

**LAPORAN PENELITIAN KOMPETITIF DOSEN
TAHUN ANGGARAN 2016**

JUDUL PENELITIAN

**REAKSI ANTIGEN-ANTIBODI ANTARA PROTEIN SUB UNIT PILI 18
KDa *Shigella flexneri* DENGAN SUB UNIT OUTER MEMBRAN
PROTEIN (Omp) *Shigella dysenteriae*
(Strategi memperoleh vaksin shigellosis berbasis protein pili)**

Nomor DIPA	:	DIPA BLU: DIPA-025.04.2.423812/2016
Tanggal	:	7 Desember 2015
Satker	:	(423812) UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Kode Kegiatan	:	(2132) Peningkatan Akses, Mutu, Kesejahteraan dan Subsidi Pendidikan Tinggi Islam
Kode Sub Kegiatan	:	(008) Penelitian Bermutu
Kegiatan	:	(004) Dukungan Operasional Penyelenggaraan Pendidikan

OLEH

**Avin Ainur Fitriyaningsih
NIP. 19800203 200912 2 002**

**Alvi Milliana
NIP. 19820404 201101 2 011**



**KEMENTERIAN AGAMA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
(LP2M)
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2016**

HALAMAN PENGESAHAN

Laporan Penelitian ini disahkan oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Pada tanggal 31 Agustus 2016

Peneliti

Ketua : Avin Ainur Fitrianingsih
: 19800203 200912 2 002
:

Anggota : Alvi Milliana
: 19820404 201101 2 011

Ketua LP2M

UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

Dr. Hj. Mufidah Ch., M.Ag.
NIP. 19600910 198903 2 001

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Avin Ainur Fitrianingsih
NIP : 19800203 200912 2 002
Pangkat /Gol.Ruang : III-C/Penata
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/ Fisika
Jabatan dalam Penelitian : Ketua Peneliti

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa dalam penelitian ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis disebutkan dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila dikemudian hari ternyata dalam penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur penjiplakan dan pelanggaran etika akademik, maka kami bersedia mengembalikan dana penelitian yang telah kami terima dan diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Malang, 30 Agustus 2016

Ketua Peneliti



Avin Ainur Fitrianingsih
NIP. 19800203 200912 2 002

PERNYATAAN KESANGGUPAN PENYELESAIAN PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Avin Ainur Fitrianingsih
NIP : 19800203 200912 2 002
Pangkat /Gol.Ruang : III-C/Penata
Fakultas/Jurusan: : Sains dan Teknologi/Fisika
Jabatan dalam Penelitian : Ketua Peneliti

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Saya sanggup menyelesaikan dan menyerahkan laporan hasil penelitian sesuai dengan batas waktu yang telah ditetapkan (31 Agustus 2016);
2. Apabila sampai batas waktu yang ditentukan saya belum menyerahkan laporan hasil, maka saya sanggup mengembalikan dana penelitian yang telah saya terima.

Malang, 30 Agustus 2016

Ketua Peneliti



Avin Ainur Fitrianingsih
NIP. 19800203 200912 2 002

PERNYATAN TIDAK SEDANG TUGAS BELAJAR

Yang bertanda tangan di bawah ini, Saya:

Nama : Avin Ainur Fitrianingsih

NIP : 19800203 200912 2 002

Pangkat/Gol. : III-C/ Penata

Tempat/Tgl. Lahir : Malang/3 Februari 1980

Judul Penelitian : Reaksi Antigen-Antibodi antara Protein sub unit Pili 18 Kda *Shigella flexneri* dengan sub unit Outer Membran Protein *Shigella dysenteriae* (Strategi Memperoleh Vaksin Shigellosis Berbasis Protein Pili)

dengan ini menyatakan bahwa:

1. Saya TIDAK SEDANG TUGAS BELAJAR
2. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa Saya sedang tugas belajar, maka secara langsung Saya menyatakan mengundurkan diri dan mengembalikan dana yang telah Saya terima dari Program Penelitian Kompetitif Dosen tahun 2016.

Demikian surat pernyataan ini, Saya buat sebagaimana mestinya.

Malang, 30 Agustus 2016

Yang membuat pernyataan,



Avin Ainur Fitrianingsih
NIP. 19800203 200912 2 002

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	i
LEMBAR PERNYATAAN KESANGGUPAN MENYELESAIKAN PENELITIAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN TIDAK TUGAS BELAJAR.....	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR LAMPIRAN	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT	x
BAB I PENDAHULUAN	12
1.1 Latar Belakang	12
1.2 Tujuan	13
1.2.1 Tujuan Umum.....	13
1.3.2 Tujuan Khusus.....	13
1.3 Urgensi Penelitian	13
BAB II STUDI PUSTAKA DAN <i>ROADMAP</i>	16
2.1 Studi Pustaka.....	16
2.1.1 Shigellosis	16
2.1.2 Epidemiologi Shigellosis	17
2.1.3 Bakteri Shigella	17
2.1.4 Patogenesis Shigellosis	18
2.1.5 Isolasi dan Identifikasi <i>Shigella</i>	20
2.1.6 Vaksinasi terhadap Shigella	21
2.2 Kerangka konsep	22
2.3 Roadmap Penelitian.....	22
BAB III METODE PENELITIAN	24
3.1 Desain Penelitian.....	24
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	24

3.3 Bahan dan Alat	24
3.3.1 Bahan	24
3.3.2 Alat-alat.....	25
3.4 Langkah-langkah Penelitian.....	25
3.4.1 Kultur <i>S. dysenteriae</i> , dan <i>S. flexneri</i>	25
3.4.2 Metode Isolasi Pili Bakteri <i>S. flexneri</i> dan <i>S. dysentriae</i>	25
3.4.3 Persiapan Koleksi Omp.....	26
3.4.4 Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamid Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) ...	26
3.4.5 Persiapan Elektroelusi dan Dialisis.....	27
3.4.6 Persiapan Uji Coba Hemaglutinasi.	28
3.4.7 Produksi antibodi poliklonal.....	29
3.4.8 Uji Check Board.....	30
3.4.9 Metode Western blot.....	30
3.5 Diagram Alur Penelitian	32
BAB IV HASIL PENELITIAN	33
4.1. Hasil isolasi protein pili dan Omp <i>S. flexneri</i>	33
4.2. Uji Hemaglutinasi protein sub unit pili <i>S. flexneri</i>	34
4.3. Uji Hemaglutinasi sub unit <i>Outer Membrane Protein</i> (Omp) <i>S. dysentriae</i>	36
4.4 <i>Check board</i> Antigen dan Antibodi.....	37
4.5. Reaksi antigen-antibodi dengan <i>Western Blot</i>	37
BAB V PEMBAHASAN	39
5.1 Hasil Identifikasi profil protein pili dan Omp <i>S. flexneri</i>	40
5.2 Uji Hemaglutinasi protein sub unit pili <i>S. flexneri</i>	42
5.3 Uji Hemaglutinasi sub unit Omp <i>S. dysentriae</i>	44
5.4 Reaksi antigen-antibodi dengan metode Western blot	45
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	48
6.1 Kesimpulan.....	48
6.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN	

DAFTAR LAMPIRAN

1. SK PENELITI
2. JADWAL PRESENTASI
3. CV NARASUMBER
4. SLIDE PRESENTASI
5. UNDANGAN PRESENTASI
6. DAFTAR HADIR PRESENTASI
7. FOTO KEGIATAN PRESENTASI

KATA PENGANTAR

Puji syukur kita panjatkan kehadiran ALLAH SWT, karena dengan izin dan ridhoNya proposal penelitian ini dapat diselesaikan. Sholawat serta salam semoga tetap dilimpahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW, yang telah membawa kedamaian dan rahmat bagi semesta alam.

Laporan penelitian ini disusun untuk memenuhi salah satu tri dharma perguruan tinggi, yaitu penelitian. Terima kasih kami ucapkan kepada semua pihak yang ikut menjadikan penelitian ini sempurna. Penelitian ini mengambil judul atau kajian tentang “ Reaksi Antigen Antibodi antara Protein sub unit Pili 18 kDa *S. flexneri* dengan sub unit Omp *S. dysenteriae*”

Kami berharap penelitian ini sedikit banyaknya memberi manfaat khususnya bagi penyusun sendiri dan masyarakat umumnya.

Malang, 30 Agustus 2016

**REAKSI ANTIGEN-ANTIBODI ANTARA PROTEIN SUB UNIT PILI 18 kDa *Shigella flexneri* DENGAN SUB UNIT OUTER MEMBRAN PROTEIN *Shigella dysenteriae*
(Strategi memperoleh vaksin shigellosis berbasis protein pili)**

Avin Ainur Fitrianingsih; Alvi Milliana
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
avinainur@yahoo.com

ABSTRAK

Penyakit diare berdarah masih menjadi penyebab utama dari tingginya angka morbiditas dan mortalitas anak secara global. Diare yang disebabkan oleh *S. flexneri* dan *S. dysenteriae* yang biasa ditangani dengan antibiotik terlihat sudah mulai resisten dengan beragam antibiotik yang ada sementara pencegahan *shigellosis* dengan vaksin *Shigella* yang dikembangkan dan digunakan sekarang masih terbatas penggunaannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi protein hemagglutinin sub unit pili *S. flexneri* dan sub unit Omp *S. dysenteriae* yang diduga memiliki kesamaan karakteristik. Penelitian ini menggunakan Uji Dot Blot dan Western Blot untuk mengetahui reaksi antigen antibodi antara antibodi protein sub unit pili *S. flexneri* dengan sub unit Omp *S. dysenteriae*. Dari hasil penelitian didapatkan bahwa protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri* 18 kDa adalah protein yang mampu mengaglutinasi sel darah merah mencit pada pengenceran tertinggi dan mampu mengenali protein Omp *S. dysenteriae* dengan berat molekul 18 kDa; 21 kDa; dan 23 kDa. Protein sub unit Omp *S. dysenteriae* dengan berat molekul 18 kDa; 21 kDa; dan 23 kDa kemungkinan memiliki epitop yang dapat dikenali oleh antibodi protein sub unit pili *S. flexneri* 18 kDa.

Kata kunci : *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, pili, Omp, hemagglutinin, reaksi antigen-antibodi

**ANTIGEN-ANTIBODY REACTION BETWEEN PROTEIN SUB UNIT PILI 18 kDa
Shigella flexneri WITH SUB UNIT OUTER MEMBRANE PROTEIN *Shigella dysenteriae***

(Strategy obtained pili protein-based Shigellosis vaccines)

Avin Ainur Fitrianingsih; Alvi Milliana
Faculty of Science and Technology UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
avinainur@yahoo.com

ABSTRACT

Bloody diarrhea disease remains a major cause of the high morbidity and mortality of children globally. Diarrhea caused by *S. flexneri* and *S. dysenteriae* commonly treated with antibiotics seen already started resistant to existing antibiotics varied while the prevention of shigellosis with Shigella vaccines were developed and used today are still of limited use. This study aims to explore the hemagglutinin protein sub units pili and Omp *S. dysenteriae* suspected having similar characteristics. This study uses Dot Blot and Western Blot to determine the antigen-antibody reaction between the antibody protein sub unit pili *S. flexneri* with sub unit Omp *S. dysenteriae*. The result showed that the protein sub unit 18 kDa *S. flexneri* is a protein that is able to agglutinate red blood cells of mice at the highest dilution and is able to recognize sub unit Omp *S. dysenteriae* with a molecular weight of 18 kDa; 21 kDa; and 23 kDa. Protein sub units Omp *S. dysenteriae* with a molecular weight of 18 kDa; 21 kDa; and 23 kDa possibility having epitopes that can be recognized by an antibody protein sub unit pili *S. flexneri* 18 kDa.

Keywords: *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, pili, Omp, hemagglutinin, antigen-antibody reaction

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kasus diare dengan perdarahan, paling sedikit ditemukan 80 juta kasus di dunia. Angka tersebut diperkirakan dapat menyebabkan 700.000 kematian. Kasus kematian tersebut yang terbanyak sekitar 60% diderita oleh anak berusia dibawah lima tahun . Di Indonesia penyakit diare merupakan penyebab kematian nomer tiga untuk neonatus. Telah dilakukan penelitian di Mampang Jakarta Selatan dari hasil surveilens *Shigellosis* pada 612 anak umur 0-12 tahun yang menderita diare selama kurun 2005 sampai 2007. Hasilnya menunjukkan 9.3% ditemukan *S. spp.* dan ternyata 63.2% (36/57) adalah *S. flexneri* (Magdarina, et al., 2007)\ (Herwana, et al., 2010).

Shigellosis yang biasa ditangani dengan antibiotik terlihat sudah mulai resisten dengan beragam antibiotik yang ada sementara pencegahan *shigellosis* dengan vaksin *Shigella* yang dikembangkan dan digunakan sekarang masih terbatas penggunaannya (Niyogi, 2005). Terdapat 2 macam cara perlekatan *Shigella* terhadap sel hospes, yakni yang pertama melalui *fimbriae* atau pili yang terdapat di seluruh permukaan tubuh . *Fimbriae* ini mengandung molekul adhesi diperankan oleh suatu protein hemagglutinin yang berfungsi sebagai reseptor untuk adhesi pada banyak tipe sel di tubuh manusia (Prabowo, 2011). Sedangkan cara perlekatan yang kedua adalah melalui *afimbriae* atau disebut juga *Outer Membrane Protein* (Omp) (Nezet, et all, 2009). Berdasarkan penelitian sebelumnya, didapatkan bahwa antibodi protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri* dapat dikenali oleh sub unit Omp *S. flexneri* dengan Berat Molekul (BM) 23 kDa dan 27 kDa. Hal ini menimbulkan pemikiran bahwa jika protein sub unit pili dikenali oleh sub unit Omp pada spesies yang sama, maka seharusnya juga akan dikenali oleh sub unit Omp *Shigella* spesies lainnya, dalam hal ini *S. dysenteriae*. *Shigellosis* yang disebabkan oleh *S. dysenteriae* menimbulkan gejala yang lebih lama, dengan manifestasi klinis yang lebih berat sehingga memberikan efek yang fatal bagi penderitanya (WHO, 2011). Hal tersebut dikarenakan *S. dysenteriae* memiliki kemampuan untuk menghasilkan Shigatoksin

(Stx) yang mampu menimbulkan pendarahan pada saluran cerna (Todar, K, 2011). Sehingga penelitian ini diharapkan dapat mengembangkan vaksin terhadap shigellosis dengan berbasis protein pili yang spesifik terhadap *S. flexneri* dan *S. dysenteriae*.

1.2 Tujuan

1.2.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui adanya kemiripan karakter antara protein sub unit pili *S. flexneri* dengan sub unit Omp *S. dysenteriae*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui berat molekul Omp *S. flexneri* dan *S. dysenteriae* yang berperan sebagai protein hemagglutinin.
2. Untuk mengetahui adanya reaksi antigen - antibodi antara protein sub unit pili *S. flexneri* yang merupakan protein hemagglutinin dengan sub unit Omp *S. dysenteriae*.
3. Untuk mengetahui kemiripan reaksi antigen-antibodi antara antibodi protein sub unit pili *S. flexneri* dengan antigen sub unit Omp *S. dysenteriae*.

1.3 Urgensi Penelitian

Pengobatan Shigellosis yang masih diandalkan sampai saat ini adalah dengan antibiotik, akan tetapi beberapa serotype *Shigella spp.* dilaporkan telah resisten terhadap penggunaan antibiotik (Todar, K, 2011). Vaksin untuk shigellosis sampai saat ini sedang dikembangkan baik secara oral maupun parenteral, namun hasilnya masih belum cukup meyakinkan (Phalipon, et al., 2008). Sudah ada banyak vaksin yang sudah ditemukan untuk infeksi *Enterobacteriaceae*, misalnya penggunaan *killed oral cholera vaccines* yang telah dijadikan *World Health Organization* (WHO) sebagai rekomendasi vaksin sebagai kontrol dari endemi dan epidemi kolera (Clemens, 2011).

Penggunaan mutan hidup yang dilemahkan dalam vaksin *Shigella* yang diberikan secara oral adalah menjanjikan untuk perlindungan terhadap *Shigellosis*.

Dalam tahun terakhir sejumlah galur *Shigella* yang dilemahkan telah dikembangkan dan dievaluasi sebagai kandidat untuk digunakan dalam vaksin. Galur ini telah diklasifikasikan menjadi dua kelompok berdasarkan fungsi dari gen bermutasi: 1) galur di mana satu atau dua gen dalam metabolisme telah dilemahkan, seperti *thyA*, *aroA*, dan *aroD*, dan 2) mutasi strain dari *virG* (*icsA*). Strain $\Delta virG$ telah banyak digunakan sebagai suatu galur vaksin hidup yang dilemahkan atau dalam kombinasi dengan mutasi pada gen lain. Pengembangan vaksin *Shigella* yang mendapatkan perlindungan yang efisien terhadap respon imun mungkin memerlukan retensi dari invasi untuk memberikan pelindung Ags, seperti LPS untuk sistem kekebalan mukosa, dan pada saat yang sama menghindari gejala kerusakan yang ditimbulkan oleh respon inflamasi yang kuat (Suzuki, et al., 2006).

Sejak virulensi *Shigella* dipahami dengan baik, beberapa studi yang dilakukan bertujuan untuk mengembangkan vaksin dalam mencegah *Shigellosis* dengan mempertimbangkan pengembangan vaksin yang paten. Kebutuhan vaksin ini didasarkan pada beban penyakit global. Tiga pendekatan untuk pengembangan vaksin *Shigella* yang berada di bawah penyelidikan aktif adalah: 1) Vaksin konjugat polisakarida parenteral O-spesifik; 2) proteosom nasal memberikan LPS *Shigella*, dan 3) organisme hidup yang dilemahkan dengan delesi mutan *Shigella* invasif yang diberikan secara oral. Beberapa vaksin hidup *Shigella* yang dilemahkan dengan serotipe berbeda telah terbukti aman, imunogenik, dan dalam satu kasus efektif terhadap tantangan dengan strain virulen (Todar, K, 2011).

Fimbriae memainkan peranan penting dalam virulensi bakteri melalui proses interaksi dengan sel hospes maupun medium padat lainnya. Distribusi operon *fimbriae* antara bakteri enterik mengingat peran *fimbriae* dalam patogenesis, distribusi *fimbriae* secara luas dibagi beberapa operon yang menjadi fungsi umum adhesi. Tetapi pembagian *fimbriae* mungkin hanya terbatas pada penyediaan fungsi spesifik ketika diperlukan pada virulensi (Edwards, et al., 1999).

Pili atau *fimbriae* merupakan struktur yang berbentuk panjang keluar dari permukaan bakteri, terdiri atas sub unit protein tunggal yang disebut pilin dan biasanya memiliki berat molekul 20 KDa. Ujung dari pili memperantarai perlekatan bakteri dengan reseptor permukaan sel hospes. Perlekatan antara

bakteri dengan sel hospes melalui pili ini tidak begitu kuat, tetapi ikatan antara pili dan hospes cukup spesifik. Protein pili atau *fimbriae* ini secara umum berperan pada patogenisitas bakteri gram negatif terutama kelompok *Enterobacteriaceae*. Pada *E.coli* enterotoksigenik juga berperan sebagai CFA (Suzuki, et al., 2006).

Kolonisasi pada jaringan hospes merupakan tahap awal diperlukan dalam menstabilkan infeksi oleh bakteri patogen. Bakteri memproduksi beberapa tipe faktor perlekatan untuk memediasi perlekatan pada hospes. Pili adalah struktur filamen pada permukaan sel bakteri yang terdiri atas sebagian besar terbentuk dari subunit pengulangan protein tunggal. *Fimbriae* mengikat satu adhesin yang berfungsi berikatan pada reseptor seluler pada hospes, yang umumnya terdapat pada ujung atau sepanjang tubuh dari struktur pili (Starks, et al., 2006).

Penelitian terakhir yang dilakukan Prabowo (2011) menunjukkan bahwa pada pili *S. dysenteriae* mengandung protein hemagglutinin dengan berat molekul (BM) 49.8 kDa yang merupakan protein adhesin. Selain itu berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Aidid (2012) Omp *S. flexneri* teridentifikasi sebagai protein hemagglutinin pada eritrosit mencit selain itu Omp *S. flexneri* yang teridentifikasi sebagai protein hemagglutinin adalah Protein O11Sf (Omp 11,6 kDa) dan Protein O9Sf (Omp 9,3 kDa). Selain itu, berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa antibodi protein sub unit pili *S. flexneri* dapat dikenali oleh sub unit Omp *S. dysenteriae*. Hal tersebut menjadi pemikiran baru perlu dilakukan studi tentang reaksi antigen –antibodi antara protein sub unit pili *S. flexneri* dengan sub unit Omp *S. dysenteriae*. Alasan dilakukan penelitian ini adalah karena pada genus yang sama diduga akan ditemukan protein pili dan Omp yang sama. Dengan uji tersebut dapat dilihat hubungan keeratan antara protein pili dan Omp *S. flexneri* dan *S. dysenteriae*. Hasil penelitian ini diharapkan menjadi inovasi pengembangan vaksin yang handal untuk *Shigellosis*.

BAB II

STUDI PUSTAKA DAN *ROADMAP*

2.1 Studi Pustaka

2.1.1 Shigellosis

Bakteri *Shigella* merupakan penyebab umum diare inflamasi atau disentri dan merupakan penyebab tersering diare yang ditularkan melalui makanan (*foodborne disease*) di benua Amerika. Shigellosis ini masih menjadi masalah penting di pusat perawatan harian atau pelayanan kesehatan. Di Indonesia *Shigella spp* merupakan penyebab ke-2 tersering dari diare yang dirawat di Rumah Sakit, yakni sebesar 27,3%. Dari keseluruhan *Shigella spp* tersebut, 82,8% disebabkan oleh *S. flexneri*; 15,0% oleh *S. sonnei*; dan 2,2% oleh *S. dysenteriae*. Infeksi oleh *S. flexneri* akan menimbulkan gejala disentri dan diare persisten yang sering terjadi di negara-negara berkembang. Infeksi *Shigella* ini dapat menimbulkan komplikasi *hemolytic-uremic syndrome* (HUS) dan *thrombotic thrombocytopenic purpura* (TTP) (Eppy, 2009).

Shigella spp. ditularkan melalui jalur *fecal-oral*, yaitu dengan cara memasuki tubuh manusia melalui konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi *Shigella spp.* Bakteri ini sangat mudah menginfeksi, karena hanya 10 sampai 100 mikroorganisme saja sudah cukup untuk menyebabkan terjadinya diare (Schroeder, et al., 2008).

Beberapa penelitian telah mengidentifikasi faktor risiko dan efek protektif untuk kejadian dan kematian *Shigellosis*. *Shigellosis* terus menjadi endemik diantara populasi pengungsi setelah bencana alam dan krisis politik. Tempat kejadian infeksi oleh *S. dysenteriae* serotipe 1 bervariasi dalam waktu yang berbeda, tetapi *S. flexneri* tetap didaerah dengan risiko yang menetap dalam waktu. Sehingga disimpulkan bahwa *S. dysenteriae* serotipe 1 mempunyai risiko lebih terkait dengan kebersihan dan sanitasi sedangkan *S. flexneri* lebih berkaitan dengan lingkungan (Cabral, 2010).

2.1.2 Epidemiologi Shigellosis

Shigellosis di Indonesia menjadi perhatian utama karena pada lima tahun terakhir *Shigella* menduduki urutan pertama sebagai penyebab diare bakterial diikuti *Salmonella* di tempat kedua dan *Vibrio cholerae* di tempat ketiga. Angka isolasi *Shigella* di Indonesia berkisar antara 4-6%. Angka tersebut lebih kecil bila dibandingkan dengan yang dilaporkan dari negara berkembang lain seperti Bangladesh, Afrika dan Malaysia. Mungkin angka isolasi ini seharusnya lebih tinggi dari yang dilaporkan mengingat bahwa upaya biakan bakteriologi tidak dilakukan secara optimal di Indonesia karena biayanya yang mahal. Di samping itu ada banyak faktor lain yang berperan di dalam sistem biakan seperti misalnya prosedur pengambilan sampel, penanganan dan transportasi sampel ke Laboratorium. Semuanya itu menentukan hasil isolasi bakteri (Surjawidjaja, et al., 2007.)

Populasi *S. flexneri* dapat berfungsi sebagai indikator terhadap hygiene suatu lingkungan. Di negara-negara/daerah-daerah dengan kondisi hygiene yang buruk, populasi *S. flexneri* lebih banyak ditemukan daripada spesies yang lain. Sedangkan di negara-negara maju dengan tingkat hygiene yang cukup baik, populasi *S. flexneri* akan menurun (Triatmodjo, 1993).

2.1.3 Bakteri Shigella

Shigella adalah Gram-negatif, non-motil, batang lurus seperti anggota keluarga Enterobacteriaceae (Schroeder, et al., 2008) (Cabral, 2010). Bakteri *Shigella* merupakan bakteri patogen fakultatif intraseluler yang menunjukkan spesifisitas tinggi untuk manusia atau primata. Genus *Shigella* terdiri dari empat spesies yaitu *S. dysenteriae* (serogrup A), *S. flexneri* (Serogrup B), *S. boydii* (serogrup C), dan *S. sonnei* (Serogrup D) (Schroeder and Hilbi 2008, Ploeg et al 2010). Menurut variasi antigen O mereka, spesies dibagi lagi menjadi beberapa serotipe. *S. flexneri* dan *S. sonnei* adalah endemik dan menyebabkan sebagian besar infeksi. Sedangkan *S. dysenteriae* berperan untuk wabah epidemi penyakit dan disentri bentuk paling parah yang menyebabkan sebagian besar kasus *Shigellosis* yang fatal (Schroeder and Hilbi 2008). Dengan pengecualian *S. sonnei*, masing-masing spesies dapat dibagi lagi menjadi serotipe berdasarkan

reaktivitas dengan serum hyperimmune: *S. dysenteriae* (15 serotipe), *S. flexneri* (6 serotipe dan 2 varian), & *S. boydii* (20 serotipe) (Ploeg *et al* 2010).

Shigellosis paling umum di negara-negara berkembang dimana rendah sanitasi dan sangat endemis di daerah tropis dan subtropis Afrika, Asia Selatan, dan Amerika Tengah. *S. dysenteriae* adalah yang paling virulen dan spesies yang paling umum terisolasi, meskipun *S. sonnei* dan *S. flexneri* sering dilaporkan di Amerika Serikat (Todar, K, 2011).

Kelompok *Shigella* dapat diidentifikasi dengan aglutinasi menggunakan antiserum, baik polivalen dan monovalen antiserum *Shigella* yang tersedia. Antiserum polivalen digunakan untuk menentukan kelompok dan berisi antibodi terhadap beberapa serotipe *Shigella*. Sebagai contoh antiserum, polivalen yang paling tersedia secara komersial untuk *S. flexneri* akan bereaksi dengan semua serotipe *S. flexneri*. Antiserum monovalen digunakan untuk menentukan serotipe. Sebagai contoh, *S. dysenteriae* tipe 1 antiserum hanya akan bereaksi dengan isolat *S. dysenteriae* Tipe 1. (Ploeg *et al.*, 2010).

Shigella diklasifikasikan berdasarkan reaksi serologis dari antigen O mereka saja, karena mereka tidak memiliki antigen H (flagellar) dan K (Kapsul). Dengan demikian hanya antigen somatik (O) yang digunakan untuk penentuan serotipe. Antigen O terdiri dari pengulangan unit oligosakarida, dan merupakan bagian dari lipopolisakarida (LPS) dari membran luar bakteri Gram negatif dan berkontribusi terhadap variabilitas antigenik utama pada permukaan sel (Cabral, 2010). Empat spesies diklasifikasikan atas dasar perbedaan biokimia dan serologi antigen O: *S. dysenteriae* (13 serotipe); *S. flexneri* (14 serotipe); *S. boydii* (18 serotipe), dan *S. sonnei*, yang merupakan serotipe tunggal. Identifikasi *Shigella* spp. dalam klinis laboratorium didasarkan terutama pada isolasi *Shigella* dengan media kultur selektif, diikuti dengan identifikasi fenotip dan serotipe. Proses ini mungkin memakan waktu 3-5 hari untuk mendapatkan hasil (Li *et al.*, 2009)

2.1.4 Patogenesis Shigellosis

Patogenesis *Shigellosis* berdasarkan kemampuan *Shigella* menyerang sel-sel epitel yang membentuk permukaan mukosa dari colon. Proses invasif meliputi

masuknya bakteri ke dalam sel epitel yang melibatkan aktivasi jalur sinyal yang menimbulkan terjadinya macropinocitik, setelah kontak dengan permukaan sel. Interaksi ini menimbulkan penyusunan ulang dari sitoskeleton sel inang. Sinyal regulasi serta protein yang terlibat menunjukkan bahwa *Shigella* menginduksi pembentukan plak perlekatan pada permukaan sel untuk masuk ke sel host. Bakteri kemudian melisiskan dua membran mencapai kompartemen sitoplasma dan melanjutkan gerakan aktin (Yuehue, et al., 2000).

Menurut Hodges and Gill (2010), spesies *Shigella* melintasi jaringan epitel melalui M-sel dan menghancurkan makrofag (Gambar 1.1). Hasil ikatan lipoprotein terhadap TLR2 memproduksi IL-1 β *chemoattractant*. Setelah translokasi melalui M-sel LPS dapat mengikat TLR4 basolateral yang menyebabkan produksi IL-6 dan IL-8. PMN menyebabkan sekresi Cl-melalui prekursor ke secretory adenosin dan juga dapat menyebabkan ulserasi epitel. Penghancuran makrofag setelah keluar dari M-sel menyebabkan rilis awal IL-1 β yang menarik PMNs. LPS *Shigella* mampu mengaktifkan TLR4 dan mengaktifkan NF κ B melalui penurunan acetylation. Sedangkan TLR2 diaktifkan oleh *Shigella* melalui lipoproteins. Selain itu interaksi Nod1 dengan peptidoglikan dari intraseluler bakteri juga menyebabkan aktivasi NF κ B dan produksi IL-8. IL-8 merupakan sitokin pro-inflamasi yang menarik PMN.

Shigella dapat bertahan selama lebih dari 6 bulan dalam air pada suhu kamar, dan ada bukti langsung bahwa *Shigella* dapat bertahan untuk periode panjang dalam lingkungan perairan alami, karena permukaan sumber air telah tercemar *Shigellosis*. *Fimbriae* merupakan salah satu alat untuk kolonisasi yang umum di milki oleh *Enterobacteriaceae*, dan 70% dari galur *E. coli* tinja terisolasi berisi fimbriae tipe 1. Sebuah penelitian awal dari satu laboratorium menunjukkan ekspresi fimbriae tipe 1 dalam beberapa strain *S. flexneri*. (Snelling et al, 1997).

Shigella menginvasi epitel kolon menyebabkan kerusakan merata, yang mengarah pada pembentukan mikroulkus dan inflamasi eksudat, dengan penampilan sel-sel inflamasi berikutnya (Leukosit polimorfonuklear) dan darah dalam tinja. Tingkat keparahan penyakit tergantung pada usia dan kondisi gizi orang tersebut dan juga berhubungan dengan dosis bakteri (Ploeg et al, 2010). Penyebaran *Shigella* dari orang yang terinfeksi ke orang lain dapat dihentikan

dengan sering cuci tangan dan menggunakan sabun, yang harus dilakukan oleh semua kelompok umur. Infeksi *Shigella* dapat diperoleh dari makanan yang telah terkontaminasi oleh penjamah makanan yang terinfeksi. Sayuran dapat menjadi terkontaminasi jika dipanen dari lapangan dengan limbah yang terkontaminasi atau tempat buang air besar seseorang yang terinfeksi dan *Shigella* dapat juga ditularkan oleh lalat (Todar, K, 2011).

2.1.5 Isolasi dan Identifikasi *Shigella*

Suatu media yang baik dan mendukung pertumbuhan suatu galur *Shigella* tertentu, tidak selalu efektif untuk jenis galur *Shigella* lainnya. Dalam suatu penelitian menunjukkan bahwa untuk isolasi *S. flexneri* dan *S. sonnei*, xylosa-lisin-deoksikolat (XLD) agar adalah yang paling sensitive dibandingkan MacConkey (MAC) agar dan *Salmonella-Shigella* (SS), sedangkan untuk *S. boydii* and *S. dysenteriae*, MAC adalah yang terbaik (Surjawidjaja, et al., 2007).

Untuk *Shigella* spp., dan *Salmonella* spp. dianjurkan menggunakan media padat (agar) serba guna dengan selektivitas rendah dan media dengan selektivitas sedang atau tinggi. Agar MacConkey dengan kristal violet dianjurkan sebagai media serba guna.. Agar xylosa-lisin-deoksikolat (XLD) dianjurkan sebagai media dengan selektivitas sedang atau tinggi untuk isolasi *Shigella* dan *Salmonella* spp. Agar deoksikolat-sitrat (DCA), agar enteric hektoen (HEA), atau agar *Salmonella-Shigella* (SS) merupakan alternatif yang sesuai. *S. dysenteriae* tipe 1, *S. sonnei*, dan *E. coli* enteroinvasif tidak tumbuh dengan baik pada agar SS.

Pada dasarnya, konfirmasi diagnosis klinis shigellosis memerlukan isolasi dan identifikasi kuman patogen enterik tersebut. Umumnya digunakan kombinasi media biakan dengan selektivitas sedang dan sangat selektif untuk isolasi *Shigella* dari penderita diare. Beberapa studi melaporkan bahwa performa SSA untuk isolasi spesies *Shigella* lebih inferior dibandingkan dengan MAC dan XLD, namun demikian SSA digunakan di banyak tempat dan merupakan media yang telah mapan di dalam sistem biakan untuk isolasi *Shigella*. SSA ini untuk waktu lebih dari 10 tahun tidak pernah dievaluasi efektifitasnya terhadap *Shigella*

meskipun dari hasil-hasil laboratorium frekuensi isolasi *Shigella* tetap rendah (Surjawidjaja, et al., 2007).

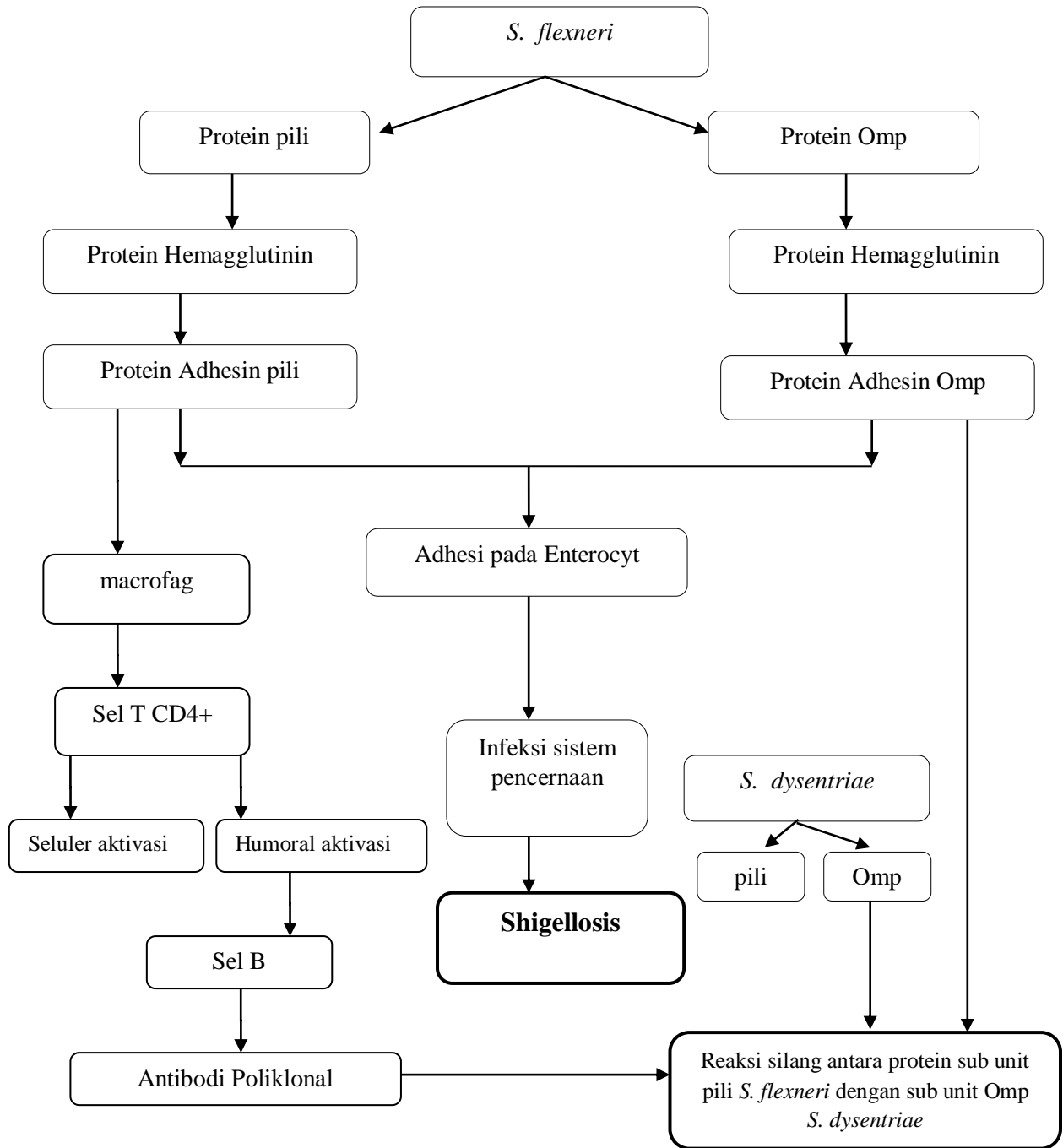
2.1.6 Vaksinasi terhadap *Shigella*

Setiap orang berpotensi rentan terhadap infeksi *Shigella* dengan menelan organisme tersebut dalam jumlah kecil sudah dapat menimbulkan penyakit. Pada daerah endemis lebih sering anak-anak yang diserang dibandingkan dengan orang dewasa, diantara mereka yang terinfeksi banyak yang tanpa gejala. Orang tua dan anak-anak dengan debilitas, dan mereka dengan gizi kurang cenderung untuk menderita penyakit berat dan mengalami kematian. Dari hasil penelitian eksperimental pemberian vaksin hidup serotipe spesifik melalui oral dan pemberian vaksin parenteral *polisaccharide conjugate* terbukti hanya memberi perlindungan jangka pendek (satu tahun) terhadap infeksi dengan serotipe homologus (Bhattacharya, et al., 2005).

Vaksin secara potensial dapat mencegah penyakit manusia. Kemajuan baru di bidang vaksin seperti *conjugated pneumococcal vaccines* untuk orang dewasa, *nasal spray vaccines influenza*, dan *acellular pertussis vaccines* untuk orang dewasa, merupakan cara yang efisien untuk menghasilkan proteksi imun yang bertahan lama. Penelitian sedang dilakukan pada vaksin yang banyak digunakan untuk penyakit-penyakit di negara berkembang seperti malaria, *dengue*, *enterotoxigenic E. coli*, *Shigella*, Tuberculosis (Isbagio, 2005).

Sejak virulensi *Shigella* dipahami dengan baik, beberapa studi yang dilakukan bertujuan untuk mengembangkan vaksin dalam mencegah *Shigellosis* dengan mempertimbangkan pengembangan vaksin yang paten. Kebutuhan vaksin ini didasarkan pada beban penyakit global. Beberapa vaksin hidup *Shigella* yang dilemahkan dengan serotipe berbeda telah terbukti aman, imunogenik, dan dalam satu kasus efektif terhadap tantangan dengan strain virulen (Todar, K, 2011).

2.2 Kerangka konsep



2.3 Roadmap Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang berkelanjutan. Paket penelitian ini akan dikerjakan kurang lebih 5-7 tahun dengan tujuan akhir mendapatkan sediaan vaksin terhadap *Shigella spp.* Tahapan yang dilakukan meliputi 3 tahapan penelitian. Tahap pertama adalah tahap untuk penentuan bagian dari bakteri *Shigella* yang bersifat virulen serta mengetahui adanya respon imun silang

diantara spesies *Shigella spp.*. Tahap kedua adalah tahap untuk mengetahui respon imun faktor virulensi bakteri terhadap hewan coba serta keamanannya. Tahap ketiga adalah tahapan uji preklinik, dan tahap ke-n adalah uji klinik.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif secara *in vitro* dengan menggunakan metode hemaglutinasi eritrosit. Akan dilakukan identifikasi molekul protein sub unit pili *S. flexneri*, yang telah diketahui sebagai protein hemaglutinin yang kemudian direaksikan dengan sub unit Omp *S. dysenteriae*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang serta Laboratorium Mikrobiologi dan Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penelitian akan dilakukan bulan Maret sampai dengan Agustus 2016

3.3 Bahan dan Alat

3.3.1 Bahan

- A. Bakteri: biakan *S. dysenteriae*, dan *S. flexneri*
- B. Medium pembiakan bakteri; (medium Salmonella-Shigella (SSA), *Thiaproline Carbonate Glutamate* (TCG) agar, *Bismuth sulfite agar* (BSA), Mac Conkey dan *Brain Heart Infusion* (BHI) broth.
- C. Hewan coba: mencit galur Balb/C digunakan untuk produksi antibodi dan uji hemaglutinasi
- D. Reagen Kimia: TCA (Trichloroacetic acid), ammonium sulfat, NaCitrat, EDTA (Ethylene diamine tetra-acetic acid), EGTA (Ethylene glycol tetra-acetic acid), dithitritol, NaCL, Na₂HPO₄, KH₂PO₄, ethanol, acrylamid, bis acrylamid, glisin, tris-HCL, tris base, SDS, temed, ammonium persulfat, commassie blue, methanol, asam asetat glacial, gliserol, bromphenol, bromphenol blue, Tween 20, PBS.

3.3.2 Alat-alat

Lempeng mikrotiter bentuk V, elektroforesis, membrane dialysis, membrane elektroelusi, tips, tabung sentrifuge 1,5 ml (eppendorf), 15 ml, pipet mikro 5 – 20 µl, 50 – 200 µl, 200 – 1000 µl, jarum suntik, mikroskop, botol kultur, Pili cutter, Omni-mixer modifikasi, magnetic stirrer, incubator, autoklaf, water bath, shaker, hot plate, pH meter, sentrifuge.

3.4 Langkah-langkah Penelitian

3.4.1 Kultur *S. dysenteriae*, dan *S. flexneri*

Bakteri yang digunakan adalah *S. dysenteriae*, dan *S. flexneri* yang berasal dari Balai besar Laboratorium Kesehatan DI Yogyakarta. Media yang digunakan adalah media selektif SSA dan Mac Conkey, untuk memperbanyak pertumbuhan pili bakteri kemudian menggunakan media TCG yang dapat memperkaya pertumbuhan pili *S. dysenteriae*, dan *S. flexneri*. Media dibuat dengan memakai botol ukuran 250 ml yang dibuat secara miring sebanyak 20 botol. Dalam setiap botol tersebut diisi media TCG masing-masing sebanyak 50 ml. Empat jenis Shigella yang dipilih tersebut di atas dibiakan pada cawan petri yang mengandung media BHI yang diinkubasi untuk pertumbuhan pada suhu 24°C selama 24 jam. Hasil biakan pada media BHI tersebut dipanen dengan menggunakan kerokan dimana sebelumnya telah dituangi dengan PBS steril pada pH 7,4 sebanyak 10 ml. Suspensi bakteri dari hasil kerokan kemudian dimasukkan dalam botol yang mengandung 1000 ml larutan *brain heart infusion broth* (BHI). Botol kemudian dikocok selama 30 menit pada penangas air dengan suhu 37°C. Selanjutnya dari botol tersebut suspensi bakteri sebanyak 10 ml dimasukkan dalam masing-masing botol yang telah mengandung media TCG, kemudian bakteri dalam media TCG tersebut dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam.

3.4.2 Metode Isolasi Pili Bakteri *S. flexneri* dan *S. dysenteriae*

Pili yang dipanen dan yang akan dikoleksi berasal dari biakan bakteri yang tumbuh pada setiap botol medium TCG yang telah diinkubasi. Hasil koleksi bakteri dikumpulkan dalam satu botol steril yang kemudian di tambahkan *trichloroacetic acid* (TCA) dengan konsentrasinya mencapai 3%.

Setelah dikocok rata kemudian koleksi bakteri diletakkan pada suhu kamar selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan menggunakan kecepatan sebesar 6.000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Pellet hasil sentrifugasi diambil dan disuspensikan memakai cairan PBS pH 7,4 dengan perbandingan 1:10. Suspensi bakteri tersebut dicukur dengan menggunakan alat pencukur pili yaitu *bacterial pili cutter* desain Sumarno (2000) yang dibuat oleh Laboratorium politeknik Universitas Brawijaya Malang. Kecepatan mencukur bakteri tersebut dilakukan secara penuh selama 30 detik. Pada potongan pertama sampai ketiga dengan kecepatan 10.000 rpm. Sedangkan potongan keempat sampai kelima dengan kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit dan hasil cukuran dilakukan sentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 12.000 rpm pada suhu 4°C. Supernatans hasil sentrifugasi yang mengandung bagian pili bakteri disimpan pada suhu 4°C, sedangkan pada bagian endapannya ditambahkan cairan PBS pH 7,4 dengan jumlah volume yang sama seperti perlakuan di atas. Cara isolasi bagian pili bakteri yang masih ada pada bagian endapan ini dikerjakan dengan cara perbandingan yang sama seperti diatas dan akan diakhiri apabila pada isolasi bagian supernatannya kelihatan bening, dengan menggunakan cairan PBS pH 7,4 sebagai cairan pembanding.

3.4.3 Persiapan Koleksi Omp

Falcon berisi *PBS* yang mengandung bakteri *S. flexneri* dan *S. dysenteriae* disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan hasil sentrifugasi dibuang dan kemudian pelet (hasil endapan) ditambahkan SDS konsentrasi 0,05% sebagai *detergent* dan dihomogenkan. Pelet yang sudah dihomogenkan tadi kemudian disentrifugasi lagi dengan kecepatan 12000 rpm pada suhu 4 °C selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh dari hasil sentrifugasi terakhir ini adalah *Omp* yang akan digunakan.

3.4.4 Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamid Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

Monitoring berat molekul dikerjakan dengan SDS-PAGE metode Laemli, (1970). Sample protein dipanaskan 100°C selama 5 menit dalam larutan penyangga yang mengandung 5 mM Tris pH 6,8; 5% 2-mercapto ethanol; 2,5%

w/v *sodium dodecyl sulfate*, 10% v/v *glycerol* dengan menggunakan warna pelacak *bromophenol blue*. Dipilih 12,5 mini slab gel dengan *tracking gel* 4%. Voltase aliran listrik yang digunakan adalah 120 mV. Sebagai bahan warna yang digunakan adalah *coomassie brilliant blue* dan molekul standar *sigma low range marker*. Setelah dilakukan perhitungan berat molekul maka dilakukan perbanyakan protein kemudian dilakukan permurnian protein yaitu dengan elektroelusi.

3.4.5 Persiapan Elektroelusi dan Dialisis.

Persiapan elektroelusi pertama kali dilakukan dengan memotong protein hasil elektroforesis yang diinginkan. Protein yang terpotong diletakkan dalam cawan petri berisi *running buffer* agar *gel* tidak mengering. Kemudian persiapan dilanjutkan dengan melakukan pemotongan pita selofan sepanjang 7cm sebanyak 2 potong. Pita yang terpotong kemudian dididihkan secara bertahap dalam 5% Na_2CO_3 selama 15 menit (5g Na_2CO_3 dalam 100mL ddH₂O), kemudian dalam 50 μL EDTA pH 8 selama 15 menit (1,86g EDTA dalam 100mL H₂O), dan terakhir dalam *aquadest* steril selama 15 menit, setelah itu selofan siap digunakan. Selofan yang sudah siap digunakan pertama dibilas dengan *running buffer* dan kemudian dijepit salah satu pangkalnya. Pangkal yang tidak dijepit dibuka untuk memasukkan *running buffer* dan *gel* hasil elektroforesis yang sudah dipotong. Setelah itu, selofan dijepit lagi untuk menutup ujung yang terbuka. Kemudian selofan dimasukkan dalam wadah elektroelusi berisi *running buffer* dan mesin dinyalakan dalam waktu 60 menit dengan voltase 120V. Setelah 60 menit berlalu, selofan diangkat dan siap untuk didialisis. Dialisis dilakukan dengan memasukkan selofan terelektroelusi ke dalam beaker glass yang berisi *PBS* steril yang kemudian di aduk dengan stirrer dalam suhu 4 °C selama 24 jam. Setiap 8 jam sekali, *PBS* yang ada diganti dengan *PBS* dingin yang baru. Setelah 24 jam selofan dibuka dan protein yang berada di dalamnya dikoleksi dan ditempatkan dalam tabung eppendorf yang sudah ditimbang berat kosongnya. Protein ditambahkan dengan etanol absolut dingin dengan perbandingan volume sebesar 1:1 dan disimpan pada 4 °C selama 24 jam. Setelah 24 jam, eppendorf disentrifugasi dengan kecepatan 12000 rpm selama 15 menit dalam suhu 4 °C. Supernatan hasil sentrifugasi dibuang, dan endapat dikering-anginkan selama

semalam. Setelah kering berat eppendorf ditimbang, hasil penambahan berat eppendorf menunjukkan berat *OMP* dalam eppendorf. Protein kemudian ditambahkan buffer tris-Cl sebanyak 100 μ L untuk disimpan dalam suhu - 40°C.

3.4.6 Persiapan Uji Coba Hemaglutinasi.

Uji coba hemaglutinasi dilakukan melalui empat tahap. Yakni 1) tahap persiapan Larutan *PBS*, 2) tahap koleksi dan pembedahan mencit, 3) tahap persiapan darah untuk uji hemaglutinasi (pencucian eritrosit), dan 4) tahap pelaksanaan uji coba hemaglutinasi sebagai tahapan terakhir. Tahap pertama, yakni tahap persiapan larutan *PBS*. Kemudian tahap koleksi dan pembedahan mencit, mencit yang diinginkan dikoleksi dari laboratorium parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawjaya, Malang. Mencit yang sudah dikoleksi kemudian dianastesi dengan menggunakan chloroform hingga tidak didapatkan tanda pernafasan. Sumber pengambilan darah untuk Uji hemaglutinasi adalah jantung mencit. Jantung mencit diakses dengan memotong abdomen mencit menurut garis sagital hingga sampai ke batas bawah dinding thorax mencit (diafragma mencit). Diafragma yang terlihat kemudian disobek hingga jantung dapat terlihat. Darah kemudian dievakuasi dari jantung mencit sebanyak 1 cc dengan menggunakan syringe insulin ukuran 27 G yang diambil dari bagian ventrikel kanan jantung mencit karena bagian ini adalah bagian yang paling mudah diakses. Darah yang diambil kemudian diproses (dicuci) dengan langkah sebagai berikut:

- a. Darah dimasukkan ke dalam tabung berisi *PBS* + *EDTA* dan ditambah dengan *PBS* sampai 10 ml. Setelah itu, tabung digoyang perlahan agar campuran menjadi homogen.
- b. Homogenat yang terbentuk pada langkah (a) diatas kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3.500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang didapat dari hasil sentrifugasi ini dibuang, dan pellet (endapan) yang ada ditambah dengan *PBS*. Langkah b ini diulangi sebanyak tiga kali atau hingga supernatan hasil sentrifugasi terlihat jernih.
- c. Pelet (eritrosit) yang didapat dari proses b ulangan ke-tiga diambil sebanyak 50 μ l dan ditambah *PBS* hingga voulemnya mencapai 10ml. Suspensi eritrosit dalam *PBS* siap digunakan untuk uji hemaglutinasi.

Suspensi ini merupakan eritrosit tercuci (*washed eritrocyte*) yang bebas dari protein plasma. Tahap terakhir adalah tahapan pengujian hemaglutinasi, tahap ini dilakukan dengan langkah sebagai berikut:

- d. Sumuran *microplate-v* merupakan sumuran yang terdiri 96 sumuran yang tersusun sebagai kolom dan baris berjumlah 8 kolom dan 12 baris.

Prosedur berikut kemudian dilakukan pada *microplate-v*:

- Setiap sumuran yang ada diisi dengan *PBS* steril sebanyak 50 μ L kecuali kolom pertama.
- Pada kolom pertama dimasukkan sampel yang diinginkan sebanyak 100 μ L dan dihomogenkan.
- Sampel dari kolom pertama diambil sebanyak 50 μ L, dimasukkan ke kolom ke-dua yang sudah berisi *PBS* steril dan kemudian dihomogenkan.
- Sampel dari kolom kedua diambil lagi sebanyak 50 μ L dan dimasukkan ke kolom ke-tiga yang sudah berisi *PBS* steril, dan dihomogenkan.
- Langkah seperti ini bertujuan untuk mengencerkan sampel dan langkah ini dilakukan terus sampai kolom ke-duabelas atau sampai kolom yang diinginkan.
- Terakhir, tambahkan eritrosit mencit yang sudah dihilangkan protein plasmanya sebanyak 50 μ L mulai dari kolom pertama hingga kolom terakhir untuk semua baris. Biarkan hingga terjadi agglutinasi dan hasilnya diamati.

3.4.7 Produksi antibodi poliklonal

Mencit diaklimatisasi selama 4 hari sebelum imunisasi. Antigen yang digunakan adalah protein sub unit pili *S. flexneri*. Mencit disuntik dengan antigen yang telah diemulsikan dengan *Complete Freud's Adjuvant* (CFA) pada dua lokasi di punggung secara *subcutaneous*, dosis 250 μ g/0.3 ml PBS. Tahan jarum pada area penusukan selama 10-15 detik setelah penyuntikan untuk menghindari kebocoran emulsi. Injeksi booster dilakukan pada minggu ke dua sampai minggu ke empat menggunakan antigen yang diemulsikan dengan *Incomplete Freud's*

Adjuvant (IFA). Dosis booster diberikan sebanyak 0,1 ml di suntikkan pada satu lokasi di punggung secara *subcutaneous*. Serum diambil 1 minggu setelah booster yang terakhir (Hooke Laboratories, 2010)

3.4.8 Uji Check Board

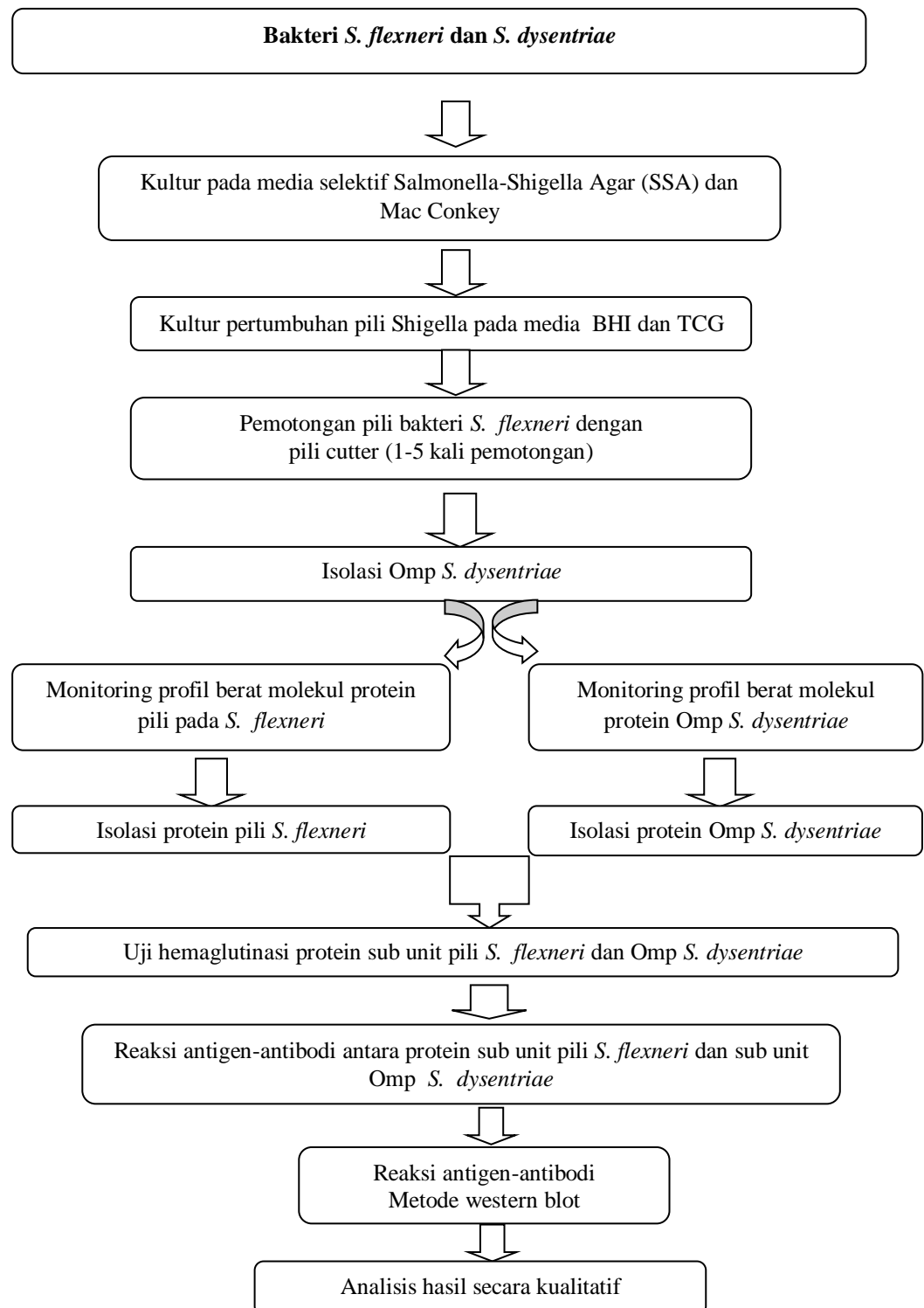
Uji check board dilakukan untuk melihat efektifitas terjadinya reaksi antigen dan antibodi yang akan diuji. Uji check board dilakukan menggunakan dot blot dengan mereaksikan antigen dan antibodi yang sudah diproduksi. Antigen diencerkan dengan pengenceran 1/5 -1/10240, sedangkan antibodi dengan pengenceran 1/5 -1/2800. Pada pengenceran yang menghasilkan gradasi warna tebal merupakan pengenceran yang paling efektif terjadinya reaksi. Pengenceran tersebut kemudian digunakan sebagai dasar untuk uji western blot dan dot blot.

3.4.9 Metode Western blot

Pemeriksaan western blotting menggunakan metode dari Towbin (1979). Lembaran gel hasil SDS-PAGE yang mengandung pita protein dipindahkan pada kertas nitroselulosa menggunakan alat semi *dry blotter* buatan Biorad. Cara memindahkan pita protein kepada kertas nitroselulose adalah menggunakan aliran listrik sebesar 100 mA pada kurun waktu 120 menit. Setelah waktu pemindahan dicapai, maka dilakukan pengecatan menggunakan pewarna ponco 2% yang mengandung TCA sampai konsentrasi mencapai 30%. Sebagai petanda untuk menentukan bobot molekul protein hasil pemeriksaan western blotting maka menggunakan lajur yang berisi protein petanda (marker). Pada setiap pita protein petanda tersebut ditusuk dengan jarum supaya tidak kehilangan jejak oleh karena pada waktu dibilas dengan air warna tersebut tidak tampak. Untuk menghilangkan warna ponco dibilas dengan H₂O. Selanjutnya dilakukan pada kertas nitroselulose diratakan menggunakan cairan TBE yang mengandung albumin dengan konsentrasi 3% dalam larutan TBE pH 7,4 dan Tween 20 konsentrasi 0,05%, selanjutnya dilakukan inkubasi semalam. Setelah waktu inkubasi cukup maka dilakukan pencucian dengan cairan TBE pH 7,4 yang ditambah Tween 20 konsentrasi 0,05% sampai 2 kali, tiap kali pencucian memerlukan waktu 5 menit. Apabila waktu pencucian selesai maka ditambahkan antibodi primer protein 49,8

kDa dan 7,9 kDa dengan konsentrasi 1/1000 dalam TBE pH 7,4 yang mengandung larutan BSA konsentrasi 1%, kemudian didiamkan selama 2 jam. Setelah selesai inkubasi dilakukan pencucian lagi sebanyak 2 kali, setiap pencucian memerlukan waktu 5 menit, sebagai larutan pencuci adalah cairan TBE pH 7,4 yang mengandung Tween 20 konsentrasi 0,05%. Selanjutnya ditambah antibodi sekunder yaitu IgG-anti mice konsentrasi 1/2000 dalam TBE pH 7,4 dan BSA konsentrasi 1%. Didiamkan selama 1 jam dan dilindungi terhadap pengaruh sinar. Kemudian dilakukan pencucian 2 kali selama 5 menit dengan menggunakan TBE pH 7,4 Tween 20 konsentrasi 0,05%. Sebagai bahan warna digunakan tablet β Cip yang dilarutkan pada H₂O 10 ml. Larutan ini dituangkan pada kertas nitrosellulose dan dilakukan pengamatan reaksi terjadinya warna merah. Jika reaksi cukup kemudian dibilas dengan H₂O dan selanjutnya dikeringkan dengan meletakkan di atas kertas saring.

3.5 Diagram Alur Penelitian



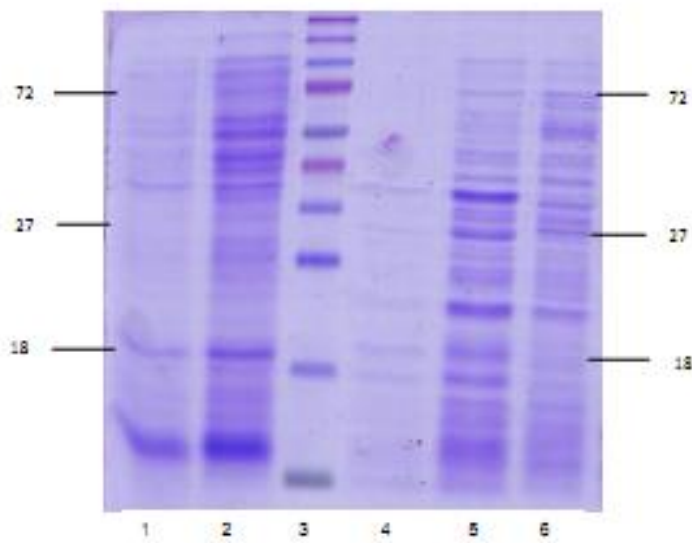
BAB IV

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif observasional untuk mengidentifikasi protein sub unit pili *S. flexneri* dan sub unit Omp *S. dysenteriae* serta melihat reaksi antigen dan antibodi antara protein sub unit pili *S. flexneri* dengan sub unit Omp *S. dysenteriae*. Protein tersebut merupakan protein hemagglutinin yang diduga sebagai protein adhesin yang berperan sebagai molekul adhesi yang membantu perlekatan bakteri *S. flexneri* pada permukaan sel enterosit host. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *S. flexneri* dan *S. dysenteriae* yang berasal dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Daerah Daerah Istimewa Yogyakarta. Bakteri ditumbuhkan dalam media kultur di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Isolasi dan karakterisasi protein sub unit pili dan sub unit Omp dilakukan di laboratorium sentral Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini adalah karakterisasi protein pili dan Omp yang meliputi profil protein, berat molekul protein, kemampuan protein sub unit pili *S. flexneri* dan sub unit Omp *S. dysenteriae* untuk mengaglutinasi sel darah merah mencit, dan reaksi antigen-antibodi dengan metode *Western Blot*.

4.1. Hasil isolasi protein pili dan Omp *S. flexneri*

Setelah pemotongan pili *S. flexneri* dengan *bacterial pili cutter*, dan isolasi Omp *S. dysenteriae* dengan larutan SDS 0,05 %, isolasi protein dilakukan dengan menggunakan metode elektroforesis SDS-PAGE. Profil protein pili *S. flexneri* dan Omp *S. dysenteriae* terlihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Profil protein pili *S. flexneri* dan Omp *S. dysenteriae*

Keterangan :

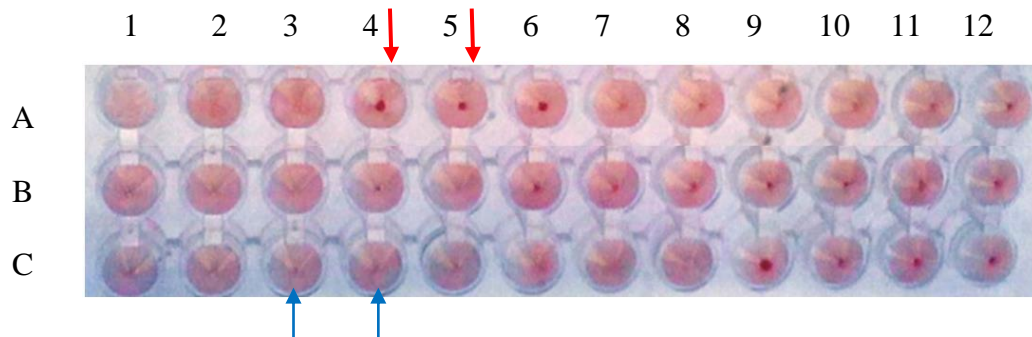
1. Omp 1 *S. dysenteriae*
2. Omp 2 *S. dysenteriae*
3. Marker
4. Potongan pili 1 *S. flexneri*
5. potongan pili 2 *S. flexneri*
6. Potongan pili 3 *S. flexneri*

Profil dan perhitungan berat molekul dari potongan pili *S. flexneri* dan Omp *S. dysenteriae* menunjukkan gambaran yang hampir sama. Dimana, pada pemotongan pili ke 3 didapatkan hasil pita yang lebih tebal dibandingkan pemotongan yang ke 1 maupun 2. Begitu pula dengan isolasi Omp pada tahap yang ke 2 mendapatkan hasil pita yang lebih tebal daripada isolasi Omp pada tahap yang ke 1. Kemudian dipilih masing-masing dari potongan pili dan Omp , 3 berat molekul (BM) sama yang menunjukkan pita yang tebal. Sedangkan pada perhitungan berat molekul ditemukan protein pada masing-masing potongan pili dan Omp dengan berat molekul 72 kDa; 27 kDa; dan 18 kDa.

4.2. Uji Hemaglutinasi protein sub unit pili *S. flexneri*

Setelah protein sub unit pili dipurifikasi kemudian berat molekul yang merupakan kandidat protein adhesin (72 kDa; 27 kDa; dan 18 kDa) dilakukan uji hemaglutinasi (HA) untuk melihat kemampuan protein sub unit tersebut mengaglutinasi eritrosit mencit. Uji aglutinasi dilakukan pada protein sub unit pili

S. flexneri yang terdiri dari 3 band. Hasil uji HA protein pili yang sudah dipurifikasi ditunjukkan pada Gambar 4.2 dan Tabel 4.1



Gambar 4.2. Uji hemaglutinasi protein sub unit pili *S. flexneri*. Panah biru (→) = Positif aglutinasi, panah merah (→) = negatif aglutinasi

Keterangan :

- A. Protein sub unit pili *S. flexneri* 72 kDa, titer 1 – 1/1024
- B. Protein sub unit pili *S. flexneri* 27 kDa, titer 1 – 1/1024
- C. Protein sub unit pili *S. flexneri* 18 kDa, titer 1 - 1/1024

Tabel 4.1. Rangkuman uji Hemaglutinasi Protein sub unit pili *S. flexneri* .

Antigen	Pengenceran												Kontrol (K)
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024		
72 kDa	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27 kDa	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
18 kDa	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

Keterangan ;

(+) = positif aglutinasi

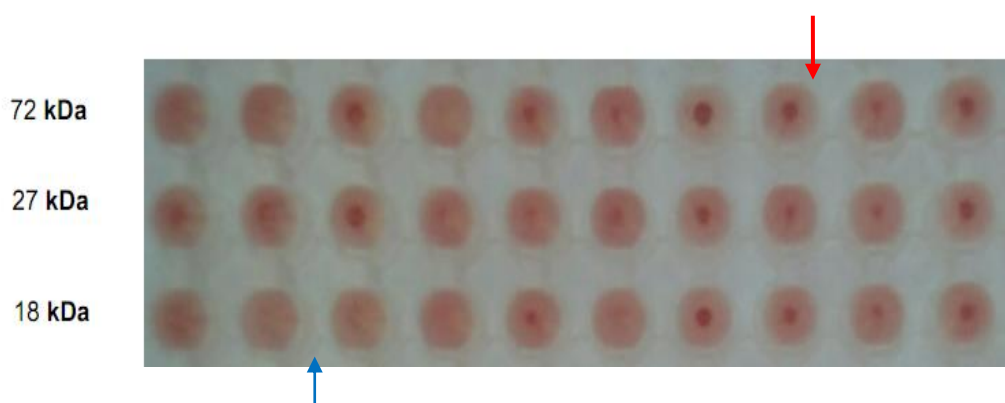
(-) = negatif aglutinasi

(K) = kontrol (PBS + eritrosit)

Gambar 4.2 dan Tabel 4.1 menunjukkan kemampuan protein sub unit pili *S. flexneri* dalam mengaglutinasi sel eritrosit. Dari hasil tersebut ternyata ada perbedaan dalam aglutinasi eritrosit, dimana pada protein sub unit pili *S. flexneri* yang sudah dilakukan purifikasi dengan menggunakan metode elektroelusi dapat mengaglutinasi eritrosit mencit. Pada protein sub unit pili BM 72 kDa aglutinasi nampak mulai titer $\frac{1}{4}$. Sedangkan pada protein sub unit pili dengan BM 27 kDa terjadi aglutinasi mulai pada titer 1/32. Serta pada protein sub unit pili dengan berat molekul 18 kDa dapat mengalami aglutinasi mulai titer 1/128.

4.3. Uji Hemaglutinasi sub unit *Outer Membrane Protein* (Omp) *S. dysenteriae*

Setelah Omp *S. dysenteriae* dipurifikasi kemudian berat molekul yang merupakan kandidat protein adhesin (72 kDa; 27 kDa; dan 18 kDa) dilakukan uji hemaglutinasi untuk melihat kemampuan protein tersebut mengaglutinasi eritrosit mencit. Uji aglutinasi dilakukan pada sub unit Omp *S. dysenteriae* yang terdiri dari 3 band. Hasil uji HA sub unit Omp ditunjukkan pada Gambar 4.3, dan Tabel 4.2.



Gambar 4.3. Uji hemaglutinasi sub unit Omp *S. dysenteriae*
Panah biru (→) = Positif aglutinasi, panah merah (→) = negatif aglutinasi

Keterangan :

- A. Sub unit Omp *S. dysenteriae* BM 72 kDa, titer 1 – 1/1024
- B. Sub unit Omp *S. dysenteriae* BM 27 kDa, titer 1 – 1/ 1024
- C. Sub unit Omp *S. dysenteriae* BM 18 kDa, titer 1 – 1/ 1024

Tabel 4.2. Rangkuman uji Hemaglutinasi sub unit Omp *S. dysenteriae*

Antigen	Pengenceran											Kontrol (K)
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	
72 kDa	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27 kDa	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18 kDa	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

Keterangan ;

(+) = positif aglutinasi

(-) = negatif aglutinasi

(K) = kontrol (PBS + eritrosit)

Berdasarkan gambar 4.3 dan tabel 4.2 didapatkan hasil bahwa protein yang paling mampu mengaglutinasi sel darah merah mencit adalah sub unit protein

dengan BM 18 kDa. Sub unit protein ini mampu mengaglutinasi hingga titer 1/32, sedangkan protein sub unit lain mampu mengaglutinasi adalah protein 27 kDa hingga titer 1/4 dan protein sub unit 72 kDa hingga titer 1/2. Dengan demikian, protein 18 kDa menjadi kandidat sub unit protein yang berperan sebagai molekul adhesin pada OMP *S.dysenteriae*.

4.4 Check board Antigen dan Antibodi

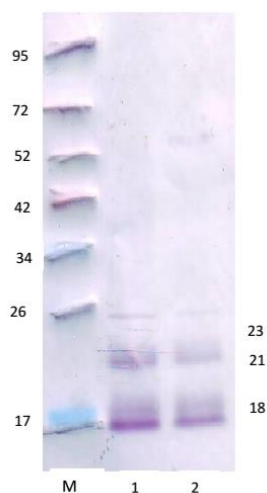
Check board antigen dan antibodi dilakukan untuk melihat efektifitas respon antibodi terhadap antigen. Antigen yang digunakan adalah protein pili 18 kDa *S. flexneri*, sedangkan antibodi yang digunakan adalah antibodi protein 18 kDa *S. flexneri*. Uji *check board* akan dijadikan sebagai dasar dalam uji reaksi antigen antibodi dengan menggunakan metode *Western Blot*. Hasil uji *check board* secara kualitatif dapat dilihat pada lampiran. Kemudian hasil reaksi *check board* dilakukan pengukuran densitasnya yang ditunjukkan dengan nilai *mean* dengan menggunakan Corel Photopaint, dimana semakin kecil nilai *mean* berarti semakin besar densitasnya. Dari hasil pengukuran densitas menunjukkan bahwa pada antigen protein pili 18 kDa reaksi yang terkuat terlihat pada pengenceran 1/20, sedangkan antibodi terlihat pada pengenceran 1/500.

Tabel 4.3. Hasil Check board antibodi protein 18 kDa *S. flexneri* terhadap antigen protein 18 kDa *S. flexneri*

Ag/Ab	1/100	1/200	1/300	1/400	1/500	1/600	1/700	1/800	1/900	1/1000	1/1100	1/1200
1/10	74,1	131,1	102,7	101,1	94,20	127,8	110,3	132,7	128,2	132,2	106,46	133,48
1/20	86,53	78,52	88,30	87,06	52,89	101,9	-	95,95	92,88	119,1	115,50	148,23
1/40	54,72	68,59	59,91	72,74	53,94	112,5	58,15	80,15	106,3	94,59	104,41	129,09
1/80	79,57	88,96	55,54	109,73	60,93	115,42	80,37	86,53	110,00	113,2	127,53	148,52
1/160	54,21	65,70	54,93	70,85	58,50	101,24	83,30	90,76	97,16	95,04	119,30	132,68
1/320	64,19	73,90	70,98	90,90	53,45	110,21	73,43	85,20	88,84	106,8	120,60	138,07
1/640	68,20	78,66	76,69	72,24	59,41	97,67	67,96	88,20	98,06	103,4	106,51	107,57

4.5. Reaksi antigen-antibodi dengan *Western Blot*

Uji *Western Blot* digunakan untuk melihat reaksi antigen-antibodi menggunakan antibodi protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri* dengan reaksi silang terhadap potongan pili dan Omp *S. dysenteriae*.



Gambar 4.4. Hasil uji *Western blot* pada protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri* dengan Omp *S. dysenteriae*

Keterangan :

1. Reaksi antigen-antibodi antara Omp isolasi 1 *S. dysenteriae* dengan antibodi protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri*
2. Reaksi antigen-antibodi antara Omp isolasi 2 *S. dysenteriae* dengan antibodi protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri*

Gambar 4.4 menunjukkan ekspresi hasil reaksi antigen antibodi dari protein Omp *S. dysenteriae* dengan antibodi protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri*. Dari uji reaksi antigen-antibodi menggunakan metode *Western Blot* dengan satu antibodi dan antigen yang berbeda terlihat profil berat molekul masing-masing. Protein yang merespon antibodi protein sub unit pili 18 kDa terhadap protein pili *S. dysenteriae* adalah protein dengan berat molekul 18 kDa; 21 kDa dan 23 kDa.

BAB V

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi molekul protein pili *S. flexneri* yang merupakan protein hemagglutinin. Protein tersebut diduga memiliki kesamaan dengan protein *Omp S. dysenteriae*. Sampel yang digunakan adalah bakteri *S. flexneri* dan *S. dysenteriae* yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan DI Yogyakarta. Bakteri dikembangbiakkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Hasil pertumbuhan dari *S. flexneri* dan *S. dysenteriae* kemudian diisolasi bagian pilinya di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan menggunakan *bacterial pili cutter*, yang dipotong secara bertahap sampai pili pada sel bakteri bersih. Isolasi bakteri pada penelitian ini dilakukan untuk memperbanyak jumlah bakteri yang akan diisolasi protein pilinya. Media yang digunakan untuk memperbanyak bakteri *S. flexneri* dan *S. dysenteriae* adalah dengan menggunakan media Salmonella-Shigella Agar (SSA) dan Media MacConkey Agar. Kultur murni bakteri yang tumbuh kemudian dikembangbiakkan lagi pada media TCG. Media SSA merupakan jenis media selektif yang bertujuan untuk menumbuhkan bakteri tertentu saja yaitu Salmonella dan Shigella. Media ini dapat menekan pertumbuhan bakteri atau mikroba yang lain. MacConkey agar merupakan media diferensial dan selektif karena tidak dapat menumbuhkan bakteri gram positif. Media ini terdiri dari zat warna Kristal violet untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan jamur dan memungkinkan beberapa macam bakteri gram negatif batang tumbuh. *Brain Heart Infusion* adalah media penyubur yang berguna untuk pertumbuhan berbagai macam bakteri. Bahan utama terdiri dari beberapa jaringan hewan ditambah pepton, buffer posfat, dan sedikit dekstrosa. Penambahan karbohidrat memungkinkan bakteri dapat menggunakan langsung sebagai sumber energi. TCG merupakan media khusus untuk pertumbuhan pili dari bakteri Shigella. Hasil pertumbuhan koloni menunjukkan morfologi yaitu berwarna putih dan transparan serta berbentuk cembung (Jawetz *et al.*, 2008).

Berdasarkan penelitian Anam tahun 2012 , terdapat perbedaan gambaran morfologi bakteri sebelum dan sesudah dipotong pilinya dengan *pili cutter*. Pengamatan menggunakan mikroskop elektron bertujuan untuk melihat morfologi bakteri sebelum dilakukan pemotongan dan setelah dilakukan pemotongan. Dari pengamatan bakteri menggunakan mikroskop elektron membuktikan bahwa alat *pili cutter* efektif dalam memotong pili bakteri *Shigella* dari membrane selnya. Isolasi pili yang sudah dilakukan diharapkan akan mendapatkan protein adhesi dari pili yang benar-benar telah terpisah dengan membrannya. Pemotongan pili dengan *pili cutter* bertujuan untuk memisahkan organ pili dari membran sel bakteri. Hasil tersebut membuktikan bahwa pili dapat diisolasi dari membrannya. Pili yang terdapat pada permukaan sel bakteri merupakan alat perantara dari bakteri dalam melakukan perlekatan pada sel hospes. *Fimbriae* atau pili dan permukaan molekul lain digunakan sebagai media untuk menempel pada permukaan sel hospes melalui reseptor spesifik. Ikatan antara adhesin dengan reseptor akan mengaktifkan *signal transduksi* dalam sel hospes untuk aktivasi awal serta peningkatan kolonisasi bakteri (Forest, et al., 2007)

Kemudian *whole cell* bakteri yang telah dipotong pilinya dilakukan isolasi *Omp* dengan menggunakan larutan detergen SDS 0,05%. Sodium Dodecyl Sulfate merupakan deterjen anionik yang mampu mengganggu struktur selular dan menyebabkan denaturasi sel. Deterjen melarutkan protein membran dengan meniru mekanisme lingkungan lipid bilayer. Deterjen mengandung senyawa yang dapat menurunkan tegangan permukaan melalui interaksi hidrofobik. Daerah hidrofobik membran protein biasanya tertanam dalam lapisan membran lipid bilayer. Lapisan molekul deterjen mengelilingi daerah hidrofobik ini. Sedangkan daerah hidrofiliknya akan terpapar media cair dari deterjen. Hal inilah yang membuat membran protein larut . selain SDS, deterjen anionik lainnya misal : *Hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB)* , dan *Deoxycholate*. (G-Biosciences, 2010)

5.1 Hasil Identifikasi profil protein pili dan Omp *S. flexneri*

Pada penelitian ini setelah dilakukan pemotongan pili kemudian dilanjutkan dengan identifikasi protein pili dengan menggunakan metode

elektroforesis SDS-PAGE. Identifikasi ini dilakukan terhadap protein pili *S. flexneri* dan Omp *S. dysenteriae*. Hasil identifikasi protein terlihat ekspresi *band* dari protein pili *S. flexneri* dan Omp *S. dysenteriae*. Profil dan perhitungan berat molekul dari potongan pili dan Omp *S. flexneri* menunjukkan gambaran yang mirip seperti terlihat pada Gambar 4.1. Hasil potongan pili yang pertama tampak warna pita lebih tipis dibandingkan dengan potongan yang kedua dan ketiga. Begitu pula dengan hasil isolasi Omp pada isolasi yang pertama dan kedua, dimana hasil isolasi pertama menghasilkan gambaran yang lebih tipis dibanding potongan yang kedua. Perbedaan ketebalan pita pada potongan pertama dan seterusnya dikarenakan pada potongan pertama kemungkinan masih sedikit fraksi protein yang terpotong. Kemudian pada potongan berikutnya semakin banyak fraksi protein yang semakin dapat diisolasi. Pada pili pada potongan yang ke 4 (data tidak ditampilkan), gambaran ketebalan pita semakin menipis, disebabkan semakin sedikit fraksi protein yang dapat dipotong. Selain itu lama waktu pemotongan pili dan Omp juga mempengaruhi ekspresi pita yang dihasilkan.

Sedangkan pada perhitungan berat molekul ditemukan protein pada masing-masing potongan pili *S. flexneri* dan Omp *S. dysenteriae* dengan berat molekul 72; 27; dan 18 kDa. Dari hasil tersebut secara molekuler diasumsikan bahwa baik pili *S. flexneri* maupun Omp *S. dysenteriae* memiliki karakteristik yang sama. Profil yang ditunjukkan pada gel elektroforesis pada potongan pili *S. flexneri* dan Omp *S. dysenteriae* memiliki *band* yang lumayan banyak. Hal ini kemungkinan pada pili *S. flexneri* dan Omp *S. dysenteriae* mengandung banyak jenis protein yang bukan hanya protein adhesi. Menurut Nymu (2008), bahwa dalam satu fimbria terdiri dari semua komponen struktural yaitu protein FimA, FimF, FimG, dan FimH.

Ketiga band baik dari protein sub unit pili maupun Omp yang terdiri dari protein dengan berat molekul 72 kDa; 27 kDa; dan 18 kDa diambil sebagai kandidat protein adhesi. Pengambilan band protein tersebut karena dari sekian banyak protein pada profil SDS PAGE memiliki pita yang lebih tebal dari yang lain pita.

Selama pembentukan pili, sub unit pili (pilins) disekresikan ke dalam ruang periplasma melalui jalur sekretorik dan berikatan dengan chaperon

(pendamping) yang membantu proses pelipatan dan mencegah pembentukan sub unit yang premature. Kemudian kompleks pili/chaperone dibawa ke *outer membrane usher* yang berfungsi sebagai *platform* untuk pembentukan pili. Kemudian, protein kompleks tersebut membentuk pori di outer membrane yang memungkinkan dapat dilewati untaian pilin (Soto and Hultgren, 1999), (Proft, T and Baker, N, 2009)

5.2 Uji Hemaglutinasi protein sub unit pili *S. flexneri*

Uji Hemaglutinasi berguna sebagai identifikasi adhesi pada beberapa protein bakteri. Adhesi bakteri Gram negatif diperankan oleh suatu protein yang mampu mengaglutinasi eritrosit mamalia. Protein ini disebut dengan protein hemaglutinin, salah satu contoh adalah protein adhesin *Klebsiella pneumoniae* yang diperankan oleh protein hemaglutinin 29 kDa. Protein hemaglutinin merupakan protein adhesi yang berperan sebagai faktor virulensi yang berpengaruh pada proses adhesi bakteri pada sel epitel usus halus (Sumarno, 2000).

Hasil uji hemaglutinasi bertujuan untuk mencari protein hemaglutinin dimiliki oleh protein sub unit pili *S. flexneri*. Protein hemaglutinin merupakan protein adhesin yang memperantarai perlekatan bakteri pada sel hospes. Hal ini dilakukan untuk mengkonfirmasi dan membuktikan bahwa protein sub unit pili *S. flexneri* merupakan protein adhesin.

Uji hemaglutinasi dilakukan pada protein sub unit pili *S. flexneri* yang terdiri dari 3 *band* dan memiliki pita lebih tebal dari yang lain. Gambar 4.2 dan Tabel 54.1 menunjukkan kemampuan protein sub unit pili *S. flexneri* hasil purifikasi dalam mengaglutinasi sel eritrosit. Dari hasil tersebut ternyata ada perbedaan dalam aglutinasi eritrosit, dimana pada protein sub unit pili *S. flexneri* yang sudah dilakukan purifikasi dengan menggunakan metode elektroelusi dapat mengaglutinasi eritrosit mencit. Pada protein pili BM 72 kDa aglutinasi nampak pada titer $\frac{1}{4}$. Sedangkan pada protein pili dengan 27 kDa terjadi aglutinasi pada pada titer $\frac{1}{32}$. Serta pada protein pili dengan berat molekul 18 kDa dapat mengalami aglutinasi pada titer $\frac{1}{128}$.

Terjadinya aglutinasi ditunjukkan dengan tidak adanya endapan eritrosit di dasar sumuran. Sedangkan endapan yang terjadi pada dasar sumur menunjukkan hasil yang negatif. Hal ini karena eritrosit tidak terikat oleh protein sub unit pili *S. flexneri*.

Hasil tersebut membuktikan bahwa pada protein sub unit pili *S. flexneri* diduga mengandung protein adhesin yang merupakan protein yang mampu mengikat sel eritrosit atau disebut sebagai protein hemagglutinin. Protein adhesin pada sub unit pili *S. flexneri* merupakan perantara bakteri dalam melakukan perlekatan terhadap sel enterosit hospes. Secara teori pili yang juga dikenal sebagai *fimbriae*, merupakan salah satu dari faktor adhesi yang diekspresi oleh kebanyakan bakteri gram-negatif. *Fimbriae* merupakan protein polimer permukaan sel bakteri sebagai mediator penting interaksi bakteri terhadap hospes dan tetap bertahan pada lingkungan, pengembangan biofilms, motilitas, kolonisasi dan invasi pada sel (Burrows, 2005).

Pili

Shigella yang tidak menghasilkan aglutinasi positif kemungkinan pada pili *Shigella* tersebut masih banyak terdapat protein selain protein adhesin sehingga tidak spesifik mengikat sel eritrosit mencit. Pada penelitian sebelumnya bahwa pada pili *S. dysenteriae* telah diuji protein pili lengkap (*unpurified*) yang menghasilkan tidak secara nyata mampu mengaglutinasi secara efektif terhadap sel eritrosit (Prabowo, 2011).

Perbedaan hasil uji hemagglutinasinya pada masing-masing berat molekul tidak sama. Hal ini terkait dengan kemampuan protein pili yang dapat mengikat sel eritrosit. Jika protein dapat mengikat sel eritrosit pada pengenceran lebih tinggi maka protein tersebut dapat melakukan adhesi lebih kuat, karena pada pengenceran tertinggi mampu mengikat sel eritrosit. Hasil ini sesuai dengan penelitian Prabowo (2011) bahwa dengan menggunakan strain *S. dysenteriae* serotipe 1 yang menyebabkan mannose-sensitif Hemagglutinasinya (HA) dengan sel-sel tikus. Hasil penelitian tersebut menunjukkan sifat hemagglutinin pada protein pili *S. dysenteriae* terdapat pada protein dengan berat molekul 49,8 kDa. Sementara protein dengan berat molekul 7,9 kDa adalah protein yang

memungkinkan lebih besar dan lebih cepat pembentukan endapan eritrosit dibandingkan dengan kontrol, protein ini menunjukkan protein anti hemaglutinin.

Melalui uji Hemaglutinasi pada penelitian ini menemukan protein hemaglutinin sehingga protein sub unit pili bakteri berfungsi sebagai sistem model yang bermanfaat untuk penentuan awal mekanisme perlekatan pili bakteri *S. flexneri* terhadap sel enterosit hospes. Pili adalah struktur filamen pada permukaan sel bakteri yang terdiri atas sebagian besar terbentuk dari sub unit pengulangan protein tunggal. Fimbriae mengikat satu adhesin (*tip*) yang berfungsi berikatan dengan reseptor seluler pada hospes, dan umumnya terdapat pada ujung dari struktur pili (Starks, et al., 2006).

Protein hemaglutinin dianggap sebagai salah satu faktor virulensi dari bakteri pathogen. Berdasarkan anggapan bahwa bakteri yang mampu mengaglutinasi eritrosit memiliki kemampuan melakukan adhesi pada sel mukosa hospes karena reseptor pada membran eritrosit diyakini memiliki kemiripan dengan reseptor pada sel mukosa hospes (Chmiela, 1996), maka pili *S. flexnerii* yang memiliki protein hemaglutinin diyakini mampu melakukan adhesi pada sel hospes. Eritrosit dibutuhkan oleh seluruh sel tubuh secara umum, oleh karena itu memiliki reseptor di setiap sel tubuh. Protein sub-unit pili dengan BM 18 kDa *S. flexneri* dapat mengaglutinasikan eritrosit mencit, maka secara teori protein hemaglutinin pili ini seharusnya juga memperantarai proses perlekatan (adhesi) *S. flexneri* ke enterosit, yang selanjutnya disebut sebagai molekul adhesin. Sudah banyak studi yang meneliti molekul adhesin dari berbagai macam spesies bakteri, masing-masing bakteri memiliki karakteristik yang khas yang dapat dipelajari berdasarkan kemampuan mengaglutinasikan eritrosit mamalia (Prabowo, 2011).

5.3 Uji Hemaglutinasi sub unit *Omp S. dysenteriae*

Hasil uji hemaglutinasi ini bertujuan untuk mencari protein hemaglutinin dimiliki oleh protein sub unit *Omp S. dysenteriae*. Hal ini dilakukan untuk mengkonfirmasi dan membuktikan bahwa protein sub unit *Omp S. dysenteriae* merupakan protein adhesin.

Uji hemaglutinasi dilakukan pada protein sub unit *Omp S. dysenteriae* yang terdiri dari 3 band. Gambar 4.3 dan Tabel 4.2 menunjukkan kemampuan protein

sub unit Omp *S. dysenteriae* hasil purifikasi dalam mengaglutinasi sel eritrosit. Hasil tersebut membuktikan bahwa sub unit Omp *S. dysenteriae* dengan berat molekul 72 kDa, 27 kDa, dan 18 kDa dapat berperan sebagai protein hemaglutinin.

5.4 Reaksi antigen-antibodi dengan metode Western blot

Metode *western blot* pada penelitian ini digunakan untuk melihat reaksi antigen-antibodi menggunakan antibodi protein sub unit 18 kDa *S. flexneri* dengan reaksi silang terhadap protein sub unit Omp *S. dysenteriae*. Gambar 4.4 menunjukkan ekspresi hasil reaksi antigen antibodi dari protein sub unit Omp *S. dysenteriae* dengan antibodi protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri*. Dari uji reaksi antigen-antibodi menggunakan metode *Western blot* dengan satu antibodi dan antigen yang berbeda terlihat profil berat molekul masing-masing. Protein yang merespon antibodi protein sub unit pili 18 kDa terhadap protein Omp *S. dysenteriae* adalah protein dengan berat molekul 18 kDa; 21 kDa; dan 23 kDa.

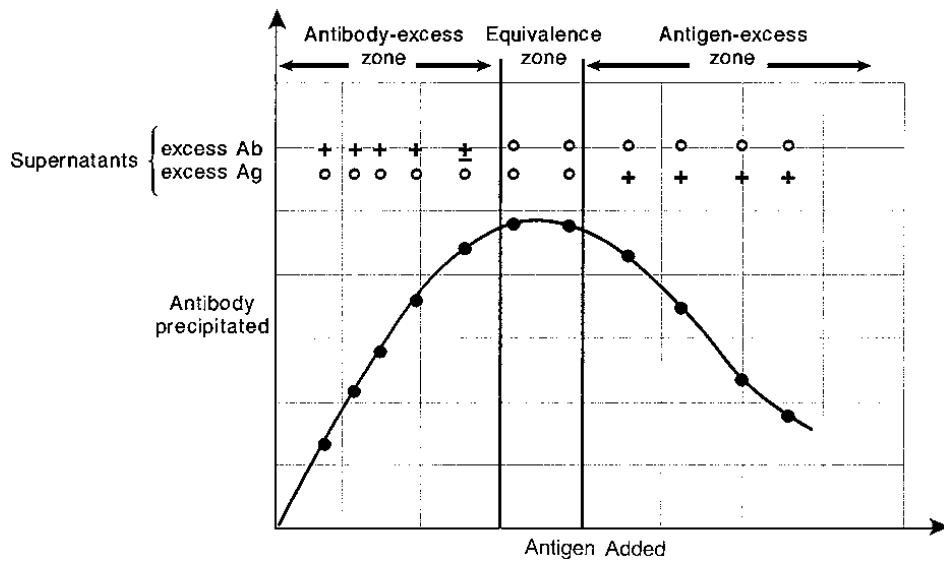
Protein sub unit Omp *S. dysenteriae* dengan berat molekul 18 kDa; 21 kDa; dan 23 kDa kemungkinan memiliki epitop yang dapat dikenali oleh antibodi protein sub unit pili *S. flexneri* 18 kDa. Hasil tersebut terkait dengan karakter protein pili pada kelompok bakteri gram negatif sebagai media adhesi, dan pertahanan diri, sehingga mampu mengenali serta berikatan dengan minimal satu molekul epitop (Kundera, 2011). Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa ada kemiripan epitop dari penyusun protein sub unit pili *S. flexneri* dan sub unit Omp *S. dysenteriae*, sehingga mampu menjalankan fungsinya sebagai protein adhesin.

Hasil Western Blot menunjukkan kemampuan antibodi dalam merespon antigen protein Omp dari *S. dysenteriae*. Selain mengenali epitop dari protein pili *S. flexneri*, antibodi protein pili 18 kDa juga dapat mengenali epitop dari protein Omp *S. dysenteriae*. Sehingga dimungkinkan protein Omp memiliki sifat yang identik karena dapat dikenali oleh antibodi protein pili *S. flexneri*.

Selain itu, antibodi dengan berat molekul rendah dapat mengenali epitop baik antigen Omp dengan berat molekul yang lebih tinggi, hal ini karena ada epitop Omp *S. dysenteriae* yang dapat dikenali oleh antibodi protein pili *S. flexneri*.

Sebelum dilakukan *Western blot* dalam melihat reaksi antigen-antibodi, pada penelitian ini dilakukan *check board* untuk melihat efektifitas reaksi antigen-antibodi yang terjadi. Hasil reaksi check board menunjukkan bahwa pada antigen protein pili 18 kDa terlihat pada pengenceran 1/20, sedangkan antibodi terlihat pada pengenceran 1/500. Titer antibodi adalah kandungan antibodi yang diukur dengan titrasi. Titer antibodi merupakan salah satu indikator reaksi antigen-antibodi. Berdasarkan pengertian tersebut, maka titer antibodi sebagai indikator yang bisa dihitung harus menjadi dasar untuk diperhatikan, namun biosekuriti juga harus tetap diperhatikan untuk mendukung respon imun. Bagian dari antigen yang secara langsung berikatan dengan molekul reseptor (seperti antibodi) dikenal dengan nama epitop. Hal ini menandakan bahwa antigen mempunyai beberapa epitop (determinan antigen) (Rantam, 2003).

Berdasarkan teori kisi (*The Lattice theory*) yang dikemukakan oleh Marrack, bahwa jika molekul antigen dan antibodi direaksikan akan menghasilkan reaksi presipitasi dengan rasio yang berbeda untuk konsentrasi yang berbeda satu ke yang lain, tergantung pada zona reaksi precipitin di mana mereka terbentuk. Jika rasio antibodi-antigen di atas 1, maka akan terbentuk presipitat. Sedangkan bila rasio di bawah 1, akan tetap terbentuk kompleks terlarut dan tetap berada di supernatant. Hasil reaksi antigen-antibodi ini dapat digambarkan dalam bentuk kurva presipitasi, dimana bentuk kurva yang naik menggambarkan zona *antibodi excess* yang berarti banyak molekul antibodi bebas yang terdapat di supernatant. Sedangkan kurva turun menggambarkan adanya zona *antigen excess* yang berarti banyak molekul antigen bebas yang terdapat di supernatant. Sedangkan adanya presipitasi maksimum berada di zona ekuivalen dimana tidak ada antigen maupun antibodi yang terdeteksi di supernatant (Cruse, et al., 2004)



Gambar 5.1. Kurva Presipitasi (Cruse, et al., 2004)

Sehingga berdasarkan hasil check board di atas dapat disimpulkan bahwa zona ekuivalen terletak pada titer antibodi 1/500 dan titer antigen 1/20. Pembentukan ikatan antigen antibodi ini membutuhkan interaksi antibodi bivalen dan antigen multivalent yang menghasilkan ikatan yang kompleks. Semakin banyak epitop yang dikenali oleh antibodi , maka akan terbentuk ikatan yang semakin kompleks (Goldsby, et al., 2002)

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Protein hemagglutinin sub unit 72 kDa; 27 kDa; dan 18 kDa terdapat pada pili *S. flexneri* dan Omp *S. dysenteriae*.
2. Antibodi protein hemagglutinin sub unit pili 18 kDa *S. flexneri* dapat direspon oleh sub unit Omp 18 kDa; 21 kDa; dan 23 kDa *S. dysenteriae*.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian mengenai uji adhesi Omp *S. dysenteriae* terhadap sel enterosit untuk membuktikan bahwa protein hemagglutinin *S. dysenteriae* merupakan protein adhesin yang memperantarai perlekatan bakteri *S. dysenteriae*.
2. Perlu dilakukan pembuktian adanya reaksi antigen antibodi terhadap protein sub unit pili *S. flexneri* dengan menggunakan antibodi sub unit Omp *S. dysenteriae*.
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk pengembangan vaksin dengan berbasis molekul adhesin.

DAFTAR PUSTAKA

- Anam K** Identifikasi Protein Hemagglutinin Sub Unit Pili 49,8 kDa dan anti hemagglutinin 7,9 kDa Serta Uji Respon Imun Reaksi Silang *Shigella* spp. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, 2012.
- Bhattacharya S [et al.]** Prevalence of *Shigella* species and Their Antimicrobial Resistance Patterns in Eastern Nepal. 23(4): J HEALTH POPUL NUTR, 2005. - 4 : Vol. 23. - pp. 339-342.
- Boschi-Pinto C, Velebit L and Shibuya K** Estimating child mortality due to diarrhoea in developing countries . Buletin WHO. - 2008. - 9 : Vol. 86. - pp. 710-717.
- Burrows L. 2005.** Weapons of mass retraction. Mol Microbial. Vol. 57. p. 878-888.
- Cabral J P S** Water Microbiology. Bacterial Pathogens and Water . Int. J. Environ. Res. Public Health. - 2010. - Vol. 7. - pp. 3657-3703.
- Chmiela M, Lawnik M, Czkwianianc E, Rechciński T, Planeta-Malecka I, Wadström T, Rudnicka W.** 1997. Attachment of *Helicobacter pylori* strains to human epithelial cells. J Physiol Pharmacol. Sep:48(3):393-404.
- Clemens J** .Evaluation of vaccines against enteric infections: a clinical and public health research agenda for developing countries. Phil. Trans. R. Soc. B.. - 2011. - 366. - pp. 2799–2805.
- Cruse J dan Lewis RE.** 2004. Atlas of Immunology. Second Edition. CRC Press. p 245-247
- Edwars R A, Schifferli D M and Maloy S R.** A Role For Salmonella Fimbriae in Intraperitoneal Infections. PNAS. 1999. - 3 : Vol. 97. - pp. 1258-1262.
- Forest C [et al.].** 2007. Contribution of the Fimbrial Operon of *Salmonella enteric*. Serovar Typhi during Interaction with Human Cells. Infect. Immun. 11 : Vol. 75. p. 5264-5271.
- G-Biosciences.** 2010. A Handbook & Selection Guide to Detergent and Detergent Removal [Online]. www.GBiosciences.com. G-Biosciences.
- Goldsby R [et al.].** 2002. Kuby Immunology . Freeman WH & Co. p 141-143
- Herwana E [et al.]** S.-associated diarrhea in children in South Jakarta, Indonesia. Southeast Asian . J Trop Med Public Health.. - 2010. - 2 : Vol. 41. - pp. 419-25.
- Hodges K and Gill R** Infectious diarrhea Cellular and molecular mechanisms. Gut Microbes. - 2010. - 1 : Vol. 1. - pp. 4-21.

- Isbagio D.W.** Masa Depan Pengembangan Vaksin Baru. Cermin Dunia Kedokteran. - 2005. - 148. - pp. 12-16.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg.** 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23. EGC. Jakarta.
- Lerner K and Lerner BW** World of Microbiology and Immunology . Gale Thomson, 2003.
- Levine OS and Levine** Houseflies (*Musca domestica*) as mechanical vectors of shigellosis . Rev Infect Dis.: 13, 1991. - Vol. 4. - pp. 688-96.
- Magdarina D.A. [et al.]** The burden of diarrhoea, . BMC Infectious Diseases., 2007. - 89 : Vol. 5.
- Nagata T and Koide Y** Induction of Specific CD8+ T Cells against Intracellular Bacteria by CD8+ T-Cell-Oriented Immunization Approaches. Journal of Biomedicine and Biotechnology : Hindawi Publishing Corporation, 2010. - 764542.
- Niyogi SK** Shigellosis. The Journal of Microbiology. - 2005. - 2 : Vol. 43. - pp. 133-143..
- Phalipon A, Mulard L.A and Sansonetti P.J** Vaccination Against Shigellosis: Is Is the Path That is Difficult or Is It the Difficult That Is the Path?. Elsevier. 2008. 9 : Vol. 10. pp. 1057-1062.
- Phalipon A, Mulard L.A and Sansonetti P.J.** Vaccination Against Shigellosis: Is Is the Path That is Difficult or Is It the Difficult That Is the Path?. Elsevier, 2008. 9 : Vol. 10. - pp. 1057-1062.
- Prabowo AS** Partial Characterization of Adhesions Pili on *Shigella dysenteriae*. Tesis . Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, 2011.
- Rantam F.A.** 2003. Metode Imunologi. Surabaya : Airlangga University Press. Cetakan Pertama.
- Santoso S** Protein Adhesin *Salmonella* Typhi Sebagai Faktor Virulensi Berpotensi Immunogenik Terhadap Produksi sIgA Protektif . Surabaya : FK UNAIR, 2002.
- Schroeder G N and Hilbi H** Molecular Pathogenesis of *Shigella* spp.: Controlling Host Cell Signaling, Invasion, and Death by Type III Secretion . CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS. - 2008. - 1 : Vol. 21. - pp. 134–156.
- Soto G.E dan Hultgren S.J.** 1999. Assembly of Bacterial adhesins across the Outer membrane via the chaperone-usher pathway. in : Broome-Smith JK (ed). Transport of Molecules Across Microbial Membranes. Cambridge University Press. p.124-137

- Starks A.M [et al.]** Assembly of Csi Pili: The Role of Specific Residues of the Mayor pilin, CooA. J. Bacteriol. - 2006. - 1 : Vol. 188. - pp. 231-239.
- Sumarno.** 2000. Karakterisasi Molekuler Protein Adhesi *Vibrio cholera* 01 dan Protein Reseptornya pada sel Epitel Usus Halus Tikus Putih (Wistar). Studi Patogenesis *Vibrio cholera* 01 . Disertasi. Program Pascasarjana Univ. Airlangga Surabaya.
- Surjawidjaja J.E [et al.]** Perbandingan agar MacConkey, Salmonella-Shigella, dan xylose lysine deoxycholate untuk isolasi Shigella dari usap dubur penderita diare. 2007. Vol. 26.
- Suzuki T [et al.]** High Vaccine Efficacy against Shigellosis of Recombinant Noninvasive Shigella Mutant That Expresses Yersinia Invasin. J Immuno. - 2006. - 177 : Vol. 1. - pp. 4709-4717.
- Thapar N and IR Sanderson** Diarrhoea in children: an interface between developing and developed countries. (Abstract). Pubmed, 2004. 363.
- Todar, K** Shigella and Shigellosis. 2011. - 2 17, 2015. - <http://www.textbookofbacteriology.net/Shigella.html>.
- Yuehue H and Friedman R.J** Handbook of Bacterial Adhesion. Totowa, New Jersey : Humana Press Inc. , 2000.

KEPUTUSAN REKTOR
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
Nomor : Un.3/KP.07.6/ 529 /2014

REKTOR UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

Menimbang : Bahwa Pegawai Negeri Sipil yang namanya tersebut dalam keputusan ini, dipandang cakap dan memenuhi syarat untuk diberi kenaikan pangkat sesuai usul Rektor UIN Malang Nomor Un.3/KP.07.6/373/2014 tanggal 8 Juli 2014.

Mengingat : 1. Undang-Undang Nomor 8 Tahun 1974 jo. UU Nomor 43 tahun 1999 ;
2. Peraturan Pemerintah Nomor 7 Tahun 1977 jo. PP Nomor 11 Tahun 2011 ;
3. Peraturan Pemerintah Nomor 99 Tahun 2000 Jo. PP Nomor 12 Tahun 2002 ;
4. Peraturan Pemerintah Nomor 9 Tahun 2003 ;
5. Keputusan Presiden RI Nomor 11 Tahun 1997;
6. Keputusan Menteri Agama Nomor 492 Tahun 2003.

Memperhatikan : Persetujuan Kepala BKN Nomor : CG-13018002451 tanggal 9 September 2014.

MEMUTUSKAN

Menetapkan :
KESATU : Pegawai Negeri Sipil,
1. Nama : **dr. Avin Ainur Fitrianingsih**
2. Tempat / tanggal lahir : Malang, 3 Februari 1980
3. NIP / KARPEG : 19800203 200912 2 002/P.463880
4. Pendidikan terakhir : S-1 Dokter Umum Tahun 2005
5. Jabatan : Asisten Ahli DMK Ilmu Kedokteran Umum
6. Unit Organisasi : Fakultas Sains dan Teknologi
7. Pangkat/Gol.Ruang lama /TMT : Penata Muda Tk.I - III/b
TMT : 1 April 2012
8. Jumlah Angka Kredit : 218.7

terhitung mulai tanggal

1 Oktober 2014

Diangkat dalam pangkat Penata - III/c Lektor dalam masa kerja golongan ruang 4 tahun 10 bulan, diberikan gaji pokok sebesar Rp. 2.678.900,- (dua juta enam ratus tujuh puluh delapan ribu sembilan ratus rupiah) setiap bulan.

KEDUA : Kepada yang bersangkutan diberikan tunjangan jabatan Lektor berdasarkan Peraturan Presiden Nomor 65 Tahun 2007 Jo. SE-DJA No SE-84/PB/2007 tanggal 11-10-2007 sebesar Rp. 700.000,- (tujuh ratus ribu rupiah) setiap bulan ditambah penghasilan lain yang sah berdasarkan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

KETIGA : Keputusan ini disampaikan kepada yang bersangkutan untuk diketahui dan dipergunakan seperlunya, dengan ketentuan apabila terdapat kekeliruan, akan diadakan perbaikan dan perubahan sebagaimana mestinya.

Ditetapkan di : Malang
Pada Tanggal : 17 September 2014



Mengetahui,
Kepala Biro AUPK
Kabag. Organisasi, Kepegawaian dan Hukum
[Signature]
Siti Farkhatul Lu'aini, SE
NIP 196510292000032001



Rektor
Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si
NIP 19590101 199003 1 005

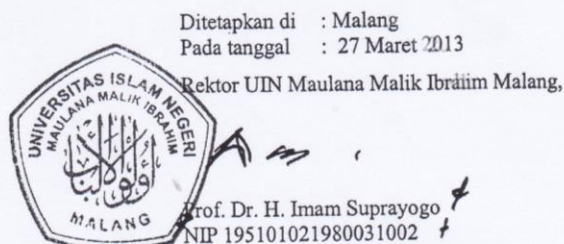
REKTOR UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

- Menimbang** : a. bahwa sebagai pelaksana dari Keputusan Menteri Negara Koordinator Bidang Pengawasan Pembangunan dan Pendayagunaan Aparatur Negara Nomor : 38/Kep/MK.WASPAN/8/1999, Saudara dr. Alvi Miliana NIP 19820404 201101 2 011 Tenaga Pengajar telah mengumpulkan angka kredit sebanyak 150 kum yang telah ditetapkan oleh Tim Penilai Angka Kredit UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- b. bahwa Saudara dr. Alvi Miliana NIP 19820404 201101 2 011 Tenaga Pengajar dipandang telah memenuhi syarat-syarat teknis/ administrasi untuk diangkat menjadi Asisten Ahli pada UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mengingat** : 1. Undang-Undang Nomor 8 Tahun 1974 Jo. UU No. 43 Tahun 1999;
2. Peraturan Pemerintah Nomor 20 Tahun 1975 Jo. PP No. 9 Tahun 2003;
3. Peraturan Pemerintah Nomor 7 Tahun 1977 jo. PP No. 8 Tahun 2009;
4. Peraturan Pemerintah Nomor 3 Tahun 1980 Jo. PP No. 12 Tahun 2002;
5. Keputusan Presiden Nomor 199 Tahun 1998 Jo. Keppres 9 Tahun 2001;
6. Keputusan Menteri Negara Koordinator Bidang Pengawasan Pembangunan dan Pendayagunaan Aparatur Negara No. 38/Kep/MK.WASPAN/8/1999 tentang Jabatan Fungsional dan Angka Kreditnya;
7. Keputusan Menteri Agama Nomor 492 Tahun 2003.
- Memperhatikan** : Surat Keputusan Bersama Menteri Pendidikan dan Kebudayaan dan Kepala Badan Kepegawaian Negara Nomor : 61409/MPK/KP/1999 dan Nomor :181 Tahun 1999 tanggal 13 Oktober 1999 tentang Petunjuk Pelaksanaan Jabatan Fungsional Dosen dan angka kreditnya.

MEMUTUSKAN

- Pertama** : Terhitung mulai tanggal **1 April 2013** mengangkat Pegawai Negeri Sipil :
- | | |
|---------------------------|------------------------------------|
| 1. Nama | : dr. Alvi Miliana |
| 2. NIP / KARPEG | : 19820404 201101 2 011 |
| 3. Tempat / tanggal lahir | : Nganjuk, 4 April 1982 |
| 4. Pendidikan | : S1 Profesi Kedokteran Tahun 2006 |
| 5. Pangkat/ Gol. Ruang | : Penata Muda Tk. I - III/b |
| 6. Angka Kredit | : 150 Kum |
| 7. Unit Organisasi | : Fakultas Sains dan Teknologi |
| 8. Dalam Jabatan | : Asisten Ahli DMK Kedokteran Umum |
- Kedua** : Kepada yang bersangkutan diberikan gaji pokok menurut golongan ruang Penata Muda Tk. I - III/b dengan masa kerja 2 tahun 3 bulan sebesar Rp.2.215.700,- (Dua juta dua ratus lima belas ribu tujuh ratus rupiah) dan tunjangan jabatan Asisten Ahli sebesar Rp. 375.000,- (Tiga ratus tujuh puluh lima ribu rupiah) setiap bulan.
- Ketiga** : Apabila dikemudian hari ternyata terdapat kekeliruan dalam keputusan ini akan diadakan perbaikan dan perhitungan sebagaimana mestinya.

ASLI Keputusan ini disampaikan kepada yang bersangkutan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.



Tembusan :

1. Ketua Badan Pemeriksa Keuangan di Jakarta;
2. Kepala Badan Kepegawaian Negara di Jakarta;
3. Direktur Jenderal Pendidikan Islam Kementerian Agama di Jakarta;
4. Direktur Pendidikan Tinggi Islam Kementerian Agama di Jakarta;
5. Inspektur Jenderal Kementerian Agama di Jakarta;
6. Kepala Biro Kepegawaian Kementerian Agama di Jakarta;
7. Kepala Kantor Pelayanan Perbendaharaan Negara di Malang (2 Exp.);
8. Direktur Pusat TASPEN di Jakarta.

**KEPUTUSAN REKTOR
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**
Nomor : Un.3/KP.07.6/ 274 /2015

REKTOR UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

- Menimbang : Bahwa Pegawai Negeri Sipil yang namanya tersebut dalam keputusan ini, dipandang cakap dan memenuhi syarat untuk diberi kenaikan pangkat sesuai usul Rektor UIN Malang Nomor Un.3/KP.07.6/119/2015 tanggal 11 Februari 2015.
- Mengingat : 1. Undang-Undang Nomor 8 Tahun 1974 jo. UU Nomor 43 tahun 1999;
2. Peraturan Pemerintah Nomor 7 Tahun 1977 jo. PP Nomor 11 Tahun 2011;
3. Peraturan Pemerintah Nomor 99 Tahun 2000 Jo. PP Nomor 12 Tahun 2002;
4. Peraturan Pemerintah Nomor 9 Tahun 2003;
5. Keputusan Presiden Nomor 199 Tahun 1998;
6. Keputusan Menteri Agama Nomor 492 Tahun 2003;
7. Peraturan Menteri PAN & RB Nomor 17 Tahun 2013 jo. PP Nomor 46 Tahun 2013.
- Memperhatikan : Persetujuan Kepala BKN Nomor : CG-12018000085 tanggal 2 Maret 2015.

MEMUTUSKAN

- Menetapkan
KESATU :
- | | |
|---------------------------------|---|
| Pegawai Negeri Sipil, | |
| 1. Nama | : dr. Alvi Milliana |
| 2. Tempat / tanggal lahir | : Nganjuk, 4 April 1982 |
| 3. NIP / KARPEG | : 19820404 201101 2 011/Q. 047894 |
| 4. Pendidikan terakhir | : S-1 Profesi Kedokteran Tahun 2006 |
| 5. Jabatan | : Asisten Ahli Dalam Bidang Mikrobiologi |
| 6. Unit Organisasi | : Fakultas Sains dan Teknologi |
| 7. Pangkat/Gol. Ruang lama /TMT | : Penata Muda Tk.I - III/b / TMT : 1 Januari 2011 |
| 8. Jumlah Angka Kredit | : 211.7 |

terhitung mulai tanggal

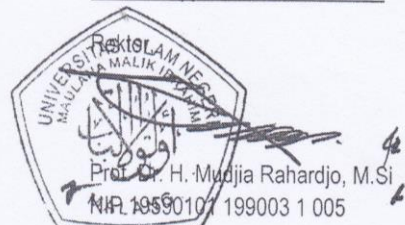
1 April 2015

Diangkat dalam pangkat Penata - III/c Lektor dalam masa kerja golongan ruang 4 tahun 3 bulan, diberikan gaji pokok sebesar Rp. 2.678.900,- (dua juta enam ratus tujuh puluh delapan ribu sembilan ratus rupiah) setiap bulan.

- KEDUA : Kepada yang bersangkutan diberikan tunjangan jabatan Lektor berdasarkan Peraturan Presiden Nomor 65 Tahun 2007 Jo. SE-DJA No SE-84/PB/2007 tanggal 11-10-2007 sebesar Rp. 700.000,- (tujuh ratus ribu rupiah) setiap bulan ditambah penghasilan lain yang sah berdasarkan peraturan perundang-undangan yang berlaku.
- KETIGA : Keputusan ini disampaikan kepada yang bersangkutan untuk diketahui dan dipergunakan seperlunya, dengan ketentuan apabila terdapat kekeliruan, akan diadakan perbaikan dan perubahan sebagaimana mestinya.



Ditetapkan di : Malang
Pada Tanggal : 24 Maret 2015



Tembusan :

1. Kepala Badan Kepegawaian Negara di Jakarta;
2. Direktur Jenderal Pendidikan Islam Kementerian Agama di Jakarta;
3. Inspektur Jenderal Kementerian Agama di Jakarta;
4. Kepala Biro Kepegawaian Kementerian Agama di Jakarta;
5. Kepala BKN Regional II Surabaya;
6. Kepala Kantor Cabang PT. TASPEN Malang;
7. Kepala KPPN Malang;
8. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi;
9. Arsip.

REKTOR UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

- Menimbang :**
- bahwa sebagai pelaksana dari Keputusan Menteri Negara Koordinator Bidang Pengawasan Pembangunan dan Pendayagunaan Aparatur Negara Nomor : 38/Kep/MK.WASPAN/8/1999, Saudara dr. Alvi Miliana NIP 19820404 201101 2 011 Tenaga Pengajar telah mengumpulkan angka kredit sebanyak 150 kum yang telah ditetapkan oleh Tim Penilai Angka Kredit UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
 - bahwa Saudara dr. Alvi Miliana NIP 19820404 201101 2 011 Tenaga Pengajar dipandang telah memenuhi syarat-syarat teknis/ administrasi untuk diangkat menjadi Asisten Ahli pada UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Mengingat :**
- Undang-Undang Nomor 8 Tahun 1974 Jo. UU No. 43 Tahun 1999;
 - Peraturan Pemerintah Nomor 20 Tahun 1975 Jo. PP No. 9 Tahun 2003;
 - Peraturan Pemerintah Nomor 7 Tahun 1977 jo. PP No. 8 Tahun 2009;
 - Peraturan Pemerintah Nomor 3 Tahun 1980 Jo. PP No. 12 Tahun 2002;
 - Keputusan Presiden Nomor 199 Tahun 1998 Jo. Keppres 9 Tahun 2001;
 - Keputusan Menteri Negara Koordinator Bidang Pengawasan Pembangunan dan Pendayagunaan Aparatur Negara No. 38/Kep/MK.WASPAN/8/1999 tentang Jabatan Fungsional dan Angka Kreditnya;
 - Keputusan Menteri Agama Nomor 492 Tahun 2003.

- Memperhatikan :** Surat Keputusan Bersama Menteri Pendidikan dan Kebudayaan dan Kepala Badan Kepegawaian Negara Nomor : 61409/MPK/KP/1999 dan Nomor : 181 Tahun 1999 tanggal 13 Oktober 1999 tentang Petunjuk Pelaksanaan Jabatan Fungsional Dosen dan angka kreditnya.

MEMUTUSKAN

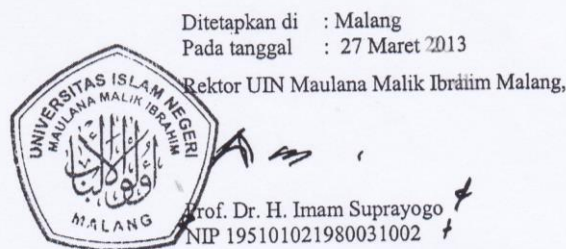
- Pertama :** Terhitung mulai tanggal 1 April 2013 mengangkat Pegawai Negeri Sipil :

- | | |
|---------------------------|------------------------------------|
| 1. Nama | : dr. Alvi Miliana |
| 2. NIP / KARPEG | : 19820404 201101 2 011 |
| 3. Tempat / tanggal lahir | : Nganjuk, 4 April 1982 |
| 4. Pendidikan | : S1 Profesi Kedokteran Tahun 2006 |
| 5. Pangkat/ Gol. Ruang | : Penata Muda Tk. I - III/b |
| 6. Angka Kredit | : 150 Kum |
| 7. Unit Organisasi | : Fakultas Sains dan Teknologi |
| 8. Dalam Jabatan | : Asisten Ahli DMK Kedokteran Umum |

- Kedua :** Kepada yang bersangkutan diberikan gaji pokok menurut golongan ruang Penata Muda Tk. I - III/b dengan masa kerja 2 tahun 3 bulan sebesar Rp.2.215.700,- (Dua juta dua ratus lima belas ribu tujuh ratus rupiah) dan tunjangan jabatan Asisten Ahli sebesar Rp. 375.000,- (Tiga ratus tujuh puluh lima ribu rupiah) setiap bulan.

- Ketiga :** Apabila dikemudian hari ternyata terdapat kekeliruan dalam keputusan ini akan diadakan perbaikan dan perhitungan sebagaimana mestinya.

ASLI Keputusan ini disampaikan kepada yang bersangkutan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.



Tembusan :

- Ketua Badan Pemeriksa Keuangan di Jakarta;
- Kepala Badan Kepegawaian Negara di Jakarta;
- Direktur Jenderal Pendidikan Islam Kementerian Agama di Jakarta;
- Direktur Pendidikan Tinggi Islam Kementerian Agama di Jakarta;
- Inspektur Jenderal Kementerian Agama di Jakarta;
- Kepala Biro Kepegawaian Kementerian Agama di Jakarta;
- Kepala Kantor Pelayanan Perbendaharaan Negara di Malang (2 Exp.);
- Direktur Bureaus TASPEN di Jakarta.

JADWAL PRESENTASI

RISET PENGEMBANGAN ILMU (RPI) INTERDISIPLIN

JUDUL : REAKSI ANTIGEN-ANTIBODI ANTARA PROTEIN SUB UNIT PILI 18 KDa *Shigella flexneri* DENGAN SUB UNIT OUTER MEMBRAN PROTEIN *Shigella dysenteriae* (Strategi memperoleh vaksin shigellosis berbasis protein pili)

N o .	Hari/ta nggal	Waktu	Narasum ber	Kegiatan	Tempat
1 .	Senin, 23-5- 2016	09.00- 12.00	Avin Ainur	Seminar proposal : Reaksi Antigen-antibodi antara antibodi Protein sub unit pili 18 kDa <i>S. flexneri</i> dengan Antigen sub unit pili 18 kDa <i>S. flexneri</i>	Ruang Diskusi Saintek
2 .	Senin, 23-5- 2016	13.00- 16.00	Alvi Milliana	Seminar proposal : Reaksi Antigen-antibodi antara Protein sub unit pili 18 kDa <i>S. flexneri</i> dengan sub unit Omp <i>S. dysenteriae</i>	Ruang Diskusi Saintek
3 .	Jum'at 28-8- 2016	08.00- 11.00	Avin Ainur	Seminar Hasil Penelitian : Reaksi Antigen-antibodi antara antibodi Protein sub unit pili 18 kDa <i>S. flexneri</i> dengan Antigen sub unit pili 18 kDa <i>S. flexneri</i>	Ruang Diskusi Saintek
4 .	Jum'at 28-8- 2016	13.00- 16.00	Alvi Milliana	Seminar Hasil Penelitian : Reaksi Antigen-antibodi antara Protein sub unit pili 18 kDa <i>S. flexneri</i> dengan sub unit Omp <i>S. dysenteriae</i>	Ruang Diskusi Saintek

UNDANGAN

Malang, 20-Mei-2016

Kepada:

Yth :

Di tempat

Assalamualaikum Wr. Wb.

Mengharap dengan hormat kehadiran Bapak/Ibu pada :

Hari/Tanggal : Senin, 23-Mei-2016

Waktu : 09.00-12.00 WIB

Tempat : Ruang diskusi Saintek

Acara :Seminar proposal : Reaksi Antigen-antibodi antara antibodi

Protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri* dengan Antigen sub unit 18 kDa *S. flexneri*

Pembicara : dr. Avin Ainur

Besar harapan kami, apabila Bapak/Ibu berkenan hadir pada undangan Kami. Atas perhatian dan kerjasamanya, kami ucapkan terima kasih

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

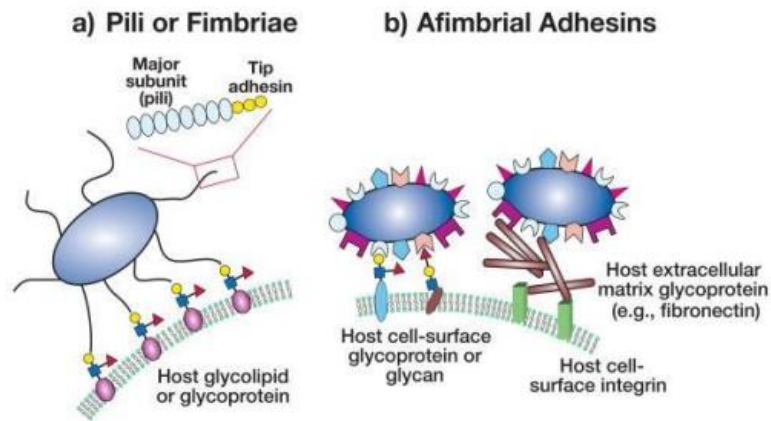
dr. Avin Ainur

PROPOSAL PENELITIAN
Reaksi Antigen – Antibodi antara Antibodi
Protein sub Unit pili dengan sub unit Omp
Shigella flexneri

Oleh :
Avin Ainur

Disampaikan pada : seminar proposal Penelitian Kompetitif 2016
LP2M UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
23 Mei 2016

- *Shigella* ➔ paling umum menyebabkan dysentri , 60% kasus *shigellosis* pada negara berkembang (WHO, 2005)
- Pengetahuan terkini mengenai mekanisme patogenesis *Shigella* berasal dari penelitian infeksi *S. flexneri*.
- *S. flexneri* ➔ >>> banyak di negara berkembang



Mekanisme perlekatan bakteri dengan permukaan sel hospes: (a) pili atau fimbriae adhesion (FA) (b) Afimbrial adhesion (AFA) (Nezet, et al., 2009)

Pili atau fimbriae

- Berperan pada mekanisme perlekatan bakteri pada host.
- Perlekatan antara bakteri dan sel hospes melalui pili ini tidak begitu kuat, namun ikatan pili pada sel hospes cukup spesifik dengan ikatan polisakarida.

- *Pili* dan *Outer Membrane Protein (Omp)* ➔ molekul adhesin pada banyak spesies bakteri , famili *Enterobacteriaceae*
- Hemagglutinin ➔ protein yang menjadi indikasi atas kemampuan adhesi bakteri ➔ mengaglutinasi eritrosit
- Pengembangan vaksin dari molekul adhesin ➔ membentuk sistem pertahanan tubuh yang lebih kuat
- antibodi dari *Omp S. flexneri* 34 kDa juga memiliki kelebihan dapat bereaksi pada spesies *Shigella* lainnya (Pore, et al., 2010).

Shigella

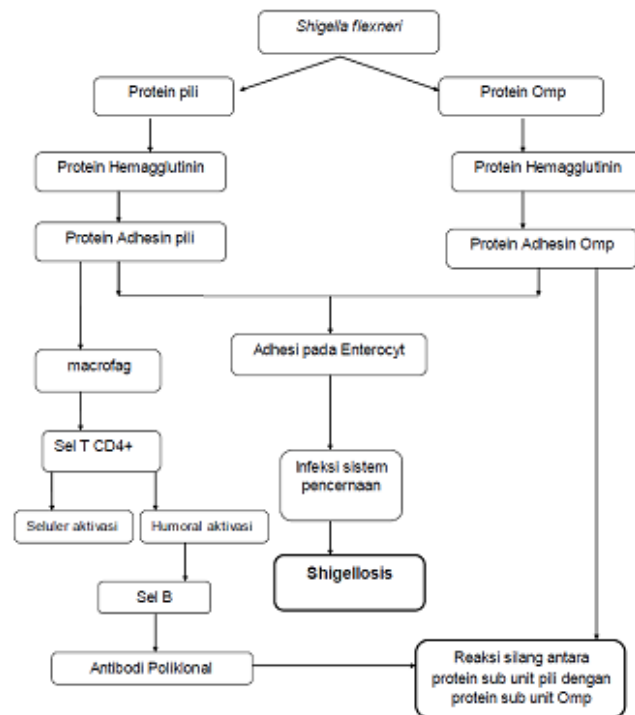
- Bakteri Gram-negatif, family *Enterobacteriaceae* , bentuk basil non-motil.
- *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. sonnei* dan *S. boydii*.
- *S. dysenteriae* (15 serotipe),
- *S. flexneri* (6 serotipe dan 2 varian), &
- *S. boydii* (20 serotipe) (Ploeg, et al., 2010).

Latar Belakang

- Shigellosis → diare, penyebab : *Shigella spp.*
- Endemis
- Di negara berkembang , menjadi penyebab mortalitas dan morbiditas terutama balita
- Di Indonesia → studi di Jakarta pada bulan Februari 2005 - September 2007 → 612 anak umur 0-12 tahun → *Shigella* menyebabkan 9,3% diare
- 63,2% merupakan *Shigella flexneri* (Herwana, 2010).

- Membuktikan hubungan keeratan antara protein sub unit pili dan sub unit Omp *S. flexneri*
- Hasil penelitian ini diharapkan menjadi inovasi pengembangan vaksin yang handal untuk *Shigellosis*.

KERANGKA KONSEP PENELITIAN



Metode Penelitian

- Desain penelitian : *deskriptif eksploratif* => mengidentifikasi protein pili dan Omp *S. flexneri* yang berperan sebagai protein hemagglutinin
- *Eksperimental* : reaksi antigen dan antibodi protein pili dan Omp dengan metode Western blot dan Dot blot
- Tempat dan waktu :
 - ✓ Laboratorium biomedik dan mikrobiologi FKUB
 - ✓ Laboratorium fisiologi hewan dan genetika UIN
 - ✓ Laboratorium Sentral Ilmu Hayati UB

Manfaat penelitian

- Menemukan dan menjelaskan bahwa protein pili dan *Outer membran protein (Omp) S. flexneri* merupakan protein hemagglutinin yang diduga sebagai protein adhesin.
- Memberikan informasi baru mengenai protein adhesin pada pili bakteri *S. flexneri* yang menempel pada permukaan usus host.
- Dasar pengembangan vaksin *Shigella* berbasis molekul adhesin pada masa berikutnya

Tujuan Umum

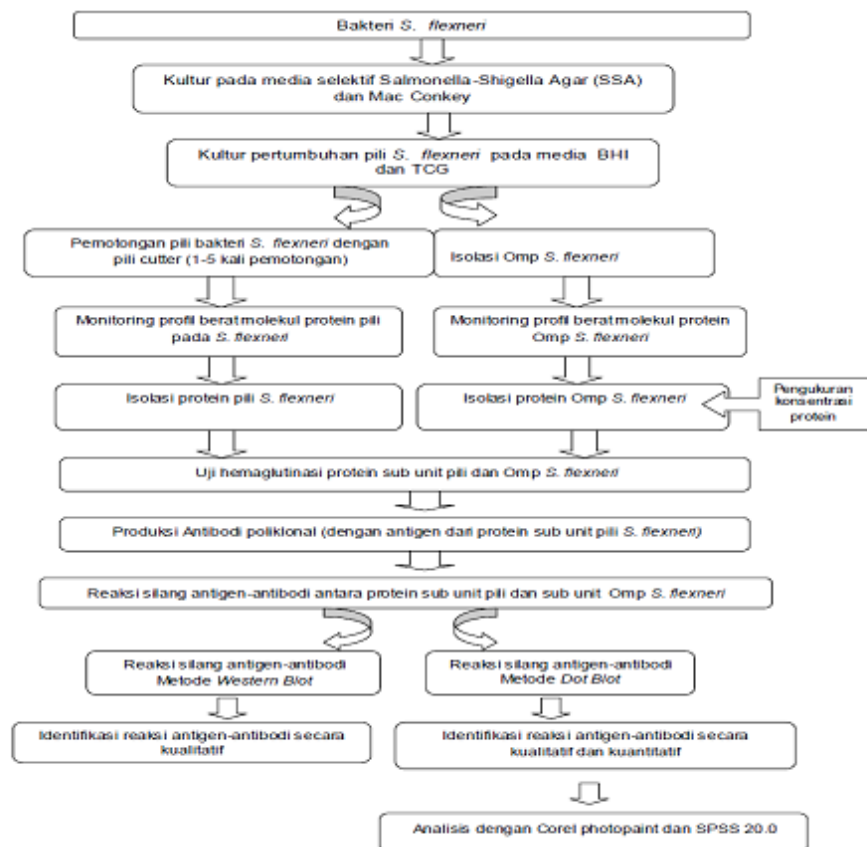
- Untuk mengetahui adanya kemiripan karakter antara protein hemagglutinin pili dengan protein hemagglutinin Omp *S. flexneri*.

Tujuan Khusus

- Untuk mengetahui berat molekul protein pili *S. flexneri* dan *Outer membrane protein (Omp) S. flexneri* yang berperan sebagai protein hemagglutinin.
- Untuk mengetahui adanya reaksi silang antara antibodi protein pili *S. flexneri* yang merupakan protein hemagglutinin dan *Outer Membrane Protein (Omp) S. flexneri*.
- Untuk mengetahui kemiripan reaksi antigen-antibodi antara antibodi protein pili dan antigen protein pili dengan antara antibodi protein pili dan antigen protein Omp *S. flexneri*.

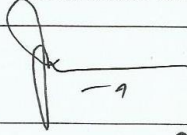



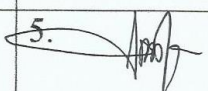

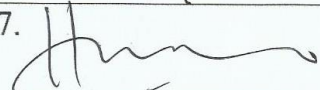

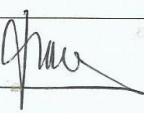



Rumusan Masalah

- Berapa berat molekul protein pili *S. flexneri* dan *Outer membrane protein (Omp)* *S. flexneri* yang berperan sebagai protein hemagglutinin ?
 - Apakah terdapat reaksi silang antara antibodi protein pili *S. flexneri* dengan *Outer membrane protein (Omp)* *S. flexneri* yang merupakan protein hemagglutinin ?
 - Apakah terdapat kemiripan reaksi antigen-antibodi antara antibodi protein pili dan antigen protein pili dengan antara antibodi protein pili dan antigen protein Omp *S. flexneri* ?
-
- Omp *S. flexneri* 2a ➔ antigen yang imunodominan di membran luar bakteri gram negatif
 - Omp *S. flexneri* 2a ➔ antigen *cross reactive* dan umum di antara *Shigella spp.* dan epitop secara luas dikenali pada permukaan sel serta mampu membangkitkan kekebalan protektif pada tikus.



DAFTAR HADIR

HARI/TANGGAL : Senin / 23-5-2016
 TEMPAT : Ruang Diskusi
 ACARA : Seminar proposal.

NO	NAMA	TANDA TANGAN
1.	Umayatus Sy.	1. 
2.	Ayus Mulyas	2. 
3.	Fidia R. I	3. 
4.	A. Abdothi	4. 
5.	Erika Rani	5. 
6.	Ervin	6. 
7.	Anik Ishiyana	7. 
8.	Rizma Aprinda K.	8. 
9.	Reskeyana	9. 
10.	Iva Umiati	10. 
11.	Sunila	11. 
12.	Amalia	12. 

UNDANGAN

Malang, 20-Mei-2016

Kepada:

Yth :

Di tempat

Assalamualaikum Wr. Wb.

Mengharap dengan hormat kehadiran Bapak/Ibu pada :

Hari/Tanggal : Senin, 23-Mei-2016

Waktu : 13.00-16.00 WIB

Tempat : Ruang diskusi Saintek

Acara : Seminar proposal : Reaksi Antigen-antibodi antara Protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri* dengan sub unit 18 kDa *S. dysenteriae*

Pembicara : dr. Alvi Milliana

Besar harapan kami, apabila Bapak/Ibu berkenan hadir pada undangan Kami. Atas perhatian dan kerjasamanya, kami ucapkan terima kasih

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

dr. Alvi Milliana

PROPOSAL PENELITIAN
Reaksi Antigen – Antibodi antara Protein sub Unit
pili 18 kDa dengan sub unit Omp *Shigella*
dysenteriae

Oleh :
Alvi Milliana

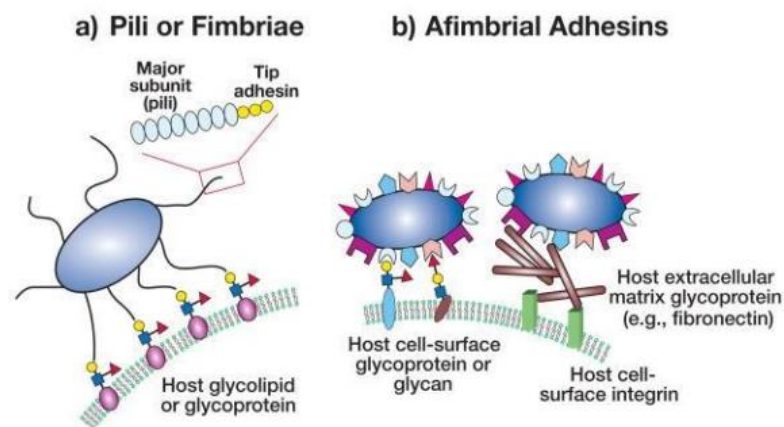
Disampaikan pada : seminar proposal Penelitian Kompetitif 2016
LP2M UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
23 Mei 2016

Latar Belakang

- Shigellosis ➔ diare, penyebab : *Shigella spp.*
- Endemis
- Di negara berkembang , menjadi penyebab mortalitas dan morbiditas terutama balita
- 63,2% merupakan *Shigella flexneri* (Herwana, 2010).
- Penyebab diare berdarah : *S. dysenteriae*

Shigella

- Bakteri Gram-negatif, family Enterobacteriaceae , bentuk basil non-motil.
- *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. sonnei* dan *S. boydii*.
- *S. dysenteriae* (15 serotipe),
- *S. flexneri* (6 serotipe dan 2 varian), &
- *S. boydii* (20 serotipe) (Ploeg, et al., 2010).



Mekanisme perlekatan bakteri dengan permukaan sel hospes: (a) pili atau fimbriae adhesion (FA) (b) Afimbrial adhesion (AFA) (Nezet, et al., 2009)

- *Pili* dan *Outer Membrane Protein (Omp)* → molekul adhesin pada banyak spesies bakteri, famili *Enterobacteriaceae*
- Pengembangan vaksin dari molekul adhesin → membentuk sistem pertahanan tubuh yang lebih kuat
- antibodi dari *Omp S. flexneri* 34 kDa juga memiliki kelebihan dapat bereaksi pada spesies *Shigella* lainnya (Pore, et al., 2010).

Rumusan Masalah

- Berapa berat molekul protein pili *S. flexneri* dan *Outer membrane protein (Omp) S. dysenteriae* yang berperan sebagai protein hemagglutinin ?
- Apakah terdapat reaksi silang antara antibodi protein pili *S. flexneri* dengan *Outer membrane protein (Omp) S. dysenteriae* yang merupakan protein hemagglutinin ?

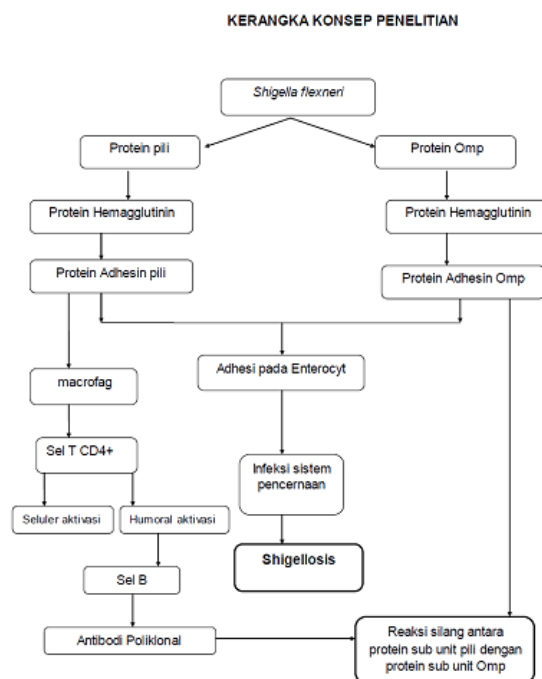
Tujuan Khusus

- Untuk mengetahui berat molekul protein pili *S. flexneri* dan *Outer membrane protein* (Omp) *S. dysenteriae* yang berperan sebagai protein hemagglutinin.
- Untuk mengetahui adanya reaksi silang antara antibodi protein pili *S. flexneri* yang merupakan protein hemagglutinin dan *Outer Membrane Protein* (Omp) *S. dysenteriae*

Manfaat penelitian

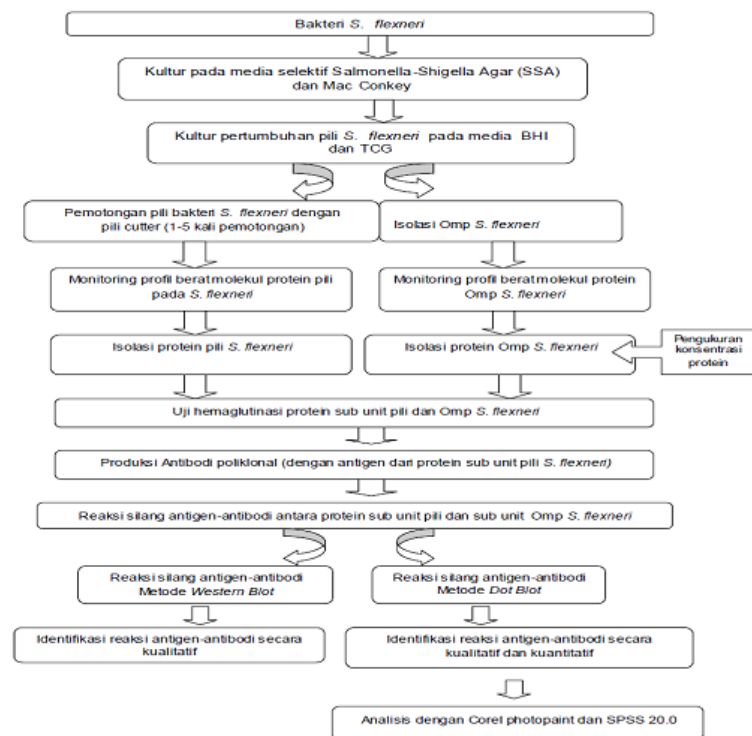
- Menemukan dan menjelaskan bahwa protein pili dan *Outer membran protein* (Omp) *S. flexneri* merupakan protein hemagglutinin yang diduga sebagai protein adhesin.
- Memberikan informasi baru mengenai protein adhesin pada pili bakteri *S. flexneri* yang menempel pada permukaan usus host.
- Dasar pengembangan vaksin *Shigella* berbasis molekul adhesin pada masa berikutnya

- Membuktikan hubungan keeratan antara protein sub unit pili *S. flexneri* dan sub unit Omp *S. dysenteriae*
- Hasil penelitian ini diharapkan menjadi inovasi pengembangan vaksin yang handal untuk *Shigellosis*.




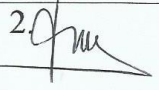





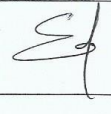



Metode Penelitian

- Desain penelitian : *deskriptif eksploratif* => mengidentifikasi protein pili dan Omp *S. flexneri* dan *S. dysenteriae* yang berperan sebagai protein hemaglutinin
- *Eksperimental* : reaksi antigen dan antibodi protein pili dan Omp dengan metode Western blot dan Dot blot
- Tempat dan waktu :
 - ✓ Laboratorium biomedik dan mikrobiologi FKUB
 - ✓ Laboratorium fisiologi hewan dan genetika UIN
 - ✓ Laboratorium Sentral Ilmu Hayati UB



DAFTAR HADIR

HARI/TANGGAL : Senin / 23-5-2016
 TEMPAT : Ruang Diskusi Fisika
 ACARA : Seminar Proposal.

NO	NAMA	TANDA TANGAN
1.	A. Abtolah	1. 
2.	Risreyah	2. 
3.	Fidia R:1	3. 
4.	Risma Aprinda K.	4. 
5.	Umayyatus sy.	5. 
6.	Erika Rani	6. 
7.	Agus Mulyono	7. 
8.	Ervin	8. 
9.	Anik Lishyama	9. 
10.	Amalia	10. 
11.	Gumilc	11. 
12.		12.

UNDANGAN

Malang, 25-8-2016

Kepada:

Yth :

Di tempat

Assalamualaikum Wr. Wb.

Mengharap dengan hormat kehadiran Bapak/Ibu pada :

Hari/Tanggal : Jum'at, 26-8-2016

Waktu : 08.00-11.00 WIB

Tempat : Ruang diskusi Saintek

Acara : Seminar Hasil Penelitian : Reaksi Antigen-antibodi antara antibodi Protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri* dengan Antigen sub unit 18 kDa *S. flexneri*

Pembicara : dr. Avin Ainur

Besar harapan kami, apabila Bapak/Ibu berkenan hadir pada undangan Kami. Atas perhatian dan kerjasamanya, kami ucapkan terima kasih

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

dr. Avin Ainur

SEMINAR HASIL PENELITIAN
Reaksi Antigen – Antibodi antara Antibodi
Protein sub Unit pili dengan sub unit Omp
Shigella flexneri

OLEH :

AVIN AINUR

Disampaikan pada : seminar Hasil Penelitian Kompetitif 2016
LP2M UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
26 Agustus 2016

Latar Belakang

- Shigellosis → diare, penyebab : *Shigella spp.*
- Endemis
- Di negara berkembang , menjadi penyebab mortalitas dan morbiditas terutama balita
- Di Indonesia → studi di Jakarta pada bulan Februari 2005 - September 2007 → 612 anak umur 0-12 tahun → *Shigella* menyebabkan 9,3% diare
- 63,2% merupakan *Shigella flexneri* (Herwana, 2010).



Shigella

Bakteri Gram-negatif, family Enterobacteriaceae , bentuk basil non-motil.

S. dysenteriae, *S. flexneri*, *S. sonnei* dan *S. boydii*.

S. dysenteriae (15 serotipe),

S. flexneri (6 serotipe dan 2 varian), &

S. boydii (20 serotipe) (Ploeg, et al., 2010).

Shigella ➔ paling umum menyebabkan dysentri , 60% kasus *shigellosis* pada negara berkembang (WHO, 2005)

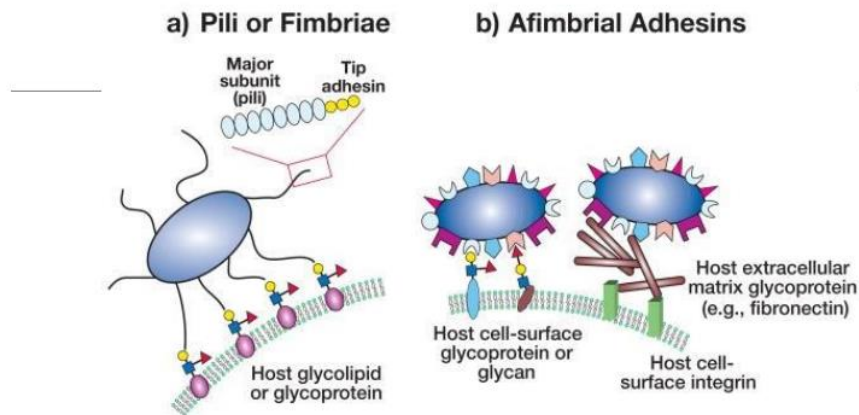
Pengetahuan terkini mengenai mekanisme patogenesis *Shigella* berasal dari penelitian infeksi *S. flexneri*.

S. flexneri ➔ >>> banyak di negara berkembang

Pili atau fimbriae

Berperan pada mekanisme perlekatan bakteri pada host.

Perlekatan antara bakteri dan sel hospes melalui pili ini tidak begitu kuat, namun ikatan pili pada sel hospes cukup spesifik dengan ikatan polisakarida.



Mekanisme perlekatan bakteri dengan permukaan sel hospes: (a) pili atau fimbriae adhesion (FA) (b) Afimbrial adhesion (AFA) (Nezet, et al., 2009)

Pili dan *Outer Membrane Protein (Omp)* → molekul adhesin pada banyak spesies bakteri, famili *Enterobacteriaceae*

Hemagglutinin → protein yang menjadi indikasi atas kemampuan adhesi bakteri → mengaglutinasi eritrosit

Pengembangan vaksin dari molekul adhesin → membentuk sistem pertahanan tubuh yang lebih kuat

antibodi dari *Omp S. flexneri* 34 kDa juga memiliki kelebihan dapat bereaksi pada spesies *Shigella* lainnya (Pore, et al., 2010).

Omp *S. flexneri* 2a → antigen yang imunodominan di membran luar bakteri gram negatif

Omp *S. flexneri* 2a → antigen *cross reactive* dan umum di antara *Shigella spp.* dan epitop secara luas dikenali pada permukaan sel serta mampu membangkitkan kekebalan protektif pada tikus.

Membuktikan hubungan keeratan antara protein sub unit pili dan sub unit Omp *S. flexneri*

Hasil penelitian ini diharapkan menjadi inovasi pengembangan vaksin yang handal untuk *Shigellosis*.

Rumusan Masalah

Berapa berat molekul protein pili *S. flexneri* dan *Outer membrane protein (Omp)* *S. flexneri* yang berperan sebagai protein hemagglutinin ?

Apakah terdapat reaksi silang antara antibodi protein pili *S. flexneri* dengan *Outer membrane protein (Omp)* *S. flexneri* yang merupakan protein hemagglutinin ?

Apakah terdapat kemiripan reaksi antigen-antibodi antara antibodi protein pili dan antigen protein pili dengan antara antibodi protein pili dan antigen protein *Omp S. flexneri* ?



Tujuan Umum

Untuk mengetahui adanya kemiripan karakter antara protein hemagglutinin pili dengan protein hemagglutinin *Omp S. flexneri*.

Tujuan Khusus

Untuk mengetahui berat molekul protein pili *S. flexneri* dan *Outer membrane protein (Omp)* *S. flexneri* yang berperan sebagai protein hemagglutinin.

Untuk mengetahui adanya reaksi silang antara antibodi protein pili *S. flexneri* yang merupakan protein hemagglutinin dan *Outer Membrane Protein (Omp)* *S. flexneri*.

Untuk mengetahui kemiripan reaksi antigen-antibodi antara antibodi protein pili dan antigen protein pili dengan antara antibodi protein pili dan antigen protein *Omp S. flexneri*.



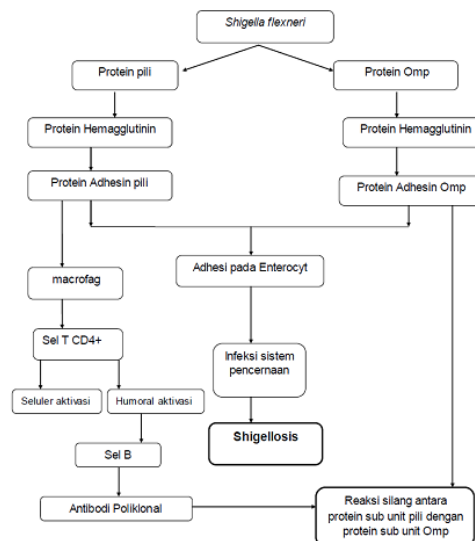
Manfaat penelitian

Menemukan dan menjelaskan bahwa protein pili dan *Outer membran protein (Omp)* *S. flexneri* merupakan protein hemagglutinin yang diduga sebagai protein adhesin.

Memberikan informasi baru mengenai protein adhesin pada pili bakteri *S. flexneri* yang menempel pada permukaan usus host.

Dasar pengembangan vaksin *Shigella* berbasis molekul adhesin pada masa berikutnya

KERANGKA KONSEP PENELITIAN



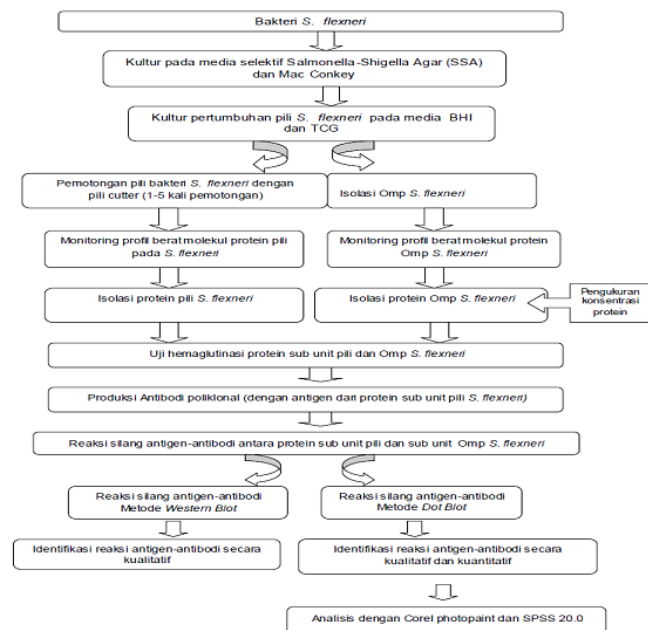
Metode Penelitian

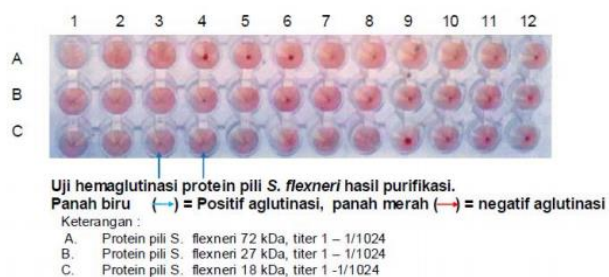
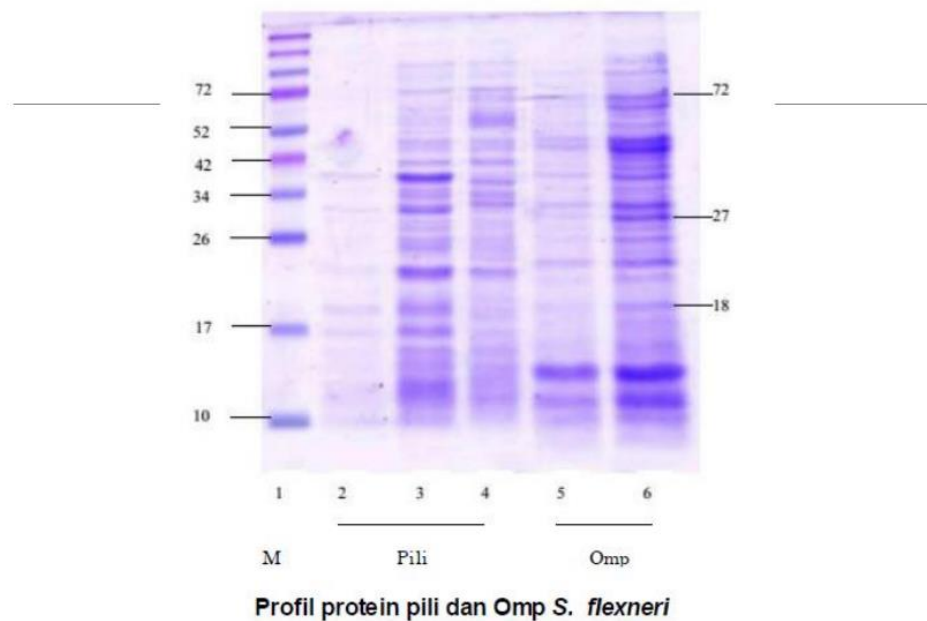
Desain penelitian : *deskriptif eksploratif* => mengidentifikasi protein pili dan Omp *S. flexneri* yang berperan sebagai protein hemagglutinin

Experimental : reaksi antigen dan antibodi protein pili dan Omp dengan metode Western blot dan Dot blot

Tempat dan waktu :

- ✓ Laboratorium biomedik dan mikrobiologi FKUB
- ✓ Laboratorium fisiologi hewan dan genetika UIN
- ✓ Laboratorium Sentral Ilmu Hayati UB





Rangkuman uji Hemaglutinasi Protein pili *S. flexneri* hasil purifikasi.

Antigen	Pengenceran											Kontrol (K)
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	
72 kDa	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27 kDa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18 kDa	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

protein pili *Shigella flexneri* → protein adhesi



perantara bakteri untuk perlekatan terhadap sel enterosit hospes

Pili/fimbriae → faktor adhesi yang diekspresi bakteri gram-negatif.



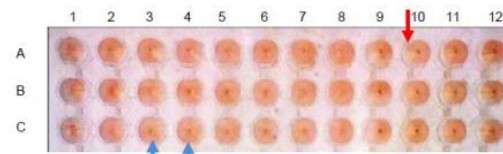
protein polimer permukaan sel bakteri sebagai mediator penting interaksi bakteri terhadap hospes (*Burrows, 2005*)

Protein pili 18 kDa dapat mengikat sel eritrosit pada pengenceran lebih tinggi → adhesi lebih kuat → pengenceran tertinggi mampu mengikat sel eritrosit.

bakteri mengaglutinasi eritrosit → kemampuan melakukan adhesi pada sel mukosa hospes



reseptor pada membran eritrosit memiliki kemiripan dengan reseptor pada sel mukosa hospes (*Chmiela, 1997*),



Uji hemaglutinasi *Omp S. flexneri* hasil purifikasi.
Panah biru (→) = Positif aglutinasi, panah merah (→) = negatif aglutinasi

Keterangan :
A. Omp BM 72 kDa, titer 1 – 1/1024
B. Omp BM 27 kDa, titer 1 – 1/ 1024
C. Omp BM 18 kDa, titer 1 – 1/ 1024

Rangkuman uji Hemaglutinasi *Omp S. flexneri* hasil purifikasi

Antigen	Pengenceran												Kontrol (K)
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024		
72 kDa	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
27 kDa	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
18 kDa	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	

Hasil *Check board* antibodi protein 18 kDa *S. flexneri* terhadap antigen protein 18 kDa *S. flexneri*

Ag/Ab	1/0	1/200	1/300	1/400	1/500	1/600	1/700	1/800	1/900	1/1000	1/1100	1/1200
1/10	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
1/20	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
1/40	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
1/80	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
1/160	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
1/320	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
1/640	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
K	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

Hasil Check board antibodi protein 18 kDa *S. flexneri* terhadap antigen protein 18 kDa *S. flexneri*

Ag/Ab	1/100	1/200	1/300	1/400	1/500	1/600	1/700	1/800	1/900	1/1000	1/1100	1/1200
1/10	74,05	131,12	102,74	101,11	94,20	127,75	110,3	132,7	125,15	132,17	105,45	135,49
1/20	85,53	78,52	88,30	87,057	52,85	101,85	-	95,95	92,88	119,12	115,50	148,23
1/40	54,72	68,59	50,91	72,74	53,94	112,49	58,15	80,15	105,34	94,59	104,41	129,09
1/80	79,57	88,96	65,54	104,73	60,93	115,42	80,37	85,33	110,00	113,22	127,53	148,52
1/160	54,21	65,70	54,93	70,85	58,50	101,24	83,30	90,76	97,16	95,04	119,30	132,58
1/320	64,19	73,90	70,88	90,90	53,45	110,21	73,43	85,20	88,94	105,83	120,80	138,07
1/640	68,20	78,66	75,66	72,24	59,41	97,67	67,96	85,20	95,05	103,45	109,51	107,57
K	64,10	100,42	78,45	109,70	104,58	61,94	66,02	105,52	119,97	151,28	147,75	154,48

zona ekuivalen terletak pada titer antibodi 1/500 dan titer antigen 1/20.

Pembentukan ikatan antigen antibodi

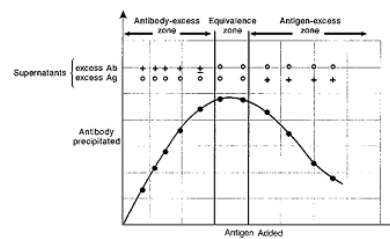


interaksi antibodi bivalen dan antigen multivalent

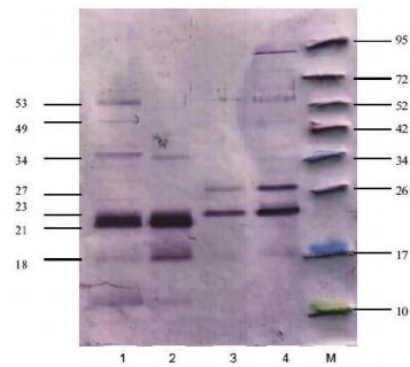


ikatan yang kompleks.

Semakin banyak epitop yang dikenali oleh antibodi, maka akan terbentuk ikatan yang semakin kompleks (Goldsby, et al., 2002)



Gambar 6.1. Kurva Presipitasi (Cruse, et al., 2004)



Hasil uji Western blot pada protein 18 kDa *S. flexneri* dengan potongan pili dan Omp *S. flexneri*

Keterangan :

1. Reaksi antigen-antibodi antara potongan pili 2 *S. flexneri* dengan antibodi protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri*
2. Reaksi antigen-antibodi antara potongan pili 3 *S. flexneri* dengan antibodi protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri*
3. Reaksi antigen-antibodi antara potongan Omp 1 *S. flexneri* dengan antibodi protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri*
4. Reaksi antigen-antibodi antara potongan Omp 2 *S. flexneri* dengan antibodi protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri*

Protein pili dengan berat molekul 18 kDa; 21 kDa; 34 kDa; 49 kDa; dan 53 kDa → memiliki epitop yang dapat dikenali oleh antibodi protein pili 18 kDa.

Protein OMP dengan berat molekul 23 dan 27 kDa memiliki epitop yang juga dapat dikenali oleh antibodi protein pili 18 kDa.

protein OMP memiliki sifat yang identik dengan pili

Hasil Dot Blot antara Antibodi Protein Sub Unit Pili 18 kDa dengan Antigen Protein Sub Unit Pili dan Omp *S. Flexneri*



Keterangan :

- Antibodi protein 18 kDa *S. flexneri* dengan antigen potongan pili 2 *S. flexneri* titer (1/500, 1/1000, 1/2000.....1/1024000).
- Antibodi protein 18 kDa *S. flexneri* dengan antigen sub unit pili 72 kDa *S. flexneri* titer (1/500, 1/1000, 1/2000.....1/1024000).
- Antibodi protein 18 kDa *S. flexneri* dengan antigen sub unit 27 kDa *S. flexneri* titer (1/500, 1/1000, 1/2000.....1/1024000).
- Antibodi protein 18 kDa *S. flexneri* dengan antigen sub unit 18 kDa *S. flexneri* titer (1/500, 1/1000, 1/2000.....1/1024000).
- Antibodi protein 18 kDa *S. flexneri* dengan antigen Omp potongan 2 *S. flexneri* titer (1/500, 1/1000, 1/2000.....1/1024000).
- Antibodi protein 18 kDa *S. flexneri* dengan antigen Sub unit Omp 72 kDa *S. flexneri* titer (1/500, 1/1000, 1/2000.....1/1024000).
- Antibodi protein 18 kDa *S. flexneri* dengan antigen sub unit Omp 27 kDa *S. flexneri* titer (1/500, 1/1000, 1/2000.....1/1024000).
- Antibodi protein 18 kDa *S. flexneri* dengan antigen sub unit Omp 18 kDa *S. flexneri* titer (1/500, 1/1000, 1/2000.....1/1024000).

Hasil Dot Blot antibodi protein pili 18 kDa *S. flexneri* terhadap antigen pili dan Omp *S. flexneri*

Agar	1/500	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000	1/16000	1/32000	1/64000	1/128000	1/256000	1/512000	1/1024000
a	184.94	185.806	191.56	186.96	202.72	204.53	203.55	201.14	204.65	203.42	205.50	210.55
b	180.28	194.54	193.97	197.29	202.89	206.14	206.91	210.57	209.18	212.04	210.43	214.62
c	178.30	171.60	180.69	181.13	198.36	199.40	199.42	202.13	207.01	210.70	205.35	211.28
d	188.13	186.72	187.47	194.63	196.20	199.62	202.60	206.06	210.47	209.63	209.56	216.28
e	184.58	192.50	184.06	198.63	198.91	202.47	203.00	203.01	207.33	206.63	209.93	209.97
f	173.71	180.51	197.66	190.61	191.35	192.38	203.23	204.32	204.21	205.99	207.46	211.60
g	199.46	202.69	195.04	197.85	197.85	194.48	201.18	205.00	202.85	203.15	215.95	213.71
h	184.22	174.44	190.71	193.63	180.15	180.11	203.67	202.31	202.05	219.36	217.24	219.50

Keterangan :

- Antigen potongan pili 2 *S. flexneri*
- Antigen sub unit pili 72 kDa
- Antigen sub unit pili 27 kDa
- Antigen sub unit pili 18 kDa
- Antigen Omp 2 *S. flexneri*
- Antigen sub unit Omp 72 kDa
- Antigen sub unit Omp 27 kDa
- Antigen sub unit Omp 18 kDa

Kesimpulan

Protein hemagglutinin sub unit 72 kDa; 27 kDa; dan 18 kDa terdapat pada pili dan Omp *S. flexneri*.


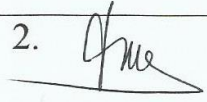

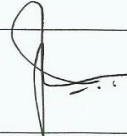


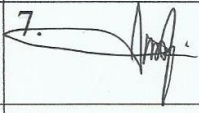

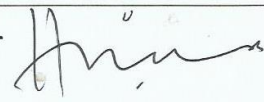


Antibodi protein hemagglutinin sub unit pili 18 kDa dapat direspon oleh protein sub unit pili 18 kDa; 23 kDa; 34 kDa; dan 53 kDa. Serta antibodi protein pili 18 kDa dapat direspon oleh protein sub unit OMP 23 kDa dan 27 kDa.

Terdapat kemiripan reaksi antigen-antibodi antara antibodi protein sub unit pili dengan antigen sub unit pili dan antara antibodi protein sub unit pili dengan antigen sub unit Omp *S. flexneri*.



DAFTAR HADIR

HARI/TANGGAL : Jumat / 26-8-2016
 TEMPAT : Ruang Diskusi
 ACARA : Seminar Hasil.

NO	NAMA	TANDA TANGAN
1.	Risma Aprinda K.	1. 
2.	Risyaqang	2. 
3.	A. Abtokhi	3. 
4.	Umangatus sy.	4. 
5.	Agus Mulyono	5. 
6.	Fidia K.1	6. 
7.	Erika Rani	7. 
8.	Euvri	8. 
9.	anik lishang	9. 
10.	amara	10. 
11.	Sunilic	11. 
12.		12.

UNDANGAN

Malang, 25-8-2016

Kepada:

Yth :

Di tempat

Assalamualaikum Wr. Wb.

Mengharap dengan hormat kehadiran Bapak/Ibu pada :

Hari/Tanggal : Jum'at, 26-8-2016

Waktu : 13.00-16.00 WIB

Tempat : Ruang diskusi Saintek

Acara : Seminar hasil penelitian : Reaksi Antigen-antibodi antara Protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri* dengan sub unit 18 kDa *S. dysenteriae*

Pembicara : dr. Alvi Milliana

Besar harapan kami, apabila Bapak/Ibu berkenan hadir pada undangan Kami. Atas perhatian dan kerjasamanya, kami ucapkan terima kasih

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

dr. Alvi Milliana

SEMINAR HASIL PENELITIAN
Reaksi Antigen – Antibodi antara Protein sub Unit
pili 18 kDa *S. flexneri* dengan sub unit Omp
Shigella dysenteriae

Oleh :
Alvi Milliana

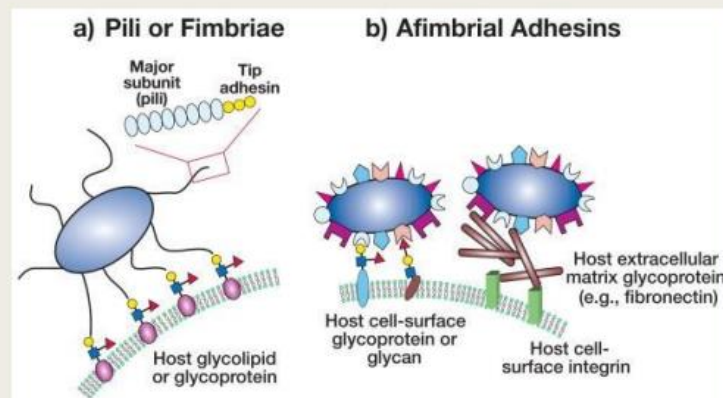
Disampaikan pada : seminar Hasil Penelitian Kompetitif 2016
LP2M UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
26 Agustus 2016

Latar Belakang

- Shigellosis → diare, penyebab : *Shigella spp.*
- Endemis
- Di negara berkembang , menjadi penyebab mortalitas dan morbiditas terutama balita
- 63,2% merupakan *Shigella flexneri* (Herwana, 2010).
- Penyebab diare berdarah : *S. dysenteriae*

Shigella

- Bakteri Gram-negatif, family Enterobacteriaceae , bentuk basil non-motil.
- *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. sonnei* dan *S. boydii*.
- *S. dysenteriae* (15 serotipe),
- *S. flexneri* (6 serotipe dan 2 varian), &
- *S. boydii* (20 serotipe) (Ploeg, et al., 2010).



Mekanisme perlekatan bakteri dengan permukaan sel hospes:
 (a) pili atau fimbriae adhesion (FA) (b) Afimbrial adhesion (AFA) (Nezet, et al., 2009)

- *Pili* dan *Outer Membrane Protein (Omp)* → molekul adhesin pada banyak spesies bakteri, famili *Enterobacteriaceae*
- Pengembangan vaksin dari molekul adhesin → membentuk sistem pertahanan tubuh yang lebih kuat
- antibodi dari *Omp S. flexneri* 34 kDa juga memiliki kelebihan dapat bereaksi pada spesies *Shigella* lainnya (Pore, et al., 2010).

- Membuktikan hubungan keeratan antara protein sub unit pili *S. flexneri* dan sub unit Omp *S. dysenteriae*
- Hasil penelitian ini diharapkan menjadi inovasi pengembangan vaksin yang handal untuk *Shigellosis*.

Rumusan Masalah

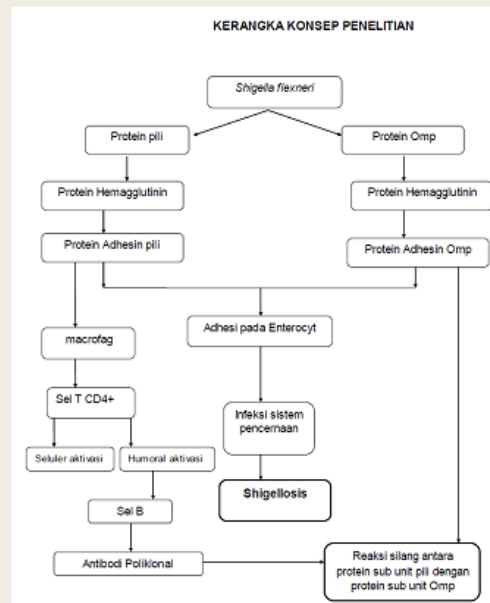
- Berapa berat molekul protein pili *S. flexneri* dan *Outer membrane protein (Omp)* *S. dysenteriae* yang berperan sebagai protein hemagglutinin ?
- Apakah terdapat reaksi silang antara antibodi protein pili *S. flexneri* dengan *Outer membrane protein (Omp)* *S. dysenteriae* yang merupakan protein hemagglutinin ?

Tujuan Khusus

- Untuk mengetahui berat molekul protein pili *S. flexneri* dan *Outer membrane protein* (Omp) *S. dysenteriae* yang berperan sebagai protein hemagglutinin.
- Untuk mengetahui adanya reaksi silang antara antibodi protein pili *S. flexneri* yang merupakan protein hemagglutinin dan *Outer Membrane Protein (Omp)* *S. dysenteriae*

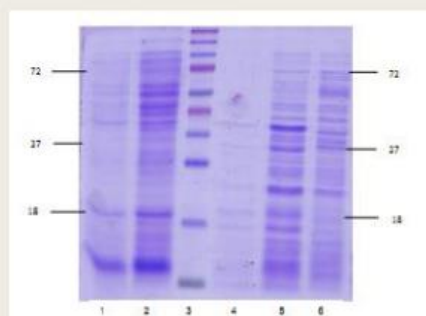
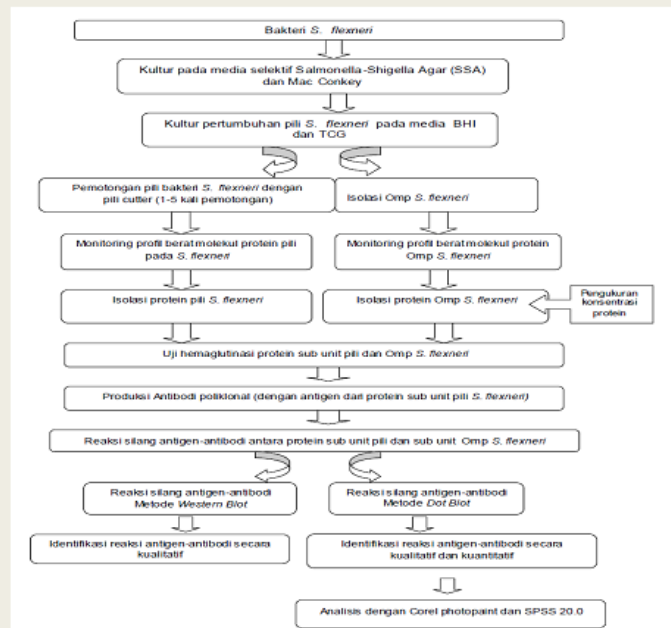
Manfaat penelitian

- Menemukan dan menjelaskan bahwa protein pili dan *Outer membran protein (Omp)* *S. flexneri* merupakan protein hemagglutinin yang diduga sebagai protein adhesin.
- Memberikan informasi baru mengenai protein adhesin pada pili bakteri *S. flexneri* yang menempel pada permukaan usus host.
- Dasar pengembangan vaksin *Shigella* berbasis molekul adhesin pada masa berikutnya



Metode Penelitian

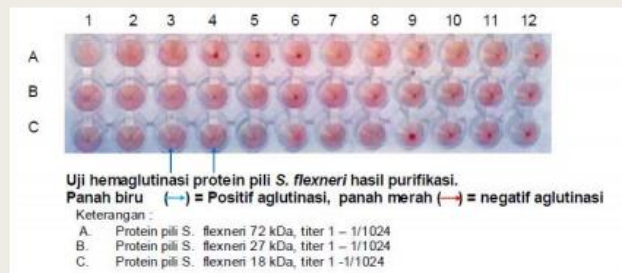
- Desain penelitian : *deskriptif eksploratif* => mengidentifikasi protein pili dan Omp *S. flexneri* dan *S. dysenteriae* yang berperan sebagai protein hemagglutinin
- *Eksperimental* : reaksi antigen dan antibodi protein pili dan Omp dengan metode Western blot dan Dot blot
- Tempat dan waktu :
 - ✓ Laboratorium biomedik dan mikrobiologi FKUB
 - ✓ Laboratorium fisiologi hewan dan genetika UIN
 - ✓ Laboratorium Sentral Ilmu Hayati UB



Profil protein pili *S. flexneri* dan Omp *S. dysenteriae*

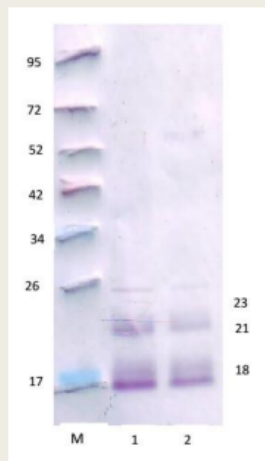
Keterangan :

1. Omp 1 *S. dysenteriae*
2. Omp 2 *S. dysenteriae*
3. Marker
4. Potongan pili 1 *S. flexneri*
5. potongan pili 2 *S. flexneri*
6. Potongan pili 3 *S. flexneri*



Rangkuman uji Hemaglutinasi Protein pili *S. flexneri* hasil purifikasi.

Antigen	Pengenceran											Kontrol (K)
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	
72 kDa	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27 kDa	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
18 kDa	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-



■ Hasil uji Western blot pada protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri* dengan Omp *S. dysenteriae*

■ Keterangan :

- Reaksi antigen-antibodi antara Omp isolasi 1 *S. dysenteriae* dengan antibodi protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri*
- Reaksi antigen-antibodi antara Omp isolasi 2 *S. dysenteriae* dengan antibodi protein sub unit pili 18 kDa *S. flexneri*

PEMBAHASAN

Hasil Western Blot menunjukkan kemampuan antibodi dalam merespon antigen protein Omp dari *S. dysenteriae*. Selain mengenali epitop dari protein pili *S. flexneri*, antibodi protein pili 18 kDa juga dapat mengenali epitop dari protein Omp *S. dysenteriae*. Sehingga dimungkinkan protein Omp memiliki sifat yang identik karena dapat dikenali oleh antibodi protein pili *S. flexneri*.

Protein hemagglutinin sub unit 72 kDa; 27 kDa; dan 18 kDa terdapat pada pili *S. flexneri* dan Omp *S. dysenteriae*. Serta antibodi protein hemagglutinin sub unit pili 18 kDa *S. flexneri* dapat direspon oleh sub unit Omp 18 kDa; 21 kDa; dan 23 kDa *S. dysenteriae*.

DAFTAR HADIR

HARI/TANGGAL : Jumat, 26-8-2016
 TEMPAT : Ruang Diskusi
 ACARA : Seminar Hasil penelitian

NO	NAMA	TANDA TANGAN
1.	Risma Aprinda K.	1.
2.	Ahmad Afotekur	2.
3.	Ayza Mulyono	3.
4.	Riskyaal	4.
5.	Fidia	5.
6.	Erika Rani	6.
7.	Ervin	7.
8.	Wa Umunti	8.
9.	Umayatus sy.	9.
10.	Anik Isthians	10.
11.	amalia	11.
12.	Sunji	12.

DOKUMENTASI KEGIATAN PRESENTASI HASIL PENELITIAN

