

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

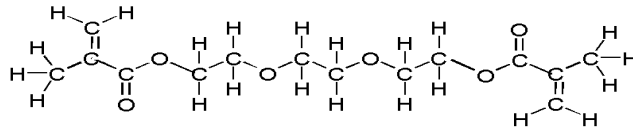
2.1. *Triethylene glycol dimethacrylate* (TEGDMA)

Resin komposit merupakan suatu bahan tambal yang memiliki tampilan sewarna dengan gigi. Seiring dengan ditinggalkannya material amalgam, penggunaan restorasi estetik semakin meningkat hingga saat ini.¹² Resin komposit banyak digunakan pada berbagai jenis perawatan gigi, antara lain sebagai material bahan tambal anterior dan posterior, *pit and fissure sealants*, bahan pembuat pasak, restorasi *bridge* atau *crown*, *bonding resin*, semen tulang, *implant adhesives*, dll.^{1,10}

TEGDMA adalah salah satu unsur penting pada bahan tambal resin komposit. Pada dasarnya resin komposit memiliki 4 komponen utama yaitu, (1) matriks resin, (2) partikel pengisi anorganik yang mempengaruhi kekuatan dan kekerasan komposit, (3) *coupling agent* yang berperan sebagai pengikat partikel pengisi ke matriks resin, dan (4) aktivator-inisiator yang diperlukan untuk polimerisasi resin. Matriks resin komposit yang umum digunakan adalah *Bisphenol A-Glycidyl Methacrylate* (BIS-GMA) dan *urethane dimethacrylate* (UDMA). Kedua jenis matriks tersebut memiliki berat molekul tinggi dan kekentalan yang tinggi.^{2,13} TEGDMA merupakan bagian dari matriks resin yang berperan sebagai monomer tambahan pada sebagian besar material resin komposit. Hal ini karena TEGDMA memiliki berat molekul rendah sehingga dapat mengurangi kekentalan resin.^{1-2,12-6}

Penambahan TEGDMA berkisar antara 25% hingga 50% dalam matriks resin.² Menurut Nakabayashi dan Takarada, resin komposit mengandung 15-25 % TEGDMA, sedangkan *bonding resin* mengandung TEGDMA dengan konsentrasi 30-55%. TEGDMA tidak memiliki bau yang menyengat, tidak berwarna/jernih, dan memiliki pH 6.8 hingga 7.2. Sediaan

TEGDMA berupa cairan seperti minyak, dan memiliki sifat hidofilik.^{1,10,14} Struktur kimia TEGDMA tampak pada gambar 2.1.



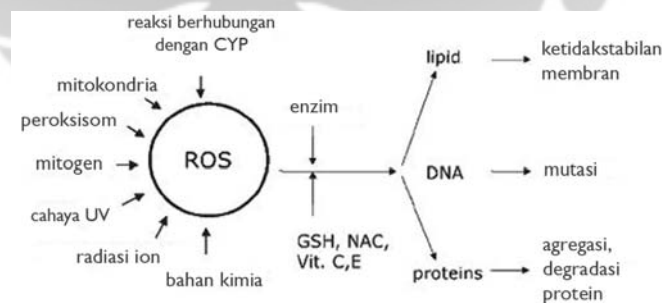
Gambar 2.1. Struktur Kimia TEGDMA¹⁷

Telah banyak diketahui bahwa komponen dalam resin komposit dapat terlepas ke rongga mulut jika polimerisasi tidak sempurna. Jumlah komponen yang terlepas tergantung pada jenis komposit dan metode serta efisiensi *curing* pada komposit.¹ Komponen-komponen tersebut dilaporkan dapat menyebabkan berbagai reaksi biologis yang tidak diinginkan pada sel dan jaringan yang berkontak karena bersifat toksik. Salah satu komponen tersebut adalah TEGDMA, hal ini bersangkutan dengan sifat hidofilik yang dimilikinya. Saat terlepas ke rongga mulut, TEGDMA dapat dengan mudah terlarut dengan lingkungan cair seperti saliva dalam waktu beberapa menit hingga jam.^{1,10,14} Menurut Reichl, TEGDMA dalam jumlah besar (sekitar 80%) dapat terlarut pada lingkungan cair setelah 24 jam.¹⁶ Dilaporkan pula oleh Hume dan Gerzina bahwa tingkat pelepasan TEGDMA tertinggi adalah saat awal penumpatan (0-4 menit) yaitu melepaskan sekitar 50% dari total yang terlepas, dan mencapai 90% pada hari ketiga. Kemudian dinyatakan juga bahwa aktivasi resin dengan cahaya dapat meningkatkan jumlah TEGDMA yang terlepas hingga sekitar 40 kali lipat.⁶

Aplikasi restorasi resin komposit pada karies dentin dapat mengakibatkan difusi TEGDMA mencapai pulpa dalam beberapa jam hingga hari.⁶ Permeabilitas dentin mendukung terjadinya difusi TEGDMA ke pulpa melalui tubuli dentin yang terletak antara dasar kavitas dan pulpa. Menurut Craig, *smear layer* yang dihasilkan pada saat preparasi kavitas memiliki fungsi membatasi permeabilitas difusi lebih baik dari pelapis kavitas. Sehingga jika *smear layer* dihilangkan, difusi molekul suatu material ke pulpa akan terjadi.¹ Namun, hal ini bertentangan dengan

aplikasi etsa asam pada prosedur restorasi resin komposit, yang berfungsi untuk mengangkat *smear layer* dan komponen pada stuktur dentin seperti material inorganik sehingga terbentuk mikroporositas dan mengekspos serat kolagen yang penting untuk meningkatkan retensi.^{13,18} Berdasarkan hal tersebut, difusi TEGDMA ke pulpa tidak dapat dihindari dan berakibat terjadinya reaksi yang tidak diinginkan.⁶

Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa TEGDMA bersifat toksik. Menurut Geurtsen dan Leyhausen, TEGDMA dapat melarutkan lapisan lipid membran sel sehingga dapat berpenetrasi ke dalam sel dan bereaksi dengan molekul-molekul intraseluler.¹⁴ Pada tahun 2004, Spagnuolo G, dkk melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi TEGDMA dapat meningkatkan terjadinya apoptosis dan nekrosis populasi sel fibroblas pulpa gigi. Persentasi apoptosis sel meningkat dua kali lipat pada pemaparan 1 mmol/L TEGDMA. Mekanisme apoptosis sel terjadi karena TEGDMA menghambat phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-kinase).¹⁹ Moharamzadeh K, dkk pada tahun 2005, melaporkan dari 3 jenis monomer resin (BIS-GMA, TEGDMA, dan UDMA) TEGDMA memiliki toksisitas kedua tertinggi setelah BIS-GMA terhadap fibroblas gingiva manusia.²⁰ pada tahun 2006, Schweikl H, dkk melaporkan bahwa pajanan TEGDMA dapat menurunkan tingkat *glutathione* (GSH) sel pulpa gigi, dan menyebabkan peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) yang berperan dalam degradasi protein dan kematian sel melalui apoptosis (Gambar 2.2).⁵



Gambar 2.2 Produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan respon sel.⁵

Pada beberapa penelitian *in vivo* telah diketahui pula bahwa TEGDMA menyebabkan iritasi kontak dan alergi. Respon iritasi dan alergi dapat terjadi pada dental personil maupun pasien pada bagian-bagian tubuh yang dekat dengan aplikasi restorasi seperti pulpa, gingiva, mukosa oral, atau ujung-ujung jari dan tangan.⁶ Telah dilaporkan banyak terjadi dermatitis kontak pada dental personil yang bekerja berhubungan dengan material restoratif resin. Pada tahun 1992 Mungksgaard melaporkan bahwa resin monomer dengan berat molekul rendah seperti TEGDMA dan HEMA dapat menembus sarung tangan latex dalam beberapa menit.²¹ Penelitian lain oleh Hallström melaporkan terdapat reaksi alergi yang serius (termasuk asthma, urtikaria seluruh tubuh, dan lepuh yang terjadi pada wajah, telinga, dan bibir) setelah penempatan dan kemudian pengangkatan *fissure sealant* yang mengandung TEGDMA pada anak usia 6 tahun.²²

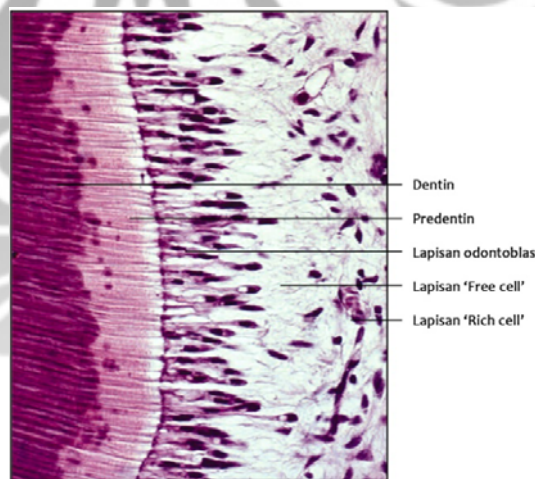
2.2. Pulpa Gigi

Pulpa gigi merupakan jaringan ikat yang kaya pembuluh darah dan saraf, yang terdapat dalam rongga gigi.⁸ Jaringan pulpa merupakan salah satu jaringan tubuh yang khusus, karena letaknya yang dibatasi oleh dinding dentin.²³ Pulpa memiliki lima fungsi utama yaitu induktif, formatif, nutritif, defensif, dan sensatif. Fungsi formatif pulpa yang dimaksud adalah kemampuan pulpa dalam pembentukan dentin saat pembentukan gigi dan selama kehidupan gigi secara terus menerus dengan kecepatan rendah. Pembentukan dentin dapat dilakukan dengan tiga cara : (1) mensintesis dan mensekresi matriks anorganik, (2) memasukkan komponen anorganik ke dalam matriks dentin yang baru terbentuk, dan (3) menciptakan suatu lingkungan yang memungkinkan mineralisasi matriks.⁹ Fungsi defensif pulpa salah satunya adalah pembentukan dentin sebagai respon odontoblas terhadap cedera, terutama jika ketebalan dentin telah berkurang atau kesinambungan dentin telah terputus. Namun, dentin baru yang terbentuk memiliki kemampuan protektif dengan kualitas di bawah dentin fisiologis. Fungsi defensif lainnya adalah kemampuan pulpa dalam menetralkan atau

meniadakan invasi mikroorganisme penyebab karies ke dalam pulpa maupun zat-zat toksik, dengan respon inflamasi dan imunologik.⁹

2.2.1 Struktur Pulpa Gigi

Struktur pulpa gigi memiliki tiga bagian utama yaitu : (1) Lapisan odontoblas, terletak paling luar berdekatan dengan lapisan predentin (Gambar 2.3). Lapisan ini mengandung banyak sel odontoblas yang mempunyai cabang sitoplasma ke dalam tubuli dentin, yang menghubungkan dentin dan pulpa secara langsung. (2) Lapisan bebas sel, kaya akan ujung-ujung saraf dan pembuluh darah kapiler. (3) Lapisan kaya sel, terletak pada inti pulpa dan merupakan bagian terbesar pulpa yang menyerupai jaringan ikat. Pada lapisan ini banyak terdapat sel, seperti fibroblas, mesenkim, sel-sel pertahanan, serat-serat kolagen, substansi dasar, pembuluh darah, limfatik, dan ujung saraf sensorik.^{12,23-4} Sel lain yang terdapat pada jaringan pulpa adalah limfosit yang tersebar diseluruh jaringan pulpa dan sel makrofag yang ditemukan sekitar pembuluh darah.²⁴



Gambar 2.3. Kompleks dentin-pulpa.²⁵

2.2.2 Sel-sel Pulpa Gigi

Sel yang paling khas pada pulpa gigi adalah Odontoblas.²⁴ Sepanjang kehidupan, odontoblas menjalankan fungsi formatif sekaligus fungsi reparatif pulpa gigi yaitu membentuk dentin, baik dentin primer, sekunder, ataupun tersier. Jika sel odontoblas rusak, sel prekursor mesenkimal atau sel yang tidak terdiferensiasi pada pulpa akan berdiferensiasi menjadi sel baru yang menyerupai odontoblas, untuk dapat membentuk dentin yang baru.^{7,12,24}

Sel yang paling banyak terdapat pada bagian tengah pulpa adalah sel prekursor mesenkimal dan fibroblas. Sel-sel ini berbentuk iregular dan mudah ditemukan bersamaan dengan pembuluh darah dan saraf.^{23,25} Fungsi utama fibroblas adalah membentuk dan mempertahankan matriks jaringan pulpa, dan dapat juga berfungsi pada proses destruksi dan degradasi serat kolagen.²⁴ Fibroblas dan sel mesenkimal terkadang sulit dibedakan, namun fibroblas ditemukan banyak mengandung organel yang aktif mensintesa protein pada sel, seperti retikulum endoplasma dan aparatus Golgi.²³

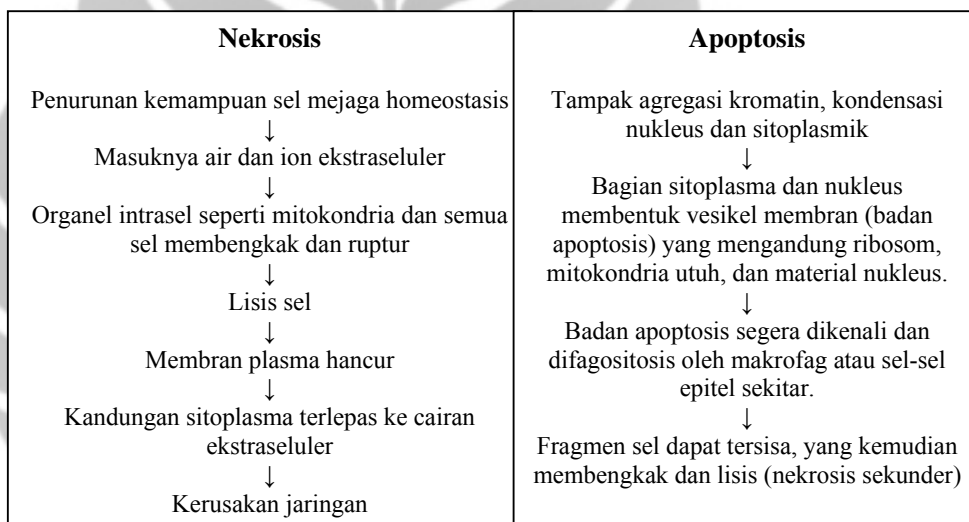
Sel lain yang juga penting pada pulpa gigi adalah makrofag. Makrofag terdapat pada pulpa normal terutama disekitar pembuluh darah, dan jumlahnya akan meningkat berhubungan dengan injuri pulpa.^{7,24} Sel mast tidak ditemukan pada pulpa normal, namun akan hadir selama inflamasi pulpa.^{7,23}

2.2.3 Apoptosis dan nekrosis sel²⁶

Seperti sel tubuh lainnya, sel-sel pulpa juga menunjukkan reaksi terhadap injuri atau inflamasi yang terjadi pada pulpa. Reaksi tersebut dapat berupa kematian sel. Terdapat dua mekanisme kematian sel akibat injuri yang berbeda, yakni apoptosis dan nekrosis. Nekrosis (*"accidental" cell death*) merupakan proses patologis yang terjadi dimana sel terekspos pada bahan kimia atau fisik. Proses kematian sel melalui nekrosis terjadi saat sel terekspos pada perbedaan yang

ekstrim dari kondisi fisiologisnya (seperti hipotermia, hipoksia, atau iskemia) yang menghasilkan terjadinya kerusakan membran plasma.

Berbeda dengan proses nekrosis, kematian sel melalui proses apoptosis tampak lebih alami. Apoptosis (*“normal / programmed” cell death*) merupakan proses fisiologis dimana sel yang tidak berguna tereliminasi selama perkembangan dan proses biologis normal lainnya. Kematian sel dengan apoptosis terjadi di bawah kondisi fisiologis normal dan terdapat kehadiran makrofag untuk menfagosit badan apoptosis tanpa menyebabkan respon inflamasi. Perbedaan proses apoptosis dan nekrosis dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2.4. Perbedaan mekanisme kematian sel oleh proses nekrosis dan apoptosis sel²⁶

2.3. Kultur Sel

Salah satu karakteristik pada kebanyakan organisme adalah tersusun oleh banyak sel. Pada organisme multiseluler, setiap sel mengekspresikan keunikan untuk menciptakan fungsi spesifik. Beberapa sel, dengan pemeliharaan tertentu, dapat tumbuh di luar organ atau jaringan asalnya. Organ, jaringan, atau sel yang dipisahkan dapat tumbuh pada cawan plastik dalam inkubator dengan temperatur yang sesuai dan

diberikan suplemen berupa medium yang mengandung nutrisi dan faktor pertumbuhan sel.²⁷

Pembiakan *in vitro* organ, jaringan, atau sel umumnya diketahui sebagai kultur jaringan, dan telah dimanfaatkan untuk berbagai kepentingan ilmu pengetahuan. Saat ini kultur sel menjadi alternatif yang layak untuk eksperimen makhluk hidup pada penelitian *in vitro* penemuan dan pengembangan obat.²⁷ Kultur jaringan atau sel dapat dipergunakan untuk menilai: (a) aktivitas intraseluler, antara lain transkripsi dan replikasi DNA, sintesis protein, metabolisme energi dan obat; (b) interaksi lingkungan, seperti nutrisi, infeksi, sitotoksitas, dan reaksi obat, namun masih banyak lagi investigasi yang bisa didapat dari pemanfaatan kultur jaringan.²⁸

Kultur jaringan ditemukan sejak tahun 1885 oleh Roux, saat ia dapat menjaga embrio ayam pada saline hangat dalam beberapa hari. Pada tahun 1903, istilah *kultur jaringan* digunakan pada sel yang dapat diperihara secara *in vitro* dalam 24 jam atau lebih.²⁷

Kultur sel merupakan salah satu jenis dari kultur jaringan. Istilah 'kultur sel' berarti kultur yang menggunakan sel-sel yang telah terpisah dari jaringan asalnya (kultur sel primer). Pada kultur sel, sel-sel tidak lagi bergabung menjadi jaringan. Sel-sel dipisahkan (baik secara mekanis maupun enzimatik) menjadi suspensi sel yang kemudian dikultur pada medium kultur.²⁸ Sel kemudian dapat diperbanyak, diperluas, dan dibagi untuk mengembangkan replikasi kultur (subkultur sel).²⁷ Subkultur sel diperlukan untuk menghindari kematian sel pada kultur primer akibat pertumbuhan yang berlebih. Pada berbagai penelitian, subkultur banyak dimanfaatkan untuk mempermudah perolehan sampel sel, karena membutuhkan waktu yang lebih singkat untuk proliferasi sel.

Untuk memberikan kehidupan yang optimal, kultur sel memerlukan serum sebagai sumber nutrisi yang ditambahkan pada medium. Hal yang tidak diinginkan pada teknik kultur sel adalah kemungkinan kontaminasi. Untuk mencegah terjadinya kontaminasi dilakukan penambahan antibiotik penisilin dan streptomycin. Kontaminasi

bakteri yang berasal dari udara, dapat diminimalisir dengan penggunaan *laminar air flow cabinet*.²⁷

2.4. Protein Sel

Protein merupakan rantai panjang yang tersusun dari substansi sederhana yang disebut asam amino.^{29,30-1} Rantai panjang asam amino disebut polipeptida, yang membangun multikomponen, kemudian membentuk kompleks besar yang dikenal sebagai protein. Terdapat 20 jenis asam amino pada protein yang kita makan setiap hari. Sebelas di antaranya adalah asam amino non-esensial karena dapat disintesis sendiri oleh tubuh.³² Sembilan asam amino lainnya dikelompokkan sebagai asam amino esensial karena tubuh tidak dapat membuatnya sendiri, dan hanya di dapat dari makanan yang kita makan.³⁰⁻²

Protein merupakan nutrisi yang dibutuhkan tubuh untuk tumbuh kembang. Setelah air, protein merupakan substansi yang terbanyak dalam tubuh kita. Lebih dari 50% berat kering sel terdiri dari protein.³¹ Berbagai substansi yang mengontrol fungsi tubuh, seperti enzim dan hormon, juga merupakan protein.^{30,32} Fungsi protein yang paling penting adalah untuk membangun, memelihara, dan menggantikan jaringan tubuh, serta memberi bentuk tubuh. Protein membentuk komponen utama pada otot, kulit, tendon, pembuluh darah, rambut, dan sumsum tulang dan gigi. Tanpa protein, kehidupan tidak mungkin terjadi.^{29,32}

Kandungan protein pada sel biasa digunakan untuk memperkirakan material seluler total dan dapat digunakan dalam penelitian pertumbuhan sel atau sebagai denominator dalam ekspresi terhadap aktifitas spesifik suatu enzim, kandungan reseptor, atau konsentrasi metabolisme intraseluler.²⁸

Terdapat berbagai teknik untuk menghitung kandungan protein pada suatu kultur. Pilihan pada metode yang dianggap tepat akan tergantung pada sifat protein yang tampak pada sampel, kemurnian ekstrak, kebutuhan sensitivitas dan akurasi, dan kecepatan yang diinginkan (Boyer). Metode yang banyak digunakan untuk analisa kandungan protein adalah metode Biuret, Bradford, Kjehdahl, Lowry, Smith, dan Warburg-

Universitas Indonesia

Christian.³³ Namun, banyak penulis yang merekomendasikan pengukuran yang memanfaatkan reaksi Bradford dengan *Coomassie blue* [Bradford, 1976] karena berbagai keuntungannya, antara lain : (1) hanya menggunakan satu bahan reaktif, (2) kecepatan reaksi (hanya 5 menit), (3) stabilitas yang tinggi pada *protein-dye complex*, (4) mudah dilakukan ulang, (5) tidak membutuhkan pemanasan, dan (6) akurasi dengan gangguan yang minimal.^{28,33-4} Prinsip pemeriksaan dengan metode Bradford, *Coomassie blue* menyebabkan perubahan spektral ikatan protein pada larutan asam.²⁸

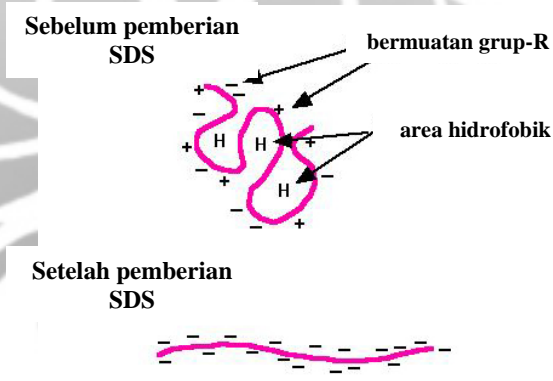
Pengukuran ini berdasarkan pada penggunaan pewarna, *Coomassie Brilliant Blue G-250* yang berikatan dengan protein, merubah sifat absorbansi cahaya pada bahan pewarna. Pada saat bahan pewarna dipersiapkan sebagai larutan asam, absorbansi maksimal adalah pada 465 nm panjang cahaya, namun setelah penambahan protein menghasilkan perubahan absorbansi maksimum menjadi 595 nm. Seiring dengan peningkatan konsentrasi protein, absorbansi maksimal cahaya juga ikut meningkat.³⁴ Walaupun demikian, penting untuk mengetahui nilai absorbansi sampel yang belum diketahui dengan protein standar pada absorbansi 595 nm, setelah itu kurva standar dapat digunakan untuk menentukan jumlah protein yang sesuai dengan nilai absorbansi yang dinilai.³⁴⁻⁵

2.5. Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

SDS-PAGE adalah suatu metode yang digunakan untuk memisahkan protein berdasarkan ukuran dan/atau berat molekulnya, sehingga menggambarkan suatu profil protein.³⁶⁻⁷ Sebelum melakukan elektroforesis, protein harus memiliki bentuk yang sama.³⁷ Oleh karena itu, SDS dicampurkan pada larutan protein sebagai suatu detergen anionik yang dapat menyebabkan denaturasi protein dan melapisi mereka dengan muatan negatif yang sama, sehingga menghasilkan protein-protein yang memiliki perbandingan massa dan muatan yang sama. Denaturasi protein terjadi karena deterjen SDS mengganggu ikatan hidrogen dan berikatan dengan

Universitas Indonesia

bagian hidrofobik pada molekul protein sehingga menyebabkan protein terurai menjadi rantai polipeptida yang panjang, yakni merubah protein dari struktur sekunder, tersier, atau kuarter hingga menjadi struktur primernya (Gambar 2.5).^{31,36-9} Tanpa SDS, protein yang berbeda dengan berat molekul yang sama akan bergerak secara berbeda sesuai dengan perbedaannya pada rasio berat muatan dan bentuknya.³⁶⁻⁷ Hasil akhir dari penambahan SDS memiliki dua tampilan penting : 1) semua protein hanya berbentuk stuktur primer, dan 2) semua protein memiliki muatan negatif yang besar sehingga mereka akan bergerak bersama ke kutub positif saat diletakan pada aliran listrik.³⁷



Gambar 2.5. Skema peranan deterjen SDS dalam mendenaturasi dan memberikan muatan negatif pada protein³⁷

Setelah protein terdenaturasi dan diberikan aliran listrik, mereka akan bergerak bersama ke kutub positif dengan kecepatan yang sama, tanpa pemisahan berdasarkan ukurannya. Sehingga, kita perlu meletakkan protein pada suatu lingkungan yang dapat mengizinkan protein dengan ukuran yang berbeda untuk bergerak dengan kecepatan yang berbeda. Lingkungan yang dimaksud adalah *polyacrylamide*, yang merupakan polimer dari monomer *acrylamide*. Gel *polyacrilamide* tidak solid, tetapi terdiri dari lapisan lubang-lubang yang membentuk seperti jaring serat.³⁷ Sehingga pemisahan protein dapat terjadi, karena pada perjalanannya protein yang berukuran lebih kecil (memiliki berat molekul yang lebih ringan) akan bergerak lebih cepat melintasi jaring serat *polyacrylamide* dibandingkan dengan yang berukuran

lebih besar (lebih berat).^{37,40} Saat polimer terbentuk menjadi gel, berikan aliran listrik untuk menarik protein melintasi gel sehingga keseluruhan proses ini disebut *polyacrylamide gel electrophoresis* (PAGE).³⁷

Terdapat dua sistem *buffer* berbeda yang digunakan dalam elektroforesis gel protein: sistem *continuous* dan *discontinuous*. Sistem *discontinuous* (dikembangkan oleh Ornstein dan Davis, 1964) paling umum digunakan karena menggunakan dua lapisan gel dengan kepadatan dan pH yang berbeda.³⁹ Lapisan pertama dikenal dengan *stacking gel* (pH=6,8), pada lapisan ini migrasi molekul berukuran kecil dengan muatan tinggi akan lebih cepat dibanding dengan molekul besar dengan muatan kecil.⁴¹ Pada akhir proses ini, semua molekul protein akan terkonsentrasi pada zona *stacking* sebelum memasuki *resolving gel* (pH=8,8). Dengan muatan negatif yang sama yang diberikan oleh deterjen SDS, pada lapisan *resolving gel* protein akan bermigrasi dan terseparasi sesuai dengan ukurannya.^{39,41}

Dengan massa muatan yang sama, jarak pergerakan melintasi gel dapat langsung mengetahui ukuran protein. Zat pewarna (*tracking dye*) ditambahkan pada larutan protein agar peneliti dapat melihat perkembangan perjalanan protein pada gel selama elektroforesis berjalan.³⁶ Pita protein yang terbentuk oleh protein-protein dengan ukuran yang berbeda dapat dibandingkan dengan protein standar (protein yang sudah diketahui berat molekulnya) yang berjalan sejajar dengan sampel.^{39,41}

Setelah proses elektroforesis selesai, gel harus dianalisa untuk mendapatkan informasi posisi dan kualitas setiap protein. Kebanyakan protein tidak dapat langsung terlihat, sehingga gel harus diproses terlebih dahulu dengan prosedur pewarnaan. Protein umumnya diwarnai dengan *Coomassie blue* atau *silver*, ataupun keduanya.³⁹ *Coomassie Brilliant Blue G250* paling umum digunakan pada pewarnaan tunggal, karena merupakan metode yang paling sederhana.^{31,39} *Coomassie blue* berikatan dengan protein dengan proporsi yang tepat, sehingga protein dapat dideterminasi dengan *densitometry*. Pewarna yang tidak berikatan dengan protein akan larut keluar gel pada tahap *destaining*. Dengan pewarnaan ini protein-protein terdeteksi sebagai pita biru dengan latar belakang yang jernih.³⁹ Namun beberapa

protein dengan berat molekul rendah terkadang tidak dapat tampak hanya dengan pewarnaan *Coomassie blue*, sehingga pewarnaan dengan silver dapat dimanfaatkan.^{31,39}

Silver staining atau pewarnaan dengan memanfaatkan silver nitrat, memiliki sensitivitas yang tinggi (100 kali lipat dibanding pewarnaan *Coomassie blue*). Silver nitrat akan berikatan dengan asam amino tertentu pada protein pada kondisi di bawah pH netral.⁴²⁻³ Ikatan protein dengan ion silver akan dikurangi oleh *formaldehyde* pada pH alkali, untuk membentuk silver metalik pada gel.^{39,42} Waktu yang tepat, larutan dengan kualitas tinggi, dan kebersihan sangat penting untuk menciptakan hasil yang baik.³⁹

Profil protein sel adalah tampilan pita-pita protein pada gel elektroforesis dari berbagai jenis protein sel dalam berat molekul tertentu yang dihasilkan dari teknik SDS-PAGE.

2.6. Kerangka Teori

