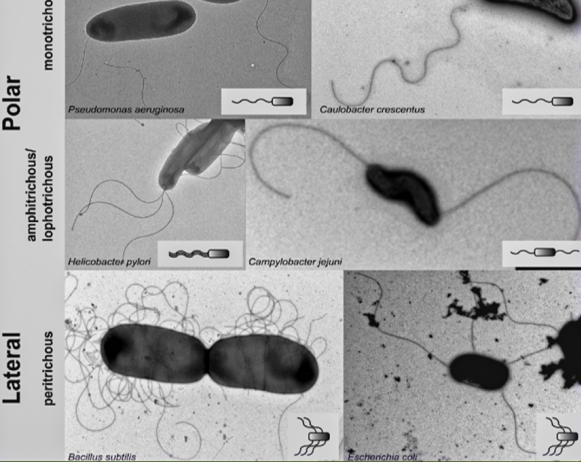




Mengenal Karakter Molekuler dan Immunogenesitas Flagella *Salmonella typhi* Penyebab **Demam Tifoid**

Dr. Sri Darmawati, M.Si.



**MENGENAL KARAKTER
MOLEKULER DAN
IMUNOGENESITAS FLAGELLA
Salmonella typhi
PENYEBAB DEMAM TIFOID**

UU No 28 tahun 2014 tentang Hak Cipta

Fungsi dan sifat hak cipta Pasal 4

Hak Cipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3 huruf a merupakan hak eksklusif yang terdiri atas hak moral dan hak ekonomi.

Pembatasan Pelindungan Pasal 26

Ketentuan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 23, Pasal 24, dan Pasal 25 tidak berlaku terhadap:

- i. Penggunaan kutipan singkat Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait untuk pelaporan peristiwa aktual yang ditujukan hanya untuk keperluan penyediaan informasi aktual;
- ii. Penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk kepentingan penelitian ilmu pengetahuan;
- iii. Penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk keperluan pengajaran, kecuali pertunjukan dan Fonogram yang telah dilakukan Pengumuman sebagai bahan ajar; dan
- iv. Penggunaan untuk kepentingan pendidikan dan pengembangan ilmu pengetahuan yang memungkinkan suatu Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait dapat digunakan tanpa izin Pelaku Pertunjukan, Produser Fonogram, atau Lembaga Penyiaran.

Sanksi Pelanggaran Pasal 113

1. Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
2. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

Dr. Sri Darmawati, M.Si.

**MENGENAL KARAKTER
MOLEKULER DAN
IMUNOGENESITAS FLAGELLA
Salmonella typhi
PENYEBAB DEMAM TIFOID**

**MENGENAL KARAKTER MOLEKULER DAN IMUNOGENESITAS
FLAGELLA *SALMONELLA TYPHI* PENYEBAB DEMAM TIFOID**

Sri Darmawati

Desain Cover :
Herlambang Rahmadhani

Sumber :
www.shutterstock.com

Tata Letak :
Amira Dzatin Nabila

Proofreader :
Avinda Yuda Wati

Ukuran :
xii, 59 hlm, Uk: 14x20 cm

ISBN :
978-623-02-2858-2

Cetakan Pertama :
Mei 2021

Hak Cipta 2021, Pada Penulis

Isi diluar tanggung jawab percetakan

Copyright © 2021 by Deepublish Publisher
All Right Reserved

Hak cipta dilindungi undang-undang
Dilarang keras menerjemahkan, memfotokopi, atau
memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini
tanpa izin tertulis dari Penerbit.

PENERBIT DEEPUBLISH
(Grup Penerbitan CV BUDI UTAMA)
Anggota IKAPI (076/DIY/2012)

Jl.Rajawali, G. Elang 6, No 3, Drono, Sardonoharjo, Ngaglik, Sleman
Jl.Kaliurang Km.9,3 – Yogyakarta 55581
Telp/Faks: (0274) 4533427
Website: www.deepublish.co.id
www.penerbitdeepublish.com
E-mail: cs@deepublish.co.id

KATA PENGANTAR

Kemampuan bakteri untuk dapat menimbulkan terjadinya infeksi tergantung dari faktor virulensi. Faktor virulensi yang dimiliki oleh bakteri antara lain adalah pilli atau *fimbriae*, kapsul, *outer layer* (selaput luar) yang tersusun dari LPS yang hanya dimiliki oleh bakteri Gram negatif, dan flagella. Flagella adalah salah satu faktor virulensi yang dimiliki oleh bakteri yang bersifat motil, termasuk *S. typhi* penyebab demam tifoid. Flagella tersusun oleh protein flagellin, yang disandi oleh gen *fliC*. Di Indonesia dijumpai adanya *S. typhi* dengan gen *fliC* ukuran 1.262bp, karena adanya delesi sebanyak 250bp. Namun dijumpai pula *S. typhi* dengan gen *fliC* yang berukuran lebih kurang 1512bp yang tersebar di seluruh dunia.

Protein flagellin yang dikode oleh gen *fliC* dengan ukuran gen yang berbeda, akan menunjukkan profil protein yang berbeda pula. Oleh karena itu perlu diketahui adanya karakter molekuler protein flagellin yang meliputi variasi profil protein serta variasi gen penyandi protein flagellin dari *S. typhi* penyebab demam tifoid khususnya isolat Jawa Tengah dan Yogyakarta.

Flagella bakteri yang tersusun oleh protein flagellin juga bersifat imunogenik. Imunogenesitas suatu antigen sangat dipengaruhi oleh jenis penyusun antigen. Antigen flagel yang berasal dari isolat bakteri yang berbeda dapat menunjukkan adanya variasi profil protein yang menyusunnya. Perbedaan variasi protein meliputi berat molekul, subunit penyusunnya tentu akan mempengaruhi imunogenesitas dari antigen tersebut.

Monograf ***Mengenal Karakter Molekuler dan Imunogenesitas Flagella Salmonella typhi Penyebab Demam Tifoid*** ini berisi tentang teori, konsep, cara kerja praktis di laboratorium, dan hasil-hasil penelitian yang berhubungan dengan profil protein flagellin, profil gen flagellin, dari *S. typhi* isolat Jawa Tengah dan Yogyakarta serta imunogenesitasnya. Imunogenesitas protein flagellin yaitu kemampuan protein flagellin dalam menimbulkan terjadinya respons imun yang meliputi: kadar Nitrit oxid, aktivitas fagositosis dari makrofag, kemampuannya untuk dapat menimbulkan terbentuknya antibodi, serta spesifisitas dari antibodi yang ditimbulkan pada mencit Balb/C yang diimunisasi menggunakan antigen flagellin. Protein flagellin *S. typhi* sampai saat digunakan sebagai reagen untuk pemeriksaan demam tifoid dengan metode Widal. Namun sensitivitas dan spesifisitasnya sangat bervariasi, sehingga diperlukan informasi yang lebih banyak tentang karakter molekuler dan imunogenesitas dari protein flagellin *S. typhi*, dengan harapan dapat untuk pijakan dalam mengembangkan reagen diagnostik demam tifoid.

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi melalui LLDIKTI Wilayah VI Jawa Tengah, yang telah membiayai penelitian Fundamental pada tahun 2015-2016, serta kepada para mahasiswa D-4 Teknologi Laboratorium Medik Universitas Muhammadiyah Semarang yang telah berkontribusi dalam penelitian tentang flagellin *S. typhi*. Kepada para pembaca diharapkan saran yang membangun untuk kesempurnaan monograf ini.

Semarang, April 2021

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Permasalahan.....	3
C. Tujuan	4
D. Metode Pemecahan Masalah.....	5
BAB II. FLGELLA DAN PROTEIN FLAGELLIN.....	6
A. Flagella.....	6
B. Tipe Flagella.....	8
C. Protein Flagellin.....	10
D. Isolasi Protein Flagellin dan Separasi Berdasarkan SDS-PAGE	10
E. Profil Protein Flagellin Sembilan Strain <i>S. typhi</i> Isolat Jawa Tengah dan Yogyakarta	11
F. Analisis Similaritas <i>S. typhi</i>	13
BAB III. AMPLIFIKASI GEN FLAGELLIN.....	16
A. Gen Flagellin	16
B. Amplifikasi Gen Flagellin dan Sekuensing	17
C. Analisis Kekerabatan <i>S. typhi</i>	20

BAB IV. IMUNOGENESITAS PROTEIN FLAGELLIN.....	22
A. Immunogenesitas Protein Flagellin.....	22
B. Immunisasi Mencit.....	23
C. Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag.....	24
D. Kadar Nitric Oxid (NO).....	29
E. Pengukuran Kuantitas Antibodi Antiprotein Flagellin	30
F. <i>Western Blotting</i>	32
BAB V. PENUTUP	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN.....	41
GLOSARIUM	52
INDEKS.....	55
PENULIS	59

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Profil Protein Flagellin 9 Strain <i>S. typhi</i> Asal Jawa Tengah dan Yogyakarta Berdasarkan SDS-PAGE	13
Tabel 2.	Ukuran Flagellin Gen <i>fliC</i> dari 10 Isolat <i>S. typhi</i> Asal Jawa Tengah dan Yogyakarta Berdasarkan Hasil Sekuensing	19
Tabel 3.	Matriks Similaritas dan Perbedaan Nukleotida Sekuen Gen Flagellin <i>fliC</i> 10 Strain <i>S. typhi</i> Isolat Jawa Tengah dan Yogyakarta	21
Tabel 4.	Aktivitas Fagositosis Makrofag Mencit Terhadap Latex yang Telah 2 Minggu Diimunisasi dengan Protein Flagelliin <i>S. typhi</i> BA07.4 dan <i>S. typhi</i> SLT	29
Tabel 5.	Kadar NO Supernatant Makrofag Mencit yang Telah 2 Minggu Diimunisasi dengan Protein Flagelliin <i>S. typhi</i> BA07.4 dan <i>S. typhi</i> SLT-1	30
Tabel 6.	Hasil Elisa Antiflagellin <i>S. typhi</i> BA07.4 dan Antiflagellin <i>S. typhi</i> SLT-1	31

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 1. Skema Diagram Flagellum Bakteri. OM (*outer membrane*), PG (*Lapisan Peptidoglycan*), CM (*Membran Citoplasma*) 7
- Gambar 2. Tipe Flagella dan Lokasinya pada Bakteri. *Negative-stained electron Micrographs from Polar-Flagellated P. aeruginosa, C. crescentus, the Lophotrichous H. pylori, the Amphitrichous C. jejuni and the Peritrichously Flagellated B. Subtilis and E. coli. The Insets Schematically Indicate The Respective Patterns*..... 9
- Gambar 3. Profil SDS-PAGE Protein Flagellin *S. typhi* pada (A) dan (B) dari 9 Strain Bakteri *S. typhi* 7 Isolat Jawa Tengah dan 2 Isolat Yogyakarta. Berturut-Turut M) Marker Protein, 1) *S. typhi* BA07.4, 2) SLT-1, 3) MG-1, 4) SA02.2, 5) EM-3, 6) KD30.3, 7) KD 27.2, 8) BET, 9) SRJ 12
- Gambar 4. Dendogram yang Menunjukkan Hubungan Similaritas 9 Strain *S. typhi* Asal Jawa Tengah dan Yogyakarta yang Didasarkan Atas Analisis *Simple Matching Coefficient* (SSM) dengan Algoritme UPGMA..... 14

Gambar 5. Matriks Similaritas Disusun Berdasarkan Nilai Hubungan Similaritas antara 9 Strain <i>S. typhi</i> Asal Jateng dan Yogyakarta Menggunakan <i>Simple Matching Coefficient</i> (SSM).....	14
Gambar 6. Hasil PCR Gen <i>fliC</i> 10 Strain <i>S. typhi</i> (1) SLT-1, (2) BA 07.3, (3) BA 07.4, (4) BA 07.5, (5) KD 27.2, (6) KD 30.3, (7) SA 02.2, (8) EM.3, (9) BET, (10) SRJ, Marker	19
Gambar 7. Pohon Filogeni yang Direkonstruksi Berdasarkan <i>Algoritme Neighbour Joining</i> yang Menunjukkan Hubungan Kekerabatan antara 10 Strain <i>S. typhi</i> Isolat Jawa Tengah dan Yogyakarta Berdasarkan Sekuens Gen Flagellin <i>fliC</i>	20
Gambar 8. Imunisasi Intraperitonium Mencit Balb/C.....	23
Gambar 9. Sampel Darah Mencit Balb/C Diambil dari Konjungtiva	24
Gambar 10. Kulit perut mencit Balb/C yang dibuka.....	25
Gambar 11. Medium RPMI Dimasukkan ke dalam Rongga Peritoneum Mencit	26
Gambar 12. Aspirasi (Pengambilan) Suspensi Makrofag, Digunakan Sput	26
Gambar 13. Sel Makrofag Mencit Balb/C(Tanda Panah)	27
Gambar 14. Latex yang Difagosit Makrofag (A) Perbesaran 400 x, (B) Perbesaran 100 x	28

Gambar 15. <i>Western Blotting</i> Anti Flagellin <i>S. typhi</i> : M)	
Marker Protein, 1). Anti Flagellin BA07.4	
dengan Flagellin BA07.4, 2) Anti BA07.4	
dengan SLT-1, 3) Anti Flagellin SLT-1	
dengan Flagellin BA07.4, 4) Anti Flagellin	
SLT-1 dengan Flagellin SLT-1.....	34

BAB I.

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Demam *enteric* merupakan penyakit infeksi sistemik yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella enteric* serovar *Typhi* (*S. typhi*) yang disebut sebagai demam tifoid (*typhoid fever*) dan demam paratifoid (*paratyphoid fever*) yang disebabkan oleh *Salmonella enteric* serovar *paratyphi* (*S. paratyphi A, B* dan *C*) (Azmatullah *et al.*, 2015; Ajibola *et al.*, 2018). Kasus ini menjadi salah satu penyebab kematian di beberapa negara berkembang, seperti negara-negara di Asia Tenggara termasuk Indonesia (Darmawati, *et al.*, 2016).

Penyakit demam tifoid sering menunjukkan gejala klinik yang tidak spesifik, sering mirip dengan malaria, *dengue fever* dan influenza, leptospirosis dan infeksi oleh *Rickettsia* (Azmatullah *et al.*, 2015; Arora *et al.*, 2019), sehingga untuk diagnosis pastinya sangat sulit. Untuk diagnosis pastinya harus dibantu dengan pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan laboratorium antara lain adalah pemeriksaan mikrobiologi, dengan kultur bakteri dari sampel darah, sumsum tulang, namun biayanya mahal dan tidak semua laboratorium di daerah memiliki fasilitas yang mendukung, waktunya lama (3-7 hari) (Wain and Hosoglu, 2008).

Baku emas demam tifoid yaitu dengan ditemukannya *S. typhi* pada kultur darah ataupun sumsum tulang (Darmawati *et al.*, 2015b). Kultur darah sering memberikan hasil negatif,

karena kebanyakan pasien yang sudah ke dokter ataupun ke rumah sakit sudah mendapatkan terapi antibiotik (Khan *et al.*, 2012). Sehingga banyak digunakan pemeriksaan serologi, karena mudah, relatif murah, cepat dan banyak fasilitas yang bisa mendukungnya.

Pemeriksaan serologi yang pertama digunakan adalah Widal, digunakan sejak tahun 1950 (Wain and Hosoglu, 2008). Pemeriksaan Widal memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang bervariasi, dengan *cut-off* yang berbeda-beda pula. Pemeriksaan Widal adalah pemeriksaan antibodi yang ada pada serum pasien, sedangkan yang digunakan sebagai antigennya adalah protein flagellin sebagai antigen H, selaput luar yang tersusun dari lipopolisakarida (LPS) sebagai antigen O (antigen somatik) (Ajibola *et al.*, 2018).

Kultur darah dari pasien uji Widal positif, menunjukkan adanya macam-macam bakteri anggota familia *Enterobacteriaceae* seperti: *S. typhi*, *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumonia*, hal ini menunjukkan bahwa Widal positif dimungkinkan ditemui bakteri batang Gram negatif yang lainnya, karena adanya *sharing epitope* (Darmawati *et al.*, 2015b). Oleh karena itu perlu dicari alternatif pemeriksaan serologi yang lain yang lebih akurat.

Untuk pengembangan metode diagnosis laboratorium perlu dicari alternatif antigen yang spesifik. Antigen yang banyak digunakan untuk pengembangan metode diagnosis adalah komponen yang berperan dalam faktor virulensi dari bakteri. Faktor virulensi adalah faktor yang dimiliki oleh sel bakteri untuk dapat menimbulkan terjadinya infeksi dan yang berperan dalam patogenitas dari bakteri tersebut.

Patogenitasnya sangat tergantung pada sejumlah faktor virulensi, seperti kemampuan untuk *adhesi* (melekat) pada sel *host* yang diperankan oleh pilli atau sering disebut sebagai *fimbriae*, flagella yang berperan untuk bergerak menuju ke permukaan sel *host*, enzim, toksin (endotoksin) yang terdapat pada selaput luar, dan faktor bioaktif (Darmawati, *et al.*, 2016).

Faktor virulensi tersebut yang akan memfasilitasi bakteri untuk melekat pada mukosa usus halus, invasi, multiplikasi dan menyebar masuk ke jaringan limfoid sampai ke aliran darah dan beredar ke seluruh tubuh sampai pada hati, sumsum tulang, limfa, kandung empedu dan *Peyer's patch* (Alexan *et al.*, 2009; Jindal *et al.*, 2012; Darmawati *et al.*, 2013).

B. Permasalahan

Di Indonesia pemeriksaan serologi banyak digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis klinis demam tifoid, baik di laboratorium klinik swasta, puskesmas maupun di rumah sakit. Pemeriksaan serologi yang banyak digunakan adalah Widal, yang tujuannya deteksi antibodi anti flagella atau aglutinogen H ataupun anti O atau aglutinogen O. Dalam pemeriksaan tersebut digunakan antigen O dan antigen H sebagai faktor virulensi yang dimiliki oleh *S. typhi*. Antigen O adalah antigen somatik yang dimiliki oleh bakteri *S. typhi* yang terletak pada bagian selaput luar dinding selnya, sedangkan antigen H adalah antigen flagel yang berfungsi sebagai alat gerak. Selain itu bakteri *S. typhi* memiliki pilli yang tersusun dari protein pillin. Antigen O, antigen flagel, maupun antigen pilli tidak hanya dimiliki oleh *S. typhi*,

namun juga dimiliki oleh bakteri batang Gram negatif yang lainnya. Oleh karena itu perlu diketahui karakter molekuler dari flagella yang merupakan salah satu faktor virulensi yang dimiliki oleh *S. typhi*.

Berdasarkan uraian tersebut permasalahan yang perlu dipecahkan adalah: Bagaimanakah karakter molekuler flagellin sebagai salah satu faktor virulensi dari bakteri *S. typhi* penyebab demam tifoid. Untuk pemecahan masalah tersebut dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Memahami struktur flagella *Salmonella* dan protein flagellin.
2. Isolasi protein flagellin.
3. Analisis profil protein flagellin *S. typhi* berdasarkan SDS-PAGE.
4. Amplifikasi gen flagellin *S. typhi* dengan metode PCR.
5. Menentukan imunogenesitas flagellin.

C. Tujuan

Tujuan dari tulisan ini adalah: 1) memberikan pemahaman tentang struktur flagella bakteri, tipe dan fungsi flagella; 2) memberikan pemahaman bagaimana isolasi protein flagellin; 3) serta memahami bagaimana profil protein flagellin berdasarkan metode SDS-PAGE; 4) memahami bagaimana cara amplifikasi gen flagellin dengan metode PCR, serta memahami keanekaragaman bakteri dalam satu spesies pada isolate yang berbeda berdasarkan sekuens gen flagellin; 5) memahami bagaimana imunogenesitas flagellin tersebut untuk dapat menimbulkan terjadinya respons imun; 6) untuk pengenalan teknik imunisasi hewan coba serta teknik untuk mengukur titer

antibodi yang ditimbulkannya menggunakan *inhouse* ELISA, dan memahami bagaimana cara *Western Blotting* untuk mengetahui spesifisitas dari antibodi sebagai respons terhadap antigen yang diimunisasikan.

Tulisan ini diharapkan dapat membuka wawasan para peneliti, ahli mikrobiologi, imunologi, Biologi Molekuler, dan para mahasiswa bahwa karakter molekuler dari flagellin sebagai salah satu faktor virulensi pada bakteri *S. typhi* dapat dideteksi dengan metode molekuler ataupun dengan imunologi.

D. Metode Pemecahan Masalah

Pemecahan masalah dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Isolasi protein flagellain, pemekatan konsentrasi protein, dialisa dan SDS-PAGE
2. Amplifikasi gen flagellin *S. typhi* dengan metode PCR serta sekuensing gen flagellin.
3. Uji imunogenesitas protein flagellain *S. typhi* meliputi:
 - a. Imunisasi mencit.
 - b. Uji aktivitas fagositosis sel makrofag.
 - c. Mengukur kadar Nitric Oxid (NO).
 - d. Mengukur kuantitas antibodi menggunakan *inhouse* ELISA.
 - e. *Western Blotting* untuk menganalisis spesifisitas antibodi anti protein flagellin.

BAB II.

FLAGELLA DAN PROTEIN FLAGELLIN

A. Flagella

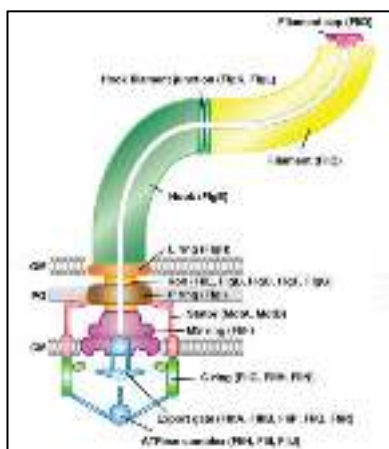
Flagellum (tunggal) apabila jamak adalah flagella, yang berasal dari bahasa latin yang artinya **cambuk**. Flagella pada bakteri adalah organella yang berbentuk filamen, yang berfungsi untuk pergerakan. Flagella akan berfungsi untuk membantu *swimming* sel bakteri pada media cair, dan pada permukaan media akan membantu sel bakteri melakukan *swarming*. Bakteri bergerak untuk mencari nutrisi, menghindari senyawa yang toksik, membentuk koloni, membentuk struktur yang kompleks seperti membentuk biofilm. (Terashima *et al.*, 2008).

Swarming terjadi pada media semisolid dengan kandungan agar 0,4-0,7%, sedangkan *swimming* terjadi pada media cair yang konsentrasi agarnya sangat rendah (0,1-0,3%), serta dibutuhkan sumber energi yang kaya akan karbon, contohnya glukosa (Park *et al.*, 2015). Bakteri yang tidak memiliki flagella akan bergerak dengan cara *gliding* ataupun *sliding* serta *Twitching motility* adalah pergerakan bakteri pada permukaan yang diperantarai oleh pili tipe IV (Park *et al.*, 2015). *Gliding motility* adalah gerakan meluncur (*active surface movement*), dan *sliding motility* adalah *passive surface translocation powered*), terjadi pada bakteri yang tidak memiliki flagella.

Bakteri yang bergerak dengan cara *sliding* adalah *Mycobacterium smegmatis* ini adalah bakteri Gram positif

yang tidak motil karena tidak memiliki flagella namun dapat menyebar pada permukaan media pertumbuhan (Martínez *et al.*, 1999). *Sliding* bisa terjadi karena adanya *surfactant* yaitu substansi yang dapat menurunkan tegangan permukaan, selain itu adanya senyawa *exopolysaccharides*, *hydrophobic proteins*, atau *glycopeptidolipids* (Hölscher and Kovács, 2017).

Flagellum tersusun dari *basal body ring* dan bagian *axial structure*. *Axial structure* tersusun dari *rod*, *hook*, *hook filament junction*, *filament* dan *filament cup*. Filamen yang berbentuk silindris adalah bagian yang paling besar. *Basal body ring* tertanam di dalam membran sel dan berfungsi sebagai *rotary motor*, ditunjukkan pada Gambar 1. *Basal body* terdiri dari: C ring, MS ring, P ring dan L ring dan *rod*.



Gambar 1. Skema Diagram Flagellum Bakteri. OM (*outer membrane*), PG (*Lapisan Peptidoglycan*), CM (*Membran Citoplasma*) (Minamimo, T., Morimoto, Y.V., Kawatomo, A., Terashima, H., Imada, 2118)

Pada *Salmonella* panjang filamen dari flagella sekitar 15µm dan disusun dari 30.000 kopi protein flagellin. Subunit flagellin pada *Salmonella* dan *E coli* disandi oleh gen *fli C* (Terashima *et al.*, 2008). *Salmonella enterica* memiliki 2 gen flagellin yaitu: *fliC* dan *fljB* (Minamimo, T., Morimoto, Y.V., Kawatomo, A., Terashima, H., Imada, 2018).

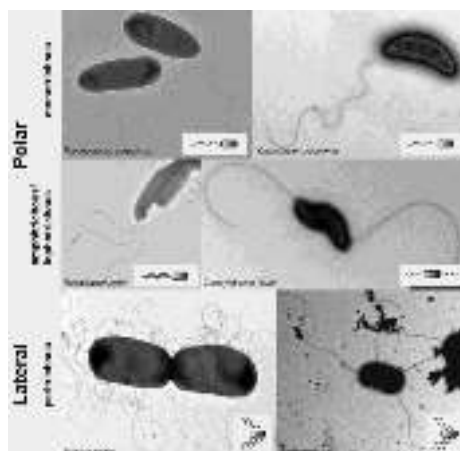
Bakteri *S. typhi* dibedakan menjadi 2 serotipe berdasarkan antigen flagel yang diekspresikan, kedua antigen tersebut memiliki antigenisitas yang berbeda pula (Bishop *et al.*, 2012). *Salmonella typhi* serotipe H1 mengekspresikan gen flagellin *H1(fliC)* yang terdapat pada kromosom yaitu Hd antigen, serotipe H2 mengekspresikan gen flagellin *H2 (fljB^{z66})* yang terdapat pada linear plasmid yaitu Hj antigen (Scott & Simon 1982; Bishop *et al.*, 2012) Gen *fljB^{z66}* adalah gen *fliC* yang mengalami delesi pada bagian sentral sebanyak 261bp, yaitu bagian *antigenically determinant* (Frankel *et al.*, 1989; Hatta, Andi R Sultan, *et al.*, 2011). Antigen Hd dijumpai pada *S. typhi* di seluruh dunia, tetapi antigen Hj hanya dijumpai pada isolat dari Indonesia (Frankel *et al.*, 1989). Kebanyakan *Salmonella* memiliki dua macam gen tersebut, tetapi hanya diekspresikan salah satu gen saja pada suatu waktu (Frankel *et al.*, 1989; Sabir *et al.*, 2014).

Bakteri *S. typhi* isolat Salatiga (SLT-1) dengan gen flagel (*fliC*) 1262bp, sedangkan gen *fliC* *S. typhi* Isolat Semarang (BA07.4) berukuran 1458bp, yang menunjukkan profil protein yang berbeda pula (Darmawati *et al.*, 2015a)

B. Tipe Flagella

Berdasarkan lokasi dan jumlah flagella pada setiap jenis bakteri, maka ada dua tipe flagella berdasarkan

fungsiya, yaitu: 1) **Polar flagel** (*monotrich*, *amphitrich*, dan *lopotrich*) yang fungsiya untuk *swimming* pada lingkungan cair (*liquid*), 2) **Lateral flagel** (*peritrich*) yang fungsiya untuk bergerak pada lingkungan yang kental (*viscous*). Tipe flagella **monotrich**, letak satu flagellum pada salah satu ujung sel bakteri, contohnya pada bakteri: *Pseudomonas aeruginosa* dan *Caulobacter crescentus*, sedangkan tipe **Lopotrich**: pada salah satu ujung sel bakteri terletak beberapa flagellum, contohnya: *Helicobacter pylori*.



Gambar 2. Tipe Flagella dan Lokasinya pada Bakteri. *Negative-stained electron Micrographs from Polar-Flagellated *P. aeruginosa*, *C. crescentus*, the Lophotrichous *H. pylori*, the Amphitrichous *C. jejuni* and the Peritrichously Flagellated *B. Subtilis* and *E. coli*. The Insets Schematically Indicate The Respective Patterns.*

Unless provided in the caption above, the following copyright aFEMS Microbiol Rev, Volume 39, Issue 6, November 2015, Pages 812–822, <https://doi.org/10.1093/femsre/fuv034>

Tipe **amphitrich**: pada kedua ujung sel bakteri terletak masing-masing satu flagellum, contohnya *Campylobacter jejuni*. Tipe **peritrich** letak flagellum pada semua permukaan sel, yang jumlahnya 1-25 flagellum. Tipe-tipe flagellum ditunjukkan pada Gambar 2.

C. Protein Flagellin

Protein flagellin adalah protein yang tersusun dari banyak subunit protein dan merupakan protein yang menyusun flagella dari bakteri, bersifat imunogenik, dan dikode oleh gen *fliC* (Sukosol *et al.*, 1994; Jindal *et al.*, 2012). Protein flagellin terikat pada *Tool-like receptor* (TLR5) yang terdapat pada sel epitelium, sel dendritik dan makrofag untuk mengaktifkan gen yang berperan dalam sistem imun alamiah yang kemudian dapat menghasilkan sitokin (IL-1, IL-8, TNF- α), *Nitric Oxide* (NO) dan faktor yang mengaktivasi platelet, sebagai mediator pro-inflamasi (Sano *et al.*, 2007; Alexan *et al.*, 2009).

D. Isolasi Protein Flagellin dan Separasi Berdasarkan SDS-PAGE

Protein flagellin diperoleh dengan cara ditumbuhkan satu koloni bakteri pada 50 mL medium BHI cair, diinkubasi 24 jam, pada suhu 37°C dengan agitasi yang digunakan sebagai starter. Lima puluh mililiter starter selanjutnya dimasukkan ke dalam 500mL BHI cair, diinkubasi 48 jam, pada suhu 37°C dengan agitasi.

Kultur bakteri (umur 48 jam) disentrifus pada suhu 4°C, dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Pellet disuspensikan dengan 5mL larutan fisiologis sampai menjadi

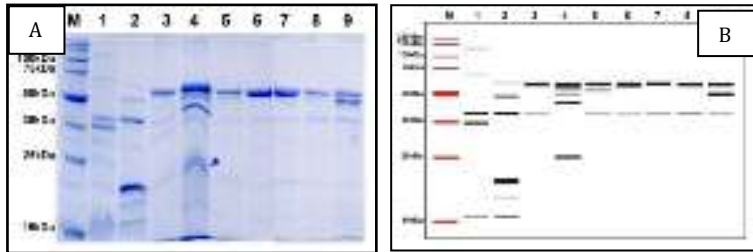
suspensi yang kental, kemudian keasaman suspensi dibuat sampai pH 2 dengan cara ditambah 1M HCl, di-*stirer* selama 30 menit pada suhu ruang, disentrifus 3000 rpm selama 30 menit. Supernatan mengandung protein flagellin.

Supernatan pH nya dibuat 7,2 dengan menambahkan 1M NaOH. Protein flagellin kemudian dipekatkan dengan cara *difresdryer* atau dipekatkan dengan Amonium sulfat (Alexan *et al.*, 2009).

Protein flagellin dari bakteri kemudian diseparasi menggunakan metode SDS-PAGE 12%, dengan pewarnaan 0,1% *Coomassie Brilliant Blue R-250*, untuk mengetahui profil proteinnya.

E. Profil Protein Flagellin Sembilan Strain *S. typhi* Isolat Jawa Tengah dan Yogyakarta

Sembilan strain *S. typhi* adalah hasil isolasi dari kultur darah pasien Widal positif (menggunakan media BacT/Alert FAN, subkultur menggunakan media BAP dan Mac-Conkey, dimurnikan kemudian dilakukan pengecatan Gram dan uji biokimia IMViC-MU dan gula-gula, katalase serta oksidase, yang kemudian dikonfirmasi kembali hasil identifikasi tersebut menggunakan media API 20E dan API 50CHBE (Darmawati *et al.*, 2011). Protein flagellin dari masing-masing strain diisolasi, diseparasi dengan SDS-PAGE (12%) dengan pengecatan CBB ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Profil SDS-PAGE Protein Flagellin *S. typhi* pada (A) dan (B) dari 9 Strain Bakteri *S. typhi* 7 Isolat Jawa Tengah dan 2 Isolat Yogyakarta. Berturut-Turut M) Marker Protein, 1) *S. typhi* BA07.4, 2) SLT-1, 3) MG-1, 4) SA02.2, 5) EM-3, 6) KD30.3, 7) KD 27.2, 8) BET, 9) SRJ

Protein flagellin dari 9 strain *S. typhi* setelah disepari menggunakan SDS-PAGE 12% menunjukkan adanya 2-6 subunit protein, terdiri dari 1-2 protein mayor dan 1-4 protein minor (Gambar 3). Berat molekul subunit protein yang menyusun flagellin mulai dari 16-116kDa. Pita protein mayor yang berat molekulnya 60kDa dimiliki oleh 8 strain isolat Jawa Tengah dan Yogyakarta, kecuali flagellin *S. typhi* BA07.4 (Tabel 1), hal ini berbeda dengan penelitian (Alexan *et al.*, 2009) yang menyampaikan bahwa protein flagellin *S. typhi* yang diisolasi dari anak ayam yang mengalami diare, terdiri dari satu pita protein mayor (54,11kDa), 3 pita protein minor (41; 36,6 dan 25,7kDa). Perbedaan profil protein flagellin dari strain yang berbeda menunjukkan adanya variasi genetik pada gen flagellin yang dimiliki oleh masing-masing strain. Perbedaan profil protein flagellin kemungkinan akan berakibat pada perbedaan virulensinya ketika berperan dalam menimbulkan terjadinya patogenitas, karena flagellin adalah protein penyusun flagel yang

merupakan salah satu faktor virulensi (Alexan, Mohamed and Ibrahim, 2009; Darmawati *et al.*, 2011; Jindal *et al.*, 2012).

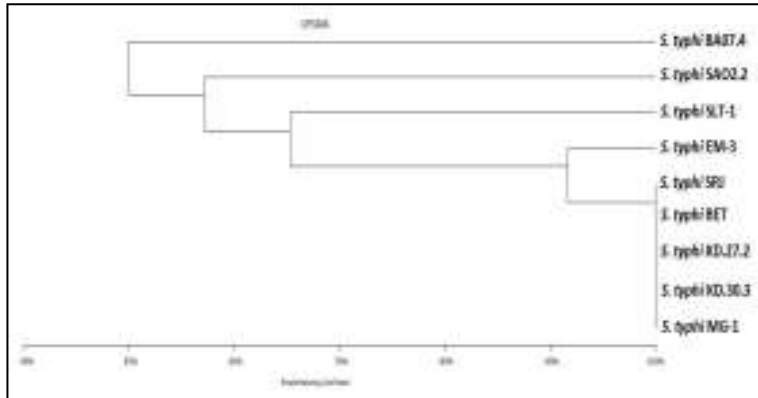
Tabel 1. Profil Protein Flagellin 9 Strain *S. typhi* Asal Jawa Tengah dan Yogyakarta Berdasarkan SDS-PAGE

No.	Karakter protein flagellin (kDa)	<i>S. typhi</i> BA07.4	<i>S. typhi</i> SLT-1	<i>S. typhi</i> MG-1	<i>S. typhi</i> SA02.2	<i>S. typhi</i> EM-3	<i>S. typhi</i> KD30.3	<i>S. typhi</i> KD27.2	<i>S. typhi</i> BET	<i>S. typhi</i> SRJ
1	116	+	0	0	0	0	0	0	0	0
2	70	+	0	0	0	0	0	0	0	0
3	60	0	+	+	+	+	+	+	+	+
4	52	0	0	0	+	+	0	0	0	0
5	46	0	+	0	+	0	0	0	0	+
6	42	0	0	0	+	0	0	0	0	0
7	36	+	+	+	0	+	+	+	+	+
8	35	+	0	0	0	0	0	0	0	0
9	25	0	0	0	+	0	0	0	0	0
10	20	0	+	0	0	0	0	0	0	0
11	18	0	+	0	0	0	0	0	0	0
12	16	+	+	0	0	0	0	0	0	0

Keterangan: + (ada), 0 (tidak ada)

F. Analisis Similaritas *S. typhi*

Hasil analisis hubungan similaritas dari 9 strain *S. typhi* asal Jawa Tengah dan Yogyakarta berdasarkan analisis *Simple Matching Coefficient* (SSM) serta algoritme UPGMA dan kemudian dipresentasikan dalam bentuk dendogram menggunakan *Paint Shop Pro* dan diedit dengan program *Adhobe Photo Shop* ditunjukkan pada Gambar 4. Hasil analisis similaritasnya atas dasar SSM dan algoritme UPGMA ditunjukkan pada Gambar 4 dan 5.



Gambar 4. Dendrogram yang Menunjukkan Hubungan Similaritas 9 Strain *S. typhi* Asal Jawa Tengah dan Yogyakarta yang Didasarkan Atas Analisis *Simple Matching Coefficient* (SSM) dengan Algoritme UPGMA

MG-1	100								
KD30.3	100	100							
KD27.2	100	100	100						
BET	100	100	100	100					
SRJ	100	100	100	100	100				
EM-3	91,7	91,7	91,7	91,7	91,7	100			
SLT-1	66,7	66,7	66,7	66,7	66,7	66,7	100		
SA02.2	58,3	58,3	58,3	58,3	58,3	66,7	41,7	100	
BA07.4	58,3	58,3	58,3	58,3	58,3	50,0	41,7	16,7	100
MG-1	KD30.3	KD27.2	BET	SRJ	EM-3	SLT-1	SA02.2	BA07.4	

Gambar 5. Matriks Similaritas Disusun Berdasarkan Nilai Hubungan Similaritas antara 9 Strain *S. typhi* Asal Jateng dan Yogyakarta Menggunakan *Simple Matching Coefficient* (SSM)

Berdasarkan hasil analisis similaritas dari 9 strain *S. typhi* dan dendrogram tersebut menunjukkan adanya 5 klaster. **Klaster I** beranggotakan 5 strain, terdiri dari 2 strain

dari Yogyakarta (*S. typhi* BET dan *S. typhi* SRJ), 1 strain dari Magelang (*S. typhi* MG-1) dan 2 strain dari Semarang (KD30.3 dan KD27.2). Kelima strain tersebut memiliki indeks similaritas 100%, dengan 2 subunit protein flagellin (60kDa dan 36kDa). **Klaster II** beranggotakan 1 strain (*S. typhi* EM-3) dengan 3 subunit protein flagellin yang terdiri atas 2 subunit yang sama yaitu 60kDa dan 36kD, dan masing-masing 1 subunit 52kDa pada EM-3. **Klaster III** beranggotakan 1 strain SLT-1 flagellanya tersusun dari 6 subunit flagellin yang terdiri dari 2 protein mayor (60 dan 20kDa) dan 4 protein minor (46, 36, 18 dan 16kDa). **Klaster IV** beranggotakan 1 strain *S. typhi* SA 02.2 yang flagellanya tersusun dari 5 subunit flagellin terdiri dari 1 protein mayor dan 4 protein minor. **Klaster V** beranggotakan 1 strain *S. typhi* BA 07.4, flagellanya tersusun dari 5 subunit flagellin terdiri dari 2 subunit protein mayor (36 dan 35kDa) dan 3 subunit protein minor (116, 70 dan 16kDa).

BAB III.

AMPLIFIKASI GEN FLAGELLIN

A. Gen Flagellin

Antigen H terdiri dari 2 fase yaitu antigen H fase 1 (H1) yang dikode oleh gen *fliC* yang dapat dijumpai pada semua *Salmonella* dan antigen H fase 2 (H2) dikode oleh gen *fljB* yang hanya dijumpai pada subspecies tertentu dari *Salmonella* (McQuiston *et al.*, 2004).

Antigen H1 terdiri dari H1-d yang dijumpai pada *S. typhi* serovar H1-d yang tersebar luas di dunia dan H1-j pada *S. typhi* serovar H1-j yang hanya dijumpai di Indonesia (Grossman *et al.*, 1995). Antigen d dan j keduanya dikode oleh gen *fliC* yang berada pada kromosom, tetapi gen *fliC* yang mengkode j antigen mengalami delesi 251bp yang berakibat pada perubahan epitop antigen dari flagel. Ekspresi antigen j pada *Salmonella* berakibat pada gejala klinik demam tifoid (Baker *et al.*, 2008). Patogenitasnya sangat tergantung pada sejumlah faktor virulensi, seperti kemampuan untuk *adhesi* (melekat) pada sel *host*, flagella, enzim, toksin, faktor bioaktif. Faktor virulensi yang akan memfasilitasi bakteri untuk melekat pada mukosa usus halus, invasi, multiplikasi dan menyebar masuk ke jaringan limfoid sampai ke aliran darah dan beredar ke seluruh tubuh sampai pada hati, sumsum tulang, limfa, kandung empedu dan *Peyer's patch* (Alexan *et al.*, 2009; Jindal *et al.*, 2012; Darmawati *et al.*, 2013).

Oleh karena itu diharapkan berdasarkan sekuens gen flagellin *fliC* dapat untuk menganalisis kekerabatan *S. typhi*

asal Jawa Tengah (Semarang dan Salatiga) dan Yogyakarta, untuk mengetahui jenis serovarnya dan mengetahui keanekaragaman genetiknya, diharapkan berdasarkan sekuens gen flagellin ini dapat mengetahui keanekaragaman genetik *S. typhi* yang berasal dari ketiga daerah tersebut dan dapat digunakan sebagai dasar untuk melacak epidemiologi demam tifoid.

B. Amplifikasi Gen Flagellin dan Sekuensing

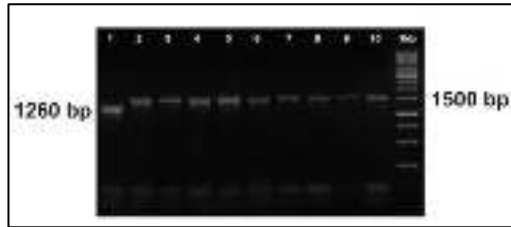
Sampelnya adalah bakteri *S. typhi* isolat Semarang sebanyak 7 strain (strain BA 07.3, BA 07.4, BA 07.5, KD 27.2, KD 30.3, SA 02.2, EM.3), satu strain isolat Salatiga (*S. typhi* SLT.1) dan 2 strain isolat Yogyakarta (*S. typhi* BET dan *S. typhi* SRJ). Sampel diperoleh dari hasil isolasi kultur darah Widal positif (Darmawati *et al.*, 2012a; 2012b)

Isolasi DNA genom bakteri digunakan *DNeasy Blood dan Tissue Kits* (Qiagen, katalog nomor 69504) dengan langkah-langkah persiapan lisat sel, pengikatan DNA, pencucian DNA, elusi DNA dan penyimpanan DNA. Amplifikasi gen *fliC* digunakan primer LPW 1856 (5'-ATGGCACAAGTCATTAATACAAAC-3') dan LPW 1857 (5'-TTAACGCAGTAAAGAGAGGACGTT-3') (Lau *et al.*, 2005)

Reagen yang digunakan untuk amplifikasi gen *fliC* dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah Maxima Hot Start Green PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific, K1061) dan ukuran yang digunakan adalah 12,5 µl master Mix, primer LPW 1856 dan LPW 1857 masing-masing 1 µl, DNA cetakan 1µl, dH₂O steril 7,5µl, volume setiap tabung adalah 25µl, digunakan alat *Applied Biosystems GeneAmp PCR System 2400*.

Amplifikasi gen *fliC* dilakukan sebanyak 30 siklus pada kondisi: suhu 95°C selama 30 detik untuk melakukan denaturasi DNA, 46°C selama 30 detik untuk melakukan proses penempelan primer pada DNA cetakan (primer LPW 1856 dan LPW 1857), untuk ekstensi pada suhu 72°C selama 2 menit dengan *final extention* pada suhu 72°C selama 10 menit untuk melakukan proses polimerisasi DNA. Hasil amplifikasi fragmen DNA dipisahkan dengan 1% *Agarose Gel Electrophoresis* berdasarkan ketampakan pita tunggal pada 1500bp. Visualisasi amplikon menggunakan *Major Science UV transluminator*. Sekuensing DNA dilakukan pada alat sekuenser *ABI Prism™ 310*.

Hasil PCR gen flagellin *fliC* menggunakan primer LPW 1856 dan LPW 1857, yang kemudian dielektroforesis menggunakan 1% agarose ditunjukkan pada Gambar 6. Hasilnya menunjukkan bahwa ukuran pita pada hasil PCR gen *fliC* pada strain *S. typhi* SLT.1 isolat Salatiga setara dengan 1260 bp, tampak berbeda dengan pita dari 9 strain *S. typhi* yang lainnya dengan ukuran setara dengan 1500bp. Kejadian ini senada dengan hasil penelitian Lau *et al.* (2005) dan Baker *et al.* (2008), bahwa gen flagellin *fliC* yang berukuran setara dengan 1260 bp menyandi H1-J dari *S. typhi* serovar H1-j, bakteri ini kurang motil dan kurang invasif apa bila dibandingkan *S. typhi* serovar H1-d.



Gambar 6. Hasil PCR Gen *fliC* 10 Strain *S. typhi* (1) SLT-1, (2) BA 07.3, (3) BA 07.4, (4) BA 07.5, (5) KD 27.2, (6) KD 30.3, (7) SA 02.2, (8) EM.3, (9) BET, (10) SRJ, Marker

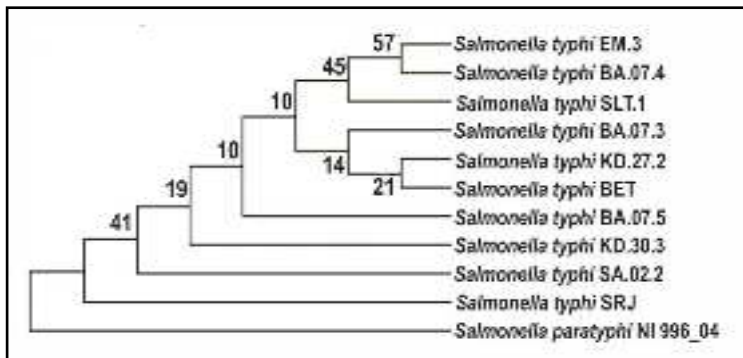
Salmonella typhi serovar H1-j hanya dijumpai di Indonesia, gen *fliC* terdapat pada kromosom yang menyandi flagellin tipe H-1j sama dengan gen *fliC* yang menyandi flagellin tipe H1-d tetapi mengalami delesi 260 bp, sehingga hanya berukuran kira-kira 1267 bp (Tabel 2). Sebanyak 10 strain *S. typhi* terdapat 1 strain H1-J (10%), 9 strain (90%) strain H1-d. data sekuen gen *fliC* 10 Isolate *S. typhi* ditunjukkan pada Lampiran 1.

Tabel 2. Ukuran Flagellin Gen *fliC* dari 10 Isolat *S. typhi* Asal Jawa Tengah dan Yogyakarta Berdasarkan Hasil Sekuensing

Strain Asal		Ukuran Gen <i>fliC</i>
<i>S. typhi</i> BA 07.3	Semarang	1454 bp
<i>S. typhi</i> BA 07.4	Semarang	1458 bp
<i>S. typhi</i> BA 07.5	Semarang	1454 bp
<i>S. typhi</i> EM 3	Semarang	1456 bp
<i>S. typhi</i> KD 27.2	Semarang	1456 bp
<i>S. typhi</i> KD 30.3	Semarang	1452 bp
<i>S. typhi</i> SA 02.2	Semarang	1464 bp
<i>S. typhi</i> SLT-1	Salatiga	1267 bp
<i>S. typhi</i> SRJ	Yogyakarta	1488 bp
<i>S. typhi</i> BET	Yogyakarta	1454 bp

C. Analisis Kekerabatan *S. typhi*

Analisis kekerabatan 10 strain *S. typhi* isolat Jawa Tengah dan Yogyakarta yang dilakukan dengan merekonstruksi pohon filogeni berdasarkan *Algoritme Neighbour Joining*, dan analisis similaritas nukleotida dengan program *Phydit* hasilnya ditunjukkan pada Gambar 7 dan Tabel 3. Tipologi pohon filogeni menunjukkan adanya 6 *clade*, berturut-turut *clade* 1, 2, beranggotakan masing-masing 3 strain *S. typhi*, *clade* 3, 4, 5, 6 masing-masing beranggotakan 1 strain. Strain *S. typhi* SLT.1 yang berasal dari Salatiga berada dalam satu *clade* dengan strain BA07.4 dan EM.3 yang keduanya berasal dari kota Semarang dengan nilai similaritas nukleotida penyusunnya sebesar 98,83% dan EM.3 (nilai similaritas 98,74%), dengan perbedaan nukleotida penyusunnya sebanyak 14-15 nukleotida.



Gambar 7. Pohon Filogeni yang Direkonstruksi Berdasarkan *Algoritme Neighbour Joining* yang Menunjukkan Hubungan Kekerabatan antara 10 Strain *S. typhi* Isolat Jawa Tengah dan Yogyakarta Berdasarkan Sekuens Gen Flagellin *fliC*

Tabel 3. Matriks Similaritas dan Perbedaan Nukleotida Sekuen Gen Flagellin *fliC* 10 Strain *S. typhi* Isolat Jawa Tengah dan Yogyakarta.

Strain	<i>S. typhi</i> BA.07.4	<i>S. typhi</i> EM.3	<i>S. typhi</i> BA.07.3	<i>S. typhi</i> KD.30.3	<i>S. typhi</i> SA.02.2	<i>S. typhi</i> BET	<i>S. typhi</i> KD.27.2	<i>S. typhi</i> BA.07.5	<i>S. typhi</i> SRJ	<i>S. typhi</i> SLT.1	<i>S.paratyphi</i> N1995_04
<i>S. typhi</i> BA.07.4	---	54	47	50	52	51	52	53	53	97	763/1395
<i>S. typhi</i> EM.3	99.24	---	25/1448	27/1451	32/1452	29/1452	20/1452	14/1453	37/1450	15/1194	765/1396
<i>S. typhi</i> BA.07.3	98.20	98.27	---	20/1447	37/1449	31/1447	27/1448	22/1446	44/1446	26/1188	764/1396
<i>S. typhi</i> KD.30.3	98.00	98.14	98.62	---	32/1450	32/1450	25/1450	23/1450	43/1447	27/1189	761/1393
<i>S. typhi</i> SA.02.2	98.00	97.80	97.45	97.79	---	38/1451	29/1452	31/1451	56/1453	37/1194	773/1403
<i>S. typhi</i> BET	98.00	98.00	97.86	97.79	97.38	---	18/1452	26/1450	47/1447	32/1191	756/1394
<i>S. typhi</i> KD.27.2	98.62	98.14	98.14	98.28	98.00	98.76	---	16/1451	40/1448	22/1192	763/1395
<i>S. typhi</i> BA.07.5	99.24	99.04	98.48	98.41	97.86	98.21	98.90	---	31/1451	8/1119	759/1393
<i>S. typhi</i> SRJ	97.25	97.45	96.96	97.03	96.15	96.75	97.24	97.86	---	40/1198	792/1414
<i>S. typhi</i> SLT.1	98.83	98.74	97.81	97.73	96.90	97.31	98.15	99.33	96.66	---	661/1191
<i>S. paratyphi</i> N1995_04	45.30	45.20	45.27	45.37	44.90	45.77	45.30	45.51	43.99	44.50	---

Hasil analisis kekerabatan 10 strain *S.typhi* isolat Jawa Tengah dan Yogyakarta berdasarkan sekuens gen flagellin *fliC* menunjukkan bahwa satu strain *S.typhi* SLT.1 asal Salatiga (10%) adalah *S. typhi* serovar H1-j dengan gen flagellin *fliC* (1267 bp), dan 9 strain *S.typhi* serovar H1-d dengan gen flagellin *fliC* (1452-1488bp). Strain *S. typhi* SLT.1 berkerabat dekat dengan Strain BA07.4 dan EM.3, serta terdapat keanekaragaman genetik pada 10 strain *S. typhi* asal Jateng dan Yogyakarta.

BAB IV.

IMUNOGENESITAS PROTEIN FLAGELLIN

A. Imunogenesitas Protein Flagellin

Flagella yang tersusun dari banyak subunit protein, bersifat imunogenik, mampu menimbulkan terjadinya respons imun adaptif, sehingga mampu menimbulkan terjadinya antibodi anti flagellin (Alexan *et al.*, 2009). Protein flagellin secara efisien mampu menginduksi sistem imun humoral dan seluler, yang dapat menginduksi respons imun protektif serta menginduksi ekspresi faktor proinflamasi seperti sitokin (Eom *et al.*, 2013). Flagellin juga akan menginduksi transkripsi gen *iNOS* (*inducible NO synthase*) dengan cara mengaktifkan promoter *iNOS* yang akhirnya dapat menstimulasi makrofag untuk menghasilkan NO.

Protein flagellin juga mampu meningkatkan kadar substansi antimikrobia seperti enzim lysozim yang berperan dalam melisiskan dinding sel bakteri dan meningkatkan aktivitas fagositosis dari sel dendritik dan sel makrofag (Sano *et al.*, 2007).

Untuk mengetahui imunogenesitas protein flagellin *S.typhi* dapat dilakukan dengan mengimunisasikan protein flagellin pada hewan coba, seperti pada mencit Balb/C, yang kemudian respons imun dari mencit tersebut dapat dimonitor dari serumnya ataupun respons dari makrofagnya seperti kadar NO dan aktivitas fagositosisnya terhadap benda asing. Selain itu juga dapat dilihat responsnya dalam menimbulkan terbentuknya antibodi, serta spesifisitas antibodinya terhadap

protein flagellin yang diimunitasikan pada mencit Balb/C tersebut. Terbentuknya antibodi dapat dimonitor dengan metode *inhouse* ELISA, sedangkan spesifisitas antibodinya dimonitor dengan metode *western blotting*.

B. Imunisasi Mencit

Sebanyak 30 ekor mencit Balb/C umur 8 minggu yang dipelihara pada kondisi higiene. Sebanyak 10 ekor mencit sebagai kontrol yang diimunitasi dengan garam fisiologis, dan 20 ekor mencit diimunitasi dengan protein flagellin (10 ekor diimunitasi menggunakan antigen flagellin *S. typhi* BA 07.4, dan 10 ekor mencit dengan antigen flagellin *S. typhi* SLT-1), imunisasi secara intraperitonium (Gambar 8). Setiap ekor mencit Balb/C diimunitasi 4 kali secara intraperitonium, pertama dengan 10 μ g/100 μ l PBS 1X yang diemulsikan dalam *Freund adjuvant complete* (1:1) v/v, booster dilakukan pada hari ke 7, 15, 22 dari hari pertama setelah imunisasi, dengan dosis yang sama tetapi dalam *Freund adjuvant in-complete* secara intraperitonium. Sampel darah diambil dari konjungtiva (Gambar 9) setelah hari ke 30 paska imunisasi, serum dipisahkan, siap dianalisis spesifisitas antibodinya menggunakan *Western blotting*.



Gambar 8. Imunisasi Intraperitonium Mencit Balb/C



Gambar 9. Sampel Darah Mencit Balb/C Diambil dari Konjungtiva

***Adjuvant*:** berasal dari bahasa Latin *adjuvare* yang artinya untuk membantu, yang menurut Ramons pertama kali dideskripsikan sebagai suatu substansi yang dikombinasikan dengan antigen spesifik yang akan menyebabkan respons imun yang lebih kuat dibandingkan antigen tanpa *Adjuvant* (Awate *et al.*, 2013). Fungsi dari *adjuvant* dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu sebagai *delivery system* dan sebagai imunostimulator. *Adjuvant* sebagai *delivery system* karena dengan adanya emulsi antigen dalam *adjuvant* maka 1) pelepasan antigen bisa terjadi secara pelan-pelan, 2) merangsang sekresi sitokin dan kemokin, 3) meningkatkan rekrutmen sel imun di sekitar depot antigen, 4) meningkatkan *uptake* antigen dan presentasi antigen oleh APC, 5) aktivasi dan maturasi APC, 6) aktivasi inflamasi (Awate *et al.*, 2013).

C. Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag

Sel makrofag: adalah sel yang berasal dari sel monosit ketika berada di dalam peredaran darah, yang kemudian keluar ke dalam jaringan, yang kemudian disebut sebagai makrofag. Monosit memiliki peran fagositosis benda asing

yang berada di dalam peredaran darah, sedangkan makrofag berfungsi untuk fagositosis benda asing yang berada di dalam jaringan, selain itu makrofag berfungsi pula sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC).

Isolasi makrofag peritoneal dari mencit 15 hari setelah diimunisasi pertama. **Cara isolasi makrofag:** disediakan 5mL medium RPMI steril dingin pada spuit ukuran 6mL. Mencit yang telah dibunuh ditelentangkan, kemudian disemprot alkohol 70% pada permukaan kulit di bagian perutnya, bulunya dirapikan dengan dielus menggunakan jari tangan ke arah ekor. Kulit di bagian perut diangkat menggunakan pinset, digunting dan dipisahkan antara kulit dengan dagingnya, sehingga daging di perut kelihatan (Gambar 10).

Medium RPMI disuntikkan ke rongga peritoneum ke bagian perut kanan dan kiri, kemudian perutnya dipijat-pijat dengan jari dan didiamkan selama 3 menit supaya makrofagnya lepas ke dalam medium RPMI (Gambar 11). Suspensi makrofag diambil kembali (diaspirasi) yang ditunjukkan pada Gambar 12, menggunakan spuit secara hati-hati (tidak sampai menusuk organnya).



Gambar 10. Kulit perut mencit Balb/C yang dibuka



Gambar 11. Medium RPMI Dimasukkan ke dalam Rongga Peritoneum Mencit



Gambar 12. Aspirasi (Pengambilan) Suspensi Makrofag, Digunakan Sduit

Setelah itu segera suspensi makrofag disimpan pada suhu 4°C, kemudian disentrifus dengan kecepatan 2000rpm, selama 10 menit pada suhu 4°C. Supernatan dibuang, peletnya adalah makrofag. Pelet kemudian ditambah 1mL medium penumbuh komplet (RPMI yang mengandung 10% FBS), kemudian diresuspensikan dan dihitung kepadatannya menggunakan haemositometer (Gambar 13).



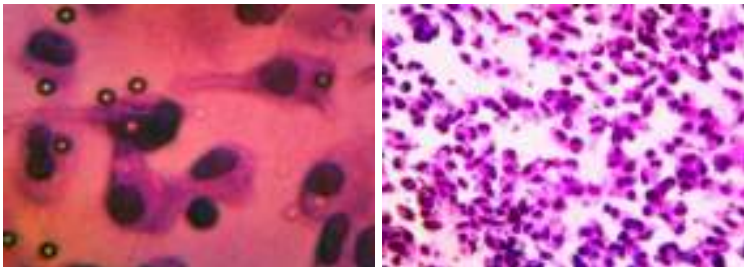
Gambar 13. Sel Makrofag Mencit Balb/C(Tanda Panah)

Disiapkan sel makrofag dalam medium komplet RPMI yang kepadatannya $2,5 \times 10^6/\text{mL}$. Suspensi sel makrofag selanjutnya dikultur pada plate sumuran 24 (6x4) yang telah diberi *cover slip* bulat, dimasukkan pada setiap sumuran sebanyak $200\mu\text{L}$ (5×10^5 sel) makrofag. Selanjutnya diinkubasikan dalam inkubator CO_2 5%, suhu 37°C selama 30 menit. Kemudian ditambahkan medium komplet RPMI sebanyak $800\mu\text{L}$ sehingga volume suspensi makrofag pada setiap sumuran menjadi 1mL , diinkubasikan kembali dalam inkubator CO_2 5%, suhu 37°C selama 2 jam. Kemudian media dibuang, ditambahkan 1mL media komplet pada setiap sumuran dan diinkubasikan lagi selama 24 jam.

Makrofag yang sudah dikultur selanjutnya dicuci sebanyak 2 kali dengan medium RPMI. Disiapkan suspensi latex dengan kepadatan $2,5 \times 10^7 \text{ latex}/\text{mL}$, kemudian dimasukkan suspensi latex dalam PBS sebanyak $200\mu\text{L}$ (5×10^6) pada setiap sumuran. Setelah itu diinkubasikan di dalam inkubator CO_2 selama 1 jam, dicuci. Dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali. Dikeringkan pada suhu ruang, difiksasi

dengan methanol absolut selama 30 detik. Methanol kemudian dibuang, dikering-anginkan. Selanjutnya dilakukan pengecatan dengan menambahkan Giemsa 20% selama 20 menit. Dicuci dengan akuades hingga bersih, kemudian dikering-anginkan pada suhu ruangan. *Cover slip* diangkat dari sumuran dan diperiksa dengan mikroskop (Gambar 14).

Aktivitas fagositosis makrofag mencit terhadap latex yang telah 2 minggu diimunisasi dengan protein flagelliin *S. typhi* BA07.4 dan *S. typhi* SLT-1 ditunjukkan pada Tabel 4.



Gambar 14. Latex yang Difagosit Makrofag (A) Perbesaran 400 x,
(B) Perbesaran 100 x
(Darmawati and Kartika, 2019)

Rata-rata latex yang difagosit oleh makrofag mencit yang diimunisasi flagellin *S. typhi* BA07.4 maupun rata-rata indeks fagositosis hasilnya lebih tinggi apabila dibandingkan dengan yang diperoleh pada makrofag mencit yang diimunisasi dengan flagellin *S. typhi* SLT-1 maupun kontrol. Latex yang difagosit oleh makrofag tampak berada di dalam sitoplasma sel makrofag, yang ditunjukkan pada Gambar 14.

Tabel 4. Aktivitas Fagositosis Makrofag Mencit Terhadap Latex yang Telah 2 Minggu Diimmunisasi dengan Protein Flagelliin *S. typhi* BA07.4 dan *S. typhi* SLT

No.	Sampel	Rata-rata Latex difagosit	Rata-rata Indeks fagosit
1.	<i>S. typhi</i> BA 07.4/H1-d	1,61 ± 0,2945	0,87 ± 0,3063
2.	<i>S. typhi</i> SLT-1/H1-j	1,58 ± 0,1628	0,82 ± 0,2135
3.	Kontrol	0,46 ± 0,0764	0,46 ± 0,0764

Sumber: (Darmawati and Kartika, 2019)

D. Kadar Nitric Oxid (NO)

Kadar NO diperiksa dengan cara: sel makrofag hasil isolasi dari mencit dihitung menggunakan haemositometer, dibuat kepadatannya 1×10^6 sel/mL, dengan ditambahkan medium penumbuh komplet RPMI. Suspensi sel tersebut kemudian dikultur pada mikro plate 12x8 sumuran (96 sumuran), setiap sumuran berisi 200 μ L (2×10^5 sel), dibuat 2 ulangan atau duplo, diinkubasikan dalam inkubator CO₂ 5%, suhu 37°C selama 24 jam. Makrofag yang telah dikultur diambil, dipipet larutan standar dan supernatan hasil kultur, dimasukkan ke dalam mikropate 96 sumuran (12x8) sebanyak 100 μ L/sumuran, dibuat duplo. Disiapkan campuran **Griess A** dan **Griess B** pada perbandingan 1:1, ditambahkan ke dalam mikropate 96 sebanyak 100 μ L/sumuran, akan terjadi reaksi antara NO dengan campuran Griess A dan B dengan munculnya warna ungu. Kemudian dibaca dengan *ELISA Reader* pada panjang gelombang 550nm, ditunggu 15 menit diulangi pembacaannya. Pemeriksaan kadar NO dengan metode tidak langsung, karena waktu paruhnya di dalam jaringan sangat singkat yaitu menggunakan reaksi Griess.

Kadar NO diperiksa pada makrofag mencit yang telah diimunisasi dengan total protein flagellin dari *S. typhi* BA07.4 dan *S. typhi* SLT-1 (Tabel 5).

Tabel 5. Kadar NO Supernatant Makrofag Mencit yang Telah Minggu Diimunisasi dengan Protein Flagelliin *S. typhi* BA07.4 dan *S. typhi* SLT-1

No.	Sampel	Kadar NO
1.	<i>S. typhi</i> BA 07.4/H1-d	0,9296 ± 0,8529
2.	<i>S. typhi</i> SLT-1/ H1-j	0,5760 ± 0,6709
3.	Kontrol	0,0623 ± 0,0556

Sumber: (Darmawati and Kartika, 2019)

Kadar NO yang dihasilkan oleh makrofag mencit yang diimunisasi dengan flagellin *S. typhi* BA07.4 lebih tinggi apabila dibandingkan dengan yang diimunisasi dengan flagellin *S. typhi* SLT-1, demikian pula dibandingkan dengan kontrol.

Nitric Oxid adalah molekul sinyal yang penting dalam regulasi proses fisiologi dalam jaringan. Namun ketika jumlah NO tinggi akan bersifat toksik, yang akan berakibat pada terjadinya inflamasi kronik (Darmawati and Kartika, 2019).

E. Pengukuran Kuantitas Antibodi Antiprotein Flagellin

Titer antibodi anti protein flagellin *S. typhi* BA 07.4 dan *S. typhi* SLT-1 pada serum mencit yang telah diimunisasi menggunakan total protein flagellin dianalisis dengan metode *inhouse* ELISA. *Coating* antigen (Protein flagellin) 100µL/sumuran (konsentrasi akhir 5µg/mL), diinkubasi di dalam *waterbath* pada suhu 37°C semalam. Esok harinya dicuci 3x dengan *washing solution* 200µL/sumuran. Kemudian dilakukan *blocking* dengan ditambahkan 1% BSA

dalam buffer PBS I sebanyak 200µL/sumuran, diinkubasi selama 1-2 jam pada suhu 37°C. Dicuci 3x menggunakan *washing solution* 200µL/sumuran. Ditambahkan antibodi poliklonal dengan pengenceran 50,100, 200, 400, 800 dan 1600 kali sebanyak 100µL/sumuran. Pengenceran menggunakan buffer inkubasi pH 7,2, diinkubasikan di dalam *waterbath* 37°C selama 1 jam.

Selanjutnya dicuci dengan *washing solution* 3 kali masing-masing 200µL/sumuran. Ditambahkan konjugat dengan pengenceran sebanyak 100µL/sumuran, pengenceran konjugat menggunakan 1% BSA dalam buffer inkubasi pH 7,2 (Pengenceran mulai dari 1000X sampai dengan 128.000X). Inkubasi dalam *waterbath* pada suhu 37°C selama 1 jam. Dicuci 3 kali dengan *washing solution* sebanyak 200µL/sumuran. Kemudian ditambahkan 150µL/sumuran substrat (4 nitrophenyl phosphat, 1mg/mL dalam buffer substrat, kemudian diinkubasikan selama 15-30 menit dalam *waterbath* pada suhu 37°C. Dibaca absorbansinya pada *ELISA rider* pada panjang gelombang 405nm. Kadar antibodi anti protein flagellin *S. typhi* BA 07.4 dan anti flagellin *S. typhi* SLT-1 ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Elisa Antiflagellin *S. typhi* BA07.4 dan Antiflagellin *S. typhi* SLT-1

No.	Antibodi	Antigen flagellin	
		<i>S. typhi</i> BA07.4	<i>S. typhi</i> SLT-1
1.	Anti flagellin <i>S. typhi</i> BA07.4	2,764±0,02995	1,380±0,6110
2.	Anti flagellin <i>S. typhi</i> SLT-1	0,822±0,3370	1,008±0,3745
3.	Kontrol	0,353±0,0553	0,349±0,0489

Sumber: (Darmawati and Kartika, 2019)

Flagellin dapat menginduksi ekspresi beberapa mediator inflamasi seperti TNF-alpha dan NO. Perbedaan ukuran gen yang menyandi protein flagellin menyebabkan perbedaan profil protein yang diekspresikan, yang dapat menyebabkan perbedaan imunogenesitasnya, tampak pada total antibodi yang dihasilkan pula (Tabel 6). Anti flagellin yang dihasilkan oleh mencit yang diimunisasi dengan flagellin *S. typhi* BA07.4 dengan ukuran gen *fliC* yang lebih besar menunjukkan nilai absorbansi lebih tinggi dibandingkan yang diimunisasi dengan flagellin *S. typhi* SLT-1 yang ukuran gen *fliC* lebih kecil. Hal ini menunjukkan bahwa berat molekul protein akan mempengaruhi imunogenesitasnya, dan total produk respons imun yang dihasilkan termasuk titer antibodinya.

F. Western Blotting

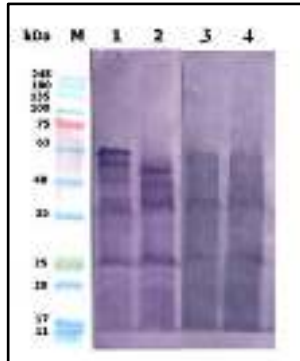
Deteksi imunogenisitas protein flagellin dan spesifisitas antibodi yang dihasilkan digunakan metode *western blotting* (WB). Transfer protein atau asam nukleat pada *microporous membranes* seperti pada membran nitroselulose disebut sebagai "*blotting*" yang meliputi "*spotting*" di mana sampel secara manual langsung ditetaskan pada membran nitroselulose, dan sampel ditransfer dari gel SDS-PAGE pada membran menggunakan aliran listrik, metode inilah yang disebut dengan *western blotting* atau *protein blotting*. (Kurien and Hal Scofield, 2015).

Cara kerja *western blotting*: Sampel protein flagellin diseparasi dengan 12% SDS-PAGE. Setelah diperoleh pita-pita protein di dalam gel poliakrilamid kemudian protein tersebut ditransfer ke membran nitroselulosa dengan *semi*

dry blot apparatus (Bio-Rad) pada 500 mA selama 30-60 menit. Cara transfer protein dari gel poliakrilamid pada kertas *nitrocelulosa* adalah berturut-turut dari yang paling bawah adalah: 1) Kertas watman tebal, 2) Kertas watman tipis satu lembar, 3) Kertas *nitrocelulose*, 4) Gel poliakrilamid, 5) Kertas watman tipis satu lembar, 6) Kertas watman tebal satu lembar (setiap peletakan kertas watman/*nitrocelulose* dibasahi terlebih dahulu menggunakan *buffer transfer* dan diletakkan pelan-pelan untuk menghindari adanya gelembung).

Membran *nitrocelulose* diambil setelah proses transfer selesai, dipotong markernya, dipisahkan tersendiri. Membran *nitrocelulose* (tanpa marker) diinkubasi dalam *blocking solution*, diinkubasi semalam. Selanjutnya esok harinya membran dicuci dengan 0,05% TBS Tween sebanyak 3X10 menit.

Ditambahkan antibodi poliklonal (pengenceran 1:100 menggunakan buffer inkubasi pH 7,2), diinkubasi pada suhu ruang, di-*shaker* selama 1 jam. Kemudian dicuci dengan 0,05% TBS Tween sebanyak 3X10 menit. Ditambahkan konjugat IgG anti mouse Al-Phosphatase 1:4000 dalam 1% BSA dalam 14 buffer inkubasi pH 7,2. Selanjutnya dicuci dengan 0,05% TBS Tween sebanyak 3X10 menit. Ditambahkan substrat (60µL NBT, 30µL BCIP untuk 20mL dalam buffer substrat). Ditunggu pita protein muncul, reaksi dihentikan dengan ditambahkan akuabides steril. Kemudian dikering-anginkan, hasil *western blotting* ditunjukkan pada Gambar 15.



Gambar 15. *Western Blotting* Anti Flagellin *S. typhi*: M) Marker Protein, 1). Anti Flagellin BA07.4 dengan Flagellin BA07.4, 2) Anti BA07.4 dengan SLT-1, 3) Anti Flagellin SLT-1 dengan Flagellin BA07.4, 4) Anti Flagellin SLT-1 dengan Flagellin SLT-1
(Darmawati and Kartika, 2019)

Tampak pada hasil WB anti flagellin *S. typhi* BA 07.4 terhadap protein flagellin BA 07.4 lebih menunjukkan adanya reaksi yang lebih spesifik dengan warna pita yang lebih tebal. Warna pita yang lebih tebal menunjukkan adanya reaksi antara antigen protein flagellin terhadap antibodi anti protein flagellin dengan titer yang lebih tinggi, apabila dibandingkan terhadap antiflagellin dari *S. typhi* SLT-1.

Antiflagellin *S. typhi* BA07.4 hasil imunisasi pada mencit Balb/C lebih spesifik mengenal antigen flagellin dari *S. typhi* BA07. 4 dibandingkan terhadap antigen flagellin *S. typhi* SLT-1. Jadi menggunakan metode WB dapat untuk mendeteksi kespesifikan antibodi terhadap antigen protein yang diimunisasikan.

BAB V.

PENUTUP

Mengenal Karakter Molekuler dan Immunogenesitas Flagella Salmonella typhi Penyebab Demam Tifoid yang meliputi profil protein flagellin berdasarkan SDS-PAGE, hasil PCR gen fliC dan sekuens gen tersebut, serta kemampuannya untuk dapat menimbulkan respons imun pada mencit Balb/C dapat digunakan sebagai dasar untuk mengembangkan Rapid Diagnostic Test untuk diagnosis demam tifoid.

Monograf ini diharapkan dapat memotivasi mahasiswa, dosen dan peneliti, khususnya di bidang bakteriologi klinik, imunologi dan biologi molekuler, untuk melakukan penelitian yang berhubungan dengan pengembangan reagen diagnostik penyakit infeksi, baik oleh bakteri, virus, ataupun mikroorganisme yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajibola, O., Mshelia, M.B., Gulumbe, B.H., Eze, A.A. 2018. Typhoid fever diagnosis in endemic countries: A clog in the wheel of progress? *Med.* 54,1-12. <https://doi.org/10.3390/medicina54020023>
- Alexan, A.F., Mohamed, S.H., Ibrahim, A.M. 2009. Immune Response Elicited in Mice after Immunization with Flagellin from *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis. *Glob. Vet.* 3, 465-471.
- Arora, P., Thorlund, K., Brenner, D.R., Andrews, J.R. 2019. Comparative accuracy of typhoid diagnostic tools: A Bayesian latent-class network analysis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 13, 1-23. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007303>
- Awate, S., Babiuk, L.A., Mutwiri, G. 2013. Mechanisms of action of adjuvants. *Front. Immunol.* 4, 1-10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00114>
- Azmatullah, A., Qamar, F.N., Thaver, D., Zaidi, A.K., Bhutta, Z.A. 2015. Systematic review of the global epidemiology, clinical and laboratory profile of enteric fever. *J. Glob. Health* 5. <https://doi.org/10.7189/jogh.05.020407>
- Bishop, C., Honisch, C., Goldman, T., Mosko, M., Keng, S., Arnold, C., Gharbia, S. 2012. Combined genomarkers approach to *Salmonella* characterization reveals that nucleotide sequence differences in the phase 1 flagellin gene *fliC* are markers for variation within serotypes. *J. Med. Microbiol.* 61, 1517-1524. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.047431-0>

- Darmawati, S., Asmara, W., Artama, W.T., Kawaichi, M., Sembiring, L. 2016a. Phylogenetic relationship of Gram Negative Bacteria of Enterobacteriaceae Family in the Positive Widal Blood Cultures based on 16S rRNA Gene Sequences. *Indones. J. Biotechnol.* 19, 64. <https://doi.org/10.22146/ijbiotech.8635>
- Darmawati, S., Kartika, A.I. 2019. *The Immunogenicity Of Flagellin Protein Of Salmonella Typhi Of Semarang And Salatiga Isolates*. pp. 367–374.
- Darmawati, S., Santosa, B., Prastiyanto, Muhammad Evi, R.S. 2015a. *Molecular Characterization And Hemagglutination Activities of Flagellin Protein of Salmonella typhi*. pp. 325–330.
- Darmawati, S., Santosa, B., Prastiyanto, M.E., Saptaningtyas, R. 2016b. Characterization of Hydroxyapatite Material from Bovine for Making 3D Printer Filament Method Fused Deposition Modelling for Implants Scaffolds Mandibular Reconstruction. *Pros. Semin. Nas. Int.* 0, 325–330.
- Darmawati, S., Sembiring, L., Asmara, W. 2011a. Klasifikasi Numerik-fenetik Salmonella typhi Asal Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta Berdasarkan Hasil Karakterisasi Fenotipik Pendahuluan Metode Penelitian. *BIOTA Atmadjaya Yogyakarta* 16, 128–132.
- Darmawati, S., Sembiring, L., Asmara, W., Artama, W.T. 2015b. Identifikasi bakteri batang gram negatif pada darah widal positif berdasarkan karakter fenotipik, in: Universitas Muhammadiyah Semarang. pp. 89–96.

- Darmawati, S., Sembiring, L., Asmara, W., Artama, W.T. 2011b. Klasifikasi Numerik-fenetik *Salmonella typhi* Asal Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta Berdasarkan Hasil Karakterisasi Fenotipik. *J. Biota* 16, 128–132. <https://doi.org/10.24002/biota.v16i1.67>
- Eom, J.S., Seok Kim, J., Im Jang, J., Kim, B.H., Young Yoo, S., Hyeon Choi, J., Bang, I.S., Lee, I.S., Keun Park, Y. 2013. Enhancement of Host Immune Responses by Oral Vaccination to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium Harboring Both FliC and FljB Flagella. *PLoS One* 8, 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074850>
- Frankel, G., Newton, S.M.C., Schoolnik, G.K., Stockerl, B.A.D. 1989. Characterization of the H1-j gene of *Salmonella typhi* 8, 3149–3152.
- Hatta, M., Sultan, A.R., Pastoor, R., Smits, H.L. 2011. New Flagellin Gene for *Salmonella enterica* serovar Typhi from the East Indonesian Archipelago. *AM. J. Trop. Med. Hyg* 84, 429–434. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2011.10-0605>
- Hölscher, T., Kovács, Á.T. 2017. Sliding on the surface: bacterial spreading without an active motor. *Environ. Microbiol.* 19, 2537–2545. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13741>
- Jindal, G., Tewari, R., Gautam, A., Pandey, S.K., Rishi, P. 2012. Immunological characterization of recombinant *Salmonella enterica* serovar Typhi FliC protein expressed in *Escherichia coli*. *AMB Express a SpringerOpen J.* 2, 1–9.

- Khan, S., Harish, B.N., Menezes, G.A., Acharya, N.S., Parija, S.C. 2012. Early diagnosis of typhoid fever by nested PCR for flagellin gene of *Salmonella enterica* serotype typhi. *Indian J. Med. Res.* 136, 850–854.
- Kurien, B.T., Hal Scofield, R. 2015. Western blotting: Methods and protocols. *West. Blotting Methods Protoc.* 1–509. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2694-7>
- Martínez, A., Torello, S., Kolter, R. 1999. Sliding motility in *Mycobacteria*. *J. Bacteriol.* 181, 7331–7338. <https://doi.org/10.1128/jb.181.23.7331-7338.1999>
- Minamimo, T., Morimoto, Y.V., Kawatomo, A., Terashima, H., Imada, K. 2018. *Salmonella* Flagellum. *Intech* 32, 137–144.
- Park, S.Y., Pontes, M.H., Groisman, E.A. 2015. Flagella-independent surface motility in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 1850–1855. <https://doi.org/10.1073/pnas.1422938112>
- Sabir, M., Dwiyantri, R., Febrianty, A., Tandirogang, N., Yasir, Y., Amir, M., R Sultan, A., Indah Purnamasari, N., Reza Primaguna, M., Muhammad, M., Hatta, M. 2014. Relationships between Flagellin Genes Variants of *Salmonella enterica* Serovar Typhi and Severity of Illness from Acute and Carriers State of Typhoid Fever. *Am. J. Infect. Dis. Microbiol.* 2,74–80. <https://doi.org/10.12691/ajidm-2-4-1>
- Sano, G., Takada, Y., Goto, S., Shindo, Y., Oka, K., Matsui, H., Matsuo, K., Maruyama, K. 2007. Flagella Facilitate Escape of *Salmonella* from Oncotic Macrophages

- Macrophages. *J. Bacteriol.* 189, 8224–8232.
<https://doi.org/10.1128/JB.00898-07>
- Scott, N., Simon, M.I. 1982. Genetic analysis of the mechanism of the *Salmonella* phase variation site-specific recombination system 188, 313–321.
- Terashima, H., Kojima, S., Homma, M. 2008. Chapter 2 Flagellar Motility in Bacteria. *Structure and Function of Flagellar Motor*, International Review of Cell and Molecular Biology. Elsevier Inc.
[https://doi.org/10.1016/S1937-6448\(08\)01402-0](https://doi.org/10.1016/S1937-6448(08)01402-0)
- Wain, J., Hosoglu, S. 2008. Review Article The laboratory diagnosis of enteric fever. *J. Infect Dev. Ctries.* 2, 421–425.

LAMPIRAN

Sequence gen *fliC Salmonella typhi*

>*Salmonella typhi* SA 02.2.*fliC*

GGGAACGGGTTTCGCTGCGCAGAACGGAGGTACCGGCCTGCTGC
AGAATCTGCGCGCGAGACATGTTGGAGACTTCGGTTGCGTAGT
CGGAATCTTCGATACGGCTACGGGCAGAAGACAGGTTATTTAC
GGTATTGCCCCAAGGTGTTGGTGATAGCGGAGTTGAAACGGTTCTG
AACCGGCACCCAGGTCAGAACGCAAGTGTATCAACCTGTGCCC
AAGGCAGCATCAATTTTCTGCAGTGGGTTTTCCAGTCTTATCT
GTATTAACCTCTTTAAGCTCCACCGCCTGTTCTGGAAGTTATG
TTTGTCAAGGTCGCTTGCTAAGTAAGTCTTACCATCGGTAGCA
GTAACAACCTTCAGATTTACCATTTGCGCCACCAAATTTACAG
CTCCAGTTTGAGCAACGCCAGTACCATCTGTATAAGTAGTGGT
TTTAGCAGTAATTGCACCTGTTTTCTCATCATATGTAGCGGCA
TAGAAATCGTCGCCCCATTTTCACTGCATAGCCACCATCAATAA
CCTTACCGTTTTTATCCTCAAACGATAGTTTTACAAGGCTAGT
ATTGTCTTATCGGCGCCAGTAACCCCTGCTGCAGCAAGTTGA
GCCGCAACTGTGGTCGTATCAACACCCCTCTTTTGTTACTTCAG
CAATTTGGTTGTGGGTATAGTGCCGTTCCCCGAATAGCTGT
AGCTTCCGCAGTTGCCAACGGAGTTTTATCAGTCGTATCAATA
TTAACTTTCTTTGTAGTTTCATCATAAGTGGCTTTATAAACAC
CAGCAGAAGCACCGCCTTTAACATCTAAATAGTATTGACCATC
TTTAAATTTGATATCAGCCCCAGTAACCCCCGTTGCACCACCG
CCAATTGCAGTTTGGATATCAGTATTGCTCTGGGCTGTAATAG
GATCTGTACCATTTTTATAGGTAGTTTTATCAACGGTTACAGC
AGTTTCTTTCGGGGTGTAGGCATCTTGGACATTAAGCTTATCA
AGTCCCAGTGTTTTAGAGCTGATTTCTTTTAAATCAATATCGA
TAGTTTCACCGTCGTTGGCACCAACCTGGATGGTCAGGGTGT
GTCCTGCGCCAGGACTTTCACGCCGTTGAACTGAGTCTGGCCG
GATACACGGTCGATTTCTGTTTCAGGCGCTGGGTGATTTACGCCT
GGATGGAGTCAAGGTCAGATGGGGAGTTAGTACCATTTCGCAGA
CTGAACCGCCAGTTCACGCCACCGCTGCAGGTTGTTGTTGATT

TCCGTCAAGCGGCCTTCAGTGGTCTGCGCCAATGAAATACCCG
CCTTTAGCGTTACGGGAAACCTGAATCCAGCCCTTTGAAGTTC
CCGGGAAAACCGGTAGCAATCGCCTGTCCTGCCGCATCGTCTT
TCGCGCTGTTGATACGCAGACCGGAAGACAAACGCTCGATAGC
AGTGCCCAGTGCGGACTGGGATTG TTCAGGTTATCGGTCAACA
GG

> *Salmonella typhi* BA 07.4. *fliC*

GGACGGGTTTCGCCTGCGCAGACGGAGGTACCGGCCTGCTGCAG
AATCTGCGCGCGAGACATGTTGGAGACTTCGGTTGCGTAGTCG
GAATCTTCGATACGGCTACGGGCAGAAGACAGGTTATTTACGG
TATTGCCCAGGTTGGTGATAGCGGAGTTGAAACGGTTCTGAAC
CGCACCCAGGTCAGAACGAAGTGTATCAACCTGTGCCAAGGCA
GCATCAATTTTCTGCAGTGGGTTTTTCAGTCTTATCTGTATTAA
CCTCTTTAAGCTCACCGCCTGTTCTGAAGTTATGTTTGTCAAG
GTCGCTTGCTAAGTAAGTCTTACCATCGGTAGCAGTAACAAC
TCAGATTTACCATTTGCGCCACCAAATTTACAGCTCCAGTTT
GAGCAACGCCAGTACCATCTGTATAAGTAGTGTTTTAGCAGT
AATTGCACCTGTTTTCTCATCATATGTAGCGGCATAGAAATCG
TCGCCCATTTCCTACTGCATAGCCACCATCAATAACCTTACCCT
TTTTATCCTCAAACGATAGTTTTACAAGGCTAGTATTGTCCTT
ATCGGCGCCAGTAACCCCTGCTGCAGCAAGTTGAGCCGCAACT
GTGGTCGTATCAACACCCCTCTTTTGTACTTCAGCAATTTGGT
TGTGGGTTATAGTGGCCGTTCCCCGAATAGCTGTAGCTTCCGC
AGTTGCCAACGGAGTTTATCAGTCGTATCAATATTAACCTTTC
TTTGTAGTTTCATCATAAGTGGCTTTATAAACACCAGCAGAAG
CACCGCCTTTAACATCTAAATAGTATTGACCATCTTTAAATTT
GATATCAGCCCCAGTAACCCCGTTGCACCACCGCCAATTGCA
GTTTGGATATCAGTATTGCTCTGGGCTGTAATAGGATCTGTAC
CATTTTTATAGGTAGTTTTTATCAACGGTTACAGCAGTTTCTTT
CGGGGTGTAGGCATCTTGGACATTAAGCTTATCAAGTCCAGT
GTTTTAGAGCTGATTTCTTTTAAATCAATATCGATAGTTTCAC
CGTCGTTGGCACCAACCTGGATGGTCAGGGTGTTGTCCTGCGC
CAGGACTTTCACGCCGTTGAACTGAGTCTGGCCGGATACACGG
TCGAATTCGTTACAGGCGCTGGGTGATTTTCAGCCTGGATGGAGT
CGAGGTCAGACTGGGAGTTAGTACCATTTCGCAGACTGAACCGC
CAGTTCACGCCACCCCTGCAGGTTGTTGTTGATTCCGTTCAAC
GCGCCTTCAGTGGTCTGCGCAATGGAGATACCGTCGTTAGCGT
TACGGGAAGCCTGAGTCAGACCTTTGATGTTTCGCGGTAACACG
GTTAGCAATCGCCTGTCCTGCCGCATCGTCTTTTCGCGCTGTTG
ATACGCAGACCGGAAGACAAACGCTCGATAGCAGTGCCAGTG
CGGACTGGGATTGTTTCAGGTTATCGGGTCAACAGGGGCC

> *Salmonella typhi* BA 07.5. *fliC*

GGACGGGTTTCGCTGCGCAGACGGAGGTACCGGCCTGCTGCAGA
ATCTGCGCGCGAGACATGTTGGAGACTTCGGTTGCGTAGTCGG
AATCTTCGATACGGCTACGGGCAGAAGACAGGTTATTTACGGT
ATTGCCAGGTTGGTGATAGCGGAGTTGAAACGGTCTGAACC
GCACCCAGGTCAGAACGAAGTGTATCAACCTGTGCCAAGGCAG
CATCAATTTTCTGCAGTGGGTTTTTCAGTCTTTATCTGTATTAA
CCTCTTTAAGCTCACCGCCTGTTCTGAAGTTATGTTTGTCAAG
GTCGCTTGCTAAGTAAGTCTTACCATCGGTAGCAGTAACAACCT
TCAGATTTACCATTTGCGCCACCAAATTTACAGCTCCAGTTT
GAGCAACGCCAGTACCATCTGTATAAGTAGTGTTTTAGCAGT
AATTGCACCTGTTTTCTCATCATATGTAGCGGCATAGAAATCG
TCGCCCATTTCCTACTGCATAGCCACCATCAATAACCTTACCGT
TTTTATCCTCAAACGATAGTTTTACAAGGCTAGTATTGTCCTT
ATCGGCGCCAGTAACCCCTGCTGCAGCAAGTTGAGCCGCAACT
GTGGTCGTATCAACACCCCTCTTTTGTTACTTCAGCAATTTGGT
TGTGGGTTATAGTGGCCGTTCCCCGAATAGCTGTAGCTTCCGC
AGTTGCCAACGGAGTTTATCAGTCGTATCAATATTAACCTTTC
TTTGTAGTTTCATCATAAGTGGCTTTATAAACACCAGCAGAAG
CACCGCCTTTAACATCTAAATAGTATTGACCATCTTTAAATTT
GATATCAGCCCCAGTAACCCCGTTGCACCACCGCCAATTGCA
GTTTGGATATCAGTATTGCTCTGGGCTGTAATAGGATCTGTAC
CATTTTTATAGGTAGTTTTTATCAACGGTTACAGCAGTTTCTTT
CGGGGTGTAGGCATCTTGGACATTAAGCTTATCAAGTCCAGT
GTTTTAGAGCTGATTTCTTTTAAATCAATATCGATAGTTTCAC
CGTCGTTGGCACCAACCTGGATGGTCAGGGTGTTGTCCTGCGC
CAGGACTTTCACGCCGTTGAACTGAGTCTGGCCGGATACACGG
TCGATTTCTGTTACAGGCGCTGGGTGATTTTCAGCCTGGATGGAGT
CAAGGTCAGACTGGGAGTTAGTACCATTTCGCAGACTGAACCGC
CAGTTCACGCACACGCTGCAGGTTGTTGTTGATTTTCGTTTCAGC
GCGCCTTCAGTGGTCTGCGCAATGGAGATACCGTCGTTAGCGT
TACGGGAAGCCTGAGTCAGACCTTTGATGTTTCGCGGTAACACG
GTTAGCAATCGCCTGTCCTGCCGCATCGTCTTTTCGCGCTGTTG
ATACGCAGACCGGAAGACAAACGCTCGATAGCAGTGCCCAGTG
CGGACTGGGATTGTTTCAGGTATCGGGTCAACGGAC

> *Salmonella typhi* EM3 *fliC*

GGGCGGGTTCGCCTGCGCAGACGGAGGTACCGGCCTGCTGCAG
AATCTGCGCGCGAGACATGTTGGAGACTTCGGTTGCGTAGTCG
GAATCTTCGATACGGCTACGGGCAGAAGACAGGTTATTTACGG
TATTGCCCAGGTTGGTGATAGCGGAGTTGAAACGGTCTGAAC
CGCACCCAGGTCAGAACGAAGTGTATCAACCTGTGCCAAGGCA
GCATCAATTTTCTGCAGTGGGTTTTTCAGTCTTATCTGTATTAA
CCTCTTTAAGCTCACCGCCTGTTCTGAAGTTATGTTTGTCAAG
GTCGCTTGCTAAGTAAGTCTTACCATCGGTAGCAGTAACAAC
TCAGATTTACCATTTGCGCCACCAAATTTACAGCTCCAGTTT
GAGCAACGCCAGTACCATCTGTATAAGTAGTGTTTTAGCAGT
AATTGCACCTGTTTTCTCATCATATGTAGCGGCATAGAAATCG
TCGCCCATTTCCTACTGCATAGCCACCATCAATAACCTTACC
GTTTATCCTCAAACGATAGTTTTACAAGGCTAGTATTGTCCTT
ATCGGCGCCAGTAACCCCTGCTGCAGCAAGTTGAGCCGCAACT
GTGGTCGTATCAACACCCCTCTTTTGTACTTCAGCAATTTGGT
TGTGGGTTATAGTGGCCGTTCCCCGAATAGCTGTAGCTTCCGC
AGTTGCCAACGGAGTTTATCAGTCGTATCAATATTAACCTTC
TTTGTAGTTTCATCATAAGTGGCTTTATAAACACCAGCAGAAG
CACCGCCTTTAACATCTAAATAGTATTGACCATCTTTAAATTT
GATATCAGCCCCAGTAACCCCGTTGCACCACCGCCAATTGCA
GTTTGGATATCAGTATTGCTCTGGGCTGTAATAGGATCTGTAC
CATTTTTATAGGTAGTTTTTATCAACGGTTACAGCAGTTTCTTT
CGGGGTGTAGGCATCTTGGACATTAAGCTTATCAAGTCCAGT
GTTTTAGAGCTGATTTCTTTTAAATCAATATCGATAGTTTAC
CGTCGTTGGCACCAACCTGGATGGTCAGGTTGTTGTCCTGCGC
CAGGACTTTCACGCCGTTGAACTGAGTCTGGCCGGATACACGG
TCGATTTCTGTTACAGGCGCTGGGTGATTTTCAGCCTGGATGGAGT
CGAGGTCAGACTGGGAGTTAGTACCATTTCGCAGACTGAACCGC
CAGTTCACGCCACCGCTGCAGGTTGTTGTTGATTTCTGTTTCAGC
GCGCCTTCAGTGGCTTGCAGCAATGGGAATACCCGTCGTTAGCG
TTACGGGAAGCCTGGGTCAGACCTTTGATGTTTCGCGGTAAAAC
GGTTAGCAATCGCCTGTCCTGCCGCATCGTCTTTTCGCGCTGTT
GATACGCAGACCGGAAGACAAACGCTCGATAGCAGTGCCAGT
GCGGACTGGGATTTGTTTCAGGTATCTGGTCAACAGG

> *Salmonella typhi* KD 27.2 *fliC*

GACGGGTTTCGCTGCGCAGACGGAGGTACCGGCCTGCTGCAGAA
TCTGCGCGCGAGACATGTTGGAGACTTCGGTTGCGTAGTCGGA
ATCTTCGATACGGCTACGGGCAGAAGACAGGTTATTTACGGTA
TTGCCCAGGTTGGTGATAGCGGAGTTGAAACGGTTCTGAACCG
CACCCAGGTCAGAACGAAGTGTATCAACCTGTGCCAAGGCAGC
ATCAATTTTCTGCCAGTGGGTTTTTCAGTCTTATCTGTATTAAC
CTCTTTAAGCTCACCGCCTGTTCTGAAGTTATGTTTGTCAAGG
TCGCTTGCTAAGTAAGTCTTACCATCGGTAGCAGTAACAACCTT
CAGATTTACCATTTTGCGCCACCAAATTTACAGCTCCAGTTTG
AGCAACGCCAGTACCATCTGTATAAGTAGTGGTTTTAGCAGTA
ATTGCACCTGTTTTCTCATCATATGTAGCGGCATAGAAATCGT
CGCCCATTTTCACTGCATAGCCACCATCAATAACCTTACCGTT
TTTATCCTCAAACGATAGTTTTACAAGGCTAGTATTGTCCTTA
TCGGCGCCAGTAACCCCTGCTGCAGCAAGTTGAGCCGCAACTG
TGGTCGTATCAACACCCTCTTTTGTTACTTCAGCAATTTGGTT
GTGGGTATAGTGGCCGTTCCCCGAATAGCTGTAGCTTCCGCA
GTTGCCAACGGAGTTTTATCAGTCGTATCAATATTAACTTTCT
TTGTAGTTTTCATCATAAGTGGCTTTATAAACACCAGCAGAAGC
ACCGCCTTTAACATCTAAATAGTATTGACCATCTTTAAATTTG
ATATCAGCCCCAGTAACCCCCGTTGCACCACCGCCAATTGCAG
TTTGGATATCAGTATTGCTCTGGGCTGTAATAGGATCTGTACC
ATTTTTATAGGTAGTTTTATCAACGGTTACAGCAGTTTCTTTC
GGGGTGTAGGCATCTTGGACATTAAGCTTATCAAGTCCCAGTG
TTTTAGAGCTGATTTCTTTTAAATCAATATCGATAGTTTCACC
GTCGTTGGCACCAACCTGGATGGTCAGGGTGTTGTCCTGCGCC
AGGACTTTCACGCCGTTGAACTGAGTCTGGCCGGATACACGGT
CGATTTTCGTTCAGGCGCTGGGTGATTTACGCCTGGATGGAGTC
CAGGTCAGACGGGGAGTTAGTACCATTTCGCAGACTGAACCGCC
AGTTCACGCACACCCTGCAAGGTTGTTGTTGATTTTCGTTACC
CCGCCCTTCAATGGCCTGCCCAATGGAAATACCCGCCCTTTAGCG
TTACGGGAAGCCTGAGTCAGACCTTTGATGTTTCGCGGTAAAAC
GGTTAGCAATCGCCTGTCCTGCCGCATCGTCTTTTCGCGCTGTT
GATACGCAGACCGGAAGACAAACGCTCGATAGCAGTGCCAGT
GCGGACTGGGATTGTTTCAGGTTATCTGGTCAACGGGA

> *Salmonella typhi* KD 30.3. *fliC*

GACGGGTCGCTGCGCAGACGGAGGTACCGGCCTGCTGCAGAAT
CTGCGCGCGAGACATGTTGGAGACTTCGGTTGCGTAGTCGGAA
TCTTCGATACGGCTACGGGCAGAAGACCAGGTTATTTACGGTA
TTGCCCAGGTTGGTGATAGCGGAGTTGAAACGGTTCTGAACCG
CACCCAGGTCAGAACGAAGTGTATCAACCTGTGCCAAGGCAGC
ATCAATTTTCTGCAGTGGGTTTTTCAGTCTTATCTGTATTAACC
TCTTTAAGCTCACCGCCTGTTCTGAAGTTATGTTTGTC AAGGT
CGCTTGCTAAGTAAGTCTTACCATCGGTAGCAGTAACAACCTC
AGATTTACCATTTGCGCCACCAAATTTACAGCTCCAGTTTGA
GCAACGCCAGTACCATCTGTATAAGTAGTGTTTTAGCAGTAA
TTGCACCTGTTTTCTCATCATATGTAGCGGCATAGAAATCGTC
GCCCATTTTCACTGCATAGCCACCATCAATAACCTTACCGTTT
TTATCCTCAAACGATAGTTTTTACAAGGCTAGTATTGTCCTTAT
CGGCGCCAGTAACCCCTGCTGCAGCAAGTTGAGCCGCAACTGT
GGTCGTATCAACACCCCTCTTTTGTTACTTCAGCAATTTGGTTG
TGGGTTATAGTGGCCGTTCCCCGAATAGCTGTAGCTTCCGCAG
TTGCCAACGGAGTTTATCAGTCGTATCAATATTAACCTTTCTT
TGTAGTTTCATCATAAGTGGCTTTATAAACACCAGCAGAAGCA
CCGCCTTTAACATCTAAATAGTATTGACCATCTTTAAATTTGA
TATCAGCCCCAGTAACCCCCGTTGCACCACCGCCAATTGCAGT
TTGGATATCAGTATTGCTCTGGGCTGTAATAGGATCTGTACCA
TTTTTTATAGGTAGTTTTTATCAACGGTTACAGCAGTTTCTTTTCG
GGGTGTAGGCATCTTGGACATTAAGCTTATCAAGTCCCAGTGT
TTTAGAGCTGATTTCTTTTAAATCAATATCGATAGTTTCACCG
TCGTTGGCACCAACCTGGATGGTCAGGGTGTTGTCCTGCGCCA
GGACTTTCACGCCGTTGAACTGAGTCTGGCCGGATACACGGTC
GATTTTCGTTTCAGGCGCTGGGTGATTTTCAGCCTGGATGGAGTCA
AGGTCAGACTGGGAGTTAGTACCATTTCGCAGACTGAACCGCCA
GTTTCACGCACACGCTGCAGGTTGTTGTTGATTTTCGTTTCAGCCG
GCCTTCAGTGGCCTGCCCAATGGAAATACCGTCCTTTAGCGTT
ACGGGAAGCCTGAATCAGAACTTTGAAGTTCCCGGGAAAACGG
TAAGAAATCCCTTGTCTGCGCATCGTCTTTTCGCGCTGTTGA
TACGCAGACCGGAAGACAAACGCTCGATAGCAGTGCCAGTGC
GGACTGGGATTGTTTCAGGTATCGGGTCAACAGG

> *Salmonella typhi* SLT 1. *fliC*

TTTTAACGCAGATAAAAAGGGAGCGTTTGCGTGACGGGTTTCG
CCTGCGCCAAGACGGAGGTACCGGCCTGCTGCAGAATCTGCGC
GCGAGACATGTTGGAGACTTCGGTTGCGTAGTCGGAATCTTCG
ATACGGCTACGGGCAGAAGACAGGTTATTTACGGTATTGCCCA
GGTTGGTGATAGCGGAGTTGAAACGGTTCGAACCGCACCCAG
GTCAGAACGAAGTGATCAACCTGTGCCAAGGCAGCATCAATT
TTCTGCAGTGGGTTTTTCAGTCTTATCTGTATTAACCTCTTTAA
GCTCACCGCCTGTTCTGAAGTTATGTTTGTCAAGGTCGCTTGC
TAAGTAAGTCTTACCATCGGTAGCAGTAACAACCTCAGATTTA
CCATTTGCGCCACCAAATTTACAGCTCCAGTTTGAGCAACGC
CAGTACCATCTGTATAAGTAGTGTTTTAGCAGTAATTGCACC
TGTTTTCTCATCATATGTAGCGGCATAGAAATCGTCGCCCATT
TTCCTGCTAGCCACCATCAATAACCTTACCGTTTTTATCCT
CAAACGATAGTTTTACAAGGCTAGTATTGTCCTTATCGGGCGC
AGTAACCCCCGTTGCACCACCGCCAATTGCAGTTTGATATCA
GTATTGCTCTGGGCTGTAATAGGATCTGTACCATTTTTATAGG
TAGTTTTATCAACGGTTACAGCAGTTTCTTTCGGGGTGTAGGC
ATCTTGACATTAAGCTTATCAAGTCCCAGTGTTTTAGAGCTG
ATTTCTTTTAAATCAATATCGATAGTTTCACCGTCGTTGGCAC
CAACCTGGATGGTCAGGGTGTTGTCCTGCGCCAGGACTTTCAC
GCCGTTGAACTGAGTCTGGCCGGATACACGGTCGATTTTCGTT
AGGCGCTGGGTGATTTACGCCTGGATGGAGTCGAGGTCAGACT
GGGAGTTAGTACCATTTCGAGACTGAACCGCCAGTTCACGCAC
ACGCTGCAGGTTGTTGTTGATTTTCGTTACGCGCGCCTTCAGTG
GTCTGCGCAATGGAGATACCGTCGTTAGCGTTACGGAAGCCT
GAGTCAGACCTTTGATGTTTCGCGGTAAAACGGTTAGCAATCGC
CTGTCCTGCCGCATCGTCTTTCGCGCTGTTGATACGCAGACCG
GAAGAACAACGCTCGATAGCAGTGCCCAATGCGGACTGGGATT
TGTTTCAGGTTATTCTGGGTCAACAGCGACAGGCTGTTTGATTA
AAGGGACTTGGGCCTTAAAA

> *Salmonella typhi* SRJ *fliC*

TGTGGGACTGATCGCTGCGCAGACGGAGGTACCGGCCTGCTGC
AGAATCTGCGCGGAGACATGTTGGAGACTTCGGTTGCGTAGT
CGGAATCTTCGATACGGCTACGGGCAGAAGACAGGTTATTTAC
GGTATTGCCCAGGTTGGTGATAGCGGAGTTGAAACGGTTCCTGA
ACCGCACCCAGGTCAGAACGAAGTGATCAACCTGTGCCAAGG
CAGCATCAATTTTCTGCAGTGGGTTTTTCAGTCTTTATCTGGTA
TTAACCTCTTTTAAGCTTCACCGCCTGTTCTGAAAGTTATGTT
TGTC AAGGTTTCGCTTGGCTAAGTAAGTCTTTACCATCCGGTAG
CAGTAACAACCTTTTCAGATTTTACCATTTCGCCACCAAAATTT
CACAGCTTCCAGTTTGAGCAACGGCCAGTACCATCTGTATAAG
TAGTGGTTTTTAGCAGTAATTGCACCTGTTTTCTCATCATATGT
AGCGGCATAGAAATCGTCGCCCATTTTCACTGCATAGCCACCA
TCAATAACCTTACCGTTTTTATCCTCAAACGATAGTTTTACAA
GGCTAGTATTGTCTTATCGGCGCCAGTAACCCCTGCTGCAGC
AAGTTGAGCCGCAACTGTGGTCGTATCAACACCCTCTTTTGTT
ACTTCAGCAATTTGGTTGTGGGTTATAGTGGCCGTCCCCGAA
TAGCTGTAGCTTCCGCAGTTGCCAACGGAGTTTTATCAGTCGT
ATCAATATTAACCTTTCTTTGTAGTTTCATCATAAGTGGCTTTA
TAAACACCAGCAGAAGCACCGCCTTTAACATCTAAAAGTATT
GACCATCTTTAAATTTGATATCAGCCCCAGTAACCCCGTTGC
ACCACCGCCAATTGCAGTTTGGATATCAGTATTGCTCTGGGCT
GTAATAGGATCTGTACCATTTTTTATAGGTAGTTTTATCAACGG
TTACAGCAGTTTCTTTCGGGGTGTAGGCATCTTGGACATTAAG
CTTATCAAGTCCCAGTGTTTTAGAGCTGATTTCTTTTAAATCA
ATATCGATAGTTTCACGGTCGTTGGCACCAACCTGGATGGGCA
GGGTGGTTGTCTGCGCCAAGGACTTTCACCGCGGTTGAACTG
GAGCCTGGCCGATACACCGGTCGATTTCCGTTCAAGCGCCTT
GGTTGGATTTCCAGCCTTGGATGGGAGTCCAGAGTCAAACTG
GGGAGTTAGGACCCTTCGCAGACTGAACCGCCAGTTCACGCAC
ACGCTGCAGGTTGTTGTTGATTTTCGTTACGCGCGCCTTCAGTG
GTCTGCGCAATGGAGATACCGTCGTTAGCGTTACGGGAAGCCT
GAGTCAGACCTTTGATGTTTCGCGGTAAAACGGTTAGCAATCGC
CTGTCTGCGCATCGTCTTTCGCGCTGTTGATACGCAGACCG
GAAGACAAACGCTCGATAGCAGTGCCAGTGCGGACTGGGATT
GTCAGGTATCTGT CAGAGCACCGTTT

> *Salmonella typhi* BET *fliC*

GACGGGGTCGCCTGCGCAGAACGGAGGTACCGGCCTGCTGCAG
AATCTGCGCGCGAGACATGTTGGAGACTTCGGTTGCGTAGTCG
GAATCTTCGATACGGCTACGGGCAGAAGACAGGTTATTTACGG
TATTGCCCAGGTTGGTGATAGCGGAGTTGAAACGGTTCTGAAC
CGCACCCAGGTCAGAACGAAGTGTATCAACCTGTGCCAAGGCA
GCATCAATTTTCTGCAGTGGGTTTTTCAGTCTTATCTGTATTAA
CCTCTTTAAGCTCACCGCCTGTTCTGAAGTTATGTTTGTCAAG
GTCGCTTGCTAAGTAAGTCTTACCATCGGTAGCAGTAACAAC
TCAGATTTACCATTTGCGCCACCAAATTTACAGCTCCAGTTT
GAGCAACGCCAGTACCATCTGTATAAGTAGTGTTTTAGCAGT
AATTGCACCTGTTTTCTCATCATATGTAGCGGCATAGAAATCG
TCGCCCATTTCCTACTGCATAGCCACCATCAATAACCTTACCCT
TTTTATCCTCAAACGATAGTTTTACAAGGCTAGTATTGTCCTT
ATCGGCGCCAGTAACCCCTGCTGCAGCAAGTTGAGCCGCAACT
GTGGTCGTATCAACACCCCTCTTTTGTACTTCAGCAATTTGGT
TGTGGGTTATAGTGGCCGTTCCCCGAATAGCTGTAGCTTCCGC
AGTTGCCAACGGAGTTTATCAGTCGTATCAATATTAACCTTTC
TTTGTAGTTTCATCATAAGTGGCTTTATAAACACCAGCAGAAG
CACCGCCTTTAACATCTAAATAGTATTGACCATCTTTAAATTT
GATATCAGCCCCAGTAACCCCGTTGCACCACCGCCAATTGCA
GTTTGGATATCAGTATTGCTCTGGGCTGTAATAGGATCTGTAC
CATTTTTATAGGTAGTTTTTATCAACGGTTACAGCAGTTTCCTT
CGGGGTGTAGGCATCTTGGACATTAAGCTTATCAAGTCCAGT
GTTTTAGAGCTGATTTCTTTTAAATCAATATCGATAGTTTCAC
CGTCGTTGGCACCAACCTGGATGGTCAGGGTGTTGTCCTGCGC
CAGGACTTTCACGCCGTTGAACTGAATCTGGCCGGATACACGG
TCGATTTCTGTTACAGGCGCTGGGTGATTTTCAGCCTGGATGGAAT
CCGAGTCAGACTGGGAGTTAGTACCATTTCGCAGACTGAACCGC
CAGTTCACGCACACCCCTGGCAGGTTGTTGTTGATTTCTGTTCAA
GGGGCCTTCAAGGGCTTGCCCAATGGAAATACCCTCCTTTAGC
GTTACCGGGACCCTGAGTCAGACCTTTGATGTTTCGCGGTAAAA
CGGTTAGCAATCGCCTGTCCTGCCGCATCGTCTTTTCGCGCTGT
TGATACGCAGACCGGAAGACAAACGCTCGATAGCAGTGCCAG
TGCGGACTGGGATTGTTTCAGGTATCGGTCAACGGG

> *Salmonella typhi* BA 07.3.fliC

AGGGTCGCTGCGCCAGACGGAGGTACCGGCCTGCTGCAGAATC
TGCGCGCGAGACATGTTGGAGACTTCGGTTGCGTAGTCGGAAT
CTTCGATACGGCTACGGGCAGAAGACAGGTTATTTACGGTATT
GCCCAGGTTGGTGATAGCGGAGTTGAAACGGTTCTGAACCGCA
CCCAGGTCAGAACGAAGTGTATCAACCTGTGCCAAGGCAGCAT
CAATTTTCTGCAGTGGGTTTTTCAGTCTTATCTGTATTAACCTC
TTTAAGCTCACCGCCTGTTCTGAAGTTATGTTTGTCAAGGTCG
CTTGCTAAGTAAGTCTTACCATCGGTAGCAGTAACAACCTCAG
ATTTACCATTTGCGCCACCAAATTTACAGCTCCAGTTTGAGC
AACGCCAGTACCATCTGTATAAGTAGTGTTTTAGCAGTAATT
GCACCTGTTTTCTCATCATATGTAGCGGCATAGAAATCGTCGC
CCATTTTCACTGCATAGCCACCATCAATAACCTTACCGTTTTT
ATCCTCAAACGATAGTTTTACAAGGCTAGTATTGTCCTTATCG
GCGCCAGTAACCCCTGCTGCAGCAAGTTGAGCCGCAACTGTGG
TCGTATCAACACCCTCTTTTGTTACTTCAGCAATTTGGTTGTG
GGTTATAGTGGCCGTTCCCCGAATAGCTGTAGCTTCCGCAGTT
GCCAACGGAGTTTTATCAGTCGTATCAATATTAACCTTCTTTG
TAGTTTCATCATAAGTGGCTTTATAAACACCAGCAGAAGCACC
GCCTTTAACATCTAAAAGTATTGACCATCTTTAAATTTGATA
TCAGCCCCAGTAACCCCCGTTGCACCACCGCCAATTGCAGTTT
GGATATCAGTATTGCTCTGGGCTGTAATAGGATCTGTACCATT
TTTATAGGTAGTTTTATCAACGGTTACAGCAGTTTCTTTCTGGG
GTGTAGGCATCTTGGACATTAAGCTTATCAAGTCCCAGTGTTT
TAGAGCTGATTTCTTTTAAATCAATATCGATAGTTTCACCGTC
GTTGGCACCAACCTGGATGGTCAGGGTGTTGTCTTGCGCCAGG
ACTTTACGCCGTTGAACTGAATCTGGCCGGATACACGGTCGA
TTTCGTTCAGGCGCTGGGGTGATTTACGCCTGGGATGGAGCCA
AGGTCAGACTGGGAGTTAGTACCATTGCGGAAACTGAACCGCC
AGTTCACGCACACCCTGCAGGTTGTTGTTAATTTCTGTTACGCG
CGCCTTCAGTGGCTTGCCCATTGGAATACCGGTCTTTAGCGTT
ACGGGAAACCTGAAGTCAAACCTTTTAAGTTCCCGGGAACG
GTTAGCAATCGCCTGTCCTGCCGCATCGTCTTTTCGCGCTGTTG
ATACGCAGACCGGAAGACAAACGCTCGATAGCAGTGCCCAGTG
CGGACTGGGATTTGTTTCAGGTTATCGGGTCAAAGG

GLOSARIUM

Adhesi	Perlekatan bakteri pada permukaan sel <i>host</i>
Aglutinin	Sama dengan antibodi
Aglutinogen	Sama dengan antigen
Amphitrich	Tipe flagella di mana letak flagellum pada kedua ujung sel bakteri terletak masing-masing satu flagellum
Antibodi	Substansi terlarut yang merupakan produk respons imun humoral yang tersusun dari antibodi
Antigen H	Antigen flagella
Antigen O	Antigen somatik, antigen
Booster	Imunisasi ulangan, yang kedua ataupun ketiga
Demam enterik	Lihat demam tifoid
Demam paratifoid	Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri <i>Salmonella paratyphi</i> A, B dan C
Demam tifoid	Demam tifoid atau tifo adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri <i>Salmonella typhi</i>
ELISA	Suatu metode untuk deteksi antigen ataupun antibodi yang prinsipnya menggunakan reaksi antigen antibodi dengan bantuan antibodi sekunder yang dilabel Enzim
Endotoksin	Bagian lapisan luar dinding sel bakteri Gram negatif yang tersusun dari lipopolisakarida
Epitop	Bagian antigen yang dapat menimbulkan terjadinya respons imun dan dapat bereaksi dengan produk respons imun
FBS	Fetal Bouvin Serum
Fimbriae	Struktur berbentuk seperti rambut halus yang menonjol dari dinding sel bakteri
Flagella	Alat gerak pada bakteri yang tersusun dari protein flagellin
Gram negatif	Jenis bakteri berdasarkan pengecatan metode Gram memberikan warna merah muda,

	memiliki dinding sel yang tersusun dari peptidoglikan tipis dan selaput luar yang tersusun dari LPS.
Host	Tuan rumah
Immunogenik	Antigen yang dapat menimbulkan terjadinya respons imun
Intraperitonium	adalah penyuntikan suatu zat ke dalam peritoneum (rongga tubuh)
Lipopolisakarida	Makromolekul yang tersusun dari kombinasi antara lipid dan polisakarida
Lopotrich	Tipe flagella di mana pada salah satu ujung sel bakteri terletak beberapa flagellum
Monotrich	Tipe flagella di mana letak satu flagellum pada salah satu ujung sel bakteri,
Patogenitas	Kemampuan mikroorganisme baik bakteri, virus, jamur, parasit untuk dapat menimbulkan terjadinya penyakit
PBS	Phospat Buffer Salin
<i>PCR (Polimerase Chains Reaction)</i>	Metode untuk amplifikasi Gen tertentu secara eksponensial menggunakan enzim secara <i>in vitro</i>
Peritrich	Tipe flagella di mana letak flagellum pada semua permukaan sel
<i>Peyer's patch</i>	Bagian dari selaput mukosa usus halus, di mana bagian tersebut dijumpai adanya folikel sel T dan sel B
Plasmid	DNA ekstra kromosom yang bentuknya sirkuler, menyandi protein fungsional
RPMI	Media untuk kultur sel
<i>SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gell Electrophoresis)</i>	Metode yang dapat digunakan untuk memisahkan subunit protein berdasarkan berat molekul, melalui matriks poliakrilamid yang dialiri medan listrik.
Serotipe	Suatu kelompok mikroorganisme berdasarkan komponen permukaan sel yang dapat

	menimbulkan respons imun
<i>Simple Matching Coefficient</i>	Metode statistik untuk membandingkan kesamaan unit-unit taksonomi atau sifat-sifat yang sama pada sampel-sampel organisme
UPGMA (<i>Unweighted Pair Group Method with Average</i>)	Algoritma atau sistem penentuan hitungan jarak antar kelompok data atau takson berdasarkan nilai rata-rata
Virulensi	Faktor yang dimiliki oleh mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur, parasit, yang menyebabkan terjadinya infeksi
<i>Western Blotting</i>	Metode laboratorium yang digunakan untuk deteksi molekul protein tertentu, yang didasari dengan metode SDS-PAGE yang kemudian ditransfer pada kertas nitroselulose, yang prinsipnya reaksi antara antigen dan antibodi.

INDEKS

A

Aglutininogen H.....3
Aglutininogen O.....3
Algoritme Neighbour Joining
..... xi, 20
Amphitrich 9, 10, 52
Amplifikasi vii, 4, 5, 16, 17,
18, 53
Anti flagellin xii, 22, 31, 32,
34
Antibiotik.....2
Antibodivi, viii, 2, 3, 5, 22, 23,
30, 31, 32, 33, 34, 52, 54
Antigen v, vi, 2, 3, 5, 8, 16, 23,
24, 30, 31, 34, 52, 53, 54
Antigen H8, 16, 52
Antigen O.....3, 24, 52
Antigen somatik.....2, 3, 52
Aspirasi..... xi, 26

B

BA07.4 ix, x, xii, 8, 12, 13, 14,
20, 21, 28, 29, 30, 31, 32,
34

Bakteri v, x, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7,
8, 9, 10, 11, 12, 16, 17, 18,
22, 35, 37, 52, 53, 54
Bakteri gram negatif..v, 52
Baku emas 1
Balb/C vi, xi, 22, 23, 24, 25,
27, 34, 35
Berat molekul v, 12, 32, 53
Bioaktif3, 16
Biofilm 6
Biologi molekuler 5, 35, 59
Booster23, 52
bp18, 19, 21

C

Cut- off..... 2

D

Delesi..... v, 8, 16, 19
Demam enteric..... 1
Demam paratifoid 1, 52
Demam tifoid i, iii, iv, v, vi, 1,
3, 4, 16, 17, 35, 52
Dendogram.....x, 13, 14
Dengue fever..... 1
Diagnostic..... 35, 36

Dialisa5

Dinding sel.....3, 22, 52

E

Elisa ix, 5, 23, 29, 30, 31, 52

Enterobacteriaceae 2, 37

Enzim 3, 16, 22, 52, 53

Epitope2

Escherichia coli..... 2, 38

F

Fagositosis vi, viii, ix, 5, 22,
24, 28, 29

FBS26, 52

Filament..... 7, 37

Fimbriae v, 3, 52

Flagella i, iii, iv, v, vi, vii, x, 3,
4, 6, 7, 8, 9, 10, 16, 22, 35,
38, 39, 52, 53

Flagellin v, vi, vii, viii, ix, x, xi,
xii, 2, 4, 5, 6, 8, 10, 11, 12,

13, 15, 16, 17, 18, 19, 20,

21, 22, 23, 28, 30, 31, 32,

34, 35, 36, 37, 38, 39, 52

Flagellum. x, 6, 7, 9, 10, 39,
52, 53

fliC v, ix, xi, 8, 10, 16, 17, 18,
19, 20, 21, 32, 35, 36, 41,
43, 44, 45, 46, 47, 48, 49,
50, 51

I

Imunisasi viii, xi, 4, 5, 23, 34,
52

Imunogenesitas i, iii, iv, v, vi,
viii, 4, 5, 22, 35

Imunogenik.....v, 10, 22

Infeksiv, 1, 2, 35, 52, 54

Influenza 1

Inhouse..... 5, 23, 30

Intraperitonium.. xi, 23, 53

Invasi3, 16

Isolate.....4, 19

K

Kandung empedu3, 16

Kapsul v

Klebsiella pneumonia 2

Koloni6, 10

Konjungtiva xi, 23, 24

L

Latex..... ix, xi, 27, 28, 29

Leptospirosis 1

Limfoid3, 16

Lopotrach9, 53

LPS..... v, 2, 52

M

Makrofag vi, viii, ix, xi, 5, 10,
22, 24, 25, 26, 27, 28, 29,
30
Malaria 1
Membran citoplasma ... x, 7
Monotrich 9, 53
Motil v, 7, 18
Mukosa 3, 16, 53
Multiplikasi 3, 16

N

Nitrit oxid vi
Nukleotida ix, 20, 21

O

Outer layer v
Outer membrane x, 7

P

Patogenitas 2, 12, 53
PBS 23, 27, 31, 53
PCR . xi, 4, 5, 17, 18, 19, 35,
39, 53
Penyandi v
Peptidoglycan x, 7
Peritrich 9, 10, 53
Peyer's patch 3, 16, 53
Pilli v, 3

Pillin 3
Plasmid 8, 53
Pohon Filogeni xi, 20
Profil protein v, vi, vii, ix, 4,
8, 11, 12, 13, 32, 35

R

Rickettsia 1
RPMI .. xi, 25, 26, 27, 29, 53

S

Salmonella enteric serovar
Typhi 1
Salmonella typhi i, iii, iv, vi, 8,
19, 35, 37, 38, 41, 43, 44,
45, 46, 47, 48, 49, 50, 51,
52, 59
Sekuen ix, 19, 21
Sekuensing vii, ix, 5, 17, 18,
19
Sel host 3, 16, 52
Selaput luar v, 2, 3, 52
Sensitivitas vi, 2
Separasi vii, 10
Serologi 2, 3
Serotipe 8, 53
Serratia marcescens 2
Sharing epitope 2
Similaritas vii, ix, x, xi, 13, 14,
20, 21

Simple Matching Coefficient

(SSM).....x, xi, 13, 14
SLT-1.ix, x, xi, xii, 8, 12, 13,
14, 15, 19, 23, 28, 29, 30,
31, 32, 34
Spesies.....4
Spesifisitas vi, 2, 5, 22, 23, 32
Strain vii, ix, x, xi, 11, 12, 13,
14, 17, 18, 19, 20, 21
Subunit v, 8, 10, 12, 15, 22,
53
Sumsum tulang.....1, 3, 16
Supernatant ix, 30
Swarming6
Swimming sel6

T

Terapi2
Titer.....4, 30, 32, 34
Toksik..... 6, 30
Toksin..... 3, 16
Typhoid fever.....1, 36, 39

U

UPGMA (*Unweighted Pair
Group Method with
Average*)..... 54
Usus halus.....3, 16, 53

V

Virulens iv, 2, 3, 4, 5, 13, 16,
54

W

Western blotting..viii, xii, 5,
23, 32, 33, 34, 39, 54
Widal vi, 2, 3, 11, 17, 37

PENULIS



Dr. Sri Darmawati, M.Si. yang biasa dipanggil Ciciek, lahir di Mayong Jepara, 15 Juli 1962. Alumni S-1 Biologi UGM lulus tahun 1986, lulus Magister Bioteknologi UGM tahun 1998, lulus S-3 pada Program Studi Bioteknologi UGM tahun 2013 pada bidang Mikrobiologi Kesehatan. Pada tahun 1991 sampai dengan 2003 menjadi dosen di Akademi Analis Kesehatan Muhammadiyah Semarang, kemudian 2004 sampai dengan 2017 pindah *homebase* menjadi dosen Program Studi D-4 Analis Kesehatan di Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Unimus. Pada tahun 2018 pindah *homebase* menjadi dosen pada program Magister Ilmu Laboratorium Klinis Pascasarjana Unimus sampai dengan sekarang. Posisi saat ini menjabat sebagai Ketua Program Studi Magister Ilmu Laboratorium Klinis di Universitas Muhammadiyah Semarang. Buku yang telah disusun adalah: *Biologi Sel dan Biologi Molekuler*, Monograf: *Sistematika Polifasik untuk Deteksi Keanekaragaman Genetik Salmonella typhi*.



Mengenal Karakter Molekuler
dan Immunogenesitas Flagella
Salmonella typhi
Penyebab
Demam Tifoid

Dr. Sri Darmawati, M.Si.

Monograf *Mengenal Karakter Molekuler dan Immunogenesitas Flagella Salmonella typhi Penyebab Demam Tifoid* ini berisi tentang teori, konsep, cara kerja praktis di laboratorium, dan hasil-hasil penelitian yang berhubungan dengan profil protein flagellin dan profil gen flagellin dari *S. typhi* Isolat Jawa Tengah dan Yogyakarta serta imunogenesitasnya. Imunogenesitas protein flagellin adalah kemampuan protein flagellin dalam menimbulkan terjadinya respons imun yang meliputi: kadar nitrit oxid, aktivitas fagositosis dari makrofag, kemampuan untuk dapat menimbulkan terbentuknya antibodi, serta spesifisitas dari antibodi yang ditimbulkan pada mencit Balb/C yang diimunisasi menggunakan antigen flagellin. Protein flagellin *S. typhi* sampai saat ini digunakan sebagai reagen untuk pemeriksaan demam tifoid dengan metode Widal. Namun, sensitivitas dan spesifisitasnya sangat bervariasi sehingga diperlukan informasi yang lebih banyak tentang karakter molekuler dan imunogenesitas dari protein flagellin *S. Typhi* dengan harapan dapat digunakan untuk pijakan dalam mengembangkan reagen diagnostik demam tifoid.



Penerbit Deepublish (CV BUDI UTAMA)
Jl. Rajawali, Gang Elang 6 No.3, Drono, Sardonoarjo, Ngaglik, Sleman
Jl. Kaliurang Km 9,3 Yogyakarta 55581
Telp/Fax : (0274) 4533427
Anggota IKAPI (076/DIY/2012)
cs@deepublish.co.id @penerbitbuku_deepublish
Penerbit Deepublish www.penerbitbukudeepublish.com

Kategori : Monograf

ISBN 978-623-02-2858-2



9 786230

228582