



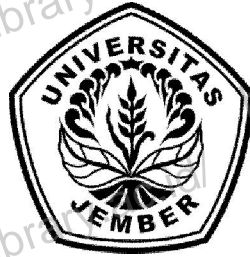
**PERAN PROTEIN PILI *Shigella dysenteriae* 95 kDa SEBAGAI
PROTEIN ADHESIN PADA ENTEROSIT
MENCIT GALUR BALB/c**

SKRIPSI

Oleh

**Reza Kurniawan
NIM 092010101078**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2012**



**PERAN PROTEIN PILI *Shigella dysenteriae* 95 kDa SEBAGAI
PROTEIN ADHESIN PADA ENTEROSIT
MENCIT GALUR BALB/c**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Fakultas Kedokteran Umum (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

**Reza Kurniawan
NIM 092010101078**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2012**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ibunda Siti Faiqotul Himmah, S.Pd dan Ayahanda Drs. A. Sadeli, MM tercinta, atas ketulusan doa, cinta dan kasih sayang serta pengorbanan selama ini;
2. Dosen-dosenku selama berada di Fakultas Kedokteran, guru-guruku sejak SD sampai PT terhormat, yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Reza Kurniawan

NIM : 092010101078

Menyatakan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: “Peran Protein Pili *Shigella dysenteriae* 95 kDa Sebagai Protein Adhesin Pada Enterosit Mencit Galur BALB/c” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 30 Oktober 2012

Yang menyatakan,

Reza Kurniawan
NIM 092010101078

SKRIPSI

**PERAN PROTEIN PILI *Shigella dysenteriae* 95 kDa SEBAGAI
PROTEIN ADHESIN PADA ENTEROSIT
MENCIT GALUR BALB/c**



Oleh

Reza Kurniawan
NIM 092010101078

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Enny Suswati, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Yohannes Sudarmanto

PENGESAHAN

Karya ilmiah Skripsi berjudul “Peran Protein Pili *Shigella dysentriae* 95 kDa Sebagai Protein Adhesin Pada Enterosit Mencit Galur BALB/c” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada :

hari, tanggal : Selasa, 30 Oktober 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes
NIP 197203182003122001

dr. Heni Fatmawati, M.Kes
NIP 197602122005012001

Penguji III,

Penguji IV

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP 197002141999032001

dr. Hairrudin, M.Kes
NIP 197510112003121008

Mengesahkan
Dekan,

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP 197002141999032001

RINGKASAN

Peran Protein Pili *Shigella dysenteriae* 95 kDa Sebagai Protein Adhesin pada Enterosit Mencit Galur BALB/c; Reza Kurniawan; 092010101078; 2012; 39 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Menurut Widoyono (2011), Indonesia sebagai daerah tropis seringkali ditemukan diare dengan etiologi *Shigella*, golongan *Shigella* yang tersering menyerang manusia adalah *S. dysentri* dan *S. flexneri*, sedangkan *S. sonnei* lebih dominan di daerah sub tropis. Gejala klinis yang ditimbulkan *Shigella* adalah diare dengan panas, mual muntah, nyeri perut, volume tinja sedang, frekuensi BAB lebih dari 10 kali/hari, konsistensi lembek, berlendir, dan kadang disertai darah. *Shigella dysenteriae* memiliki berbagai macam faktor virulensi, diantaranya adalah fimbria atau pili. Menurut laporan WHO pada tahun 2009 dari 6 negara Asia (Bangladesh, Cina Pakistan, Indonesia, Vietnam, dan Thailand) menunjukkan bahwa meskipun kejadian Shigellosis tetap stabil, kematian yang terkait dengan penyakit ini telah menurun signifikan, mungkin dikarenakan sebagai akibat asupan nutrisi yang semakin memenuhi standar. Namun penggunaan antibiotik secara luas dan tidak terkontrol telah meningkatkan resiko munculnya resistensi terhadap *Shigella* strain di negara – negara ini.

Tujuan dari penelitian ini secara umum adalah untuk mengetahui bahwa protein hemaglutinin pili *S. dysenteriae* dengan bobot molekul 95 kDa merupakan protein adhesi pada sel epitel usus mencit galur balb/c. Penelitian ini dimulai dengan isolasi protein pili, selanjutnya dilakukan uji hemaglutinasi dan uji adhesi. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium murni. Uji adhesi dilakukan dengan menggunakan protein pili yang telah dilakukan elektroelusi dan dialisis dengan berat molekul 95 kDa, disalutkan pada sel epitel usus mencit dengan dosis konsentrasi 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 dan 0 sebagai kontrol. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2012 – September 2012 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember dan Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Jember.

Hasil penelitian ini menunjukkan pada isolasi berat molekul dari fraksi pili didapatkan protein dengan berat molekul 95 kDa dan 42 kDa. Fraksi pili dengan berat molekul 95 kDa mempunyai reaksi hemaglutinasi positif pada titer 1/32. Hasil Uji Adhesi epitel usus mencit yang disalut protein pili berat molekul 95 kDa menunjukkan bahwa semakin rendah konsentrasi protein yang diberikan, semakin banyak jumlah bakteri yang melekat pada sel epitel usus mencit galur balb/c. Peningkatan ini ditunjukkan dengan hasil olah data yang menunjukkan data uji perbandingan One Way Anova signifikansi 0,000 ($\alpha = 0.05$) sehingga, H_0 ditolak dan H_1 diterima bahwa perbandingan tiap - tiap perlakuan, minimal memiliki 1 data yang berbeda signifikan serta hasil $r^2 = 0.645$ yang berarti 64,5 % jumlah bakteri dipengaruhi konsentrasi protein pili. Koefisien signifikansi 0,001 dengan p value 0,05. Karena signifikansi $< 0,05$ maka, H_0 ditolak dan H_1 diterima sehingga data yang diperoleh menunjukkan hasil yang signifikan.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa protein hemaglutinin pili *S. dysenteriae* dengan berat molekul 95 kDa merupakan protein adhesin karena memiliki peranan menyerupai analog pili. Sebagai kelanjutan dari penelitian ini dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai tipe dan identifikasi N-asam amino terminal serta gen penyandinya. Serta dapat dilakukan penelitian antibodi monoklonal untuk membuktikan apakah protein ini dapat berfungsi sebagai vaksin dan memicu pembentukan antibodi spesifik *Shigella*.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Peran Protein Pili *Shigella dysenteriae* 95 kDa Sebagai Protein Adhesin Pada Enterosit Mencit Galur BALB/c”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tidak terhingga kepada :

1. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama, dan dr. Yohannes Sudarmanto selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu dan pikiran serta perhatiannya untuk memberikan bimbingan dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
3. dr. Enny Suswati, M.Kes yang telah memberikan ijin untuk turut serta dalam proyek penelitian beliau, mengerahkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengajarkan ilmu mikrobiologi molekuler sehingga membuka cakrawala pemikiran saya;
4. Ibunda Siti Faiqotul Himmah, S.Pd dan Ayahanda Drs. A.Sadeli tercinta, atas dukungan moral, doa, semangat, nasehat serta kasih sayang yang tiada terhenti dalam setiap perjalanan kehidupan saya;
5. Drs. Slamain, M.Comp.Sc., Ph.D dan Rina Hayati, S.Pd sekeluarga, atas doa, bimbingan, dan nasehat selama saya berada di Jember seperti layaknya anak sendiri;

6. Adik-adikku, Roza Aulia Nurvianti, dan Ahmad Rafli Akbar yang telah menjadi inspirasi dan motivasi serta keceriaan dan semangat yang diberikan agar terus berusaha menjadi lebih baik.
7. Mbak Lilis dan Mbak Sony, selaku analis laboratorium Mikrobiologi FK UJ yang telah meluangkan waktu dan tenaga selama penelitian ini;
8. Kawan sesama penelitian, Ashoka, Ananta, dan Dian atas kesabaran, kebersamaan, kerja sama, dan semangatnya;
9. Sahabatku Kelompok “anu”, Danny, Yudha, Iqbal, Ashoka, dan Harmas atas persaudaraan, semangat dan persahabatan yang tulus.
10. Teman-teman angkatan 2009 Avicenna, kakak dan adik angkatan serta teman-teman BEM, BPM dan IMSAC atas persaudaraan dan kekompakan ini;
11. Sahabat terbaikku, Hesty Kumalasari atas bantuan doa, perhatian, inspirasi, motivasi, keceriaan dan semangat yang telah diberikan;
12. Semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat disebutkan satu persatu, terima kasih untuk kalian semua.

Penulis juga berterima kasih atas segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya, penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jember, Oktober 2012

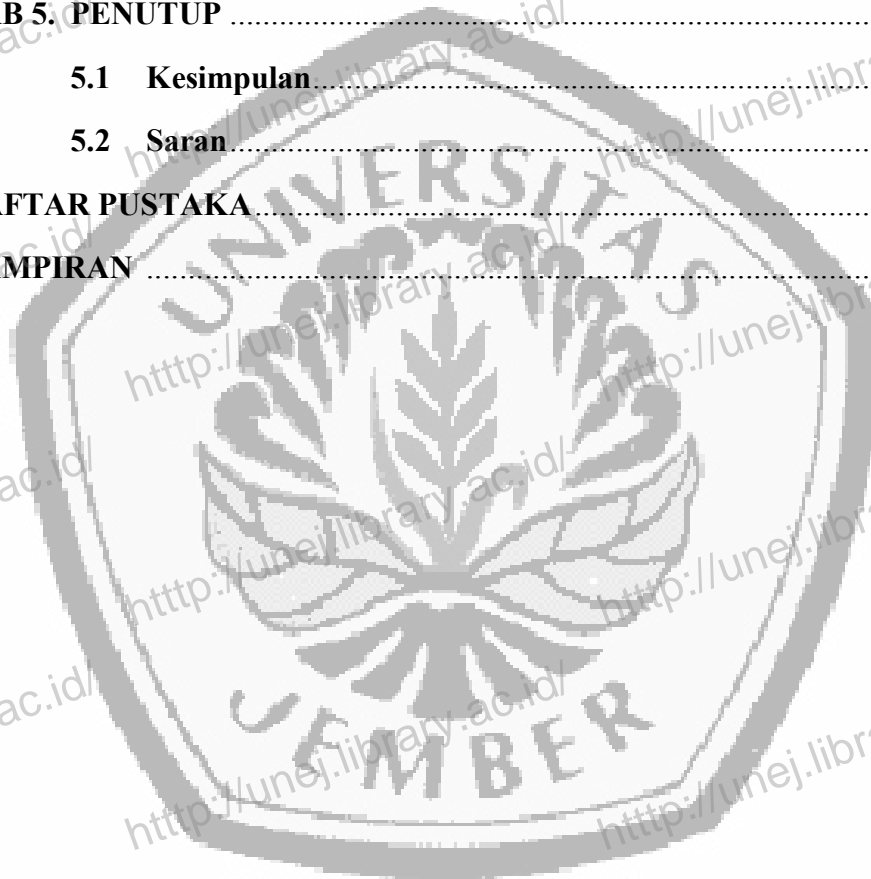
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
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.....	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Taksonomi <i>Shigella dysenteriae</i>	5
2.2 Morfologi <i>Shigella dysenteriae</i>	5
2.3 Reaksi Kimia dan Karakteristik Kultur	6
2.4 Faktor Virulensi	7
2.4.1 Antigen.....	7
2.4.2 Adhesi.....	8
2.4.3 Kemampuan Invasi.....	9

2.4.4	Lipopolisakarida	10
2.4.5	Toksin.....	11
2.5	Kerangka Konseptual.....	12
2.6	Hipotesis.....	12
BAB 3.	METODE PENELITIAN.....	13
3.1	Jenis Penelitian.....	13
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	13
3.3	Teknik Pengumpulan Data.....	13
3.4	Rancangan Penelitian.....	13
3.5	Variabel Penelitian.....	14
3.7.1	Variabel Bebas.....	14
3.7.2	Variabel Terikat.....	14
3.6	Definisi Operasional.....	15
3.7	Alat dan Bahan.....	16
3.6.1	Alat Penelitian.....	16
3.6.2	Bahan Penelitian.....	16
3.8	Prosedur Penelitian.....	16
3.8.1	Metode Kultur <i>Shigella dysenteriae</i>	16
3.8.2	Metode Isolasi Pili <i>Shigella dysenteriae</i>	17
3.8.3	Metode <i>Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electroforesis</i> (SDS-PAGE).....	17
3.8.4	Metode Pemurnian Protein Hemalutinin Pili <i>Shigella dysenteriae</i>	18
3.8.5	Metode Uji Hemaglutinasi.....	18
3.8.6	Isolasi Epitel Usus Mencit Galur BALB/c.....	19
3.8.7	Uji Adhesi.....	19
3.8.8	Metode Uji Hambat Adhesi.....	20
3.9	Analisis Data.....	21

3.10 Alur Penelitian	22
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Hasil	23
4.1.1 Uji Hemaglutinasi	23
4.1.2 Uji Hambat Adhesi	25
4.2 Pembahasan	31
BAB 5. PENUTUP	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	39



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Klasifikasi ilmiah bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	5
2.2 Uji Biokimia untuk membedakan spesies <i>Shigella</i>	6
4.1 Uji hemaglutinasi pili <i>S.dysenteriae</i> pada eritrosit mencit galur balb/c	22
4.2 Hasil uji hemaglutinasi protein pili <i>S.dysenteriae</i> 95 kDa dengan menggunakan eritrosit mencit.	23
4.3 Hasil perhitungan indeks adhesi <i>S.dysenteriae</i> pada enterosit mencit galur balb/c dengan menggunakan protein pili dengan berat molekul 95 kDa.....	27



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Morfologi <i>Shigella sp.</i> dalam mikroskop electron.....	5
2.2 Kerangka konseptual.....	12
3.1 Rancangan Penelitian.....	14
3.2 Alur Penelitian.....	21
4.1 SDS-PAGE Potongan Pili <i>S.dysenteriae</i>	23
4.2 Epitel Usus Mencit dan kuman <i>S.dysenteriae</i> dengan Pengecatan Gram Direkam dengan kamera 3.2 MP merk Samsung pada mikroskop Olympus dengan perbesaran 1000 kali.....	24
4.3 Uji Hambat Adhesi, <i>S.dysenteriae</i> pada epitel usus mencit dengan konsentrasi protein pili 0 (kontrol) Direkam dengan Kamera 3.2 MP merk Samsung dengan mikroskop Olympus Perbesaran 1000 kali.....	25
4.4 Hambat Adhesi dengan Konsentrasi Protein 1.....	26
4.5 Hambat Adhesi dengan Konsentrasi Protein $\frac{1}{2}$	26
4.6 Hambat Adhesi dengan Konsentrasi Protein $\frac{1}{4}$	26
4.7 Hambat Adhesi dengan Konsentrasi Protein $\frac{1}{8}$	26
4.8 Hambat Adhesi dengan Konsentrasi Protein $\frac{1}{16}$	26
4.9 Hambat Adhesi dengan Konsentrasi Protein $\frac{1}{32}$	26
4.10 Diagram Indeks Adhesi <i>S.dysenteriae</i> pada Sel Epitel Usus Mencit dengan Menggunakan Protein Pili 95 kDa.....	28
4.11 Diagram Histogram dan P-P Plot yang menunjukkan distribusi data.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Media Pembenihan.....	39
B. Reagen SDS-PAGE.....	40
C. Reagen Isolasi Epitel Usus.....	42
D. Tabel Hasil Uji Statistik.....	44
E. Dokumentasi Penelitian.....	48

