

Berkala **PENELITIAN**
HAYATI

Journal of Biological Researches

ISSN : 08526834
e-ISSN : 2337-389X

Volume 15 No. 11-16
2019




PBI
East Java

##plugins.themes.bootstrap3.accessible_menu.label##

- ##plugins.themes.bootstrap3.accessible_menu.main_navigation##
- ##plugins.themes.bootstrap3.accessible_menu.main_content##
- ##plugins.themes.bootstrap3.accessible_menu.sidebar##

Berkala PENELITIAN HAYATI

ISSN : 0852-6834 | e-ISSN : 2337-389X

HOME
CURRENT
ARCHIVES
EDITORIAL TEAM
CONTACT
ABOUT 
 REGISTER
 LOGIN

Home Archives Vol 15 No 1 (2009): December 2009

DOI: <https://doi.org/10.23869/bphjbr.15.1.%25y>

Articles

Amplifikasi Gen CRY1 dan Analisis Genom Isolat *Bacillus thuringiensis* Lokal

Dwi Suryanto



<https://doi.org/10.23869/229>



views: 171 |  downloads: 144



Accepted Dwi Suryanto 15(1) 2009

STATUS KUALITAS SUNGAI MUSI BAGIAN HILIR DITINJAU DARI KOMUNITAS FITOPLANKTON

Hilda Zulkifli, Husnah, Moh. Rasyid Ridho, Suhodo Juanda

 <https://doi.org/10.23869/231>

 views: 86 |  downloads: 41

 Accepted Hilda Zulkifli 15(1) 2009


5-9

PERAN PROTEIN MEMBRAN LUAR 55 kDa Salmonella typhi ISOLAT JEMBER SEBAGAI PROTEIN HEMAGLUTININ DAN ADHESIN

Diana Chusna Mufida, Candra Bumi, Heni Fatmawati

 <https://doi.org/10.23869/234>

 views: 178 |  downloads: 119

 Accepted Diana Chusna Mufida 15(1) 2009

11-16

GROWTH PERFORMANCE AND COCOON PRODUCTION OF SILKWORM (*Bombyx mori* L) ON DIFFERENT FREQUENCY OF FEEDING AND AGE OF LEAVES

Priyantini Widiyaningrum

 <https://doi.org/10.23869/235>

 views: 126 |  downloads: 59

 Accepted Priyantini Widiyaningrum 15(1) 2009

17-20

KARAKTER PROTEIN ICP11 PADA DNA UDANG VANNAMEI (*Penaeus vannamei*) YANG TERINFEKSI White Spot Syndrome Virus (WSS V)

Yuni Kilawati, Win Darmanto

 <https://doi.org/10.23869/236>

 views: 196 |  downloads: 130

 Accepted Yuni Kilawati 15(1) 2009

21-24

IDENTIFIKASI DAN KLASIFIKASI BAKTERI AMILOLITIK ISOLAT TG12, TG19, DAN TG31 PENYEBAB KEMASAMAN PADA TEPUNG SAGU BASAH BERDASARKAN ANALISIS GEN 16SrDNA

Tri Gunaedi, Sebastian Margino, Langkah Sembiring, Rarastoeti Pratiwi

 <https://doi.org/10.23869/237>

 views: 169 |  downloads: 85

 Accepted Tri Gunaedi 15(1) 2009

25-30

BIOFERTILISASI BAKTERI *Rhizobium* PADA TANAMAN KEDELAI (*Glycine Max* (L) Merr.)

Tini Surtiningsih, Farida, Tri Nurhariyati


 <https://doi.org/10.23869/238>
 views: 904 |  downloads: 626

 Accepted Tini Surtiningsih 15(1) 2009
31-35

DAYA ANTIMIKROBA EKSTRAK *Lecythophora* sp., ENDOFIT YANG DIISOLASI DARI *Alyxia reinwardtii*




Noor Erma Sugijanto, H. Putra, F. Pritayuni, N. Albathaty, Noor Cholies Zaini


 <https://doi.org/10.23869/239>
 views: 129 |  downloads: 81

 Accepted Noor Erma Sugijanto 15(1) 2009
37-44

BIOLOGI REPRODUKSI IKAN JUARO (*Pangasius polyuranodon*) DI DAERAH ALIRAN SUNGAI MUSI, SUMATRA SELATAN

Yunizar Ernawati, Eko Prianto, A. Ma'suf


 <https://doi.org/10.23869/240>
 views: 120 |  downloads: 73

 Accepted Yunizar Ernawati 15(1) 2009
45-52

VARIASI TEMPORAL MAKANAN IKAN SEPAT LAYANG (*Trichogaster leerii*, Blkr. 1852) DI HUTAN RAWA GAMBUT DESA DADAHUP, KALIMANTAN TENGAH

Ahmad Zahid, MF. Rahardjo, Sutrisno Sukimin, Lenny S. Syafei


 <https://doi.org/10.23869/241>
 views: 142 |  downloads: 66

 Accepted Ahmad Zahid 15(1) 2009
53-62

PENGUJIAN EFEKTIVITAS BEBERAPA ISOLAT CENDAWAN MIKORIZA ARBUSKULA (CMA) TERHADAP BIBIT PISANG (*Musa AAB RAJA NANGKA*) ASAL KULTUR JARINGAN

Rainiyati, Chozin, Sudarsono, Mansur

 <https://doi.org/10.23869/242>
 views: 106 |  downloads: 36

 Accepted Rainiyati 15(1) 2009
63-69

PEMBUATAN PUPUK BOKASHI DARI SAMPAH LINGKUNGAN BERDASARKAN RANCANGAN PERCOBAAN CAMPURAN YANG OPTIMUM PADA MODEL PERMUKAAN MULTIRESPON

Ruslan, Susanti Linuwih, Puhadi, Sony Sunaryo, Sri Nurhatika

 <https://doi.org/10.23869/243>

 views: 124 |  downloads: 141


 Accepted Ruslan 15(1) 2009
71-76

DAMPAK PEMANENAN KAYU DENGAN TEKNIK REDUCED IMPACT LOGGING TERHADAP KERUSAKAN TEGAKAN SISA DI HUTAN ALAM

Muhdi

 <https://doi.org/10.23869/258>

 views: 203 |  downloads: 281

 Accepted Muhdi 15(1) 2009
77-84

PENGGUNAAN ANTIMIKROBA DARI ISOLAT *Lactobacillus* TERSELEKSI SEBAGAI BAHAN PENGAWET ALAMI UNTUK MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *VIBRIO* SP. DAN *Staphylococcus aureus* PADA FILLET IKAN KAKAP

Titin Yulinery, I.Y. Petria, Novik Nurhidayat

 <https://doi.org/10.23869/259>

 views: 356 |  downloads: 182


 Accepted Titin Yulinery 15(1) 2009
85-92

Studi Keanekaragaman Reptil dan Amfibi di Kawasan Ekowisata Linggo Asri, Pekalongan, Provinsi Jawa Tengah

Rury Eprilurahman, Muhammad Fahrul Hilmy, Tony Febri Qurniawan

 <https://doi.org/10.23869/260>

 views: 518 |  downloads: 407

 Accepted Rury Eprilurahman 15(1) 2009
93-97

About

[Aims and Scope](#)

[Open Access Policy](#)

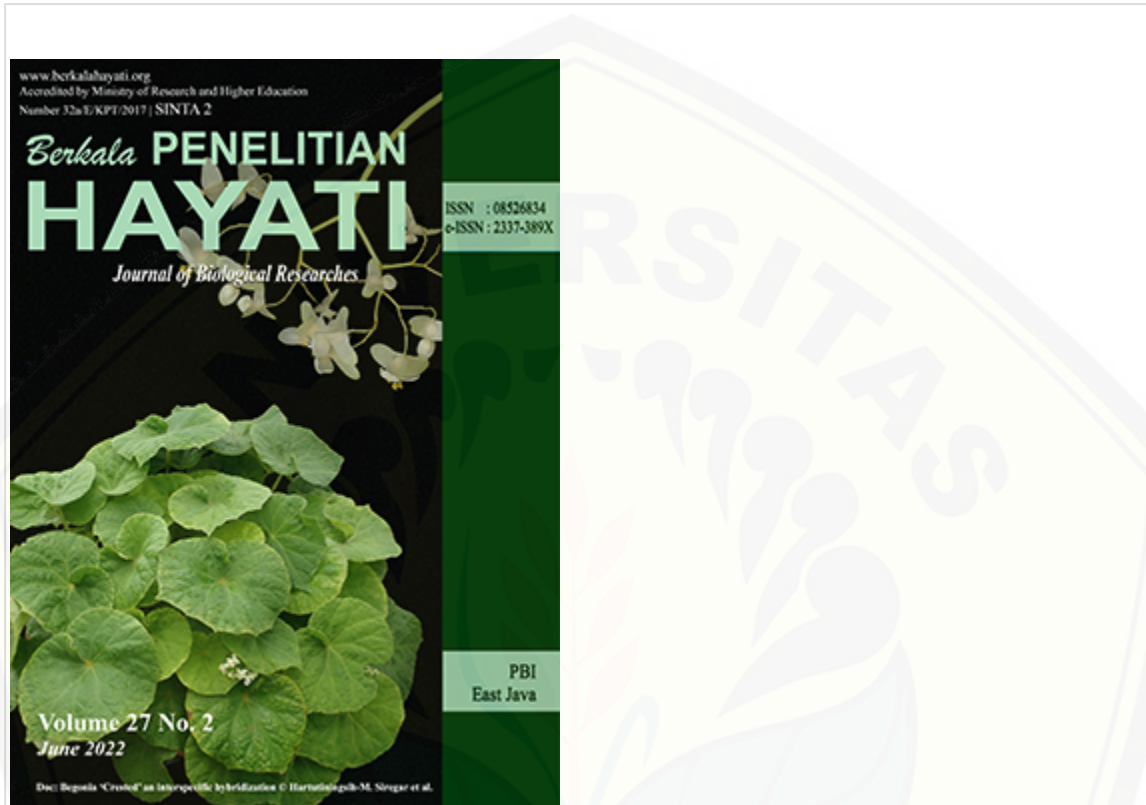
[Peer Review Process](#)

Scientific Statement

Publication Ethics

Author Needs (Editorial Page, TOC, Cover)

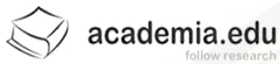
Article Processing Charge



[Previous](#) [Next](#)

Indexed in





ISSN Barcode

ISSN Online (2337-389X)



9 772337 389004

ISSN Print (0852-6834)



0852 6830

INFORMATION

- For Readers
- For Authors
- For Librarians

LANGUAGE

- Bahasa Indonesia
- English

Statistics



This work is licensed under [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)



Published by The East Java Biological Society
Address: Jalan Surakarta No 5, Malang, East Java 65114, Indonesia
Phone: +62 341 570631
Email: official@berkalahayati.org/berkalahayati@yahoo.com
Website: www.berkalahayati.org

Open Journal Systems Hosting & Support by:
OpenJournalSystems.com

##plugins.themes.bootstrap3.accessible_menu.label##

- ##plugins.themes.bootstrap3.accessible_menu.main_navigation##
- ##plugins.themes.bootstrap3.accessible_menu.main_content##
- ##plugins.themes.bootstrap3.accessible_menu.sidebar##

Berkala PENELITIAN HAYATI

ISSN : 0852-6834 | e-ISSN : 2337-389X

[HOME](#)
[CURRENT](#)
[ARCHIVES](#)
[EDITORIAL TEAM](#)
[CONTACT](#)
[ABOUT](#) ⓘ
[REGISTER](#) ⓘ
[LOGIN](#) ⓘ

[Home](#) Editorial Team

Editorial in Chief

Prof. Sutiman Bambang Sumitro, SU., D.Sc.

Department of Biology Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Brawijaya University, Indonesia

sutiman@ub.ac.id



Managing Editor

Irfan Mustafa, S.Si, M.Si, Ph.D

Department of Biology Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Brawijaya University, Indonesia

irfan@ub.ac.id



Wulida Khoirunnisa, S. Si., M. Si

Berkala Penelitian Hayati, Malang, Indonesia

wulidanisa@berkalahayati.org



Hadiatullah, S. Si., M. Sc

Tianjin University, China

hadiatullah@berkalahayati.org



Editorial Board Member

Prof. Dr. Bambang Irawan, M. Sc

Biology Department, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Indonesia

bamir1955@yahoo.co.id



Prof. Widodo, S.Si., M.Si., Ph.D.Med.Sc.

Department of Biology Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Brawijaya University, Indonesia

widodo@ub.ac.id



Dr. Bagyo Yanuwadi

Department of Biology Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Brawijaya University, Indonesia

yanuwadi@ub.ac.id



Dr. Hitoshi Sawada

Sugashima Marine Biological Laboratory, Division of Biological Science, Graduate School of Science, Nagoya University, Japan

hsawada@bio.nagoya-u.ac.jp



Dr. Akira Kikuchi

Department Environmental Technology, and Institute of Environmental and Water Resource Management (IPASA),
Universiti Teknologi Malaysia. 81310, Malaysia

akira@utm.my



Prof. Fatchiyah, Ph. D

Department of Biology Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Brawijaya University, Indonesia

fatchiya@ub.ac.id



Prof. Dr. Endang Semiarti, M.S., M.Sc.

Faculty of Biology, Gadjah Mada University, Indonesia

endsemi@ugm.ac.id



Prof. Intan Ahmad, Ph. D

School of Life Sciences and Technology, Bandung Institute of Technology, Indonesia

intan@sith.itb.ac.id



About

[Aims and Scope](#)

[Open Access Policy](#)

[Peer Review Process](#)

[Scientific Statement](#)

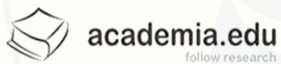
[Publication Ethics](#)

[Author Needs \(Editorial Page, TOC, Cover\)](#)

[Article Processing Charge](#)



Indexed in



ISSN Barcode

ISSN Online (2337-389X)



9 772337 389004

ISSN Print (0852-6834)



0852 6830

INFORMATION

- For Readers
- For Authors
- For Librarians

LANGUAGE

- Bahasa Indonesia
- English

Statistics



This work is licensed under [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](#)



Published by The East Java Biological Society
Address: Jalan Surakarta No 5, Malang, East Java 65114, Indonesia
Phone: +62 341 570631
Email: official@berkalahayati.org/berkalahayati@yahoo.com
Website: www.berkalahayati.org

Open Journal Systems Hosting & Support by:
OpenJournalSystems.com

PERAN PROTEIN MEMBRAN LUAR 55 KDA *Salmonella typhi* ISOLAT JEMBER SEBAGAI PROTEIN HEMAGLUTININ DAN ADHESIN

Diana Chusna Mufida*, Candra Bumi**, dan Heni Fatmawati**

*Laboratorium mikrobiologi FK-Unej

**Laboratorium, Epidemiologi dan Biostatistika FKM –Unej

*** Laboratorium Histologi FK-Unej

JL. Kalimantan No. 37 Jember, Telp/Faks 0331-332995

E-mail: dianachusna@yahoo.com

ABSTRACT

Salmonella typhi is an obligate pathogen that is usually found in clinical specimen from typhoid fever patients. The pathogenic mechanism of bacteria are not fully elucidated especially its potential activity of the outer membrane protein (OMP) as hemagglutinin and adhesion molecule. After identification, bacterial isolate of outer membrane protein fraction 12,5% SDS-PAGE were used to isolate OMP followed by hemagglutinin test and invitro adhesion test. The study showed that the 55 kDa protein of *S. typhi* is a hemagglutinin protein that could agglutinate, Wistar mouse erythrocytes. The 55 kDa OMP is also an adhesion protein showed by its activity to adherence to Wistar mice's enterocyt. The increased dose of 55 kDa OMP will decrease the amount of *S. typhi* bacteria adherenced to Wistar mice's enterocyt. Outer membrane protein 55 kDa *S. typhi* as hemagglutinin and also adhesion protein.

Key words: *Salmonella typhi*, OMP, adhesin, hemagglutinin

PENGANTAR

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi sistemik akut yang bersifat endemik, yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* ditandai dengan demam yang berkepanjangan (lebih dari satu minggu), gangguan saluran cerna dan gangguan kesadaran (Wardhani dan Pobohoesodo, 2005).

Patogenesis bakteri untuk menimbulkan suatu penyakit, secara umum ada dua tahap. Pada tahap pertama bakteri akan melakukan pelekatan ke sel inang, pada pelekatan awal diperankan oleh pili dan sifat pelekatannya adalah *anchoring*, setelah itu dilanjutkan dengan pelekatan melalui *outer membrane* sel, yang pelekatannya bersifat *doching*. Setelah melakukan pelekatan maka bakteri akan berkembang biak disertai dengan produksi bahan-bahan metabolisme bakteri yang dapat merugikan sel inang (Salyer dan Whitt, 2002).

Adhesin bakteri biasanya merupakan suatu lektin, yaitu protein yang mempunyai afinitas tinggi untuk berikatan secara spesifik dengan karbohidrat pada reseptor sel hospes. Pada *S. typhi* terdapat antigen *Outer Membran Protein* (OMP), selain protein adhesin fimbria tipe-1 (pili), yang berperan sebagai faktor virulensi dalam adhesi dan kolonisasi pada permukaan epitel usus halus (Santoso, 2004). Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa protein OMP *S. typhi* isolat Jember berat molekul 55 kDa berperan sebagai protein hemagglutinin dan adhesin.

BAHAN DAN CARA KERJA

Subkultur *S. typhi*

Bakteri *S. typhi* isolat Jember diperoleh dari penderita demam tifoid. Setelah bakteri diidentifikasi selanjutnya dibiakkan pada media tuntut menumbuhkan pili, sesuai dengan metode Ehara (Ehara *et al.*, 1986) yaitu media TCG yang memperkaya pertumbuhan pili. Media ini mengandung 0,02% *thioprolin*; 0,3% NaHCO_3 ; 0,15 *bactotryton*, 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. *S. typhi* yang telah ditanam pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 4 jam dimasukkan dalam setiap botol yang mengandung media TCG sebanyak 10 ml. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37° C selama 2×24 jam.

Isolasi Protein Hemagglutinin Outer Membran Protein (OMP) *S.typhi*

Isolasi dilakukan dengan metode modifikasi Evan's (Winarsih *et al.*, 1997). Modifikasinya pada bagian sampel yang digunakan yaitu bagian endapan dari perlakuan pemotongan pili pada putaran yang terakhir, pelet disuspensi dengan PBS pH 7,4 sampai volumenya mencapai 15 kali, kemudian ditambahkan n-octyl B-D-glucopyranoside (NOG) konsentrasi mencapai 0,5%, lalu dihomogenkan menggunakan vortek dengan kecepatan penuh selama

1 menit. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm suhu 4° C selama 30 menit. Cairan supernatan diambil, kemudian didialisis. Cairan yang digunakan untuk dialisis pada 24 jam pertama, yaitu d H₂O dan pada 24 jam kedua PBS pH 7,4.

Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electroforesis (SDS-PAGE)

Monitoring berat molekul dikerjakan menggunakan SDS-PAGE. 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 *coomasive brilliant blue* dan molekul standart *sigma range marker* (Smeds *et al.*, 2001).

Pemurnian Fraksi Protein OMP

Metode yang dilakukan seperti yang telah dikerjakan oleh Ehara dengan modifikasi (Sumarno, 2000). Gel hasil SDS-PAGE OMP, dipotong lurus pada berat molekul yang diinginkan dan potongan pita tersebut dikumpulkan dan dimasukkan dalam membran dialisis menggunakan cairan penyangga elektroforesis, *running buffer*. Selanjutnya dilakukan elektroelusi menggunakan elektroforesis frontal apparatus aliran 125 mv selama 25 menit. Hasil elektroforesis dilakukan dialisis dengan cairan penyangga PBS pH 7,4 selama 2×24 jam @ 1 liter dan diganti 2 kali. Cairan hasil dialisis tersebut dilakukan uji hemaglutinasi.

Uji Hemaglutinasi

Uji hemaglutinasi dikerjakan menurut cara Li *et al.* (1999). Pengenceran sampel dibuat konsentrasi 1/2 pada mikropelat V, setiap sumur volumenya 50 µl. Sumuran yang berisi cairan protein yang sudah diencerkan secara bertingkat, ditambahkan suspensi darah merah konsentrasi 0,5% dengan volume sama. Kemudian digoyang dengan *rotator plate* selama 1 menit. Selanjutnya diletakkan dalam suhu kamar selama 1 jam. Besarnya titer ditentukan dengan pengamatan adanya agglutinasi darah merah pada pengenceran yang terendah. Sampel yang diuji adalah OMP *S. typhi*.

Isolasi Sel Enterosit Tikus Wistar

Isolasi sel enterosit dilakukan menurut metode Weisser (Nagayama *et al.*, 1995). Tikus Wistar dianestesi dengan menggunakan kloroform, kemudian diambil bagian ususnya

halusnya 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. Setelah itu *vesica urinaria* dimasukkan dalam cairan yang mengandung 1,5 mM KCl; 9,6 mM NaCl; 27 mM Na Citrat; 8 mM KH₂SO₄; dan 5,6 mM Na₂HPO₄ dengan pH 7,4, selanjutnya jaringan diinkubasi pada *shaking* inkubator selama 15 menit, dengan suhu 37° C. Supernatan dibuang dan jaringan dipindahkan dalam cairan yang mengandung 1,5 mM EDTA dan 0,5 mM dithiothreitol. Selanjutnya jaringan yang berada dalam cairan yang mengandung EDTA dan dithiothreitol digojok kuat selama 15 menit pada suhu 37° C, kemudian supernatan dibuang. Jaringan dicuci dengan PBS dan disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 1000 rpm, dan diulang sebanyak 3 kali. Enterosit diisolasi dengan melakukan suspensi pada jaringan dengan menggunakan PBS steril dan selanjutnya dihitung dengan spektrofotometer panjang gelombang 560 nm sampai konsentrasi 10⁶/ml.

Uji Adhesi

Uji adhesi modifikasi Nagayama, pada uji adhesi bakteri *S. typhi* dibiakkan dalam laktosa *broth* pada suhu 37° C. Selanjutnya bakteri dipanen dan disentrifugasi 6000 rpm selama 10 menit pada suhu 4° C. Endapan disuspensi dengan PBS dan kandungan bakteri dibuat 10⁸ ml dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

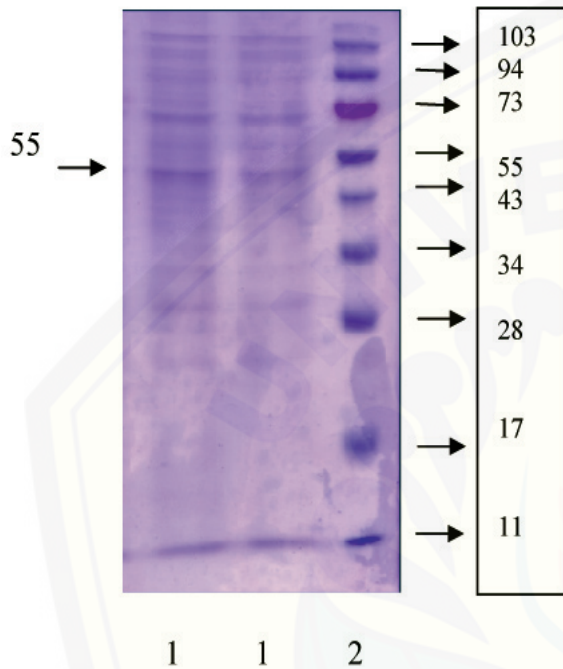
Selanjutnya dibuat preparasi dosis protein OMP, masing-masing sebanyak 0 µl (kontrol), 25 µl, 50 µl, 100 µl, 200 µl, 400 µl dan 800 µl. Selanjutnya setiap dosis ditambahkan suspensi enterosit sebanyak 300 µl dan digoyang perlahan pada *shaking* inkubator pada suhu 37° C selama 30 menit. Kemudian ke dalam setiap campuran tersebut ditambah suspensi bakteri sebanyak 300 µl. Campuran diinkubasi dengan *shaking* inkubator selama 30 menit pada suhu 37° C. Selanjutnya disentrifugasi 1500 rpm pada suhu 4° C selama 3 menit, kemudian endapan dicuci 2 kali dengan PBS. Setelah itu endapan diambil dan dibuat hapusan pada gelas objek dan dicat dengan pewarnaan Gram. Preparat diamati dengan mikroskop pembesaran 1000 kali dan dihitung jumlah bakteri yang menempel pada sel epitel. Indeks adhesi adalah jumlah rerata bakteri yang menempel pada 100 epitel (Martino *et al.*, 1995).

Analisis Statistik

Data dianalisis menggunakan uji regresi, dengan batas signifikan 0,05.

HASIL

Setelah dilakukan identifikasi bakteri *S. typhi* dari urin penderita demam typhoid di Rumah Sakit Dr. Soebandi, maka selanjutnya bakteri tersebut dikultur pada media bifasik, TCG-BHI. Setelah 48 jam bakteri tersebut dipanen dan dilakukan isolasi OMP. Selanjutnya dilakukan SDS-PAGE untuk memprediksi berat molekul protein, dengan hasil seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil SDS-PAGE OMP *S. typhi* .1. OMP *S. typhi* 2. Protein perunut

Profil protein pada SDS-PAGE dari beberapa isolasi OMP *S. typhi* menunjukkan ada beberapa protein yang menonjol, yaitu protein dengan berat molekul 55 kDa. Penelitian ini menggunakan hasil isolasi OMP dengan berat molekul 55 kDa yang selanjutnya protein tersebut dipotong dan dilakukan elektroelusi dan dialisis, sehingga diperoleh protein larutan. Hasil elektroelusi dan dialisis protein OMP tersebut dilakukan uji hemaglutinasi pada eritrosit tikus Wistar dengan hasil seperti pada Tabel 1 dan Gambar 2.

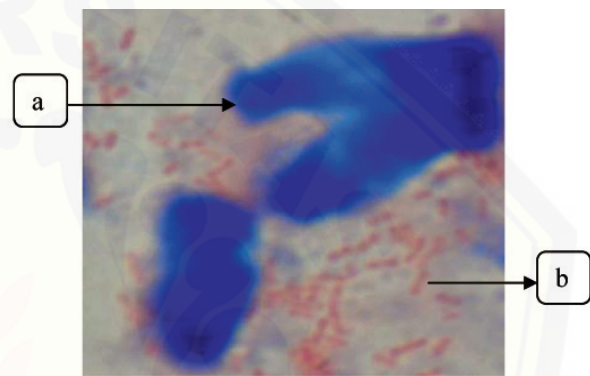
Tabel 1 dan Gambar 2 menunjukkan bahwa pada protein dengan berat molekul 55 kDa mampu menghambat

Tabel 1. Hasil uji hemaglutinasi OMP *S. typhi* 55 kDa pada eritrosit tikus Wistar, dengan pengenceran protein secara bertingkat

Sampel	Pengenceran									
	1×	2×	3×	4×	5×	6×	7×	8×	9×	10×
OMP55kDa	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

hemaglutinasi eritrosit tikus Wistar sampai pada pengenceran 8× dan disebut dengan protein hemaglutinin.

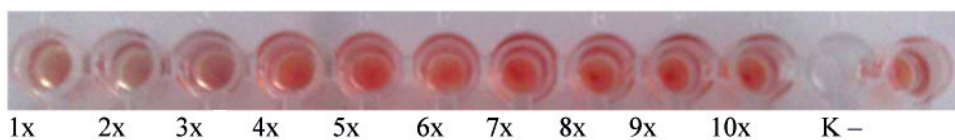
Setelah dilakukan uji hemaglutinasi dilanjutkan dengan uji adhesi *S. typhi* pada enterosit tikus Wistar dan diperoleh gambaran adanya bakteri yang menempel pada sel enterosit dalam jumlah yang cukup banyak, seperti tampak pada Gambar 3.



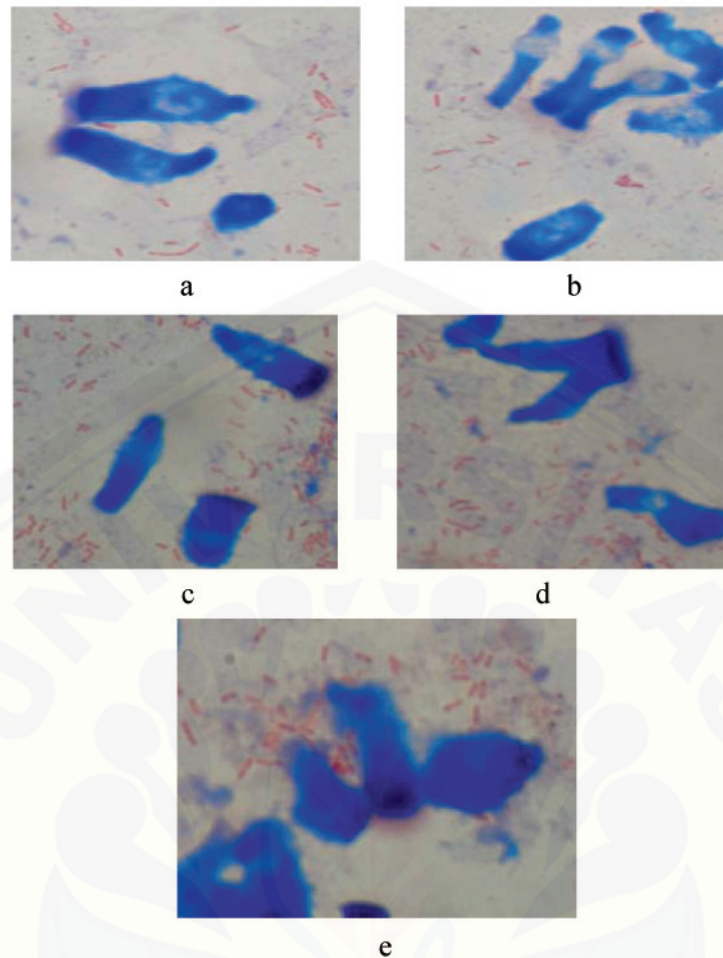
Gambar 3. Uji adhesi *S. typhi* pada sel enterosit tikus Wistar. (a) epitel usus; (b) *S. typhi*. Direkam dengan Menggunakan Fotomikroskop Olympus dengan Perbesaran 400 kali

Untuk mengetahui peran protein hemaglutinin 55 kDa sebagai protein adhesi, maka dilakukan uji adhesi dengan menyalutkan protein hemaglutinin tersebut ke sel enterosit, setelah itu baru dipapar dengan *S. typhi*. Hasil dari uji adhesi tersebut, terjadi penurunan jumlah bakteri yang menempel pada sel enterosit seperti pada Gambar 4.

Keterlibatan protein hemaglutinin OMP dengan berat molekul 55 kDa dalam menghambat perlekatan *S. typhi* terlihat pada Gambar 4 (a-e). Berkurangnya jumlah bakteri yang menempel pada sel enterosit tikus Wistar setelah disalut dengan protein hemaglutinin OMP 55 kDa menunjukkan bahwa protein tersebut dapat menghambat bakteri untuk



Gambar 2. Hasil uji hemaglutinasi OMP *S. typhi* 55 kDa pada eritrosit tikus Wistar, dengan pengenceran protein secara bertingkat



Gambar 4. Uji adhesi *S. typhi* pada sel enterosit tikus Wistar yang disalut OMP 55 kDa. Direkam dengan menggunakan Fotomikroskop Olympus dengan perbesaran 400 kali. a: Konsentrasi protein 400 μ l; b: Konsentrasi protein 200 μ l; c: Konsentrasi protein 100 μ l; d: konsentrasi protein 50 μ l; e: konsentrasi protein 25 μ l

melakukan perlekatan. Indeks adhesi *S. typhi* pada sel epitel tikus Wistar dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata hasil uji adhesi *S. typhi* pada enterosit tikus Wistar dengan menggunakan protein OMP 55 kDa

Dosis protein	Indeks Adhesi
0	6367
25	6333
50	5967
100	5512
200	1233
400	533

Perhitungan indeks adhesi pada Tabel 2 memperlihatkan kecenderungan semakin tinggi konsentrasi protein hemaglutinin OMP 55 kDa yang diberikan, maka semakin sedikit perlekatan bakteri *S. typhi* pada sel enterosit tikus

Wistar. Hasil dari penelitian ini, selanjutnya dilakukan uji statistik regresi linier dengan hasil R^2 0,679 dengan p 0,03. Hasil uji statistik tersebut menunjukkan bahwa terdapat pengaruh dosis OMP 55 kDa terhadap jumlah bakteri yang melekat pada sel enterosit, serta terdapat perbedaan bermakna antara jumlah bakteri yang melekat pada sel enterosit yang tidak disalut dengan OMP 55 kDa dengan jumlah bakteri yang melekat pada sel enterosit yang telah disalut dengan OMP 55 kDa.

PEMBAHASAN

S. typhi termasuk dalam famili Enterobacteriaceae, yang dalam proses awal terjadinya penyakit melalui proses adhesi yang diperankan oleh fimbria maupun OMP. Keberhasilan terjadinya infeksi sangat terpengaruh oleh kemampuan melakukan adhesi. Pada penelitian ini dilakukan uji adhesi

OMP *S. typhi* pada sel enterosit tikus Wistar. Langkah awal penelitian, yaitu melakukan kultur *S. typhi* pada media bifasik TCG-BHI dengan tujuan untuk menumbuhkan fimbria bakteri secara optimal. Setelah itu dilakukan pemotongan fimbria secara bertingkat, sampai supernatan potongan fimbria mempunyai kekeruhan yang sama dengan PBS, kemudian dilakukan isolasi OMP. Hasil isolasi OMP dilakukan SDS-PAGE untuk mengetahui berat molekul protein OMP dan diperoleh hasil molekul OMP yang dominan mempunyai berat molekul 55 kDa (Gambar 1).

Berdasar uji hemaglutinasi subunit OMP diperoleh hasil, protein subunit dengan berat molekul 55 kDa mampu menghemaglutinasi sel darah merah tikus Wistar sampai dengan pengenceran 7 \times . Maka OMP 55 kDa *S. typhi* dapat disebut sebagai protein hemaglutinin.

Struktur bakteri yang berperan dalam pelekatan adalah pili atau fimbria yang tersusun dari protein yang disebut pilin (fimbrial-adhesin) atau afimbrial adhesin yaitu suatu protein yang terdapat pada permukaan sel bakteri (OMP) (Sayler *et al.*, 2002; Winarsih *et al.*, 1997). Adhesin pada beberapa bakteri berupa protein yang dapat mengaglutinasi eritrosit yang dikenal sebagai protein hemaglutinin (Nagayama *et al.*, 1995).

Langkah lanjut penelitian ini adalah mengidentifikasi protein adhesin, maka dilakukan uji adhesi dengan menggunakan OMP 55 kDa. Pada Gambar 3 terlihat banyak bakteri yang menempel pada entrosit tikus wistar jika dibandingkan dengan Gambar 4a-e. Selanjutnya, pada Gambar 4a bakteri yang menempel pada entrosit lebih sedikit daripada Gambar 4b. Pada tabel 2 tampak bahwa semakin besar dosis protein hemaglutinin 55 kDa yang disalutkan ke enterosit tikus Wistar, semakin sedikit bakteri yang menempel. Hal ini disebabkan karena reseptor *S. typhi* pada enterosit tikus Wistar sudah dijenuhi oleh protein OMP dengan berat molekul 55 kDa. Semakin banyak reseptor yang dijenuhi oleh protein hemaglutinin maka bakteri yang menempel semakin sedikit. Berdasarkan uji adhesi ini didapatkan hasil secara empiris bahwa protein OMP dengan berat molekul 55 kDa merupakan protein adhesi. Penelitian yang dilakukan oleh Sanarto, pada bakteri *S. typhi* strain Malang menunjukkan bahwa bakteri tersebut mempunyai molekul hemaglutinin yang juga merupakan adhesin dari OMP dengan berat molekul 36 kDa. Berat molekul OMP *S. typhi* hasil penelitian Sanarto tersebut berbeda dengan hasil penelitian kami dikarenakan perbedaan strain dari bakteri *S. Typhi* (Santoso, 2002). Kesimpulan penelitian ini bahwa protein hemaglutinin 55kDa OMP *S. typhi* merupakan protein adhesin sama dengan penelitian yang

dilakukan Sumarno pada *Vibrio cholera* O1M09V, bahwa protein hemaglutinin pili maupun OMP merupakan protein adhesin (Sumarno, 2005). Demikian juga pada *Acinobacter baumannii* protein F 16 merupakan protein hemaglutinin yang juga berperan sebagai protein adhesin (Noorhamdani, 2005). Hasil penelitian protein hemaglutinin yang juga merupakan protein adhesin OMP 55kDa *S. typhi* strain Jember dapat dikembangkan sebagai kandidat vaksin dalam upaya pencegahan penyakit demam typhoid yang disebabkan oleh *S. typhi*.

KEPUSTAKAAN

- Ehara, Ishibashi M, Ichinose M, Iwanaga Y, Schimotori M, Naito S, 1986. Purification and Partial Characterisation of Fimbriae of *Vibrio cholera* 0-1, *Vaccine* 5(3): 283–6.
- Li Xin, Johnson ED, Mobley TLH, 1999. Requirement of MrpH for Mannosa-Resistant *Proteus* Like fimbriae Mediated Hemagglutination by *Proteus mirabilis*, *Infection and Immunity*, 67: 2822–33.
- Martino PD, Bertin Y, Girardeu JP, Livrelli V, Jolly B, Daefeuille-Michaud A, 1995. Molecular Characterization and Adhesive Properties of CF29K, an Adhesin of *Klebsiella pneumoniae* Strain Involved in Nosocomial Infection', *Infection and Immunity* 63: 4336–44.
- Nagayama, Oguchi K, Arita T, Honda MT, 1995. 'Purification and Characterizations of a Cell-Associated Hemagglutinin of *Vibrio parahaemolyticus*, *Infection and Immunity* 63: 1987–92.
- Noorhamdani, 2005. Protein Fimbria 16kDa Bakteri *Acinobacter baumannii* dari Urin Penderita Infeksi Saluran Kemih Berperan sebagai Protein Hemaglutinin dan Adhesin', *Jurnal Ilmu Kedokteran Brawijaya*, 21(1): 44–52.
- Salyer AA dan Whitt DD, 2002. *Bacterial Pathogenesis A Molecular Approach*, ASM Press Washington DC, pp. 115–27.
- Santoso S, 2002. Protein Adhesin *Salmonella typhi* Sebagai Faktor Virulensi Berpotensi Immunogenik terhadap Produksi S-IgA Protektif. *Disertasi*. Surabaya: Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
- Santoso S, 2004. Potensi Immunogenik Protein AdhF36 *Salmonella typhi*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati (Life Science)*, 16(2): 172–9.
- Smeds A, Hemman K, Jakava V, Pelkonen S, Imberechts H, and Palva A, 2001, Characterization of the Adhesin of *Escherichiae coli* F18 Fimbriae', *Infection and Immunity*, 69(5): 7941–5.
- Sumarno, 2000. Karakterisasi Molekuler Protein Adhesi *Vibrio cholera* O1M094V dan Protein Reseptornya pada Sel Epitel Usus Halus Tikus Putih (Wistar). Studi Patogenesis *Vibrio cholera* O1M094V. *Disertasi*. Surabaya: Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Wardhani PP dan Probohoesodo MY, 2005. Kemampuan Uji Tabung Widal Menggunakan Antigen Import dan Antigen Lokal. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 12: 31–7.

Winarsih S, Sumarno and Roekistiningsih, 1997. Kajian Fungsi dan Sifat Immunogenitas Protein Hemagglutinin 32kDa dan 20 kDa pada *Helicobacter pylori*, *Majalah Kedokteran Universitas Brawijaya*, 13(2): 135–41.

Reviewer: **Prof. Edy Bagito Wasito, Ph.D., dr.**

