



**PROFIL SDS-PAGE *OUTER MEMBRANE PROTEIN*
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

**Muhamad Arif
NIM. 071610101069**

**BAGIAN PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2012**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk Agamaku

Orang Tuaku tercinta,

Almamater dan Indonesiaku

MOTTO

Allah menghendaki kemudahan bagimu, dan tidak menghendaki kesukaran bagimu.
Dan hendaklah kamu mencukupkan bilangannya dan hendaklah kamu mengagungkan
Allah atas petunjuk-Nya yang diberikan kepadamu, supaya kamu bersyukur.
(QS. Al Baqarah: 185)^{*)}

Believe in today because the fight isn't over yet
(Robert Cavestany)

I'm The special one
(Jose Mourinho)

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Quran dan Terjemahannya*. Semarang :
PT Kumudasmoro Grafindo

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhamad Arif

NIM : 071610101069

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul :

“PROFIL SDS-PAGE *OUTER MEMBRANE PROTEIN 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, 26 Januari 2012

Yang menyatakan,

Muhamad Arif

071610101069

SKRIPSI

PROFIL SDS-PAGE *OUTER MEMBRANE PROTEIN*

Porphyromonas gingivalis

Oleh :

MUHAMAD ARIF

NIM 071610101069

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Yuliana M.D. Arina, M.Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Desi Sandra Sari, M.DSc.

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “PROFIL SDS-PAGE *OUTER MEMBRANE PROTEIN Porphyromonas gingivalis*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Kamis, 26 Januari 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

drg. Yuliana M.D. Arina, M.Kes.

NIP 197506182000122001

Anggota I,

Sekretaris,

drg. Desi Sandra Sari, M.D.Sc.

NIP. 197512152003122005

Dr.drg. I.D.A Susilawati, M. Kes

NIP.196109031986022001

Mengesahkan

Dekan,

drg. Hj. Herniyati, M.Kes

NIP 195909061985032001

RINGKASAN

PROFIL SDS-PAGE OUTER MEMBRANE PROTEIN *Porphyromonas gingivalis*; Muhamad Arif, 071610101069: 2012: 56 halaman: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Porphyromonas gingivalis mendominasi daerah poket periodontal pada penderita *Aggressive periodontitis*. *P.gingivalis* merusak jaringan dengan interaksi langsung antara bakteri dan sel inang. Kemampuan bakteri untuk melekat pada sel inang diperantarai oleh molekul adhesi yang terdapat pada bakteri dan reseptor yang terdapat pada sel inang. Molekul adhesi bakteri bisa terletak di pili atau *outer membrane protein* (OMP). *P.gingivalis* memiliki OMP yang mampu secara langsung menembus jaringan inang. OMP memegang peranan penting dalam pertumbuhan koloni, pembentukan biofilm, dan perkembangan penyakit periodontal.

Sebagai dasar untuk mencegah terjadinya penyakit periodontal maka dilakukan pengamatan terlebih dahulu terhadap bakteri penyebab penyakit periodontal tersebut yaitu *P. gingivalis*, dalam penelitian ini yang akan diamati adalah OMP dari *P. gingivalis* ATCC 33277. Deteksi OMP *P. gingivalis* dapat digunakan sebagai indikator atau prediktor untuk perkembangan *Aggressive periodontitis*. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis profil OMP *P.gingivalis* ATCC 33277. Salah satu cara untuk mengetahui profil OMP adalah dengan metode *Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE).

Sebelum mengisolasi OMP dilakukan pemotongan pili dari bakteri *P.gingivalis*. Pili dipotong dengan omnimikser kecepatan penuh selama 60 detik dengan suhu 4⁰C, diulang sampai 3 kali. Hasilnya dilakukan sentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 12.000 rpm, didapatkan supernatant yang merupakan pili bakteri dan pelletnya kemudian dapat dilakukan isolasi OMP. Pellet diresuspensi dengan PBS kemudian ditambahkan *n-octyl β-D-glucopyranoside* (NOG) dan dilakukan homogenisasi dengan vortek, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 2 x 30 menit. Supernatant dan pellet dipisahkan yang mana supernatant merupakan OMP dengan 1 kali NOG. Dilakukan penambahan NOG lagi pada pellet dan disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 30 menit dan didapatkan supernatant kedua yang merupakan OMP dengan 2 kali NOG. Dari hasil isolasi OMP dengan 1 kali NOG dan OMP dengan 2 kali NOG keduanya sama-sama dipresipitasi untuk didapatkan konsentrasi yang cukup pekat sebelum di uji SDS-

PAGE. Hasil SDS-PAGE OMP dengan 1 kali NOG terpresipitasi dibandingkan dengan OMP dengan 2 kali NOG terpresipitasi. Sedangkan OMP dengan 2 kali NOG terpresipitasi dibandingkan dengan OMP dengan 2 kali NOG tanpa presipitasi.

Berdasarkan hasil SDS-PAGE dengan pewarnaan *Perak Nitrat* ($AgNO_3$), profil OMP dengan 1 kali NOG terpresipitasi didapatkan sepuluh pita protein yang teridentifikasi yaitu 143 kDa, 100 kDa, 70 kDa, 50 kDa, 40 kDa, 37 kDa, 35 kDa, 31,1 kDa, 21 kDa, dan 18 kDa sedangkan pada OMP dengan 2 kali NOG terpresipitasi didapatkan lima pita protein yang teridentifikasi yaitu 104 kDa, 53 kDa, 50 kDa, 48 kDa, dan 40 kDa. OMP dengan 2 kali NOG tanpa presipitasi didapatkan empat pita protein yang teridentifikasi yaitu 104 kDa, 53 kDa, 48 kDa dan 40 kDa sedangkan pada OMP ke 2 dengan presipitasi didapatkan lima pita protein yang teridentifikasi yaitu 104 kDa, 53 kDa, 50 kDa, 48 kDa, dan 40 kDa.

Profil OMP *P.gingivalis* berkisar antara 18 kDa sampai 143 kDa. Terdapat satu pita protein yaitu 40 kDa yang sama pada OMP *P.gingivalis* baik dengan satu kali pemberian NOG maupun dua kali pemberian NOG dan dengan presipitasi maupun tanpa presipitasi. Hal ini menunjukkan OMP *P.gingivalis* memiliki protein dengan berat molekul 40 kDa yang lebih banyak. Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui peranan yang lebih besar mengenai faktor virulensi terkait pita protein tertentu yang teridentifikasi terkait dengan perkembangan *Aggressive periodontitis*.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “PROFIL SDS-PAGE *OUTER MEMBRANE PROTEIN Porphyromonas gingivalis*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. drg. Yuliana M.D. Arina, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama, yang telah banyak meluangkan waktu, pikiran dan perhatian untuk memberikan arahan, masukan serta bimbingan sejak awal hingga selesainya penulisan skripsi ini,
2. drg. Desi Sandra Sari, M.D.Sc., selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah banyak membantu dalam teknis penelitian, meluangkan waktu, pikiran dan perhatian untuk memberikan arahan, masukan serta bimbingan sejak awal penelitian hingga selesainya penulisan skripsi ini,
3. Dr.drg. I.D.A Susilawati, M. Kes, Terima kasih telah mengikutsertakan saya dalam proyek penelitian ini, memberikan ide, saran, masukan dan memberikan bantuan baik dalam hal teknis laboratorium maupun bahan-bahan penelitian serta berkenan menjadi sekretaris dalam ujian skripsi sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini,
4. drg. Ekiyantini Widyowati, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang senantiasa meluangkan waktu untuk mendampingi dan membimbing penulis selama menjalani pendidikan,
5. Bapakku Ali Kuswoyo dan Ibuku Sri Rahayu, terima kasih telah mengajarku lebih dari sekedar berjalan tanpa tangan kalian. You're the great parent,

6. Deshinta Puspasari, terimakasih atas cinta dan segala manfaatnya,
7. Setyo Pinaridi, Amd., selaku pihak Laboratorium Mikrobiologi Fakultas kedokteran Gigi dan Seluruh staf Laboraturium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember serta Seluruh staf Laboraturium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang banyak membantu penulis pada saat melakukan penelitian,
8. Teman-teman Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,
9. Semua yang telah melihatku dengan sebelah mata. Terima kasih, kalianlah motivator yang membuatku berusaha untuk menjadi lebih baik,
10. Semua pihak yang terlibat langsung maupun tidak langsung, yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Semoga do'a, bimbingan, dan semangat yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Karya tulis ini tidaklah akan pernah sempurna, karena kesempurnaan hanyalah milik Allah SWT semata. Akhirnya, penulis mengharapkan karya ilmiah ini dapat bermanfaat bagi penulis, dan pembaca.

Jember, Januari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Aggressive Periodontitis</i>	4
2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	5
2.3 <i>Outer membrane protein (OMP)</i>	8
2.4 <i>n-octyl β-D-glucopyranoside (NOG)</i>	10
2.5 Presipitasi Protein	11

2.5 Elektroforesis.....	12
2.4.1 Elektroforesis Kertas	13
2.4.2 Elektroforesis Gel	13
2.7 Sodium Dodechyl Sulfat-Polyacrilamide Gel Electroforesis (SDS-PAGE)	14
BAB 3. METODE PENELITIAN	18
3.1 Jenis Penelitian	18
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.2.1 Tempat Penelitian	18
3.2.2 Waktu Penelitian	18
3.3 Sampel Penelitian	18
3.4 Variabel Penelitian	18
3.3.1 Variabel bebas.....	18
3.3.2 Variabel terikat.....	18
3.3.3 Variabel Terkendali	18
3.5 Definisi Operasional	19
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	19
3.6.1 Bahan	19
3.6.2 Alat.....	20
3.7 Prosedur Penelitian	21
3.7.1 Kultur bakteri <i>P. gingivalis</i>	21
3.7.2 Isolasi OMP bakteri <i>P. gingivalis</i>	21
3.7.3 Proses SDS PAGE	22
3.7.4 Proses pewarnaan hasil SDS-PAGE dengan <i>Silver Nitrat</i>	24
3.7.5 Perhitungan berat molekul hasil SDS-PAGE	24
3.8 Analisis Data	25
3.9 Alur Penelitian	26

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Hasil	28
4.1.1 Hasil Kultur Bakteri <i>P. gingivalis</i>	28
4.1.2 Profil SDS-PAGE OMP dengan 1 kali NOG	
terpresipitasi dan OMP dengan 2 kali NOG terpresipitasi	30
4.1.3 Profil SDS-PAGE OMP dengan 2 kali NOG Tanpa	
Presipitasi Dan OMP dengan 2 kali NOG terpresipitasi	32
4.2 Pembahasan	34
BAB 5. PENUTUP	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Berat molekul OMP dengan 1 kali NOG terpresipitasi dan OMP dengan 2 kali NOG terpresipitasi..... ..	32
4.2 Berat molekul OMP dengan 2 kali NOG terpresipitasi dan OMP dengan 2 kali NOG tanpa presipitasi	34

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	7
2.1 Struktur sel <i>P. Gingivalis</i>	9
2.3 Struktur kimia <i>n-octyl β-D-gluco</i> pyranoside (NOG)	11
2.4 Alur <i>Sodium Dodecyl Sulphate - Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)</i>	17
3.1 Skema pembuatan sampel	26
3.2 Skema prose SDS-PAGE	27
4.1 Hapusan preparat <i>P.gingivalis</i>	28
4.2 Profil SDS-PAGE OMP dengan 1 kali NOG terpresipitasi dan OMP dengan 2 kali NOG terpresipitasi.....	31
4.3 Profil SDS-PAGE OMP dengan 2 kali NOG terpresipitasi dan OMP dengan 2 kali NOG tanpa presipitasi.....	33

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan berat molekul OMP	49
B. Alat dan bahan penelitian	51
C. Skema dan bahan pewarnaan <i>Silver Nitrat</i> (AgNO_3)	56



PROFIL SDS-PAGE *OUTER MEMBRANE PROTEIN*
Porphyromonas gingivalis
(Penelitian Observasional Analitik *in vitro*)

SKRIPSI

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

Oleh

Muhamad Arif
NIM 071610101069

BAGIAN PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2012