

BAB 5 HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini dilakukan penghitungan konsentrasi protein total sampel dan analisis profil protein dengan menggunakan metode *Bradford protein assay* dan SDS-PAGE. Sel yang diteliti terdiri dari 3 macam yaitu sel galur karsinoma skuamosa rongga mulut (KSSRM) HSC-3 dan HSC-4 serta jaringan mukosa normal.

Untuk melihat profil dari setiap sel yang diteliti, prosedur SDS-PAGE dijalankan pada tegangan 100 V selama 30 menit kemudian dilanjutkan dengan tegangan dan waktu lebih tinggi sebesar 200 V selama kurang lebih 60 menit. Setelah dilakukan pewarnaan, hasilnya *discan* dan diamati melalui program komputer *Gel-doc 2000* dengan tampilan 8 buah lajur yang terdiri dari satu lajur *protein marker* (*merk invitrogen SeeBluePlus2* sebagai protein standar) dan 7 lajur lainnya merupakan profil protein dari 3 jenis sampel yang diteliti. Protein standar yang digunakan memiliki spesifikasi berat molekul 3 KDa-188 KDa yang terbagi menjadi 10 *bands*. Namun, dalam penelitian ini hanya protein yang memiliki berat molekul 14 KDa-188 KDa saja yang diteliti agar lebih fokus terhadap protein-protein spesifik yang diamati.

Berdasarkan visualisasi dan penentuan berat molekul dari protein sel galur HSC-3, HSC-4, dan mukosa normal, dapat diidentifikasi keberadaan dan tingkat ekspresi protein-protein yang terdapat pada ketiga jenis sampel tersebut. Selanjutnya, visualisasi profil protein melalui hasil *scan* dan program *Gel-doc 2000* dapat dilihat pada gambar 5.1 sampai gambar 5.10.

Dari hasil pembacaan *Gel-doc* ditemukan banyak sekali protein (rata-rata lebih dari 20 jenis berbeda) pada setiap lajur yang ditandai dengan keberadaan *band*. Namun, hanya sekitar setengahnya saja yang benar-benar dapat terlihat dengan kasat mata. Oleh karena itu, dalam penelitian ini data-data hasil penelitian hanya menggunakan 10 protein yang memiliki Odu tertinggi dari masing-masing lajur. Odu atau uOD merupakan singkatan dari *uncalibrated optical density*. Unit untuk menilai derajat densitas *band*. Semakin tinggi uOD akan menggambarkan *opacity* yang makin meningkat.

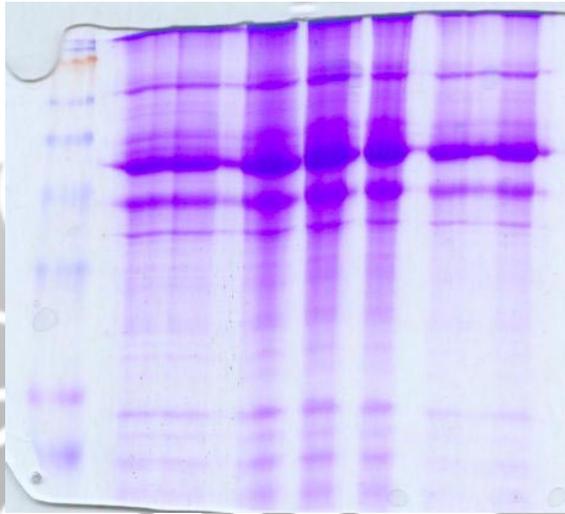
5.1 Profil Protein Sel Galur HSC-3

5.1.1 Hasil *scan* Gel SDS-PAGE 5 sampel HSC-3

Sampel HSC-3 dengan jumlah sampel sebanyak 5 buah setelah dilakukan prosedur SDS-PAGE memberikan hasil sebagai berikut :

Lajur 1 = *Protein Standard (Invitrogen SeeBlue Plus2)*

Lajur 2-8 = HSC-3*

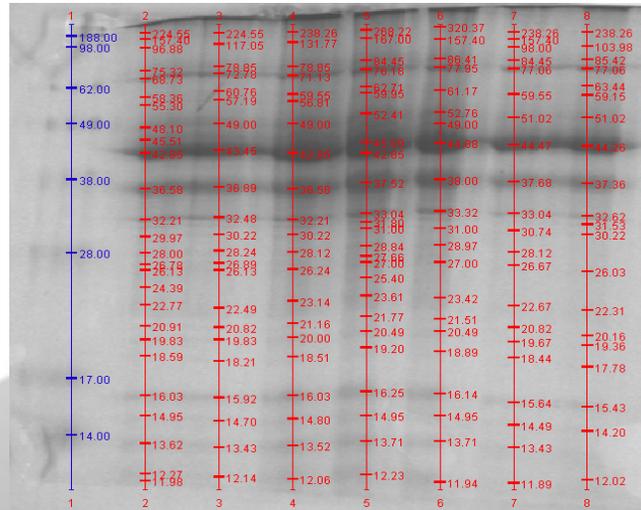


Gambar 5.1. Gambaran hasil foto *scan* profil protein 5 sampel HSC-3.

*Keterangan : Lajur 2 dan 3 serta Lajur 7 dan 8 merupakan 1 sampel protein yang terbagi menjadi dua saat proses memasukkan sampel protein ke stacking gel, sehingga masing-masing konsentrasi pada lajur tersebut menjadi setengah dari yang seharusnya

Dari gambar 5.1., jumlah sampel yang digunakan sebanyak 5 buah namun menghasilkan 7 lajur. Dari 7 lajur tersebut, pada lajur 2 & 3 dan lajur 7 & 8 gambarannya tidak sejelas hasil pada lajur 4, 5, dan 6. Hal ini dikarenakan pada lajur 2 & 3 dan lajur 7 & 8 adalah berasal dari satu sampel yang sama.

5.1.2 Pengukuran berat molekul dari tiap *band* protein HSC-3 (*Gel Doc 2000*, *BioRad Quantity One*)



Gambar 5.2. Hasil pengukuran *band* dan berat molekul protein pada HSC-3 dengan metode *Gel-doc*.

Berdasarkan gambar 5.2. dapat diamati bahwa rata-rata terdapat 10 *band* dengan nilai Odu tertinggi pada setiap sampel HSC-3. Penetapan 10 *band* tertinggi tersebut juga berdasarkan tampilan *band* yang terlihat jelas secara kasat mata. Ringkasan dari 10 protein tersebut dikelompokkan pada tabel dibawah :

Tabel 5.1. Daftar konsentrasi protein total, jumlah *band*, berat molekul, dan 10 protein dengan Odu besar dari tiap *band* protein HSC-3.

Sampel	HSC3						
	1		2	3	4	5	
Konsentrasi protein total ($\mu\text{g/ml}$)	81966.197		61687.3	43506.3	10290.8	11339.745	
Jumlah <i>Band</i>	26	22	21	25	21	19	19
Berat Molekul Terbesar (KDa)	157.396	117.055	131.775	167	157.396	157.396	103.979
10 protein dengan Odu terbesar (dapat terlihat dengan kasat mata)	42.853	43.451	42.853	45.088	44.88	44.467	44.262
	45.507	72.775	36.577	42.853	49	77.062	77.062
	36.577	36.888	49	37.52	38	37.679	51.017
	48.102	49	71.128	76.185	52.761	51.017	37.361
	68.727	60.762	32.207	52.408	77.949	59.549	59.15

	32.207	57.194	56.811	33.037	61.172	84.451	85.423
	157.396	78.846	78.846	59.95	86.407	157.396	63.436
	55.304	117.055	59.549	84.451	33.318	98	32.619
	75.318	32.481	131.775	62.714	157.396	33.037	103.979
	58.36	30.221	30.221	167	16.138	30.738	31.531

Berdasarkan gambar 5.2. juga dapat dinilai tingkat ketebalan profil protein HSC-3 dengan mengelompokkan beberapa protein yang memiliki berat molekul yang hampir sama pada tiap sampel. Dengan melakukan skoring untuk setiap ketebalan profil protein, hasilnya seperti dibawah ini.

Tabel 5.2. Tingkat ketebalan profil protein HSC-3 dengan penglihatan langsung.

Berat molekul Protein Standar (KDa)	Berat molekul sampel (KDa)	HSC-3						
		1	2	3	4	5		
98-188	117-167	-	-	+	+	+	-	-
62-98	78-86	-	+	+	+	+	+	-
	68-78	++	++	++	++	++	++	++
	56-62	+	+	++	++	++	+	+
	48-53	++	++	++	++	++	++	++
38-49	42-45	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
28-38	36-38	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	32-34	++	++	++	++	++	++	++
17-28	22-24	+	-	+	+	+	-	-
	15-17	+	-	+	+	+	+	+
14-17	14-15	+	-	+	+	+	-	-

Keterangan tingkat ketebalan profil protein = - : tidak terlihat; + : tipis; ++ : sedang; +++ : tebal; ++++ : sangat tebal

Band dengan Odu tinggi rata-rata berada pada berat molekul antara 32 — 78 KDa. Berdasarkan hasil penilaian dengan Gel-doc ditambah pengamatan manual dengan kasat mata, diperoleh profil protein: sangat tebal pada berat molekul 42-45 KDa, tebal pada 36-38 KDa, sedang pada 48-53, 68-78, 32-34 KDa, dan tipis pada 56-62, 78-86, 15-17 , 14-17, 22-24, dan 117-167 KDa.

5.2 Profil Protein HSC-4 dan Sampel Gingiva No: 21, 25, 27

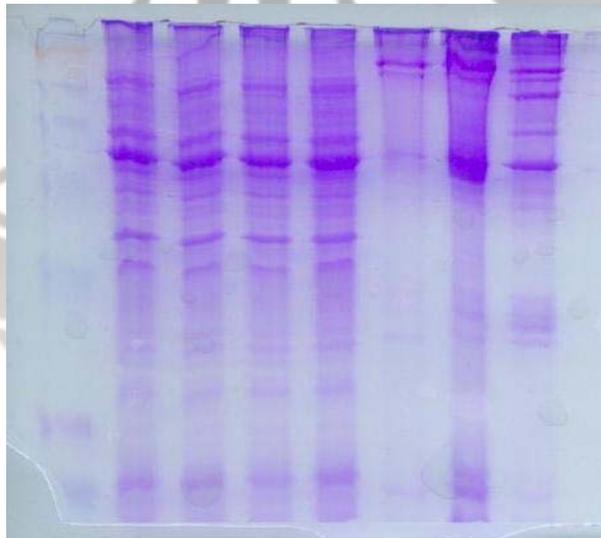
5.2.1 Hasil *scan* Gel SDS-PAGE Sampel HSC-4 (4 buah) dan Sampel Gingiva Normal (3 buah)

Pada pembuatan gel SDS-PAGE dibawah ini sampel HSC-4 digabungkan dengan 3 sampel gingiva untuk efisiensi alat, bahan, dan waktu. Sampel yang digunakan sebanyak 7 buah terdiri dari 4 buah sampel HSC-4 dan 3 buah sampel gingiva no. 21, 25, 27. Hasil SDS-PAGE adalah sebagai berikut :

Lajur 1 = *Protein Standard (Invitrogen SeeBlue Plus2)*

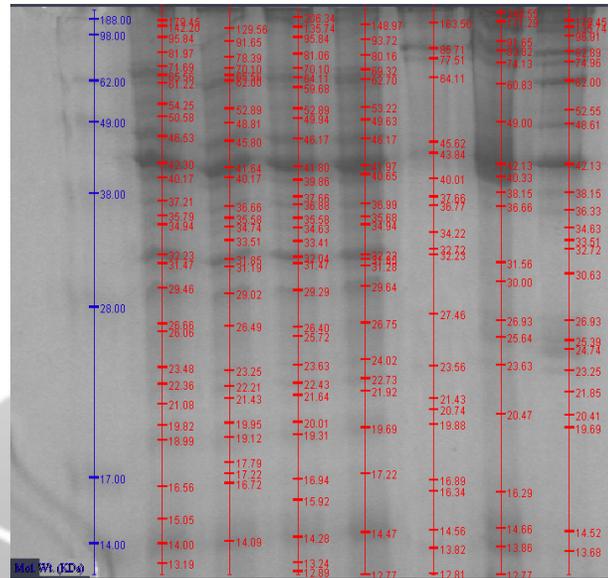
Lajur 2-5 = HSC-4

Lajur 6-8 = sampel gingiva no 21, 25 dan 27



Gambar 5.3. Gambaran hasil foto *scan* profil protein sampel HSC-4 (4 buah) dan sampel gingiva normal (3 buah) nomor 21, 25, dan 27.

5.2.2 Pengukuran Berat Molekul dari Setiap *Band* Protein HSC-3 (*Gel Doc 2000*, *BioRad Quantity One*)



Gambar 5.4. Hasil pengukuran *band* dan berat molekul protein pada HSC-4 dan sampel gingiva normal nomor 21, 25, dan 27 dengan metode *Gel-doc*.

Berdasarkan gambar 5.4., diambil 10 *band* dengan nilai Odu tertinggi pada setiap sampel HSC-4 dan 3 sampel gingiva normal nomor 21, 25, dan 27. Penetapan 10 *band* tertinggi tersebut juga berdasarkan tampilan *band* yang terlihat jelas secara kasat mata. Ringkasan dari 10 *band* tersebut dikelompokkan pada tabel dibawah.

Tabel 5.3 Daftar konsentrasi protein total, jumlah *band*, berat molekul, dan 10 protein dengan Odu besar dari tiap *band* protein HSC-4 dan 3 sampel gingiva normal nomor 21, 25, dan 27.

Sampel	HSC4				Gingiva		
	1	2	3	4	21	25	27
Konsentrasi protein total ($\mu\text{g/ml}$)	29171.2	64134.8	59939.1	62037	40360	50849	61338
Jumlah <i>Band</i>	29	28	32	25	22	21	24
Berat Molekul Terbesar	179.452	129.563	135.735	148.974	163.504	171.293	179.452
	42.302	41.635	41.801	41.968	85.71	171.293	179.452
	46.534	45.8	46.166	40.655	163.504	42.135	82.886

10 protein dengan Odu terbesar (dapat terlihat dengan kasat mata)	42.302	41.635	41.801	41.968	85.71	171.293	179.452
	46.534	45.8	46.166	40.655	163.504	42.135	82.886
	65.56	40.173	64.112	46.166	77.515	83.817	42.135
	40.173	62	32.038	62.696	43.842	40.333	135.735
	32.231	31.847	39.855	32.231	45.619	91.649	62
	61.216	65.56	135.735	148.974	64.112	74.129	74.961
	54.249	129.563	59.679	53.223	40.014	49	96.912
	179.452	52.886	70.103	69.325	13.817	60.828	48.612
	71.686	70.103	52.886	49.627	37.66	13.862	52.551
	95.836	48.806	36.879	36.99	36.769	38.151	38.151

Berdasarkan gambar 5.4. juga dapat dinilai tingkat ketebalan profil protein HSC-4 dan 3 sampel gingiva normal nomor 21, 25, dan 27 dengan mengelompokkan beberapa protein yang memiliki berat molekul yang hampir sama pada tiap sampel. Dengan melakukan skoring untuk setiap ketebalan profil protein, hasilnya seperti dibawah ini :

Tabel 5.4. Tingkat ketebalan profil protein HSC-4 dan 3 sampel gingiva normal nomor 21, 25, dan 27 dengan penglihatan langsung.

Berat molekul Protein Standar (KDa)	Berat molekul sampel (KDa)	HSC-4				Gingiva		
		1	2	3	4	21	25	27
98-188	129-180	+	+	+	+	+	++	++
62-98	82-86	-	-	-	-	+++	+++	+++
	74-78	-	+	-	-	++	++	++
	69-72	++	+	+	++	-	-	-
	62-66	+++	+++	+++	+++	+	++	+++
49-62	52-55	+	+	++	++	-	-	+
	48-51	++	++	++	++	-	++	++
38-49	45-47	+++	+++	+++	+++	-	-	-

	41-43	++++	++++	++++	++++	++	++++	++++
	39-41	+	+	+	+	-	+	-
28-38	36-38	++	++	++	++	-	+	+
	31-33	++	++	++	++	-	-	-
17-28	25-27	+	+	+	+	+	+	-
	15-17	+	+	+	+	-	+	-
14-17	14-15	+	+	+	+	-	+	-

Keterangan tingkat ketebalan profil protein = - : tidak terlihat; + : tipis; ++ : sedang; +++ : tebal; ++++ : sangat tebal

Persebaran *band* dengan Odu tinggi pada HSC-4 rata-rata berada pada berat molekul antara 31 — 72 KDa sedangkan persebaran pada gingiva berfluktuasi. Berdasarkan hasil penilaian dengan *Gel-doc* ditambah pengamatan manual dengan kasat mata, diperoleh profil protein HSC-4: sangat tebal pada berat molekul 41-43KDa, tebal pada 45-47 KDa dan 62-66, sedang pada 31-33,36-38, 48-51, 52-55, dan 69-72 KDa, dan tipis pada 14-15, 15-17, 25-27, dan 39-41 KDa.

Sementara hasil profil pada gingiva memperlihatkan: sangat tebal pada berat molekul 41-43KDa, tebal pada 82-86 KDa, sedang pada 48-51, 62-66, 74-78, dan 129-180 KDa, dan tipis pada 25-27, dan 36-38 KDa.

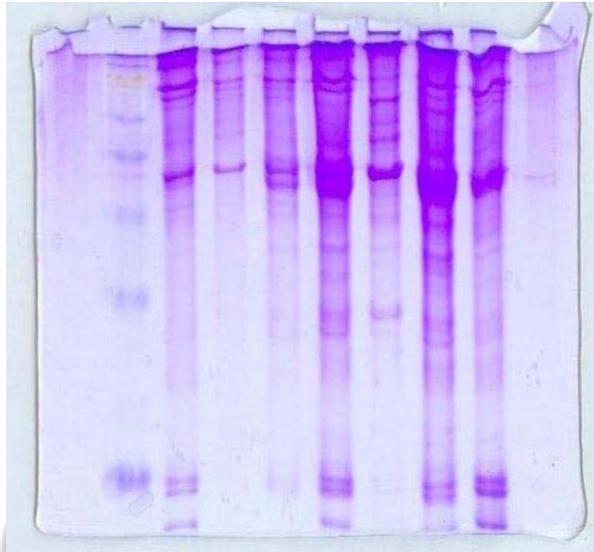
5.3 Profil Protein Sampel Gingiva Normal Nomor : 2, 3, 4, 5, 8, 9, dan 10

5.3.1 Hasil *scan* Gel SDS-PAGE 7 buah Sampel Gingiva Normal No: 2, 3, 4, 5, 8, 9, dan 10

Sampel gingiva No: 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10 dengan jumlah sampel sebanyak 7 buah setelah dilakukan prosedur SDS-PAGE memberikan hasil sebagai berikut :

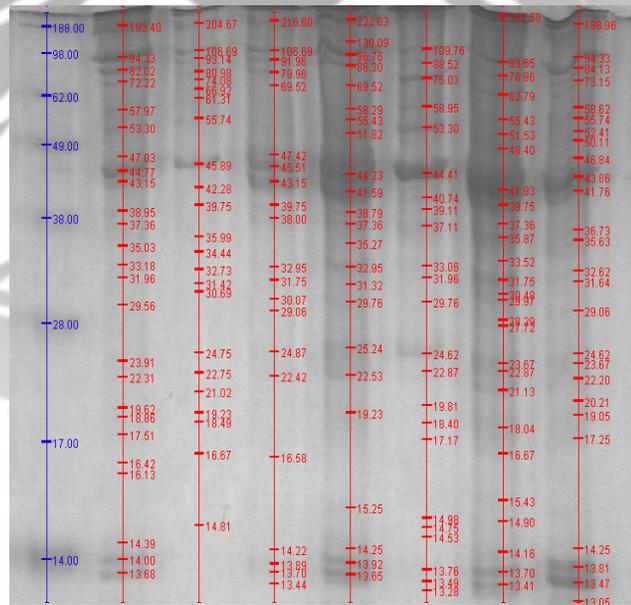
Lajur 1 = *Protein Standard (Invitrogen SeeBlue Plus2)*

Lajur 2-8 = sampel gingiva no 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10



Gambar 5.5 Gambaran hasil foto *scan* profil protein sampel gingiva normal no. 2, 3, 4,5 ,8,9, dan 10.

5.3.2 Pengukuran Berat Molekul dari Setiap *Band* Protein Sampel Gingiva no: 2, 3, 4, 5, 8, 9, dan 10 (*Gel Doc 2000, BioRad Quantity One*)



Gambar 5.6 Hasil pengukuran *band* dan berat molekul protein pada sampel gingiva normal no. : 2, 3, 4,5 ,8,9, 10 dengan metode *Gel-doc*.

Berdasarkan gambar 5.6, diambil 10 *band* dengan nilai Odu tertinggi pada setiap sampel gingiva normal no: 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10. Penetapan 10 *band* tertinggi tersebut juga berdasarkan tampilan *band* yang terlihat jelas secara kasat mata. Ringkasan dari 10 *band* tersebut dikelompokkan pada tabel dibawah.

Tabel 5.5 Daftar konsentrasi protein total, jumlah *band*, berat molekul, dan 10 protein dengan Odu besar dari tiap *band* protein sampel gingiva normal no. : 2, 3, 4,5 ,8,9, dan 10.

Sampel	Gingiva						
	2	3	4	5	8	9	10
Konsentrasi protein total ($\mu\text{g/ml}$)	44905	34765	34416	51548	22178	76022	23927
Jumlah <i>Band</i>	25	23	21	23	23	27	26
Berat Molekul Terbesar (KDa)	94.331	106.69	106.69	130.09	109.76	89.653	94.331
10 protein dengan Odu terbesar (dapat terlihat dengan kasat mata)	94.331	106.692	106.692	96.762	44.407	41.93	94.331
	82.017	93.139	45.514	44.226	75.031	89.653	43.865
	44.773	45.888	91.962	41.587	109.757	39.753	84.129
	72.222	80.98	43.151	130.089	53.296	62.794	41.758
	57.969	74.083	47.419	86.297	88.52	76.964	73.146
	53.296	66.916	79.957	51.824	58.951	48.401	58.622
	43.151	61.309	69.518	55.428	40.743	51.534	46.839
	47.031	55.739	39.753	58.294	37.108	55.428	52.408
	38.947	42.275	38	69.518	39.107	35.87	55.739
	14	39.753	32.953	38.787	24.625	37.361	13.467

Berdasarkan gambar 5.6. juga dapat dinilai tingkat ketebalan profil protein sampel gingiva normal No: 2, 3, 4, 5, 8, 9, dan 10 dengan mengelompokkan beberapa protein yang memiliki berat molekul yang hampir sama pada tiap sampel. Dengan melakukan skoring untuk setiap ketebalan profil protein, hasilnya seperti dibawah ini.

Tabel 5.6 Tingkat ketebalan profil protein sampel gingiva normal no. : 2, 3, 4,5 ,8,9, dan 10 dengan penglihatan langsung.

Berat molekul Protein Standar (KDa)	Berat molekul sampel (KDa)	Gingiva						
		2	3	4	5	8	9	10
98-188	94-110	+++	+++	+++	++++	++	+++	++++
62-98	82-89	+++	+	+	+++	++	+	++
	72-80	++	+	++	+	+++	++	++
	62-70	-	+	+	+	-	+	-
49-62	55-58	++	+	-	+	++	+	++
	51-55	++	-	+	+	++	++	++
38-49	43-46	++++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
	39-43	-	-	+	++	+	++	++
28-38	35-39	+	-	+	++	+	++	+
	31-33	+	-	+	++	+	++	+
17-28	23-26	+	-	-	+	+	++	+
	16-18	+	-	-	-	+	+	+
14-17	14-15	++	-	+	+	+	+	+

Keterangan tingkat ketebalan profil protein = - : tidak terlihat; + : tipis; ++ : sedang; +++ : tebal; ++++ : sangat tebal

Persebaran *band* dan tingkat ketebalan profil protein berfluktuasi dari berat molekul terberat ke molekul teringan. Berdasarkan hasil penilaian dengan *Gel-doc* ditambah pengamatan manual dengan kasat mata, diperoleh hasil profil pada gingiva: sangat tebal pada berat molekul 43-46 KDa, tebal pada 94-110 KDa, sedang pada 72-80, 82-89 KDa, dan tipis pada 14-15, 16-18, 23-26, 31-33, 35-39, 39-43, 51-55, 55-58, dan 62-70 KDa.

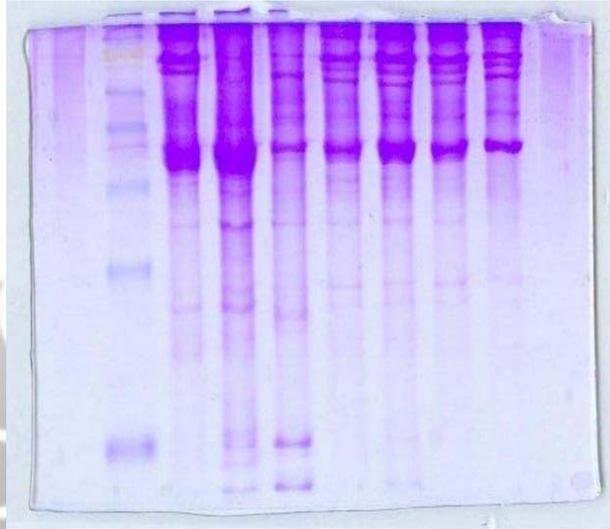
5.4 Profil Protein Sampel Gingiva Normal No.: 11, 12, 16, 17, 18, 19, dan 20

5.4.1 Hasil *Scan* Gel SDS-PAGE 7 Sampel Gingiva Normal No.: 11, 12, 16, 17, 18, 19, dan 20

Sampel Gingiva No: 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10 dengan jumlah sampel sebanyak 7 buah setelah dilakukan prosedur SDS-PAGE memberikan hasil sebagai berikut :

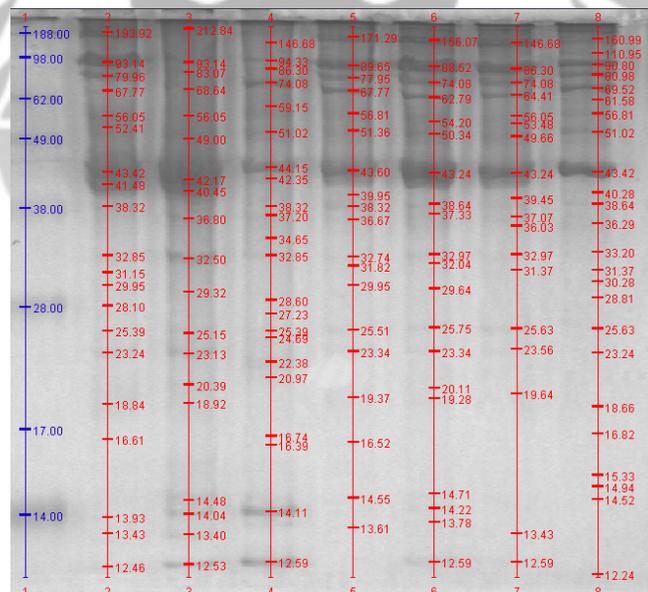
Lajur 1 = *Protein Standard (Invitrogen SeeBlue Plus2)*

Lajur 2-8 = sampel gingiva no 11, 12, 16, 17, 18, 19, 20.



Gambar 5.7 Gambaran hasil foto *scan* profil protein gingiva normal sampel 11, 12, 16, 17, 18, 19, dan 20.

5.4.2 Pengukuran Berat Molekul dari Setiap *Band* Protein Sampel Gingiva no: 11, 12, 16, 17, 18, 19, dan 20 (*Gel Doc 2000, BioRad Quantity One*)



Gambar 5.8 Hasil pengukuran *band* dan berat molekul protein pada sampel gingiva normal no: 11, 12, 16, 17, 18, 19, dan 20 dengan metode *Gel-doc*.

Berdasarkan gambar 5.8 dapat diamati bahwa rata-rata terdapat 10 *band* dengan nilai Odu tertinggi pada setiap sampel sampel gingiva normal No: 11, 12, 16, 17, 18, 19, dan 20. Penetapan 10 *band* tertinggi tersebut juga berdasarkan tampilan *band* yang terlihat jelas secara kasat mata. Ringkasan dari 10 protein tersebut dikelompokkan pada tabel dibawah.

Tabel 5.7 Daftar konsentrasi protein total, jumlah *band*, berat molekul, dan 10 protein dengan Odu besar dari tiap *band* protein sampel gingiva normal no: 11, 12, 16, 17, 18, 19, dan 20.

Sampel	Gingiva						
	11	12	16	17	18	19	20
Konsentrasi protein total ($\mu\text{g/ml}$)	24626	34416	29521	59240	59240	53995	19381
Jumlah <i>Band</i>	20	19	22	19	20	18	24
Berat Molekul Terbesar (KDa)	93.139	93.139	146.68	171.29	156.07	146.68	160.99
10 protein dengan Odu terbesar (dapat terlihat dengan kasat mata)	93.139	42.173	74.083	89.653	156.07	146.681	90.8
	43.422	40.451	94.331	171.293	88.52	86.297	160.988
	79.957	93.139	44.151	43.603	43.241	43.241	80.98
	41.476	49	146.681	67.773	62.794	74.083	69.518
	56.052	83.066	59.15	77.949	74.083	64.411	43.422
	52.408	68.64	86.297	56.811	50.336	49.663	110.948
	67.773	56.052	51.017	51.361	54.199	56.052	51.017
	38.318	36.805	42.349	39.949	38.639	53.475	56.811
	32.851	32.503	14.109	38.318	37.331	39.452	61.585
	23.235	23.127	12.59	36.674	32.968	37.067	38.639

Berdasarkan gambar 5.8. juga dapat dinilai tingkat ketebalan profil protein sampel gingiva normal no: 11, 12, 16, 17, 18, 19, dan 20 dengan mengelompokkan beberapa protein yang memiliki berat molekul yang hampir sama pada tiap sampel. Dengan melakukan skoring untuk setiap ketebalan profil protein, hasilnya seperti dibawah ini.

Tabel 5.8. Tingkat ketebalan profil protein sampel gingiva normal no: 11, 12, 16, 17, 18, 19, dan 20 dengan penglihatan langsung.

Berat molekul Protein Standar (KDa)	Berat molekul sampel (KDa)	Gingiva						
		11	12	16	17	18	19	20
98-188	146-172	-	-	+	++	++++	++++	++
62-98	86-95	++++	++	++	++++	++++	+++	+++
	74-81	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
	62-70	+	++	++	+++	+++	+++	+++
49-62	54-58	++	++	++	++	++	++	++
	49-54	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++
38-49	42-45	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	39-42	+++	+++	+	+	+	+	+
28-38	35-39	+	+	+	+	+	+	+
	32-33	+	++	+	+	+	+	+
17-28	23-26	+	+	+	+	+	+	+
	16-18	+	-	+	+	-	-	-
14-17	14-15	-	+	++	-	+	-	-

Keterangan tingkat ketebalan profil protein = - : tidak terlihat; + : tipis; ++ : sedang; +++ : tebal; + + + + : sangat tebal

Dari tabel diatas diterangkan data tingkat ketebalan protein gingiva normal, dari semua lajur tersebut didapatkan sebaran *band* yang hampir sama dengan tingkat ketebalan warna *band* yang hampir sama pula pada setiap lajur (berbeda dengan sampel pada gel 3 yang memiliki ketebalan lebih bervariasi).

Persebaran *band* dengan Odu tinggi pada gingiva normal rata-rata berada pada berat molekul antara 39 — 172 KDa. Berdasarkan hasil penilaian dengan Gel-doc ditambah pengamatan manual dengan kasat mata, diperoleh hasil profil pada gingiva: sangat tebal pada berat molekul 42-45 KDa, tebal pada 86-95, 74-81, 62-70, dan 49-54 KDa, sedang pada 146-172, 54-58, dan 39-42 KDa, dan tipis pada 35-39, 32-33, 23-26, 16-18, dan 14-15 KDa.

Kesimpulan:

Berdasarkan data hasil penelitian profil protein ketiga jenis sampel, profil protein yang diekspresikan oleh HSC-3 dan HSC-4 memiliki banyak kemiripan. Profil protein yang diekspresikan cukup tinggi pada sel galur HSC-3 memiliki memiliki berat molekul antara interval 32—78 KDa. Dengan rincian interval sebagai berikut : sangat tebal pada berat molekul 42-45 KDa, tebal pada 36-38 KDa, sedang pada 32-34, 48-53, dan 68-78, KDa, dan tipis pada 14-17, 22-24, 56-62, 78-86, dan 117-167 KDa.

Sementara itu, profil protein yang diekspresikan cukup tinggi pada sel galur HSC-4 memiliki memiliki berat molekul antara interval 31—72 KDa. Dengan rincian interval sebagai berikut : sangat tebal pada berat molekul 41-43 KDa, tebal pada 45-47, 62-66 KDa, sedang pada 31-33, 36-38, 48-51, 52-55, dan 69-72 KDa, dan tipis pada 14-17, 25-27, dan 39-41 KDa.

Sedangkan, hasil profil protein antar sampel pada jaringan mukosa mulut normal memiliki pola yang hampir sama. Profil protein yang terekspresi tinggi pada sampel ini yaitu protein yang memiliki berat molekul antara interval 39 — 172 KDa. Dengan rincian interval sebagai berikut: sangat tebal pada berat molekul 41-46 KDa, tebal pada 49-54, 62-70, dan 74-110 KDa, sedang pada 129-180, 72-74, 54-58, dan 39-42 KDa, dan tipis pada 35-39, 31-33, 23-27, 16-18, dan 14-15 KDa.

BAB 6 PEMBAHASAN

Protein merupakan makromolekul yang terdiri dari satu atau beberapa polipeptida. Setiap polipeptida terdiri dari rangkaian asam amino yang saling berikatan. Setiap protein memiliki fungsi khas yang dibutuhkan sebagai struktur, fungsi dan regulasi dari sel, jaringan dan organ tubuh.⁽¹⁾

Molekul yang berperan dalam proses karsinogenesis KSSRM meliputi molekul yang merupakan onkogen, proto-onkogen dan *tumor suppressor gene* (TSG) (Mao *et al* 1996a). Pada keadaan tersebut komposisi protein akan berbeda pada sel normal dan sel kanker.

Pada penelitian ini ingin dilihat profil protein pada sel galur KSSRM dan jaringan mukosa mulut normal. Dengan metode SDS-PAGE kedua jenis sel tersebut disepari berdasarkan berat molekul protein yang dikandungnya kemudian diamati dengan metode *Gel-doc*.

Hasil pengamatan profil protein yang telah melalui prosedur SDS-PAGE dan metode *Gel Doc* memberikan hasil gambaran yang berbeda antara sel galur KSSRM dengan jaringan mukosa mulut normal. Sel galur KSSRM yang digunakan adalah jenis HSC-3 dan HSC-4.

Berdasarkan data hasil penelitian profil protein ketiga jenis sampel pada bab 5, profil protein yang diekspresikan oleh HSC-3 dan HSC-4 memiliki banyak kemiripan. Profil protein yang diekspresikan cukup tinggi pada sel galur HSC-3 memiliki memiliki berat molekul antara interval 32-78 KDa. Dengan rincian interval sebagai berikut : sangat tebal pada berat molekul 42-45 KDa, tebal pada 36-38 KDa, sedang pada 32-34, 48-53, dan 68-78, KDa, dan tipis pada 14-17, 22-24, 56-62, 78-86, dan 117-167 KDa. Sementara itu, profil protein yang diekspresikan cukup tinggi pada sel galur HSC-4 memiliki memiliki berat molekul antara interval 31-72 KDa. Dengan rincian interval sebagai berikut : sangat tebal pada berat molekul 41-43 KDa, tebal pada 45-47, 62-66 KDa, sedang pada 31-33, 36-38, 48-51, 52-55, dan 69-72 KDa, dan tipis pada 14-17, 25-27, dan 39-41KDa. Sedangkan, hasil profil protein antar sampel pada jaringan mukosa

mulut normal memiliki pola yang hampir sama. Profil protein yang terekspresi tinggi pada jenis ini yaitu protein yang memiliki berat molekul dengan interval 39-172 KDa. Dengan rincian interval sebagai berikut: sangat tebal pada berat molekul 41-46 KDa, tebal pada 49-54, 62-70, dan 74-110 KDa, sedang pada 129-180, 72-74, 54-58, dan 39-42 KDa, dan tipis pada 35-39, 31-33, 23-27, 16-18, dan 14-15 KDa.

Berdasarkan perbandingan hasil profil protein KSSRM dengan mukosa mulut normal pada penelitian ini, dapat diketahui bahwa sel KSSRM memiliki interval berat molekul profil protein yang lebih pendek (31-78 KDa) dibandingkan mukosa mulut normal (39-172 KDa). Protein dengan berat molekul tinggi lebih terlihat pada mukosa mulut normal dengan rentang sampai 172 KDa. Sel KSSRM banyak (tebal) mengekspresikan berat molekul pada interval 36–38 KDa sedangkan pada mukosa mulut normal sedikit mengekspresikan berat molekul pada sekitar interval tersebut (35-39 KDa).

KSSRM mengekspresikan berat molekul interval 117-167 KDa secara tipis. Di dalam interval ini terdapat berat molekul *human telomerase reverse transcriptase* (hTERT) sebesar 127 KDa.⁽³⁷⁾ hTERT adalah subunit protein katalitik yang berperan penting pada aktifitas enzimatik dari telomerase. Menurut penelitian hTERT akan mencegah pemendekan telomer sehingga sel menjadi immortal yang menyebabkan sel membelah secara tidak terbatas yang pada akhirnya menyebabkan kanker.^(28, 35)

Gingiva terdiri dari jaringan epitel skuamosa berlapis. Tipe sel yang paling penting pada epitel gingiva yaitu keratinosit. Keratin merupakan protein sitoskeletal yang dibentuk *filament intermediate* dari sel-sel epitel termasuk yang ada dalam rongga mulut.⁽⁴⁻⁶⁾ Saat ini pada manusia setidaknya terdapat 54 jenis gen keratin fungsional yang berbeda.⁽⁶⁾

Protein keratin tersusun dari subunit-subunit polipeptida berbeda yang dapat dikenali dengan nilai isoelektrik dan berat molekul mereka. Polipeptida keratin K1 (68 KDa) merupakan komponen yang paling utama pada lapisan korneum.

Ada juga protein lain yang bukan termasuk keratin yang disintesis selama proses maturasi, yang paling banyak dipelajari yaitu *keratolinin* dan *involucrin*,

merupakan prekursor yang meresistensi struktur secara kimia, ada juga *fillagrin* (102 KDa), berperan sebagai prekursor yang di dibungkus kedalam granula keratohialin. Pola-pola imunohistokimia dari tipe-tipe keratin, *keratolinin*, *ivolucrin*, dan *fillagrin* berubah dibawah pengaruh stimulus normal atau patologis yang akan berpengaruh terhadap porses keratinisasi.⁽⁴⁾ Di dalam epitel terdapat berbagai jenis protein yang sudah terdeteksi. Epitel jenis pertama yaitu epitel oral atau *outer epithelium*. Keratin K1, K2 (65 KDa), K10 (59 KDa), K11, K12 merupakan tipe spesifik dari diferensiasi epidermal yang secara imunohistokimia diekspresikan dengan intensitas tinggi pada area orthokeratinisasi dan sedikit pada area parakeratinisasi. K5 (62 KDa), K6 (60 KDa), K14 (52 KDa), dan K16 (51 KDa) juga dapat terlihat pada lapisan epitel tersebut. Pada area parakeratin diekspresikan K19 (44 KDa) yang biasanya tidak ada pada epitel orthokeratin normal. Tipe kedua, epitel sulkular yang didalamnya terkandung K4 (64 KDa) dan K13 (46 KDa) serta mengekspresikan K19. Terakhir, lapisan *junctional epithelium*. Sel-selnya terbagi menjadi dua jenis: basal dan suprabasal.⁽⁴⁾ Polipeptida berbeda diekspresikan pada lapisan ini, seperti K19, K5 dan K14.^(4, 5) Namun keratin tipe K6 dan K16 kurang diekspresikan.⁽⁴⁾ Epitel tipe keratin mengekspresikan tipe K1 dan K10 pada sel-sel suprabasal.⁽⁵⁾

Pada hasil penelitian ini yang terdapat pada jaringan mukosa mulut normal terlihat profil protein yang sangat tebal pada berat molekul dengan interval 41-46 KDa dan tebal pada interval 49-54, 62-70, dan 74-110 KDa. Berdasarkan literatur, K19 memiliki berat molekul 44 KDa dan K13 memiliki berat molekul 46 KDa, berat molekul tersebut berada pada interval paling tebal yang diekspresikan sel jaringan mukosa mulut normal (41-46 KDa). Sementara itu, jenis protein K1, K2, K4, K5, K6, K9, K10, K14, K16 dan *fillagrin* yang masing-masing memiliki berat molekul 66, 65, 64, 62, 60, 62, 59, 52, 51, dan 102 KDa terekspresikan dengan tebal pada hasil penelitian. Hasil penelitian pada profil protein jaringan mukosa normal memperlihatkan hasil gambaran protein keratin dan *filaggrin* yang sesuai dengan literatur yang ada.