

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Produksi Antibodi Telomerase

Antibodi telomerase dihasilkan dengan cara menginjeksikan antigen telomerase pada tubuh kelinci. Sebelum diinjeksikan kedalam tubuh kelinci, antigen telomerase diencerkan menggunakan *freud adjuvan* yang berfungsi sebagai molekul yang akan meningkatkan immunogenitas dari antigen yang akan diinjeksikan. Setelah diinjeksikan, dilakukan *booster* atau penginjeksian pengulangan pada tubuh kelinci yang berguna untuk merangsang timbulnya respon imun sekunder. Satu minggu pasca *booster* dilakukan pengambilan darah kelinci melalui *vena auricularis* kelinci selama 5 minggu setiap minggunya. Darah kelinci yang terkumpul diinkubasi pada vacutainer heparin 3 cc dan didiamkan selama 3-4 jam sehingga dihasilkan serum antibodi.

5.2 Purifikasi Antibodi Telomerase

Purifikasi antibodi segera dilakukan serum darah diperoleh. Purifikasi telah dilakukan pada serum kelinci A dan B dari minggu 1-8. Purifikasi menggunakan metode SAS untuk mendapatkan konsentrat IgG poliklonal antibodi telomerase.

5.3 Pendeteksian Antibodi

Pendeteksian antibodi dilakukan setelah metode SAS terlaksana untuk serum kelinci yang diperoleh pada dua minggu pertama setelah penginjeksian antigen dilakukan. Antibodi dideteksi menggunakan metode *Western Blotting* dan ELISA. Sebelumnya telah dilakukan elektroforesis terhadap *telomerase mouse peptide*, dan didapati bahwa

berat molekulnya 58 kDa. Melalui *Western Blotting*, didapatkan adanya ikatan antara antigen-antibodi yang adekuat, yang mana ditandai dengan adanya penebalan pita pada membran nitroselulosa pada berat molekul yang 58 kDa (Gambar 1).

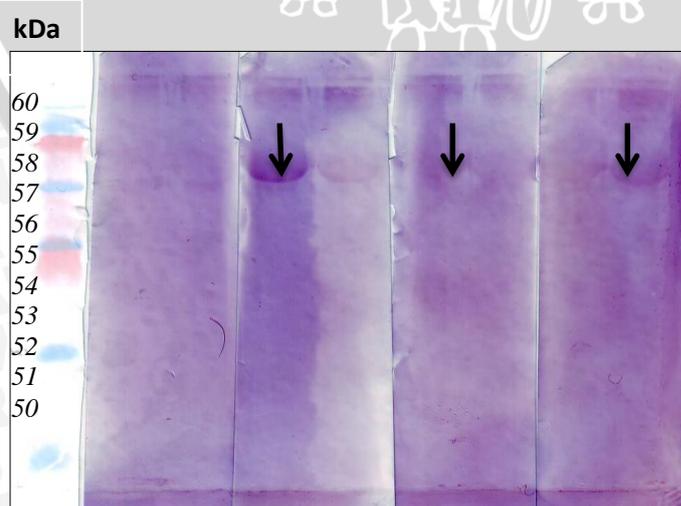
Hasil uji *immunoblotting* menggunakan metode ELISA antara antibodi telomerase yang dihasilkan penelitian ini dengan enzim telomerase menunjukkan bahwa sampai pada minggu ke-5 antibodi telomerase masih diproduksi (Gambar 2). Produksi antibodi telomerase ini dilakukan dengan booster 2 kali. Pada minggu 1-3 terjadi kenaikan produksi antibodi telomerase dan menurun pada minggu ke-4. Pada minggu ke-5 produksi meningkat lebih tinggi, hal ini terjadi karena adanya sel memori yang pernah terpapar sebelumnya. Hasil ini juga menunjukkan bahwa antibodi telomerase mengenali secara spesifik telomerase yang diproduksi oleh sel kanker. Berdasarkan hasil western blot dan ELISA, diyakini bahwa antibodi telomerase yang dihasilkan oleh penelitian ini mempunyai peluang untuk dikembangkan sebagai metode pendekatan terapi kanker.

5.4 Perlakuan Antibodi Pada Sel Hela

Sel HeLa dikultur selama 1 minggu, kemudian dipindahkan ke *well* (24 *well*s), dan diberi perlakuan antibodi telomerase dalam konsentrasi 0.5 μ g, 1 μ g, dan 2 μ g. AB-DeliverIN digunakan untuk menghantarkan antibodi ke inti sel, dengan dosis 2 μ l. Sel HeLa diberi perlakuan dengan antibodi telomerase dan AB-DeliverIN selama 24 jam. Imunositokimia dilakukan untuk melihat ikatan antara antibodi telomerase dengan telomerase pada sel HeLa. Ikatan antara antibodi telomerase dan telomerase di dalam sel HeLa akan terwarnai coklat pada inti selnya.

Intensitas dan kepadatan sel yang intinya terwarnai coklat akan menentukan banyaknya ikatan yang terjadi (Lihat Gambar 3).

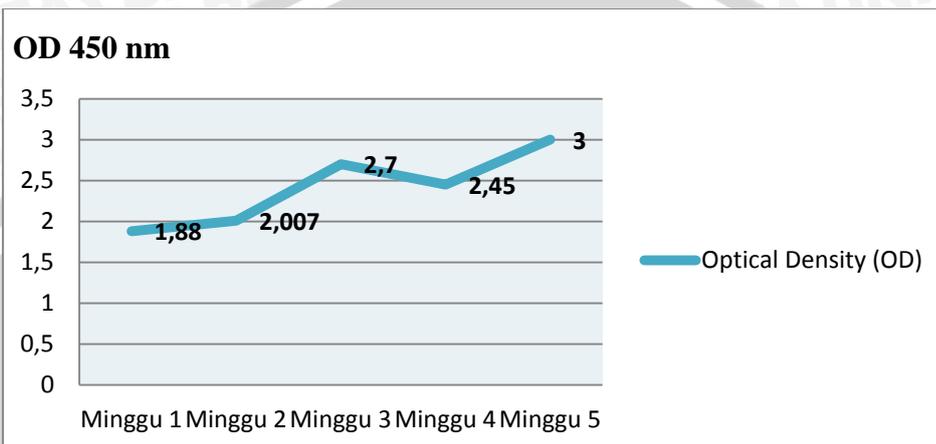
Perlakuan juga dilakukan pada sel HeLa yang dipaparkan dengan antibodi telomerase melalui metode MTT assay. Sebelum MTT assay dikerjakan, antibodi telomerase terlebih dahulu dikonjugasikan dengan Ab-deliverIN yang dimaksudkan untuk menginduksi *intake* antibodi pada sel HeLa. Telomerase yang berperan dalam proliferasi diharapkan mampu di non-aktifkan oleh antibodi telomerase. Ikatan yang terjadi antara telomerase dan antibodi telomerase akan tercermin dari hasil respirasi sel HeLa. Teloemerase yang di non-aktifkan selanjutnya akan mengurangi proliferasi sel HeLa yang akan di amati menggunakan metode MTT assay. Untuk mendapatkan dosis antibodi yang paling optimal dalam menginjeksi penurunan proliferasi sel HeLa, MTT assay di kerjakan dengan dosis yang berbeda pada sel HeLa. MTT assay menunjukan terdapat penurunan yang signifikan pada proliferasi sel HeLa seiring dengan penambahan dosis antibodi telomerase dengan $p= 0.032$ (Gambar 4).



A B C D

Gambar 1: Western Blotting
 Anak panah menunjukkan ikatan antara antigen dan antibodi pada membran nitroselulosa.

- A :Kontrol
- B :KelinciA minggu1
- C :KelinciB minggu1
- D :KelinciB minggu2



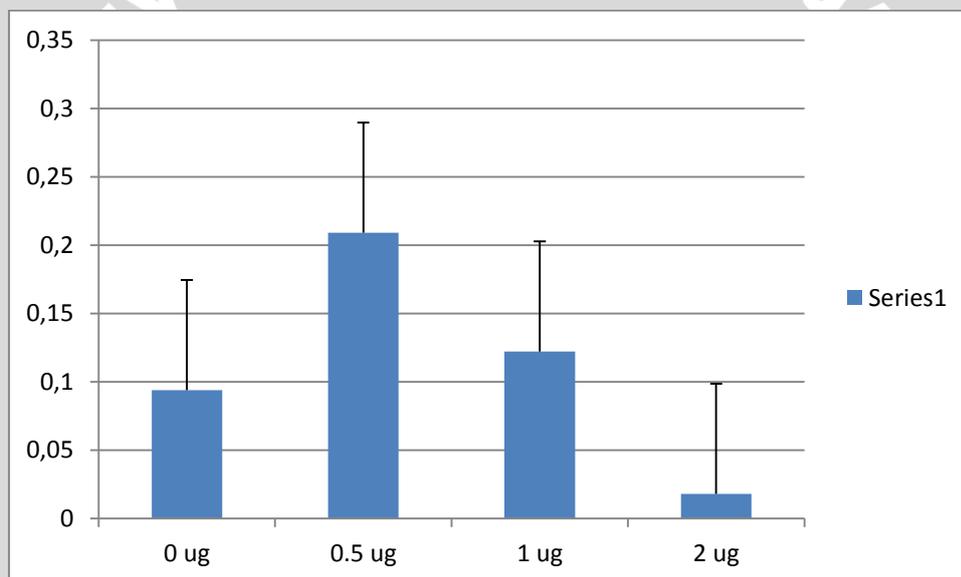
Gambar 2. Grafik Nilai Absorbansi dari ELISA Minggu 1-5

Konsentrasi	Sebelum	Sesudah
0.5 µg		
1 µg		



Gambar 3. Hasil Imunositokimia

Gambaran diatas menunjukkan adanya perubahan warna sebelum dan sesudah perlakuan pada sel HeLa, dimana anak panah menunjukan warna coklat yang menandakan ikatan antibodi dan antigen telomerase pada inti sel HeLa.



Gambar 4. Grafik Nilai Absorbansi HeLa