

PUBLIKASI JURNAL

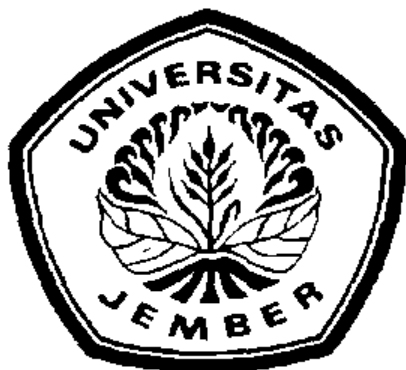
**Analisis Kemampuan *Outer Membrane Protein* (OMP)
237 kDa *Shigella dysenteriae* sebagai Protein Adhesin Sel
Enterosit Mencit BALB/c**

Dr. dr. Enny Suswati, MKes

NIP 197002141999032001

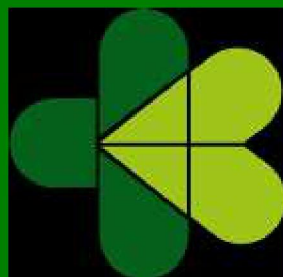
. Staf Pengajar Lab. Mikrobiologi

. Fakultas Kedokteran Universitas Jember



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER**

**Karya Ilmiah dipublikasikan pada:
Jurnal Biotek Medisiana Indonesia
Volume 10 No. 1 2021 Hal 19-28
ISSN: 2301-5810**



JURNAL

Biotek Medisiana Indonesia

The Indonesian Journal of Biotechnology Medicine

Kepekaan terhadap Penisilin pada *Corynebacterium diphtheriae* yang Diisolasi dari Beberapa Wilayah Indonesia Tahun 2018

(Sunarno Sunarno, Novi Amalia, Yudi Hartoyo, Nelly Puspendari, Khariri Khariri, Fauzul Muna, Yuni Rukminiati, Kambang Sariadji, Ida Susanti, Ratih Dian Saraswati, Dwi Febriyana, Tati Febrianti)

Efektivitas Diet Ketogenik Kombinasi dengan Puasa dalam Mengontrol Berat Badan, Kadar HbA1c, dan Profil Lipid pada Tikus Wistar Jantan

(Irfannuddin Irfannuddin, Siti Sarahdeaz Fazaura Putri, Indri Seta Septadina, Ella Amalia, Muhammad Galang Samudra, Velly Ezka Raissa Afifah)

Analisis Kemampuan Outer Membrane Protein (OMP) 237 kDa *Shigella dysenteriae* sebagai Protein Adhesin Sel Enterosit Mencit BALB/c

(Enny Suswati, Ashoka Sulistyasmara, Ika Rahmawati Sutejo, Diana Chusna Mufida)

Expression and Regulation of Gelsolin in the Mouse Epididymis: A Study of its Role in the Sperm Maturation

(Dwi Ari Pujianto, Syaifiyatul H, Silvani Permatasari, Luluk Yunaini)

Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit dari Kulit Batang Tanaman Kayu Jawa (*Lansea coromandelica* (Hout.) Merr.) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Shigella dysenteriae*

(Saiful Bahri, Puteri Amelia, Ayu Hardini, Firdaus Ramadhan, Alfianur Azmi Muhammad)

Pengaruh Penambahan Serasah Daun *Muntingia calabura* terhadap Aktivitas Konsorsium Bakteri Kotoran Kambing dalam Bioremediasi Logam Mn pada Limbah Rumah Sakit

(Ni'matul Murtafi'ah, Fitri Rahmi Fadhilah, Liah Kodariah)

Studi Komputasi Hubungan Aktivitas Senyawa Turunan Asam Galat sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat

(Aji Humaedi, Ernie Halimatushadyah)

Identifikasi Kandidat Vaksin COVID-19 Berbasis Peptida dari Glikoprotein Spike SARS CoV-2 untuk Ras Asia secara *In Silico*

(Firman Rezaldi, Opik Taupiqurrohman, M. Fariz Fadillah, Agus Rochmat, Aji Humaedi, Fitri Fadhilah)

Analisis Kemampuan *Outer Membrane Protein (OMP) 237 kDa Shigella dysenteriae* sebagai Protein Adhesin Sel Enterosit Mencit BALB/c

Analysis of the Ability of 237 kDa Outer Membrane Protein (OMP) Shigella dysenteriae as Adhesin Protein of BALB/c Mice Enterocyte Cells

Enny Suswati^{1*}, Ashoka Sulistyasmara², Ika Rahmawati Sutejo³, Diana Chusna Mufida¹

¹Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember

²RS dr. Soewandhie Surabaya

³Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember

*E-mail: ennysuswati.fk@unej.ac.id

Diterima: 8 September 2020

Direvisi: 22 Oktober 2020

Disetujui: 31 Maret 2021

Abstract

Shigella dysenteriae is the leading cause of bacillary dysentery or shigellosis, causing 1.1 million deaths per year. Adhesion is a very important initial stage in the process of infectious disease. This study was aimed to analyze the ability of the Outer Membrane Protein (OMP) *Shigella dysenteriae* 237 kDa as an adhesive protein for enterocytes of mice BALB/c strain. The research stages included identification of *S. dysenteriae* isolation of OMP *S. dysenteriae*, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), hemagglutination test, isolation of enterocyte of BALB/c mice, and adhesion test. Outer Membrane Protein *S. dysenteriae* 237 kDa is a protein adhesin on enterocytes of BALB/c mice because it can inhibit the adhesion of *S. dysenteriae* bacteria to enterocytes of BALB/c mice. The adhesion index was influenced by the OMP hemagglutinin protein concentration at 78.7% and the remaining 21.3% was influenced by other factors. The conclusion from the results of this study was that OMP *S. dysenteriae* 237 kDa is protein adhesin in enterocytes of BALB/c mice.

Keywords: *haemagglutination test, adhesion index, Outer Membrane Protein, Shigella dysenteriae*

Abstrak

Shigella dysenteriae adalah penyebab utama disentri basiler atau shigelosis, penyebab kematian 1,1 juta jiwa per tahun. Adhesi adalah tahap awal yang sangat penting dalam proses terjadinya penyakit infeksi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kemampuan protein *Outer Membrane Protein (OMP) S. dysenteriae* 237 kDa sebagai protein adhesif enterosit mencit galur BALB/c. Tahapan penelitian terdiri dari identifikasi *S. dysenteriae*, isolasi OMP *S. dysenteriae*, *sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)*, uji hemaglutinasi, isolasi enterosit mencit galur BALB/c, dan uji adhesi. OMP *S. dysenteriae* 237 kDa merupakan protein adhesin pada enterosit mencit galur BALB/c karena dapat menghambat adhesi bakteri *S. dysenteriae* pada enterosit mencit galur BALB/c. Indeks adhesi dipengaruhi oleh konsentrasi protein hemaglutinin OMP sebesar 78,7% dan 21,3% sisanya dipengaruhi oleh faktor lain. Kesimpulan penelitian ini adalah OMP *S. dysenteriae* 237 kDa merupakan protein adhesin pada enterosit mencit galur BALB/c.

Kata kunci: uji hemaglutinasi, indeks adhesi, *Outer Membrane Protein, Shigella dysenteriae*

Pendahuluan

Shigella dysenteriae adalah penyebab disentri basiler atau shigelosis, terbatas pada inang manusia dan primata serta ditularkan melalui jalur oral fekal. *Shigella dysenteriae* dapat bertahan dalam makanan atau air yang terkontaminasi dan memiliki dosis infeksi yang sangat rendah yaitu 10-100 mikroorganisme.¹⁻³

Shigelosis dimulai dengan infeksi akut pada caecum, diikuti oleh invasi bakteri ke mukosa kolon dan menyebabkan gejala kram perut, diare dan demam. Infeksi ini pada anak kecil dan pasien dengan defisiensi imun, tanpa pengobatan dapat menyebabkan kematian pada 10-15% kasus.³ Kejadian shigelosis, diperkirakan mencapai 1,1 juta kematian per tahun. Adanya resistensi obat yang sangat cepat dari spesies *Shigella* terhadap berbagai jenis antibiotik menjadikan shigelosis menjadi masalah yang lebih serius.⁴⁻⁷

Di Indonesia prevalensi diare pada anak sebesar 11%.⁸ Prevalensi shigelosis di Jakarta 11,4% dengan sebaran *Shigella flexneri* (6,7%), *Shigella sonnei* (2,7%), *Shigella boydii* (1,7%) dan *Shigella dysenteriae* (0,76%). Hasil uji kepekaan antibiotik menunjukkan 80-90% *S. flexneri* resisten terhadap ampisilin, tetrasiklin, kloramfenikol, trimetoprim-sulfametoksazol. *S. sonnei* dan *S. boydii* hampir 75%-100% resisten terhadap tetrasiklin dan trimetoprim-sulfametoksazol. Sedangkan semua isolat *S. dysenteriae* (100%) resisten terhadap kloramfenikol dan trimetoprim-sulfametoksazol.⁹

Patogenesis *S. dysenteriae* diawali dengan masuknya *S. dysenteriae* ke dalam tubuh inang melalui oral menuju mukosa saluran cerna dan adhesi. Adhesi adalah tahap awal yang sangat penting dalam proses terjadinya penyakit infeksi, diikuti dengan amplifikasi pada inang, invasi bakteri, cedera jaringan dan penyebaran ke jaringan lain.¹⁰⁻¹³ Adhesin merupakan komponen permukaan sel bakteri yang berkaitan dengan virulensi. Adhesin dapat berupa flagella, fimbria, pili dan *outer*

membrane protein (OMP).¹⁴ OMP merupakan salah satu protein yang disekresi oleh permukaan bakteri Gram negatif termasuk *S. dysenteriae*.^{15,16}

Penelitian pendahuluan telah berhasil mengisolasi OMP *S. dysenteriae* dengan berat molekul 237 kDa. Berdasarkan mortalitas dan morbiditas *S. dysenteriae*, serta peran OMP sebagai faktor yang berperan pada adhesi bakteri pada sel inang oleh karena itu perlu dilakukan analisis OMP *S. dysenteriae* 237 kDa sebagai protein adhesin. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis kemampuan protein *Outer Membrane Protein* (OMP) *S. dysenteriae* 237 kDa sebagai protein adhesin enterosit mencit galur BALB/c.

Metode

Penelitian eksperimental ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Sampel penelitian adalah OMP yang didapat dari bakteri *S. dysenteriae*. Variabel bebas penelitian ini adalah OMP *S. dysenteriae* dengan berat molekul 237 kDa dengan pengenceran 1/32, 1/16, 1/8, 1/4, 1/2, dan 1; variabel terikat adalah indeks adhesi.

Penelitian dilakukan melalui beberapa tahap yaitu identifikasi dan isolasi *S. dysenteriae* dari sampel klinis Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kesehatan Universitas Jember, isolasi OMP *S. dysenteriae*, identifikasi berat molekul OMP bakteri *S. dysenteriae* dengan elektroforesis (SDS-PAGE), pemurnian OMP bakteri, uji hemaglutinasi, isolasi sel enterosit mencit, dan uji adhesi.

Identifikasi *S. dysenteriae*

Bahan klinis secara aseptik ditanam pada media agar *Shigella Salmonella*, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Pewarnaan Gram dan uji biokimia dari koloni sel yang tumbuh mengidentifikasi adanya bakteri *S. dysenteriae*. *S. dysenteriae* dibiakkan pada media *Thiaproline Carbonate Glutamate* (TCG) untuk memperkaya

pertumbuhan pili sesuai dengan protokol Ehara *et al.*¹⁷

Isolasi OMP *S. dysenteriae*

Isolasi OMP *S. dysenteriae* dilakukan dengan modifikasi Evans,¹⁸ sampel diambil dari endapan terakhir isolasi pili yang warnanya mendekati warna PBS, pelet disuspensikan dengan PBS pH 7,4 sampai volumenya 15 kali kemudian ditambahkan *n-octyl B-D-glucopyranoside* (NOG) dengan konsentrasi 0,5%. Suspensi lalu dihomogenkan dengan vorteks menggunakan kecepatan penuh selama 1 menit, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm suhu 4⁰C selama 30 menit. Cairan supernatan diambil dan dilakukan dialisis. Cairan dialisis pada 24 jam pertama menggunakan dH₂O dan pada 24 jam kedua menggunakan PBS pH 7,4 sebanyak 6 kali.

Analisis Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

Berat molekul dianalisis dengan menggunakan SDS-PAGE. Sampel protein dipanaskan 100⁰C selama 5 menit dalam larutan penyangga yang mengandung 5 mM Tris HCl pH 6,8 lalu 2-mercapto ethanol 5%, w/v sodium dodecyl sulfate 2,5%, v/v gliserol 10% dengan warna pelacak *bromophenol blue*. OMP diisolasi dari penempatan mini slab gel 12,5% dengan *tracking gel* 4%. Voltase yang digunakan 125 mV. Bahan yang digunakan adalah *Coomassie brilliant blue* dan molekul standar *sigma low range marker*.

Pemurnian Fraksi Protein OMP

Metode yang dilakukan seperti yang telah dikerjakan oleh Ehara.¹⁷ Dari hasil SDS-PAGE untuk koleksi OMP gel, gel dipotong lurus pada berat molekul yang diinginkan dan potongan pita tersebut dikumpulkan dan dimasukkan dalam membran dialisis atau selophan menggunakan cairan penyangga elektroforesis, *running buffer*. Selanjutnya dilakukan elektroelusi menggunakan alat elektroforesis frontal

dengan aliran 50 volt selama 50 menit. Hasil elektroelusi tersebut dilakukan dialisis dengan cairan penyangga PBS pH 7,4 sebanyak 1 L selama 24 jam, setelah itu, cairan PBS diganti dengan volume yang sama dan dilakukan dialisis selama 24 jam. Cairan hasil dialisis tersebut dilakukan uji hemaglutinasi.

Uji Hemaglutinasi

Uji hemaglutinasi dikerjakan menurut protokol Li.¹⁹ Pengenceran sampel dibuat konsentrasi 1/2 pada *microplate V*, yaitu setiap sumur diberi cairan PBS bervolume 50 µL. Setiap sumur ditambahkan suspensi darah merah mencit dengan konsentrasi 0,5% dalam volume yang sama dan diletakkan dalam suhu kamar selama 1 jam. Besarnya titer ditentukan dengan pengamatan adanya aglutinasi darah merah pada pengenceran yang terendah.

Isolasi Enterosit Mencit

Isolasi enterosit dilakukan menurut metode *Weisser*. Mencit galur BALB/c dianestesi dengan menggunakan kloroform, kemudian diambil bagian ususnya untuk dipotong secara longitudinal dengan panjang 5 cm. Usus halus dicuci dengan PBS pH 7,4 yang mengandung 1 mM dithiothreitol pada suhu 4 °C sampai tampak bersih. Usus mencit galur BALB/c dimasukkan dalam cairan yang mengandung 1,5 mM KCl, 9,6 mM NaCl, 27 mM Na Citrat, 8 mM KH₂SO₄ dan 5,6 mM Na₂SO₄ dengan pH 7,4, selanjutnya jaringan dinkubasi pada shaking inkubator selama 15 menit, dengan suhu 37⁰C. Supernatan dibuang dan jaringan dipindahkan dalam cairan yang mengandung 1,5 mM *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) dan 0,5 mM dithiothreitol.

Jaringan yang berada dalam cairan yang mengandung EDTA dan dithiothreitol disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan penuh, kemudian supernatan dibuang. Jaringan dicuci dengan menggunakan PBS dan

disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 1000 rpm, dan diulang selama 3 kali. Enterosit diisolasi dengan melakukan suspensi pada jaringan dengan menggunakan PBS steril dan selanjutnya dihitung dengan menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 560 nm sampai konsentrasi 10^6 /mL. Satu tetes suspensi jaringan diletakkan pada obyek glass kemudian difiksasi diatas api bunsen lalu dicat dengan menggunakan Safranin atau Gram D dan diamati dibawah mikroskop.

Uji Adhesi

Uji adhesi dilakukan menurut modifikasi Nagayama.²⁰ Proses uji adhesi dimulai dengan membiakkan bakteri *S. dysenteriae* dalam *nutrient broth* pada suhu 37°C pada tabung reaksi, kemudian diinkubasi selama 4 jam. Bakteri diisolasi melalui proses sentrifugasi 6000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C . Supernatan dibuang dan pelet diresuspensi dengan cairan PBS 1 mL lalu proses sentrifugasi diulang sampai 3 kali. Pelet diresuspensi dengan cairan PBS sampai warnanya setara standar *Mc Farland* (10^8 bakteri/ mm^3).

Selanjutnya dilakukan preparasi pengenceran protein pada tabung Eppendorf untuk membuat protein OMP 327 kDa dengan pengenceran 1, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{16}$, dan $\frac{1}{32}$. Selanjutnya setiap dosis ditambahkan suspensi enterosit sebanyak $300 \mu\text{L}$ kemudian digoyang pada *shaking incubator* pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya dalam setiap campuran tersebut ditambahkan suspensi bakteri sebanyak $300 \mu\text{L}$ yang diperoleh dari kultur *S. dysenteriae*. Campuran diinkubasi dengan *shaking waterbath* selama 30 menit pada suhu 37°C . Selanjutnya disentrifugasi 1500 rpm pada suhu 4°C selama 3 menit, kemudian supernatan dibuang dan diganti dengan PBS kemudian dihomogenkan dan disentrifugasi dengan kecepatan yang sama. Kemudian sentrifugasi diulang sekali lagi dengan mengganti supernatan

dengan larutan PBS. Setelah itu endapan diambil dan dibuat hapusan pada gelas objek dan dilakukan pewarnaan Gram. Preparat siap diamati dengan menggunakan mikroskop pembesaran 1000 kali.

Analisis Statistik

Untuk mengetahui protein hemaglutinin pada OMP 237 kDa *S. dysenteriae* sebagai protein hemaglutinin dan adhesin, dilakukan analisis deskriptif dan uji regresi linear untuk mengetahui hubungan indeks adhesi dengan konsentrasi OMP 237 kDa dengan batas signifikansi 0,05 ($p < 0,05$).

Data hasil kemampuan aglutinasi OMP 237 kDa terhadap eritrosit mencit BALB/c dianalisis dengan menggunakan program *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) versi 20. Untuk menganalisis adanya perbedaan indeks adhesi antar pengenceran digunakan uji *one-way ANOVA* jika memenuhi syarat (distribusi data normal dan varians data sama atau homogen). Jika data tidak memenuhi syarat, maka dilakukan transformasi data sampai memperoleh varians data yang homogen. Jika pada uji ANOVA, nilai $p < 0,05$, maka akan dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc least significant differences* (LSD).

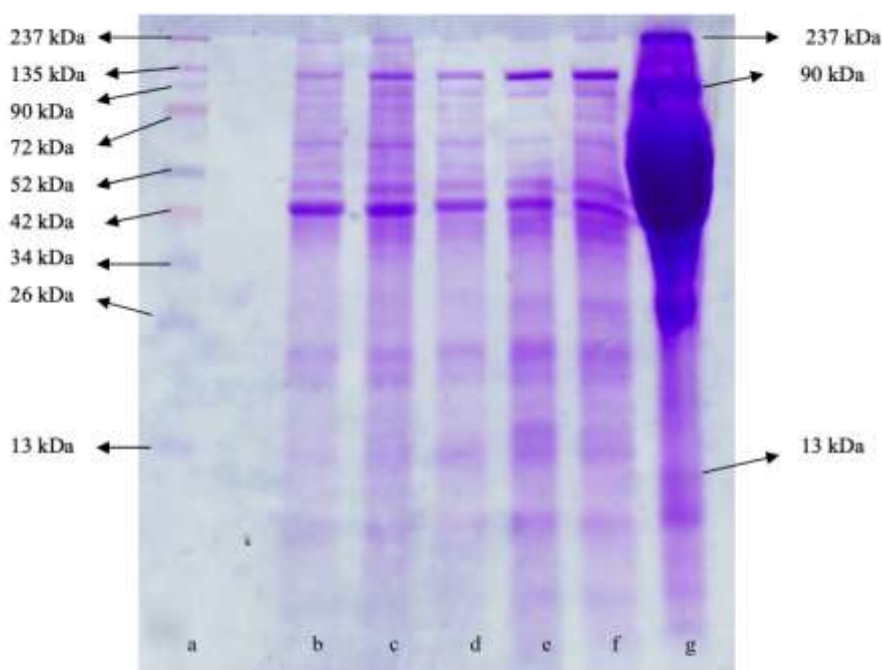
Dengan nilai $p > \alpha$, maka dapat dikatakan bahwa data tersebut memiliki varian data yang homogen. Berdasarkan hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji *Levene* dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi dengan normal dan memiliki varian data yang homogen sehingga memenuhi syarat uji *oneway Anova*. Untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan yang bermakna, analisis data dilanjutkan dengan uji *PostHoc Multipel Comparison least significant differences* (LSD). Perbedaan dinilai bermakna apabila nilai $\alpha < 0,05$ indeks adhesi bakteri *S. dysenteriae* antar konsentrasi.

Uji regresi linear digunakan untuk mengetahui adanya hubungan konsentrasi protein OMP *S. dysenteriae* 237 kDa dengan indeks adhesi pada enterosit mencit BALB/c. Hasil uji regresi dinyatakan dengan persamaan $Y = a + bX$, dengan Y sebagai variabel terikat (indeks adhesi) dan X menyatakan variabel bebas (pengenceran).

Hasil

Profil protein pada hasil SDS-PAGE dari pemotongan bertingkat pada OMP *S. dysenteriae* menunjukkan adanya beberapa

protein yang dominan, antara lain protein dengan berat molekul 237 kDa, 90 kDa, dan 13 kDa (Gambar 1). Pada penelitian ini yang digunakan adalah protein dengan berat molekul 237 kDa. Gel hasil proses SDS-PAGE tersebut dipotong pada berat molekul 237 kDa, lalu dimurnikan melalui proses elektroforesis dan dialisis untuk memperoleh protein murni dari OMP *S. dysenteriae*. Protein yang dihasilkan dari proses tersebut diuji hemaglutinasi pada enterosit mencit galur BALB/c (Tabel 1).



Gambar 1. Profil Protein

Keterangan: a. protein rujukan (*reference*); b Pili 1; c. Pili 2; d. Pili 3; e. Pili 4; f. Pili 5; g. OMP

Uji adhesi *S. dysenteriae* pada enterosit mencit BALB/c yang telah disalut dengan OMP 237 kDa dalam berbagai pengenceran (Gambar 2 dan Tabel 2).

Pengaruh konsentrasi OMP *S. dysenteriae* terhadap indeks adhesi *S. dysenteriae* pada enterosit mencit BALB/c menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi OPM 237 kDa yang disalutkan enterosit, maka semakin sedikit jumlah bakteri *S. dysenteriae* yang menempel pada enterosit mencit BALB/c (Gambar 3).

Berdasarkan hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan data $p = 0,645$. Dari hasil uji *Levene* didapatkan nilai $p = 0,106$. Dengan menggunakan uji *one-way Anova* didapatkan nilai $p < 0,000$ (Tabel 3). Karena $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan indeks adhesi yang bermakna diantara 7 kelompok perlakuan. Dari hasil uji *Post-Hoc Multiple Comparison LSD* dapat dilihat perbedaan indeks adhesi bakteri *S. dysenteriae* antar pengenceran.

Tabel 1. Uji Hemaglutinasi OMP *S. dysenteriae* pada darah mencit galur BALB/c

Materi OMP	Pengenceran										K-	
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512		
Aglutinasi	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan: (-) tidak terjadi aglutinasi; (+) terjadi aglutinasi

Tabel 2. Hasil perhitungan indeks adhesi *S. dysenteriae* pada enterosit mencit galur BALB/c dengan menggunakan OMP *S. dysenteriae* 237 kDa

Ulangan	Pengenceran						0
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	
I	112	148	343	411	548	626	745
II	83	152	329	421	562	650	770
III	93	156	350	460	553	659	709
Rata-rata	96	152	340,67	430	554,33	645	741,33

Tabel 3. Hasil One-Way Anova

Perlakuan/Pengenceran	Jumlah n	Mean ± SE	p Value
0	7	96,33 ± 14,80347	0,000
1/32	7	187,33 ± 14,80347	0,000
1/16	7	310,66 ± 14,80347	0,000
1/8	7	400,66 ± 14,80347	0,000
1/4	7	458,00 ± 14,80347	0,000
1/2	7	589,33 ± 14,80347	0,000
1	7	645,33 ± 14,80347	0,000

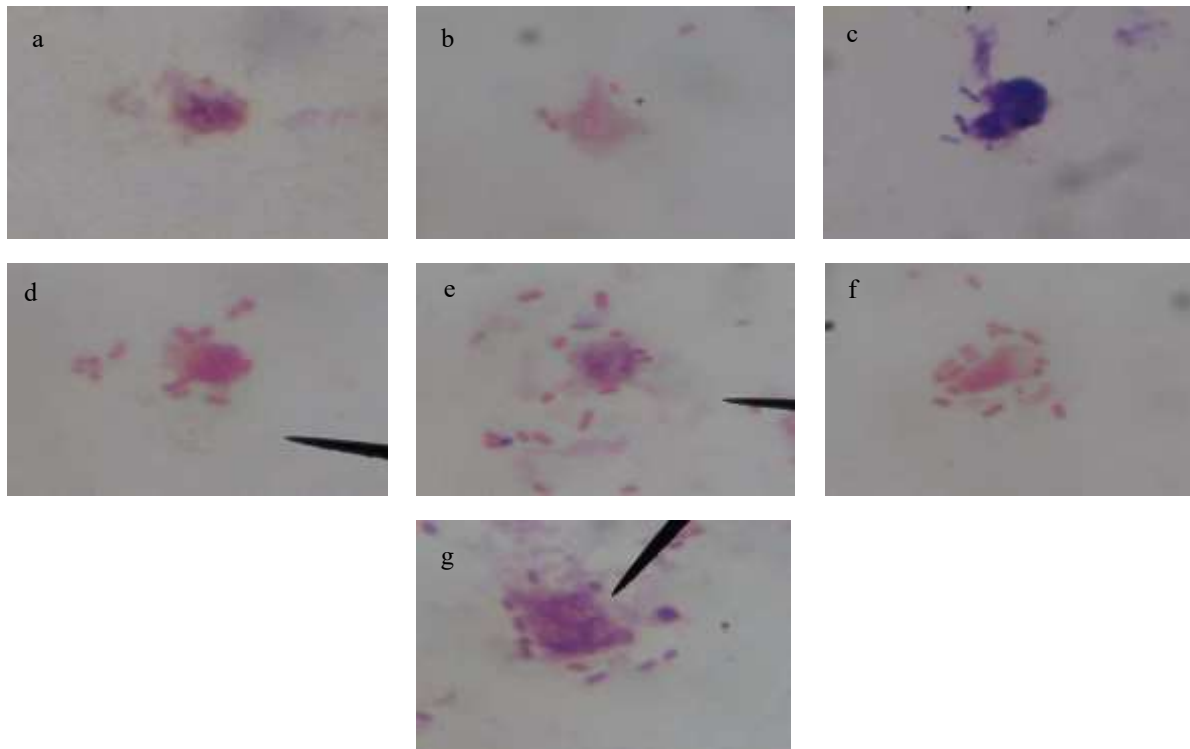
Uji *one-way anova*. Uji *post-hoc LSD* $p < 0,05$

Persamaan regresi linear dengan R: 0,787 adalah $Y = 59,156 - 598,735X$, Y adalah indeks adhesi sedangkan X adalah titer protein OMP 237 kDa.

Berdasarkan uji regresi linier, didapatkan nilai a dan b sebesar 591,156 dan - 598,735 sehingga persamaan garis menjadi $Y = 591,156 - 598,735X$. maka diketahui nilai b = -598,735 dimana b= koefisien regresi. Nilai b bernilai negatif ini menunjukkan peubah yang satu akan bertambah besar dan peubah yang lain bertambah kecil, maka semakin besar nilai dosis protein OMP semakin kecil nilai indeks adhesinya.

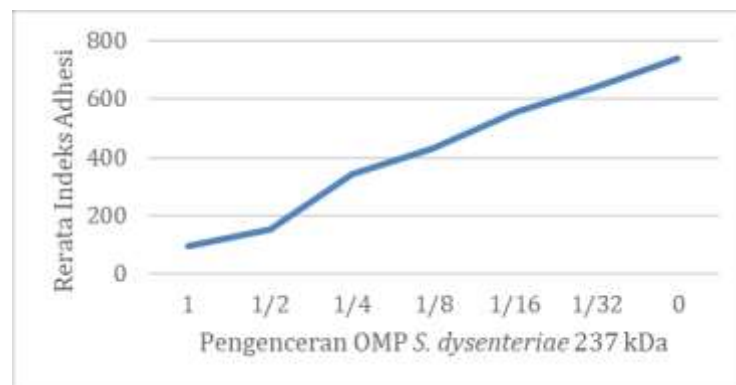
Pembahasan

Uji hemaglutinasi merupakan langkah awal sebelum melakukan uji hambat adhesi, berdasarkan adanya homolog reseptor antara sel darah merah dan enterosit hewan. Pada penelitian ini dilakukan uji hemaglutinasi dan uji adhesi pada enterosit mencit galur BALB/c. Hasil yang diperoleh protein OMP *S. dysenteriae* berat molekul 237 kD mampu menghambat aglutinasi sel darah merah mencit.



Gambar 2. Uji adhesi dengan berbagai pengenceran protein OMP *S. dysenteriae* 237 kDa
Keterangan:

- Perlekatan *S. dysenteriae* pada enterosit saat disalut protein OMP konsentrasi 1
- Perlekatan *S. dysenteriae* pada enterosit saat disalut protein OMP konsentrasi $\frac{1}{2}$
- Perlekatan *S. dysenteriae* pada enterosit saat disalut protein OMP konsentrasi $\frac{1}{4}$
- Perlekatan *S. dysenteriae* pada enterosit saat disalut protein OMP konsentrasi $\frac{1}{8}$
- Perlekatan *S. dysenteriae* pada enterosit saat disalut protein OMP konsentrasi $\frac{1}{16}$
- Perlekatan *S. dysenteriae* pada enterosit saat disalut protein OMP konsentrasi $\frac{1}{32}$
- Perlekatan *S. dysenteriae* (ii) pada enterosit (i) tanpa disalut protein



Gambar 3. Hubungan antara pengenceran OMP *S. dysenteriae* dengan indeks adhesi bakteri *S. dysenteriae* pada enterosit mencit galur BALB/c

Untuk membuktikan peran protein adhesin dari OMP *S. dysenteriae* 237 kDa dilakukan uji adhesi terhadap enterosit mencit BALB/c dalam berbagai pengenceran. Dari hasil uji statistik, terdapat perbedaan bermakna indeks adhesi antar kelompok pengenceran ($p < 0,05$). Demikian juga, hasil uji regresi linear menunjukkan korelasi yang kuat antara titer pengenceran dengan indeks adhesi *S. dysenteriae* pada enterosit mencit BALB/c. Semakin besar pengenceran OMP *S. dysenteriae* 237 kDa semakin besar indeks adhesi *S. dysenteriae* pada enterosit mencit BALB/c.

Hal ini membuktikan bahwa OMP *S. dysenteriae* 237 kDa mempengaruhi proses adhesi *S. dysenteriae* pada enterosit mencit BALB/c. Dasar dilakukannya uji hambat adhesi adalah karena adanya homolog reseptor pada sel darah merah dan enterosit mencit BALB/c. Hasil uji hemaglutinasi menunjukkan protein OMP 237 kDa dapat menghambat aglutinasi eritrosit pada pengenceran $1/32$ sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya terhadap OMP *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumoniae*.^{14,19,21-25}

Kemampuan OMP menggumpalkan sel darah merah terbagi atas dua tipe, yaitu manosa resisten hemaglutinasi (MRHA) dan manosa sensitif hemaglutinasi (MSHA). MRHA akan berubah menjadi MSHA apabila sel darah merah diberi asam tanat 0,01%. Protein hemagglutinin bakteri dapat berasal dari fimbria dan atau OMP. Adhesin pada beberapa bakteri berupa protein yang dapat mengaglutinasi eritrosit yang dikenal sebagai protein hemagglutinin.^{15,26}

Peran OMP 237 kDa *S. dysenteriae* sebagai protein adhesin pada enterosit mencit galur BALB/c ditunjukkan dengan jumlah perlekatan bakteri pada 100 enterosit mencit galur BALB/c.

Jumlah perlekatan bakteri pada 100 enterosit mencit disebut dengan indeks adhesi. Hasil uji hambat adhesi telah menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi OMP *S. dysenteriae* 237 kDa yang disalutkan ke enterosit maka akan semakin sedikit jumlah *S. dysenteriae* yang menempel ke enterosit mencit BALB/c. Hal ini bisa terjadi karena reseptor permukaan enterosit mencit BALB/c sudah dipenuhi oleh OMP *S. dysenteriae* 237 kDa. Dengan demikian adhesi dapat dicegah dan proses patogenesis tidak berlanjut lagi.^{13,26}

OMP *S. dysenteriae* 237 kDa mampu memediasi terjadinya adhesi dengan sel enterosit mencit BALB/c dan mekanisme ini menunjukkan interaksi antara OMP *S. dysenteriae* 237 kDa dengan sel inang yang kuat. Faktor adhesi memberikan target inovatif dan peluang terapi baru dan strategi baru untuk mengendalikan dan mencegah infeksi Shigella.^{26,27}

Kesimpulan

OMP *S. dysenteriae* dengan berat molekul 237 kDa merupakan protein yang berperan sebagai molekul adhesin pada enterosit mencit galur BALB/c.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* untuk mengembangkan antigen yang berasal dari OMP 237 kDa *S. dysenteriae* sebagai calon vaksin untuk menurunkan insidens penyakit shigellosis.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas dukungan fasilitas laboratorium yang digunakan sebagai tempat penelitian.

Daftar Rujukan

1. Murray R.M, Rosenthal KS PM. *Medical Microbiology 8th Edition.*; 2016. doi:10.1093/milmed/155.7.a26
2. Casabonne C, González A, Aquili V, Balagueá C. Prevalence and virulence genes of Shigella spp. Isolated from

- patients with Diarrhea in Rosario, Argentina. *Jpn J Infect Dis.* 2016;69(6):477-481. doi:10.7883/yoken.JJID.2015.459
3. Mattock E, Blocker AJ. How do the virulence factors of shigella work together to cause disease? *Front Cell Infect Microbiol.* 2017;7(MAR):1-24. doi:10.3389/fcimb.2017.00064
 4. Al-Dahmoshi HOM, Al-Khafaji NSK, Al-Allak MH, Salman WK, Alabbasi AH. A review on shigellosis: Pathogenesis and antibiotic resistance. *Drug Invent Today.* 2020;14(5):793-798.
 5. Wallace MJ, Fishbein SRS, Dantas G. Antimicrobial resistance in enteric bacteria: current state and next-generation solutions. *Gut Microbes.* 2020;12(1). doi:10.1080/19490976.2020.1799654
 6. Anderson M, Sansonetti PJ, Marteyn BS. Shigella diversity and changing landscape: Insights for the twenty-first century. *Front Cell Infect Microbiol.* 2016;6(APR):1-9. doi:10.3389/fcimb.2016.00045
 7. Lima IFN, Havt A, Lima AAM. Update on molecular epidemiology of Shigella infection. *Curr Opin Gastroenterol.* 2015;31(1):30-37. doi:10.1097/MOG.000000000000136
 8. Kementerian Kesehatan RI Badan Penelitian dan Pengembangan. Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar. *Kemertrian Kesehat Republik Indones.* Published online 2018:1-100. <http://www.depkes.go.id/resources/download/info-terkini/hasil-risikesdas-2018.pdf>
 9. Meiyanti M, Salim OC, Herwana E, Kalumpiu J V, Lesmana M. Antibiotic susceptibility of Salmonella, Shigella and Vibrio isolated from diarrhea patients in Jakarta, Indonesia. *J Kedokt dan Kesehat Indones.* 2016;7(3):95-101. doi:10.20885/jkki.vol7.iss3.art4
 10. Barlag B, Hensel M. The giant adhesin SiiE of salmonella enterica. *Molecules.* 2015;20(1):1134-1150. doi:10.3390/molecules20011134
 11. Qin Y, Lin G, Chen W, Xu X, Yan Q. Flagellar motility is necessary for Aeromonas hydrophila adhesion. *Microb Pathog.* 2016;98:160-166. doi:10.1016/j.micpath.2016.07.006
 12. Patel S, Mathivanan N, Goyal A. Bacterial adhesins, the pathogenic weapons to trick host defense arsenal. *Biomed Pharmacother.* 2017;93:763-771. doi:10.1016/j.biopha.2017.06.102
 13. Bakhshi B, Barzelighi HM, Daraei B. The anti-adhesive and anti-invasive effects of recombinant azurin on the interaction between enteric pathogens (invasive/non-invasive) and Caco-2 cells. *Microb Pathog.* 2020;147:104246. doi:10.1016/j.micpath.2020.104246
 14. Wang X, Teng D, Guan Q, et al. Escherichia coli outer membrane protein F (OmpF): an immunogenic protein induces cross-reactive antibodies against Escherichia coli and Shigella. *AMB Express.* 2017;7(1). doi:10.1186/s13568-017-0452-8
 15. Mahmoud RY, Stones DH, Li W, et al. The Multivalent Adhesion Molecule SSO1327 plays a key role in Shigella sonnei pathogenesis. *Mol Microbiol.* 2016;99(4):658-673. doi:10.1111/mmi.13255
 16. Whelan R, McVicker G, Leo JC. Staying out or going in? The interplay between type 3 and type 5 secretion systems in adhesion and invasion of enterobacterial pathogens. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):1-33. doi:10.3390/ijms21114102
 17. Ehara M, Iwami M, Ichinose Y, Shimotori S, Kangethe SK, Nakamura S. Purification and characterization of fimbriae from fimbriate Vibrio cholerae O1 strain Bgd17. *Trop Med.* 1991;33(4):109-125.
 18. Evans DJ, Evans DG, Young LS, Pitt J. Hemagglutination typing of Escherichia coli: Definition of seven hemagglutination types. *J Clin Microbiol.* 1980;12(2):235-242. doi:10.1128/jcm.12.2.235-242.1980
 19. Suswati E, Mufida DC. Protein Haemagglutinin Outer Membran Protein (OMP) 35 kDa sebagai Protein Adhesin Proteus mirabilis pada Vesika Urinaria Kelinci. *J Natur Indones.* 2010;12(2):136. doi:10.31258/jnat.12.2.136-142
 20. Nagayama K, Oguchi T, Arita M, Honda T. Purification and characterization of a cell-associated hemagglutinin of Vibrio parahaemolyticus. *Infect Immun.* 1995;63(5):1987-1992. doi:10.1128/iai.63.5.1987-1992.1995
 21. Milliana A, Noorhamdani AS, Poeranto S, et al. Antibodies against shigella flexneri adhesion molecule outer membrane protein (OMP) can cross-react with OMPs of some shigella species. *Trop J Pharm Res.* 2017;16(2):255-262. doi:10.4314/tjpr.v16i2.2
 22. Prasad KP. Comparative Protective Antigenicity of 37 Kda Major Outer Membrane Protein (Omp) and 61 Kda whole Cell Extracted Protein of Edwardsiella tarda in Rohu (Labeo rohita). *Vaccines Vaccin Open Access.* 2016;1(1). doi:10.23880/vvoa-16000104
 23. Reddy PN, Makam SS, Kota RK, et al.

- Functional characterization of a broad and potent neutralizing monoclonal antibody directed against outer membrane protein (OMP) of *Salmonella typhimurium*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2020;104(6):2651-2661. doi:10.1007/s00253-020-10394-5
24. Agustina D, Nadyatara K, Mufida DC, Elfiah U, Shodikin MA, Suswati E. Faktor Virulensi Outer Membrane Protein 20 kDa *Klebsiella pneumoniae* sebagai Protein Hemagglutinin dan Adhesin. *eJournal Kedokt Indones*. 2019;7(3):200-204. doi:10.23886/ejki.7.10425.
25. Prawiro SR, Veteran J, Java E. HEMAGGLUTININ PROTEIN 35.7 kDa ACTS AS AN ADHESION MOLECULE IN THE OUTER MEMBRANE PROTEIN (OMP) OF SHIGELLA DYSENTERIAE. *Int J Pharm Sci Res*. 2017;8(10):4180-4185. doi:10.13040/IJPSR.0975-8232.8(10).4180-85
26. Stones DH, Krachler AM. Against the tide: The role of bacterial Adhesion in host colonization. *Biochem Soc Trans*. 2016;44(6):1571-1580. doi:10.1042/BST20160186
27. Rachael B. Chanin, a, b * Kourtney P. Nickerson, a, b * Alejandro Llanos-Chea, a B, * Jeticia R. Sistrunk C, * David A. Rasko C, et al. *Shigella flexneri*. *Definitions*. 2020;4(6):1-23. doi:10.32388/573rju