



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**EFEK XYLITOL DAN PROPILEN GLIKOL TERHADAP  
STABILITAS FISIK GEL IMUNOGLOBULIN KUNING TELUR (IGY)  
(Eksperimental Laboratorik)**

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Spesialis Bidang Ilmu Konservasi Gigi**

**Nugrahani Gusti Dwiartyani  
NPM : 0906600926**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
PROGRAM SPESIALIS ILMU KONSERVASI GIGI  
JAKARTA  
FEBRUARI 2012**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**EFEK XYLITOL DAN PROPILEN GLIKOL TERHADAP  
STABILITAS FISIK GEL IMUNOGLOBULIN KUNING TELUR (IGY)  
(Eksperimental Laboratorik)**

**TESIS**

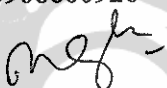
**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Spesialis Bidang Ilmu Konservasi Gigi**

**Nugrahani Gusti Dwiartyani  
NPM : 0906600926**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
PROGRAM SPESIALIS ILMU KONSERVASI GIGI  
JAKARTA  
FEBRUARI 2012**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar.**

**Nama : Nugrahani Gusti Dwiartyani**  
**NPM : 0906600926**  
**Tanda Tangan : **  
**Tanggal : 15 Maret 2012**

## HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Nugrahani Gusti Dwiartyani  
NPM : 0906600926  
Program Studi : Ilmu Konservasi Gigi  
Judul Tesis : Efek Penambahan Xylitol dan Propilen glikol terhadap Stabilitas Fisik Gel Immunoglobulin Kuning Telur (IgY)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Spesialis pada Program Ilmu Studi Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Ratna Meidyawati, drg., SpKG(K) (.....)

Pembimbing II : Dr. Anggraeni, drg. SpKG (.....)

Penguji : Gatot Sutrisno, drg., SpKG(K) (.....)

Penguji : Dr. Endang Suprastiwi, drg., SpKG(K) (.....)

Penguji : Nilakesuma Djauharie, drg., MPH, SpKG(K) (.....)

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 15 Maret 2012

## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirrahim*

Segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala limpahan karunia, rahmat, dan ridha yang tak terhingga dalam penyelesaian penelitian dan penulisan tesis ini. Salam dan shalawat penulis sampaikan kepada Rasulullah beserta keluarga, sahabat dan pengikutnya hingga akhir zaman. Penelitian dalam tesis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Pendidikan Spesialis Ilmu Konservasi Gigi Universitas Indonesia.

Penelitian dan penulisan tesis ini tidak mungkin dapat diselesaikan tanpa bantuan, bimbingan dan dukungan moril dari berbagai pihak. Oleh karena itu, ijinkan penulis untuk menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. Dr. Ratna Meidyawati, drg., SpKG(K), yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis sejak penulisan proposal penelitian hingga tesis ini dapat terselesaikan.
2. Dr. Anggraeni, drg., SpKG, selaku pembimbing II, yang telah memberi kesempatan penulis untuk ikut serta dalam penelitian dan dengan penuh kesabaran telah banyak memberikan bimbingan dan mengarahkan penulis untuk menghasilkan tesis ini.
3. Gatot Sutrisno, drg., SpKG(K), selaku penguji, yang telah meluangkan banyak waktu untuk memberikan masukan berharga dalam penulisan tesis ini dan telah memberikan banyak kritik dan saran yang bermanfaat dalam pekerjaan klinik maupun perkuliahan.
4. Dr. Endang Suprastiwi, drg., SpKG(K), selaku penguji, yang telah banyak memberi masukan dan selaku koordinator pendidikan, yang senantiasa mengatur segala jadwal kegiatan pendidikan sehingga dapat berjalan dengan lancar dan sesuai jadwal.
5. Nilakesuma Djauharie, drg., MPH, SpKG(K), selaku penguji, yang telah banyak memberi masukan.

6. Bambang Nursasongko, drg., SpKG(K), selaku kepala departemen Konservasi Gigi Universitas Indonesia yang telah banyak memberikan ilmu bermanfaat selama masa perkuliahan.
7. Seluruh Staf Pengajar Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ilmu Konservasi Gigi yang telah bersedia untuk berbagi ilmu dan memberikan dorongan yang berharga selama penulis menjalani perkuliahan, klinik, dan penulisan tesis ini: Prof. Dr. Siti Mardewi Soerono Akbar, drg. SpKG(K), Prof. Dr. Safrida Faruk Husein, drg., SpKG(K), Munyati Usman, drg., SpKG(K), Kamizar, drg., SpKG(K), Anggraini Margono, drg., SpKG(K), Dewa Ayu, drg., SpKG, Dini Asrianti, drg, SpKG.
8. Pak Bayu sebagai dosen FKH IPB yang ikut membantu dan memberikan masukan atas penelitian ini.
9. Karyawan FKG UI, khususnya Bagian Administrasi Pendidikan (Bu Dar), klinik (Pak Yani, Mas Erwin, Pak Rapin) dan Staf Bagian Konservasi Gigi (Mbak Yuli dan Mbak Devi), Bagian Perlengkapan (Pak Keri) yang telah banyak membantu kelancaran selama masa pendidikan penulis.
10. Pimpinan perpustakaan FKG UI beserta staf (Pak Nuh, Pak Asep, Pak Yanto, Pak Norman) yang selalu siap sedia memberikan bantuan selama mengikuti pendidikan spesialis di FKG UI.
11. Rasa cinta, hormat dan terima kasih dihaturkan kepada ibunda penulis tercinta, Atty Boedi Milyarti, yang telah melahirkan, membesarkan, mendidik, dan membantu selama penulis menjalani pendidikan spesialis ini, mendukung secara moril dan materiil, serta senantiasa mendoakan dalam setiap langkah dan perbuatan penulis. Kakak tercinta Ramadi Widyadiono atas segala doa dan dukungan yang telah diberikan.
12. Rasa sayang dan terima kasih yang mendalam penulis sampaikan kepada suami tercinta, Ifan Satria Nusantara, yang telah mendukung penulis dengan tulus dan sepuh hati untuk melanjutkan pendidikan spesialis, mendampingi saat suka maupun duka, mendukung secara moril, menyemangati, serta tak henti-hentinya mendoakan untuk kelancaran pendidikan spesialis penulis, serta buah hati tercinta, Kenzie Rafa Nusantara, yang menjadi sumber inspirasi dan kebahagiaan penulis. Maaf jika terlalu banyak waktu

kebersamaan yang tersita, tetapi semua usaha keras mama ini diharapkan dapat menjadi bekal hidup yang lebih baik di masa datang.

13. Rasa hormat dan terima kasih juga saya sampaikan kepada Kel. Arifuddin A.M., atas pengertian, dukungan dan perhatiannya selama saya menyelesaikan pendidikan spesialis dari awal sampai akhirnya saya dapat menyelesaikan pendidikan spesialis ini.
14. Rasa hormat juga saya sampaikan kepada Kel. Bambang Hartyanto Widjokongko dan Kel. Bambang Muljodjati, terima kasih atas segala doa dan motivasinya yang tak kunjung henti sampai akhirnya gelas spesialis ini dapat dicapai.
15. Teman-teman tercinta, senasib dan seperjuangan, PPDGSKG 2009. Melati, Tia, Nansi, Diani, Lia, Mba' Inung, Mba' Lucky, Kak Dina, Citra, Ayu, Adit dan Hendry yang telah membuat hari-hari menjalani pendidikan spesialis terasa sangat menyenangkan, memberikan sumbang saran dan dukungan yang luar biasa dari
16. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian dan tesis ini.

Semoga Allah SWT membalas segala amal dan budi baik yang diberikan oleh semua pihak tersebut di atas selama masa pendidikan, penelitian, dan penyusunan tesis ini. Penulis juga memohon maaf apabila terdapat kesalahan yang tak disadari selama menjalani masa pendidikan. Penelitian ini mungkin masih jauh dari sempurna. Meski demikian, semoga tesis ini dapat bermanfaat dan menambah ilmu pengetahuan terutama di bidang ilmu konservasi gigi.

Jakarta, 19 Maret 2012

Penulis



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, penulis yang bertanda tanda di bawah ini :

Nama : Nugrahani Gusti Dwiartyani  
NPM : 0906600926  
Program Studi : Ilmu Konservasi Gigi  
Departemen : Konservasi Gigi  
Fakultas : Kedokteran Gigi  
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia. **Hak Bebas Royalti Noneklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah penulis yang berjudul :

**EFEK PENAMBAHAN XYLITOL DAN PROPILEN GLIKOL TERHADAP  
STABILITAS FISIK GEL IMUNOGLOBULIN KUNING TELUR (IGY)**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneklusif ini, Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihkan bentuk, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir penulis selama tetap mencantumkan nama penulis sebagai penulis atau pencipta dan juga sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini penulis buat dengan sesungguhnya secara sadar tanpa paksaan dari pihak manapun

Dibuat di : Jakarta  
Pada tanggal : 15 Maret 2012

Yang Membuat pernyataan,



**(Nugrahani Gusti Dwiartyani)**



## ABSTRAK

Nama : Nugrahani Gusti Dwiartyani  
Program Studi : Ilmu Konservasi Gigi  
Judul : Efek xylitol dan propilen glikol terhadap stabilitas fisik gel  
Imunoglobulin Kuning Telur (IgY)

**Tujuan:** Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan analisis pengaruh penambahan xylitol dan propilen glikol terhadap stabilitas fisik gel IgY. **Metode:** Formulasi gel IgY, dibuat dengan mencampur *carbomer*, gliserol, trietanolamin lalu dilakukan penambahan xylitol sebagai pemanis dan propilen glikol sebagai pengawet. Pengamatan dilakukan dengan metode pengamatan organoleptis pada hari ke 0 dan 14. **Hasil:** Distribusi stabilitas fisik gel IgY pada penyimpanan selama 14 hari untuk kelompok gel IgY dengan Xylitol dan Propilen glikol terlihat 100% stabil pada suhu 25°C dan 40°C. Sedangkan pada kelompok gel IgY murni terlihat 33.3% stabil pada suhu 25°C akan tetapi pada suhu 40°C semua sampel tidak stabil. **Kesimpulan:** Penambahan xylitol dan propilen glikol pada gel IgY dapat memperpanjang waktu paruh (*shelf life*) IgY sehingga gel IgY tetap stabil pada penyimpanan di suhu 25°C dan 40°C selama 14 hari dan secara uji akselerasi, bahan ini stabil pada suhu kamar dan lemari pendingin untuk penyimpanan selama 6 bulan hingga 1 tahun.

Kata kunci: Imunoglobulin Y, stabilitas fisik, gel, xylitol, propilen glikol

## ABSTRACT

Name : Nugrahani Gusti Dwiartyani  
Study Program : Conservative Dentistry  
Title : Xylitol and Propylene glycol effect of Immunoglobulin Yolk (IgY) gel Physical Stability

**Background:** The purpose of this study was to observe the effect of adding Xylitol and Propylene glycol on the physical stability of IgY gel. **Methods:** IgY gel formulation was made by mixing carbomer, glycerol and triethanolamine then adding Xylitol as a sweetener and Propylene glycol as a preservative. Observation was made by organoleptic observation method on day 0 and day 14. **Results:** Distribution of the physical stability of IgY gel on storage for 14 days for groups of IgY gel with Xylitol and Propylene glycol looks 100% stable at 25°C and 40°C. While the look of group pure IgY gel are 33.3% stable at 25°C but at 40°C all the samples is not stable. **Conclusion:** The addition of Xylitol and Propylene glycol in the IgY gel can prolong the shelf life of the IgY, so that the IgY gel remained stable on storage at 25°C and 40°C for 14 days, based on acceleration test these results mean the IgY gel is stable for storage at room temperature and refrigeration for 6 months to 1 year.

Keywords: Immunoglobuli Y, gel, physical stability, xylitol, propylene glycol.

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b>	i
<b>DAFTAR ISI</b>	ii
<b>DAFTAR GAMBAR</b>	iv
<b>DAFTAR TABEL</b>	v
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Pertanyaan Penelitian	5
1.3.1 Pertanyaan Umum	5
1.3.2 Pertanyaan Khusus	5
1.4 Tujuan dan Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Tujuan	5
1.4.3 Manfaat	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Bahan Pencegah Karies	6
2.1.1 Imunisasi Pencegahan Karies	8
2.1.1.1 Imunoglobulin Kuning telur (IgY)	10
2.1.1.1.1 Struktur molekul IgY	10
2.1.1.1.2 IgY sebagai bahan pencegah karies	11
2.1.1.1.3 Mekanisme Kerja IgY	12
2.4 Gel sebagai media bahan pencegah karies	13
2.4.1 Karakteristik gel	13
2.4.2 Komposisi gel	14
2.4.2.1 Bahan Pemanis	15
2.4.2.2 Bahan Pengawet	17

2.5	Stabilitas	17
2.6	Kerangka teori	20
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS</b>		22
3.1	Kerangka konsep	22
3.2	Hipotesis	22
<b>BAB 4. METODE PENELITIAN</b>		23
4.1	Jenis penelitian	23
4.2	Sampel penelitian	23
4.3	Tempat dan waktu pelaksanaan penelitian	23
4.4	Variabel penelitian	23
4.5	Sampel penelitian	24
4.6	Definisi operasional	25
4.7	Bahan dan alat penelitian	26
4.8	Cara kerja	26
4.9	Analisis data	30
4.10	Alur penelitian	31
<b>BAB 5. HASIL PENELITIAN</b>		32
<b>BAB 6. PEMBAHASAN</b>		35
<b>BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN</b>		39
<b>DAFTAR REFERENSI</b>		40
<b>LAMPIRAN</b>		44

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1	Struktur IgG dan IgY	11
Gambar 2.2	Kerangka teori	20
Gambar 3.1	Skema kerangka konsep	22
Gambar 4.1	Metode <i>EGGstract purification</i>	27
Gambar 4.2	Alur penelitian	31
Gambar 5.1	Grafik stabilitas gel IgY pada suhu 25°C	33
Gambar 5.2	Grafik stabilitas gel IgY pada suhu 40°C	33

**DAFTAR TABEL**

Tabel 4.1	Definisi Operasional	25
Tabel 5.1	Hasil Kappa Internal dan Eksternal Pengamat	32



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Pada saat ini penelitian dan pengembangan berbagai macam konsep pencegahan karies masih terus dilakukan, salah satunya adalah konsep imunisasi karies. Konsep ini sudah dilakukan sejak dulu oleh Canby dan Bernier (dalam Bowen) yang mempublikasikan vaksinasi untuk melawan karies menggunakan bakteri *Lactobacilli*, akan tetapi setelah diketahui bahwa *Streptococcus mutans* (*S.mutans*) sebagai bakteri utama penyebab karies, maka dasar pengembangan konsep imunisasi berprinsip pada pencegahan pembentukan plak gigi dan kolonisasi *S.mutans* pada permukaan gigi.<sup>1</sup>

Pencegahan karies melalui imunisasi dapat dilakukan secara aktif maupun pasif. Imunisasi aktif adalah pemberian bakteri atau racun bakteri yang sudah dilemahkan atau dimatikan dengan tujuan untuk merangsang tubuh memproduksi antibodi sendiri.<sup>2</sup> Pada beberapa studi yang dilakukan, diketahui antigen-antigen *S.mutans* dapat menyebabkan reaksi silang dengan jaringan otot jantung. Oleh karena efek samping itu, maka perhatian lebih banyak ditujukan kepada imunisasi pasif.<sup>3</sup>

Imunisasi pasif adalah pemberian sejumlah antibodi, sehingga kadar antibodi dalam tubuh meningkat.<sup>2</sup> Konsep pencegahan karies dengan imunisasi pasif sebenarnya bukan hal yang baru dan sampai saat ini imunisasi pasif untuk pencegahan karies terus dikembangkan baik secara *in vitro* dan *in vivo*.<sup>1</sup> Banyak studi yang menunjukkan keberhasilan imunisasi pasif pencegah karies baik pada hewan maupun manusia, salah satunya antara lain pemberian obat kumur mengandung susu sapi dengan antibodi, terbukti mengurangi jumlah *S.mutans* ketika diaplikasikan pada relawan penelitian.<sup>4</sup>

Mulai dikembangkan imunisasi pasif menggunakan Imunoglobulin dari ayam yang sebelumnya telah diimunisasi dan akan mentransfer Imunoglobulin G (IgG) dari serum ke kuning telur, imunoglobulin ini disebut Imunoglobulin *yolk* (IgY).<sup>4,5</sup> Imunoglobulin *Yolk* mempunyai fungsi yang setara dengan Imunoglobulin G pada saliva manusia yaitu dapat menghambat perlekatan bakteri



*S.mutans* sehingga dapat mencegah terjadinya karies, tetapi berdasarkan strukturnya ada perbedaan antara IgG dan IgY.<sup>6</sup>

Dalam bidang kedokteran gigi, media pencegahan karies dapat dibuat dalam bentuk pasta gigi, obat kumur, gel dan spray. Penggunaan IgY telah banyak dikembangkan dalam bentuk obat kumur seperti pada studi yang dilakukan Hatta dkk, terjadinya penurunan jumlah *S.mutans* pada kelompok relawan setelah 4 jam diberi obat kumur yang mengandung IgY.<sup>4</sup> Pada penelitian oleh Chi dkk, terlihat adanya penurunan presentase *S.mutans* pada pemakaian pasta gigi mengandung IgY setelah 1 hari dan setelah 2 minggu pemakaian dihentikan terlihat bahwa jumlah *S.mutans* tetap rendah.<sup>7</sup> Dalam bentuk gel pun sudah dilakukan penelitian oleh Anggraeni yang melaporkan pengolesan gel IgY pada tikus secara rutin satu kali perhari tanpa pembatasan jeda makan, terbukti dapat menghambat pembentukan biofilm *S.mutans*.<sup>8</sup>

Gel adalah media padat atau semi padat terdiri dari 2 suspensi atau lebih yang terpenetrasi oleh cairan, dapat digunakan sebagai obat yang diberikan secara topikal dan bersifat kompatibel dengan berbagai bahan antimikroba.<sup>9</sup> Gel sebagai media dianggap mempunyai beberapa keuntungan dibandingkan bentuk media lainnya, yaitu jumlah penggunaan bahan aktif yang lebih kecil dan dapat menghasilkan konsentrasi yang lebih tinggi, gel memiliki perlekatan yang lebih stabil sehingga memberikan waktu kerja yang lebih lama dan semakin lama bahan aktif tersebut berada pada targetnya di dalam rongga mulut maka akan semakin efektif hasilnya.<sup>10</sup>

Bahan obat secara umum merupakan suatu formula yang dikombinasi dengan satu atau lebih zat yang bukan obat dengan manfaat yang bermacam-macam, manfaat yang didapat dari bahan farmasi ini adalah melarutkan, mengentalkan, mengencerkan, mewarnai, mengawetkan, memberikan rasa dan menstabilkan.<sup>11</sup> Salah satu contoh yaitu pada penggunaan *CarboxylMethyl Cellulose* (CMC) sebagai bahan pengental atau *thickening agent* pada penelitian yang menganalisa kestabilan fisik gel IgY. Hasil dari penelitian tersebut menyimpulkan bahwa gel IgY mempunyai kestabilan yang cukup baik setelah dilakukan penyimpanan selama 14 hari pada suhu 4°C dan 30°C serta terlihat bahwa gel IgY lebih stabil disimpan pada suhu 4°C.<sup>12</sup> Suatu obat topikal seperti

gel mempunyai syarat agar layak digunakan, untuk memenuhi syarat tersebut maka diperlukan penambahan berbagai macam bahan farmasi yang bertujuan untuk antara lain melindungi zat obat dari pengaruh yang merusak dari udara atau kelembapan, menutup rasa pahit, asin atau rasa tidak enak dan bau obat yang tidak nyaman serta menghasilkan bentuk sediaan yang diinginkan.<sup>11</sup>

Pengujian kestabilan suatu formulasi bertujuan untuk menghasilkan ramalan waktu paruh obat yang diharapkan suatu produk, waktu paruh obat didefinisikan sebagai waktu yang dibutuhkan suatu obat untuk mengurai menjadi separuh dari konsentrasi aslinya, dinyatakan sebagai  $t_{50}$  atau  $t_{1/2}$  sehingga kita dapat mengetahui masih layak atau tidaknya suatu obat untuk dikonsumsi.<sup>11</sup> Sediaan obat harus stabil secara fisika dan kimia selama penyimpanan sesuai waktu penggunaan, ketidakstabilan formulasi obat dapat dideteksi secara fisika dalam beberapa hal yaitu suatu perubahan dalam penampilan fisik, warna, bau, rasa dan tekstur.<sup>11</sup>

Faktor- faktor yang mempengaruhi kestabilan suatu zat antara lain adalah temperatur, cahaya, kelembapan, oksigen, pH dan bahan tambahan yang digunakan dalam formulasi sediaan obat tersebut.<sup>13</sup> Dahulu untuk mengevaluasi kestabilan suatu sediaan farmasi dilakukan pengamatan pada kondisi dimana obat tersebut disimpan, misalnya pada suhu kamar ternyata metode ini memerlukan waktu yang lama dan tidak ekonomis, dan pada saat ini untuk mempercepat analisis dapat dilakukan uji stabilitas dipercepat atau disebut uji akselerasi yaitu dengan mengamati perubahan pada suhu yang tinggi.<sup>14</sup>

Uji stabilitas pada suhu ruang yaitu, penyimpanan pada suhu  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 6 bulan hingga 1 tahun dapat dilakukan uji akselerasi selama 2 minggu dengan suhu  $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  sedangkan pada lemari pendingin yang dilakukan di suhu  $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 6 bulan hingga 1 tahun dapat dilakukan uji akselerasi di suhu  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 2 minggu.<sup>13</sup> Pada penelitian ini, untuk mengetahui stabilitas fisik gel IgY selama 6 bulan hingga 1 tahun pada suhu kamar akan dilakukan observasi pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  selama 2 minggu dan untuk mengetahui pada suhu lemari pendingin selama 6 bulan hingga 1 tahun akan dilakukan observasi pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$  selama 2 minggu.

## 1.2 Rumusan Masalah

Pada saat ini telah dikembangkan imunisasi pasif anti karies, menggunakan immunoglobulin yang didapat dari kuning telur ayam (IgY).<sup>4,5</sup> Bentuk sediaan dari immunoglobulin Y adalah obat kumur, pasta gigi dan gel. Pemberian dalam bentuk gel mempunyai keuntungan yaitu perlekatannya lebih stabil sehingga memberikan waktu kerja yang lebih lama, semakin lama bahan aktif tersebut berada dan aktif bekerja terhadap targetnya dalam rongga mulut, maka akan semakin efektif hasilnya.<sup>10</sup>

Suatu formulasi farmasi pada obat topikal dan oral diperlukan bahan pengental yang akan meningkatkan viskositas sehingga sediaan obat menjadi bentuk gel, salah satu contoh adalah CMC, *Carbomer* dan *Natural gum*. *Carbomer* menjadi pilihan utama karena akan memberikan kekentalan yang lebih baik dibandingkan CMC ataupun *Natural gum*.<sup>10</sup> Suatu produk kosmetik maupun sediaan obat yang akan digunakan dalam rongga mulut mempunyai beberapa ketentuan yaitu memiliki rasa dan bau yang enak, tidak beracun, tidak mengiritasi dan mudah dalam aplikasi.<sup>11</sup>

Pada penelitian sebelumnya, kriteria-kriteria tersebut belum terpenuhi sehingga diperlukan data mengenai gel IgY yang diberi pemanis yang salah satunya adalah xylitol, xylitol dipilih karena mempunyai rasa yang cukup manis hampir seperti sukrosa dan mempunyai sifat anti karies serta tidak meningkatkan kadar gula dalam darah.<sup>15</sup> Serta penambahan pengawet, diketahui sebagian besar produk obat dan kosmetik dipasaran mengandung bahan pengawet yang kegunaannya untuk mencegah kontaminasi, pembusukan dan kerusakan oleh bakteri atau jamur sehingga produk bertahan lama dalam penyimpanan, contoh pengawet yang digunakan adalah formaldehid, propilen glikol, alkohol dan lain-lain.<sup>15</sup>

Sebagai pengembangan produk baru, uji stabilitas diperlukan untuk melihat kualitas, keamanan, dan efektifitas dari suatu bahan aktif. Sediaan obat haruslah stabil baik secara fisika dan kimia selama penyimpanan sesuai waktu penggunaan hingga sifat-sifatnya tidak berubah dan produk tersebut dapat digunakan.<sup>13</sup> Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk melengkapi gel IgY

sebelumnya dan dilakukan observasi untuk mengetahui stabilitas fisik gel IgY setelah penambahan xylitol dan propilen glikol.

### **1.3 Pertanyaan Penelitian**

#### **1.3.1 Pertanyaan Umum Penelitian**

Apakah penambahan xylitol dan propilen glikol mempunyai efek terhadap stabilitas dari gel IgY dalam penyimpanan.

#### **1.3.2 Pertanyaan Khusus Penelitian**

1. Apakah gel IgY dengan penambahan xylitol dapat stabil pada suhu 25°C
2. Apakah gel IgY dengan penambahan xylitol dapat stabil pada suhu 40°C
3. Apakah gel IgY dengan penambahan propilen glikol dapat stabil pada suhu 25°C
4. Apakah gel IgY dengan penambahan propilen glikol dapat stabil pada suhu 40°C
5. Apakah gel IgY dengan penambahan xylitol dan propilen glikol dapat stabil pada suhu 25°C
6. Apakah gel IgY dengan penambahan xylitol dan propilen glikol dapat stabil Pada suhu 40°C

### **1.4 Tujuan dan Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1 Tujuan**

Untuk menganalisa pengaruh penambahan xylitol dan propilen glikol terhadap stabilitas fisik gel IgY.

#### **1.4.2 Manfaat**

Penelitian ini dapat memberi informasi efek penambahan xylitol dan propilen glikol terhadap stabilitas fisik gel IgY pada suhu tertentu dan lamanya penyimpanan.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Bahan pencegah karies

Karies merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri, dimulai dari demineralisasi bagian luar gigi yaitu email dan akan berlanjut, apabila proses ini tidak dihentikan maka dapat terjadi kehilangan substansi gigi dan infeksi ke jaringan pulpa. Demineralisasi diawali dengan pembentukan asam pada plak gigi, asam merupakan produk dari metabolisme karbohidrat oleh bakteri *S.mutans*.<sup>16</sup>

Proses karies pada tahap awal demineralisasi bersifat reversibel, fluor dan mineral lain pada plak dapat membuffer asam sehingga terjadi remineralisasi.<sup>16</sup> Pencegahan karies adalah menciptakan lingkungan rongga mulut dimana demineralisasi dapat dengan cepat dilakukan remineralisasi dan menjaga agar pH plak tidak dibawah netral.<sup>16</sup> Hal ini dapat dicapai dengan bantuan bahan pencegah karies yang bersifat antibakteri sehingga dapat menurunkan serta mencegah pembentukan plak.<sup>1</sup>

Penggunaan fluor sebagai agen pencegah karies telah banyak diteliti dan dikembangkan. Fluor bekerja dalam beberapa cara untuk mencegah terjadinya karies, mekanismenya adalah fluor pada plak gigi menghambat demineralisasi dari email dan meningkatkan terjadinya remineralisasi. Tersedianya fluor secara konstan pada plak akan menciptakan email yang tahan terhadap asam akibat dari pengulangan proses demineralisasi dan remineralisasi.<sup>16</sup> Pada beberapa penelitian secara *in vitro* fluor terbukti memiliki sifat antibakteri, namun pada dosis percobaan secara *in vivo* peran dan kontribusi fluor dalam pencegahan karies masih dipertanyakan.<sup>17</sup> Dilain pihak, penggunaan fluor dalam jumlah yang besar dapat bersifat toksik yaitu dapat mengakibatkan fluorosis email bila penggunaan secara sistemik lebih dari 0.005-0.1 mg/kg BB.<sup>18</sup> Oleh karena itu perlu dipertimbangkan keuntungan dan kerugian dari penggunaan fluor, terutama pada anak-anak.

Terdapat banyak obat kumur yang tersedia untuk menurunkan populasi bakteri rongga mulut dan *Chlorhexidine* (Klorheksidin) *gluconate* merupakan obat kumur yang paling efektif. Klorheksidin terbukti sebagai agen kontrol plak paling

efektif karena memiliki kemampuan melakukan perlekatan secara ion pada permukaan gigi dan mukosa mulut dalam konsentrasi tinggi selama beberapa jam. Keadaan tersebut menghasilkan aksi anti bakteri tingkat tinggi.<sup>19</sup> Selain itu, klorheksidin telah terbukti efektif dalam menekan mikroorganisme, terutama *S.mutans*.<sup>18</sup>

Adapun kekurangannya yaitu Klorheksidin lebih efektif terhadap *S.mutans* dari permukaan luar plak, sehingga menyebabkan terjadinya penurunan *S.mutans* pada saliva secara tidak bermakna. Klorheksidin tidak atau hanya sedikit mempunyai efek terhadap *S.mutans* yang berasal dari lapisan dalam plak/biofilm, yang berperan terhadap pembentukan karies gigi. Selain itu, pemakaian klorheksidin secara rutin dapat menimbulkan efek samping berupa pembentukan noda ekstrinsik kuning kecoklatan pada gigi.<sup>18</sup>

Agen remineralisasi yang banyak digunakan belakangan ini salah satunya adalah Casein Phosphopeptide - Amorphous Calcium Phosphate. CPP mampu menstabilisasi calcium phosphate pada cairan nanocomplex sebagai ACP.<sup>20</sup> CPP mengikat ACP, sehingga mencegah terjadinya pelarutan kristal calcium phosphate. CPP-ACP ini dapat meningkatkan terjadinya remineralisasi email pada lesi subsurface, CPP-ACP dapat berinteraksi dengan fluoride untuk membentuk amorphous calcium fluoride phosphate yang distabilisasi oleh CPP pada permukaan gigi. Sehingga dapat terjadi pelarutan ion-ion calcium, fluoride dan phosphate untuk membantu terjadinya remineralisasi dari fluorapatite.<sup>20</sup>

Suatu studi menyatakan bahwa CPP-ACP lebih baik dihindari pada pasien dengan riwayat alergi protein susu, karena kandungan casein didalam bahan ini dapat menimbulkan reaksi alergi.<sup>20</sup> Menurut Bussadori (2010)<sup>20</sup>, pasta CPP-ACP memperlihatkan sitotoksik yang rendah pada kultur fibroblast tikus. Karena level toksisitasnya rendah dan mempertimbangkan bahan dipakai secara topikal, maka dapat dipastikan bahan ini aman digunakan dalam kedokteran gigi.<sup>20</sup> Selain fluor, klorheksidin dan CPP-ACP, mulai diperkenalkannya pemberian vaksin atau imunisasi secara pasif menggunakan teknologi molekuler yaitu imunoglobulin kuning telur (*yolk*) atau imunoglobulin Y (IgY) anti karies gigi. IgY bekerja sebagai agen pencegah karies dengan cara menghambat terjadinya perlekatan *S.mutans* pada permukaan gigi, sehingga dapat mencegah terbentuknya biofilm.<sup>21</sup>

Pemberian vaksin IgY ini dapat ditargetkan untuk pasien dengan resiko karies tinggi yang mempunyai kesulitan dalam mempertahankan kesehatan rongga mulut. Populasi target yang dianjurkan dalam masa mendatang yaitu ibu dan anak kecil, mereka akan di imunisasi pada saat gigi mulai erupsi dengan tujuan untuk mencegah transmisi dan kolonisasi *S.mutans* sejak awal.<sup>22</sup> Belum banyak penelitian yang menguji toksisitas dari IgY, pada uji toksisitas kronis yang dilakukan Paau dkk (2006)<sup>22</sup> terhadap penggunaan pasta gigi IgY pada tikus selama 30 hari sebanyak 80mg IgY/kg BB/hari, tidak menunjukkan adanya simptom klinis apapun dan hasil tes darah, urin, hepar serta ginjal menunjukkan hasil yang normal.

### 2.1.1 Imunisasi pencegahan karies

Konsep imunisasi untuk mencegah terjadinya karies berprinsip pada pencegahan pembentukan plak gigi dan kolonisasi *S. mutans* pada permukaan gigi. Melalui konsep imunisasi diharapkan akan timbul respon kekebalan tubuh terhadap mikroorganisme penyebab karies dalam jangka waktu panjang.<sup>23</sup> Banyak penelitian yang kemudian dilakukan terhadap hewan coba dan manusia untuk melihat mekanisme pencegahan karies melalui pengembangan imunisasi.<sup>23</sup>

Imunisasi terbagi dua yaitu imunisasi aktif dan imunisasi pasif. Imunisasi aktif adalah pemberian kuman atau racun kuman yang sudah dilemahkan atau dimatikan dengan tujuan untuk merangsang tubuh memproduksi antibodi sendiri.<sup>1</sup> Mekanisme imunisasi aktif pencegahan karies menggunakan *S. mutans* adalah terjadinya peningkatan level antibodi spesifik pada saliva seperti *sekretori Immunoglobulin A (sIgA)*, selanjutnya *sIgA* akan membentuk ikatan dengan antigen dan mencegah fiksasi komplemen sehingga mekanisme terjadinya karies akan terhambat.<sup>21,23</sup> Sejarah imunisasi aktif anti karies diawali ketika Bowen pada tahun 1969 melaporkan pemberian vaksin *S. mutans* melalui intravena pada monyet dan berhasil membuktikan terjadinya penurunan karies dibandingkan dengan kontrol. Dalam tulisannya dikatakan, vaksin yang dilakukannya berhasil memicu timbulnya antibodi *Glucosyltransferase (Gtf)* pada serum monyet yang kemudian diikuti dengan terjadinya penurunan karies.<sup>1</sup>

Pada manusia, beberapa studi juga sudah banyak dilakukan dengan menggunakan *whole cell S. mutans*. Akan tetapi ketika *whole cell S. mutans*



digunakan sebagai imunisasi aktif, ternyata antigen-antigen *S. mutans* kemudian ditemukan dapat menyebabkan reaksi silang dengan jaringan otot jantung terutama dengan *cardiolipin* pada *sarcolemma sheath* otot jantung.<sup>3</sup> Hal ini disebabkan karena jaringan otot jantung mempunyai sifat yang sama dengan *whole cell. S. mutans*, sehingga antibodi yang terjadi akan bereaksi dengan otot jantung.<sup>3</sup> Selain itu pada imunisasi aktif menggunakan *whole cell S. mutans* harganya relatif mahal, dan kurang efektif serta imunitas jangka panjang yang diharapkan pada mukosa untuk melawan mikroflora masih sulit tercapai.<sup>3</sup> Sampai saat ini belum ada penelitian yang dilakukan pada manusia yang dapat membuktikan keberhasilan perlindungan terhadap perkembangan karies.<sup>1</sup>

Imunisasi pasif adalah pemberian sejumlah antibodi, sehingga kadar antibodi dalam tubuh meningkat.<sup>2</sup> Konsep pencegahan karies dengan imunisasi pasif sebenarnya bukan hal yang baru dan sampai saat ini imunisasi pasif untuk pencegahan karies terus dikembangkan baik secara *in vitro* dan *in vivo*.<sup>1</sup> Saat ini imunisasi pasif dianggap lebih aman sehingga lebih banyak mendapat perhatian dibanding imunisasi aktif, karena banyaknya efek samping yang diketahui dapat terjadi akibat pemberian vaksin *S. mutans*.<sup>23</sup> Banyak studi yang menunjukkan keberhasilan imunisasi pasif pencegah karies baik pada hewan maupun manusia. Salah satunya antara lain pemberian obat kumur mengandung susu sapi dengan antibodi yang dapat mengurangi jumlah *S. mutans* ketika diaplikasikan pada relawan penelitian.<sup>4</sup> Selain itu yang juga sudah digunakan sebagai imunisasi pasif berupa antibodi monoklonal, antibodi IgY yang berasal dari kuning telur ayam, dan antibodi yang berasal dari kolostrum (*maternal*) atau susu sapi konsentrat (*xenogenic*).<sup>23</sup>

Mekanisme imunisasi pasif adalah dengan mencegah kolonisasi *S. mutans* pada proses awal terjadinya karies.<sup>24</sup> Antibodi baik monoklonal maupun poliklonal akan mencegah terjadi proses kolonisasi dengan cara memblokir eptipop-epitop yang terlibat pada proses adhesi bakteri ke permukaan gigi, opsonisasi bakteri, serta fagositosis oleh *Polymorphonuclear* (PMN).<sup>24</sup> Selain itu antibodi pada imunisasi pasif bekerja dengan menghilangkan pembentukan agregat bakteri dari rongga mulut dengan ikatan silang bakteri oleh antibodi serta mengurangi jumlah bakteri-bakteri tertentu di dalam mulut untuk jangka waktu

yang lama dengan mengubah keadaan ekologi bakteri.<sup>23</sup> Imunisasi pasif merupakan prosedur yang lebih aman untuk mengontrol kolonisasi *S.mutans* dalam mencegah terjadinya karies karena tidak merangsang respon imunologi sistemik, seperti pada imunisasi aktif yang dapat menyebabkan reaksi silang.<sup>3</sup>

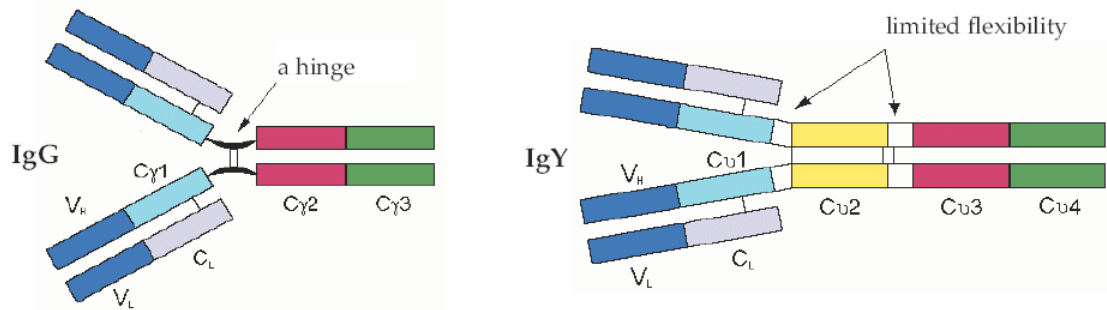
#### **2.1.1.1 Imunoglobulin Kuning Telur (IgY)**

Penelitian-penelitian mengenai pencegahan karies dengan metode imunisasi pasif telah banyak dilakukan, dan memberikan hasil yang sangat baik. Salah satu imunisasi pasif yang terbukti efektif dan efisien adalah menggunakan IgY, yaitu imunoglobulin yang didapat dari kuning telur ayam yang sebelumnya telah diimunisasi.<sup>5</sup> Pada penelitian laboratorik diperlukan antibodi poliklonal dan monoklonal, umumnya hewan yang digunakan untuk menghasilkan antibodi tersebut termasuk dalam golongan mamalia.<sup>25</sup> Tapi selama 20 tahun terakhir ini, penggunaan ayam untuk menghasilkan antibodi telah menggantikan mamalia, karena dapat memberikan beberapa keuntungan yaitu pengadaan ternak ayam lebih murah, pengumpulan telur merupakan tindakan non invasif, isolasi IgY tergolong cepat dan jumlah antigen yang dibutuhkan sedikit untuk mencapai titer IgY dalam waktu lama.<sup>25</sup>

##### **2.1.1.1.1 Struktur molekul IgY**

Imunoglobulin merupakan molekuler berfungsi ganda yang dapat mengikat antigen dan memelopori proses biologik yang tidak bergantung pada antibiotik spesifik. Setiap molekul immunoglobulin mempunyai struktur umum yang terdiri dari empat rantai polipeptida, dua rantai besar (H) dan dua rantai kecil. Berdasarkan rantai H terdapat lima kelas immunoglobulin yaitu IgG, IgA, IgM, IgD dan IgE.<sup>5</sup>

Imunoglobulin Y merupakan antibody serum dengan berat molekul yang rendah.<sup>25</sup> Sifat dari IgY adalah rentan terhadap perubahan lingkungan terutama pada suhu diatas 65°C dan pH dibawah 4, sedangkan aktifitas enzim protease IgY lebih tahan terhadap pengaruh perubahan pH serta aktifitasnya untuk menetralisasi antigen tidak akan terpengaruh walaupun dipanaskan sampai 60°C dibandingkan dengan IgG mamalia.<sup>26</sup>

Gambar 2.1 Struktur IgG dan IgY<sup>43</sup>

Struktur umum molekul IgY sama dengan IgG, terdiri dari dua rantai berat yang disebut epsilon dan dua rantai ringan.<sup>25</sup> Perbedaan utama struktur IgY dan IgG terletak pada jumlah region konstan (C) pada rantai berat, IgG mempunyai tiga regio konstan dan IgY ada empat sehingga berat molekulnya lebih besar dibandingkan IgG (Gambar 2.1).<sup>26</sup>

IgY mempunyai perbedaan dengan IgG yaitu pertama, IgY tidak mengaktifkan komplemen. Kedua, tidak mengikat ke protein A dan G dan ketiga, tidak berikatan dengan antibodi mamalia seperti faktor rheumatoid serta keempat, tidak berikatan dengan sel permukaan pada Fc reseptor. Perbedaan-perbedaan memberikan keuntungan pada aplikasi antibodi IgY pada berbagai metode didalam beberapa macam penelitian, diagnostik, aplikasi dalam bidang kesehatan dan bioteknologi.<sup>26</sup>

#### 2.1.1.1.2 IgY sebagai bahan pencegah karies

Penggunaan IgY sebagai agen pencegah karies telah dikembangkan dalam bentuk obat kumur maupun pasta gigi. Hatta dkk, melakukan studi untuk melihat efek penggunaan obat kumur yang mengandung antibodi IgY spesifik terhadap *S.mutans*. Pada kelompok relawan yang diberi obat kumur yang mengandung IgY, setelah 4jam terlihat terjadinya penurunan jumlah *S.mutans* pada saliva.<sup>4</sup> Dari penelitian-penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa penggunaan IgY sebagai agen pencegah karies terbukti efektif.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Otake dkk, dengan menggunakan tikus yang diinfeksi dengan *S.mutans*, lalu diberikan asupan diet kariogenik yang mengandung 2% IgY bubuk, memberikan skor indeks karies yang lebih

rendah dibanding kelompok kontrol yang tanpa pemberian IgY.<sup>27</sup> Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Kruger dkk, ketika tikus yang telah diinfeksi *S.mutans* tersebut diberikan kuning telur dengan antibodi spesifik melawan *Gtf* (*anti-cell associated Gtf*) dalam bentuk cairan minum. Hasil penelitian tersebut menunjukkan terjadinya penurunan jumlah lesi karies yang signifikan dibanding kelompok kontrol.<sup>24</sup>

Penelitian yang dilakukan Wen dkk, melaporkan IgY dapat menghambat sintesis glukosa oleh *S.mutans* dan *S.sobrinus*, namun penelitian tersebut tidak menjelaskan ketahanan IgY dalam saliva, karena digunakan dalam bentuk obat kumur dan pasta gigi.<sup>28</sup> Laboratorium Oral Biologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia (FKG UI) telah menguji efektifitas IgY anti *S.mutans* (serotipe c dan d) sebagai anti adhesi dalam pembentukan biofilm oleh *S.mutans*. Hasil yang diperoleh, IgY anti *S.mutans* (serotipe d) mampu menurunkan pembentukan biofilm *S.mutans* serotipe c, e dan f secara in vitro.<sup>29</sup> Anggraeni melaporkan pengolesan gel IgY pada tikus bila dilakukan secara rutin satu kali per hari selama 56 hari tanpa pembatasan jeda makan setelah diulas, terbukti dapat menghambat pembentukan biofilm *S.mutans*.<sup>8</sup>

#### **2.1.1.1.3 Mekanisme Kerja IgY**

IgY bekerja sebagai agen pencegah karies dengan cara menghambat terjadinya perlekatan *S.mutans* pada permukaan gigi, sehingga dapat mencegah terbentuknya biofilm. IgY mempunyai kemampuan mengikat antigen *S.mutans* kemudian menetralkan aktifitas biologi dari antigen-antigen tersebut.<sup>5</sup>

Mekanisme imunisasi IgY secara lokal dapat terjadi dalam tiga tahap, IgY yang diberikan secara lokal akan menuju *gingival epithelium* dan melekat dengan *acquired pelikel* pada permukaan gigi. *S.mutans* yang akan berkontak dengan gigi akan terikat dengan IgY spesifik antigen I/II, karena antigen I/II berada pada dinding sel *S.mutans*. Hal ini menyebabkan *S.mutans* gagal untuk berproliferasi. Selain itu *S.mutans* juga dihambat oleh enzim yang dilepaskan oleh *neutrofil* melalui respon imun lokal. Selanjutnya terjadi opsonisasi *S.mutans* oleh IgY dan fagositosis serta *killing* oleh *neutrofil*. Ketiga tahap mekanisme

tersebut menghambat kolonisasi *S.mutans*, sehingga perkembangan karies juga akan terhambat.<sup>30</sup>

## 2.2 Gel sebagai media bahan pencegahan karies

Gel didefinisikan sebagai sistem semipadat terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh cairan. Gel dapat digunakan untuk obat yang diberikan secara topikal atau dimasukkan ke dalam tubuh. Umumnya gel mengandung air dan bersifat kompatibel dengan berbagai agen antimikroba.<sup>9</sup>

Suatu bahan pencegah karies akan menonaktifkan bakteri pada plak atau mencegah kolonisasi.<sup>31</sup> Bahan pencegah karies dalam bentuk gel memberikan keuntungan dibanding dalam media lainnya, seperti obat kumur ataupun *spray*, karena jumlah penggunaan bahan aktif yang lebih sedikit dan konsentrasi yang dihasilkan lebih tinggi. Selain itu gel melekat lebih stabil sehingga memberikan waktu kerja yang lebih lama.<sup>10</sup>

### 2.2.1 Karakteristik gel

Gel merupakan sistem cair yang dikentalkan, baik dengan menggunakan *thickening agent* ataupun *humectants* serta dapat ditambahkan berbagai bahan lain, kecuali material abrasif dan *foaming agent*, guna meningkatkan hasilnya. Bahan-bahan tersebut harus bersifat kompatibel yaitu mampu bercampur dalam suatu formula tanpa menghasilkan interaksi yang dapat menurunkan efektifitas maupun stabilitas formula atau bahan aktif tersebut.<sup>32</sup> Gel terdiri dari satu atau dua fase padat dan sebuah fase cair yang disebut gel liofil atau terdiri dari sebuah fase padat dan fase berbentuk gas yang disebut gel serofil. Gel merupakan sediaan semi solid, sediaan bentuk gel memiliki keuntungan dibandingkan sediaan semi solid lainnya karena praktis, mudah digunakan, tahan lama dan mudah diaplikasikan.<sup>10</sup>

Proses pembentukan gel diikuti dengan penambahan bahan-bahan kimia misalnya zat pengawet, zat pengental, zat pemanis dan lain-lain. Hal ini dilakukan agar mendapatkan suatu komposisi gel yang diinginkan, setelah proses ini

biasanya dilanjutkan dengan uji stabilitas, tujuannya agar mengetahui perubahan sifat fisik dan kimia gel dalam penyimpanan.<sup>12</sup>

### 2.2.2 Komposisi gel

Dalam pembuatan gel, selain bahan aktif juga diperlukan satu atau lebih bahan pembawa guna menghasilkan suatu formula yang dapat bekerja efektif dan mudah untuk diaplikasikan secara topikal dalam rongga mulut. Bahan pembawa umum ditambahkan adalah *thickening agent*, *surfactant*, *humectants*, bahan abrasi, bahan pemanis dan bahan pewarna.<sup>32</sup> *Thickening agent* ditambahkan untuk mendapatkan konsistensi yang diinginkan, bahan ini dapat berupa garam yang larut dalam air dari golongan eter selulosa, seperti *sodium carboxymethylcellulosa* (CMC) dan *sodium carboxymethyl hydroxyethyl cellulose* ataupun *natural gum* seperti *gum karaya*, *xanthan gum*, *gum Arabic* dan *gum tragacanth* juga dapat digunakan, untuk pembuatan pasta gigi atau gel jumlah yang digunakan sekitar 0.1-15% dari total komposisi.<sup>32</sup>

Dibandingkan *natural gum* dinyatakan bahwa pemakaian *Carbomer* yang merupakan material koloid hidrofilik akan mengental lebih baik, pada pembuatan gel, *Carbomer* di dispersikan kedalam air membentuk larutan asam yang keruh kemudian dinetralkan dengan basa kuat atau basa anorganik seperti Trietanolamin.<sup>10,33</sup> *Humectant* dipakai untuk mencegah pengerasan pasta gigi akibat ekspos dengan udara dalam jangka waktu yang cukup lama serta menghasilkan komposisi pasta yang berikan rasa nyaman dalam mulut. Bahan-bahannya yaitu gliserol, sorbitol, *butylenes glycol*, pluethilen glikol, propilen glikol serta trimetil glisin, penggunaannya berkisar 0-70%.<sup>32</sup>

Pada salah satu penelitian, diketahui bahwa dapat terjadi destruksi IgY saat dilakukan pemanasan hingga 75°C, sehingga melindungi IgY dianggap penting. Tehnik yang dilakukan adalah dengan penambahan gliserol dan glisin terhadap larutan Immunoglobulin terbukti sangat efektif memproteksi terhadap denaturasi protein yang disebabkan oleh suhu tinggi.<sup>34</sup> Maka penambahan gliserol pada gel selain berfungsi sebagai *humectants* ternyata dapat berfungsi sebagai proteksi dari IgY pada suhu tinggi.

Bahan tambahan lainnya yang mempunyai fungsi penting, seperti bahan pemanis yang fungsinya dapat membantu menghasilkan suatu formula gel yang memberikan rasa yang disenangi atau paling tidak dapat diterima oleh konsumen, bahan pemanis yang sering digunakan adalah sukrosa, trehalosa, laktosa, xylitol dan lain-lain.<sup>32</sup> Bahan tambahan yang juga cukup penting digunakan dalam produk obat dan kosmetik adalah bahan pengawet yang kegunaannya untuk mencegah kontaminasi, pembusukan dan kerusakan oleh bakteri atau jamur sehingga produk bertahan lama dalam penyimpanan, contoh pengawet yang digunakan adalah formaldehid, propilen glikol, alkohol dan lain-lain.<sup>15</sup>

#### **2.2.2.1 Bahan pemanis**

Pemanis merupakan senyawa kimia yang sering ditambahkan dan digunakan untuk keperluan produk olahan pangan, industri serta minuman dan makanan kesehatan. Menurut peraturan Menteri Kesehatan (Menkes) RI Nomor 235, pemanis termasuk ke dalam bahan tambahan kimia, selain zat lain seperti antioksidan, pemutih, pengawet, pewarna, dan lain-lain.<sup>9</sup> Pemanis alternatif umum digunakan sebagai pengganti gula jenis sukrosa, glukosa atau fruktosa, ketiga jenis gula tersebut merupakan pemanis utama yang sering digunakan dalam berbagai industri.<sup>35</sup>

Pemanis berfungsi untuk meningkatkan cita rasa dan aroma, memperbaiki sifat-sifat fisik, sebagai pengawet, memperbaiki sifat-sifat kimia sekaligus merupakan sumber kalori bagi tubuh. Berdasarkan proses produksi dikenal suatu jenis pemanis yaitu sintetis dan natural.<sup>35</sup> Pemanis yang lebih baik digunakan yaitu pemanis yang natural, karena terdapat beberapa penelitian yang menemukan pada pemanis sintetis bersifat karsinogenik dan keuntungan dari pemanis natural yaitu tak berwarna, larut dalam air, stabil pada pH 4-8, menyamarkan rasa pahit pada obat dan murah, tetapi terdapat kekurangannya yaitu bahan ini dapat dicerna oleh bakteri dalam mulut yang memproduksi asam sehingga menimbulkan karies gigi dan dapat meningkatkan level glukosa dalam darah. Contoh dari pemanis natural yaitu sukrosa, glukosa dan fruktosa.<sup>15</sup>

Pemanis yang juga sering digunakan yaitu laktosa, laktosa Sering disebut gula susu karena hanya terdapat dalam susu. Kekurangan laktosa ini menyebabkan



ketidaktahanan terhadap laktosa. Laktosa yang tidak dicerna tidak dapat diserap dan tetap tinggal dalam saluran pencernaan sehingga mempengaruhi jenis mikroorganisme yang tumbuh, yang menyebabkan gejala kembung, kejang perut, dan diare serta merupakan gula yang rasanya paling tidak manis (seperenam manis glukosa) dan lebih sukar larut.<sup>15</sup>

Sukralosa merupakan pemanis ini mempunyai tingkat relatif kemanisan yang sangat tinggi terhadap sukrosa yaitu 550-750 kalinya. Keuntungan lain pemanis ini adalah sifatnya yang tidak menyebabkan karies dan tidak merusak gigi, sehingga cocok untuk digunakan dalam industri kembang gula. Sukralosa juga bersifat non nutritif, dicirikan dari rendahnya kalori yang dihasilkan yaitu sekitar 2 kalori per satu sendok teh, sehingga dapat digunakan untuk penderita diabetes dan program penurunan berat badan.<sup>15</sup>

Bahan pemanis lainnya yaitu trehalosa, terbentuk dari dua unit glukosa yang disatukan oleh 1-1  $\alpha$  bond, ikatan ini mengakibatkan trehalosa tahan terhadap hidrolisis asam sehingga stabil pada suhu tinggi. Trehalosa kurang larut daripada sukrosa dan memiliki rasa manis sekitar 45% dari sukrosa, pemanis ini di Amerika dan Eropa dianggap aman dan telah digunakan sebagai pemanis pada makanan, obat dan minuman.<sup>15</sup> Salah satu pemanis alternatif pengganti sukrosa yang dianggap paling potensial adalah xylitol. Xylitol adalah gula alkohol jenis pentitol dengan sifat-sifat antara lain berbentuk serbuk, berwarna putih, dan tidak berbau. Xylitol digunakan sebagai bahan pemanis non kariogenik pada berbagai macam bentuk obat seperti tablet, sirup dan pelapis (*coating*) dan pemakaiannya mulai meningkat pada pembuatan permen karet, obat kumur dan pasta gigi, sebagai agen yang mengurangi plak gigi dan terjadinya karies gigi.<sup>15</sup>

Berbeda dengan sukrosa, xylitol tidak difermentasi menjadi asam, yang dapat menyebabkan karies. Terdapat pada beberapa penelitian bahwa xylitol dapat mengurangi terjadinya karies gigi dengan cara menghambat pertumbuhan *S.mutans*.<sup>15</sup> Keuntungan lain dari pemakaian xylitol yaitu mempunyai rasa manis yang sama dengan sukrosa dan memberikan efek sensasi dingin sehingga sangat efektif dalam meningkatkan rasa dari obat-obatan sehingga menutupi rasa pahit obat tersebut.<sup>15</sup>

### 2.2.2.2 Bahan Pengawet

Bahan pengawet merupakan substansi alami atau sintetis yang ditambahkan dalam suatu produk makanan, obat-obatan, kosmetik, cat dan sebagainya dengan maksud untuk mencegah terjadinya dekomposisi karena adanya pertumbuhan mikroba atau terjadinya perubahan secara kimiawi.<sup>15</sup> Propilen glikol merupakan pengawet antimikroba, desinfektan, *humectants*, pelarut, agen stabilisasi dan yang banyak digunakan adalah sebagai pencampur dan pengawet, bahan ini bening, tanpa warna, kental dan tidak berbau.<sup>15</sup>

Propilen glikol merupakan pelarut yang lebih baik dibandingkan gliserol dan dapat melarutkan beberapa bahan seperti kortikosteroid, *phenols*, sulfa, barbiturate dan vitamin A dan D. Bahan ini juga memiliki sifat antiseptik yang mirip dengan etanol. Propilen glikol juga digunakan sebagai bahan pada kosmetik dan industri makanan, bahan ini dinyatakan stabil secara kimia ketika dicampur dengan etanol (95%), gliserol atau air.<sup>15</sup> Propilen glikol digunakan secara luas pada formulasi obat-obatan, kosmetik hingga makanan karena bahan ini dianggap tidak toksik, tetapi penggunaan bahan ini sebesar 35% pada suatu formula dapat menyebabkan hemolisis pada manusia.<sup>15</sup>

Terdapat literatur yang menyatakan bahwa propilen glikol digunakan sebagai campuran pada beberapa obat untuk mengobati ulserasi pada rongga mulut, beberapa contoh obat yaitu *Orabase B gel*<sup>TM</sup>, *Senso-gard*<sup>TM</sup>, *Tanac*<sup>TM</sup>, *Orajel*<sup>TM</sup> dan obat kumur *Biotene*<sup>TM</sup>.<sup>36</sup> Hal ini merupakan bukti bahwa propilen glikol merupakan bahan yang aman digunakan pada rongga mulut dan telah digunakan secara luas pada produk-produk kesehatan.

### 2.3 Stabilitas

Stabilitas merupakan kemampuan suatu substansi produk untuk tetap dalam spesifikasi yang ditetapkan untuk mempertahankan identitas, kekuatan, kualitas dan kemurniannya sampai waktu kadaluarsa.<sup>13</sup> Sifat fisik, kimia dan mikrobiologi harus berfungsi dengan baik walaupun terdapat perubahan dalam kondisi penyimpanan, misalnya suhu dan kelembaban.<sup>13</sup> Terdapat berbagai macam cara uji stabilitas antara lain yaitu pengamatan organoleptis yaitu observasi perubahan konsistensi, warna, bau dan homogenitas, pengamatan pH,

pengamatan viskositas dan uji sentrifugasi.<sup>37</sup> Stabilitas biologis juga dapat diuji dengan ELISA dan kadar protein dapat diuji dengan uji Bradford sedangkan faktor-faktor yang mempengaruhi kestabilan suatu zat antara lain adalah temperatur, cahaya, kelembaban, oksigen, pH, mikroorganisme dan bahan tambahan yang digunakan dalam formula sediaan obat tersebut.<sup>12</sup>

Dahulu untuk mengevaluasi kestabilan suatu sediaan farmasi dilakukan pengamatan pada kondisi dimana obat tersebut disimpan, misalnya pada suhu kamar ternyata metode ini memerlukan waktu yang lama dan tidak ekonomis, maka pada saat ini, berdasarkan pernyataan Grimm(2000) untuk mempercepat analisis dapat dilakukan uji stabilitas akselerasi yaitu dengan mengamati perubahan konsentrasi pada suhu yang tinggi.<sup>13</sup> Uji stabilitas pada suhu ruang yaitu, penyimpanan pada suhu  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 6 bulan, dapat dipercepat selama 2 minggu dengan suhu  $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Untuk uji penyimpanan didalam lemari pendingin yang biasa dilakukan di suhu  $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 6 bulan dapat dipercepat di suhu  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 2 minggu.<sup>13</sup>

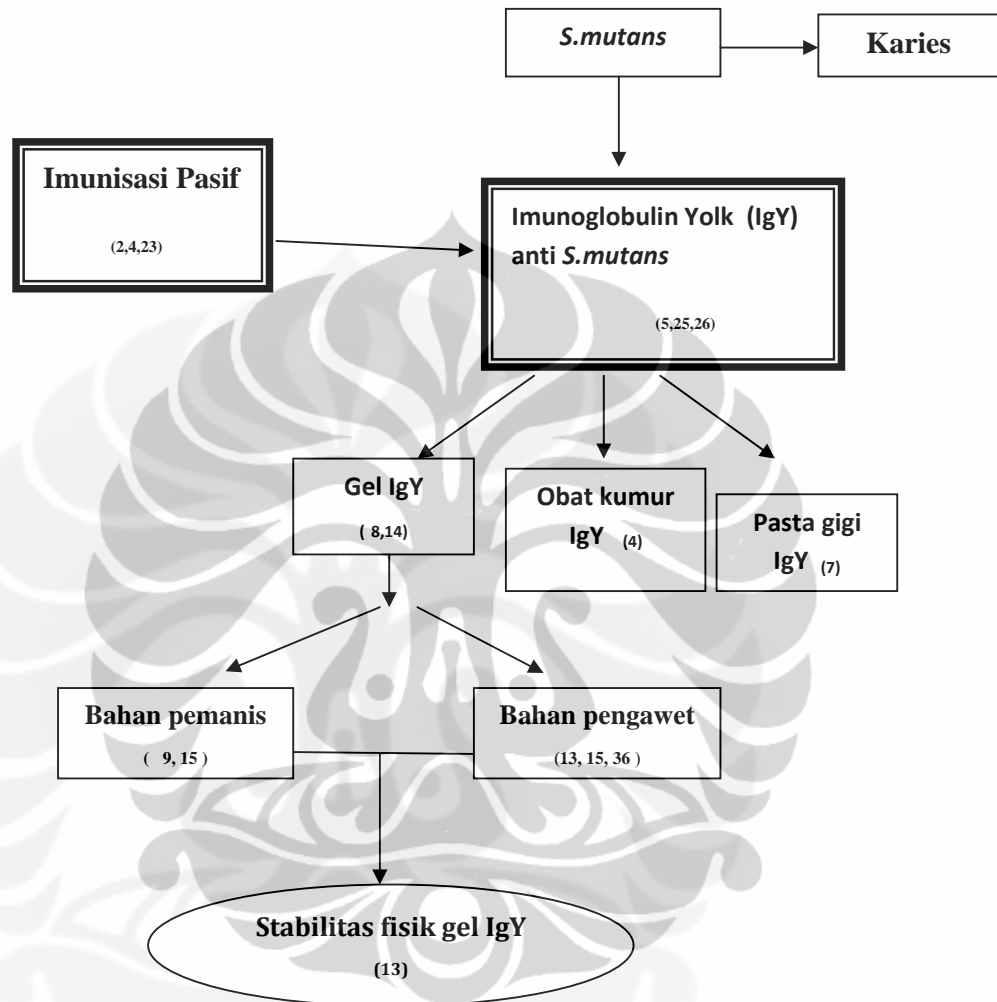
Tujuan dari uji stabilitas akan memberikan hasil dari kualitas suatu zat aktif obat dalam pengaruh beberapa keadaan lingkungan dan diberi perlakuan tertentu, misalnya penyimpanan, pemanasan, penyinaran dan pencampuran bahan lain.<sup>13</sup> Terdapat beberapa tata cara uji stabilitas, menurut *US Food and Drug Administration* dapat digunakan teknik *thermal cycling studies* yaitu dengan cara memeriksa efek dari berbagai suhu pada zat aktif obat, zat aktif akan disimpan pada suhu rendah hingga tinggi selama beberapa hari dan perlakuan ini dilakukan berulang kali, sedangkan menurut *Asean guideline on stability study of drug product* untuk uji stabilitas perlu dilakukan hingga 1 tahun penyimpanan dengan interval pemeriksaan dari 2 minggu, 1 bulan dan 3 bulan atau sampai terlihat adanya penurunan efektifitas bahan murni, yang mempengaruhi efektifitas suatu obat yang dipasarkan atau dengan uji akselerasi yang dilakukan selama 2 minggu pada suhu yang lebih tinggi.<sup>38</sup>

Pada suatu penelitian uji stabilitas, IgY yang telah dicampur dengan pepsin, dextran, gula dan cyclodextrin, disimpan dalam bentuk larutan pada suhu 50, 60 dan  $70^{\circ}\text{C}$  memberikan hasil yang stabil, namun IgY terlihat mulai tidak stabil pada suhu 80 dan  $90^{\circ}\text{C}$ , analisa pada literatur ini menggunakan ELISA,

yaitu untuk mengukur stabilitas biologis dari suatu bahan.<sup>39</sup> Kesimpulan dari penelitian ini adalah ketika IgY dicampur dengan pepsin, dextran, gula dan cyclodextrin maka akan tetap stabil ketika disimpan pada suhu 50,60 dan 70°C. Penelitian lain menyatakan bahwa IgY yang ditambahkan sukrosa dengan konsentrasi 30-50% (b/v) tetap stabil walaupun dipanaskan pada suhu 70-80°C.<sup>40</sup>

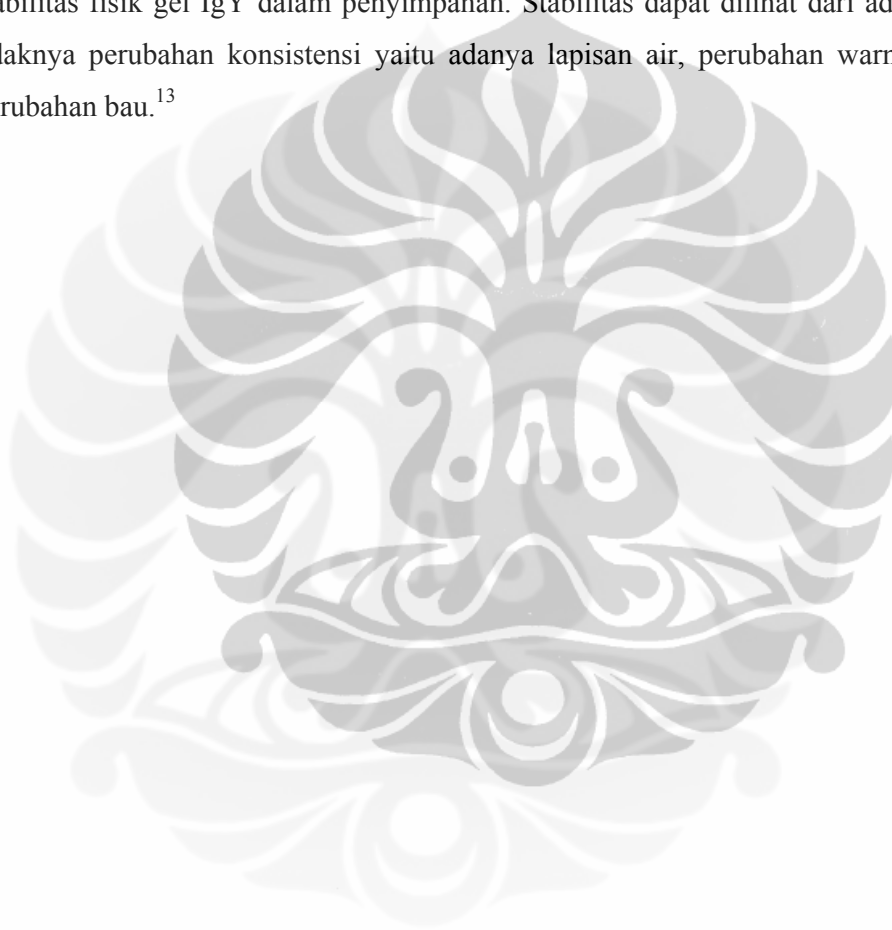
Selain itu, telah dilakukan penelitian uji stabilitas pada IgY dalam bentuk gel yang mengandung CMC dengan hasil IgY lebih stabil pada penyimpanan selama 14 hari pada suhu 4°C dibandingkan pada suhu ruang 30°C.<sup>14</sup> Pada penelitian lain dikatakan bahwa penyimpanan IgY dalam preparat kering, dapat stabil pada penyimpanan 4°C dan bertahan hingga 10 tahun penyimpanan. Selain itu, aktifitas IgY murni dapat bertahan hingga 6 bulan bila ditempatkan pada suhu ruang.<sup>34</sup>

## 2.6 Kerangka Teori



Gambar 2.2 Kerangka Teori

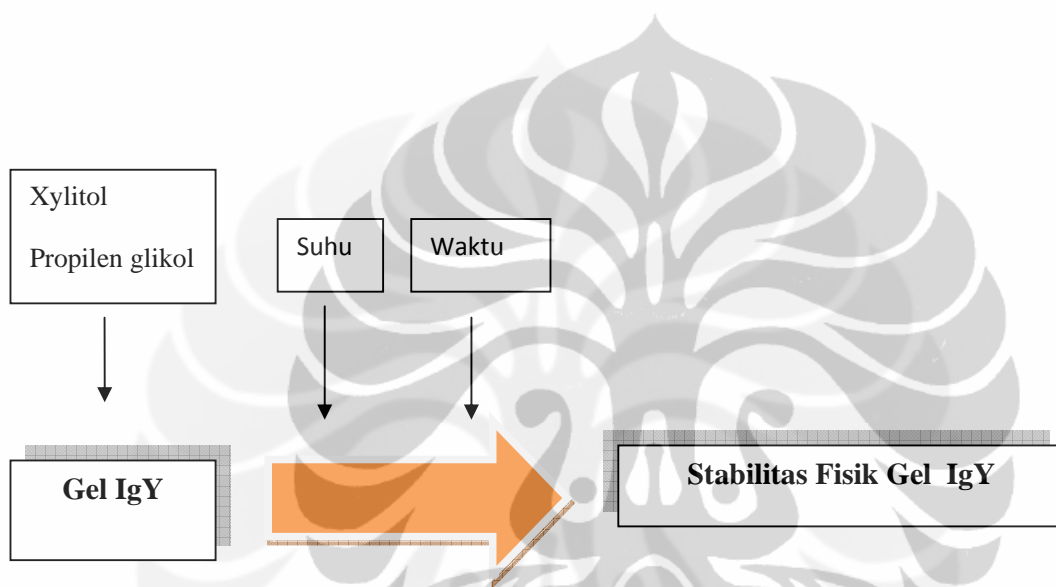
Bakteri *S.mutans* merupakan salah satu faktor penyebab terjadinya karies. Pencegahan karies dapat dilakukan melalui konsep imunisasi pasif misalnya IgY. Immunoglobulin Yolk (IgY) dapat menghambat terjadinya karies dengan menghambat aktifitas protein antigen *S.mutans*. Pada saat ini banyak dilakukan penelitian IgY dalam bentuk pasta gigi<sup>7</sup>, obat kumur<sup>4</sup> dan yang terbaru yaitu gel<sup>8,14</sup>. Gel yang akan diteliti yaitu gel IgY dengan campuran bahan pemanis (xylitol)<sup>9,15</sup> dan bahan pengawet (propilen glikol)<sup>13,15,36</sup> untuk kemudian diketahui stabilitas fisik gel IgY dalam penyimpanan. Stabilitas dapat dilihat dari ada atau tidaknya perubahan konsistensi yaitu adanya lapisan air, perubahan warna dan perubahan bau.<sup>13</sup>



## BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

### 3.1 Kerangka Konsep

Stabilitas IgY dalam gel yang mengandung Xylitol dan propilen glikol dipengaruhi oleh suhu penyimpanan dan lamanya penyimpanan. Dilakukan dengan uji akselerasi penyimpanan.



### 3.2 Hipotesis

#### 3.2.1. Hipotesis umum

Gel IgY tetap stabil selama penyimpanan setelah ditambahkan xylitol dan propilen glikol.

#### 3.2.2. Hipotesis khusus

1. Gel IgY dengan penambahan xylitol disimpan pada suhu 25°C stabil.
2. Gel IgY dengan penambahan xylitol disimpan pada suhu 40°C stabil.
3. Gel IgY dengan penambahan propilen glikol disimpan pada suhu 25°C stabil.
4. Gel IgY dengan penambahan propilen glikol disimpan pada suhu 40°C stabil.
5. Gel IgY dengan penambahan xylitol dan propilen glikol pada suhu 25°C stabil.
6. Gel IgY dengan penambahan xylitol dan propilen glikol pada suhu 40°C stabil.



## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Jenis Penelitian

Eksperimental Laboratorik

### 4.2 Sampel Penelitian

Penelitian menggunakan Imunoglobulin kuning telur anti *S.mutans* yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor (FKH IPB) yang dibuat dalam gel dan mengandung xylitol dan propilen glikol.

### 4.3 Tempat dan Waktu Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi FKH IPB dan Laboratorium Oral biologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.

Waktu Penelitian: Oktober – November 2011.

### 4.4 Variabel Penelitian

- Variabel bebas: Xylitol  
Propilen glikol
- Variabel yang mempengaruhi : Suhu  
Waktu
- Variabel terikat: Stabilitas fisik gel IgY

#### 4.5 Sampel Penelitian

Besar sampel didapat berdasarkan rumus Federer:

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

Keterangan : t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah sampel

t = 20 kelompok perlakuan antara lain yaitu gel IgY dengan xylitol, gel IgY dengan propilen glikol, gel IgY dengan xylitol dan propilen glikol masing-masing untuk penyimpanan pada suhu 25°C dan 40°C serta penyimpanan selama 0 sampai 14 hari.

$$(20-1)(n-1) \geq 15$$

$$19n - 19 \geq 15$$

$$19n \geq 34$$

$$n \geq 3$$

## 4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Deskripsi	Cara Pengukuran	Skala	Nilai
<b>Imunoglobulin Yolk (IgY) gel</b>	Bahan semi solid yang dibuat dengan pencampuran carbomer, gliserol dan trietanolamin. Kemudian ditambahkan IgY	Berat/Volume	Numerik	mililiter
<b>Stabilitas fisik gel IgY</b>	<b>Stabil:</b> tidak ada perubahan dari konsistensi, warna dan bau pada gel IgY. <b>Tidak stabil:</b> terjadi perubahan dari konsistensi/ warna/ bau pada gel IgY.	- Observasi warna (dilihat ada perubahan warna) - Obsevasi bau (dihirup apa bau berubah) - Observasi konsistensi (Dilihat ada atau tidaknya pemisahan pada gel. Pemisahan: Terdapat lapisan air)	Kategorik Skor: 0 Stabil 1 Tidak stabil	
<b>Xylitol</b>	Suatu jenis pemanis tidak menyebabkan karies, bubuk putih dengan berat 2,5 gr	Berat/Volume	Kategorik	gram
<b>Propilen glikol</b>	Suatu jenis pengawet berbentuk cairan sebanyak 4,5 ml.	Berat/Volume	Kategorik	mililiter
<b>Waktu</b>	Penyimpanan hingga hari ke 14, mulai dari saat pencampuran	Hari ke 0 dan 14	Kategorik	hari
<b>Suhu</b>	Suhu yang digunakan pada saat penyimpanan gel (°C)	Suhu 25°C dan 40°C Suhu diukur dengan termometer	Interval	Celcius

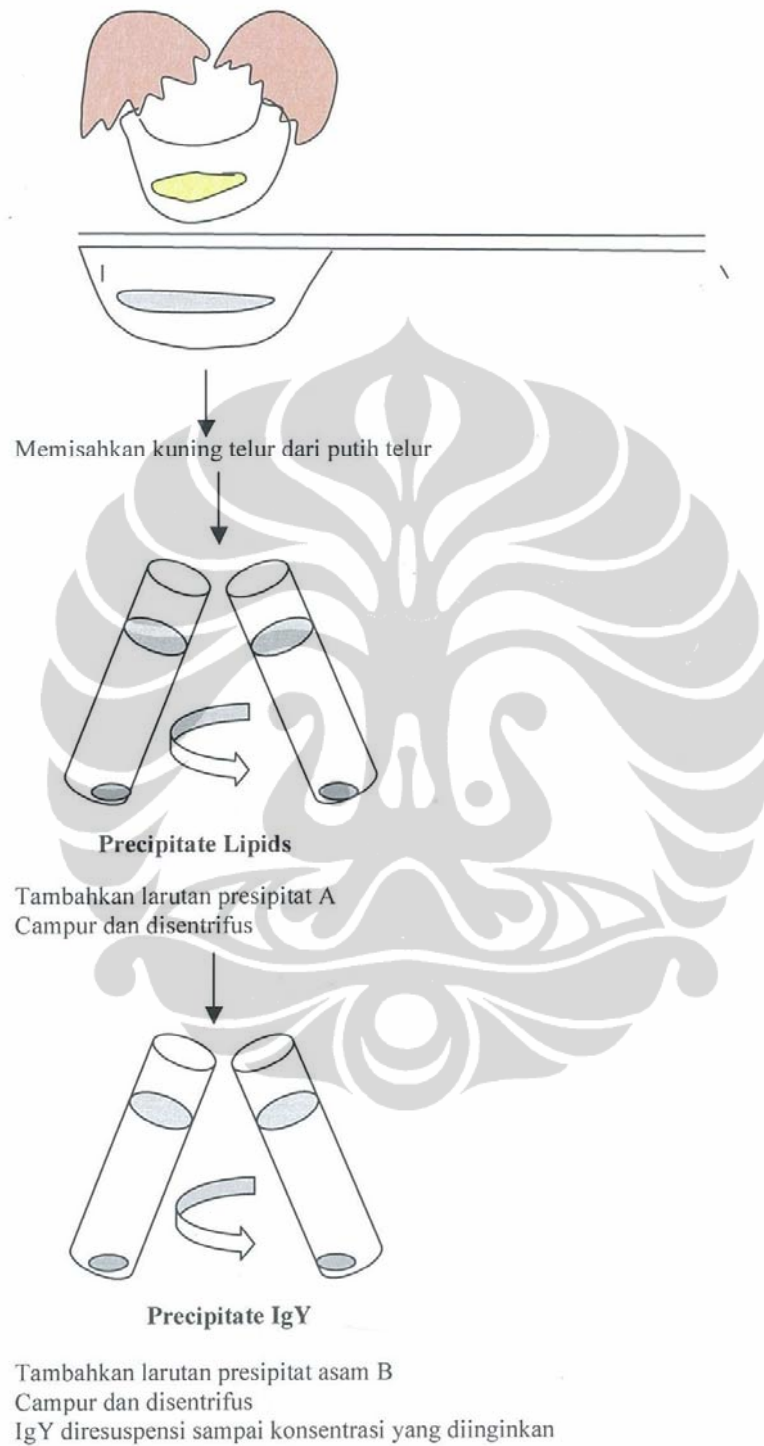
#### 4.7 Bahan dan Alat Penelitian

1. IgY murni 90%, sebanyak 5% dari komposisi
2. Carbomer 1 gram
3. Gliserol 2 ml
4. Trietanolamin 1,5 ml
5. Propilen glikol 4,5 ml
6. Xylitol 2,5 gram
7. Inkubator  $40^{\circ}\text{C} \pm 2$
8. Ruangan dengan suhu  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$
9. Aquades ad 50ml
10. Mortar dan Stamper
11. Termometer
12. pH meter
13. spatula
14. *Lab Glass*
15. Wadah transparan tempat gel

#### 4.8 Cara Kerja

##### 4.8.1 Pemurnian IgY

- Bahan berupa *water soluble fraction Immunoglobulin* anti *S.mutans* dibuat oleh Fakultas Kedokteran hewan IPB dengan melakukan imunisasi *S.mutans (killed)* serotipe c ke ayam. Kemudian IgY dari telur ayam dipurifikasi dari ayam yang telah menghasilkan IgG serum anti *S.mutans* dengan titer yang cukup tinggi.
- IgY spesifik didapat dari telur ayam *Single Comb Brown Leghorn* yang telah diimunisasi dengan antigen utuh *S.mutans*. Ayam yang serum dan telurnya positif pada uji AGP, telurnya diambil untuk diekstraksi IgY dengan metode PEG-amonium sulfat dan kemudian dipurifikasi dengan *fast protein liquidchromatography*. Selanjutnya IgY anti *S.mutans* telah terbentuk dalam serum pada minggu kelima, sedangkan dalam telur pada minggu kesembilan setelah imunisasi pertama. Tahap purifikasi dengan kit EGGstract dijelaskan pada gambar 4.1.<sup>8</sup>



Gambar 4.1. Diagram pemurnian IgY menggunakan metode *EGGstract purification*.

#### 4.8.2 Pembuatan Gel IgY

- Pembuatan gel dengan kandungan xylitol  
Campurkan *carbomer* 1 gram, gliserol 2 ml, xylitol 2,5 gram didalam mortar dengan stamper kemudian tambahkan aquades sebanyak 40 ml yang telah dipanaskan dan diaduk hingga larut dan konsistensi mengental kemudian tambahkan IgY 2,5 gram dan ukur pH awal yang biasanya pada tahap ini di level pH 2-3. Tahap selanjutnya yaitu menambahkan Trietanolamin sebanyak 1,5 ml dengan tujuan gel menjadi lebih kental dan pH menjadi 6-8.<sup>41-43</sup>
- Pembuatan gel dengan kandungan propilen glikol  
Campurkan *carbomer* 1 gram, gliserol 2 ml dan propilen glikol 4,5ml didalam mortar dengan stamper kemudian tambahkan aquades sebanyak 40 ml yang telah dipanaskan dan diaduk hingga larut dan konsistensi mengental kemudian tambahkan IgY 2,5 gram dan ukur pH awal yang biasanya pada tahap ini di level pH 2-3. Tahap selanjutnya yaitu menambahkan Trietanolamin sebanyak 1,5 ml dengan tujuan gel menjadi lebih kental dan pH menjadi 6-8.<sup>41-43</sup>
- Pembuatan gel dengan kandungan xylitol dan propilen glikol  
Campurkan *carbomer* 1 gram, gliserol 2 ml, xylitol 2,5 gram dan propilen glikol didalam mortar dengan stamper kemudian tambahkan aquades sebanyak 40 ml yang telah dipanaskan dan diaduk hingga larut dan konsistensi mengental kemudian tambahkan IgY 2,5 gram dan ukur pH awal, yang biasanya pada tahap ini di level pH 2-3. Tahap selanjutnya yaitu menambahkan Trietanolamin sebanyak 1,5 ml dengan tujuan gel menjadi lebih kental dan pH menjadi 6-8.<sup>41-43</sup>
- Pembuatan kontrol positif  
Campurkan *carbomer* 1 gram, gliserol 2 ml dan aquades yang telah dipanaskan sebanyak 40 ml dan diaduk hingga larut dan mengental kemudian tambahkan IgY 2,5 gram dan ukur pH awal, yang biasanya pada tahap ini di level pH 2-3. Tahap selanjutnya yaitu menambahkan Trietanolamin sebanyak 1,5 ml dengan tujuan gel menjadi lebih kental dan pH menjadi 6-8.<sup>41-43</sup>

- Pembuatan kontrol negatif

Campurkan carbomer 1 gram, gliserol 2 ml, xylitol 2,5 gram, propilen glikol 4,5 ml dan aquades yang telah dipanaskan sebanyak 40 ml dan diaduk hingga larut dan mengental kemudian tambah gram dan ukur pH awal, yang biasanya pada tahap ini di level pH 2-3. Tahap selanjutnya yaitu menambahkan Trietanolamin sebanyak 1,5 ml dengan tujuan gel menjadi lebih kental dan pH menjadi 6-8.<sup>41-43</sup>

Setelah itu setiap sediaan gel dimasukkan dalam wadah transparan yang terbuat dari kaca dan telah disterilkan. Setiap wadah disimpan dalam box dan dimasukkan ke dalam inkubator yang telah diatur suhunya.

#### 4.8.2 Kelompok eksperimen

1. Gel IgY dengan xylitol di suhu 25°C, pada hari ke 0.
2. Gel IgY dengan xylitol di suhu 25°C, pada hari ke 14.
3. Gel IgY dengan xylitol di suhu 40°C, pada hari ke 0.
4. Gel IgY dengan xylitol di suhu 40°C, pada hari ke 14.
5. Gel IgY dengan propilen glikol di suhu 25°C pada hari ke 0.
6. Gel IgY dengan propilen glikol di suhu 25°C pada hari ke 14.
7. Gel IgY dengan propilen glikol di suhu 40°C pada hari ke 0.
8. Gel IgY dengan propilen glikol di suhu 40°C pada hari ke 14.
9. Gel IgY dengan xylitol dan propilen glikol di suhu 25°C pada hari ke 0.
10. Gel IgY dengan xylitol dan propilen glikol di suhu 25°C pada hari ke 14.
11. Gel IgY dengan xylitol dan propilen glikol di suhu 40°C pada hari ke 0.
12. Gel IgY dengan xylitol dan propilen glikol di suhu 25°C pada hari ke 14.
13. Gel IgY murni di suhu 25°C pada hari ke 0.
14. Gel IgY murni di suhu 25°C pada hari ke 14.
15. Gel IgY murni di suhu 40°C pada hari ke 0.

16. Gel IgY murni di suhu 25°C pada hari ke 14.
17. Gel tanpa IgY di suhu 25°C pada hari ke 0.
18. Gel tanpa IgY di suhu 25°C pada hari ke 14.
19. Gel tanpa IgY di suhu 40°C pada hari ke 0
20. Gel tanpa IgY di suhu 40°C pada hari ke 14.

#### **4.8.3 Evaluasi Sediaan Gel**

Sediaan gel IgY disimpan dalam inkubator untuk diperiksa kestabilannya, pada 1 inkubator yang bersuhu 40°C ± 2 dan pada ruangan dengan suhu 25°C ± 2. Pengamatan dilihat pada hari 0 yaitu setelah pencampuran dilakukan menjadi gel IgY kemudian diperiksa lagi pada hari ke 14. Hal-hal yang diperiksa yaitu perubahan warna, perubahan bau dan ada atau tidaknya pemisahan yaitu berupa lapisan air pada gel IgY.

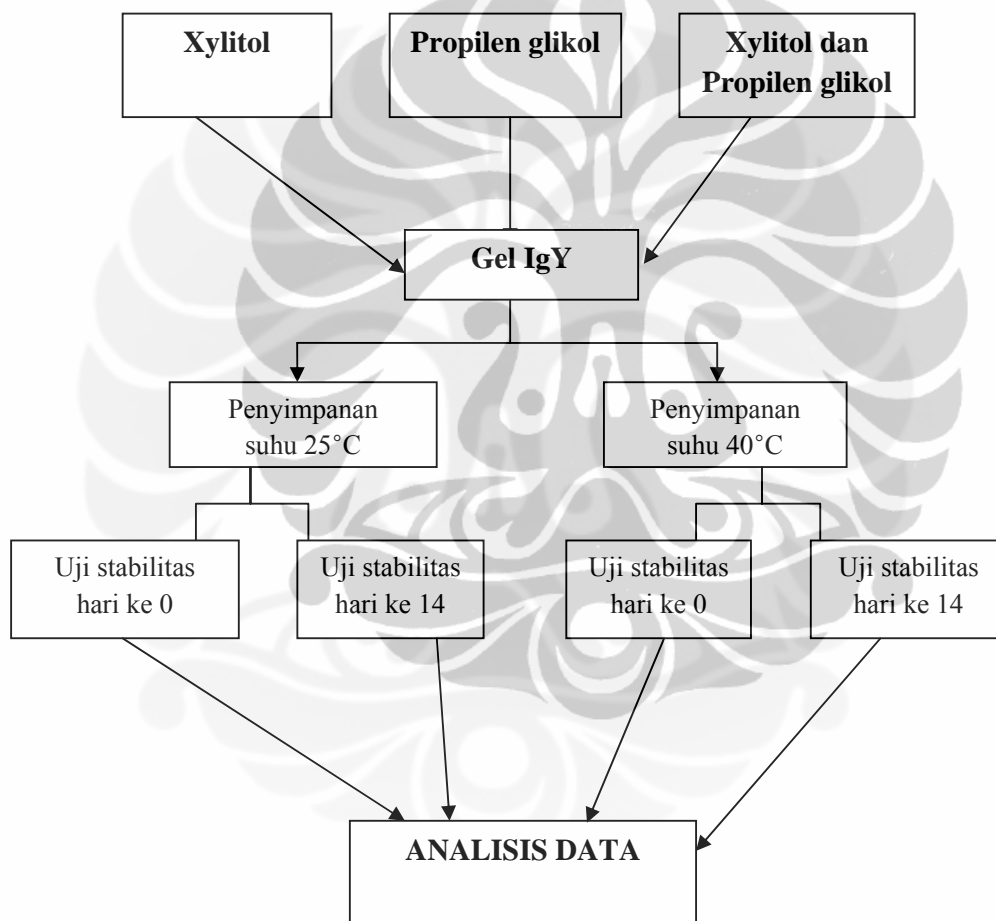
#### **4.9 Analisis Data**

Data observasi stabilitas fisik gel IgY dilihat hari hasil frekuensi distribusi dalam bentuk persentase.



#### 4.10 Alur Penelitian

Gambar menunjukkan urutan cara kerja dalam penelitian ini, meliputi: pembagian kelompok eksperimental yaitu gel IgY yang mengandung xylitol, propilen glikol dan gabungan keduanya. Selanjutnya setiap sampel dilakukan pengukuran kestabilan pada hari ke 1 yang akan dipakai sebagai nilai pembanding. Kemudian dilakukan penyimpanan pada suhu 25°C dan 40° C. Kemudian dilakukan uji stabilitas suhu dilihat dari adanya pemisahan atau tidak pada gel IgY di hari ke 14 pada tiap sampel. (Gambar 4.1)



Gambar 4.2 Alur Penelitian

## BAB 5

### HASIL PENELITIAN

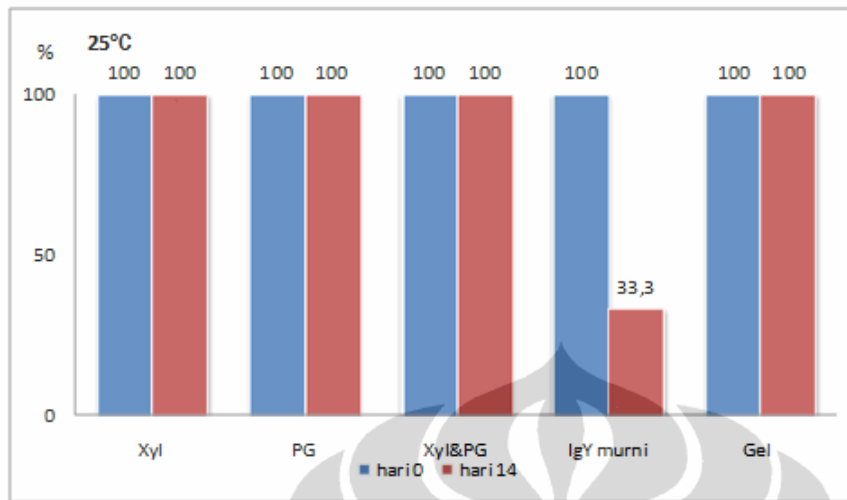
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas fisik dari gel IgY yang ditambahkan xylitol dan propilen glikol. Penelitian dilakukan pada bulan Oktober sampai November 2011, data didapatkan berdasarkan evaluasi stabilitas pada tiap kelompok gel yang disimpan di suhu 25°C dan 40°C, observasi dilakukan pada hari ke 0 dan ke 14. Observasi dilakukan dengan melihat suatu perubahan dari konsistensi, warna dan bau gel IgY tersebut. Hasil observasi dinilai dengan skor, berdasarkan kategori yaitu, nilai skor 0 untuk stabil dan skor 1 untuk tidak stabil. Tidak stabil dinyatakan apabila terjadi perubahan konsistensi atau warna atau bau.

Tabel 5.1 Hasil Kappa Internal dan Eksternal Pengamat

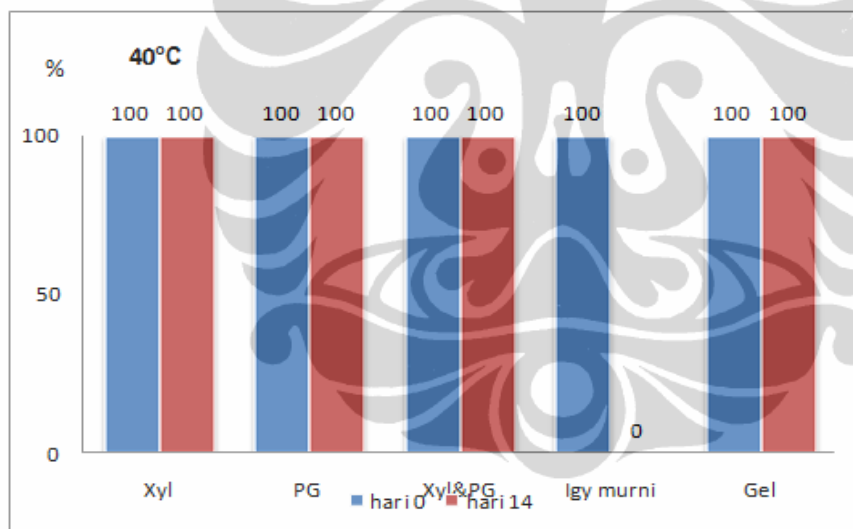
Pengamat	A1	A2	B1	B2
A1	1,000	1,000	0,880	0,880
A2	0,880	1,000	0,883	0,880
A3	0,883	0,880	1,000	0,880
A4	0,883	0,880	0,880	1,000

Keterangan: A1= Pengamat 1 pada hari pertama, A2= Pengamat 1 pada hari kedua,  
B1= Pengamat 2 pada hari pertama, B2= Pengamat 2 pada hari kedua.

Berdasarkan hasil uji Kappa terhadap validitas dan reliabilitas eksternal dan internal kedua pengamat, terbukti bahwa hasil Kappa internal dan eksternal pengamat sebagian besar lebih dari 0,75 (75%). Hal ini menandakan bahwa kesesuaian pembacaan hasil dari kedua pengamat sudah baik.<sup>44</sup> Hasil Kappa internal dan eksternal pengamat dapat dilihat pada tabel hasil uji Kappa pada Tabel 5.1.



Gambar 5.1. Grafik stabilitas gel IgY dengan penambahan Xylitol/ Propilen glikol pada suhu 25°C setelah penyimpanan 14 hari.



Gambar 5.2. Grafik stabilitas gel IgY dengan penambahan Xylitol atau Propilen glikol pada suhu 40°C setelah penyimpanan 14 hari.

Keterangan: Xyl : Gel IgY dengan penambahan xylitol  
 PG : Gel IgY dengan penambahan propilen glikol  
 Xyl&PG : Gel IgY dengan penambahan xylitol dan propilen glikol  
 IgY murni : Gel IgY tanpa penambahan xylitol dan propilen glikol  
 Gel : Gel dengan penambahan xylitol dan propilen glikol tanpa IgY

Grafik yang terdapat pada Gambar 5.1 memperlihatkan bahwa pada IgY murni di suhu 25°C setelah penyimpanan 14 hari ternyata yang stabil hanya sebesar 33.3%. Sedangkan, pada Gambar 5.2 dapat dilihat bahwa pada IgY murni di suhu 40°C setelah penyimpanan 14 hari ternyata tidak ada yang stabil.

Dari Tabel pada lampiran 5 dapat dilihat distribusi skor stabilitas fisik gel IgY antar kelompok. Disini terlihat pada kelompok sampel gel IgY dengan xylitol dan propilen glikol keadaannya tetap stabil pada suhu 25°C dan 40°C selama penyimpanan 0 dan 14 hari. Akan tetapi, terdapat kelompok yang tidak stabil yaitu gel IgY murni di suhu 25°C dan 40°C pada hari ke 14. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok gel IgY dengan xylitol dan propilen glikol lebih stabil dibandingkan kelompok gel IgY murni.

Pada penelitian ini, terlihat di Tabel distribusi skor yang dapat dilihat pada lampiran 5 yaitu kelompok gel IgY yang mengandung xylitol dibandingkan dengan gel IgY yang mengandung propilen glikol ataupun gabungan keduanya tetap stabil setelah penyimpanan selama 14 hari pada suhu 25°C dan 40°C. Dengan demikian tujuan penelitian ini tercapai yaitu Gel IgY yang diberi xylitol dan propilen glikol tetap stabil pada penyimpanan di suhu 25°C dan 40°C selama 14 hari dan secara uji akselerasi, bahan ini stabil pada suhu kamar dan lemari pendingin untuk penyimpanan selama 6 bulan hingga 1 tahun.<sup>13</sup>

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penggunaan IgY sebagai media pencegahan karies telah banyak dikembangkan dalam bentuk obat kumur, pasta gigi, spray dan gel. Gel digunakan karena merupakan media yang bersifat kompatibel dengan berbagai bahan antimikroba.<sup>9</sup> Gel sebagai media dianggap mempunyai beberapa keuntungan dibandingkan bentuk media lainnya, yaitu jumlah penggunaan bahan aktif yang lebih kecil dan dapat menghasilkan konsentrasi yang lebih tinggi, gel memiliki perlekatan yang lebih stabil sehingga memberikan waktu kerja yang lebih lama.<sup>10</sup> Hal ini telah terbukti pada penelitian oleh Anggraeni(2010)<sup>8</sup> yang melaporkan pengolesan gel IgY pada tikus secara rutin satu kali perhari tanpa pembatasan jeda makan, terbukti dapat menghambat pembentukan biofilm *S.mutans*.

Pada penelitian hasil eksperimen *in vitro* yang dilakukan Anggraeni menunjukkan stabilitas reaktifitas gel IgY dengan IgY murni mempunyai kadar yang relatif sama dalam mengenali atau memblokir *S.mutans* melalui uji ELISA yaitu dikisaran 0.5-0.6. Akan tetapi, nilai reaktifitas kelompok gel IgY masih dianggap rendah karena mendekati nilai kelompok kontrol gel tanpa IgY yaitu 0.32.<sup>8</sup> Namun, formulasi gel yang dipakai masih merupakan gel murni tanpa pengawet. Oleh karena itu, pada penelitian ini diharapkan dengan menambahkan pengawet dapat meningkatkan reaktifitas gel IgY terhadap *S.mutans*. Maka penelitian ini dapat dilanjutkan dengan melakukan uji stabilitas biologis untuk melihat reaktifitas IgY dalam gel terhadap pembentukan biofilm.

Hasil dari penelitian ini memperlihatkan bahwa gel IgY dengan penambahan xylitol dan propilen glikol selama 14 hari pada suhu 25°C dan 40°C terlihat stabil. Sedangkan pada gel IgY murni pada suhu 25°C hanya 33.3% yang stabil dan di suhu 40°C tidak ada sampel yang stabil. Hasil ini didukung oleh penelitian Jaradat dkk(2000)<sup>39</sup> yang menyatakan bahwa penyimpanan IgY murni selama 6 minggu pada suhu 21°C, 37°C dan 50°C terlihat tidak stabil dibandingkan IgY yang ditambahkan Trehalosa.

Gel sebagai obat topikal mempunyai syarat-syarat yang harus dipenuhi seperti, perlunya penambahan berbagai macam bahan farmasi yang bertujuan

antara lain untuk mengawetkan, menutup rasa pahit, asin atau rasa tidak enak dan bau obat yang tidak nyaman. Untuk kelengkapan formulasi layak pakai suatu obat secara oral dalam rongga mulut, maka dilakukan penambahan pemanis.<sup>11</sup> Berdasarkan syarat tersebut maka penelitian oleh Rahardjo(2008) dianggap belum memenuhi syarat sebagai obat topikal, karena gel IgY tidak mengandung pemanis maupun pengawet.<sup>12</sup> Sehingga pada penelitian ini gel IgY diberi tambahan kedua bahan tersebut dan juga agar dapat dilakukan uji aplikatif pada penelitian lebih lanjut pada manusia.

Terdapat beberapa penelitian yang menyatakan bahwa dengan menambahkan pemanis pada IgY tidak mempengaruhi stabilitas IgY setelah dilakukan pemanasan.<sup>39,40</sup> Pemanis yang digunakan pada beberapa literatur adalah sukrosa dan trehalose, kedua pemanis tersebut diketahui dapat meningkatkan level glukosa dalam darah dan menyebabkan karies maka pada penelitian ini digunakan gula jenis lain yaitu xylitol.<sup>15,39,40</sup> Xylitol mempunyai keuntungan karena tidak difermentasi menjadi asam sehingga mengurangi terjadinya karies gigi dan mempunyai rasa manis yang sama dengan sukrosa serta memberikan efek sensasi dingin sehingga sangat efektif dalam meningkatkan rasa dari obat-obatan untuk menutupi rasa pahit obat tersebut.<sup>15</sup>

Sebagai pengembangan produk baru, uji stabilitas diperlukan untuk melihat kualitas, keamanan, dan efektifitas dari suatu bahan aktif. Sediaan obat haruslah stabil baik secara fisika dan kimia selama penyimpanan sesuai waktu penggunaan hingga sifat-sifatnya tidak berubah dan produk tersebut dapat digunakan.<sup>13</sup> Kestabilan suatu produk dipengaruhi oleh suhu, sinar, bahan farmasi yang ditambahkan dan pH.<sup>13</sup> Maka sangat penting dilakukan penelitian untuk mengetahui stabilitas gel IgY setelah diberi tambahan xylitol dan propilen glikol. Stabilitas merupakan kemampuan suatu substansi produk untuk tetap dalam spesifikasi yang ditetapkan untuk mempertahankan identitas, kekuatan, kualitas dan kemurniannya sampai waktu kadaluarsa. Sifat fisik, kimia dan mikrobiologi harus berfungsi dengan baik walaupun terdapat perubahan dalam kondisi penyimpanan, misalnya suhu dan kelembaban.<sup>36</sup> Sehingga dengan kata lain stabilitas diukur untuk mengetahui *shelf life* dari gel IgY itu sendiri

Pada penelitian ini uji stabilitas yang digunakan adalah uji akselerasi yaitu penyimpanan gel selama 14 hari pada inkubator suhu 40°C untuk mengetahui stabilitas pada suhu kamar selama 6 bulan hingga 1 tahun, serta pada suhu 25°C untuk mengetahui stabilitas penyimpanan pada lemari pendingin selama 6 bulan hingga 1 tahun.<sup>13</sup> Penyimpanan pada suhu ruang dan suhu lemari pendingin pada penelitian ini dipilih karena berdasarkan kebiasaan masyarakat dalam menyimpan suatu produk obat pada suhu ruang atau lemari pendingin.<sup>36</sup> Hasil uji tersebut dilakukan analisa dengan pengamatan organoleptis yaitu observasi perubahan konsistensi, warna dan bau selama penyimpanan.<sup>37</sup>

Analisa dilakukan pada hari ke 0 yaitu ketika gel dibuat kemudian diobservasi setiap hari sampai hari ke 14, pada penelitian ini observasi pada gel IgY yang mengandung xylitol, propilen glikol dan gabungan keduanya, memperlihatkan tidak adanya perubahan sehingga hasilnya adalah IgY stabil, hal ini didukung oleh Shimizu dkk(1994)<sup>40</sup> yang menyatakan IgY tetap stabil ketika dicampur dengan gula dan dilakukan pemanasan hingga suhu 70°C-80°C. Sedangkan observasi pada gel IgY murni yang disimpan di suhu 25°C dan 40°C pada hari ke 8 terlihat adanya perubahan konsistensi yaitu terlihatnya lapisan air, sehingga pada observasi hari ke 14 hasilnya adalah IgY tidak stabil. Hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan Rahardjo(2008)<sup>12</sup> yaitu bahwa gel IgY stabil pada penyimpanan hari ke 14 baik pada suhu 4°C dan 30°C, hal ini mungkin terjadi karena perbedaan suhu penyimpanan dan tehnik uji stabilitas yang menggunakan uji kolom kromatografi dan spektrofotometri.

Hasil penelitian ini terdapat pada Tabel distribusi skor stabilitas fisik gel IgY yang dapat dilihat pada lampiran 5, terlihat bahwa gel IgY yang ditambahkan xylitol dan propilen glikol tetap akan stabil ketika disimpan di suhu ruang dan lemari pendingin yang telah disimulasikan sebagai penyimpanan selama 6 bulan hingga 1 tahun. Berdasarkan DuBourdieu dkk(2011)<sup>45</sup> bahwa penambahan bahan-bahan farmasi yang antara lain gliserol, propilen glikol, sukrosa dan antioksidan pada larutan IgY dapat memperpanjang *shelf life* IgY selama penyimpanan di suhu ruang selama 6 bulan hingga 1 tahun dan pada lemari pendingin selama 1 hingga 2 tahun.<sup>45</sup> Hal tersebut mendukung hasil penelitian ini yang menambahkan

xylitol dan propilen glikol pada gel IgY sehingga IgY stabil di penyimpanan pada suhu ruang dan lemari pendingin selama 6 bulan hingga 1 tahun.

Terdapat beberapa penelitian yang melaporkan stabilitas IgY, seperti Larsson(1993)<sup>46</sup> yang melihat IgY murni dapat disimpan lebih dari 10 tahun pada suhu 4°C tanpa perubahan aktifitas antibodi, ketahanannya juga mencapai 6 bulan pada suhu ruang. Paau dkk(2006)<sup>22</sup> melaporkan stabilitas IgY didalam pasta gigi yang ditempatkan pada suhu 40°C dan dilakukan pengukuran aktifitas pada hari ke 15, 30 dan 60 memberikan hasil yang menunjukkan terjadinya penurunan stabilitas terhadap aktifitas IgY tetapi tidak bermakna sehingga masih menunjukkan aktifitas yang cukup baik.



## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Penambahan xylitol dan propilen glikol pada gel IgY dapat memperpanjang waktu paruh (*shelf life*) IgY sehingga gel IgY tetap stabil pada penyimpanan di suhu 25°C dan 40°C selama 14 hari dan secara uji akselerasi, bahan ini stabil pada suhu kamar dan lemari pendingin untuk penyimpanan selama 6 bulan hingga 1 tahun.

#### 7.2 Saran

- Penelitian selanjutnya dapat dilakukan uji aplikatif pada manusia untuk mendapatkan persetujuan mengenai rasa enak dan nyaman dari gel tersebut ketika digunakan.
- Penelitian selanjutnya dapat dilakukan uji stabilitas biologis untuk melihat reaktifitas IgY dalam gel terhadap pembentukan biofilm.

## DAFTAR REFERENSI

1. Bowen WH. Vaccine Against Dental Caries—A Personal View. *J Dent Res.* 1996 75(8): 1530-3.
2. Kamus Saku Kedokteran Dorland. Alih Bahasa: Kumala P, Komala S, Santoso AH, Sulaiman R, Rienita. EGC. Edisi 25:546.
3. Hughes M, Machardy SM, Shepard AJ. Evidence for an immunological relationship between *Streptococcus mutans* and human cardiac tissue. *Infection and Immunity.* 1980: 27.
4. Hatta H, Tsuda K, Ozeki M, Kim M, Yamamoto T, Otake S. Passive Immunization against dental plaque formation in humans: effect of a mouth rinse containing egg yolk antibodies (IgY) specific to *Streptococcus mutans*. *Caries Res.* 1997; 31(4): 268-74.
5. Widjaja A, Suharsini M. Immunoglobulin Telur (IgY) untuk Mencegah Karies. *MI Kedokteran Gigi.* 2008; 23(2): 90-6.
6. Narat M. Production of antibodies in chickens. *J Food Technol.* 2003;41(3):259-67.
7. Chi ZB, Gao YX, Pan Y, Zhang B, Feng XP. The inhibitive effect of IgY toothpaste against oral *Streptococcus mutans*. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue.* 2004; 13(4): 256-8.
8. Anggraeni. Prospek gel Immunoglobulin Y anti *S.mutans* sebagai bahan imunisasi pasif anti karies: analisis sifat biologis gel Immunoglobulin Y anti *S.mutans* dan pengaruhnya terhadap karies pada tikus Sprague dawley(disertasi). Jakarta: Universitas Indonesia; 2010.
9. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia. Edisi IV; 1995: 175.
10. Paye M, Barel AO, Miabach HI. Handbook of cosmetic science and technology. New York: Taylor & Francis, 2006: 534-553.
11. Ansel HC. Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms. Lea &Febiger, 1985: 85-300.
12. Rahardjo SPCSC. Uji Stabilitas Fisik Immunoglobulin Y (IgY) dalam Gel. (Tesis). Jakarta: Universitas Indonesia, 2008.

13. Grimm,W. Stability Testing of Clinical Trial Materials. In: Carstensen JT, Rhodes CT, eds. *Drug Stability Principles and Practice*.Vol 107. 3<sup>rd</sup>ed. New York: Marcel Dekker Inc, 2000.
14. Lucas TI, Bishara RH, Seevers RH. A Stability Program for the Distribution of Drug Products. *Pharmaceutical Technology*.Juli 2004.
15. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6<sup>th</sup>ed.London, 2009.
16. <http://www.enotes.com/public-health-encyclopedia/caries-prevention>. (Diunduh tanggal 10 April 2011).
17. Kidd EAM, Mejare I, Nyvad B. *Clinical and radiographic diagnosis*. In: Kidd EAM, Fejerskov O. (ed). Dental caries: The disease and its clinical management. Copenhagen: Munksgaard, 2003: 110-28.
18. Emilson CG. Potential Efficacy of Chlorhexidin against Mutans Streptococci and Human Dental Caries.*J Dent Res*. 1994; 73(3): 682-91.
19. McIntyre JM. *Dental caries – The major cause of tooth damage*. In: Mount GJ, Hume WR.(ed). Preservation and restoration of tooth structure. Queensland: Knowledge, 2005: 21-34,36-4.
20. Bussadori SK, Santos EM, Guedes CC, Motta LJ, Fernandes KPS, Ferrari RAM, Bruno LH, Ram D. Cytotoxicity assessment of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) paste. *ConscientiaeSaude*. 2010; 9(3): 354-59.
21. Kruger C. *Passive Immunization Against Oral Pathogens* (Thesis). Stockholm: Karolinska University Hospital, 2004.
22. Paau S, Yang RJ. Preparation method of IgY for preventing and cure mouth disease and the toothpaste base on the IgY. US Patent; 2006: 0198849A1.
23. Smith DJ. Dental Caries Vaccine: Prospect and Concerns. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002; 13(4): 335-49.
24. Kruger C, Pearson SK, Kodama Y, Vacca Smith A, Bowen WH, Hammarstrom L. The effects of egg-derived antibodies to glucosyltransferases on dental caries in rats. *Caries Res*. 2004; 38(1): 9-14.
25. Li X. Effects of Egg and Yolk Weights on Yolk Antibody (IgY) Production in Laying Chickens. *J Poultry Sci*; 1998; 77: 266-70.

26. Hatta H, Tsuda K, Akachi S, Kim M, Yamamoto T, Ebina T. Oral passive immunization effect of antihuman rotavirus IgY and its behavior against proteolytic enzymes. *BiosciBiotechnolBiochem*. 1993; 57(7): 1077-81.
27. Otake S, Nishihara Y, Makimura M, Hatta H, Kim M, Yamamoto T. Protection of rats against dental caries by passive immunization with hen-egg-yolk-antibody (IgY). *J Dent Res*. 1991; 70(3): 162-6.
28. Wen B, Zhou RJ, Yang J, Tang Z, Zhou Z. The inhibitory effect of anti *Streptococcusmutans* immunoglobulin of yolk on glucan synthesis of *Streptococcus mutans*. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2002. Juni;11(2):141-142.
29. Chismirina S. Efek immunoglobulin Y sebagai anti adhesin pada pembentukan biofilm oleh *S.mutans* (serotipe c,e,f) dan *S.sobrinus* (serotipe d) secara in vitro(thesis).Jakarta: University of Indonesia, 2006.
30. Lehner T, Mehlert A. Local active gingival immunization by a 3,800 molecular weight streptococcal antigen in protection against dental caries. *Infect Immun*. 1986: 682-87.
31. Forsman B. Early supply of fluoride and enamel fluorosis. *Scand J Dent Res*. 1977; 85(1):22-30.
32. Ramji N. Stable peroxide containing personal care compositions. US Patent; 2008; 0175801A1.
33. Barry, BW. *Dermatological Formulation*. New York: Marcel Dekker Inc, 1983.
34. Chang HM, Ou-Yang RF, Chen YT, Chen CC. Productivity and some properties of immunoglobulin specific against *Streptococcus mutans* serotype c in chicken egg yolk (IgY). *J Agric Food Chem*. 1999;47(1): 61-66.
35. Ulrich SA, Zimm KR, Jozef MK, Carlo WMA. Taste masked liquid pharmaceutical compositions. US Patent; 2004; 6806256.
36. Carpenter WM, Silverman S. Over-the-Counter Products for Oral Ulcerations. *Journal of the California Dental Association*, 1998.
37. Gozali D, Rusmiati D, Utama P. Formulasi dan uji stabilitas mikroemulsi ketokonazol sebagai anti jamur *Candida albicans* dan *Tricophytonmentagrophytes*. *Farmaka*. 2009;7(2): 55-68.
38. Asean Guideline on Stability Study of Drug Product. Update version: 22 Februari 2005. 9<sup>th</sup> ACCSQ-PPWG Meeting. Philippines 21-24 Feb 2005.

39. Jaradat ZW, Marquardt RR. Studies on the stability of chicken IgY in different sugars, complex carbohydrates and food materials. *Food and agricultural immunology*. 2000;12: 263-72.
40. Shimizu M, Nagashima H, Hasimoto K, Susuki T. Egg yolk antibody (IgY) stability in aqueous solution with high sugar concentrations. *Journal of Food Science*. 1994; 59: 763-765.
41. [http://www.snowdriftfarm.com/form\\_waterbasedgels.html](http://www.snowdriftfarm.com/form_waterbasedgels.html)  
(Diunduh tanggal 12 Agustus 2011)
42. <http://duffinsorientalbeauty.wordpress.com/2010/04/08/aloe-vera-pre-gel/>  
(Diunduh tanggal 12 Agustus 2011)
43. Shing P, Rong-Jiang Y. Preparation method of igy for preventing and cure mouth disease and the toothpaste base on the igy. US Patent;2003; 20060198849.
44. Rasch D, Masata. Methods of Variance Component Estimation. *Czech J Anim Sci*. 2006; 51 (6): 227-235.
45. Kothari C.R. Research Methodology: methods and Technique. 3<sup>th</sup>ed. New Delhi. 2004: 258-60.
46. DuBourdieu DJ, Limerick, Lall R. Stabilized liquid egg material for extended shelf life. US Patent;2011; 0159002A1
47. Larsson A, Balow RM, Lindahl TL, Forsberg PO. Chicken antibodies: taking advantage of evolution—a review. *PoultSci*. 1993 Oct;72(10):1807-12.

Lampiran 1

Alat dan Bahan Penelitian



Inkubator



pH meter



Alat pemanas



Timbangan

(Lanjutan)



*Lab glass*



**Gliserol (Gliserin)**



**Trietanolamin**



**Propilen glikol**



**Mortar dan *Stamper***



**Carbomer**



**Xylitol**





## Lampiran 2

## Foto sampel

## Foto Hari ke-0



**Gel IgY + Xylitol + Propilen glikol  
suhu 25°C**



**Gel IgY + Xylitol + Propilen glikol  
suhu 40°C**



**Gel IgY + Propilen glikol suhu 25°C**



**Gel IgY + Propilen glikol suhu 40°C**

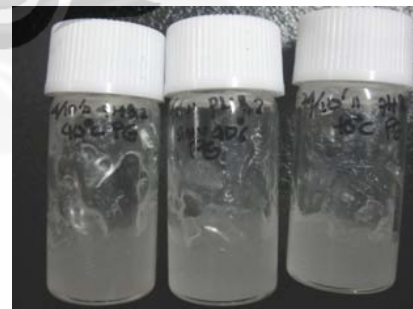


**Gel IgY + Xylitol 25°C**



**Gel IgY + Xylitol 40°C**

(Lanjutan)

**Gel IgY (kontrol)****Gel (kontrol)****Hari ke 14****Gel IgY+ Xylitol + Propilen glikol****Suhu 25°C****Gel IgY + Xylitol + Propilen glikol****Suhu 40°C****Gel IgY + Propilen glikol suhu 25°C****Gel IgY + Propilen glikol 40°C**



**Gel IgY + Xylitol suhu 25°C**



**Gel IgY + Xylitol suhu 40°C**



**Gel IgY (Kontrol)**



**Gel (Kontrol)**

## Lampiran 3

Tabel Rekapitulasi Skoring Hasil Penelitian

## Hari ke-0

Sampel	Gel IgY Xy 40°C	Gel IgY Xy 25°C	Gel IgY PG 40°C	Gel IgY PG 25°C	Gel IgY XyPG 40°C	Gel IgY XyPG 25°C	Gel IgY 40°C	Gel IgY 25°C	Gel 40°C	Gel 25°C
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

## Hari ke-14

Sampel	Gel IgY Xy 40°C	Gel IgY Xy 25°C	Gel IgY PG 40°C	Gel IgY PG 25°C	Gel IgY XyPG 40°C	Gel IgY XyPG 25°C	Gel IgY 40°C	Gel IgY 25°C	Gel 40°C	Gel 25°C
1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
2	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
3	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0

## Lampiran 4

## Hasil Uji Statistik

## Crosstabs

## Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
a1 * a2	60	96.8%	2	3.2%	62	100.0%

## a1 \* a2 Crosstabulation

			a2		Total
			stabil	tidak stabil	
a1	stabil	Count	55	0	55
		% within a1	100.0%	.0%	100.0%
		% within a2	100.0%	.0%	91.7%
		% of Total	91.7%	.0%	91.7%
	tidak stabil	Count	0	5	5
		% within a1	.0%	100.0%	100.0%
		% within a2	.0%	100.0%	8.3%
		% of Total	.0%	8.3%	8.3%
Total		Count	55	5	60
		% within a1	91.7%	8.3%	100.0%
		% within a2	100.0%	100.0%	100.0%
		% of Total	91.7%	8.3%	100.0%

(Lanjutan)

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	1.000	.000	7.746	.000
N of Valid Cases		60			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis

**Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
a1 * b1	60	96.8%	2	3.2%	62	100.0%

**a1 \* b1 Crosstabulation**

			b1		Total
			stabil	tidak stabil	
a1	stabil	Count	55	0	55
		% within a1	100.0%	.0%	100.0%
		% within b1	98.2%	.0%	91.7%
		% of Total	91.7%	.0%	91.7%
	tidak stabil	Count	1	4	5
		% within a1	20.0%	80.0%	100.0%
		% within b1	1.8%	100.0%	8.3%
		% of Total	1.7%	6.7%	8.3%
Total	Count	56	4	60	
	% within a1	93.3%	6.7%	100.0%	
	% within b1	100.0%	100.0%	100.0%	
	% of Total	93.3%	6.7%	100.0%	

(Lanjutan)

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.880	.118	6.866	.000
N of Valid Cases		60			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

**Crosstabs****Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b1 * b2	60	96.8%	2	3.2%	62	100.0%

**b1 \* b2 Crosstabulation**

			b2		Total
			stabil	tidak stabil	
b1	Stabil	Count	56	0	56
		% within b1	100.0%	.0%	100.0%
		% within b2	100.0%	.0%	93.3%
		% of Total	93.3%	.0%	93.3%
tidak stabil	tidak stabil	Count	0	4	4
		% within b1	.0%	100.0%	100.0%
		% within b2	.0%	100.0%	6.7%
		% of Total	.0%	6.7%	6.7%
Total	Total	Count	56	4	60
		% within b1	93.3%	6.7%	100.0%
		% within b2	100.0%	100.0%	100.0%
		% of Total	93.3%	6.7%	100.0%

(Lanjutan)

## Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	1.000	.000	7.746	.000
N of Valid Cases		60			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

## Crosstabs

## Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
a2 * b1	60	96.8%	2	3.2%	62	100.0%

## a2 \* b1 Crosstabulation

		b1		Total	
		stabil	tidak stabil		
a2	stabil	Count	55	0	55
		% within a2	100.0%	.0%	100.0%
		% within b1	98.2%	.0%	91.7%
		% of Total	91.7%	.0%	91.7%
tidak stabil	tidak stabil	Count	1	4	5
		% within a2	20.0%	80.0%	100.0%
		% within b1	1.8%	100.0%	8.3%
		% of Total	1.7%	6.7%	8.3%
Total	Total	Count	56	4	60
		% within a2	93.3%	6.7%	100.0%
		% within b1	100.0%	100.0%	100.0%
		% of Total	93.3%	6.7%	100.0%



(Lanjutan)

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.880	.118	6.866	.000
N of Valid Cases		60			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

**Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
a1 * b2	60	96.8%	2	3.2%	62	100.0%

**a1 \* b2 Crosstabulation**

			b2		Total
			stabil	tidak stabil	
a1	stabil	Count	55	0	55
		% within a1	100.0%	.0%	100.0%
		% within b2	98.2%	.0%	91.7%
		% of Total	91.7%	.0%	91.7%
	tidak stabil	Count	1	4	5
		% within a1	20.0%	80.0%	100.0%
		% within b2	1.8%	100.0%	8.3%
		% of Total	1.7%	6.7%	8.3%
Total	Count	56	4	60	
	% within a1	93.3%	6.7%	100.0%	
	% within b2	100.0%	100.0%	100.0%	
	% of Total	93.3%	6.7%	100.0%	

(Lanjutan)

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.880	.118	6.866	.000
N of Valid Cases		60			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

**Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
a2 * b2	60	96.8%	2	3.2%	62	100.0%

**a2 \* b2 Crosstabulation**

			b2		Total
			stabil	tidak stabil	
a2	stabil	Count	55	0	55
		% within a2	100.0%	.0%	100.0%
		% within b2	98.2%	.0%	91.7%
		% of Total	91.7%	.0%	91.7%
tidak stabil	tidak stabil	Count	1	4	5
		% within a2	20.0%	80.0%	100.0%
		% within b2	1.8%	100.0%	8.3%
		% of Total	1.7%	6.7%	8.3%
Total	Total	Count	56	4	60
		% within a2	93.3%	6.7%	100.0%
		% within b2	100.0%	100.0%	100.0%
		% of Total	93.3%	6.7%	100.0%

(Lanjutan)

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.880	.118	6.866	.000
	N of Valid Cases	60			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.



## Lampiran 5

Tabel Distribusi skor stabilitas fisik gel IgY antar semua kelompok.

No	Kelompok	Skor Stabilitas				Total
		0 = stabil		1= tidak stabil		
		n	%	n	%	
1.	Gel IgY,Xylitol 25°C,0	3	100	0	0	3
2.	Gel IgY,Xylitol,25°C,14	3	100	0	0	3
3.	Gel IgY, Xylitol,40°C,0	3	100	0	0	3
4.	Gel IgY, Xylitol,40°C,14	3	100	0	0	3
5.	Gel IgY, Prop.glikol,25°C,0	3	100	0	0	3
6.	Gel IgY, Prop.glikol,25°C,14	3	100	0	0	3
7.	Gel IgY, Prop.glikol,40°C,0	3	100	0	0	3
8.	Gel IgY, Prop.glikol,40°C,14	3	100	0	0	3
9.	Gel IgY, Xyl,PG,25°C,0	3	100	0	0	3
10.	Gel IgY, Xyl,PG,25°C,14	3	100	0	0	3
11.	Gel IgY, Xyl,PG,40°C,0	3	100	0	0	3
12.	Gel IgY, Xyl,PG,40°C,14	3	100	0	0	3
13.	Gel IgY murni, 25°C,0	3	100	0	0	3
14.	Gel IgY murni, 25°C,14	1	33.3	2	66.7	3
15.	Gel IgY murni, 40°C,0	3	100	0	0	3
16.	Gel IgY murni, 40°C,14	0	0	3	100	3
17.	Gel tanpa IgY, 25°C, 0	3	100	0	0	3
18.	Gel tanpa IgY, 25°C, 14	3	100	0	0	3
19.	Gel tanpa IgY, 40°C,0	3	100	0	0	3
20.	Gel tanpa IgY, 40°C, 14	3	100	0	0	3
Total		55		5		60

Keterangan: n = jumlah sampel, skor 0 = Stabil, skor 1 = Tidak stabil.