

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

TUGAS AKHIR

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



Oleh:

**Beny Rayen Suhendra
NIM: 105070100111065**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

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

Oleh:

Beny Rayen Suhendra

NIM: 105070100111065

Telah diuji pada
Hari : Rabu

Tanggal : 2 April 2014

dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

DR. dr. Umi Kalsum, M. Kes
NIP. 19510421 198002 1 003

Penguji II/Pembimbing I

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

Penguji III/Pembimbing II

DR. dr. Wisnu Barlianto, Msi Med, SpA (K)
NIP. 19730726 200501 1 008

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 sonnei* 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.

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.

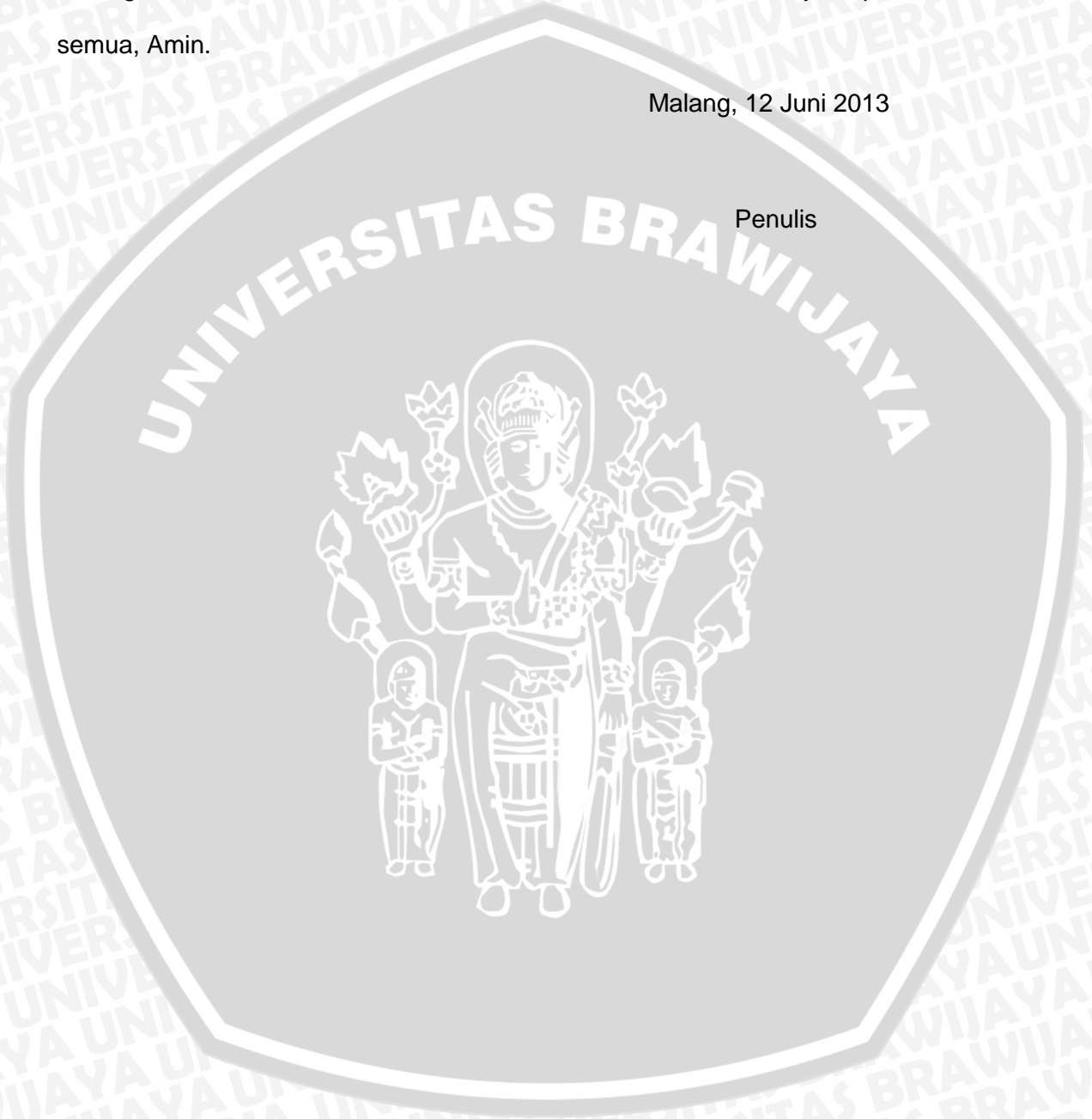
4. Dr. dr. Wisnu Barlianto, Msi. Med, Sp. A(K) sebagai pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, saran, dan masukan, sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
5. DR. dr. Umi Kalsum, M. Kes yang bersedia menjadi ketua tim penguji Tugas Akhir serta memberikan masukan yang berarti untuk perbaikan Tugas Akhir saya.
6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB.
7. 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.
8. Staf 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.
9. Staf 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.
10. Orang-orang terdekatku, Chayang, Wanda, Mada atas bantuan, dukungan, dan motivasinya.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.



Penulis menyadari Tugas Akhir yang telah ditulis sangat jauh dari sempurna, namun penulis berharap Tugas Akhir ini akan dapat memberikan manfaat. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua, Amin.

Malang, 12 Juni 2013

Penulis



ABSTRAK

Suhendra, Beny Rayen. 2014. **Analisis Imunositokimia Uji Adhesi Protein Hemagglutinin Pili 49,8 kDa *Shigella sonnei* terhadap 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) Dr.dr. Wisnu Barlianto, Msi. Med, Sp.A (K).

Di Negara berkembang diare merupakan masalah utama penyebab kematian, termasuk Indonesia. Bakteri dari genus *Shigella* diketahui sebagai salah satu agen penyebab diare. Setiap tahun semakin banyak pelaporan kasus kurangnya efektifitas antibiotik, oleh 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 tingkat keparahan penyakit atau vaksin yang bertujuan mencegah perlekatan pathogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ada proses adhesi antara protein adhesin pili 49,8 kDa *Shigella sonnei* dengan Enterocyte MENCIT Balb-c. Metode yang digunakan adalah dengan metode pewarnaan *Imunositokimia* pada slide dengan pengenceran protein 1/500, 1/2000, 1/8000, dan kontrol negatif (tanpa antibodi) dan pengenceran antibodi 1/1600. 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 *Anova*, korelasi, dan regresi. Hasil uji *Anova* 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 sonnei* 49,8 kDa dengan enterosit.

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

ABSTRACT

Suhendra, Beny Rayen. 2014. **Immunocytochemical Analysis of Hemagglutinin Pili 49,8kDa *Shigella sonnei* Protein Adhesion Test Towards Balb-c Mice Enterocyte In-vitro**. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine of Brawijaya University. Supervisors: (1) Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM., MS., Sp.MK (K) (2) Dr.dr. Wisnu Barlianto, Msi. Med, Sp.A (K).

In developing countries including Indonesia, diarrhea is a major cause of death. Bacteria of the genus *Shigella* is known as one of the causative agents of diarrhea. Every year, there has been more and more reporting cases about the lack of effectiveness of antibiotics, therefore, new methods of treatment of diarrhea are required; one of which is the use of vaccines. The vaccine that is recently widely investigated is a vaccine intended to prevent the severity of the disease or prevent the attachment of pathogens. This study aims to determine if there is a process of adhesion between adhesion pili 49.8 kDa protein of *Shigella sonnei* and Balb-c mice enterocyte. The method used is the *immunocytochemistry* staining on slides with protein dilution 1/500, 1/2000, 1/8000, and a negative control (no antibody) and antibody dilution of 1/1600. Then, calculation was done from the results of microscopy *immunocytochemistry* by the method of calculating 10 fields of view with repetition as much as 4x. Mean values of these calculations were then analyzed with ANOVA statistical test, correlation test, and regression test. Results of ANOVA test showed significant differences in the concentration of each dilution with a confidence level of 95% ($\alpha < 0,05$). Correlation and regression tests showed that with increasing concentrations of dilution, the number of proteins that attach to the enterocytes increased. Therefore, it can be concluded that there is a process of adhesion between *Shigella sonnei* pili adhesin protein of 49.8 kDa and enterocytes.

Keywords: adhesin protein, *pili*, enterocyte, immunocytochemistry, *Shigella*, *Shigella sonnei*, adhesion test.

DAFTAR ISI

Judul	i
Lembar Persetujuan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Gambar	xi
Daftar Tabel	xii
Daftar Lampiran	xiii
Daftar Singkatan	xiv
BAB 1 Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2 Tinjauan Pustaka	5
2.1 <i>Shigellosis</i>	5
2.6 <i>Shigella sonnei</i>	6
2.1.1 Klasifikasi	6



2.1.2 Morfologi dan Karakteristik	7
2.3 Patogenesis Shigellosis	8
2.3.1 Perlekatan Pertama <i>Shigella</i>	9
2.3.2 Pintu Masuk <i>Shigella</i>	11
2.3.3 Invasi	12
2.3.4 Peran Imunitas Awal	13
2.4 Diagnosis.....	15
2.5 Manajemen Terapi.....	15
2.6 Pencegahan dan Kontrol	16
2.7 Vaksin.....	17
BAB 3 Kerangka Konsep dan Hipotesis Penelitian	19
3.1 Kerangka Konsep	19
3.1 Hipotesis penelitian	19
BAB 4 Metode Penelitian	20
4.1 Rancangan Penelitian	20
4.2 Sampel Penelitian.....	20
4.3 Variabel Penelitian	20
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	20
4.5 Bahan dan Alat Penelitian	21
4.5.1 Bahan Penelitian	21
4.5.2 Alat Penelitian.....	21
4.6 Definisi Operasional.....	21



4.7 Prosedur Penelitian	22
4.7.1 Kultur Bakteri	22
4.7.2 Isolasi Protein Pili <i>Shigella sonnei</i>	23
4.7.3 SDS-PAGE	24
4.7.4 Induksi Antibodi <i>Shigella dysentriae</i>	24
4.7.5 Isolasi Sel Enterosit Balb/c	25
4.7.6 Uji Adhesi Protein pili <i>Shigella sonnei</i>	26
4.7.7 Pewarnaan Imunositokimia	27
4.8 Alur Kerja Penelitian	28
BAB 5 Hasil Penelitian.....	30
5.1 Uji Adhesi	30
BAB 6 Pembahasan	35
BAB 7 Kesimpulan Dan Saran.....	39
7.1 Kesimpulan	39
7.2 Saran	39
Daftar Pustaka	40



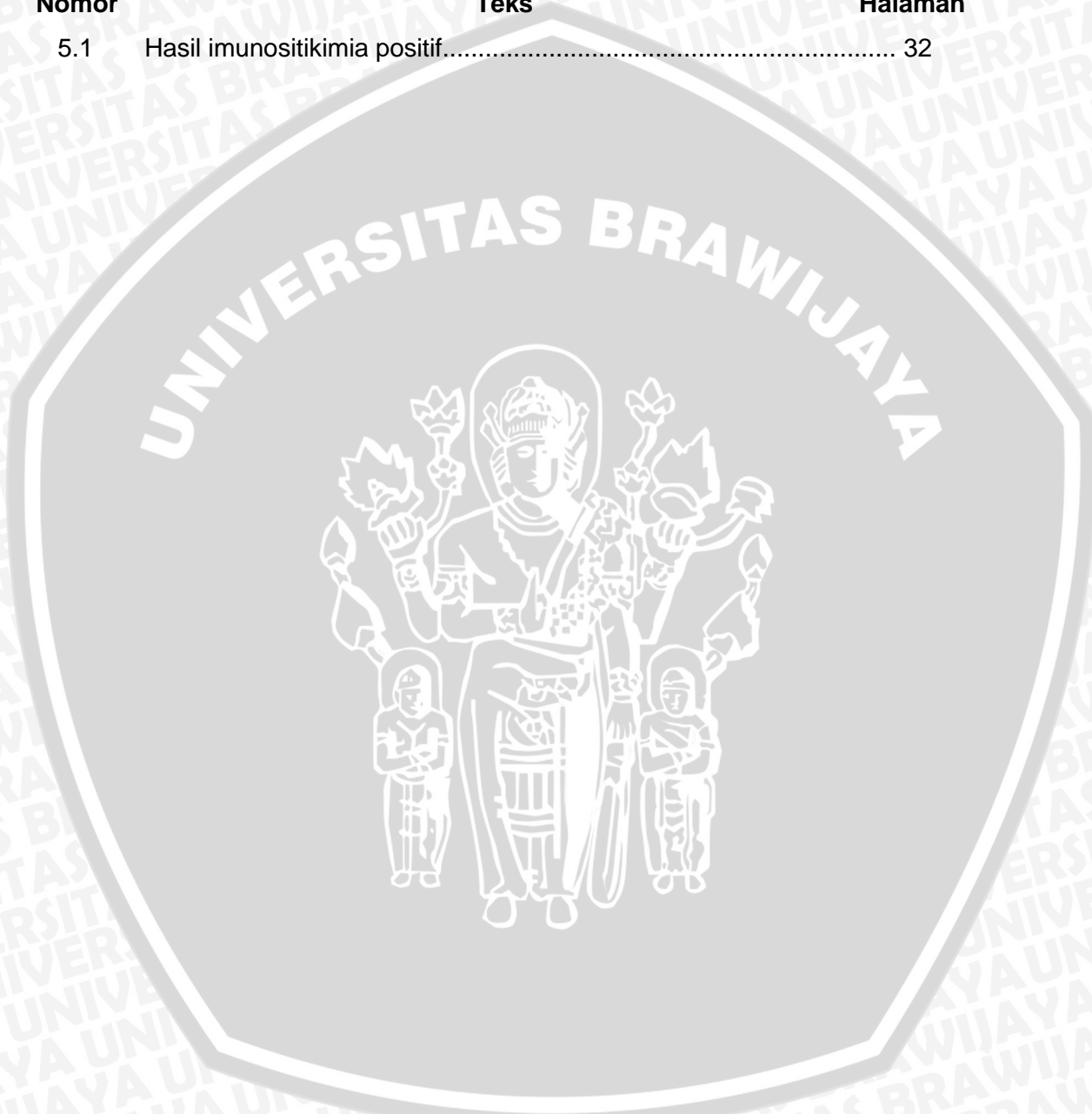
DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
2.1	<i>Shigella sp</i>	7
2.2	Pili <i>Shigella sp</i>	10
2.3	Skema patogenesis <i>Shigella sp</i>	15
3.1	Kerangka konsep.....	19
4.8	Alur penelitian eksploratif.....	28
4.8	Alur penelitian eksperimen.....	29
5.1	Hasil uji adhesi imunositokimia	31
5.2	Jumlah hasil enterosit mencit.....	33



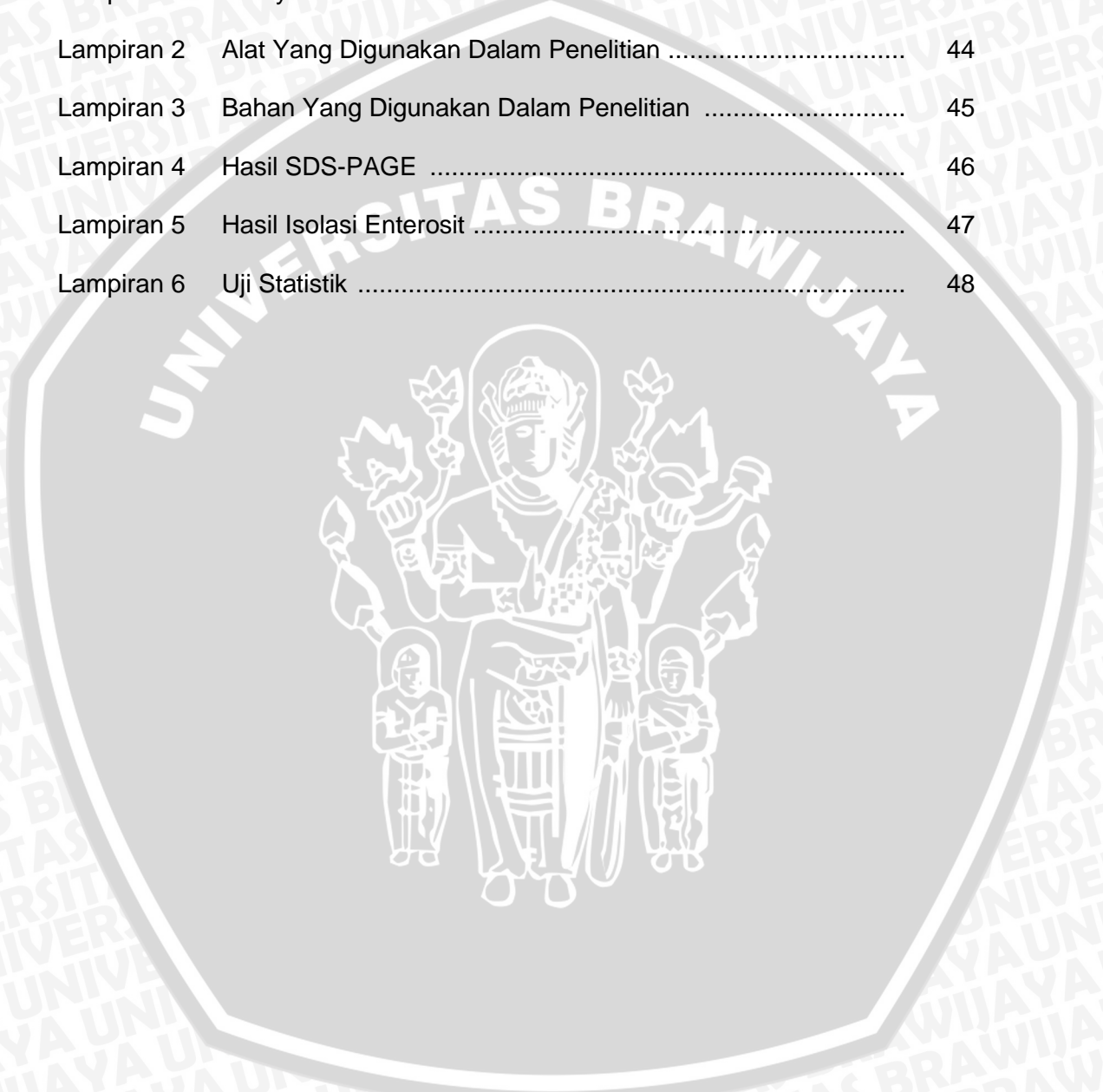
DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
5.1	Hasil imunositikimia positif.....	32



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Pernyataan Keaslian Tulisan	43
Lampiran 2 Alat Yang Digunakan Dalam Penelitian	44
Lampiran 3 Bahan Yang Digunakan Dalam Penelitian	45
Lampiran 4 Hasil SDS-PAGE	46
Lampiran 5 Hasil Isolasi Enterosit	47
Lampiran 6 Uji Statistik	48



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>
EIEC	: <i>Enteroinvasive Escherchia coli</i>
EMB	: <i>Eosin Methylene Blue</i>
FAE	: <i>Follicle-Associated Epithelium</i>
GALT	: <i>Gastrointestinal Associated Lymph</i>
IgG	: <i>Imunoglobulin G</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
Ipa	: <i>Invasion Protein Antigen</i>
KLB	: <i>Kejadian Luar Biasa</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</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>
Sel M	: <i>Sel Microfold</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	: <i>Triple Sugar Iron</i>
XLD	: <i>Xylose Lysin Deoxycolate</i>