BAB 6
PEMBAHASAN

6.1 Produksi Antibodi Poliklonal terhadap Proteasom

Protein Proteasom yang telah diencerkan dan diberikan adjuvan (CFA/IFA) diinjeksikan subkutan kepada kelinci untuk menginduksi terbentuknya antibodi terhadap protein tersebut. Setelah metode ini, yang dilakukan adalah pengecekan spesifisitas antigen-antibodi yang terbentuk pada kelinci tersebut. Hasil identifikasi antibodi kelinci menggunakan *Dot blotting* menunjukkan terbentuknya Ab-Proteasom pada kelinci yang digunakan dalam memproduksi Antibodi. Antibodi dari kelinci inilah yang digunakan sebagai terapi pada kultur *Plasmodium falciparum.* Antibodi yang digunakan pada penelitian ini masih bersifat poliklonal.

Antibodi poliklonal adalah antibodi yang diperoleh dari beberapa sel B atau baris sel, dalam suatu populasi antibodi terdapat lebih dari 1 macam antibodi, atau campuran antibodi yang mengenal epitop yang berbeda pada antigen yang sama. Untuk menghasilkan antibodi poliklonal, binatang seperti ayam, tikus atau kelinci diimunisasi dengan antigen dan adjuvan yang telah dipersiapkan. Penggunaan *Freund's Complete Adjuvant* bertujuan untuk meningkatkan respon imun tubuh inang agar antibodi yang terbentuk cukup banyak. Adjuvan berfungsi sebagai pembawa antigen menuju lokasi sistem imun dan melepaskannya sedikit demi sedikit, sehingga masa pembentukan antibodi berlangsung lebih lama (Baratawidjaja 2006: 432).

Antibodi poliklonal digunakan secara eksperimental dalam kedokteran klinis untuk berbagai alasan. Persiapan antibodi poliklonal umumnya lebih mudah dan lebih murah untuk dihasilkan dibandingkan dengan antibodi monoclonal.

Selain itu, antibodi poliklonal juga mampu bertahan pada berbagai rentang variasi suhu dan PH yang lebih besar. Namun, untuk uji diagnosis tertentu, penggunaan antibodI poliklonal menunjukkan kelemahan. Jumlah masing-masing antibodi dalam sediaan poliklonal dapat berbeda; dan antibodi poliklonal tidak dapat membedakan antara dua target yang serupa. Misalnya jika perbedaan antara bentuk pathogen (target) dan nonpatogen (nontarget) mempunyai determinan yang sama. Akan tetapi masalah ini dapat diatasi sebab saat ini dapat dihasilkan sediaan antibodi yang hanya mengenal determinan tunggal, yang dinamakan antibodi monoklonal (Sudjadi, 2008).

6.2 Mekanisme Pembentukan Protein Terpolibiquitinasi Setelah Pemberian Anti-Proteasom Ubiquitin

Hasil *Western blot* tampak adanya *band*, hal ini menunjukkan adanya akumulasi protein terpoliubiquitinasi. 20S *proteasome* memiliki CP-SU aktif β1, β2, dan β5 dengan aktivitas caspase-like, trypsin-like, dan chymotrypsin-like. Dilaporkan bahwa inhibitor *proteasome* merupakan *fast-acting.* Parasit yang diterapi mengalami hambatan sebelum fase replikasi DNA karena pada fase tersebut merupakan puncak protein terubiquitinasi. Pada penelitian ini, akumulasi protein terubiquitinasi didapatkan pada hasil lisat kultur parasit dari analisis hasil *western blot.*

Ubiquitin-Proteasome System (UPS) merupakan sistem degradasi protein yang sudah tidak digunakan atau protein yang mengalami kesalahan dalam modifikasi post translasi. Seluruh sel eukariot termasuk *Plasmodium spp*, memiliki jalur nonlisosomal utama UPS yang terdiri atas 26S proteasome dan ubiquitin. Sistem ubiquitin-proteasome terdiri atas dua fungsi mayor biologis, yaitu proses *ubiquitylation* dan *proteasome-mediated proteolysis*, yang berperan mengontrol regulasi protein sel melalui pengaturan sinyal reseptor dan degradasi

cyclins, *cyclin-dependent kinase*, *cyclin-dependent kinase* inhibitor selama mitosis, serta mengatur ekspresi gen transkripsi dan progresi siklus sel (Hendhli and Depre, 2009). Fungsi tersebut dilakukan secara sinergis antara ubiquitin yang berperan menandai protein target melalui proses *polyubiqutinitation* dan kemudian degradasi protein oleh subunit proteasome. Oleh karena ini penghambatan pada UPS akan memberikan efek inhibisi pada inisiasi translasi protein dan kegagalan degradasi protein sehingga terjadi stress sel dan berakhir pada kematian sel (Glickman and Maytal, 2002 ; Pritts *et al.,* 2002 ; Takimoto and Diggikar, 2002 ; Vabulas and Hartl, 2005).

Proteasome 26S terdiri dari partikel inti sentral katalitik (proteasom 20S) dan dua partikel regulasi (19S caps) yang berada pada kedua ujung partikel inti (Piwko, 2007). Subkompleks 20S proteasome terdiri dari empat cincin dengan tujuh polipeptida αdanβ subunit (SU) pada setiap cincinnya. Meskipun demikian, hanya subunit β 1, 2, dan 5 yang bersifat proteolitik aktif (Czesny, *et al*, 2009). Pada penelitian ini telah dibuktikan efek penghambatan Antibodi Proteasom terhadap sistem UPS melalui inhibisi proteasom 20S yang berakibat pada kegagalan degradasi protein yang sudah tidak digunakan lagi sehingga berakibat pada penghambatan pertumbuhan *Plasmodium falciparum*. Sehingga hal ini membuktikan bahwa UPS memilik peran yang sangat penting pada pertumbuhan plasmodium sehingga Antibodi Proteasome dapat dijadikan sebagai kandidat terapi maupun vaksin guna pencegahan malaria.