

EKSPRESI PROTEIN ADHF36 *STRAIN Salmonella Typhi* DARI BEBERAPA DAERAH DI INDONESIA

The Expression of ADHF36 Protein Salmonella Typhi Strain Collected from Some Areas in Indonesia

I Nengah Kundera¹, Aulanni'am², dan Sanarto Santoso³

¹Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako, Palu

²Jurusan Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang

³Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

E-mail: n_kundera@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui ekspresi protein AdhF36 *strain Salmonella Typhi*, sebagai kajian kandidat vaksin berbasis molekul adhesin. *Strain* yang digunakan pada penelitian ini bersumber dari Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung, Laboratorium Kesehatan Sulawesi Tengah, Palu, Rumah Sakit Udayana Denpasar, dan Rumah Sakit Saiful Anwar, Malang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sekitar 12 *strain Salmonella Typhi* tersebut mengekspresikan dan memiliki protein AdhF36. Hal ini memberikan gambaran umum bahwa protein AdhF36 potensial dikembangkan sebagai kandidat vaksin.

Kata kunci: protein AdhF36, *Salmonella Typhi*, vaksin

ABSTRACT

This research aims to determine the expression of AdhF36 protein of *Salmonella Typhi* strains regions, as molecular-based vaccine candidate adhesin. *Salmonella Typhi* strain used in this research was collected from Hasan Sadikin Hospital-Bandung, Health Laboratory of Central Sulawesi in Palu, Udayana hospital in Denpasar and Saiful Anwar Hospital in Malang. The results showed that approximately 12 strains of *Salmonella Typhi* expressed AdhF36 protein. This result indicated that AdhF36 protein can be developed as a potential vaccine candidate.

Key words: protein AdhF36, *Salmonella Typhi*, vaccine

PENDAHULUAN

Salmonella Typhi merupakan patogen fakultatif intraseluler yang memerlukan faktor virulensi untuk dapat hidup di dalam sel dan melakukan replikasi agar berhasil berkolonisasi masuk ke dalam jaringan (Burrows, 2005). Setelah melewati mulut, *Salmonella Typhi* menembus ke epitel intestinal melalui sel M dan berkolonisasi pada *Peyer's patches* (PPs). *Salmonella Typhi* kemudian menyebar melalui aliran darah untuk berkolonisasi dalam hati, limfa, dan tetap hidup serta melakukan replikasi dalam vakuola fagosit intraseluler (Khanum *et al.*, 2006; Cheminay *et al.*, 2005).

Apabila bakteri mencapai permukaan sel hospes, maka bakteri tersebut akan melekat pada sel hospes untuk melakukan kolonisasi. Kejadian ini penting terutama pada area permukaan mulut, usus halus, dan kandung kemih, karena permukaan mukosanya selalu tercuci dengan cairan. Pada area tersebut hanya bakteri yang mampu mengadakan perlekatan (*adhesion*) pada mukosa yang bisa tetap tinggal dan berkembangbiak. Ada dua strategi bakteri untuk mengadakan perlekatan pada permukaan hospes, yaitu melalui pili atau fimbriae dan *afimbrial adhesin* (AFA) (Brett-Finlay dan Siebers, 1995).

Fimbriae adalah protein polimer permukaan sel bakteri yang berfungsi sebagai mediator penting dalam berinteraksi dengan hospes dan hidup pada lingkungan, pengembangan *biofilms*, motilitas, kolonisasi, dan invasi pada sel serta konjugasi (McKane dan Judi, 1996; Burrows, 2005). Perlekatan bakteri pada

permukaan mukosa hospes merupakan faktor penting pada tahap awal proses infeksi. Fimbriae atau pili mirip batang rambut yang mudah lengket terdiri atas batang silindris pilus yang tersusun dari sub-unit pilin FimA dan ujung kecil *fibrillae* (*small-tip fibrillae*) yang tersusun dari FimF, FimG, dan *adhesin* FimH (Muscas *et al.*, 1994).

Mekanisme baru yang diperlihatkan adanya sekresi protein reseptor oleh bakteri, dengan target bagian internal sel hospes, difosforilasi, dan ditempelkan pada sel eukariotik yang merupakan reseptor baru yang berikatan secara kuat oleh bakteri. Namun disisi lain sekresi reseptor *hole protein-90* (Hp90) yang sebelumnya di dalam hospes menyediakan mekanisme lain, untuk menghambat adesi dan infeksi bakteri (Wizemann *et al.*, 1999).

Model mekanisme adesi bakteri tersebut potensial dikembangkan menjadi vaksin anti-adesi, sehingga mampu menghambat kolonisasi dan infeksi bakteri. Munculnya fimbriae pada permukaan sel bakteri, merupakan target antibodi menghambat perlekatan bakteri atau interaksi dengan hospes (Khanum *et al.*, 2006; Starks *et al.*, 2006). Ikatan antara *adhesin* dengan reseptor ini akan mengaktifkan kompleks *signal transduction* dalam sel hospes dengan berbagai konsekuensi termasuk aktivasi *innate host defenses* serta peningkatan kolonisasi bakteri dan invasi (Forest *et al.*, 2007).

Fimbriae mengikat suatu molekul *adhesin* yang berfungsi berikatan dengan reseptor seluler pada hospes, yang umumnya terdapat pada ujung atau pada

sepanjang tubuh dari struktur pili (Santoso, 2002). Pada penelitian terdahulu telah dilaporkan bahwa *strain Salmonella Typhi* yang diisolasi dari penderita demam tifoid di Malang diketahui memiliki *fimbrial adhesin* (FA) yang tergolong sebagai *fimbriae type-1* dengan BM 36 kDa, diberi nama AdhF36. Protein AdhF36 bertanggungjawab sebagai faktor virulensi pada proses adesi ketika terjadi kolonisasi (Rosenet *et al.*, 2008). Hal ini menarik untuk dikaji keberadaannya pada spesies *Salmonella Typhi* yang sama dari berbagai tempat di Indonesia sebagai kajian kandidat vaksin.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium yang bersifat eksploratif. Sebagai sampel penelitian digunakan *strain Salmonella Typhi* yang berasal dari Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung, Laboratorium Kesehatan Sulawesi Tengah, Palu, Rumah Sakit Udayana Denpasar dan *strain* dari Rumah Sakit Saiful Anwar, Malang. Pembiakan bakteri pada medium *triple sugar iron sugar* (TSIA) dilakukan melalui metode gores dan tusukan lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama 1x24 jam.

Identifikasi *Salmonella Typhi*

Sebanyak 12 isolat *Salmonella Typhi* yang diperoleh dari penderita demam tifoid dibiakkan pada medium Moeller Hinton Agar pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Koloni bakteri yang tumbuh diwarnai dengan pewarnaan Gram dan dilanjutkan penanaman pada medium deferensial MacConkey pada suhu 37° C, selama 18-24 jam. Hasil pertumbuhan koloni bakteri dari medium MacConkey ditanam lagi pada medium selektif *bismut sulfat agar* (BSA) pada suhu 37° C, selama 18-24 jam (Hernandez-Lucas *et al.*, 2008). Koloni bakteri yang tumbuh pada medium MacConkey dilakukan uji oksidase. Koloni bakteri diidentifikasi secara biokimiawi dengan *microbact system* untuk menentukan spesies bakteri.

Isolasi atau Pemisahan Fimbriae dari sel Bakteri

Biakan cair dari medium Mueller Hinton Broth (MHB) dipindahkan ke dalam tabung sentrifus 100 cc, lalu ditambahkan *trichloro acetic acid* (TCA) sehingga konsentrasinya menjadi 3%, dan disentrifus dingin pada suhu 4° C dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit. Endapan disuspensi dengan *phosphate buffer saline* (PBS) pH 7,4 secukupnya, dan selanjutnya dilakukan pemotongan fimbriae menggunakan alat omnimixer modifikasi pada suhu 4° C (Santoso, 2002). Selanjutnya disentrifus dingin 4° C dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit. Filtrat yang mengandung fraksi fimbriae dipisahkan, dan endapan disuspensi lagi dengan PBS pH 7,4 secukupnya, dan dilakukan pemotongan lagi. Proses pemotongan fimbriae diulangi beberapa kali guna mendapatkan perbedaan fraksi fimbriae dengan sel bakteri. Pemotongan fimbriae menggunakan metoda yang telah dilakukan oleh Hamada (1996) dan Santoso(2002). Pemurnian protein

melalui *sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE) dilaksanakan mengacu pada metode (Laemmli *et al.*, 1970; Gibson, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Identifikasi *Salmonella Typhi*

Untuk membuktikan kriteria sampel penelitian bahwa bakteri *Salmonella Typhi* yang digunakan berasal dari darah pasien yang telah didiagnosa menderita demam tifoid dilakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri *Salmonella*. Sebanyak 14 sampel bakteri yang diperoleh dari Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung, Laboratorium Kesehatan Sulawesi Tengah Palu, Rumah Sakit Udayana Denpasar, dan isolat dari Rumah Sakit Saiful Anwar Malang. Semua isolat tersebut diidentifikasi berdasarkan kriteria bakteri *Salmonella Typhi*. Ciri koloni bakteri *Salmonella Typhi* yang ditumbuhkan pada medium diferensial, khususnya MacConkey memperlihatkan koloni bulat, tepi tajam, permukaan halus, tidak berwarna atau buram, dan diameter koloni 1-3 mm. Beberapa kriteria koloni ini ternyata sesuai dengan kriteria dalam proses identifikasi *Salmonella Typhi*.

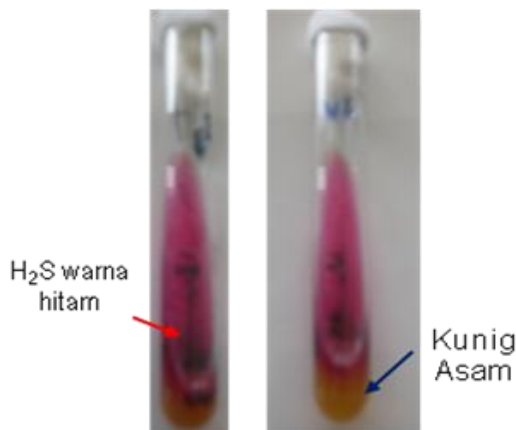
Medium MacConkey yang digunakan untuk isolasi *Salmonella Typhi*, merupakan medium selektif, dan media diferensial yang digunakan untuk mengisolasi bakteri basil enterik Gram negatif. Medium ini mengandung nutrisi dasar yang juga berisi kristal violet dan garam empedu yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Mikrob yang mampu tumbuh pada medium agar MacConkey, mampu memfermentasi laktosa dan menghasilkan produk sampingan berupa asam sehingga mengakibatkan penurunan pH di daerah sekitar koloni bakteri. Penurunan pH menyebabkan indikator yang berwarna merah pada kondisi pH normal berubah menjadi warna kuning. Mikrob yang tidak memfermentasi laktosa koloninya tidak berwarna dan tembus cahaya (transparan).

Hasil penelitian ini menunjukkan ciri koloni yang sesuai dengan harapan dalam proses identifikasi *Salmonella Typhi*. Selanjutnya diamati pertumbuhan koloni bakteri pada medium BSA yang berwarna hitam. Terbentuknya koloni warna hitam *Salmonella Typhi* pada medium BSA menunjukkan reaksi metabolisme bakteri dalam melepaskan hidrogen sulfida (H₂S). Isolasi *Salmonella* dengan medium BSA merupakan suatu media modifikasi BSA dari Wilson dan Blair yang diperkenalkan sejak tahun 1927. Media ini sejak awal dimanfaatkan untuk mengisolasi *Salmonella Typhi* dari perairan tercemar limbah serta dari bahan-bahan lain. Tipikal koloni *Salmonella Typhi* pada media ini adalah hitam dikelilingi oleh berwarna hitam kecoklatan dan sering memperlihatkan kemilau metalik. Media ini cukup memberi manfaat untuk isolasi *Salmonella Typhi* karena menunjukkan koloni khas hitam pekat (*black jet colony*).

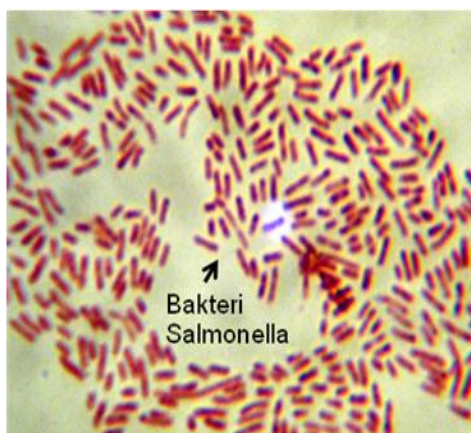
Penentuan karakterisasi *Salmonella Typhi* juga dilakukan melalui pembiakan bakteri pada medium

TSIA, untuk menentukan produksi H₂S, motilitas, dan sifat biokimia lainnya. Karakter *Salmonella* Typhi pada medium TSIA dapat disajikan pada Gambar 1. Berdasarkan hasil penelitian terbukti bahwa bakteri *Salmonella* Typhi mampu menghasilkan H₂S sebagai hasil metabolisme sampingan. Selain itu terjadinya perubahan warna merah pada indikator medium menjadi kuning adalah sebagai pertanda perubahan pH media akibat terbentuknya asam. Pada bagian media yang diinokulasi dengan cara tusuk terbentuk warna hitam yang menunjukkan terbentuknya H₂S, dari sisa metabolisme bakteri *Salmonella* Typhi. Pada uji ini telah terjadi fermentasi glukosa/dektrosa yang terdapat dalam media sebagai nutrisi, sehingga terbentuk sedikit H₂S.

Hasil uji oksidase menunjukkan hasil yang negatif sedangkan hasil uji motilitasnya dinyatakan positif. Hal ini sesuai dengan sifat-sifat bakteri *Salmonella* Typhi. Dari hasil pewarnaan Gram *Salmonella* Typhi, ternyata diperoleh sel bakteri yang berbentuk batang, dan berwarna merah maka yang digolongkan ke dalam bakteri Gram negatif (Gambar 2).



Gambar 1. Visualisasi hasil uji TSIA *Salmonella* Typhi



Gambar 2. Hasil pewarnaan Gram sel bakteri *Salmonella* Typhi, 1000x

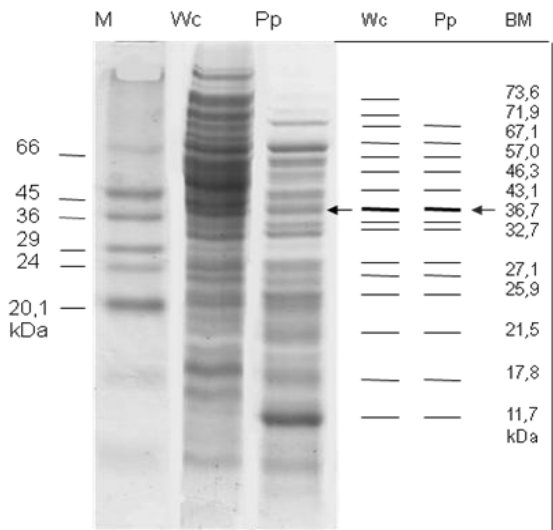
Pengujian sifat biokimia *Salmonella* Typhi bertujuan memperkuat hasil pengujian sebelumnya, guna menentukan sifat kimiawi dan kemampuan metabolisme *Salmonella* Typhi. Berdasarkan indikator

yang ditemukan, *Salmonella* Typhi termasuk bakteri yang mampu memfermentasi beberapa kelompok gula misalnya; glukosa, manitol, lisin, dan pembentukan H₂S. Namun disisi lain bakteri ini tidak mampu memfermentasi laktosa, yang terbukti dari uji indol negatif, dan uji urease negatif, serta bersifat motil.

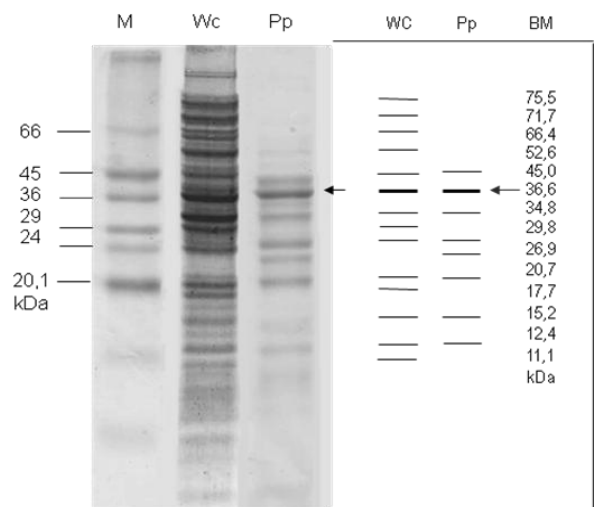
Berdasarkan kriteria uji biokimia tersebut di atas, 14 strain *Salmonella* yang diuji dengan kit *Mycrobact*, diperoleh 10 strain bakteri *Salmonella* Typhi yang layak dijadikan sampel penelitian. Persentase kedekatan hubungan ini juga turut menentukan hasil akhir dari identifikasi *Salmonella* Typhi yang bersumber dari Palu dan Bandung.

Hasil SDS-PAGE Protein AdhF36 *Salmonella* Typhi

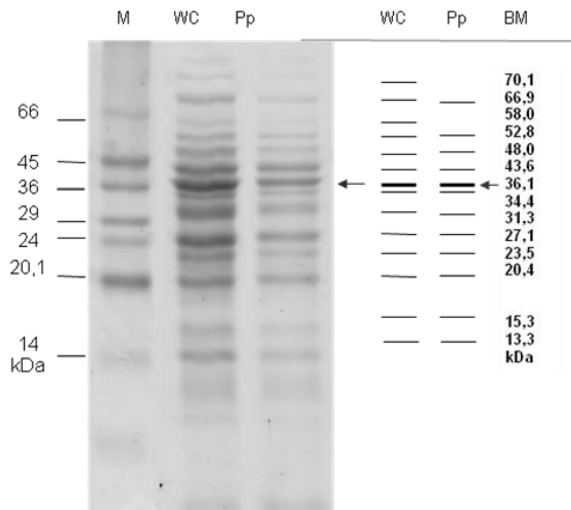
Hasil isolasi pemotongan protein pili *Salmonella* Typhi setelah dilakukan pengukuran BM protein yang diperoleh melalui SDS-PAGE dapat dilihat pada Gambar 3, 4, dan 5.



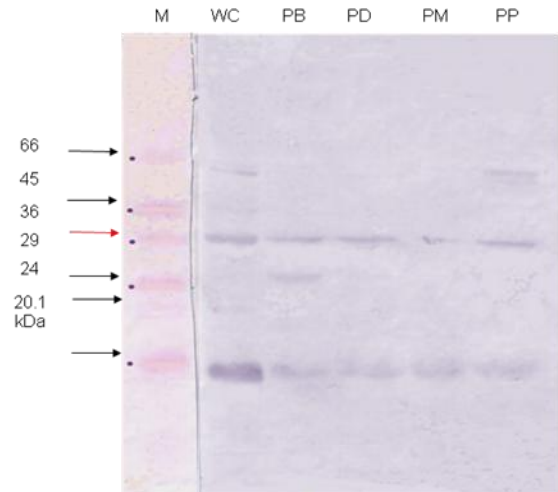
Gambar 3. Hasil SDS-PAGE protein pili/AdhF36, *Salmonella* Typhi isolat Denpasar (M= Protein marker; Wc= Whole cells protein; Pp= protein pili; kDa= kilo Dalton)



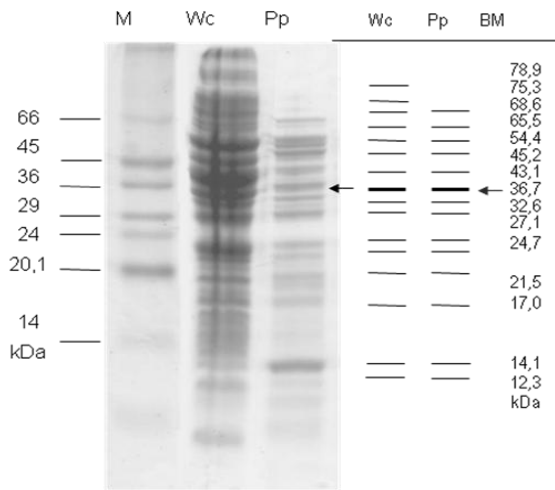
Gambar 4. Hasil SDS-PAGE protein pili/AdhF36, *Salmonella* Typhi isolat Bandung (M= Protein marker; Wc= Whole cells protein; Pp= protein pili; kDa= kilo Dalton)



Gambar 5. Hasil SDS-PAGE protein pili/AdhF36, *Salmonella Typhi* isolat Malang (M= Protein marker; WC= Whole cells protein; Pp= protein pili; kDa= kilo Dalton)



Gambar 7. Hasil uji Western Blot protein AdhF36 *Salmonella Typhi strain* Denpasar, Bandung, Malang, dan Palu (M= protein marker; WC= protein whole cells; PB= protein pili *S. Typhi* Bandung; PD= protein pili *S. Typhi* Denpasar; PM= protein pili *S. Typhi* Malang; PP= protein pili *S. Typhi* Palu)



Gambar 6. Hasil SDS-PAGE protein pili/AdhF36, *Salmonella Typhi* isolat Palu (M= Protein marker; Wc= Whole cells protein; Pp= protein pili; kDa= kilo Dalton)

Tabel 1. Hasil perhitungan berat molekul protein whole sel dan pili *Salmonella Typhi* isolat Denpasar, Bandung, Malang serta Palu

No.	S. Typhi-Denpasar		S. Typhi-Bandung		S. Typhi-Malang		S. Typhi-Palu	
	Wc	Pp	Wc	Pp	Wc	Pp	Wc	Pp
1.	73,6	73,6	75,5	-	70,1	-	78,9	-
2.	71,9	-	71,7	-	66,9	66,9	75,3	-
3.	67,1	67,1	66,4	-	58,0	52,8	68,6	68,6
4.	57,0	57,0	52,6	-	52,8	-	65,5	65,5
5.	46,3	46,3	45,0	45,0	48,0	48,0	54,4	54,4
6.	43,1	43,1	36,6	36,6	43,6	43,6	45,2	45,2
7.	36,7	36,7	34,8	34,8	36,1	36,1	43,1	43,1
8.	32,7	32,7	29,8	26,9	34,4	34,4	36,7	36,7
9.	27,1	27,1	26,9	24,2	31,3	31,3	32,6	32,6
10.	25,9	25,9	20,7	20,7	27,1	27,1	27,1	27,1
11.	21,5	21,5	17,7	-	23,5	23,5	24,7	24,7
12.	17,8	17,8	15,2	15,2	20,4	20,4	21,5	21,5
13.	11,7	11,7	12,4	12,4	15,3	15,3	17,0	17,0
14.			11,1		13,3	13,3	14,1	-
15.							12,3	12,3

Wc= wholecell protein, Pp= protein pili, (-) = tidak ada band protein

Selanjutnya untuk mengamati hasil isolasi kepemilikan protein AdhF36 pada keempat isolat *Salmonella Typhi* asal Denpasar, Bandung, Malang, dan Palu disajikan pada Gambar 3, 4, 5, 6, dan Tabel 1. Hasil isolasi dan SDS-PAGE protein adhesin fimbriae *Salmonella Typhi* isolat Denpasar diperoleh protein dengan berat molekul, 73,6; 71,9; 67,1; 57,0; 46,3; 43,1; 36,7; 32,7; 27,1; 25,9; 21,5; 17,5; dan 11,7 kDa pada potongan pili dan whole cells. Pada *Salmonella Typhi* isolat Bandung, ditemukan protein dengan berat molekul, 75,5; 71,7; 52,6; 45,0; 36,6; 34,8; 29,8; 26,9; 20,7; 17,7; 15,2; 12,4; 11,1 kDa pada whole cells dan potongan pili. Demikian juga pada *Salmonella Typhi* isolat Malang, ditemukan protein dengan berat molekul, 70,1; 66,9; 58,0; 52,8; 43,6; 36,1; 34,4; 31,3; 27,1; 23,5; 20,4; 15,3; dan 13,3 kDa pada whole cells dan potongan pili. Hasil SDS-PAGE protein fimbriae *Salmonella Typhi* isolat Palu, ditemukan protein dengan berat molekul 78,9; 75,3; 68,6; 65,5; 54,4; 45,2; 43,1; 36,7; 32,6; 27,1; 24,7; 21,5; 17,0; 14,1; 12,3 kDa pada whole cells dan potongan pili. Kisaran berat molekul protein yang ditemukan pada whole cells dengan potongan pili 11,1 kDa sampai 78,9 kDa. Sesuai dengan hasil SDS-PAGE protein adhesin fimbriae pada 4 isolat *Salmonella Typhi* tersebut, ternyata semua memiliki atau mensintesis protein AdhF36.

Menurut Baxter dan Jones (2005), beberapa molekul protein dengan berat molekul berkisar 45-110 kDa disebutkan sebagai reseptor fimbriae type-1 pada sel yang berbeda. Sesuai dengan protein standar (*Sigma Marker M3913 low range*; 6500-66.000 Dalton atau 6,5-66 kDa). Protein ini diyakini sebagai protein sub-unit fimbriae *Salmonella Typhi*. Menurut Muscas *et al.* (1994) fimbriae type-1 telah dimurnikan dari isolat *Salmonella Typhi* asal klinis. Hasil SDS-PAGE penyusunan fimbriae menunjukkan adanya komponen utama (fimbrellin) polipeptida 20,1 kDa dan polipeptida tambahan dengan berat molekul lebih besar dari 20,1 kDa ditemukan dalam jumlah lebih sedikit.

Menurut Nymu (2008), satu unit fimbri terdiri atas semua komponen struktural yaitu protein FimA, FimF, FimG, dan FimH. Diduga bahwa protein FimH jauh lebih rentan mengalami kerusakan dan depolimerisasi dibandingkan dengan protein fimbri FimA murni. *Fimbriae type-1* merupakan protein *heteropolymers*, karena satu organel mengandung sekitar 1000 komponen struktural protein FimA dan sebagai tambahan terdiri atas tiga protein lain yaitu protein FimF, FimG, dan FimH, yang membentuk 1-2% dari total protein fimbri. Protein FimA merupakan sub-unit utama yang membentuk 95% dari poros fimbri dan secara struktural bersifat antigen heterogen antara spesies yang berbeda. Kristal protein FimH dan daerah *sugar-binding* telah dipetakan ke setengah N-terminal (residu 1-156 aa) molekul, sedangkan wilayah yang berasosiasi dengan poros fimbri telah dipetakan ke setengah C-terminal (residu 160-277 aa) dari molekul protein FimH (Sokurenko *et al.*, 1994). Hal menjadi bukti ekspresi protein AdhF36 terkait dengan protein FimH *Salmonella* Typhi.

Berdasarkan hasil penelitian Muscas *et al.* (1994) menegaskan bahwa protein 20,1 kDa adalah komponen utama poros fimbri yang diyakini sebagai protein FimA *Salmonella* Typhi sedangkan protein dengan berat molekul yang lebih besar dari 20,1 kDa merupakan komponen tambahan termasuk protein FimH *Salmonella* Typhi. Oleh karena itu ekspresi protein AdhF36 isolat *Salmonella* Typhi, dapat diyakini sebagai komponen protein subunit FimH karena memiliki ciri yang sama serta kemampuan adesi terhadap sel enterosit. Semua reseptor glikoprotein tersebut memiliki *common oligomannose-containing attachment site* untuk protein FimH, *adhesin (mannose-binding subunit)* yang terdapat pada *fimbriae type-1*. Oleh karena itu protein yang terekspresi merupakan kelompok protein fimbri (*proteinfimbriaetype-1*), yang berperan sebagai media adesi terhadap sel hospes.

Perbedaan lingkungan hidup isolat *Salmonella* Typhi pada beberapa wilayah di Indonesia, tidak memberi perbedaan ekspresi protein AdhF36. Demikian juga pemanasan protein fimbri sampai suhu air mendidih (100° C) selama 5 menit sebelum proses *running* elektroforesis, ternyata tidak memengaruhi posisi berat molekul protein 36kDa pada SDS-PAGE. Hal ini membuktikan bahwa protein ini memiliki ikatan yang cukup stabil walaupun mengalami perubahan suhu oleh pemanasan. Hasil ini memberi gambaran umum bahwa protein AdhF36 cukup stabil bila diadaptasikan dengan suhu dalam usus manusia. Stabilitas ekspresi protein AdhF36 ini mungkin sangat terkait dengan faktor virulensi *Salmonella* Typhi pada hospes.

Hasil *western blot* juga memberi makna bahwa protein AdhF36 *Salmonella* Typhi, yang diisolasi dari komponen pili *Salmonella* Typhi dikenali oleh antibodi AdhO36 berdasarkan gradasi warna (Gambar 7) yang menunjukkan bahwa protein *fimbriae adhesin* ini direspon oleh antibodi poliklonal AdhO36. Selain itu antibodi poliklonal AdhO36 juga merespons antigen pada protein pili *Salmonella* Typhi dari Bandung,

Denpasar, Malang, dan Palu. Hal ini terkait dengan karakter protein pili pada kelompok bakteri Gram negatif sebagai media adesi dan pertahanan diri, sehingga mampu mengenali serta berikatan dengan minimal satu molekul epitop. Hasil ini menunjukkan bahwa ada kemiripan epitop dari penyusun sub-unit protein pili sehingga mampu menjalankan fungsinya sebagai protein *adhesin*.

Ekspresi kepemilikan protein AdhF36 isolat *Salmonella* Typhi sebagai faktor virulensi dan berperan sebagai media adesi, diharapkan mampu menghambat tahap awal aktivitas adesi bakteri bila digunakan sebagai kandidat vaksin. Walaupun hasil awal penelitian ini belum dilakukan, karakterisasi protein *adhesin* yang diekspresikan oleh empat isolat *Salmonella* Typhi tersebut, namun secara general dapat dijelaskan bahwa protein AdhF36 dimiliki dan diekspresikan oleh kelompok bakteri *Salmonella* Typhi di Indonesia. Penelitian ini juga diperkuat oleh penelitian Santoso (2002), bahwa protein AdhF36 memiliki sifat imunogenik dan mampu menghambat adesi pada sel enterosit mencit.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa bakteri *Salmonella* Typhi isolat Denpasar, Bandung, Malang, dan Palu secara umum terbukti mengekspresikan protein AdhF36.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada DP2M Ditjen Dikti Republik Indonesia yang telah membantu pendanaan penelitian ini, melalui Program Penelitian Hibah Bersaing tahun 2012.

DAFTAR PUSTAKA

- Baxter, M.A. and B.D. Jones. 2005. The *fim* YZ genes regulate *Salmonella enterica* serovar Typhimurium invasion in addition to type 1 fimbrial expression and bacterial motility. **Infect. Immun.** 73(3):1377-1385.
- Brett-Finlay, H. and C. Siebers. 1995. Mechanisms of Mucosal Colonization and Penetration by Bacterial Pathogens. In **Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens**. Roth, J.A., C.A. Bolin, K.A. Brogden, F.C. Minion, and M.J. Wannermuehler (Eds.). 2nd ed. ASM Press, Washington DC.
- Burrows, L.L. 2005. Weapons of mass retraction. **Mol. Microbiol.** 57:878-888.
- Cheminay, C., A. Mohlenbrink, and M. Hansel. 2005. Intracellular *Salmonella* inhibit antigen presentation by dendritic cells. **J. Immunol.** 174:2892-2899.
- Forest, C., S.P. Faucher, K. Poirier, S. Houle, C.M. Dozois, and F. Daigle. 2007. Contribution of the *stg* fimbrial operon of *Salmonella enteric* Serovar Typhi during interaction with human cells. **Infect. Immun.** 75(11):5264-5271.
- Gibson, D.L., A.P. White, C.M. Rajotte, and W.W. Kay. 2007. AgfC and AgfE facilitate extracellular thin aggregative fimbriae synthesis in *Salmonella enteritidis*. **J. Microbiol.** 153:1131-1140.
- Hamada, N., H.T. Sojar, M.I. Cho, and R.J. Genco. 1996. Isolation and characterization of a minor fimbria from *Porphyromonas gingivalis*. **Infect. Immun.** 64(11):4788-4794.
- Hernandez-Lucas, I., A.L. Gallego-Hernández, S. Encarnación, M. Fernández-Mora, A.G. Martínez-Batallar, H. Salgado, R.

- Oropeza, and E. Calva. 2008. The LysR-type transcriptional regulator LeuO controls expression of several genes in *Salmonella enterica* Serovar Typhi. **J. Bacteriol.** 190(5):1658-1670.
- Khanum, S., N. Us-Saba, M. Qayyum, B. Ul-Islam, and A.A. Qazibash. 2006. Emergence of multidrug resistant strains of *Salmonella* Typhi and Para Typhi A in the Rawalpindi/Islamabad. **J. Med. Sci.** 6(1):68-73.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature.** 227:680-685.
- McKane, L. and K. Judi., 1996. Microbiology Essentials and Applications. 2nd ed. McGraw-Hill, Inc. USA.
- Muscas, P., G.M. Rossolini, A. Chiesurin, A. Santucci, and G. Satta. 1994. Purification and characterization of type-1 fimbriae of *Salmonella* Typhi. **Microbiol. Immunol.** 38(5):353-358.
- Nagayama, K., T. Oguchi, M. Arita, and T. Honda. 1995. Purification and characterization of a cell-associated hemagglutinin of *Vibrio parahaemolyticus*. **Infect. Immun.** 63(5):1987-1992.
- Nymu, T. 2008. What to Use attach to the Small Intestine, Back To-Kidney, Taiwan. <http://www.igem.org>.
- Rosen, D.A., J.S. Pinkner, J.N. Walker, J.S. Elam, J.M. Jones, and S.J. Hultgren. 2008. Molecular variations in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* FimH affect function and pathogenesis in the urinary tract. **Infect. Immun.** 76(7):3346-3356.
- Santoso, S. 2002. Protein Adhesin *Salmonella* Typhi sebagai Faktor Virulensi Berpotensi Immunogenik pada Produksi S-IGA Protektif. **Disertasi.** Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sokurenko, E.V., H.S. Courtney, D.E. Ohman, P. Klemm, and D.L. Hasty. 1994. FimH family of type 1 fimbrial adhesins: Functional heterogeneity due to minor sequence variations among fimH genes. **J. Bacteriol.** 176:748-755.
- Starks, A.M., B.J. Froehlich, T.N. Jones, and J.R. Scott. 2006. Assembly of CS1 Pili: The role of specific residues of the major pilinCooA. **J. Bacteriol.** 188(1):231-239.
- Wizemann, T.M., J.E. Adamou, and S. Langermann. 1999. Adhesins as targets for vaccine development. **Emerg. Infect. Dis.** 5:395-403.