



**AKTIVITAS PROTEINASE NETROFIL
TERHADAP EKSOTOKSIN *Porphyromonas gingivalis*
DIUJI DENGAN METODE SDS-PAGE**

SKRIPSI

Oleh
Ardiansyah Norma Dinata
NIM 071610101043

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2012**



**AKTIVITAS PROTEINASE NETROFIL
TERHADAP EKSOTOKSIN *Porphyromonas gingivalis*
DIUJI DENGAN METODE SDS-PAGE**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan program studi pendidikan dokter gigi (S1) dan
meraih gelar sarjana kedokteran gigi

Oleh :

Ardiansyah Norma Dinata

NIM. 071610101043

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2012

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. ALLAH SWT yang telah memberi begitu besar nikmat yang tiada habisnya,
2. Agamaku tercinta dan Rasulullah SAW sebagai panutan dalam hidup ini,
3. Kedua orang tuaku Nurmadji dan Barokah dimana tiada hentinya memberi do'a, semangat dan nasehat yang sangat berarti,
4. Adikku Reta Tinata untuk do'a dan kebersamaan dalam menuju kedewasaan,
5. Para pengajar dari Taman Kanak-kanak sampai Perguruan Tinggi yang telah membagi ilmu dan pengalaman berharga dalam hidup ini.

MOTTO

“We never know, if we never try”

(Anonim)

Sesungguhnya apabila Dia (Allah) menghendaki sesuatu
hanyalah berkata: “jadi !” maka jadilah.

(QS. Yaasiin 82)

Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.

Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan),
kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain,
Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.
(terjemahan Surat. *Alam Nasyrah* ayat 5 - 8)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ardiansyah Norma Dinata

NIM : 071610101043

Menyatakan dengan sesungguhnya, bahwa karya ilmiah yang berjudul:

“Aktivitas Proteinase Netrofil terhadap Eksotoksin *Porphyromonas gingivalis* Diuji dengan Metode SDS-PAGE” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini terbukti tidak benar.

Jember, 11 Januari 2012

Yang menyatakan,

Ardiansyah Norma Dinata

NIM. 071610101043

SKRIPSI

AKTIVITAS PROTEINASE NETROFIL TERHADAP EKSOTOKSIN *Porphyromonas gingivais* DIUJI DENGAN METODE SDS-PAGE

Oleh:

Ardiansyah Norma Dinata

071610101043

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama

: Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes.

Dosen Pembimbing Anggota

: Tri Handoyo, S.P., Ph.D.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Aktivitas Proteinase Netrofil terhadap Eksotoksin *Porphyromonas gingivalis* Diuji dengan Metode SDS-PAGE” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Jum’at, 27 Januari 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes.
NIP 196109031986022001

Anggota I,

Anggota II,

Tri Handoyo, S.P., Ph.D
NIP 197112021998021001

drg. Depi Praharani, M.Kes.
NIP 196801221997022001

Mengesahkan

Dekan,

drg. Hj. Herniyati, M.Kes.
NIP 19590906198503200

RINGKASAN

Aktivitas Proteinase Netrofil terhadap Eksotoksin *Porphyromonas gingivalis* Diuji dengan Metode SDS-PAGE; Ardiansyah Norma Dinata, 071610101043; 2012; 41 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyakit infeksi bakterial banyak terjadi di rongga mulut dan yang paling prevalen adalah infeksi jaringan periodontal. Infeksi ini meliputi gingivitis dan periodontitis. Gingivitis adalah peradangan pada gingiva dengan tanda-tanda klinis adanya perubahan warna lebih merah dari normal, gusi bengkak, perdarahan pada tekanan ringan, sedangkan periodontitis menunjukkan peradangan sudah sampai ke jaringan pendukung gigi yang lebih dalam dan cenderung bersifat progresif dan *irreversible*. Bakteri utama penyebab terjadinya penyakit periodontal adalah *Porphyromonas gingivalis*.

Porphyromonas gingivalis termasuk dalam golongan bakteri *black-pigmented Gram-negative anaerobes*. Bakteri ini memiliki sejumlah faktor virulensi yang dapat menyebabkan penyakit secara langsung atau tidak langsung oleh karena aktivasi dari sel *host* untuk melepaskan mediator-mediator inflamasi. *P. gingivalis* merupakan bakteri proteolitik, dimana hasil metabolit ekstraseluler utamanya berupa eksotoksin (protease) dan diduga eksotoksin inilah yang akan dilawan oleh netrofil melalui enzimnya yaitu proteinase.

Netrofil merupakan sel inflamasi yang berfungsi sebagai pertahanan pertama terhadap infeksi bakteri. Dalam fungsi bakterisidal, netrofil mengeluarkan suatu enzim untuk melawan bakteri yang menyerang tubuh, salah satu enzim yang dikeluarkan adalah proteinase. Diduga salah satu cara perlawanan proteinase netrofil terhadap bakteri adalah dengan memfragmentasi eksotoksin yang disekresi bakteri patogen menjadi berat molekul yang lebih kecil, sehingga eksotoksin menjadi tidak

aktif dan tidak patogenik. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis aktivitas proteinase netrofil terhadap eksotoksin bakteri periodontitis *P. gingivalis*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental in vitro dengan obyek penelitian eksotoksin *P. gingivalis* ATCC 3327 dan isolat netrofil. Penelitian ini untuk menganalisa aktivitas proteinase netrofil terhadap eksotoksin *P. gingivalis* dengan membandingkan eksotoksin *P. gingivalis* sebelum dan sesudah dipapar dengan proteinase neutrofil dengan uji SDS-PAGE. Parameter aktivitas proteinase ditunjukkan dengan terfragmentasinya eksotoksin *P. gingivalis* menjadi berat molekul yang lebih kecil. Data dianalisis secara deskriptif yaitu dengan pembacaan berat molekul (kDa) pita-pita protein pada *gel* elektroforesis

Hasil penelitian menunjukkan terjadinya aktivitas proteolitik dari proteinase neutrofil terhadap eksotoksin *P. gingivalis* yaitu ditandai dengan hilangnya atau terfragmentasinya beberapa *band* eksotoksin *P. gingivalis* berat molekul 152 kDa, 67 kDa, dan 36 kDa. Netrofil yang terstimulasi *P. gingivalis* akan menghasilkan metabolit-metabolit aktif melalui mekanisme oksidatif sehingga dihasilkan metabolit oksigen yang bersifat toksik, selain itu netrofil juga mensekresi pro enzim MMPs (*Matrix Metalloproteinases*). Pro enzim ini masih dalam keadaan tidak aktif dan membutuhkan stimuli untuk mengaktifkan pro enzim tersebut, stimuli ini bisa berasal dari aktivitas ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan juga aktivitas proteolitik bakteri melalui enzim toksiknya. Setelah pro MMPs dirubah menjadi MMPs yang bersifat aktif, enzim ini mampu menderadasi antigen, termasuk mendegradasi eksotoksin *P. gingivalis*.

Kesimpulan penelitian ini bahwa netrofil menghasilkan proteinase yang dapat memecah eksotoksin *P. gingivalis*. Kemampuan proteinase netrofil memecah eksotoksin *P. gingivalis* menjelaskan salah satu mekanisme peran netrofil dalam fungsi pertahanan tubuh terhadap infeksi bakteri. Dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mempelajari produk aktivitas proteinase netrofil dan diharapkan kedepannya dapat digunakan sebagai *marker* keparahan penyakit periodontal.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan anugerah-Nya sehingga skripsi yang berjudul “*Aktivitas Proteinase terhadap Eksotoksin Porhyromonas gingivalis Diuji dengan Metode SDS-PAGE*” dapat terselesaikan guna menyelesaikan pendidikan strata 1 (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

- (1) kedua orang tua tercinta, Nurmadji dan Barokah atas doa yang tiada henti, dukungan, motivasi, bimbingan, nasihat dan kasih sayang yang selalu tercurahkan.
- (2) Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU), Tri Handoyo, S.P., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA), dan drg. Depi Praharani, M.Kes. selaku dosen sekretaris penguji, yang telah meluangkan waktu, memberikan pengarahan, dan bimbingan dalam pembuatan skripsi ini;
- (3) drg. Hj. Herniyati, M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
- (4) drg. Pudji Astuti, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selama ini selalu memberikan bimbingan, arahan dan nasehat;
- (5) adikku, Reta Tinata yang selalu menjadi *partner* setia dalam proses menuju kedewasaan;
- (6) Ni Made Listiari, S. KG. yang tiada henti memberi semangat, menemani, dan ada di setiap jatuh bangunku;
- (7) teman-teman seperjuangan penelitian Suher, Arif, Heva, Ona, Nahdiya, Tiwi, Tya, Ulfa, Kembar, sungguh besar hikmah yang kita dapat;

- (8) para gerombolan si berat Yopi, Krisna, Ranggi, Bang Tegar, Yudha, Reza, Arif, Suher, memang berat tugas kita;
- (9) kakak-kakak tingkat, drg. Khoiron Khulud, S. KG. Blackbil Kurdi, S. KG. Yoga Mbah, S. KG. untuk *sharing* pengalaman yang sangat berharga;
- (10) teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi, Bapak Setyo Pinardi, A. Md. dan teknisi Laboratorium *Biosciense* RSGM FKG UNEJ Mas Erwan dan Mbak Azizah;
- (11) teman-teman *zero seven* angkatan 2007 tidak terasa kita sudah lama di sini lanjutkan perjuangan kawan.

Penulis telah berupaya sekuat tenaga dan pikiran dalam pembuatan dan penyempurnaan skripsi ini. Tak ada gading yang tak retak, maka dengan kerendahan hati, penulis menerima kritik dan saran dari berbagai pihak. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi para pembaca.

Jember, 11 Januari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
HALAMAN MOTTO.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HAMALAM PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN.....	vii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Maslah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Porphyromonas gingivalis</i>.....	4
2.1.1 Klasifikasi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	4
2.1.2 Morfologi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	4
2.1.3 Penyakit yang ditimbulkan <i>Porphyromonas gingivalis</i>	5
2.1.4 Patogenesis <i>Porphyromonas gingivalis</i>	5
2.1.5 Metabolit <i>Porphyromonas gingivalis</i>	6
2.2 Netrofil.....	7
2.2.1 Pengertian Netrofil.....	7
2.2.2 Peran Netrofil.....	8
2.2.3 Proteinase Netrofil.....	9
2.3 Protein.....	11
2.3.1 Pengertian Protein.....	11

2.3.2 Struktur Protein.....	11
2.3.3 Protein Enzim.....	15
2.4 SDS-PAGE.....	16
2.5 Kerangka Konep Penelitian.....	19
BAB 3 METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis dan Desain Penelitian.....	20
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	20
3.2.1 Tempat Penelitian.....	20
3.2.2 Waktu Penelitian.....	20
3.3 Sampel Penelitian.....	20
3.4 Variabel Penelitian.....	20
3.4.1 Variabel Bebas.....	20
3.4.2 Variabel Terikat.....	21
3.4.3 Variabel Terkendali.....	21
3.5 Bahan dan Alat Penelitian.....	21
3.5.1 Bahan Penelitian.....	21
3.5.2 Alat Penelitian.....	21
3.6 Prosedur Penelitian.....	22
3.6.1 Persiapan Bakteri.....	22
3.6.2 Isolasi Netrofil.....	22
3.6.3 Preparasi Sampel Eksotoksin <i>P. gingivalis</i>	23
3.6.4 Uji Aktivitas Proteinase Netrofil terhadap Eksotoksin <i>P. gingivalis</i>	23
3.6.5 SDS-PAGE.....	23
3.7 Alur Penelitian.....	25
3.8 Analisa Data.....	26
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian.....	27
4.2 Pembahasan.....	30
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	33
5.2 Saran.....	33

DAFTAR PUSTAKA.....	34
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Bercak darah menunjukkan granulosit netrofil dimana tiga lobus nukleus dapat terlihat.....	8
2.2 Mekanisme pembentukan ikatan peptida sebagai rantai protein.....	12
2.3 Struktur asam amino.....	12
2.4 Dua puluh jenis asam amino.....	13
2.5 Ikatan asam amino dengan air.....	14
2.6 Endopeptidase.....	16
2.7 Peralatan elektroforesis dari iMupid (Japan).....	17
2.8 Alur elektroforesis.....	18
2.9 Kerangka konsep penelitian.....	19
4.1 Hapusan <i>Porphyromonas gingivalis</i>	27
4.2 Isolat netrofil.....	27
4.3 Adhesi <i>Porphyromonas gingivalis</i> pada netrofil.....	28
4.4 Profil SDS-PAGE aktivitas proteinase netrofil terhadap eksotoksin <i>Porphyromonas gingivalis</i>	29