

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Untuk menguji hipotesis, maka dilakukan uji adhesi dengan menggunakan imunositokimia. Hasil isolasi enterosit mencit disalutkan dengan protein hemaglutinin sub-unit pili BM 49,8 kDa *Shigella flexneri* dalam beberapa dosis pengenceran protein dan antibodi berdasarkan hasil penelitian uji penelitian dot blot yang dilakukan anam (2012), dimana menimbulkan suatu reaksi paling awal pada pengenceran protein dan antibody pada titer 2560/1200. Oleh karena itu, ditentukan pengenceran protein yang mendekati hasil uji dot blot yaitu: 1/500, 1/2000, dan 1/8000 sedangkan eppendorf terakhir tidak disalutkan dengan protein atau disebut kontrol negative (dosis = 0). Sedangkan untuk antibodi berasal dari purifikasi *S.dysenteriae* dari hasil penelitian Agustina (2012), dengan pengenceran yang mendekati hasil dot blot yaitu 1/1500. Setelah itu dibuat hapusan pada kaca objek dicat dengan imunositokimia, maka dilakukan penghitungan indeks adhesi berdasarkan hasil imunositokimia positif. Hasil imunositokimia positif tervisualisasi sebagai warna coklat menunjukkan adanya ikatan antara antibody dengan proteinyang tercat dengan kromogen DAB, sedangkan imunositokimia negative tervisualisasi sebagai warna ungu menunjukkan tidak adanya reaksi ikatan antara antibody dan protein.

Dari hasil imunositokimia (gambar 5.1) pada kelompok perlakuan tampak bahwa enterosit yang disalut dengan protein HA sub-unit pili 49,8 kDa *Shigella flexneri* pada pengenceran 1/500 menunjukkan hasil imunositokimia positif hampir pada seluruh sel enterosit. Hal ini dikarenakan pada pengenceran 1/500 kadar protein sangat pekat sehingga hampir seluruh enterosit tersalut oleh protein dan

hasil imunositokimia menunjukkan hasil yang positif (berikatan dengan antibody primer) dan tervisualisasi oleh kromogen DAB berwarna coklat. Dengan adanya pengurangan kadar protein atau peningkatan pengenceran tersebut artinya semakin sedikit enterosit yang tersalut oleh protein HA sub-unit 4,8 kDa *S.flexneri* maka semakin berkurang pula enterosit yang dikenali oleh antibody protein HA sub-unit pili 49,8 kDa *S.dysenteriae* sehingga semakin bertambah pula sel enterosit dengan hasil imunositokimia negative yang tervisualisasi sebagai warna ungu. Hasil imunositokimia ini sangat mendukung penemuan Avanita (2011), dimana semakin sedikit protein pili *S.flexneri* 49,8 kDa pada pengenceran yang tinggi. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa antibody poliklonal yang digunakan dalam uji imunositokimia tersebut merupakan antibody molekul adhesin. Kesimpulan ini diperkuat dengan hasil penghitungan secara statistik pada 100 sel enterosit, yaitu hasil analisis *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada perlakuan dosis terhadap hasil imunositokimia positif. Selain itu terdapat hubungan erat dan pengaruh yang cukup bermakna dari perlakuan dosis protein sub-unit pili 49,8 kDa *S.flexneri* terhadap hasil imunositokimia positif yang ditunjukkan dengan koefisien korelasi Spearman sebesar 0,966, nilai  $p = 0,000$ ;  $R^2$  0,81, nilai  $p = 0,000$ . Dari data ini kita bisa melihat bahwa kekuatan korelasi  $R^2$  0,81% yang sangat tinggi. Bisa dikatakan 81% protein pili sub-unit 49,8 kDa dapat melekat ke enterosit seiring dengan meningkatnya konsentrasi.

Pengamatan hasil imunositokimia menunjukkan IgG dalam serum mencit memberikan reaksi positif terhadap enterosit yang telah disalut protein HA sub-unit pili 49,8 kDa *S.flexneri* (gambar 5.1), tampak bahwa protein sub-unit 49,8 kDa *S.flexneri* menyalut enterosit mengelilingi membrane selnya.

Suatu antigen belum tentu antigenic dan antigen yang antigenic pasti bersifat imunogenik. Hasil imunositokimia menunjukkan bahwa protein sub-unit pili 49.8 kDa *S flexneri* dapat dideteksi dengan antibody poliklonal anti protein HA sub-unit pili shigella dysentriae 49.8 kDa ,sehingga dapat dikatakan bahwa antigen tersebut bersifat imunogenik,karena berhasil menginduksi imunitas humoral dari tubuh mencit yang diimunisasi dengan antigen tersebut. Demikian juga telah terbukti bahwa pada beberapa protein adhesin pili dengan molekul 36 kDa (Winarsih, 2005), selain itu Sumarno (2011) telah membuktikan bahwa protein sub-unit 37,8 kDa V. Cholerae mampu menginduksi respon imun yaitu adanya peningkatan s-IgA. Pembuktian bahwa antigen protein HA sub-unit pili 49,8 kDa *S.flexneri* sebagai target terapeutik untuk mencegah infeksi *Shigellosis* terutama berkaitan dengan kemampuannya dalam menempel menghambat perlekatan protein pili terhadap enterosit.

