan bakteri untuk mengkolonisasi, dengan menempel pada permukaan sel *host* dan menghasilkan *platform* yang stabil untuk tumbuh, tetapi

juga diperlukan untuk pelepasan toksin dan faktor virulensi yang mendorong infeksi (Stones *and* Krachler, 2015).

2.4.1 Pili/*Fimbriae*

Bakteri dapat menempel pada permukaan yang berbeda di rongga mulut seperti gigi, mukosa mulut, dan bakteri mulut lainnya (Lin *et al.*, 2006). Bentuk struktur permukaan adhesif yang disebut pili atau *fimbriae* ('rambut bakteri') merupakan kontributor penting terhadap patogenitas bakteri dan persistensi (Busch *et al.*, 2015). Pili ada berbagai macam tipe, seperti pili tipe I, *P-pili*, pili tipe IV pili, pili Curli, pili tipe V. *P-pili* adalah organel adesif yang merupakan faktor virulensi dalam pembentukan pielonefritis oleh *E. coli*, mediasi pengenalan dan perlekatan pada jaringan ginjal. Pili Curli telah terlibat dalam sejumlah proses biologis, termasuk pembentukan biofilm, agregasi sel, adhesi sel inang dan invasi, dan sebagai penginduksi potensial dari respon inflamasi *host* (Proft *and* Baker, 2009). Tipe I dan tipe IV pili terlibat dalam perlekatan terhadap sel *host* dan induksi pensinyalan di sel-sel ini (Telford *et al.*, 2006).

Pili tipe IV merupakan faktor virulensi penting pada permukaan bakteri pathogen (Muschiol *et al.*, 2017). Protein diperlukan untuk pembentukkan dan fungsi mekanis pili tipe IV (juga disebut tfp atau *fimbriae* tipe 4) (Mattick, 2002). Pili tipe IV adalah pelengkap permukaan bakteri yang berbentuk seperti rambut, berperan dalam berbagai proses seperti adhesi, kolonisasi, *twitching motility* dan pembentukan *biofilm*. Pili tipe IV membentuk suatu jembatan fisik antara bakteri yang berasosiasi dengan sel epitel manusia dan hewan (Xicohtencatl-cortes *et al.*, 2009). Adhesif pili tipe IV memediasi untuk mengkolonisasi permukaan gigi

(Nunes *et al.*, 2016). Pili tipe IV telah dikarakterisasi secara ekstensif pada bakteri Gram-negatif, dan kemajuan terbaru dalam sekuensing genomik yang tinggi telah menunjukkan bahwa Pili tipe IV juga tersebar luas pada bakteri Gram-positif (Piepenbrink *and* Sundberg, 2016). Pili tipe IV diekspresikan oleh patogen Gram-positif seperti *C. perfringens* dan *S. sanguis* (Kline *et al.*, 2009). Selain itu, *genomic screening* menunjukkan kebenaran pili tipe IV dalam *F. nucleatum* (Zijnge *et al.*, 2012). Bakteri *A. actinomycetemcomitans* juga diidentifikasi memiliki pili tipe IV (Kinane *and* Mombelli, 2012).

Pili tipe V adalah faktor virulensi penting dari *Porphyromonas gingivalis*, terkait dengan adhesi, koagregasi dan pembentukan biofilm yang dapat menyebabkan gingivitis dan periodontitis parah. Selain itu, pili tipe I juga telah diamati pada bakteri *P. gingivalis*. Pili bakteri *P. gingivalis* mengandung fimA (Hospenthal *et al.*, 2017; Kinane *and* Mombelli, 2012). Bakteri *S. sanguis* memiliki adhesin SsaB pada permukaannya, yang merupakan homolog fimA. Homolog tersebut berhubungan dengan adhesi bakteri, memungkinkan memainkan peran yang sama (InterPro, 2018). Adhesin FimA dan SsaB terlibat dalam kolonisasi rongga mulut (Easton, 2009).

2.4.2 Outer Membrane Protein (OMP)

Bakteri Gram-negatif mengandung membran ganda yang berfungsi untuk perlindungan dan menyediakan nutrisi untuk kelangsungan hidup. Selaput terluar dari membran ini disebut *outer membrane* (OM), yang mengandung sejumlah protein membran terintegrasi yang berfungsi penting bagi sel, seperti *nutrient uptake*, adhesi sel, *cell signaling*. Banyak *outer membrane protein* (OMP) juga

berfungsi sebagai faktor virulensi untuk mengambil nutrisi dan menghindari mekanisme pertahanan *host* (Rollauer *et al.*, 2015).

P. gingivalis menghasilkan *outer membrane protein* dengan massa molekul 40-kDa (40k-OMP). Penelitian lebih lanjut telah menunjukkan bahwa 40k-OMP adalah faktor virulensi utama untuk koagregasi dan ditemukan pada banyak strain *P. gingivalis* (Namikoshi *et al.*, 2003).

Permukaan dengan FomA (40 kDa) protein adalah *outer membrane protein* utama (OMP) dari semua *strain* di *F. nucleatum*. OMP FomA dapat terlibat dalam mengikat *S. sanguis* dan *P. gingivalis* (Wu, 2014).

2.5 Mekanisme Virulensi

Adhesi merupakan langkah pertama dalam proses patogenesis yang membawa bakteri dalam kontak dekat dengan sel-sel *host*, proses lebih lanjut dari patogenesis adalah kolonisasi dan invasi Menghalangi tahap dasar infeksi, yaitu perlekatan bakteri dan *host* merupakan strategi yang efektif untuk mencegah infeksi bakteri (Chalghoumi *et al.*, 2009).

2.5.1 Adhesi (Perlekatan) - Kolonisasi

Perlekatan bakteri pada inang melibatkan interaksi spesifik antara reseptor dan interaksi ligan. Reseptor biasanya adalah residu karbohidrat atau peptida spesifik pada permukaan sel eukariotik dan ligan yang disebut adhesin adalah protein pada permukaan bakteri atau polisakarida (Méndez *et al.*, 2012). Bakteri *oral* dapat melekat pada permukaan gigi yang dilapisi dengan pelikel saliva, permukaan deskuamasi seperti jaringan epitel, atau bakteri yang sudah melekat

pada permukaan. *S. sanguis* dapat melekat pada permukaan gigi (Kolenbrander *et al.*, 2010). *F. nucleatum* dapat melekat pada permukaan gigi dan sel epitel rongga mulut (Signat *et al.*, 2011). Adhesi pada bakteri adalah kunci untuk memudahkan bakteri dalam berkolonisasi (Wilson *et al.*, 2002).

Setelah perlekatan terhadap permukaan sel, mikroorganisme mulai bereproduksi secara intensif dan meningkatkan populasi bakteri sambil mengkolonisasi bagian-bagian dari jaringan *host*. Adhesi berperan sangat penting dalam kolonisasi pada jaringan *host*. Fungsi perlekatan menyebabkan memperbanyak populasi mikroba dalam lingkungan multiseluler (Ezepchuk, 2017).

2.5.2 Invasi

Setelah menempel ke permukaan *host*, beberapa patogen mendapatkan akses yang lebih dalam ke *host* untuk melakukan siklus infeksi. Prinsip patogenik ini, yang disebut invasi, dapat dibagi menjadi dua jenis: ekstraseluler dan intraseluler. Invasi ekstraseluler terjadi ketika mikroba merusak *barriers* pada jaringan untuk menyebar dalam *host*, sementara mikroba tetap berada di luar sel inang. Invasi ekstraseluler memungkinkan akses patogen di jaringan sehingga dapat berproliferasi, menyebar ke tempat lain di dalam tubuh, mengekspresikan racun, dan menginisiasi respon inflamasi. Invasi intraseluler terjadi ketika mikroba benar-benar menembus sel-sel jaringan inang dan bertahan dalam lingkungan tersebut (Wilson *et al.*, 2002).

Invasi patogen periodontal ke dalam jaringan periodontal merupakan langkah penting yang dapat memicu penyakit periodontal. Epitel gingiva adalah lapisan sel

pertama yang harus dilewati bakteri subgingival biofilm untuk menyerang ke bagian yang lebih dalam dari jaringan periodontal (Jung *et al.*, 2017).

2.6 Periodontitis

Periodonsium didefinisikan sebagai jaringan yang mendukung gigi, terdiri dari sementum, ligamen periodontal, tulang yang melapisi soket gigi (tulang alveolar) dan bagian gingival yang menghadap gigi (*dentogingival junction*). Infeksi dan radang periodonsium disebut sebagai periodontitis. Hal ini berakibat hilangnya tulang alveolar secara bertahap. Jika periodontitis dibiarkan tanpa perawatan, periodontitis juga dapat menyebabkan hilangnya gigi (Pranati *et al.*, 2017).

Poket periodontal yang lebih dalam terbentuk antara akar gigi dan gingiva seiring dengan hilangnya tulang. Periodontitis dapat muncul sebagai penyakit kronis dan perlahan berkembang sebagai penyakit agresif yang menyebabkan hilangnya tulang selama periode waktu yang relatif singkat. Periodontitis dengan keparahan lanjut dapat menyebabkan mobilitas gigi, nyeri dan sakit (umumnya terkait dengan pembentukan abses), gangguan kemampuan untuk mengunyah makanan, dan akhirnya kehilangan gigi (Cobb, 2008). Bakteri-bakteri yang dikaitkan dengan perkembangan kerusakan periodontal antara lain *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *Treponema denticola*, *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *C. rektus*, *E. corrodens* dan *P. micra*, *S. sanguis* (Chahboun *et al.*, 2015; Safitri *et al.*, 2017).

Patogenesis periodontitis melibatkan interaksi mikrobiota yang ada dalam plak subgingiva dan respon *host*. Peradangan dan kerusakan jaringan periodontal dianggap hasil respon dari *host* yang rentan terhadap biofilm mikroba yang

mengandung patogen gram negative (Signat *et al.*, 2011). Faktor etiologi utama pada penyakit periodontal adalah bakteri yang berakumulasi pada dental plak (biofilm) di permukaan gigi dan poket gingiva (plak subgingiva) (Andriani and Rizka, 2009). Tujuan akhir dari terapi periodontal adalah untuk menghilangkan plak supragingiva dan subgingival dan menahan perkembangan penyakit periodontal (Joseph *et al.*, 2017). Tahap-tahap lesi Periodontal yaitu antara lain (Blue, 2017):

- a. Tahap I gingivitis atau *initial lesion* (2-4 hari setelah akumulasi biofilm)
Perubahan tidak terlihat secara klinis; lesi subklinis; perubahan histologi
- b. Tahap II gingivitis atau *early lesion* (4-7 hari setelah akumulasi plak bakteri dapat terjadi selama 21 hari atau lebih lama)
Tanda-tanda klinis gingivitis terlihat (eritema, edema, dan perdarahan karena rangsangan); perubahan histologi.
- c. Tahap III gingivitis atau *established (chronic) lesion*, dapat terjadi selama berbulan-bulan atau bertahun-tahun tanpa maju ke tahap IV (periodontitis)
Eritema pada gingiva; perdarahan saat probing; perubahan warna dimulai pada margin gingiva dan papila, penyebaran ke *attached gingiva*; konsistensi lunak dan kenyal atau keras; tekstur mungkin halus dan berkilau (peradangan) atau *stippled* dan nodular (reparatif, fibrotik); gingiva membesar (*enlargement*); peningkatan kedalaman sulkus gingiva; perkembangan peradangan; perubahan histologi.

- d. Tahap IV periodontitis (transisi dari gingivitis ke periodontitis) atau *advanced lesion*

Kehilangan perlekatan *connective tissue* terhadap gigi, termasuk gingiva dan ligamen periodontal, dan perlekatan ke sementum, peradangan gingiva konkuren, resorpsi tulang alveolar, migrasi apikal dari perlekatan epitel di sepanjang permukaan akar, pola jalur inflamasi mempengaruhi pola kerusakan tulang.

2.6.1 Periodontitis Agresif

Periodontitis agresif ditandai dengan tingkat perkembangan penyakit yang relatif tinggi, biasanya ada kehilangan perlekatan periodontal yang signifikan pada beberapa gigi permanen, terjadi pada pasien dari kelompok usia muda, dan secara radiografi terlihat gambaran *vertical bone loss* (Albandar, 2014). Periodontitis agresif dalam banyak kasus berkorelasi dengan keberadaan spesies bakteri tertentu dalam biofilm subgingival dengan dominasi batang anaerobik Gram negatif yang mengkolonisasi celah periodontal. Bakteri Gram-negatif *A. actinomycetemcomitans* merupakan agen etiologi utama LAgP (*localized aggressive periodontitis*) dan juga terlibat dalam periodontitis kronis dan infeksi non-oral yang berat (Åberg *et al.*, 2015).

Periodontitis agresif memiliki dua bentuk, yaitu bentuk *localized aggressive periodontitis* (LAgP), dan bentuk *generalized aggressive periodontitis* (GAgP), dibedakan berdasarkan jumlah gigi yang terkena dan distribusi lesi dalam geligi (Åberg *et al.*, 2015). LAgP ditandai dengan setidaknya satu molar pertama dan satu gigi insisif dengan kehilangan perlekatan proksimal pada setidaknya dua gigi

permanen, salah satunya adalah molar pertama. GAgP kehilangan perlekatan proksimal mempengaruhi setidaknya tiga gigi selain gigi molar pertama dan insisif (Imran and Ataa, 2010).

2.6.2 Periodontitis Kronis

Beberapa macam penyakit periodontal telah diakui, kategori utama adalah periodontitis kronis, yang menjadi penyebab utama hilangnya gigi pada orang dewasa di seluruh dunia (Galimanas *et al.*, 2014). Periodontitis kronis adalah penyakit inflamasi, sebagai respons terhadap periodontopatogen dalam biofilm plak subgingiva, yang mempengaruhi jaringan pendukung gigi. Etiologi utama periodontitis kronis adalah plak bakteri (Szkardkiewicz and Karpiński, 2013). *P. gingivalis* merupakan agen penyebab utama pada periodontitis kronis (Chahboun *et al.*, 2015; Safitri *et al.*, 2017).

2.7 Uji Presipitasi (Reaksi Antigen-Antibodi)

Uji presipitasi merupakan jenis uji reaksi antigen dan antibodi. Interaksi antara antigen dan antibodi tersebut menghasilkan suatu presipitasi. Uji presipitasi dalam gel/agar disebut sebagai uji imunodifusi (Parija, 2009). Uji presipitasi dilakukan untuk menentukan aktivitas antibodi dalam mengikat antigen (Han *et al.*, 2016). Antigen dan antibodi dimasukkan ke dalam lubang yang ada di gel. Kombinasi yang terjadi antara antigen-antibodi tersebut dinamakan difusi (Stevens and Miller, 2017). Uji presipitasi terbagi dua yaitu:

a. *Single diffusion* atau *radial immunodiffusion* (RID)

Pada teknik ini, antibodi didistribusikan secara merata pada agar, dan antigen diaplikasikan ke dalam lubang yang ada di gel. Daerah cincin yang diperoleh adalah ukuran konsentrasi antigen (Stevens and Miller, 2017).

b. *Double immunodiffusion* (*Ouchterlony*)

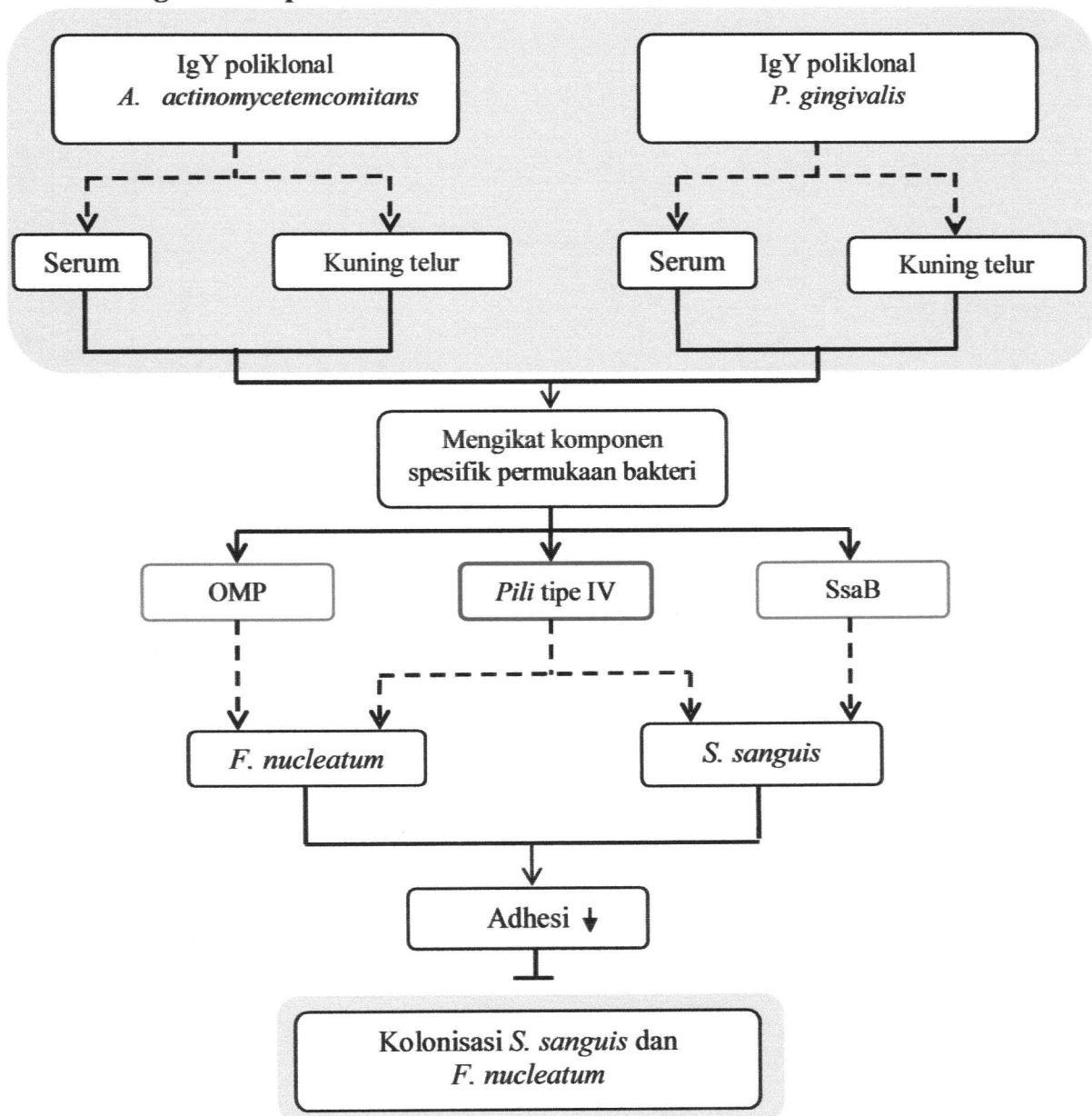
Antigen dan antibodi dimasukkan ke dalam masing-masing lubang pada gel. Antibodi dan antigen berdifusi melalui gel. Ketika antibodi dan antigen bertemu pada konsentrasi yang tepat akan membentuk garis putih diantara kedua lubang. Garis ini disebut garis presipitasi (*precipitin line*). Tes *Ouchterlony* memberikan cara cepat dan kualitatif untuk menentukan hubungan antibodi terhadap antigen tertentu. Tes *Ouchterlony* sangat berguna untuk mencari reaktivitas silang (Openstax, 2016; Rodriguez, 2011).

BAB 3
KERANGKA KONSEPTUAL DAN
HIPOTESIS PENELITIAN

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian



Keterangan:



: Variabel yang diteliti

: diikat IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans*

: diikat IgY poliklonal *P. gingivalis*

↓ : Mempengaruhi

↓ : Terdapat pada/dalam

⊥ : Menghambat

↓ : Menurun

3.2 Penjelasan kerangka konseptual

IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dan IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur dapat mengikat komponen spesifik tertentu yang terdapat pada permukaan bakteri. IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dapat berikatan dengan pili bakteri *S. sanguis* dan *F. nucleatum* karena memiliki persamaan pili tipe IV. IgY poliklonal *P. gingivalis* dapat berikatan dengan bakteri *S. sanguis* dikarenakan memiliki unsur homolog yang terdapat pada pili *P. gingivalis*. Pili *P. gingivalis* mengandung fimA. SsaB pada *S. sanguis* merupakan homolog dari fimA. IgY poliklonal *P. gingivalis* dapat berikatan dengan OMP bakteri *F. nucleatum*, dikarenakan massa molekul yang sama.

IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dan IgY poliklonal *P. gingivalis* yang berikatan dengan komponen-komponen permukaan pada bakteri *S. sanguis* dan *F. nucleatum* dapat menyebabkan terganggunya fungsi biologis, seperti penurunan fungsi adhesi bakteri. Adhesin yang berfungsi sebagai media perlekatan bakteri terhadap *host* terganggu sehingga terjadi penghambatan kolonisasi bakteri *S. sanguis* dan *F. nucleatum*.

3.3. Hipotesis

1. IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam serum dan kuning telur memiliki aktivitas yang dapat menghambat kolonisasi *F. nucleatum* dan *S. sanguis*.
2. IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur memiliki aktivitas yang dapat menghambat kolonisasi bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*.

BAB 4
METODE PENELITIAN



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris.

4.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah *post test only control group design*.

4.3. Sampel Penelitian

4.3.1 Sampel

Sampel penelitian ini adalah IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dan IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur yang diperoleh dari *Research Center FKG Universitas Airlangga Surabaya*.

4.3.2 Jumlah Replikasi

Jumlah replikasi ditentukan dengan rumus (Federer, 1963):

$$(n-1)(r-1) \geq 15$$

$$(12-1)(r-1) \geq 15$$

$$11r - 11 \geq 15$$

$$11r \geq 26$$

$$r \geq 2$$

Keterangan: n = jumlah perlakuan

r = replikasi

4.4 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas:

- a. IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam serum
- b. IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam kuning telur
- c. IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum
- d. IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam kuning telur

2. Variabel Terikat:

- a. Hambatan kolonisasi *Fusobacterium nucleatum*.
- b. Hambatan kolonisasi *Streptococcus sanguis*.

3. Variabel Terkendali:

- a. Cara kerja penelitian.
- b. Alat dan bahan penelitian.
- c. Kondisi sampel.

4.5 Definisi Operasional Variabel

1. IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans*

IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* adalah IgY yang dihasilkan dari ayam petelur yang telah diinjeksi bakteri *A. actinomycetemcomitans* serotype b strain Y4 ATCC 4371. IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* yang akan digunakan dalam bentuk sediaan serum dan kuning telur.

2. IgY poliklonal *P. gingivalis*

IgY poliklonal *P. gingivalis* adalah IgY yang dihasilkan dari ayam petelur yang telah diinjeksi bakteri *P. gingivalis* ATCC 3327 serotype. IgY poliklonal *P. gingivalis* yang akan digunakan dalam bentuk sediaan serum dan kuning telur.

3. Hambatan Kolonisasi *F. nucleatum*

Hambatan kolonisasi *F. nucleatum* adalah berupa gambaran garis putih (garis presipitasi) yang terjadi karena adanya ikatan bakteri antara *F. nucleatum* dengan IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dan IgY poliklonal *P. gingivalis*.

4. Hambatan Kolonisasi *S. sanguis*

Hambatan kolonisasi *S. sanguis* adalah berupa gambaran garis putih (garis presipitasi) yang terjadi karena adanya ikatan antara bakteri *S. sanguis* dengan IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dan IgY poliklonal *P. gingivalis*.

5. Aktivitas IgY

Aktivitas IgY adalah berupa interaksi antara IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dan IgY poliklonal *P. gingivalis* dengan bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*.

4.6 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan September-Oktober 2018 di *Research Center* FKG Universitas Airlangga.

4.7 Bahan dan Alat

Bahan:

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah serum IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans*, kuning telur IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans*, serum IgY poliklonal *P. gingivalis*, kuning telur IgY poliklonal *P. gingivalis*,

bakteri *F. nucleatum*, bakteri *S. sanguis*, *nutrient agar*, *assay buffer* (PBS (*Phosphatase Buffered Saline*)), alkohol, *aquades*.

Alat:

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, inkubator (37°C), mikropipet dan tip mikropipet, *gel punch*, erlenmeyer, *vial/botol*, gelas ukur, kapas.

4.8 Cara Kerja

Pengenceran sampel (serum dan kuning telur)

Serum dan kuning telur masing-masing diencerkan hingga 1:16 pengenceran dengan *assay buffer*.

1. Setiap *vial/botol* berisikan 20µl 1X *assay buffer*. *Vial* pertama dicampurkan dengan 20µl sampel serum. Pengenceran sampel ini adalah 1:1.
2. Pengenceran sampel 1:1 dipindahkan sebanyak 20µl ke dalam *vial* kedua. Pengenceran dalam *vial* ini adalah 1: 2.
3. Pengenceran sampel 1:2 dipindahkan sebanyak 20µl ke dalam *vial* ketiga. Pengenceran dalam *vial* ini adalah 1: 4.
4. Pengenceran sampel 1:4 dipindahkan sebanyak 20µl ke dalam *vial* keempat. Pengenceran dalam *vial* ini adalah 1: 8.
5. Pengenceran sampel 1:8 dipindahkan sebanyak 20µl ke dalam *vial* kelima. Pengenceran dalam *vial* ini adalah 1: 16.
6. Prosedur di atas diulangi kembali untuk pengenceran sampel kuning telur.
(Sharon *et al.*, 2016).

Prosedur uji deteksi ikatan antara antibodi spesifik dan antigen dengan metode *double immunodiffusion*

1. Persiapan 1X *Assay Buffer*.

1ml 10X *assay buffer* dimasukkan ke dalam 9ml air suling yang steril.

2. Persiapan *nutrient agar*.

2g bubuk *nutrient agar* dimasukkan ke dalam 100ml *aquades*, lalu panaskan sampai *nutrient agar* larut sepenuhnya.

3. Larutan *nutrient agar* didinginkan hingga 50-60°C dan dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 15ml pada permukaan yang horizontal. Agar didiamkan selama 30 menit.

4. Agar dilubangi dengan alat bantuan yang sesuai (*gel punch*) pada bagian yang sudah ditandai.

5. PBS, pengenceran sampel serum 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 dimasukkan ke dalam lubang masing-masing yang berada di pinggiran, tiap lubang berisi 10µl.

6. Antigen (bakteri *Streptococcus sanguis/Fusobacterium nucleatum*) dimasukkan ke dalam lubang yang berada ditengah sebanyak 10µl.

7. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

8. Setelah inkubasi, amati garis presipitasi di antara lubang antigen dan lubang IgY serum.

9. Prosedur diatas diulangi untuk sampel IgY dalam kuning telur.

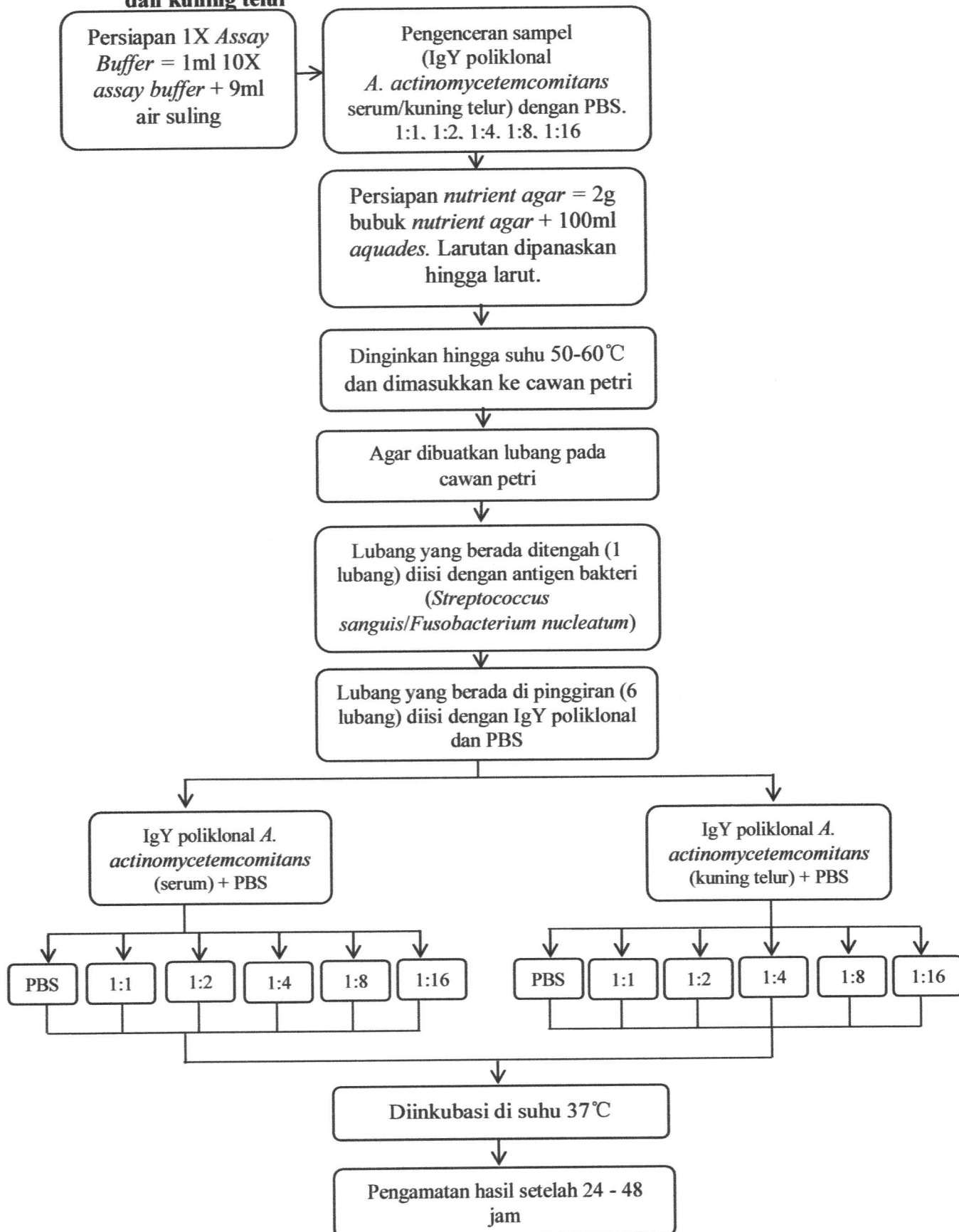
(HiMedia Laboratories, 2012; Sharon *et al.*, 2016).

4.9 Prosedur Analisis Data

Analisis data yang dilakukan dengan uji Kruskal wallis dan Man Whitney. Uji Kruskal wallis digunakan untuk melihat adanya perbedaan efek dari tiap perlakuan pengenceran IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* terhadap antigen bakteri (*F. nucleatum* dan *S. sanguis*) dan IgY poliklonal *P. gingivalis* terhadap antigen bakteri (*F. nucleatum* dan *S. sanguis*). Uji Man Whitney digunakan untuk melihat perbedaan efek antara serum dan kuning telur pada kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dan perbedaan efek antara serum dan kuning telur kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis*.

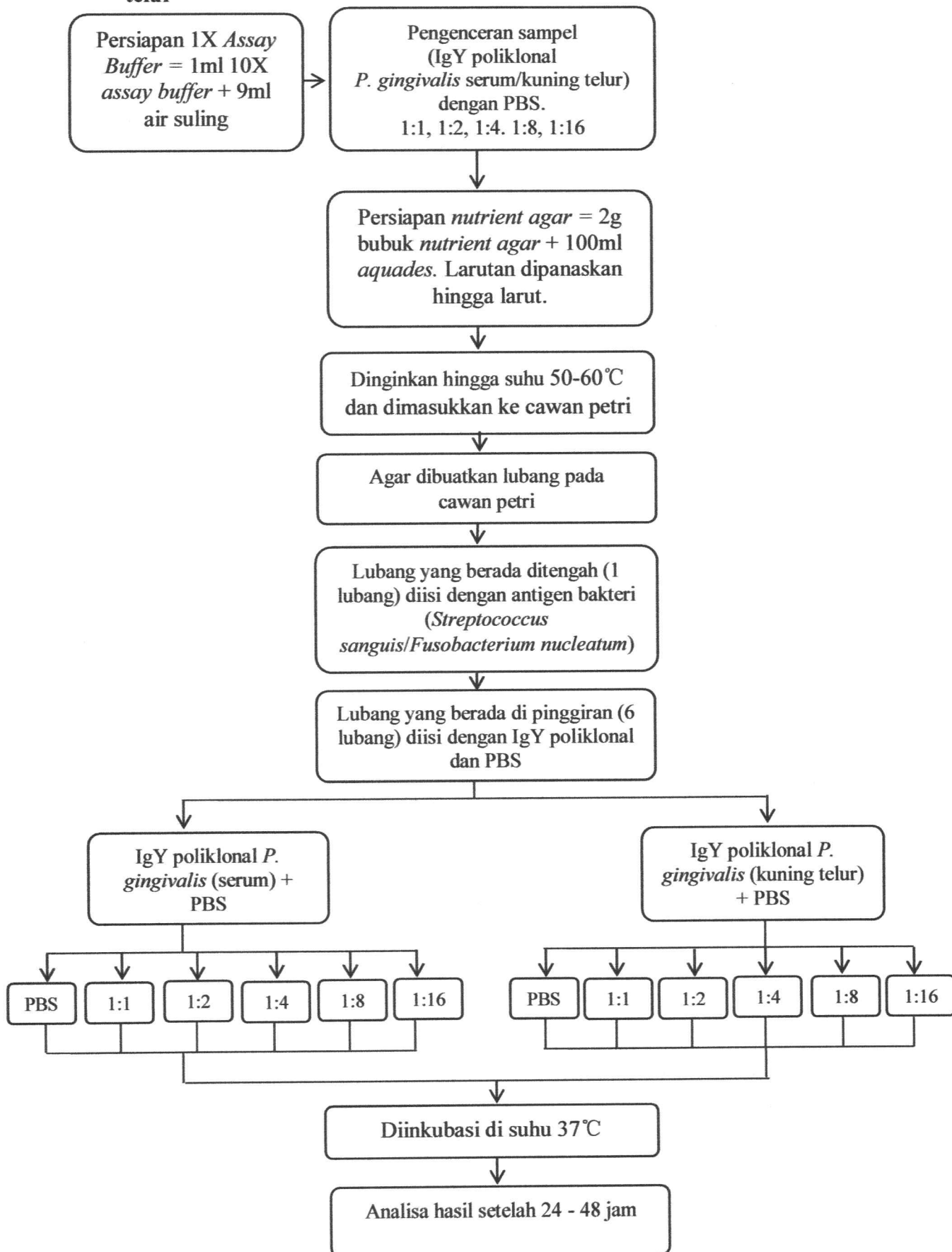
4.10 Alur Penelitian

a. Uji Imunodifusi IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam serum dan kuning telur



b. Uji Imunodifusi IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur

telur



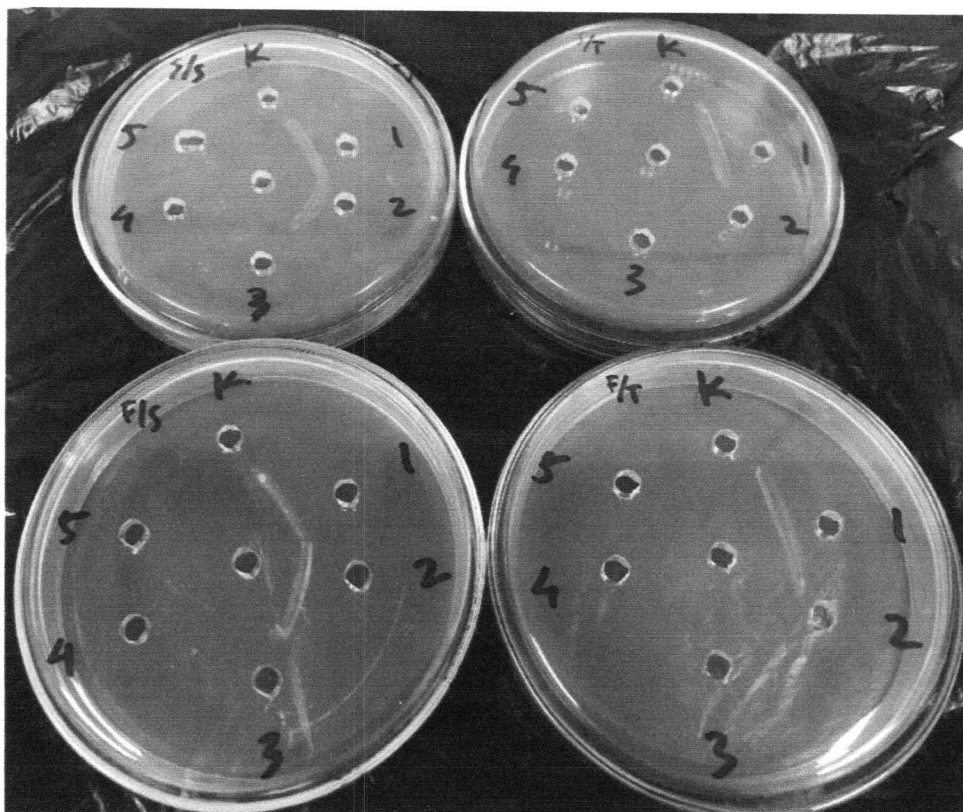
BAB 5
HASIL PENELITIAN



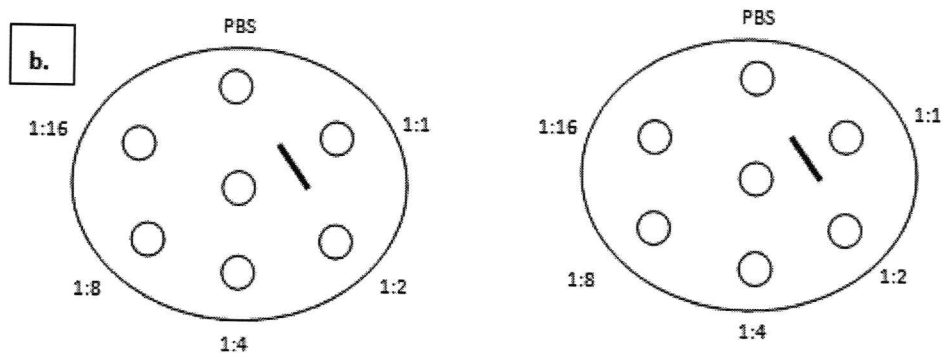
BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Pengamatan hambatan kolonisasi bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis* kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans*

Hasil pengamatan hambatan kolonisasi bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis* pada kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam serum dan kuning telur ditandai dengan adanya garis presipitasi yang ditunjukkan pada Gambar 5.1:



Gambar 5.1 Garis presipitasi pada kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*. (S/S: *S. sanguis*/IgY dalam Serum; S/T: *S. sanguis*/IgY dalam Kuning Telur; F/S: *F. nucleatum*/IgY dalam Serum; F/T: *F. nucleatum*/IgY dalam Kuning Telur).



Gambar 5.1.1 Diagram hasil kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* terhadap bakteri *F. nucleatum*; a. Sediaan serum; b. Sediaan kuning telur.

Tabel 5.1.1 Analisis data kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* terhadap *F. nucleatum*

	AA1 (1:1)	AA2 (1:2)	AA3 (1:4)	AA4 (1:8)	AA5 (1:16)	AA6 (PBS)	<i>p</i> value
F/S	+	+	-	-	-	-	0.051
	+	+	-	-	-	-	
F/T	+	-	-	-	-	-	0.051
	+	-	-	-	-	-	

Ket :

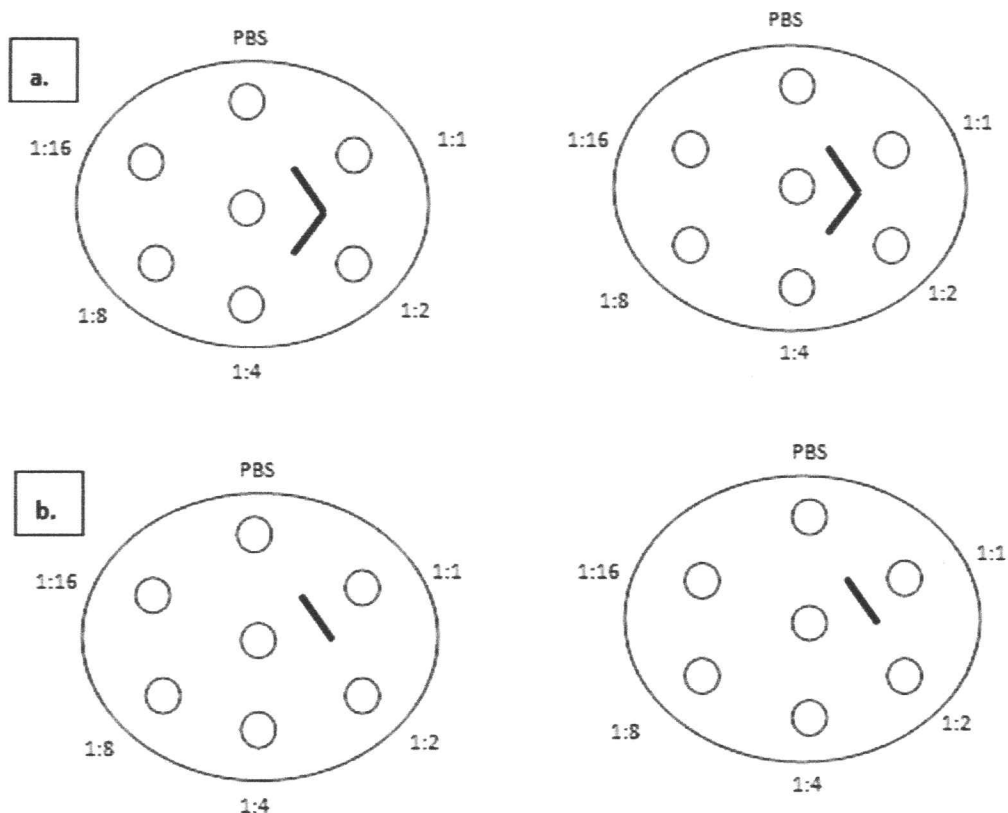
- + : terdapat garis presipitasi
- : tidak terdapat garis presipitasi
- * : signifikan (p value <0.05)

Berdasarkan tabel 5.1.1, pada kelompok F/S dengan pengenceran 1:1 terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/S dengan pengenceran 1:2 terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/S dengan pengenceran 1:4 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/S dengan pengenceran 1:8 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/S dengan pengenceran 1:16 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/S dengan PBS tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan. Pada semua kelompok F/S menunjukkan nilai yang tidak signifikan karena bernilai 0.051 yang berarti p value >0.05 . Hal tersebut menandakan konsentrasi tidak berpengaruh pada hasil.

Pada kelompok F/T dengan pengenceran 1:1 terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/T dengan pengenceran 1:2 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/T dengan pengenceran 1:4 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/T dengan pengenceran 1:8 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/T dengan pengenceran 1:16 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/T dengan PBS tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan. Pada semua kelompok F/T menunjukkan nilai yang tidak signifikan karena bernilai 0.051 yang berarti $p \text{ value} > 0.05$. Hal tersebut menandakan konsentrasi tidak berpengaruh pada hasil.

5.1.2 Pengamatan garis presipitasi kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri *S. sanguis*

Hasil pengamatan berdasarkan Gambar 5.1.2 pada kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam serum terhadap bakteri *S. sanguis* menunjukkan adanya garis presipitasi pada kelompok perlakuan pengenceran 1:1 dan 1:2. Hal tersebut dikarenakan konsentrasi IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* pada pengenceran 1:1 dan 1:2 lebih tinggi dibandingkan kelompok pengenceran serum IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* yang lainnya, terutama pada kelompok kontrol yaitu PBS, dimana tidak mengandung IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans*. Sedangkan, pada kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam kuning telur terhadap bakteri *S. sanguis* menunjukkan adanya garis presipitasi pada kelompok perlakuan pengenceran 1:1.



Gambar 5.1.2 Diagram hasil kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* terhadap bakteri *S. sanguis*; a. Sediaan serum; b. Sediaan kuning telur.

Tabel 5.1.2 Analisis data kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* terhadap *S. sanguis*.

	AA1 (1:1)	AA2 (1:2)	AA3 (1:4)	AA4 (1:8)	AA5 (1:16)	AA6 (PBS)	<i>p</i> value
S/S	+	+	-	-	-	-	0.051
	+	+	-	-	-	-	
S/T	+	-	-	-	-	-	0.051
	+	-	-	-	-	-	

Ket:

- + : terdapat garis presipitasi
- : tidak terdapat garis presipitasi
- * : signifikan (*p* value <0.05)

Berdasarkan tabel 5.1.2, pada kelompok S/S dengan pengenceran 1:1 terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/S dengan pengenceran 1:2 terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/S dengan pengenceran

1:4 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/S dengan pengenceran 1:8 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/S dengan pengenceran 1:16 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/S dengan PBS tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan. Pada semua kelompok S/S menunjukkan nilai yang tidak signifikan karena bernilai 0.051 yang berarti p value >0.05 . Hal tersebut menandakan konsentrasi tidak berpengaruh pada hasil.

Pada kelompok S/T dengan pengenceran 1:1 terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/T dengan pengenceran 1:2 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/T dengan pengenceran 1:4 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/T dengan pengenceran 1:8 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/T dengan pengenceran 1:16 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/T dengan PBS tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan. Pada semua kelompok S/T menunjukkan nilai yang tidak signifikan karena bernilai 0.051 yang berarti p value >0.05 . Hal tersebut menandakan konsentrasi tidak berpengaruh pada hasil.

5.1.3 Perbandingan hasil kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam serum dan kuning telur

Hasil pada tabel 5.1.3 menunjukkan F/S dengan F/T bernilai 0.514, S/S dengan S/T bernilai 0.514. Berdasarkan hasil tersebut menurut perhitungan statistik menunjukkan tidak memiliki perbedaan antara kelompok IgY poliklonal

A. actinomycetemcomitans serum dan kuning telur terhadap bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis* dikarenakan hasil yang tidak signifikan yaitu *p value* >0.05.

Tabel 5.1.3 Perbandingan hasil kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*.

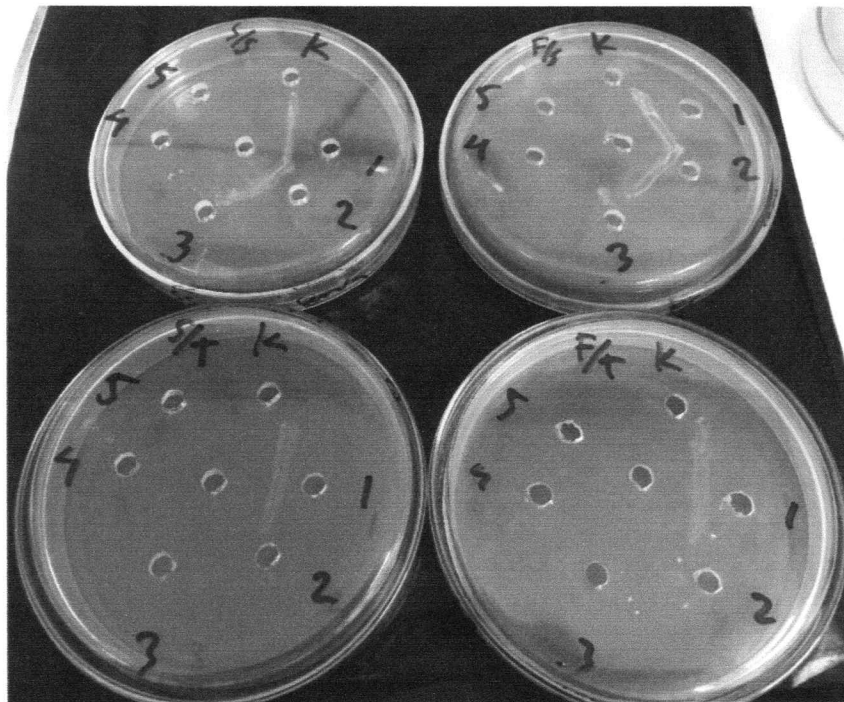
	<i>p value</i>
F/S F/T	0.514
S/S S/T	0.514

Keterangan:

* : signifikan (*p value* <0.05)

5.2 Pengamatan hambatan kolonisasi bakteri *F. nucleatum* dan *S.sanguis* kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis*

Hasil pengamatan hambatan kolonisasi bakteri *F. nucleatum* dan *S.sanguis* pada kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur ditandai dengan adanya garis presipitasi yang ditunjukkan pada Gambar 5.2:

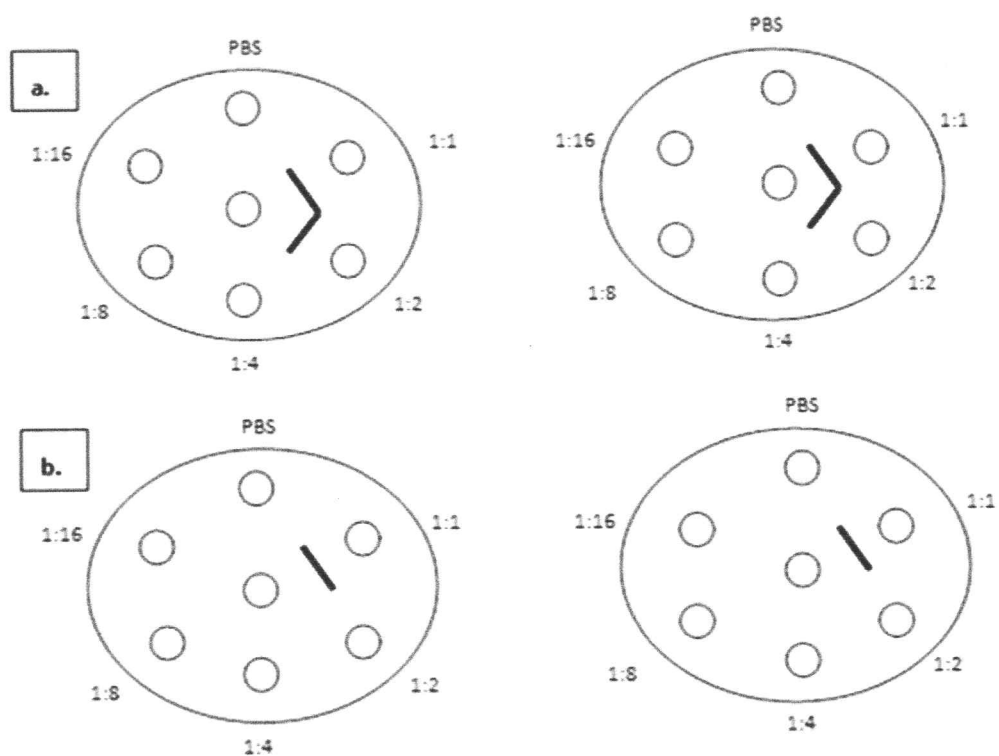


Gambar 5.2 Garis presipitasi pada kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*. (S/S: *S. sanguis*/IgY dalam Serum; S/T: *S. sanguis*/IgY dalam Kuning Telur; F/S: *F. nucleatum*/IgY dalam Serum; F/T: *F. nucleatum*/IgY dalam Kuning Telur).

5.2.1 Pengamatan garis presipitasi kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri *F. nucleatum*

Hasil pengamatan berdasarkan Gambar 5.2 pada kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum terhadap bakteri *F. nucleatum* menunjukkan adanya garis presipitasi pada kelompok perlakuan pengenceran 1:1 dan 1:2. Hal tersebut dikarenakan konsentrasi IgY poliklonal *P. gingivalis* pada pengenceran 1:1 dan 1:2 lebih tinggi dibandingkan kelompok pengenceran serum IgY poliklonal *P.*

gingivalis yang lainnya, terutama pada kelompok kontrol yaitu PBS, dimana tidak mengandung IgY poliklonal *P. gingivalis*. Sedangkan, pada kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam kuning telur terhadap bakteri *F. nucleatum* menunjukkan adanya garis presipitasi pada kelompok perlakuan pengenceran 1:1.



Gambar 5.2.1 Diagram hasil kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* terhadap bakteri *F. nucleatum*; a. Sediaan serum; b. Sediaan kuning telur.

Tabel 5.2.1 Analisis data kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* terhadap *F. nucleatum*.

	PG1 (1:1)	PG2 (1:2)	PG3 (1:4)	PG4 (1:8)	PG5 (1:16)	PG6 (PBS)	<i>p</i> value
F/S	+	+	-	-	-	-	0.051
	+	+	-	-	-	-	
F/T	+	-	-	-	-	-	0.051
	+	-	-	-	-	-	

Ket:

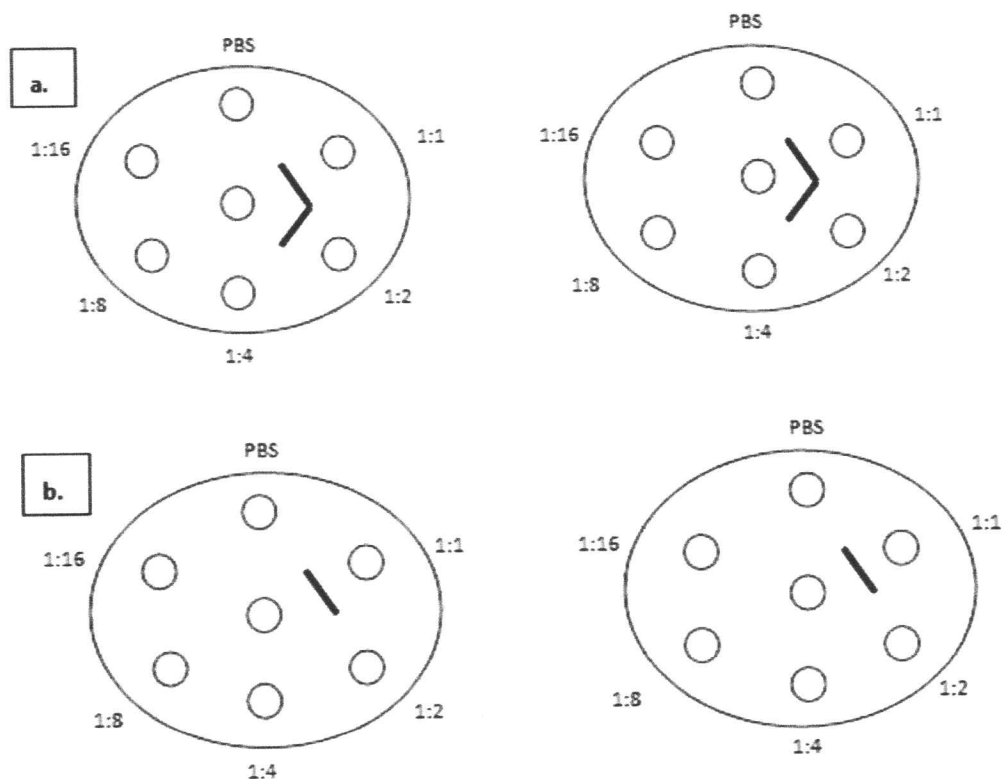
- + : terdapat garis presipitasi
- : tidak terdapat garis presipitasi
- * : signifikan (*p* value <0.05)

Berdasarkan tabel 5.2.1, pada kelompok F/S dengan pengenceran 1:1 terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/S dengan pengenceran 1:2 terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/S dengan pengenceran 1:4 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/S dengan pengenceran 1:8 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/S dengan pengenceran 1:16 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/S dengan PBS tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan. Pada semua kelompok F/S menunjukkan nilai yang tidak signifikan karena bernilai 0.051 yang berarti p value >0.05 . Hal tersebut menandakan konsentrasi tidak berpengaruh pada hasil.

Pada kelompok F/T dengan pengenceran 1:1 terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/T dengan pengenceran 1:2 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/T dengan pengenceran 1:4 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/T dengan pengenceran 1:8 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/T dengan pengenceran 1:16 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok F/T dengan PBS tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan. Pada semua kelompok F/T menunjukkan nilai yang tidak signifikan karena bernilai 0.051 yang berarti p value >0.05 . Hal tersebut menandakan konsentrasi tidak berpengaruh pada hasil.

5.2.2 Pengamatan garis presipitasi kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri *S. sanguis*

Hasil pengamatan berdasarkan Gambar 5.2 pada kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum terhadap bakteri *S. sanguis* menunjukkan adanya garis presipitasi pada kelompok perlakuan pengenceran 1:1 dan 1:2. Hal tersebut dikarenakan konsentrasi IgY poliklonal *P. gingivalis* pada pengenceran 1:1 dan 1:2 lebih tinggi dibandingkan kelompok pengenceran serum IgY poliklonal *P. gingivalis* yang lainnya, terutama pada kelompok kontrol yaitu PBS, dimana tidak mengandung IgY poliklonal *P. gingivalis*. Sedangkan, pada kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam kuning telur terhadap bakteri *S. sanguis* menunjukkan adanya garis presipitasi pada kelompok perlakuan pengenceran 1:1.



Gambar 5.2.2 Diagram hasil kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* terhadap bakteri *S. sanguis*; a. Sediaan serum; b. Sediaan kuning telur.

Tabel 5.2.2 Analisis data kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* terhadap *S. sanguis*.

	PG1 (1:1)	PG2 (1:2)	PG3 (1:4)	PG4 (1:8)	PG5 (1:16)	PG6 (PBS)	<i>p</i> value
S/S	+	+	-	-	-	-	0.051
	+	+	-	-	-	-	
S/T	+	-	-	-	-	-	0.051
	+	-	-	-	-	-	

Ket:

- + : terdapat garis presipitasi
- : tidak terdapat garis presipitasi
- * : signifikan (p value <0.05)

Berdasarkan tabel 5.2.2, pada kelompok S/S dengan pengenceran 1:1 terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/S dengan pengenceran 1:2 terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/S dengan pengenceran 1:4 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/S dengan pengenceran 1:8 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/S dengan pengenceran 1:16 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/S dengan PBS tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan. Pada semua kelompok S/S menunjukkan nilai yang tidak signifikan karena bernilai 0.051 yang berarti p value >0.05 . Hal tersebut menandakan konsentrasi tidak berpengaruh pada hasil.

Pada kelompok S/T dengan pengenceran 1:1 terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/T dengan pengenceran 1:2 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/T dengan pengenceran 1:4 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/T dengan pengenceran 1:8 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/T dengan pengenceran 1:16 tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan, kelompok S/T dengan PBS tidak terdapat garis presipitasi dan tidak signifikan. Pada semua kelompok S/T menunjukkan nilai yang tidak signifikan karena bernilai 0.051 yang

berarti p value >0.05 . Hal tersebut menandakan konsentrasi tidak berpengaruh pada hasil.

5.2.3 Perbandingan hasil kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur

Hasil pada tabel 5.1.3 menunjukkan F/S dengan F/T bernilai 0.514, S/S dengan S/T bernilai 0.514. Berdasarkan hasil tersebut menurut perhitungan statistik menunjukkan tidak memiliki perbedaan antara kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* serum dan kuning telur terhadap bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis* dikarenakan hasil yang tidak signifikan yaitu p value >0.05 .

Tabel 5.2.3 Perbandingan hasil kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*

	p value
F/S F/T	0.514
S/S S/T	0.514

Keterangan:

* : signifikan (p value <0.05)

BAB 6
PEMBAHASAN



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dan IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam sediaan serum dan kuning telur untuk diujikan terhadap bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis* dengan menggunakan metode *double immunodiffusion*/imunodifusi ganda. Keberhasilan imunodifusi ganda ditandai dengan adanya interaksi antibodi-antigen dengan cara difusi. Antibodi dengan afinitas intrinsik sedang hingga tinggi bercampur dengan antigen pada rasio yang tepat disebut zona ekuivalen, kisi-kisi kompleks antibodi-antigen terbentuk dan mengendap keluar dari larutan, terbentuk garis presipitasi yang tidak larut di zona ekuivalen (*precipitin line*). Pengendapan dapat dimulai dalam beberapa jam atau mungkin diperlukan waktu 24 hingga 48 jam untuk menyelesaikannya (Hornbeck, 2017).

Data hasil dari kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam serum terhadap bakteri *F. nucleatum* maupun *S. sanguis*, didapatkan adanya garis presipitasi pada pengenceran 1:1. Hasil yang sama juga didapatkan pada kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis*. Hasil kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum terhadap bakteri *F. nucleatum* maupun *S. sanguis*, didapatkan adanya garis presipitasi pada pengenceran 1:1 dan 1:2. Sedangkan, untuk kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam kuning telur terhadap bakteri *F. nucleatum* maupun *S. sanguis*, didapatkan adanya garis presipitasi pada pengenceran 1:1. Hal ini menunjukkan garis presipitasi terbentuk pada pengenceran yang rendah, yaitu artinya konsentrasi antibodi pada pengenceran

tersebut lebih tinggi dibandingkan kelompok pengenceran yang tinggi, pada kelompok tersebut berarti memiliki konsentrasi yang sesuai untuk dapat berinteraksi dengan antigen. Hal tersebut sesuai dengan teori bahwa reaksi presipitasi terjadi ketika konsentrasi antigen dan antibodi yang bercampur berada pada zona ekuivalen. Jika konsentrasi antibodi terlalu rendah, memberikan tampilan hasil negatif (Thermo Fisher Scientific, 2011). Hasil tersebut sama seperti penelitian sebelumnya dengan metode yang sama, yaitu penelitian yang dilakukan oleh Sharon *et al.*, (2016), hasil yang didapatkannya yaitu garis presipitasi terlihat pada pengenceran 1:2.

Garis presipitasi yang terbentuk diantara antigen dan antibodi, baik pada kelompok IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*, maupun kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur terhadap bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis* menunjukkan adanya aktivitas antara IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dengan bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*, maupun IgY poliklonal *P. gingivalis* terhadap bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*. Aktivitas tersebut berupa pengikatan antara antibodi dan antigen. Hal tersebut dapat dikarenakan IgY merupakan antibodi poliklonal. Antibodi poliklonal dapat berikatan dengan berbagai epitop antigen (Seida, 2017). IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dapat berikatan dengan pili dari bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis* karena sama-sama memiliki pili tipe IV. IgY poliklonal *P. gingivalis* juga dapat berikatan dengan unsur homolog yang terdapat pada permukaan *S. sanguis* yaitu SsaB, dan dapat berikatan dengan OMP *F. nucleatum* karena memiliki massa molekul yang sama. Pengikatan tersebut dapat

menghambat kolonisasi bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis* akibat terganggunya fungsi komponen permukaan bakteri tersebut. Hal tersebut sesuai teori bahwa IgY berikatan pada komponen tertentu pada permukaan bakteri seperti *outer membrane protein* (OMP), lipopolisakarida (LPS), *flagella*, dan *fimbriae* (atau *pili*). Pengikatan ini dapat memblokir atau merusak fungsi komponen bakteri yang berhubungan dengan kolonisasi dan dapat menyebabkan penghambatan pertumbuhan bakteri (Hou *et al.*, 2013; Zajac *et al.*, 2017). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Chalgoulmi *et al.*, (2009), telah membuktikan bahwa OMP *Salmonella sp.* berikatan dengan IgY spesifik dapat berguna untuk mencegah kolonisasi *Salmonella*. Penelitian yang dilakukan oleh Lee *et al.*, (2002), IgY spesifik *Salmonella* berikatan dengan molekul permukaan *Salmonella* sehingga dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella* yang homolog. IgY dapat mempengaruhi kolonisasi *Salmonella enteritidis* dan *Salmonella typhimurium* dengan mengikat OMP. OMP *Salmonella* tersebut berguna untuk adhesi dan invasi mukosa. Pengikatan tersebut menyebabkan terganggunya fungsi biologis OMP, sehingga invasif *Salmonella* berkurang karena hilangnya kemampuan untuk mengkolonisasi saluran pencernaan (Naidu, 2000). Penelitian lain yang dilakukan oleh Febrianti *et al.* (2017) didapatkan bahwa, IgY spesifik *A. actinomycetemcomitans* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. actinomycetemcomitans* dan IgY spesifik *P. gingivalis* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. gingivalis*.

Berdasarkan hasil analisa statistik menunjukkan tidak ada perbedaan efek pada masing-masing kelompok pengenceran IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans*, maupun kelompok IgY poliklonal *P. gingivalis*

(*p value* >0.05). Hal tersebut dapat dikarenakan kurang sensitifnya metode ini. Hal tersebut sesuai teori bahwa tes ini kurang sensitif karena pembentukan garis presipitasi tergantung pada konsentrasi ekuivalen dari antibodi antigen dan antibodi spesifik (International Potato Center, 2018). Selain itu tidak dapat perbedaan hasil antara serum dan kuning telur (*p value* >0.05). Oleh karena itu, baik serum maupun kuning telur dapat digunakan. Hal tersebut sesuai dengan teori bahwa kuning telur merupakan sumber antibodi yang baik dan memberikan alternatif untuk serum (Ghaniei *et al.*, 2017). Faktor yang dapat mempengaruhi hasil yaitu dapat dikarenakan sampel yang terkontaminasi. Hal tersebut sesuai dengan teori bahwa untuk mendapatkan hasil yang optimal dengan metode imunodifusi ganda, sampel yang digunakan harus steril, yang seharusnya tidak terkontaminasi (IMMY, 2007).

BAB 7
KESIMPULAN

BAB 7**KESIMPULAN****7.1 Kesimpulan**

1. IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dalam serum dan kuning telur mempunyai aktivitas yang dapat menghambat kolonisasi bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*.
2. IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam serum dan kuning telur mempunyai aktivitas yang dapat menghambat kolonisasi bakteri *F. nucleatum* dan *S. sanguis*.

7.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan metode kuantitatif agar didapatkan hasil yang lebih akurat untuk mengetahui potensi IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* dan IgY poliklonal *P. gingivalis* dalam menghambat kolonisasi bakteri-bakteri penyebab penyakit periodontitis lainnya. Selain itu, diperlukan sampel yang lebih banyak agar mendapatkan informasi yang lebih detail.



DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Åberg, C.H., Kelk, P., Johansson, A., 2015. "Aggregatibacter actinomycetemcomitans: Virulence of Its Leukotoxin and Association with Aggressive Periodontitis". *Virulence Journal*. Vol. 6(3), p. 189. <https://doi.org/10.4161/21505594.2014.982428>.
- Albandar, J.M., 2014. "Aggressive and Acute Periodontal Diseases". *Periodontology 2000*. Vol. 65, p. 7. <https://doi.org/10.1111/prd.12013>.
- Amro, W.A., Al-Qaisi, W., Al-Razem, F., 2017. "Production and Purification of IgY Antibodies from Chicken Egg yolk". *J. Genet. Eng. Biotechnol.* p. 1. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.10.003>.
- Andriani, D and Rizka, Y. 2014. "Potensi Antibakteri Ekstrak Tumbuhan Mangrove Rhizophora mucronata Terhadap Pertumbuhan Bakteri Mixed Periodontopatogen". *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*. Vol. 8(1): 61.
- Agrawal, R., Hipurkar, S.D., Sannat, C., Gupta, A.K. 2016. "Comparative Study On Immunoglobulin Y Transfer From Breeding Hens To Egg Yolk And Progeny Chicks In Different Breeds Of Poultry". *Veterinary World Journal*. Vol. 9, p. 428.
- Barati, B., Ebrahimi, F., Nazarian, S., 2016. "Egg Yolk Antibodies for Disease Prevention". *J. Bacteriol. Mycol.* Vol. 3(2): 2. <https://doi.org/10.15406/jbmoa.2016.03.00058>.
- Blue, C.M. 2017. *Darby's Comprehensive Review of Dental Hygiene*. St. Louis: Elsevier, p. 436-437.
- Brígido, J., Silveira, V., Rego, R., Nogueira, N., 2014. "Serotypes of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in Relation to Periodontal Status and Geographic Origin of Individuals- A Review of The Literature". *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. Vol. 19(2): 185. <https://doi.org/10.4317/medoral.19304>.
- Busch, A., Phan, G., Waksman, G., 2015. "Molecular Mechanism of Bacterial Type 1 and P Pili Assembly". *Philos. Trans. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.* p. 1.
- Cahyaningsih, T. 2016. "Aplikasi IgY Spesifik *Staphylococcus aureus* sebagai Pencegahan Staphylococcosis Pada Kelinci". Thesis Of Institut Pertanian Bogor. p. xix.
- Carlander, D. 2002. "Avian IgY Antibody: In vitro and in vivo". *Comprehens. ed, Acta Universitatis Upsaliensis*. pp. 18, 27.
- Chahboun, H., Arnau, M.M., Herrera, D., Sanz, M., Ennibi, O.K., 2015. "Bacterial Profile of Aggressive Periodontitis in Morocco: A cross-sectional study". *BMC Oral Health*. Vol. 15(25): 1-2.
- Chailyan, A., Tramontano, A., Marcatili, P., 2012. "A Database of Immunoglobulins with Integrated Tools: DIGIT". *Nucleic Acids Res*. Vol. 40, p. 1231. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr806>.
- Chalghoumi, R., Beckers, Y., Portetelle, D., Théwis, A., 2009. "Hen Egg yolk Antibodies (IgY), Production and Use for Passive Immunization Against Bacterial Enteric Infections in Chicken: A Review Raja". *Biotechnol. Agron. Soc. Env*. Vol. 13(2): 304.
- Cobb, C.M., 2008. "Microbes, Inflammation, Scaling and Root Planing, and the

- Periodontal Condition". *J. Dent. Hyg.* p. 4.
- de Molon, R.S., Mascarenhas, V.I., de Avila, E.D., Finoti, L.S., Toffoli, G.B., Spolidorio, D.M.P., Scarel-Caminaga, R.M., Tetradis, S., Cirelli, J.A., 2015. "Long-term Evaluation of Oral Gavage with Periodontopathogens or Ligature Induction of Experimental Periodontal Disease in Mice". *Clin. Oral Investig.* p. 2. <https://doi.org/10.1007/s00784-015-1607-0>.
- Ding, Q., Tan, K.S., 2016. "The Danger Signal Extracellular ATP Is an Inducer of *Fusobacterium nucleatum* Biofilm Dispersal". *Front. Cell. Infect. Microbiol.* Vol. 6, p. 2. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00155>.
- Dubie, T., Sisay, T., Zeru, F., Gebru, M., Muktar, Y., 2015. "The Potential Application of Avian Egg Antibodies with Emphasis on Immunotherapeutic and Immunodiagnostic Purpose". *J. Vet. Med. Anim. Heal.* Vol. 7, issue 5, pp. 146, 149. <https://doi.org/10.5897/JVMAH2014>.
- Easton, S. 2009. "Functional and Metagenomic Analysis of the Human Tongue Dorsum using Phage Display". *Degree of Doctorate of Philosophy at University College London.* p. 27.
- Ezepchuk, Y. V., 2017. "Biological Concept of Bacterial Pathogenicity (Theoretical Review)". *Sci. Res. Publ.* Vol. 7, p. 53.
- Febrianti, T., Ridwan, R., Juliastuti, W., 2017. "Potensi IgY Dalam Serum Untuk Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Dan *Porphyromonas gingivalis*". *Skripsi thesis, Univ. Airlangga.* p. ix.
- Federer, W. 1963. *Experimental Design Theory and Application.* Oxford: Oxford and Lbh Publish Hincó.
- Galimanas, V., Hall, M.W., Singh, N., Lynch, M.D.J., Goldberg, M., Tenenbaum, H., Cvitkovitch, D.G., Neufeld, J.D., Senadheera, D.B., 2014. "Bacterial Community Composition Of Chronic Periodontitis And Novel Oral Sampling Sites For Detecting Disease Indicators". *Microbiome.* Vol. 2, p. 2. <https://doi.org/10.1186/2049-2618-2-32>.
- Ghaniei, A., Abtahi, S.M., Hjian, M. 2017. "Newcastle Antibody Levels in Egg Yolk of Layer Flocks after Chloroform and Ammonium Sulfate Extraction". *Res. J. Microbiology.* Vol. 12(4): 244.
- Guimaraes, M.C., Amaral L.G., Rangel L.B.A., Sulva, I.V., Matta, C.G.F., Matta, M.F.R. 2009. "Growth Inhibition of *Staphylococcus aureus* by Chicken Egg Yolk Antibodies". *Arch. Immunol. Ther. Exp Journal.* Vol. 57, p. 377.
- Han, K. and Shin, S., 2016. "A Clinical Study on the Influence of Immunoglobulin Y-Containing Chewing Gum on the Periodontium". *Int. J. Clin. Prev. Dent.* Vol. 12(1): 37.
- Han, S., Wang, G., Xu, N., Liu, H., 2016. "Quantitative Assessment of the Effects of Oxidants on Antigen-Antibody Binding In Vitro". *Hindawi J.* p.1. <https://doi.org/10.1155/2016/1480463>.
- Han, Y.W., 2015. "*Fusobacterium nucleatum*: a commensal-turned pathogen". *NIH Public Access*, pp. 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.11.013>.

- Handajani, J., Narissi, D.H., Azis, M., Rahmawati, A.S., 2016. "Effects of Immunoglobulin Y (IgY) Serum Against Plaque Bacteria". *African J. Microbiol. Res.* Vol. 10 (39): 1673. <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8266>.
- Hayati, M., Herman, H., Rezano, A. 2018. "The Effect Of Probiotic Lactobacillus Casei Supplementation On The Secretary Immunoglobulin A Level In The Saliva Of Wistar Rats". *Bali Medical Journal.* Vol. 7, p, 729.
- He, J.X., Thirumalai, D., Schade, R., Zhang, X.Y. 2014. "Chronobiological Studies Of Chicken Igy: Monitoring Of Infradian, Circadian And Ultradian Rhythms Of IgY In Blood And Yolk Of Chickens". *Veterinary Immunology and Immunopathology.* p. 3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.05.016>
- HiMedia Laboratories, 2012. "HiPer ® Ouchterlony Double Diffusion Teaching Kit (Antibody Titration) [WWW Document]". *HiMedia.* URL <http://www.himedialabs.com/TD/HTI003.pdf>.
- Hornbeck, P. 2017. "Double-immunodiffusion assay for detecting specific antibodies (Ouchterlony)". *Curr. Protoc. Immunol.* p. 2.3.4.
- Hospenthal, M.K., Costa, T.R.D., and Waksman, G. 2017. "Pilus Biogenesis At The Inner And Outer Membranes Of Gram Negative Bacteria". *University College London and Birkbeck.* p. 18. [Online] <http://eprints.bbk.ac.uk/18544/1/18544.pdf>. Diakses pada 13 November 2018.
- Hou, Y.Y., Zhen, Y.H., Wang, D., Zhu, J., Sun, D.X., Liu, X.T., Wang, H.X., Liu, Y., Long, Y.Y., Shu, X.H. 2013. "Protective Effect Of An Egg Yolk-derived Immunoglobulin (IgY) Against *Prevotella intermedia*- mediated Gingivitis" *Journal of Applied Microbiology.* Vol. 116, p. 1024.
- Hung, H. Te, Ye, D.Q., Lai, C.H., 2016. "Comparison of The Adhesion of *Streptococcus sanguinis* to Commonly used Dental Alloys Stratified by Gold Content". *J. Dent. Sci.* Vol. 11, pp. 438, 440. <https://doi.org/10.1016/j.jds.2016.07.005>.
- IMMY (Immuno-Mycologics). 2007. "Fungal Antigens, Positive Controls And Immunodiffusion Plates For Use In The Immunodiffusion (Id) Test". [Online] <http://www.interlabdist.com.br/dados/produtos/bula/doc/124200022480f4032b86a6.pdf>. Diakses pada 13 November 2018.
- Imran, A.G. and Ataa, M.A.S., 2010. "Prevalence Of Aggressive Periodontitis Among Yemeni Students From Schools In The City Of Thamar". *RSBO.* Vol. 7, p. 326.
- International Potato Center. 2018. "Section 2.3.4 Double Diffusion Test In Gels (Ouchterlony)". p. 1 [Online]. Diakses pada 13 November 2018.
- InterPro. 2018. *Adhesion Lipoprotein.* [Online]. <https://www.ebi.ac.uk/interpro/entry/IPR006128>. Diakses pada 28 Oktober 2018.
- Joseph, B., Janam, P., Narayanan, S., Anil, S., 2017. "Is Antimicrobial Photodynamic Therapy Effective as an Adjunct to Scaling and Root Planing in Patients with Chronic Periodontitis? A Systematic Review". *Biomol.*

- MDPI J. Vol. 7, p. 1. <https://doi.org/10.3390/biom7040079>.
- Jung, Y.J., Jun, H.K., Choi, B.K., 2017. "Porphyromonas Gingivalis Suppresses Invasion Of Fusobacterium Nucleatum Into Gingival Epithelial Cells". *J. Oral Microbiol.* Vol. 9, p. 1. <https://doi.org/10.1080/20002297.2017.1320193>.
- Kapoor, A., Malhotra, R., Grover, V., Grover, D., 2012. "Systemic Antibiotic Therapy in Periodontitis". *Dent. Res. J.* Vol. 9(5): 1.
- Khosropanah, H., Bazargani, A., Ebrahimi, H., Eftekhari, K., 2012. "Assessing the Effect of Pineapple Extract Alone and in Combination With Vancomycin on *Streptococcus sanguis*". *Jundishapur J Nat Pharm Prod.* Vol. 7, p. 141. <https://doi.org/10.17795/jjnpp-3727>.
- Kinane, D., Mombelli, A., 2012. *Periodontal Disease*. Basel: Karger, p. 12.
- Kline, K.A., Fälker, S., Dahlberg, S., Normark, S., Henriques-Normark, B., 2009. "Bacterial Adhesins in Host-Microbe Interactions". *Cell Host Microbe.* Vol. 5, p. 581. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2009.05.011>.
- Kolenbrander, P.E., Palmer, R.J., Periasamy, S., Jakubovics, N.S., 2010. "Oral Multispecies Biofilm Development And The Key Role of Cell-Cell Distance". *Nat. Rev. Microbiol.* Vol. 8, pp. 471–472. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2381>.
- Kumar, S., Mittal, M., Khanna, P., 2012. "Role Of Antibiotics In The Treatment Of Periodontal Disease-An Overview". *Internet J. Microbiol.* Vol. 10, p. 1.
- Kumar, S.B., 2017. "Chlorhexidine Mouthwash- A Review". *J. Pharm. Sci. & Res.* Vol. 9(9): 1451.
- Lagha, A. Ben, Haas, B., Grenier, D., 2017. "Tea Polyphenols Inhibit The Growth And Virulence Properties Of *Fusobacterium nucleatum*". *Sci. Rep.* Vol. 7, p. 1. <https://doi.org/10.1038/srep44815>.
- Lee, EN, Sunwoo, HH, Menninen, K, Sim, JS. 2002. "In Vitro Studies Of Chicken Egg Yolk Antibody (IgY) Against Salmonella enteritidis and Salmonella typhimurium". *Poultry Science.* Vol. 81, p. 638.
- Li, X., Wang, L., Zhen, Y., Li, S., Xu, Y., 2015. "Chicken Egg Yolk Antibodies (IgY) As Non-Antibiotic Production Enhancers For Use In Swine Production: A Review". *J. Anim. Sci. Biotechnol.* Vol. 6(40): 2, 8. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0038-8>.
- Li, Y., Guo, H., Wang, X., Lu, Y., Yang, C., Yang, P., 2015. "Coinfection with *Fusobacterium nucleatum* Can Enhance The Attachment and Invasion of *Porphyromonas gingivalis* or *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* to Human Gingival Epithelial Cells". *Arch. Oral Biol.* Vol. 60, p. 1392. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.06.017>.
- Lin, X., Wu, J., Xie, H., 2006. "*Porphyromonas gingivalis* Minor Fimbriae are Required for Cell-Cell Interactions". *Infect. Immun.* Vol. 74(10): 6011. <https://doi.org/10.1128/IAI.00797-06>.
- Mattick, J.S., 2002. "Type IV Pili and Twitching Motility". *Annu. Rev. Microbiol.*

Vol. 56, p. 291.

- Méndez, J., Reimundo, P., Pascual, D.P., Navais, R., Gómez, E., Cascales, D., Guijarro, J.A., 2012. "An Overview of Virulence-Associated Factors of Gram-Negative Fish Pathogenic Bacteria". *Heal. Environ. Aquac. Intechopen*. p. 133. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/46845>.
- Montini, M.P.O., Fernandes, E.V., Carolina, A., Ferraro, S., Almeida, M.A., Cardoso, F., Venancio, E.J., 2017. "Effects Of Inoculation Route And Dose On Production And Avidity Of IgY Antibodies". *FOOD Agric. Immunol.* p. 2. <https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1376036>.
- Müller, S., Schubert, A., Zajac, J., Dyck, T., Oelkrug, C., 2015. "IgY Antibodies In Human Nutrition For Disease Prevention". *Nutr. J.* Vol. 14, pp. 1-2, 5. <https://doi.org/10.1186/s12937-015-0067-3>
- Munhoz, L.S., Vargas, G.D., Fischer, G., Lima, M. de, Esteves, P.A., Hübner, S. de O., 2014. "Avian IgY Antibodies: Characteristics And Applications In Immunodiagnostic". *Ciência Rural.* Vol. 44, pp. 153–160. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000100025>.
- Muschiol, S., Erlendsson, S., Aschtgen, M.S., Oliveira, V., Schmieder, P., De Lichtenberg, C., Teilum, K., Boesen, T., Akbey, U., Henriques-Normark, B., 2017. "Structure Of The Competence Pilus Major Pilin Comgc In *Streptococcus pneumoniae*". *J. Biol. Chem.* Vol. 292(34): 14134–14146. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.787671>.
- Naidu, AS. 2000. *Natural Food Antimicrobial Systems*. Florida: CRC Press, p. 235.
- Namikoshi, J., Maeba, S., Abiko, Y., Otake, S., 2003. "Nasal Immunization with *P. gingivalis* Surface Protein Antigen and Cholera Toxin Adjuvant Induces T Helper 2 Responses in Both Mucosal and Systemic Compartments". *Int J Oral-Med Sci.* Vol. 1(2): 90.
- Notohartojo, I., Sihombing, M., 2015. "Faktor Risiko pada Penyakit Jaringan Periodontal Gigi di Indonesia (RISKESDAS 2013)". *Bull. Penelit. Sist. Kesehat.* Vol. 18, pp. 87–89.
- Nunes, A.C.R., Longo, P.L., Mayer, M.P.A., 2016. "Influence of Aae Autotransporter Protein on Adhesion And Biofilm Formation by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*". *Braz. Dent. J.* Vol. 27(3): 255. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201600260>.
- Openstax, 2016. "Microbiology". *Openstax CNX.* [Online] <https://cnx.org/contents/5CvTdmJL@5.2:em26PrnZ@3/Detecting-Antigen-Antibody-Com>. Diakses pada 12 Mei 2018.
- Parija, S., 2009. *Textbook of Microbiology & Immunology*. Haryana: Elsevier, pp. 107-109.
- Pejčić, A., Kesić, L., Obradović, R., Mirković, D., 2010. "Antibiotics In The Management Of Periodontal Disease". *Sci. J. Fac. Med.* Vol. 27(2): 86.
- Polanowski, A., Zabłocka, A., Sosnowska, A., Janusz, M., Trziszka, T., 2012.

- "Immunomodulatory Activity Accompanying Chicken Egg Yolk Immunoglobulin Y". *Poult. Sci.* Vol. 91, pp. 3091–3096. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02546>.
- Prabhu, P., Prabhu, M.N., Elumalai, M., 2014. The Role of Antibiotics in Treatment of Chronic Periodontitis. *Int. J. Dent. Sci. Res.* Vol. 2(1):16. <https://doi.org/10.12691/ijdsr-2-1-5>
- Pramesti, H.T., 2016. "Streptococcus sanguinis as An Opportunistic Species In Human Oral Cavity: Adherence, Colonization, And Invasion". *Padjadjaran J. Dent.* Vol. 28(1): 46.
- Pranati, T., Vishnu Priya, V., Gayathri, R., 2017. "Treating Periodontitis By Inhibiting Sialic Acid Binding Protein Present In *Fusobacterium nucleatum* Using Herbal Compounds - An Insilico Study". *J. Pharm. Sci. Res.* Vol. 9, p. 248. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00155>.
- Prasad, K.A.R.V., John, S., Deepika, V., Dwijendra, K.S., Reddy, B. R., Chincholi, S. 2015. "Anti-Plaque Efficacy of Herbal and 0.2% Chlorhexidine Gluconate Mouthwash: A Comparative Study". *Journal of International Oral Health.* Vol. 7(8): 98, 100.
- Proft T. and Baker E.N. 2009. "Pili in Gram-negative and Gram-positive bacteria - structure, assembly and their role in disease". *Cell Mol Life Sci.* Vol. 66.
- Rahman, S., Nguyen, S. Van, Umeda, K., Kodama, Y., 2013. "Oral Passive IgY-based Immunotherapeutics A". *Hum. Vaccin. Immunother.* Vol. 9(5):1040, 1043.
- Rajeswari, S., Choraria, A., Zhang, X., Antonysamy, M., 2018. "Applications of Chicken Egg Yolk Antibodies (IgY) in Healthcare : A Review". *Biomed J Sci Tech Res.* Vol. 2(1): 2. <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2018.02.000649>.
- Rodriguez, V. 2011. "Using differentiated instruction to teach immunological concepts to a diverse group of learners". *Journal Of Immunology.* Vol. 186, p. 11.
- Rollauer, S.E., Soorshjani, M.A., Noinaj, N., Buchanan, S.K., 2015. "Outer Membrane Protein Biogenesis In Gram-Negative Bacteria". *Philos. Trans. B* Vol. 370, p. 1. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0023>.
- Safitri, B., Soeroso, C., Sunarto, Y., Pontoh, H., Bachtiar, D., 2017. "Association of Salivary Count of *Streptococcus sanguinis* with the Periodontal Status of Coronary Heart Disease Patients: A Quantitative Study". *J. Int. Dent. Med. Res.* Vol. 10, p. 783.
- Schade, R., Calzado, E.G., Sarmiento, R., Chacana, P.A., Asplund, J.P., Terzolo, H.R. 2005. "Chicken Egg Yolk Antibodies (IgY-technology): A Review of Progress in Production and Use in Research and Human and Veterinary Medicine". *ATLA Journal.* Vol. 33, p. 5.
- Seida, A.A., 2017. "Monoclonal Antibodies and Polyclonal Antibodies: A Brief Comparison". *iMed Journals.* Vol. 1(2): 1.
- Sharma, A.K., Dhasmana, N., Dubey, N., Kumar, N., Gangwal, A., Gupta, M.,

- Singh, Y., 2017. "Bacterial Virulence Factors: Secreted for Survival". *Indian J. Microbiol.* Vol. 57(1): 1. <https://doi.org/10.1007/s12088-016-0625-1>.
- Sharon, I., Gomez, L., Vani, C., Michael, A., 2016. "Isolation and Characterization of Antibodies Challenging *Staphylococcus aureus* Using Japanese Quail". *Intrernational J. Life Sci. Pharma Res.* Vol. 6, p.50.
- Signat, B., Roques, C., Poulet, P., Duffaut, D., 2011. *In Periodontal Health and Disease. Curr Issues Mol Biol.* Vol. 13, p. 25.
- Stevens, C. and Miller, L., 2017. *Clinical Immunology and Serology: A Laboratory Perspective.* Philadelphia: F.A. Davis Company, pp. 143–144.
- Stingu, C.S., Eschrich, K., Rodloff, A.C., Schaumann, R., Jentsch, H., 2008. "Periodontitis Is Associated With A Loss Of Colonization By *Streptococcus sanguinis*". *J. Med. Microbiol.* Vol. 57, p. 495. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47649-0>.
- Stones, D.H., Krachler, A.M., 2015. "Fatal Attraction: How Bacterial Adhesins Affect Host Signaling And What We Can Learn From Them". *Int. J. Mol. Sci.* Vol. 16, pp. 2626–2627. <https://doi.org/10.3390/ijms16022626>.
- Szkaradkiewicz, A.K., Karpiński, T.M., 2013. "Microbiology Of Chronic Periodontitis". *J. Biol. Earth Sci.* Vol. 3(1): 15.
- Thermo Scientific. 2011. *Instruction Immunodifussion Plates.* USA: Thermo Fisher Scientific Inc., p. 2.
- Telford, J.L., Barocchi, M.A., Margarit, I., Rappuoli, R., Grandi, G. 2006. "Pili in Gram-positive pathogens". *Nature Reviews.* Vol. 4, p. 509.
- Tonetti, MS, Jepsen, S, Jin, L, Corgel, JO. 2017. "Impact Of The Global Burden Of Periodontal Diseases On Health, Nutrition And Wellbeing Of Mankind: A Call For Global Action. *Journal of Clinical Periodontology*". Vol. 44, p. 457.
- Wardhana, M., Mayangsari, M., Nur, R., 2015. "Groel *Porphyromonas gingivalis* pada Penderita Periodontitis sebagai Pemicu Terbentuknya Aterosklerosis". *BIMKGI.* Vol. 3(2): 39.
- Wilson, J.W., Schurr, M.J., Leblanc, C.L., Ramamurthy, R., Buchanan, K.L., Nickerson, C.A., 2002. "Mechanisms of bacterial pathogenicity". *Postgr. Med J.* Vol. 78, p. 219.
- Wu, M., 2014. "A Phylogenetic Study of *Fusobacterium nucleatum* Using The Major Outer Membrane Protein FomA. UCLA Electron". *Theses Diss. Univ. Calif.* p. 7.
- Xicohtencatl-cortes, J., Monteiro-Neto, V., Saldana, Z., Ledesma, M.A., Puente, J.L., Giron, J.A. 2009. "The Type 4 Pili of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 Are Multipurpose Structures with Pathogenic Attributes". *Journal Of Bacteriology.* Vol. 191(1): 411.
- Xu, F.X., Xu, Y.P., Jin, L.J., Liu, H., Wang, L.H., You, J.S., Li, S.Y., Li, X.Y., 2012. "Effectiveness Of Egg Yolk Immunoglobulin (IgY) Against Periodontal Disease-Causing *Fusobacterium nucleatum*". *Journal of Applied Microbiology.* Vol. 113, pp. 984, 989.

- <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05396.x>.
- Xu, P., Alves, J.M., Kitten, T., Brown, A., Chen, Z., Ozaki, L.S., Manque, P., Ge, X., Serrano, M.G., Puiu, D., Hendricks, S., Wang, Y., Chaplin, M.D., Akan, D., Paik, S., Peterson, D.L., Macrina, F.L., Buck, G.A., 2007. "Genome of the Opportunistic Pathogen *Streptococcus sanguinis*". *J. Bacteriol.* Vol. 189(8): 3166. <https://doi.org/10.1128/JB.01808-06>.
- Xu, Y., Poely, T., Ye, X., 2018. "Clinical And Microbiological Effects Of Egg Yolk Antibody Against *Porphyromonas gingivalis* as An Adjunct In The Treatment Of Moderate To Severe Chronic Periodontitis: A Randomized Placebo-Controlled Clinical Trial. *J Periodontal Implant Sci.* Vol. 48(1): 48, 56–57.
- Zajac, J, Schubert, A, and Oelkrug, C. 2017. "IgY as an Alternative Approach to Antibiotics". *Journal of Antimicrobial Agents.* Vol. 3(2): 4.
- Zeynalian H, Kazerouni, F., Ebrahimi, F., Rahimipour, A., Bakhshi, M., Samadi R. 2017. "Original Article : Assessment of the safety of chicken egg yolk antibody (IgY) consumption by measuring the activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase , catalase , glutathione peroxidase) and malondialdehyde concentration as a lipid peroxidation marker in mice". *Journal of Paramedical Sciences.* Vol. 8(3):29.
- Zijngel, V., Ammann, T., Thurnheer, T., Gmür, R., 2012. "Subgingival Biofilm Structure". *Front Oral Biol.* Vol. 15, p. 12. <https://doi.org/10.1159/000329667>.

LAMPIRAN

LAMPIRAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Lampiran 1. Sertifikat Laik Etik



**UNIVERSITAS AIRLANGGA FACULTY OF DENTAL MEDICINE
HEALTH RESEARCH ETHICAL CLEARANCE COMMISSION**

ETHICAL CLEARANCE CERTIFICATE
Number: 294/HRECC.FODM/XI/2018

Universitas Airlangga Faculty Of Dental Medicine Health Research Ethical Clearance Commission has studied the proposed research design carefully, and therefore, shall herewith certify that the research entitled :

“AKTIVITAS IgY POLIKLONAL *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* DAN *Porphyromonas gingivalis* TERHADAP HAMBATAN KOLONISASI *Fusobacterium nucleatum* DAN *Streptococcus sanguis*”

Principal Researcher : OKTAVIANI SUCI LESTARI

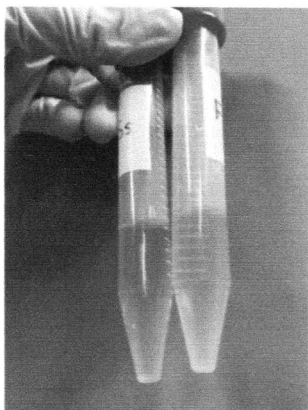
Unit/Institution/Place of Research : - *Research Center* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya

CERTIFIED TO BE ETHICALLY CLEARED

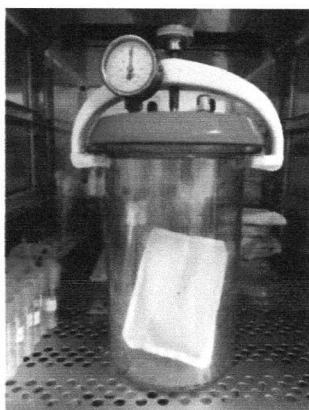
 November 5, 2018
Chairman,

Prof. Dr. M. R. Bianto, drg., MS., Sp.Perio(K)
Official No.195009081978021001

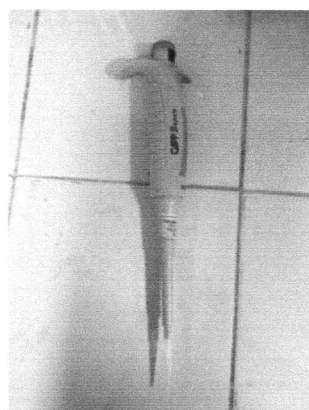
Lampiran 2. Dokumentasi



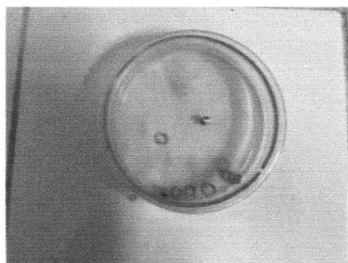
Fusobacterium nucleatum
dan *Streptococcus sanguis*



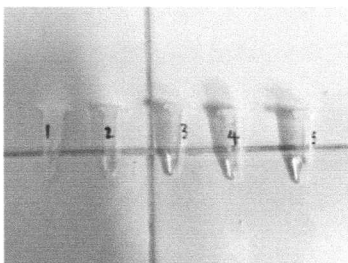
Inkubator



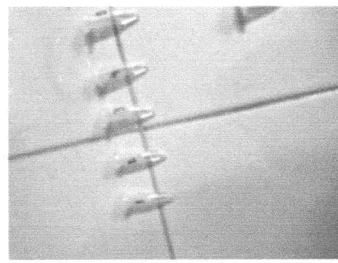
Mikropipet dan tip mikripipet



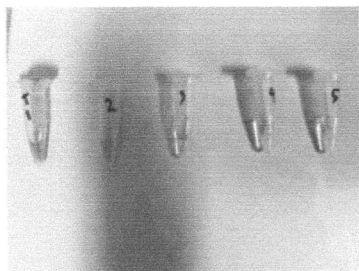
Cawan petri dan *Gel punch*



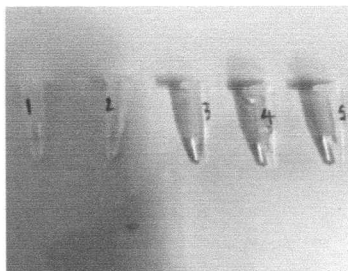
Sampel IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* (serum) yang sudah dilakukan pengenceran



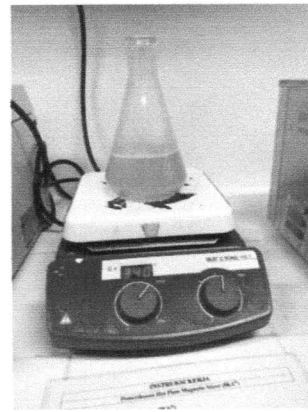
Sampel IgY poliklonal *A. actinomycetemcomitans* (kuning telur) yang sudah dilakukan pengenceran



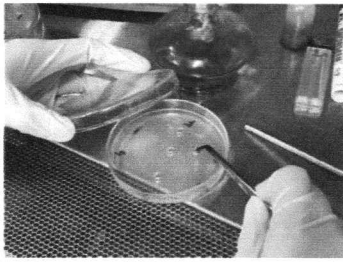
Sampel IgY poliklonal *P. gingivalis* (kuning telur) yang sudah dilakukan pengenceran



Sampel IgY poliklonal *P. gingivalis* (serum) yang sudah dilakukan pengenceran



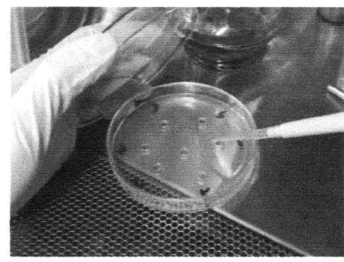
Persiapan *nutrient agar*



Agar dibuatkan lubang



*Fusobacterium
nucleatum*/*Streptococcus
sanguis* dimasukkan ke
dalam lubang yang berada
di tengah



Sampel IgY yang sudah
diencerkan dan PBS
dimasukkan ke dalam
masing-masing lubang
yang berada di pinggiran

Lampiran 3. Analisis Statistik

DATASET ACTIVATE DataSet1.

DATASET CLOSE DataSet9.

NPARTESTS

/K-W=GARIS_CODE BY KELOMPOK_PERLAKUAN(1 6)

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Notes		
Output Created		08-OCT-2018 08:13:16
Comments		
Input	Data	C:\Users\Presario\Downloads\VANI\DATA DASAR.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPARTESTS /K-W=GARIS_CODE BY KELOMPOK_PERLAKUAN(1 6) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00,00
	Elapsed Time	00:00:00,01
	Number of Cases Allowed ^a	449389

a. Based on availability of workspace memory.

Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank
Kategori Garis	1,00	2	10,50
	2,00	2	10,50
	3,00	2	4,50
	4,00	2	4,50
	5,00	2	4,50
	6,00	2	4,50
	Total		12

Test Statistics^{a,b}

Kategori Garis	
Kruskal-Wallis H	11,000
Df	5
Asymp. Sig.	,051

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

NPAR TESTS

/K-W=GARIS_CODE BY KELOMPOK_PERLAKUAN(7 12)
/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Notes

Output Created	08-OCT-2018 08:13:30	
Comments		
Input	Data	C:\Users\Presario\Downloads\IV ANI\DATA DASAR.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	96

Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPART TESTS /K-W=GARIS_CODE BY KELOMPOK_PERLAKUAN(7 12) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00,03
	Elapsed Time	00:00:00,02
	Number of Cases Allowed ^a	449389

a. Based on availability of workspace memory.

Kruskal-Wallis Test

	Ranks		
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank
Kategori Garis	7,00	2	10,50
	8,00	2	10,50
	9,00	2	4,50
	10,00	2	4,50
	11,00	2	4,50
	12,00	2	4,50
	Total	12	

Test Statistics^{a,b}

Kategori Garis	
Kruskal-Wallis H	11,000
Df	5
Asymp. Sig.	,051

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

NPAR TESTS

/K-W=GARIS_CODE BY KELOMPOK_PERLAKUAN(13 18)
/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Notes		
Output Created		08-OCT-2018 08:14:12
Comments		
Input	Data	C:\Users\Presario\Downloads\VANI\DATA DASAR.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	96
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /K-W=GARIS_CODE BY KELOMPOK_PERLAKUAN(13 18) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00,02
	Elapsed Time	00:00:00,01
	Number of Cases Allowed ^a	449389

a. Based on availability of workspace memory.

Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank
Kategori Garis	13,00	2	11,50
	14,00	2	5,50
	15,00	2	5,50
	16,00	2	5,50

	17,00	2	5,50
	18,00	2	5,50
	Total	12	

Test Statistics^{a,b}

Kategori Garis	
Kruskal-Wallis H	11,000
df	5
Asymp. Sig.	,051

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

NPAR TESTS

/K-W=GARIS_CODE BY KELOMPOK_PERLAKUAN(19 24)
/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Notes

Output Created	08-OCT-2018 08:14:43	
Comments		
Input	Data	C:\Users\Presario\Downloads\IV ANIDATA DASAR.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	96
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.

Syntax	NPAR TESTS	
	/K-W=GARIS_CODE BY	
	KELOMPOK_PERLAKUAN(19	
	24)	
	/MISSING ANALYSIS.	
Resources	Processor Time	00:00:00,02
	Elapsed Time	00:00:00,01
	Number of Cases Allowed ^a	449389

a. Based on availability of workspace memory.

Kruskal-Wallis Test

	Ranks		
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank
Kategori Garis	19,00	2	11,50
	20,00	2	5,50
	21,00	2	5,50
	22,00	2	5,50
	23,00	2	5,50
	24,00	2	5,50
	Total	12	

Test Statistics^{a,b}

Kategori Garis	
Kruskal-Wallis H	11,000
df	5
Asymp. Sig.	,051

- a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

NPAR TESTS

/K-W=GARIS_CODE BY KELOMPOK_PERLAKUAN(25 30)
/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Notes

Output Created	08-OCT-2018 08:17:22	
Comments		
Input	Data	C:\Users\Presario\Downloads\VAN\DATA DASAR - Copy (5).sav
	Active Dataset	DataSet10
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	96
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax	NPAR TESTS /K-W=GARIS_CODE BY KELOMPOK_PERLAKUAN(25 30) /MISSING ANALYSIS.	
Resources	Processor Time	00:00:00,00
	Elapsed Time	00:00:00,02
	Number of Cases Allowed ^a	449389

a. Based on availability of workspace memory.

Kruskal-Wallis Test

	Ranks		
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank
Kategori Garis	25,00	2	10,50
	26,00	2	10,50

27,00	2	4,50
28,00	2	4,50
29,00	2	4,50
30,00	2	4,50
Total	12	

Test Statistics^{a,b}

Kategori Garis	
Kruskal-Wallis H	11,000
df	5
Asymp. Sig.	,051

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

NPAR TESTS

/K-W=GARIS_CODE BY KELOMPOK_PERLAKUAN(31 36)
/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Notes

Output Created	08-OCT-2018 08:17:49	
Comments		
Input	Data	C:\Users\Presario\Downloads\VANINDATA DASAR - Copy (5).sav
	Active Dataset	DataSet10
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	96
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.

Cases Used		Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /K-W=GARIS_CODE BY KELOMPOK_PERLAKUAN(31 36) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00,00
	Elapsed Time	00:00:00,01
	Number of Cases Allowed ^a	449389

a. Based on availability of workspace memory.

Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank
Kategori Garis	31,00	2	10,50
	32,00	2	10,50
	33,00	2	4,50
	34,00	2	4,50
	35,00	2	4,50
	36,00	2	4,50
	Total	12	

Test Statistics^{a,b}

Kategori Garis	
Kruskal-Wallis H	11,000
df	5
Asymp. Sig.	,051

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

NPAR TESTS

/K-W=GARIS_CODE BY KELOMPOK_PERLAKUAN(37 42)
/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Notes		
Output Created		08-OCT-2018 08:18:09
Comments		
Input	Data	C:\Users\Presario\Downloads\ANINDATA DASAR - Copy (5).sav
	Active Dataset	DataSet10
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	96
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /K-W=GARIS_CODE BY KELOMPOK_PERLAKUAN(37 42) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00,00
	Elapsed Time	00:00:00,01
	Number of Cases Allowed ^a	449389

a. Based on availability of workspace memory.

Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank
Kategori Garis	37,00	2	11,50
	38,00	2	5,50

39,00	2	5,50
40,00	2	5,50
41,00	2	5,50
42,00	2	5,50
Total	12	

Test Statistics^{a,b}

Kategori Garis	
Kruskal-Wallis H	11,000
df	5
Asymp. Sig.	,051

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

NPAR TESTS

/K-W=GARIS_CODE BY KELOMPOK_PERLAKUAN(43 48)

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Notes

Output Created	08-OCT-2018 08:18:26	
Comments		
Input	Data	C:\Users\Presario\Downloads\IV ANI\DATA DASAR - Copy (5).sav
	Active Dataset	DataSet10
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	96
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.

Syntax	NPAR TESTS	
	/K-W=GARIS_CODE BY	
	KELOMPOK_PERLAKUAN(43	
	48)	
	/MISSING ANALYSIS.	
Resources	Processor Time	00:00:00,02
	Elapsed Time	00:00:00,03
	Number of Cases Allowed ^a	449389

a. Based on availability of workspace memory.

Kruskal-Wallis Test

	Ranks		
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank
Kategori Garis	43,00	2	11,50
	44,00	2	5,50
	45,00	2	5,50
	46,00	2	5,50
	47,00	2	5,50
	48,00	2	5,50
Total		12	

Test Statistics^{a,b}

Kategori Garis	
Kruskal-Wallis H	11,000
df	5
Asymp. Sig.	,051

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

NPAR TESTS

/M-W= GARIS_CODE BY KELOMPOK_BAKTERI(1 3)
/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Notes		
Output Created		08-OCT-2018 08:19:37
Comments		
Input	Data	C:\Users\Presario\Downloads\ANINDATA DASAR - Copy (5).sav
	Active Dataset	DataSet10
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	96
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /M-W= GARIS_CODE BY KELOMPOK_BAKTERI(1 3) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00,02
	Elapsed Time	00:00:00,02
	Number of Cases Allowed ^a	449389

a. Based on availability of workspace memory.

Mann-Whitney Test

	Ranks			
	Kelompok Bakteri	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kategori Garis	1,00	12	13,50	162,00
	3,00	12	11,50	138,00
	Total	24		

Test Statistics^a

Kategori Garis	
Mann-Whitney U	60,000
Wilcoxon W	138,000

Z	-,923
Asymp. Sig. (2-tailed)	,356
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,514 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok Bakteri

b. Not corrected for ties.

NPART TESTS

/M-W= GARIS_CODE BY KELOMPOK_BAKTERI(2 4)

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Notes

Output Created	08-OCT-2018 08:20:31	
Comments		
Input	Data	C:\Users\Presario\Downloads\V ANIDATA DASAR - Copy (5).sav
	Active Dataset	DataSet10
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	96
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax	NPART TESTS /M-W= GARIS_CODE BY KELOMPOK_BAKTERI(2 4) /MISSING ANALYSIS.	
Resources	Processor Time	00:00:00,02
	Elapsed Time	00:00:00,02
	Number of Cases Allowed ^a	449389

a. Based on availability of workspace memory.

Mann-Whitney Test

	Ranks			
	Kelompok Bakteri	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kategori Garis	2,00	12	13,50	162,00
	4,00	12	11,50	138,00
Total		24		

Test Statistics^a

	Kategori Garis
Mann-Whitney U	60,000
Wilcoxon W	138,000
Z	-,923
Asymp. Sig. (2-tailed)	,356
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,514 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok Bakteri

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS

/M-W= GARIS_CODE BY KELOMPOK_BAKTERI(5 7)
/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Notes

Output Created	08-OCT-2018 08:22:04	
Comments		
Input	Data	C:\Users\Presario\Downloads\IV ANIDATA DASAR - Copy (5).sav
	Active Dataset	DataSet10
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	96

Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /M-W= GARIS_CODE BY KELOMPOK_BAKTERI(5 7) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00,02
	Elapsed Time	00:00:00,01
	Number of Cases Allowed ^a	449389

a. Based on availability of workspace memory.

Mann-Whitney Test

	Ranks			
	Kelompok Bakteri	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kategori Garis	5,00	12	13,50	162,00
	7,00	12	11,50	138,00
Total		24		

Test Statistics^a

Kategori Garis	
Mann-Whitney U	60,000
Wilcoxon W	138,000
Z	-,923
Asymp. Sig. (2-tailed)	,356
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,514 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok Bakteri

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS

/M-W= GARIS_CODE BY KELOMPOK_BAKTERI(6 8)
 /MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Notes		
Output Created	08-OCT-2018 08:22:25	
Comments		
Input	Data	C:\Users\Presario\Downloads\VANI\DATA DASAR - Copy (5).sav
	Active Dataset	DataSet10
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	96
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax	NPAR TESTS /M-W= GARIS_CODE BY KELOMPOK_BAKTERI(6 8) /MISSING ANALYSIS.	
Resources	Processor Time	00:00:00,00
	Elapsed Time	00:00:00,01
	Number of Cases Allowed ^a	449389

a. Based on availability of workspace memory.

Mann-Whitney Test

	Ranks			
	Kelompok Bakteri	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kategori Garis	6,00	12	13,50	162,00
	8,00	12	11,50	138,00
	Total	24		

Test Statistics^a

	Kategori Garis
Mann-Whitney U	60,000
Wilcoxon W	138,000
Z	-,923
Asymp. Sig. (2-tailed)	,356
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,514 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok Bakteri

b. Not corrected for ties.