

**ANALISIS IMUNOSITOKIMIA UJI ADHESI PROTEIN
HEMAGGLUTININ PILI 49,8 kDa *Shigella flexneri*
TERHADAP ENTEROSIT MENCIT BALB-C SECARA
IN-VITRO**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh:

**Adi Sunartomo
NIM: 0910710024**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**ANALISIS IMUNOSITOKIMIA UJI ADHESI PROTEIN HEMAGGLUTININ
PILI 49,8 kDa *Shigella flexneri* TERHADAP ENTEROSIT MENCIT BALB-C
SECARA IN-VITRO**

Oleh:

Adi Sunartomo

NIM: 0910710024

Telah diuji pada
Hari : Rabu

Tanggal : 12 Juni 2013

dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

dr. Sudjari, MSi., DTM&H., SpPark
NIP. 19510421 198002 1 003

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

Prof. Dr. dr. Sumarno AS, DMM., SpMK(K)
NIP. 19480706 198002 1 001

io Santoso, DTM&H., SpMK(K)
NIP. 1981220 198002 1 002

Mengetahui,
Kepala Jurusan Pendidikan Dokter FKUB,

Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.Par.K.
NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah *Subhaanahu Wata'ala* Tuhan Semesta Alam atas berkat, rahmat, dan kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul: "Analisis Imunostikimia Uji Adhesi Protein Hemagglutinin Pili 49,8 kDa *Shigella flexneri* terhadap Enterosit Mencit Balb-C Secara In-vitro". Begitu pula shalawat serta salam kepada baginda Rasulullah Muhammad *Shallallahu 'Alaihi Wasallam* yang telah memberikan tuntunan menjalani kehidupan yang bahagia di dunia dan akhirat untuk segenap umatnya. Di antaranya sabda beliau "*Setiap penyakit pasti ada obatnya*" (H.R. Imam Ahmad, Muslim, Bukhari) yang menjadikan inspirasi untuk menulis tugas akhir ini.

Dukungan dari berbagai pihak telah saya terima, baik berupa masukan, kritik, dan saran yang telah membantu menjadikan tugas akhir ini yang awalnya baru berupa ide, sehingga bisa menjadi sebuah kenyataan dalam bentuk tulisan. Dengan selesainya Tugas Akhir ini, saya mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberi saya kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Prof.Dr. dr.Teguh Wahyu Sardjono,DTM&H, M.Sc, Sp.Par.K ketua jurusan pendidikan dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberi saya kesempatan dan membimbing dalam menuntut ilmu di jurusan pendidikan dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
3. Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM., SpMK(K) sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan kemudahan dalam bimbingan, saran, dan masukan mulai

dari proses awal pembuatan proposal, penelitian, hingga Tugas Akhir ini selesai.

4. Prof.Dr.dr. Sanarto Santoso, DTM&H., SpMK(K) sebagai pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, saran, dan masukan, sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
5. dr. Sudjari, Msi.,DTM&H,SpPark yang bersedia menjadi ketua tim penguji Tugas Akhir serta memberikan masukan yang berarti untuk perbaikan Tugas Akhir saya.
6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB.
7. Yang tercinta kedua orang tua saya, ibunda Nusindrati dan ayahanda Sudibjo Adi Tjahjono, yang selalu memberikan motivasi, keteladanan dan mendoakan dalam penyelesaian Tugas Akhir ini. Begitu pula saudara-saudara saya, Adi Sunarbowo (Adik Kembar) dan Bagoes Tjahjono (Adik) beserta sepupu seperjuangan di bumi Arema, Hendro.
8. Para Senior-senior teman program S2, Mbak Wiwik, Mbak Dwi, dan Mas Anam yang tidak hanya membantu dalam proses penelitian pengambilan, dan pengolahan data tetapi juga memberi semangat pada saya untuk segera menyelesaikan tugas akhir ini.
9. Para personil laboratorium Biomedik FKUB, Mas Ali, Mas Yuda, Mbak Bunga, Mbak Heni, Mbak Dian dan lainnya yang tidak hanya membantu dalam proses penelitian dan administrasi, tetapi juga memberi semangat pada saya untuk segera menyelesaikan tugas akhir ini.
10. Para personil laboratorium Mikrobiologi FKUB, Mas Slamet, Mbak Uci, Mas Hendrik, Bu Yatik, dan lainnya yang tidak hanya membantu dalam proses penelitian dan administrasi tetapi juga memberi semangat pada saya untuk segera menyelesaikan tugas akhir ini.
11. Sahabat - sahabatku, para peserta Yudisium Gelombang 2 dan teman-teman Nurus Syifa' (MNS), khususnya Ikram, Mesha, Vidi, Mustofa, Wikha dan Obi

yang sudah menjadi partner, memberi dukungan, membagi ilmunya selama

proses pembuatan TA ini.

12. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis berharap agar Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan dan menambah wawasan kepada pembaca sekalian. Semoga tulisan ini juga bisa menjadi warisan yang baik untuk generasi selanjutnya. Akhir kata, tak ada bunga mekar yang tak layu, demikian pula dengan Tugas Akhir ini. Penulis membuka diri untuk semua saran dan kritik yang membangun demi kesempurnaan Tugas Akhir ini.

Malang, 12 Juni 2013

Penulis



ABSTRAK

Sunartomo, Adi. 2013. **Analisis Imunositokimia Uji Adhesi Protein Hemagglutinin Pili 49,8 kDa *Shigella flexneri* pada Enterocyte Mencit Balb-c secara In-vitro**. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Dosen pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM., MS., Sp.MK (K) (2) Prof.Dr.dr.Sanarto Santoso, DTM&H.,Sp.MK.

Diare merupakan masalah utama penyebab kematian untuk negara berkembang, tidak terkecuali Indonesia. Diketahui salah satu agen penyebab diare adalah bakteri dari genus *Shigella*. Kasus kurangnya efektifitas antibiotik semakin banyak dilaporkan tiap tahunnya, karena itu diperlukan metode baru dalam penanganan diare salah satunya adalah dengan menggunakan vaksin. Vaksin yang banyak diteliti akhir-akhir ini adalah vaksin yang bertujuan mencegah perlekatan pathogen atau vaksin yang bertujuan mencegah tingkat keparahan penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ada proses adhesi antara protein adhesin pili 49,8 kDa *Shigella flexneri* dengan Enterocyte Mencit Balb-c. Metode yang digunakan adalah dengan metode pewarnaan *Imunositokimia* pada slide dengan pengenceran antibodi 1/1600 dan pengenceran protein 1/500, 1/2000, 1/8000, dan kontrol negatif(tanpa antibodi). Kemudian dilakukan penghitungan dari hasil *Imunositokimia* pada mikroskop dengan metode penghitungan 10 lapang pandang dengan pengulangan sebanyak 4x. Nilai-nilai rerata dari penghitungan tersebut kemudian dianalisis dengan uji statistik *Kruskal-Wallis*, korelasi, dan regresi. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan adanya perbedaan bermakna tiap-tiap konsentrasi pengenceran

dengan tingkat kepercayaan sebesar 95% ($\alpha = 0,05$). Uji korelasi dan

regresi menunjukkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi pengenceran maka jumlah protein yang menempel pada enterosit semakin meningkat. Maka dapat disimpulkan bahwa ada proses adhesi antara protein adhesin pili *Shigella flexneri* 49,8 kDa dengan enterosit.

Kata kunci: protein adhesin, *pili*, enterosit, imunositokimia, *Shigella*, *Shigella flexneri*, uji adhesi.

ABSTRACT

Sunartomo, Adi. 2013. **Adhesion Test immunocytochemistry analysis Hemagglutinin Pili 49.8 kDa protein of *Shigella flexneri* on enterocyte Balb-c Mice by In-vitro**. Final Assignment. Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM., MS., Sp.MK (K) (2) Prof.Dr.dr.Sanarto Santoso, DTM&H.,Sp.MK.

Diarrhea is the major cause problem of death in Developing Country. One of the agents known to cause diarrhea are bacteria of the genus *Shigella*. Cases the lack of effectiveness of antibiotics increasingly reported each year, because it required a new method in the treatment of diarrhea, one of which is by using a vaccine. Vaccines are widely studied lately is a vaccine intended to prevent the attachment of pathogens or vaccines aimed at preventing disease severity. This study aims to determine whether there is a process of adhesion between 49.8 kDa pili adhesin proteins of *Shigella flexneri* with enterocyte Balb-c mice. The method is the immunocytochemistry staining method on a slide with an antibody dilution of 1/1600 and protein dilution 1/500, 1/2000, 1/8000, and a negative control (no antibody). Then the calculation of the results of immunocytochemistry performed on a microscope with a field of view of 10 counting method with repetition as much as 4x. Mean values of the calculation is then analyzed by statistical Kruskal-Wallis test, correlation, and regression. Kruskal-Wallis test results showed that there were significant differences of each dilution concentration with 95% confidence level ($\alpha < 0,05$). Correlation and regression test showed that with increasing concentrations of dilution, the number of proteins that attach to enterocytes is increased. It can be concluded that there is a process of adhesion between pili adhesin protein 49.8 kDa *Shigella flexneri* with enterocytes.

Keywords: adhesion protein, *enterocyte*, imunocytochemistry, *pili*, *Shigella*, *Shigella flexneri*, adhesion test.

DAFTAR ISI

Judul i

Lembar Persetujuan	ii
Kata Pengantar	ii
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Gambar	xi
Daftar Tabel	xii
Daftar Singkatan	xiv
 BAB 1 Pendahuluan	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
 BAB 2 Tinjauan Pustaka	 5
2.1 <i>Shigella</i>	5
2.1.1 Klasifikasi	5
2.1.2 Morfologi	5
2.2 <i>Shigellosis</i>	7
2.3 Patogenesis.....	8

2.3.1 Perlekatan Pertama <i>Shigella</i>	10
2.3.2 Pintu Masuk <i>Shigella</i>	11
2.3.3 Mekanisme <i>Shigella</i>	11
2.3.4 Peran Imunitas Awal	11
2.4 Diagnosis.....	13
2.5 Manajemen Terapi.....	15
2.6 Pencegahan dan Kontrol.....	16
2.7 Vaksin.....	17
BAB 3 Kerangka Konsep dan Hipotesis Penelitian	21
3.1 Kerangka Konsep	21
3.1 Hipotesis penelitian	22
BAB 4 Metode Penelitian	23
4.1 Rancangan Penelitian	23
4.2 Sampel Penelitian.....	23
4.3 Variabel Penelitian	23
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	24
4.5 Bahan dan Alat Penelitian	24
4.5.1 Bahan Penelitian	24
4.5.2 Alat Penelitian.....	24
4.6 Definisi Operasional.....	24
4.7 Prosedur Penelitian	25
4.7.1 Isolasi Protein Pili <i>Shigella flexneri</i>	25

4.7.2 Induksi Antibodi <i>Shigella dysenteriae</i>	27
4.7.3 Isolasi Sel Enterosit Balb/c.....	28
4.7.4 Uji Adhesi Protein pili <i>Shigella flexneri</i>	28
4.7.5 Pewarnaan Imunositokimia	29
BAB 5 Hasil Penelitian.....	32
5.1 Uji Adhesi	32
BAB 6 Pembahasan.....	37
BAB 7 Kesimpulan Dan Saran.....	40
Daftar Pustaka	41

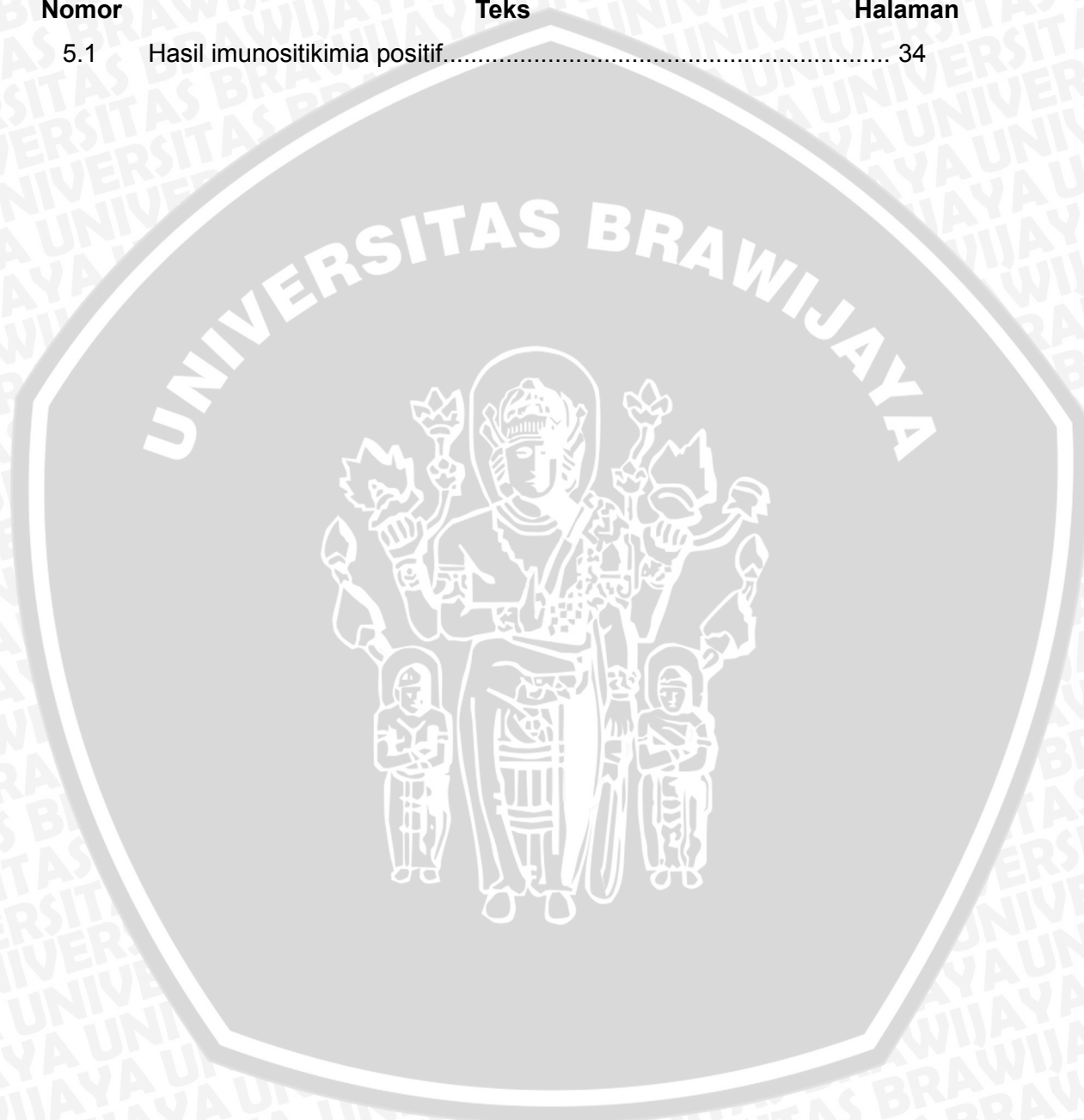


DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
2.1	<i>Shigella sp</i>	4
2.2	Skema protein T3SS.....	11
2.3	Skema patogenesis <i>Shigella sp</i>	14
2.4	MacConkey Agar	15
2.3	Salmonella-Shigella Agar.....	15
3.1	Kerangka konsep.....	21
4.8	Alur penelitian eksploratif.....	30
4.8	Alur penelitian eksperimen.....	31
5.1	Hasil uji adhesi imunositokimia	32
5.2	Diagram batang.....	34
5.2	Uji Linear regressi	36

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
5.1	Hasil imunositikimia positif.....	34



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Pernyataan Keaslian Tulisan	45
Lampiran 2 Alat Yang Digunakan Dalam Penelitian	46
Lampiran 3 Bahan Yang Digunakan Dalam Penelitian	47
Lampiran 4 Hasil SDS-PAGE	48
Lampiran 5 Hasil Isolasi Enterosit	49
Lampiran 6 Uji Statistik	50



DAFTAR SINGKATAN

BHI	: <i>Brain-Heart Infusion</i>
CCEC	: <i>Colonic Columnar Epithelial Cell</i>
CDC	: <i>Center of Disease Control</i>
DAB	: <i>Diamino benzidine</i>
<i>E.Coli</i>	: <i>Escherchia coli</i>
EIEC	: <i>Enteroinvasive Escherchia coli</i>
EMB	: <i>Eosin Methylene Blue</i>
FAE	: <i>Follicle-Associated Epithelium</i>
GALT	: <i>Gastrointestinal Associated Lymph</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IgG	: <i>Imunoglobulin G</i>
Ipa	: <i>Invasion Protein Antigen</i>
KLB	: <i>Kejadian Luar Biasa</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</i>
<i>S.Dysentriae</i>	: <i>Shigella dysentriae</i>
<i>S.flexneri</i>	: <i>Shigella flexneri</i>
Sel M	: <i>Sel Microfold</i>
MSHA	: <i>Mannose Sensitive Hemagglutination</i>
PAI	: <i>Pathogenecity Island</i>
PMN	: <i>Polymorpho Nuclear</i>
SDS-PAGE	: <i>Sodium Duodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel</i>
SPSS	: <i>Statistical Product for Service Solution</i>
SSA	: <i>Salmonella-Shigella Agar</i>
T3SS	: <i>Type 3 Secretion System</i>
TCG	: <i>Tris-Citrate-Glucose</i>

TSI : Triple Sugar Iron
XLD : Xylose Lysin Deoxycolate

