



PROFIL SDS-PAGE METABOLIT EKSTRASELULAR

Porphyromonas gingivalis

(Penelitian Observasional Analitik *in vitro*)

SKRIPSI

Oleh :
SUHERMAWAN
NIM 071610101063

BAGIAN PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2011



PROFIL SDS-PAGE METABOLIT EKSTRASELULAR

Porphyromonas gingivalis

(Penelitian Observasional Analitik *in vitro*)

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat-syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh :
SUHERMAWAN
NIM 071610101063

BAGIAN PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2011

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT sumber dari suara hati yang bersifat mulia, sumber ilmu pengetahuan dan sumber dari segala kebenaran yang senantiasa menuntunku dalam setiap langkah dan senantiasa menguatkanu dalam menghadapi setiap tantangan.
2. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
3. Kedua orang tuaku, Ibuku tersayang, Siti Maryam dan ayahanda tercinta Sunaryo yang telah menjadi sumber inspirasiku dan telah mendukungu dengan segala usaha dan doa. Serta adikku tercinta Ahmad Rendika Dwi Putra.
4. Dosen pembimbing saya drg. Desi Sandra Sari, M.D.Sc dan drg.Rendra Chriestedy terima kasih banyak dok atas bimbingan dan bantuan yang diberikan selama ini demi kesempurnaan penulisan skripsi saya.
5. Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes, sebagai dosen pembimbing teknis saya, terima kasih dok telah mengikutsertakan saya dalam penelitian ini, memberikan saya ide penelitian ini sehingga memberi saya kesempatan untuk melakukan hal yang terbaik dalam hidup saya, dan memberikan bantuan berupa bahan-bahan dalam penelitian ini.
6. Buat seseorang yang aku sayangi dan selalu menyanyangi aku, terimakasih buat semangat dan doanya selama ini
7. Teman-teman seperjuangan penelitianku, Arif, Ardi, ulfa, Nahdya, Tectona, terimakasih atas kerjasamanya.
8. Semua guru dan sahabatku yang tidak tersebut disini terimakasih atas semangat, dukungan serta doa yang diberikan, semoga Allah SWT membalas semua perbuatan baik kalian.

MOTTO

Sungguh, orang-orang yang beriman dan mengerjakan kebajikan, mereka itu adalah sebaik-baik makhluk. Balasan mereka di sisi Tuhan mereka ialah surga ‘Adn yang mengalir di bawahnya sungai-sungai; mereka kekal di dalamnya selama-lamanya. Allah ridha terhadap mereka dan mereka pun ridha kepada-Nya. Yang demikian itu adalah (balasan) bagi orang yang takut kepada Tuhannya.

(al-Bayyinah:7-8)^{*)}

Jika Anda menginginkan sesuatu yang belum pernah anda miliki, Anda harus bersedia melakukan sesuatu yang belum pernah Anda lakukan.

If you want something you've never had, you must be willing to do something you've never done.

(Thomas Jefferson)^{**)}

Sederhana dalam sikap, kaya dalam berkarya

(Sheila on 7)^{***)}

^{*)} Rosyid, S.A. 2010. *Al Qur'an dan Terjemahannya Edisi Ilmu Pengetahuan*. Bandung: PT Mizan Pustaka.

^{**)} Thomas Jefferson. 2010.

^{***)} Sheila on 7, 2000

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Suhermawan

NIM : 071610101063

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul :

“Profil SDS-PAGE Metabolit Ekstraselular *Porphyromonas gingivalis*” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali jika 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 tidak benar.

Jember, Agustus 2011

Yang menyatakan,

Suhermawan

071610101063

SKRIPSI

PROFIL SDS-PAGE METABOLIT EKSTRASELULAR
Porphyromonas gingivalis

Oleh :

SUHERMAWAN

NIM 071610101063

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Desi Sandra Sari, M.D.Sc

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Rendra Chriestedy

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Profil SDS-PAGE Metabolit Ekstraselular *Porphyromonas gingivalis*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari, tanggal :

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

drg. Desi Sandra Sari, M.D.Sc

NIP 197812152003122001

Anggota I,

Anggota II,

drg. Rendra Chriestedy

NIP 198305312008011003

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes

NIP 196805021997012001

Mengesahkan

Dekan,

drg. Hj. Herniyati, M.Kes

NIP 195909061985032001

RINGKASAN

Profil SDS-PAGE Metabolit Ekstraselular *Porphyromonas Gingivalis* ; Suhermawan, 071610101063; 2011; 52 halaman; Jurusan Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi.

Porphyromonas gingivalis adalah bakteri penyebab terjadinya penyakit periodontal, *P. gingivalis* termasuk dalam golongan *black-pigmented gram-negative anaerobes*. *P. gingivalis* memiliki sejumlah faktor virulensi seperti lipopolisakarida, fimbria, produk-produk toksik dari bahan metabolisme, dan protease asam amino yang dapat menyebabkan penyakit secara langsung maupun tidak langsung oleh karena aktivasi dari sel tubuh untuk melepaskan mediator-mediator inflamasi. *P. gingivalis* termasuk bakteri proteolitik, sehingga bakteri ini menghasilkan enzim-enzim protease yang dapat memecah kandungan protein sampai peptida terkecil. *P. gingivalis* lebih suka peptida kecil sebagai nutrisi terutama dipeptida yang lebih kecil dibandingkan asam amino. Untuk mendeteksi kandungan protein dari bahan metabolit *P. gingivalis* maka diuji dengan SDS-PAGE. Latar belakang menggunakan pengujian elektroforesis adalah karena elektroforesis adalah analisis yang ideal untuk memurnikan komponen protein dari campuran sampel dengan cara penambahan medium yang dapat mengikat protein selama elektroforesis. metode untuk menganalisis protein dengan memisahkan pita-pita protein yang ada di dalam sampel berdasarkan berat molekulnya. Metode terbaik dalam pemurnian protein dengan tehnik elektroforesis adalah dengan bahan *polyacrylamide gel electrophoresis* (PAGE). Gel poliakrilamid merupakan larutan dari akrilamid dan bisakrilamid

Tujuan penelitian ini untuk menganalisis hasil profil SDS-PAGE dari bahan metabolit ekstraselular dari *P. gingivalis*, menganalisis profil SDS-PAGE dari bahan metabolit ekstraselular dari *P. gingivalis* setelah dilakukan sentrifugasi kedua kali.

Manfaat penelitian ini sebagai dasar penelitian lebih lanjut, yaitu hasil SDS-PAGE bahan ekstraselular *P. gingivalis* diisolasi untuk dilakukan uji hemaglutinasi, besar kecilnya titer ditentukan adanya aglutinasi darah merah pada pengenceran terendah, sehingga diharapkan dapat ditemukan suatu antibiotik atau vaksin untuk mencegah terjadinya penyakit periodontal.

Jenis penelitian ini adalah observasional analitik, sampel yang digunakan adalah bahan ekstraselular dari *P. gingivalis*. Bakteri *P. gingivalis* didapatkan dari sediaan yang sudah ada dijual dengan strain ATCC 33277. Bakteri dibiakkan dalam media *Brain Heart Infusion* (BHI), terdiri dari 2 ml *brucella broth* ditambahkan 0,4 µl/ml vitamin K₁ dan 5 µl/ml hemin. Kemudian media yang telah ditumbuhi bakteri tersebut di sentrifus dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit, dan diambil supernatannya, sentrifus ini bertujuan untuk memisahkan organel sel dan bahan metabolisme *P. gingivalis*. Kemudian supernatan dari hasil sentrifugasi pertama disentrifus lagi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit, dan diambil endapannya, sentrifus kedua ditujukan untuk memisahkan protein dari senyawa bukan protein yang terlarut dalam bahan metabolisme *P. gingivalis*. Kemudian membuat lagi media bifasik *Brain Heart Infusion* (BHI) ditambah hemin dan vitamin K, media tersebut tidak ditanami bakteri sebagai kontrolnya. Adanya bahan metabolit *P. gingivalis* diuji dengan SDS-PAGE dengan membandingkan dengan media tanpa *P. gingivalis*. Bahan metabolisme *P. gingivalis* adalah pita protein yang berbeda dengan pita protein media kultur.

Setelah dilakukan running dengan elektroforesis terhadap ketiga sampel yaitu media (BHI, hemin, vitamin K), bahan metabolisme ekstraselular sentrifus pertama dan bahan ekstraselular sentrifus kedua, maka didapatkan hasil bahwa pada sampel media (BHI, hemin, vitamin K) berat molekul protein yang terbaca adalah 151, 117, 85, 65, 45, 30, 26, 22, 19, 17, 6, 3 kDa, pada sampel bahan ekstraselular sentrifus pertama berat molekul protein yang terbaca adalah 161, 117, 79, 68, 52, 49, 45, 38, 32, 26, 21, 13, 4 kDa, Bahan metabolisme *P. gingivalis* adalah protein dengan berat molekul 161, 80, 68, 49, 38, 32, 21, 13, 4 kDa, Bahan metabolisme yang memiliki konsentrasi yang tinggi adalah dengan protein dengan berat molekul 161, 68, 49, 38, 21 kDa. Tujuan sentrifus pertama

adalah untuk memisahkan bahan metabolisme ekstraselular *P. gingivalis* dengan organel sel *P. gingivalis*. Pada berat molekul bahan metabolisme ekstraselular *P. gingivalis* sentrifus kedua yang terbaca 161, 80, 68, 52, 49, 38 kDa, bahan metabolisme yang memiliki konsentrasi yang tinggi adalah 38 dan 68 kDa. Sentrifus kedua ditujukan untuk memisahkan protein dari senyawa bukan protein yang terlarut dalam bahan metabolisme *P. gingivalis*.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah Profil SDS-PAGE bahan ekstraselular *P. gingivalis* adalah pita dengan berat molekul : 161, 117, 79, 68, 52, 49, 38, 32, 26, 21, 13, 4 kDa. Profil SDS-PAGE bahan metabolisme *P. gingivalis* yang memiliki konsentrasi tinggi adalah dengan protein dengan berat molekul 161, 68, 49, 38, 21 kDa. Profil SDS-PAGE berat molekul bahan metabolisme ekstraselular *P. gingivalis* setelah dilakukan sentrifus kedua adalah pita dengan berat molekul 161, 80, 68, 52, 49, 38 kDa. Profil SDS-PAGE bahan metabolisme ekstraselular *P. gingivalis* setelah sentrifus kedua yang memiliki konsentrasi yang tinggi adalah 38 dan 68 kDa.

PRAKATA

Alhamdulillahirobbilalamin, puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan petunjuk, kemudahan, dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Profil SDS-PAGE Metabolit Ekstraselular *Porphyromonas gingivalis*”. Skripsi ini disusun guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Fakultas Kedokteran Gigi (S-1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi.

Penyusunan skripsi ini tak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Rektor Universitas Jember
2. drg. Hj. Herniyati, M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
3. drg. Desi Sandra Sari, M.D.Sc, selaku Dosen Pembimbing Utama, terima kasih atas segala motivasi serta telah merelakan waktu demi membimbing penyelesaian skripsi ini.
4. drg. Rendra Chriestedy selaku Dosen Pembimbing Anggota, terima kasih yang tak terhingga atas segala bantuan, ilmu, motivasi serta kesabaran dalam memberikan bimbingan selama ini.
5. Dr.drg. IDA Susilawati, M.Kes, terima kasih dok telah mengikutsertakan saya dalam penelitian ini, memberikan saya ide penelitian ini sehingga memberi saya kesempatan untuk melakukan hal yang terbaik dalam hidup saya, dan memberikan bantuan berupa bahan-bahan dalam penelitian ini.
6. drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes, selaku Dosen Wali, terima kasih atas bimbingan serta motivasi dari awal hingga akhir masa studi.
7. Staf laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yaitu Setyo Pinardi, Amd, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya Malang terimakasih atas bantuan dan kerja samanya selama ini.

8. Orangtuaku tercinta, ayahanda Sunaryo serta Ibunda Siti Maryam atas segala do'a, kasih sayang, perhatian serta pengorbanan yang tak terhingga selama ini.
9. Adikku tercinta Ahmad Rendika Dwi Putra atas segala semangat dan dukungan yang telah diberikan.
10. Teman-teman satu NIM 60 an, Endiki, Ane, Anggi, Ricky, Taufik, Nika, Prista, Nahdya, terimakasih buat kerjasamanya selama ini.
11. Teman-teman maen Ardi, Ariyan "dargombes", Tegar, Ninin, Iqe, Eqi, Nika, terimakasih buat persahabatannya selama ini, jaga terus persahabatan ini sampai nanti-nanti.
12. Temen-temen kost DEWA, mas khulud, mas yoga, mas abil, Sastro, rio, samid, dollah, rudi, dika terimakasih buat kekeluarganya selama ini,
13. Teman-teman seperjuang angkatan 2007 semuanya, perjuangan ini terasa manis dengan dukungan serta doa kalian.
14. Teman-teman angkatan'07 semua yang tidak bias saya sebut satu persatu, terimakasih banyak atas persahabatan yang takkan terlupakan ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini. Untuk itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan penulisan selanjutnya. Semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua. Amin.

Jember, Agustus 2011

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN BIMBINGAN.....	v
PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN.....	vii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.3 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	5
2.1.1 Klasifikasi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	5

2.1.2 Morfologi.....	6
2.1.3 Penyakit yang ditimbulkan	7
2.1.4 Patogenesisa	7
2.2 Metabolisme ekstraselular	8
2.3 Elektroforesis Protein	11
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	14
3.1 Jenis Penelitian	14
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	14
3.2.1 Tempat penelitian.....	14
3.2.2 Waktu penelitian	14
3.3 Sampel Penelitian	14
3.4 Variabel Penelitian	14
3.4.1 Variabel Bebas	14
3.4.2 Variabel Terikat	14
3.5 Definisi Operasional	15
3.5.1 Bahan metabolisme ekstraselular <i>P. gingivalis</i>	15
3.5.2 Metode SDS-PAGE	15
3.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	15
3.6.1 Bahan Penelitian	15
3.6.2 Alat Penelitian.....	16
3.7 Prosedur Penelitian	17

3.7.1 Metode kultur bakteri <i>P. gingivalis</i>	17
3.7.2 Preparasi bahan metabolisme ekstraselular <i>P. gingivalis</i>	17
3.7.3 Metode SDS-PAGE	17
3.7.4 Metode pewarnaan hasil SDS-PAGE dengan <i>silver stain</i>	19
3.7.5 Metode perhitungan berat molekul pada hasil SDS-PAGE	19
3.8 Analisis Data	20
3.9 Bagan Alur Penelitian.....	21
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Hasil Penelitian	24
4.2 Pembahasan.....	29
BAB 5. Penutup.....	37
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	37
DAFTAR BACAAN.....	38
DAFTAR LAMPIRAN	43

DAFTAR TABEL

- 4.1 Tabel berat molekul media dan berat bahan metabolisme ekstraselular *P. gingivalis*..... 27
- 4.2 Tabel berat molekul bahan metabolisme ekstraselular *P. gingivalis* sentrifus pertama dan bahan metabolisme ekstraselular sentrifus kedua.... 29

Halaman

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur sel <i>P. gingivalis</i>	5
2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	5
2.3 Katabolisme hemin	9
2.4 Metabolisme ekstraselular <i>P.gingivalis</i>	11
2.5 Alur elektroforesis.....	12
4.1 Hapusan bakteri <i>P. gingivalis</i> pembesaran (a) 1000x dan (b) 400x	24
4.2 Profil SDS-PAGE dari (1) protein marker, (2) protein media (BHI, hemin, vit.K), (3) bahan metabolisme <i>P.gingivalis</i> pada sentrifus pertama....	26
4.3 Profil SDS-PAGE dari (1) protein merker, (2) bahan metabolisme ekstraselular <i>P. gingivalis</i> pada sentrifus pertama dan (3) bahan metabolisme ekstraselular <i>P. gingivalis</i> pada sentrifus kedua	28
4.4 Profil protein <i>Porphyromonas gingivalis</i> dengan <i>Coomassie brilliant blue</i> ..	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan berat molekul.....	44
B. Foto Alat dan Bahan Penelitian.....	47