



**UJI HEMAGLUTINASI PROTEIN PILLI *Salmonella typhi* BA07.4
TERHADAP SEL DARAH MERAH MANUSIA DAN DOMBA**



**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG**

2018

HALAMAN PERSETUJUAN

Manuscript dengan Judul

UJI HEMAGLUTINASI PROTEIN PILLI *Salmonella typhi* BA07.4 TERHADAP SEL DARAH MERAH MANUSIA DAN DOMBA

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasi

Semarang, Oktober 2018

Pembimbing I



Dr. Sri Darmawati, M.Si
NIK. 28.6.1026.040

Pembimbing II



Aprilia Indra Kartika, S.Pd. M.Biotech
NIK. 28.6.1026.354

UJI HEMAGLUTINASI PROTEIN PILLI *Salmonella typhi* BA07.4 TERHADAP SEL DARAH MANUSIA DAN DOMBA

Eni Widayati¹, Sri Darmawati^{2,3}, Aprilia Indra Kartika³

¹Program Studi DIV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

²Laboratorium Bakteriologi, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

³Laboratorium Biologi Molekuler, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

Info Artikel	Abstrak
Keywords <i>Salmonella typhi</i> , Protein Pilli, Hemaglutinasi, Eritrosit Manusia dan Domba.	Pilli pada bakteri <i>Salmonella typhi</i> tersusun dari protein pillin, berfungsi sebagai mediator penting dalam proses adhesi dengan permukaan sel inang. Ikatan protein pilli dengan permukaan sel inang menentukan sensitivitas respon imunologi inang terhadap antigen. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas hemaglutinasi protein pilli pada <i>S. typhi</i> terhadap sel darah merah manusia golongan darah ABO serta terhadap sel darah merah domba. Prosedur penelitian dilakukan tiga tahap; pertama, penanaman bakteri menggunakan media bifasik (BHI agar dan BHI cair); kedua, isolasi protein pilli; ketiga, uji hemaglutinasi. Hasil uji hemaglutinasi terhadap golongan darah ABO menunjukkan bahwa protein pilli <i>S. typhi</i> mampu mengaglutinasikan eritrosit manusia golongan darah A sampai pengenceran 256 kali (titer 1/256), B sampai pengenceran 2048 kali (titer 1/2048), AB sampai pengenceran 128 kali (titer 1/128) dan O sampai pengenceran 2 kali (titer 1/2), tetapi tidak mampu mengaglutinasikan eritrosit domba. Hal ini memberikan gambaran umum bahwa protein pilli <i>S. typhi</i> memiliki aktivitas untuk mengaglutinasikan eritrosit manusia golongan darah A, B, AB dan O tetapi tidak terhadap eritrosit domba.

Pendahuluan

Salmonella typhi (*S. typhi*) adalah bakteri bentuk batang Gram negatif yang menyebabkan demam tifoid. Demam tifoid adalah penyakit infeksi yang bersifat endemis serta menjadi masalah kesehatan di berbagai negara berkembang termasuk di Indonesia (Darmawati, 2009). Keputusan Menteri Kesehatan (Kemenkes) tahun 2006, menyampaikan bahwa hasil telaah kasus di rumah sakit besar di Indonesia menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan jumlah kasus tifoid dari tahun ke tahun dengan rata-rata (angka insidensi mencapai) 500/100.000 penduduk dan kematian diperkirakan sekitar 0,6-5% dari total insidensi. Bakteri *S. typhi* masuk melalui mulut bersama makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh bakteri *S. typhi* dan masuk ke saluran pencernaan,

apabila bakteri berhasil mencapai usus halus dan masuk ke dalam tubuh mengakibatkan terjadinya demam tifoid (Darmawati *et al.*, 2012).

Bakteri *S. typhi* merupakan salah satu bakteri yang memiliki pilli, pilli merupakan bentukan batang lurus dengan ukuran lebih pendek dan lebih kaku bila dibandingkan dengan flagella. Pilli tersusun atas unit protein yang disebut pillin, mempunyai peran dalam proses konjugasi, sebagai reseptor bagi bakteriofag dan berperan pula dalam proses perlekatan (adesi) antara bakteri dengan permukaan sel inang (Darmawati, 2009). Adesi bakteri ke reseptor sel inang merupakan langkah awal terjadinya patogenesis. Protein adesi bakteri ditunjukkan sebagai protein hemaglutinin (HA) ditemukan pada pilli dan dinding sel (Agustina *et al.*, 2012).

*Corresponding Author :

Eni Widayati

Pendidikan Diploma IV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: eni.wida7@gmail.com.

Antigen yang masuk ke dalam tubuh akan beredar melalui pembuluh darah. Sistem peredaran darah terdiri dari sel darah (eritrosit, leukosit, dan trombosit) dan plasma darah. Pada permukaan membran eritrosit terdapat antigen hereditas penentu golongan darah yang disebut sebagai aglutinogen (Price dan Wilson, 2005). Karena itu pada golongan darah A sel darah merahnya mengandung aglutinogen-a, pada plasma darah mengandung aglutinin-b, pada golongan darah B sel darah merahnya mengandung aglutinogen-b, pada plasma darah mengandung aglutinin-a, pada golongan darah AB sel darah merahnya mengandung aglutinogen-a dan aglutinogen-b, pada plasmanya tidak terdapat aglutinin, sedangkan pada golongan darah O sel darah merahnya tidak terdapat aglutinogen, pada plasmanya mengandung aglutinin-a dan aglutinin-b (Tjatur, 2012).

Golongan darah sistem ABO memiliki karakteristik tersendiri dalam menanggapi antigen. Tingkat reaktivitas terhadap molekul antigen dapat ditunjukkan dengan reaksi hemaglutinin. Sedangkan pada sel darah merah domba merupakan antigen polivalen yang merupakan protein dengan determinan potensial yang lebih besar dibandingkan dengan antigen monovalen (Indrisari dkk., 2017). Pada penelitian akan dilakukan uji reaktivitas golongan darah A, B, AB, O dan sel darah domba terhadap pili *S. typhi* dengan melihat reaksi hemaglutinin. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis aktivitas hemaglutinasi protein pili pada *S. typhi* terhadap eritrosit manusia berdasarkan golongan darah A, B, AB dan O serta sel darah merah domba.

Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan cawan petri, tabung reaksi, botol pipih, erlenmeyer, botol kaca kecil, mikropipet, tip kuning, tip biru, tip putih, *vortex super mixer*, rotator, sentrifuse, *ependorf*, sentrifuse 4°C, mikroplate dasaran U. Bahan yang digunakan media MC (*Mac Concey*), BHI (*Brain Heart Invusion*) cair dan

agar, PBS (*Phosphate Buffer Saline*) Ph 7,4, amonium sulfat 40%, TCA (*Tri Chloreacetic Acid* – MERCK), Eritrosit 1%, DMD 1% .

Sampel

Sampel dalam penelitian ini berupa protein pili dari *S. typhi* yang di dapat dari isolat *S. typhi* penderita demam tifoid di Puskesmas Bangetayu (BA 07.4) Kota Semarang.

Prosedur

Penelitian ini dilakukan dengan 3 tahapan, yaitu : kultur bakteri, isolasi protein pili dan uji hemaglutinasi.

1. Kultur Bakteri

Kultur bakteri *S. typhi* BA 07.4 menggunakan media bifasik (BHI agar ditambah BHI cair). Satu koloni bakteri dari media Mac Conkey diinokulasi ke dalam 5 ml BHI cair, kemudian diinkubasi 37°C selama 3 jam. Selanjutnya di masukan ke dalam media BHI agar miring dalam botol pipih dengan volume 20-25 ml setiap botolnya, inkubasi 37°C selama 48 jam dan kultur siap dipanen (Darmawati, 2005; Rosalia, 2014).

2. Isolasi Protein Pili

200 ml kultur bakteri dimasukan ke dalam tabung sentrifuse dan ditambah TCA (*Tri Chloreacetic Acid*) hingga konsentrasinya 3% (6 ml TCA dalam 200 ml kultur bakteri), inkubasi pada suhu ruang selama 10 menit. Kemudian kultur bakteri di sentrifuse pada suhu 4°C 3000 rpm selama 20 menit, supernatan dibuang, dan pellet diresuspensikan dalam 1 ml PBS pH 7,4. Pili bakteri dipotong dari permukaan sel dengan *vortex super mixer* selama 5 kali dengan waktu masing-masing tiap vortex 3 menit pada suhu 4°C. Kemudian suspensi bakteri di sentrifus 3000 rpm selama 20 menit, supernatan adalah protein pili. Protein pili kemudian ditambahkan 40% amonium sulfat ke dalam supernatan, dilarutkan pada suhu 4°C hingga larut sempurna. Selanjutnya supernatan disentrifus 3000 rpm suhu 4°C selama 20 menit dan pellet diresuspensikan dalam 1 ml PBS pH 7,4 selama 24 jam dan larutan diganti 2 kali hal ini disebut dengan proses dialisa, dialisa dilakukan untuk

menghilangkan ammonium sulfat dari suspensi protein. Selanjutnya protein hasil dialisa ditentukan konsentrasinya dengan menggunakan Biorat protein assay pada panjang gelombang 595 nm menggunakan spektrofotometer. Protein pili dikering bekukan (*Fresh Dryer*) dan siap digunakan untuk uji hemaglutinasi (Ehara, 1986 add Darmawati, 2012).

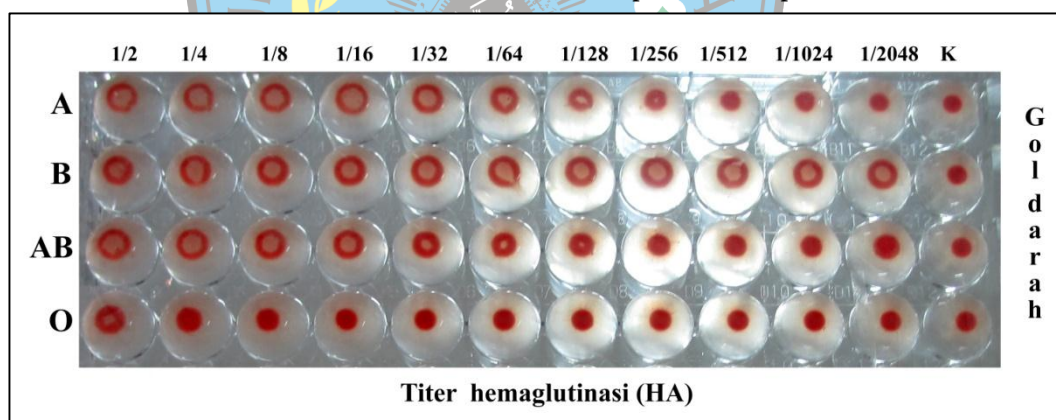
3. Uji Hemaglutinasi

Sampel eritrosit manusia golongan darah A, B, AB dan O serta darah domba dicuci dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali kemudian diencerkan sampai didapatkan konsentrasi eritrosit 1%. Sumur petama pada mikropate diisi dengan 50 μ L protein pilli *S. typhi* BA 07.4 yang diencerkan dengan 50 μ L PBS 7,4 sehingga konsentrasi menjadi 1:2. Sumur ke-2 sampai sumur ke-11 dilakukan pengenceran serial dengan menambahkan 50 μ L PBS 7,4 kemudian dihomogenkan. Setelah itu, 50 μ L eritrosit manusia golongan darah A dengan konsentrasi 1% ditambahkan pada sumur ke-1 sampai ke-11 sebagai sampel dan sumur ke-12

sebagai kontrol negatif. Selanjutnya mikropate digoyangkan perlahan dengan rotator selama 1 menit, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 1 jam dan amati terjadinya hemaglutinasi. Prosedur yang sama dilakukan untuk uji hemaglutinasi menggunakan golongan darah B, AB dan O begitu juga darah domba (Noorhamdani, 2004; Saptaningtyas dkk., 2015).

Hasil

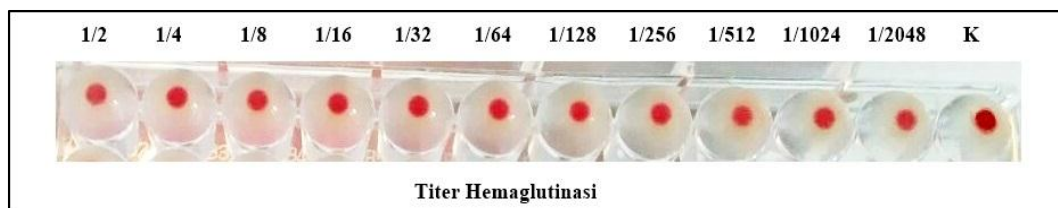
Sampel yang digunakan dalam penelitian diambil dari pasien demam tifoid di Bangetayu Semarang (Darmawati,2012). Bakteri *Salmonella typhi* yang telah diidentifikasi tersebut dikultur pada media bifasik (BHI agar di tambah BHI cair) dan selanjutnya dilakukan isolasi protein pilli *S. typhi* untuk digunakan uji hemaglutinasi. Hasil potongan protein pilli dilakukan uji hemaglutinasi dengan menggunakan sel darah merah manusia golongan A, B, AB dan O serta sel darah merah domba (1%). Hasil uji hemaglutinasi ditunjukan pada Gambar 1 dan interpretasi hasil pada Tabel 1.



Gambar 1.A. Hasil Uji Hemaglutinasi Protein Pilli *S. typhi* BA 07.4 terhadap Eritrosit Manusia Golongan Darah Sistem ABO.

Keterangan :

Angka $\frac{1}{2}$ - $\frac{1}{2048}$: menunjukan besar titer (pengenceran) sampel (berisi sampel, PBS dan eritrosit). K : kontrol reaksi negatif (berisi eritrosit dan PBS) tidak terjadi penggumpalan eritrosit (tampak seperti kancing baju pada dasar sumur). Berdasarkan hasil uji hemaglutinasi sel darah merah manusia golongan darah ABO menggunakan pilli *S. typhi* terdapat hemaglutinasi, yang berarti terjadi reaksi aglutinasi.



Gambar 1.B. Hasil Uji Hemglutinas Protein Pilli *S. typhi* BA 07.4 terhadap Eritrosit Domba

Keterangan :

Berdasarkan hasil uji hemaglutinasi sel darah merah domba menggunakan pilli *S. typhi* tidak terdapat hemaglutinasi, yang berarti tidak terjadi reaksi aglutinasi.

Tabel 1. Interpretasi Hasil Uji Hemaglutinasi

<i>S. typhi</i>	Eritrosit	Kisaran titer	Aktivitas Hemaglutinasi (HA)	Keterangan
BA 07.4	A	1/256	256	Positif
	B	1/2048	2048	Positif
	AB	1/128	128	Positif
	O	1/2	2	Positif
	Domba	0	0	Negatif

Pembahasan

Berdasarkan data pada Gambar 1 dan Tabel 1, menunjukkan kemampuan protein pilli *S. typhi* BA 07.4 dalam mengaglutinasi sel eritrosit. Dari hasil tersebut ternyata ada perbedaan dalam aglutinasi eritrosit, dapat diketahui bahwa protein pilli *S. typhi* BA 07.4 mampu mengaglutinasi eritrosit manusia golongan darah A sampai pengenceran 256 kali (titer 1/256), B sampai pengenceran 2048 kali (titer 1/2048), AB sampai pengenceran 128 kali (titer 1/128), dan O sampai pengenceran 2 kali (titer 1/2), sedangkan pada eritrosit domba protein pilli *S. typhi* BA 07.4 tidak mampu mengaglutinasi eritrosit domba. Hal ini menunjukkan bahwa pada permukaan eritrosit manusia golongan darah A, B, AB dan O terdapat reseptor yang komplementer dan mampu berikatan secara spesifik dengan reseptor protein pilli *S. typhi* BA 07.4 sehingga tampak secara makroskopis sebagai reaksi aglutinasi, sedangkan pada permukaan

eritrosit domba terjadi ketidaksesuaian reseptor pada membran eritrosit domba dengan reseptor protein pilli *S. typhi* BA 07.4 sehingga tidak terjadi reaksi aglutinasi (Noorhamdani, 2005). Jadi protein pilli *S. typhi* memiliki aktivitas untuk mengaglutinasi sel darah manusia tetapi tidak terhadap eritrosit domba.

Perbedaan hasil titer aglutinasi protein pilli *S. typhi* BA 07.4 antara sel darah merah manusia dan sel darah merah domba disebabkan oleh perbedaan kemampuannya untuk dapat mengenali reseptor yang dimiliki oleh membran eritrosit, sehingga mengakibatkan perbedaan kemampuan protein hemaglutinin untuk mengaglutinasi eritrosit. Aglutinasi protein pilli *S. typhi* BA 07.4 terhadap sel darah manusia golongan darah B menunjukkan titer yang lebih tinggi dari golongan darah A, AB dan O serta sel darah domba. Dengan kata lain bahwa reseptor pada protein pilli *S. typhi* BA

07.4 memiliki kemiripan atau sama dengan reseptor yang ada dipermukaan eritrosit manusia golongan darah B, maka diduga manusia dengan golongan darah B lebih rentan terinfeksi *S. typhi* BA 07.4 daripada golongan darah A, AB dan O serta sel darah domba. Infeksi protein pilli *S. typhi* dapat terjadi pada manusia tetapi tidak terhadap domba. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan (Suswati *et al.*, 2010) pada *outer membran protein* (OMP) 35 kDa *Proteus mirabilis*, mempunyai kemampuan mengaglutinasikan eritrosit mencit, kelinci dan manusia golongan darah O. (Noorhamdani, 2005) pada protein fimbria 16 kDa *Acinetobacter baumannii*, mempunyai kemampuan mengaglutinasi eritrosit mencit dan eritrosit manusia tetapi tidak mampu mengaglutinasi eritrosit tikus, marmot, domba, manusia golongan darah A dan B. (Agustina *et al.*, 2012) antibodi protein hemaglutinin subunit pili dengan berat molekul 49,8 kDa *Shigella dysenteriae* dapat menghambat adhesi *Shigella dysenteriae* ke enterosit tikus.

Dari hasil uji hemaglutinasi menunjukan bahwa protein pilli *S. typhi* BA 07.4 mempunyai kemampuan mengaglutinasi eritrosit manusia golongan darah A, B, AB dan O tetapi tidak mampu mengaglutinasikan eritrosit domba.

Simpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian yang sudah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa sampel protein pilli *S. typhi* BA 07.4 mampu mengaglutinasikan eritrosit manusia golongan darah A sampai pengenceran 256 kali (1/256), B sampai pengenceran 2048 kali (titer 1/2048), AB sampai pengenceran 128 kali (titer 1/128) dan O sampai pengenceran 2 kali (titer 1/2), tetapi tidak mampu mengaglutinasikan eritrosit domba. Hal ini menunjukan bahwa protein pilli *S. typhi* BA 07.4 memiliki aktivitas untuk mengaglutinasikan eritrosit manusia golongan darah A, B, AB dan O tetapi tidak terhadap eritrosit domba.

Daftar Pustaka

Agustina, W., Loeki E.F., Tri Yudani M.R., Budi S., Sumarno R.P. 2012. *Antibody*

Protein Hemagglutinin Sub Unit Pilli with MW 49,8 kDa Shigella dysenteriae Can Inhibit Shigella dysenteriae Adhesion on Mice Enterocyte. Jurnal Farmasi Brawijaya. Vol 2 No.5. ISSN : 2250-3013.

Darmawati, S. 2009. *Keanekaragaman Genetik Salmonella typhi.* Jurnal Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Vol. 2 No. 1 ISSN : 2085-0301.

Darmawati, S., R. Haribi, S. anwar. 2012. *Analisis Molekuler Profil Protein Pilli untuk Mengungkap Hubungan Similaritas 26 Strain Salmonella typhi Isolat Jawa.* Prosiding Seminar Nasional Universitas Muhammadiyah Semarang. ISBN : 978.602.18809.0.6.

Ehara M, M. Ishibashi, S. watanabe, M. Iwanaga, S. Shimotori, dan T. Naito, 1986. *Fimbriae of Vibrio cholerae 01 : Observation of Fimbriae on the Organism adherent to the Intestinal Epithelium and Development of New Medium to Enhance Fimbriae.* Trop. Med. 28:21-23.

Fitrawati, F., Michael H.W., Surya A., Bambang S. 2015. *Isolasi dan Identifikasi Egg Drop Syndrome Virus dengan Uji Hemaglutinasi dan Hemaglutinasi Inhibisi.* Jurnal Sain Veteriner. ISSN : 0126-0421.

Indrisari, M., Habibi, S. Rahimah. 2017. *Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) Terhadap Titer Immunoglobulin M (IgM) dan Immunoglobulin G (IgG) Pada Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus).* Jurnal Farmasi Fakultas Ilmu Kedokteran Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. Vol 5 No. 4.

Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 365/MENKES /SK/V/2006 tentang Pedoman Pengendalian Demam Tifoid.

Noorhamdani, 2004. *Aktivitas Hemaglutinasi Bakteri Acinetobacter baumannii yang Berasal dari Spesimen Klinik dan Lingkungan.* Jurnal Kedokteran Brawijaya. Vol 20 No.2.

Noorhamdani, 2005. *Protein Fimbria 16 kDa Bakteri Acinetobacter baumannii dari Urin Penderita Infeksi Saluran Kemih Berperan Sebagai Protein Hemagglutinin dan*

- Adhesin. Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. XXI No. 2.
- Price, S. A., & Wilson, L. M. 2005. *Patologi Konsep Klinis proses-proses Penyakit* (6 ed., Vol 2). Jakarta: EGC.
- Rosalia, D. 2014. *Karakterisasi Hemaglutinasi Protein Pilli Salmonella typhi Berdasarkan Tipe Golongan Darah ABO*. Skripsi. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang.
- Saptaningtyas, R., S. Darmawati., S.S. Dewi. 2015. *Haemagglutination Activity of Salmonella typhi Flagellin Protein Based on ABO Blood Group*. The 2nd University Research Coloquium. ISSN : 2407-9189.
- Suswati, S., Diana C.M., 2010. *Protein Haemagglutinin Outer Membran Protein (OMP) 35 kDa sebagai Protein Adhesin Proteus mirabilis Pada Vesika Urinaria Kelinci*. Jurnal Natur Indonesia. ISSN : 1410-9379.
- Tjatur, A., 2012. *Biologi Sistem Peredaran Darah Manusia*. Diunduh dari: <http://learningjust4u.wordpress.com/2012/01/11/ringkasan-materi-biologi.html>. Diakses pada : Kamis, 24 Mei 2018.

