

Protein hemagglutinin pili *Proteus mirabilis* 20 kDa sebagai protein adhesin

Jurnal :

Spirulina, vol 3 no. 2 Juni 2008; 171-183

Oleh :

Diana Chusna Mufida
197203182003122001

Nip.

Septa Surya Wahyudi
197809222005011002

NIP.

Enny Suswati
197002141999032001

Nip.



**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN
PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN**

PROTEIN HEMAGLUTININ PILI *Proteus mirabilis* 20 kDa SEBAGAI PROTEIN ADHESIN

Diana Chusna Mufida*, Septa Surya W**, Eddy Suswati*

* Laboratorium Mikrobiologi FK Universitas Jember

**Laboratorium Patologi Klinik FK Universitas Jember

Abstract

Proteus mirabilis is opportunistic and nosocomial pathogen that usually found in clinical specimen from patient with cateter. The pathogenic mechanism of this bacteria are not fully elucidated especially potential activity of its protein as hemagglutinin and adhesion molecule. The aim of these study was to evaluate the role of 20 kDa fimbria protein from *P. mirabilis*. After identification bacteria isolation of fimbria fraction 12,5 % SDS-PAGE had been used to isolated fimbria protein, following hemagglutinin test and in vitro adhesion test. The result showed that the 20 kDa fimbria protein of *P. mirabilis* was a hemagglutinin protein that could agglutinate mice erythrocytes and rabbit erythrocytes . The 20 kDa pili protein was also adhesion protein that had been revealed by its activity to adherence to receptor rabbit vesica urinaria epithelium. The increased dose of 20 kDa pili protein will decrease the mount of *P. mirabilis* bacteria to adherence to rabbit vesica urinaria epithelium ($p < 0,05$).

Key words: *Proteus mirabilis*, pili, hemagglutinin protein, adhesion protein

PENDAHULUAN

Insiden infeksi saluran kemih (ISK) merupakan salah satu penyakit infeksi yang sering ditemukan di praktek umum dan juga merupakan infeksi nosokomial yang sering terjadi di rumah sakit, pada pasien yang mengalami anomali pada saluran kemih dan memakai idwelling kateter meskipun berbagai macam antibiotika telah tersedia di pasaran. Menurut National Nosocomial

Infection Survailance (NNIS), jumlahnya sekitar 35% dari seluruh infeksi nosokomial (Gales et al, 2000).

Penyebab ISK yang didapat di rumah sakit ini sebagian besar adalah *Eschericia coli*, kemudian diikuti *Kleibsiella*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, dan *Enterococcus*. Tetapi pada pasien yang menggunakan kateter *P. mirabilis* merupakan penyebab tersering ISK. *P. mirabilis* merupakan

bakteri penyebab ISK ke-3 setelah *E. coli* dan *Kleibselia pneumoniae*, serta merupakan penyebab ke-2 bakteriuria yang disebabkan penggunaan kateterisasi jangka panjang (Rozalski, 1997).

P. mirabilis lebih sering mengakibatkan infeksi pada ginjal dibandingkan *E. coli*. Selain itu pyelonefritis oleh *P. mirabilis* menyebabkan kasus kematian lebih tinggi dan lebih luas serta menyebabkan kerusakan pada renal yang irreversible. Pyelonefritis oleh *P. mirabilis* cenderung untuk kronis atau kambuh lagi karena urease yang dihasilkan bakteri mem[permudah terbentuknya kalkulus di ginjal (Moayeri *et al*, 1991).

P. mirabilis telah tumbuh dari 28 swab (22,6%) pada anak laki-laki yang tidak disirkumsisi dan telah tumbuh dari 1 swab (1,7%) dari anak laki-laki yang telah disirkumsisi. Hal ini mendukung gagasan bahwa mungkin kulup zakar merupakan sumber infeksi saluran kemih yang disebabkan oleh *P. mirabilis* (Glennon *et al*, 2003). Faktor pencetus lainnya adalah lithiasis, obstruksi saluran kemih, penyakit ginjal polikistik, nekrosis papiler, diabetes mellitus pasca transplantasi ginjal, nefropati analgesik, penyakit sickel-sel, senggama, dan kehamilan (Sukandar, 2006)

P. mirabilis mempunyai beberapa faktor virulensi yaitu fimbriae/pili, hemolisin, flagella, imunoglobulin A Proteus, deaminase dan urease (Wassif, 1995). Fimbria dan flagella berperan dalam perlekatan dan kolonisasi pada epitel saluran kemih.. Patogenesis bakteri untuk menyebabkan penyakit, secara umum terdapat dua tahap. Tahap pertama, bakteri memiliki kemampuan melekat pada sel inang, yang selanjutnya pada tahap kedua yaitu, terjadi perkembangbiakan yang disertai dengan produksi beberapa bahan hasil metabolisme bakteri yang dapat merugikan sel inang misalnya, toksin (Salyer and Whitt, 2002). Kemampuan bakteri untuk melakukan perlekatan diperantarai oleh molekul adhesi pada bakteri dan molekul reseptor dari sel host. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya protein hemagglutinin pili yang berfungsi sebagai molekul adhesi.

METODE PENELITIAN

Identifikasi *P. mirabilis*

Isolasi dan identifikasi *P. mirabilis* menggunakan cara microbact system. Spesimen secara aseptik ditanam pada medium agar Mac Conkey dan diinkubasi pada suhu 37°C, 18-24 jam.

Koloni yang tumbuh dibuat pewarnaan Gram dan dilihat dibawah mikroskop. Identifikasi bakteri dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopis yaitu bakteri bentuk batang atau kokobasil. Jika dikultur pada media agar akan tampak fenomena swarming. Uji phenilalanin+, urease+, H₂S+, ornithin+, indole-, fermentasi adonitol-, inositol-.

Subkultur *P. mirabilis*

Bakteri yang digunakan adalah *P. mirabilis* galur lokal yang berasal dari urin pasien bakteriuria, Metode yang digunakan menurut petunjuk Ehara (1992), yaitu media TCG yang memperkaya pertumbuhan pili *P. mirabilis*. Media ini mengandung 0,02% thio-proline, 0,3% NaHCO₃, 0,15 bacto tryton, 0,2% yeast extract, 0,5% NaCl, 2% bacto agar dan 1mM EGTA. Media agar dibuat dalam botol kapasitas 250 ml secara miring sebanyak 50 ml agar. *Proteus mirabilis* yang dipilih ditanam pada media Brain Heart Infusion (BHI) yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 jam. Kemudian suspensi bakteri sebanyak 10 ml dimasukkan dalam setiap botol yang

mengandung media TCG. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37 °C selama 2x24 jam.

Isolasi Fimbria *P. mirabilis*

Pili dipanen dari 50 botol biakan bakteri. Hasil koleksi bakteri ditambahkan tri klor acetit acid (TCA) sampai konsentrasi 3%. Setelah dikocok rata diletakkan pada suhu kamar selama 1 jam dan tiap 15 menit di kocok. Selanjutnya disentrifugasi 6000 rpm selama 10 menit pada suhu 4 °C. Pelet diambil dan diresuspensi dengan cairan PBS pH 7,4 dengan perbandingan 1: 10. Bakteri dicukur dengan menggunakan mixer sendiri. Bakteri dicukur dengan kecepatan penuh selama 1 menit, diulang sampai 5 kali dengan masa istirahat 1 menit. Hasilnya dilakukan sentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 12000 rpm suhu 4°C, Pili yang terletak dibagian atas diambil. Endapan disuspensi dengan larutan dan cara yang sama seperti di atas dan dikumpulkan dengan cara mencukur ulang sampai beberapa kali, sampai dihasilkan supernatant yang menunjukkan tes aglutinasi negative.

Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electroforesis (SDS-PAGE)

Monitoring berat molekul dikerjakan menggunakan SDS-PAGE (Smeds *et al*, 2001). Sampel protein dipanaskan 100°C selama 5 menit dalam larutan penyangga yang mengandung 5mM Tris HCl pH 6,8, 2- mercapto ethanol 5%, w/v sodium dodecyl sulfat 2,5%, v/v gliserol 10% dengan warna pelacak bromophenol blue. Dipilih mini slab gel 12,5% dengan tracking gel 4%. Voltase yang digunakan 125 mV. Bahan yang digunakan adalah coomassive brilliant blue dan molekul standart *sigma low range marker*.

Pemurnian Fraksi Protein Pili

Metode yang dilakukan seperti yang telah dikerjakan oleh Ehara dengan modifikasi (Sumarno,2000). Hasil SDS-PAGE koleksi pili gel, gelnya dipotong lurus pada bobot molekul yang diinginkan dan potongan pita tersebut dikumpulkan dan dimasukkan dalam membrane dialisa memakai cairan penyangga elektroforesis, running buffer. Selanjutnya dilakukan elektroelusi menggunakan elektroforesis frontal pparatus aliran 125 mv selama 25 menit.

Hasil elektroforesis dilakukan dialisis dengan cairan penyangga PBS pH 7,4 selama 2x24 jam @ 1 liter dan diganti 2 kali. Cairan dialisat tersebut dilakukan uji hemaglutinasi..

Uji Hemaglutinasi

Uji hemaglutinasi dikerjakan menurut petunjuk dari Li (1999). Pengenceran sampel dibuat konsentrasi 1/2 pada mikropelat V, dimana tiap sumur volumenya 50 µl. Tiap sumur ditambahkan suspensi darah merah mencit konsentrasi 0,5% volume sama. Kemudian digoyang dengan rotator plate selama 1 menit. Selanjutnya diletakkan dalam suhu kamar selama 1 jam. Besarnya titer ditentukan dengan pengamatan adanya aglutinasi darah merah pada pengenceran yang terendah.

Isolasi Sel Epitel Vesica Urinaria Kelinci

Kelinci yang dipakai adalah kelinci yang sehat dengan kira-kira 1,5 kg. Kelinci dianestesi dengan menggunakan kloroform, kemudian diambil bagian vesica urinaria dipotong dan dibuka. Vesica urinaria dicuci dengan PBS pH 7,4 yang mengandung 1mM dithiothretiol pada suhu 4°C sampai

tampak bersih. Setelah itu vesica urinaria dimasukkan dalam cairan yang mengandung 1.5mM KCl, 9.6 mMNaCl, 27 mMNa Citrat, 8 mM KH₂SO₄ dan 5.6 mM Na₂HPO₄ dengan pH 7.4, selanjutnya jaringan diinkubasi pada shaking incubator selama 15 menit, dengan suhu 37°C. Supernatan dibuang dan jaringan dipindahkan dalam cairan yang mengandung 1.5 mM EDTA dan 0.5 mM dithiothretiol. Lalu digojok kuat selama 15 menit pada suhu 37°C, kemudian supernatant dibuang. Jaringan dicuci dengan PBS dan disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 1000rpm, dan diulang sebanyak 3 kali. Epitel vesica urinaria diisolasi dengan melakukan suspensi pada jaringan dengan menggunakan PBS steril dan selanjutnya dihitung dengan spektrofotometer panjang gelombang 560nm sampai konsentrasi 10⁶/ml. Epitel vesika urinaria ini siap untuk dilakukan uji adhesi, uji hambat adhesi dan siap diambil protein membrannya.

Uji Adhesi

Uji adhesi modifikasi Nagayama (1995), pada uji adhesi bakteri *P. mirabilis*

dibiakkan dalam laktosa broth pada suhu 37°C. Selanjutnya bakteri dipanen dengan menggunakan sentrifugasi 6000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Endapan disuspensi dengan PBS dan kandungan bakteri dibuat 10⁸ml dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600nm. Kemudian 1ml bakteri dengan 1 ml sel epitel vesica urinaria dihomogenkan, pada kontrol. Sedangkan pada perlakuan epitel disalut dahulu dengan protein selama 30 menit, baru ditambah dengan bakteri lalu diinkubasi pada *shaking waterbath* dengan goyangan pelan selama 30 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya campuran bakteri dan epitel vesika urinaria disentrifugasi sebanyak 2 kali dengan rotasi 1000 rpm selama 5 menit. Setelah disentrifugasi, supernatan dibuang dan pelet ditambah dengan PBS steril. Campuran antara pelet dan PBS tersebut dihomomogenkan dan dibuat preparat. Selanjutnya preparat tersebut dilakukan pengecatan Gram serta siap dihitung indeks adhesinya.

Analisis Statistik

Menggunakan uji regresi dengan batas signifikan 0,05.

HASIL PENELITIAN

Setelah dilakukan identifikasi bakteri *P. mirabilis* dari urin penderita ISK dengan menggunakan Microbach, maka selanjutnya bakteri tersebut dikultur pada media bifasik, TCG-BHI untuk memper-kaya pertumbuhan pili. Setelah

48 jam bakteri tersebut dipanen dan dilakukan pemotongan pili. Setelah dilakukan pemotongan pili secara bertingkat, sampai warna supernatan potongan pili ,dilakukan uji hemaglutinasi dengan hasil sebagai berikut , seperti tampak pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji hemaglutinasi berbagai potongan pili *P mirabilis* pada eritrosit mencit terhadap berbagai pengenceran

Pemotongan	Pengenceran									
	1X	2X	3X	4X	5X	6X	8X	9X	10X	
I	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
II	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
III	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
IV	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

Hasil uji hemaglutinasi ini menunjukkan bahwa pada potongan pili yang ke-2, 3, dan 4 menunjukkan titer yang sama, yaitu pengenceran sampai 8

kali. Selanjutnya potongan pili dilakukan SDS-PAGE untuk memprediksi berat molekul protein, dengan hasil seperti pada Gambar 1 .



Gambar 1. Hasil SDS-PAGE berbagai potongan pili *P mirabilis*. Sumur 1 merupakan protein perunut, sumur 2 potongan pili ke-1, sumur 3. potongan pili ke -2, sumur 4 potongan pili ke -3, sumur 5 potongan pili ke-4,

Profil protein pada SDS-PAGE dari beberapa potongan pili *P. mirabilis* menunjukkan protein yang menonjol yaitu protein dengan berat molekul 45 kDa, 35 kDa, 23kDa dan 20 kDa . Selanjutnya protein yang menonjol

tersebut dipotong dan dilakukan elektroelusi dan dialisis, sehingga diperoleh protein larutan. Dari hasil elektroelusi dan dialisis protein pili tersebut dilakukan uji hemaglutinasi pada eritrosit kelinci.

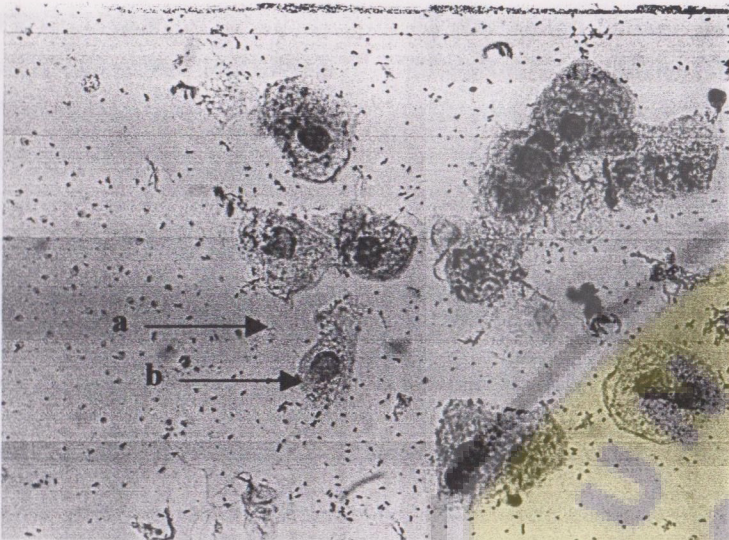
Tabel 2. Uji hemaglutinasi pili 20 kDa *P mirabilis* pada eritrosit kelinci terhadap berbagai pengenceran

Berat protein	pengenceran								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
20kDa	+	+	+	+	-	-	-	-	-

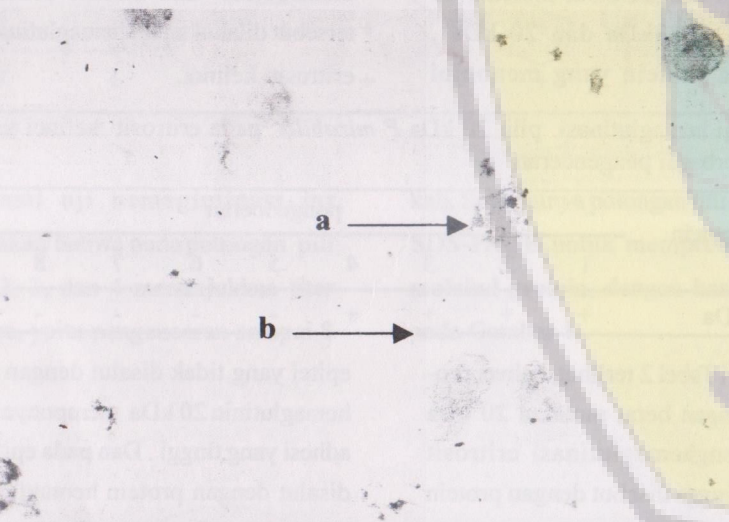
Dari Tabel 2 terlihat, bahwa protein pili dengan berat molekul 20 kDa mampu menghemaglutinasi eritrosit kelinci, sehingga disebut dengan protein hemagglutinin. Kemudian protein hemagglutinin 20 kDa tersebut , dilakukan uji adhesi secara in vitro pada epitel vesika urinaria kelinci, dengan hasil

epitel yang tidak disalut dengan protein hemagglutinin 20 kDa mempunyai indeks adhesi yang tinggi . Dan pada epitel yang disalut dengan protein hemagglutinin 20 kDa indeks adhesi mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya dosis protein tersebut. Lebih jelasnya terlihat pada Gambar 2 dan 3.

Handwritten note: 176 - 177 - 15



Gambar 2. Adhesi *Proteus mirabilis* pada epitel vesika urinaria kelinci. Tampak bakteri *Proteus mirabilis* (a) menempel pada epitel vesika urinaria kelinci (b).



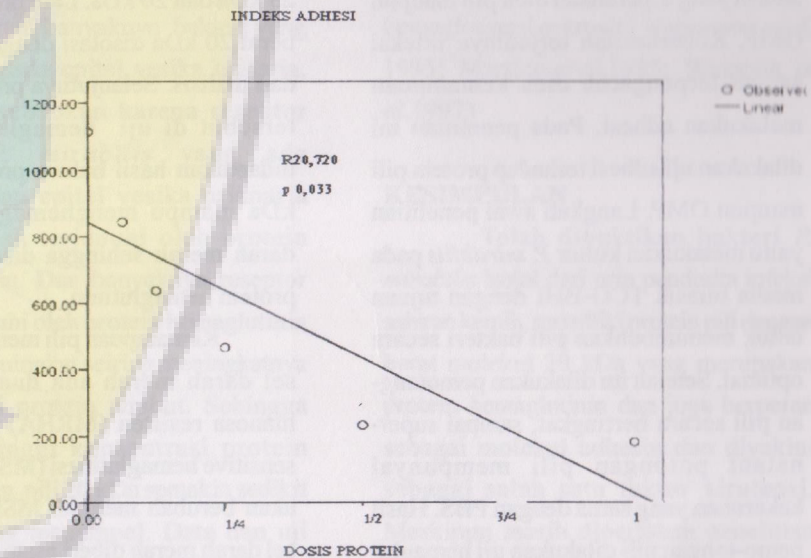
Gambar 3. Hambat adhesi dengan menggunakan protein pili 20 kDa dengan konsentrasi 1/4. Tampak bakteri *Proteus mirabilis* (a) yang menempel ke epitel vesika urinaria (b).

Sedangkan hasil perhitungan indeks adhesi pada berbagai konsentrasi protein hemaglutinin 20 kDa tampak pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil perhitungan indeks adhesi *Proteus mirabilis* pada epitel vesika urinaria kelinci dengan berbagai konsentrasi protein hemaglutinin pili 20 kDa

Ulangan	Indeks adhesi					
	Dosis protein					
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	0
I	182	322	544	732	876	1084
II	176	346	434	873	948	1076
III	178	284	536	758	972	1180

Selanjutnya hasil perhitungan indeks adhesi tersebut dilakukan uji linier dan diperoleh hasil R^2 0.720 dengan p 0.033 (Gambar 4).



Gambar 4. Uji regresi linier indeks adhesi *Proteus mirabilis* pada epitel vesika urinaria.

Fakta empirik berdasarkan hasil uji regresi menunjukkan bahwa hubungan antara indeks adhesi berbagai dosis protein pili 20 kDa adalah menurun seiring dengan meningkatnya dosis protein. Berdasarkan konsep adhesi data ini menunjukkan bahwa protein hemagglutinin pili dengan berat molekul 20 kDa merupakan protein adhesi.

PEMBAHASAN

P. mirabilis termasuk dalam family Enterobacteriaceae, dalam proses awal terjadinya penyakit melalui proses adhesi yang diperankan oleh pili maupun OMP. Keberhasilan terjadinya infeksi sangat terpengaruh oleh kemampuan melakukan adhesi. Pada penelitian ini dilakukan uji adhesi terhadap protein pili maupun OMP. Langkah awal penelitian yaitu melakukan kultur *P. mirabilis* pada media bifasik TCG-BHI dengan tujuan untuk menumbuhkan pili bakteri secara optimal. Setelah itu dilakukan pemotongan pili secara bertingkat, sampai supernatant potongan pili mempunyai kekeruhan yang sama dengan PBS. Hasil pemotongan pili dilakukan uji hemagglutinasinya terhadap sel darah merah. Pada tahap ini dilakukan uji hemagglutinasinya dengan menggunakan sel darah merah

mencit. Dari uji hemagglutinasinya diperoleh hasil, semua potongan pili *P. mirabilis* mampu menghemagglutinasinya sel darah merah pada pengenceran ke -2 untuk potongan pili yang pertama dan pengenceran ke -8 pada potongan pili yang ke-2 sampai yang ke-4.

Langkah selanjutnya adalah mengetahui berat molekul yang terkandung dalam pili dengan SDS-PAGE. Berdasarkan hasil SDS-PAGE, pada Gambar 1, dapat dilihat, pili *P. mirabilis* mengandung protein dominan dengan berat molekul 45 kDa, 35 kDa, 23 kDa dan 20 kDa. Lalu protein dengan berat 20 kDa disolasi dengan cara elusi dan dialisis. Selanjutnya protein larutan tersebut di uji hemagglutinasinya, dan didapatkan hasil bahwa protein pili 20 kDa mampu menghemagglutinasinya sel darah merah sehingga disebut dengan protein hemagglutinin.

Kemampuan pili menggumpalkan sel darah merah ada dua tipe, yaitu manosa resisten (MRHA) dan manosa sensitive hemagglutinasinya (MSHA). MRHA akan berubah menjadi MSHA apabila sel darah merah diberi asam tanat 0,01%. Penelitian yang dilakukan oleh Sareneva (1990) menunjukkan bahwa *P. mirabilis* mempunyai pili yang bersifat manosa

resisten (MR/P) dengan berat molekul 21 kDa. Selain itu Rozalki (1997) melakukan penelitian *P. mirabilis* juga mempunyai protein pili yang hanya mampu melakukan hemagglutinasinya setelah diberi asam tanat dengan berat molekul 19,5 kDa dan disebut MR/K. Ada kemungkinan protein hemagglutinin dengan berat molekul 20 kDa merupakan MR/P.

Langkah lanjut penelitian ini adalah melakukan uji adhesi protein hemagglutinin pili 20 kDa. Dari uji adhesi ini didapatkan hasil bahwa konsentrasi protein hemagglutinin pili 20 kDa mempengaruhi banyaknya bakteri yang menempel pada epitel vesika urinaria. Hal ini disebabkan karena reseptor bakteri *P. mirabilis* yang ada dipermukaan epitel vesika urinaria kelinci telah terjenuhi oleh protein hemagglutinin. Dan banyaknya reseptor yang terjenuhi oleh protein hemagglutinin semakin meningkat seiring meningkatnya konsentrasi protein tersebut. Sehingga semakin tinggi konsentrasi protein hemagglutinin pili 20 kDa semakin sedikit bakteri yang menempel. Data dan uji statistik perhitungan protein adhesinya ini dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 4. Secara empirik hasil uji adhesi

tersebut menunjukkan bahwa protein hemagglutinin pili berat molekul 20 kDa merupakan protein adhesin. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Sumarno pada *Vibrio cholera* O1M09V, bahwa protein hemagglutinin pili maupun OMP merupakan protein adhesin. Demikian juga pada *Acinobacter baumannii* protein F 16 merupakan protein hemagglutinin yang juga berperan sebagai protein adhesin (Noorhamdi, 2005). Pada bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Helicobacter pylori* memiliki molekul adhesin yang mampu melakukan hemagglutinasinya eritrosit (Nagayama *et al*, 1995; Martino *et al*, 1995; Winarsih *et al*, 1997)

KESIMPULAN

Telah dibuktikan bakteri *P. mirabilis* isolat dari urin penderita infeksi saluran kemih, memiliki protein pili dengan berat molekul 20 kDa yang merupakan protein hemagglutinin dan juga berperan sebagai molekul adhesin dan diyakini sebagai salah satu faktor virulensi. Meskipun masih diperlukan penelitian lebih lanjut, molekul protein adhesin dapat dikembangkan sebagai kandidat vaksin dalam upaya pencegahan infeksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ehara M. Ishibashi M. Ichinose Y. Iwanaga M. Schimotori S. Naito T. 1986. Purification and Partial Characterisation of Fimbriae of *Vibrio cholera* 0-1. *Vaccine*; 5: 283-286.
- Gales CA. Jones NR. Gordon AK. Sarden SH. Wilke WW. Beach LM. Plaffer AM. Doern VG. 2000. Activity and Spectrum of 22 Antimicrobial Agent Tested Against Urinary Tract Infection Pathogens in Hospitalized patient in Latin America: report from the second year of the Sentry Antimicrobial Surveillance Program. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 45: 295-303.
- Glennon J. Ryan PJ. Keane CT. Ress JP. 2003. Circumcision and Periurethral Carriage of *Proteus mirabilis* in Boys. *National Children's Hospital, Dublin*
- Li Xin., Johnson ED. Mobley TLH. 1999. Requirement of MrpH for Manno-sa-Resistant *Proteus* Like fimbriae Mediated Hemagglutination by *Proteus mirabilis*. *Infection and Immunity*. 67: 2822-2833.
- Martino PD. Bertin Y. Girardeau JP. Livrelli V. Joly B. Darfeuille-Michaud A. 1995. Molecular Characterization and Adhesive Properties of CF29K, an Adhesin of *Klebsiella pneumoniae* Strain involved in Nosocomial Infection. *Infect Immun* 63: 4336-4344.
- Moayari N. Collins. Carleen M. O'Hanley P. 1991 Efficacy of *Proteus mirabilis* Outer Membrane Protein Vaccine in Preventing Experimental *Proteus* pyelonephritis in ABALB/c Mouse Model. *Infect Immun* 59: 3778-3786.
- Nagayama K. Oguchi T. Arita M. Honda T. 1995. Purification and Characterization of a Cell-Associated Hemagglutinin of *Vibrio parahaemolyticus*. *Infect Immun* .63: 1987-1992.
- Noorhamdani. 2005 . Protein Fimbria 16kDa Bakteri *Acinobacter baumannii* dari Urin Penderita Infeksi Saluran Kemih Berperan sebagai Protein Hemagglutinin dan Adhesin. *Jurnal Ilmu Kedokteran Brawijaya* 21 : 44-52.
- Rozalski A. Sidorczyk Z. Kotelko K. 1997. Potential Virulence Factors of *Proteus bacilli*. *Microbiology and Molecular Biology Review*. 61 : 65-89.
- Salyer AA. and Whitt DD. 2002. *Bacterial Pathogenesis A molecular Approach*. Washington DC: ASM Press
- Sareneva T. Holthofer H. Korhonen KT. 1990. Tissue Binding Affinity of *Proteus mirabilis* Fimbria in the Human Urinary Tract. *Infect Immun* 58 : 3330-3336.
- Smeds A. Hemmann K. Jakava-Viljanen S. Pelkonen H. Imberechs A. Palva. 2001. Characterization of Adhesin of *Escherichia coli* F18 Fimbria. *Infection and Immunity*. 69:7941-7945.
- Sumarno. 2000. *Karakterisasi Molekuler Protein Adhesi Vibrio cholera O1M094V dan Protein Reseptornya pada Sel Epitel Usus Halus Tikua Putih (Wistar)*. Studi Patogenesis *Vibrio cholera* O1M094V. [Disertasi] Surabaya: Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.
- Wassif C. Cheek D. Belas R. 1995. Molecular Analysis of Metalloprotease from *Proteus mirabilis*. *Journal of Bacteriology* 167: 5790-5798.
- Winarsih S, Sumarno and Roekminingsih, 1997. Kajian Fungsi dan Sifat Immunogenitas Protein Hemagglutinin 32kDa dan 20kDa pada *Helicobacter pylori*. *Majalah Kedokteran Universitas Brawijaya* 13: 135-141