

BAB 6

PEMBAHASAN

Hipotesis dalam penelitian ini adalah protein hemaglutinin *Shigella sonnei* berperan sebagai molekul adhesin. Untuk menguji hipotesis tersebut, maka dilakukan uji adhesi menggunakan imunisitokimia. Protein hemaglutinin sub-unit pili dengan berat molekul 49,8 kDa *Shigella sonnei* disalutkan dengan hasil isolasi enterosit mencit dan antibodi dalam beberapa dosis pengenceran protein. Berdasarkan hasil penelitian uji dot blot yang dilakukan Anam (2012), hasil penelitian uji dot blot tersebut menunjukkan reaksi paling awal timbul pada pengenceran protein dan antibodi pada titer 2560/1200. Oleh sebab itu, pengenceran protein ditentukan berdasarkan titer yang mendekati hasil uji dot blot yaitu 1/500, 1/2000 dan 1/8000. Sedangkan eppendorf terakhir tidak disalutkan dengan protein atau disebut kontrol negatif (dosis=0). Untuk antibodi yang digunakan berasal dari purifikasi *Shigella dysenteriae* yang merupakan hasil penelitian Agustina (2012), dengan pengenceran yang mendekati hasil uji dot blot yaitu 1/1500.

Setelah itu dibuat hapusan berdasarkan tingkat pengenceran protein pada kaca objek dan dicat dengan imunositokimia. Dengan menggunakan masing-masing hapusan tersebut, dilakukan penghitungan indeks adhesi berdasarkan hasil imunisitokimia positif dengan menggunakan mikroskop. Imunositokimia positif tervisualisasi sebagai warna coklat yang menunjukkan adanya ikatan antara antibodi dengan protein yang tercat dengan kromogen DAB. Sedangkan imunositokimia negatif tervisualisasi sebagai warna ungu yang menunjukkan tidak adanya reaksi

ikatan antara antibodi dan protein. Penghitungan imunositokimia positif dilakukan pada setiap hapusan termasuk kontrol.

Berdasarkan uji adhesi imunositokimia, tampak perbedaan visualisasi warna dan hasil perhitungan imunositokimia positif pada setiap perlakuan dengan perbedaan dosis pengenceran. Pada enterosit yang dislut dengan protein HA sub-unit pili dengan berat molekul 49,8 kDa *Shigella sonnei* dengan dosis pengenceran 1/500 (gambar 5.1) tampak imunositokimia positif di hampir seluruh sel enterosit. Hal ini disebabkan karena pengenceran 1/500 adalah pengenceran dengan kadar protein yang sangat pekat sehingga hampir seluruh enterosit terslut oleh protein. Imunositokimia menunjukkan hasil yang positif atau berikatan dengan antibodi primer dan tervisualisasi oleh kromogen DAB berwarna coklat.

Pada enterosit dengan peningkatan pengenceran protein 1/2000 atau pengenceran dengan kadar protein yang lebih sedikit, maka semakin sedikit pula enterosit yang terslut oleh protein HA sub-unit pili dengan berat molekul 49,8 kDa *Shigella sonnei*. Hal ini mengakibatkan semakin sedikit pula enterosit yang dikenali oleh antibodi protein HA sub-unit pili 49,8 kDa *Shigella dysenteriae*, sehingga sel enterosit dengan hasil imunositokimia negatif yang tervisualisasi dengan warna ungu semakin bertambah. Demikian pula dengan kadar protein yang lebih sedikit lagi yaitu pada pengenceran 1/8000, sel enterosit dengan hasil imunositokimia negatif semakin bertambah banyak. Hasil ini senada dengan penemuan Avanita (2011) yang menyatakan bahwa akan semakin sedikit protein pili *Shigella sonnei* pada pengenceran yang semakin tinggi. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa

antibodi poliklonal yang digunakan dalam uji imunositokimia tersebut merupakan antibodi molekul adhesin.

Perbedaan hasil imunositokimia positif pada setiap dosis pengenceran juga didukung dengan perhitungan statistik pada 100 sel enterosit. Dengan menggunakan analisis *anova*, diperoleh kesimpulan bahwa perbedaan dosis pengenceran dapat mempengaruhi jumlah imunositokimia positif. Sedangkan dengan uji *post hoc Tukey* menunjukkan adanya perbedaan imunositokimia positif pada masing-masing dosis pengenceran dengan nilai signifikansi ($p=0,000$). Hasil ini kemudian diperkuat kembali dengan uji *korelasi pearson* yang menunjukkan adanya hubungan yang sangat kuat antara dosis pengenceran dan jumlah imunositokimia positif dengan koefisien korelasi *pearson* sebesar 0,967. Semakin tinggi kadar protein HA sub-unit pili dengan berat molekul 49,8 kDa *Shigella sonnei*, maka semakin tinggi pula jumlah imunositokimia positif yang terlihat. Sedangkan pada analisis dengan menggunakan regresi linier, diperoleh *R square* yaitu 0,935 (93,5%). Sehingga bisa dikatakan bahwa 93,5% protein sub-unit pili dengan berat molekul 49,8 kDa dapat melekat ke enterosit seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Dari analisis ini dapat dilihat bahwa ada perbedaan, pengaruh dan hubungan setiap dosis pengenceran protein, sehingga dapat disimpulkan bahwa protein hemaglutinin *Shigella sonnei* berperan sebagai molekul adhesin.

Pengamatan hasil imunositokimia menunjukkan IgG dalam serum mencit memberikan reaksi positif terhadap enterosit yang telah disalut protein HA sub-unit pili dengan berat molekul 49,8 kDa *Shigella sonnei* (gambar 5.1), tampak bahwa protein sub-unit 49,8 kDa *Shigella sonnei* menyalut enterosit mengelilingi membran

selnya. Protein HA sub-unit pili dengan berat molekul 49,8 kDa *Shigella sonnei* dapat dideteksi dengan antibodi poliklonal anti protein HA sub-unit pili *Shigella dysenteriae* 49,8 kDa, sehingga dapat dikatakan bahwa antigen tersebut bersifat imunogenik karena berhasil menginduksi imunitas humoral dari tubuh mencit yang diimunisasi dengan antigen tersebut. Protein HA sub-unit pili dengan berat molekul 49,8 kDa *Shigella sonnei* dapat dijadikan target terapeutik untuk mencegah infeksi. Hal ini berhubungan dengan kemampuannya dalam menempel dengan enterosit dan menghambat perlekatan protein pili penyebab infeksi terhadap enterosit.

