



Aktivitas Hemaglutinasi Protein Pili *Salmonella typhi* terhadap Eritrosit Manusia dan Domba

Nuraningsih¹, Sri Darmawati², Budi Santosa³

¹Program Studi DIV Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan

²Laboratorium Bakteriologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan

³Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan

nuraningsih21@gmail.com

Abstrak

Pili pada *S.typhi* tersusun oleh protein hemaglutinin yang dapat memperantarai perlekatan sel bakteri pada eritrosit sehingga terjadi aglutinasi dan berfungsi sebagai faktor kolonisasi. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis aktivitas hemaglutinasi protein pili pada *S.typhi* terhadap eritrosit manusia golongan darah A, B, AB, O dan eritrosit domba. Metode yang digunakan adalah hemaglutinasi dengan pembacaan titer 1/2 sampai dengan titer 1/2048. Hasil uji hemaglutinasi terhadap eritrosit manusia golongan darah A, B, AB, O dan eritrosit domba menunjukkan bahwa protein pili *S.typhi* mampu mengaglutinasikan berturut-turut terhadap eritrosit manusia golongan darah A (titer 1/8), B (titer 1/8), AB (titer 1/2048) dan O (titer 1/4) sedangkan terhadap eritrosit domba sampai pengenceran 32 kali (titer 1/32) dengan masing-masing menggunakan konsentrasi eritrosit 1% sebanyak 50 µl. Terjadinya hemaglutinasi disebabkan karena adanya kecocokan antara reseptor protein pili dengan struktur karbohidrat pada membran eritrosit. Perbedaan hasil dari aglutinasi sel darah merah manusia dan sel darah merah domba dengan protein pili *S.typhi* dapat dipengaruhi oleh antigen yang terdapat pada sel darah merah dan kandungan karbohidrat pada membran sel darah merah (Mutiawati, 2013). Semakin tinggi titer hemaglutinasi yang terjadi, maka semakin tinggi patogenitas dari *S.typhi* dalam menginfeksi sel host.

Kata kunci: *Salmonella typhi*, Protein Pili, Hemaglutinasi, Eritrosit sistem ABO

PENDAHULUAN

Demam tipoid merupakan infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* yang sampai saat ini masih menjadi masalah kesehatan dunia termasuk di Indonesia (Hamid & Joni, 2008). Di Indonesia, penyakit demam tipoid bersifat endemik yang tersebar di seluruh wilayah dengan jumlah yang tidak berbeda jauh antar daerah. Menurut data WHO (*World Health Organisation*) angka penderita demam tipoid di Indonesia mencapai 81% per 100.000 penduduk dan cenderung meningkat setiap tahunnya (Depkes RI, 2013). Pada tahun 2014 diperkirakan 21 juta kasus demam tipoid 200.000 diantaranya meninggal dunia setiap tahun (WHO, 2014). Bakteri *S. typhi* adalah bakteri berbentuk batang gram negatif, bersifat anaerob fakultatif yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. Bergerak menggunakan flagel peritrik, motil, tidak berspora, berkembang biak dengan cara membelah diri dan memiliki ukuran 1-3,5 µm x 0,5-0,8 µm (Jawetz, 2009). Masuknya bakteri ke dalam tubuh diawali dengan terjadinya perlekatan sel bakteri pada permukaan mukosa intestinal menggunakan pili (Darmawati, S, 2012). Pili merupakan filamen protein berdiameter 7 nm, digunakan oleh bakteri untuk menempel pada permukaan inang sel host, oleh karena itu pili mempunyai peran dalam proses patogenesis bakteri, selain itu pili mampu menginduksi terbentuknya respon imun pada hewan yang terinfeksi (Darmawati, 2005). Adhesi bakteri bentuk batang gram negatif diperankan oleh protein hemaglutinin dengan berat molekul tertentu yang dapat mengaglutinasi eritrosit mamalia (Hidayati, 2010). Bakteri *S. typhi* memiliki protein hemaglutinin fimbria dan OMP masing-masing dengan berat molekul 36 kDa yang mampu mengaglutinasi eritrosit mencit, marmot dan manusia golongan darah O, tetapi tidak mampu mengaglutinasi eritrosit domba, manusia golongan darah A, B, dan AB (Sanarto, 2002)

Eritrosit adalah sel yang berada di dalam darah berbentuk cakram bikonkaf dan mengandung hemoglobin (Sherwood L 2007). Permukaan eritrosit memiliki antigen tertentu, yaitu antigen A dan antigen B dimana ada tidaknya antigen tersebut dapat membedakan golongan darah (Hartanto, 2005). Penggolongan darah yang paling penting adalah dengan penggolongan ABO dan Rhesus (Kee, 2015). Antigen dalam golongan darah (aglutinogen) berada pada eritrosit, antibodi dalam golongan darah (aglutinin) terdapat pada plasma darah (Panji 2015). Sedangkan eritrosit domba merupakan antigen polivalen, yaitu protein dengan determinan potensial yang lebih besar dibandingkan dengan antigen monovalen dan bersifat tidak larut (Utami, 2016).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis aktifitas hemaglutinasi protein pilli *S. typhi* terhadap sel darah manusia berdasarkan golongan darah ABO dan domba.

METODE

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah hemaglutinasi, dengan tahapan penelitian berupa pencucian sel darah merah, pembuatan sel darah merah 1%, dan uji hemaglutinasi.

1. Pencucian Sel Darah Merah

Siapkan 0,5 mL darah, kemudian ditampung dalam tabung reaksi 10 mL. Setelah itu di sentrifuge kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Buang supernatan dan sisakan pellet, kemudian ditambahkan PBS pH 7,4 sampai 3/4 tabung. Darah disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit, supernatan dibuang dan ditambah PBS pH 7,4 sampai 3/4 tabung dan disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Lakukan pencucian sebanyak 3 kali, pada pencucian terakhir buang supernatan dan sisakan kurang lebih 1 mL. Sedimen yang didapat merupakan eritrosit 100%.

2. Pembuatan Sel Darah Merah 1%

Pembuatan eritrosit 1% sebanyak 1 mL dari eritrosit 100%.

$$V1 \cdot N = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 100\% = 1000 \mu\text{L} \cdot 1\%$$

$$V1 = 1000 \mu\text{L} : 100$$

$$V1 = 10 \mu\text{L}$$

Ditambah dengan PBS sampai 1000 μL

Eritrosit yang sudah dilakukan pencucian merupakan eritrosit 100%.

3. Uji Hemaglutinasi

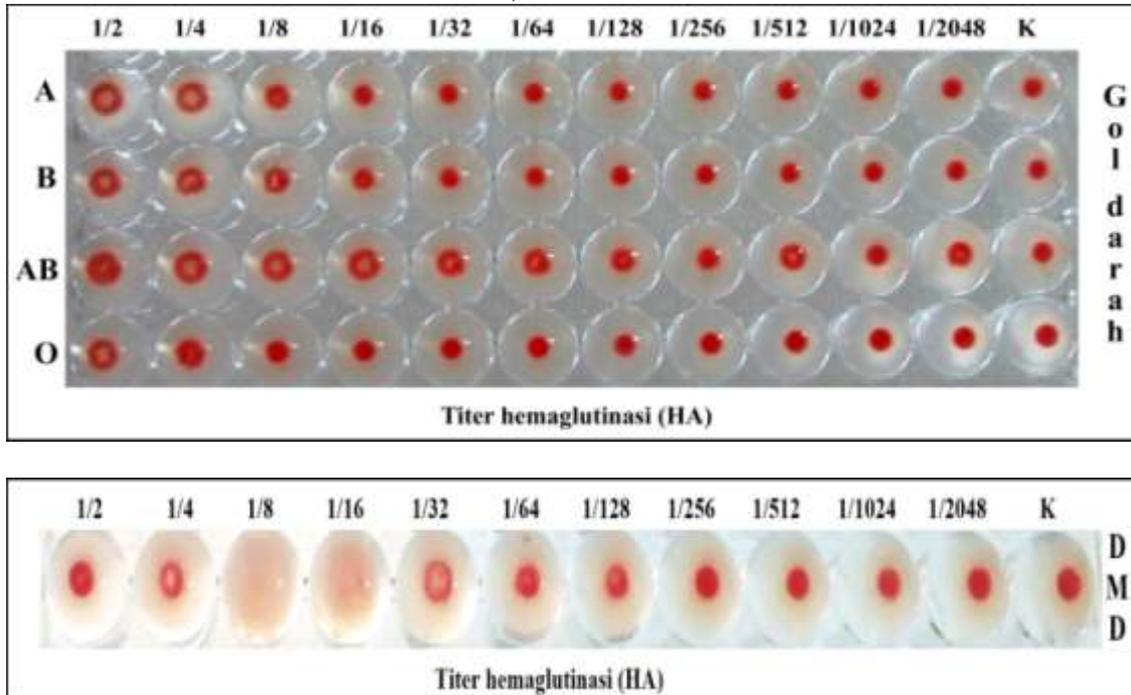
Uji hemaglutinasi eritrosit dilakukan dengan metode Hanne and Finkeltein (1982). Isi sumur pertama pada mikroplate U dengan 50 μL protein pilli *S. typhi* yang diencerkan dengan 50 μL PBS pH 7 sehingga mendapat konsentrasi 1: 2. Lakukan pengenceran serial pada sumur 2-11 dengan menambahkan 50 μL PBS pH 7 kemudian homogenkan. Tambahkan 50 μL eritrosit manusia golongan darah A dengan konsentrasi 1% ke sumur 1-11 sebagai sampel dan sumur ke-12 sebagai kontrol negatif. Goyangkan mikroplate secara perlahan menggunakan *shaker* selama 10 menit, setelah itu inkubasi pada suhu ruang selama 1 jam dan amati terjadinya hemaglutinasi. Prosedur yang sama dilakukan untuk uji hemaglutinasi menggunakan golongan darah B, AB, O dan eritrosit domba.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Gambar 1:

Hasil Uji Hemaglutinasi Protein Pilli *S.typhi* MG-1 terhadap Eritrosit Manusia Golongan A, B, AB dan O



Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari isolat *S.typhi* yang diambil pada penderita demam tifoid di Kota Magelang hasil isolasi kultur darah widal positif. Metode yang digunakan adalah hemaglutinasi dengan pembacaan titer 1/2 sampai dengan titer 1/2048. Uji hemaglutinasi terhadap sel darah merah manusia golongan darah A, B, AB, O dan Domba (1%) oleh protein pilli sebanyak 50 μ L. Hasil uji hemaglutinasi menunjukkan bahwa protein pilli *S. typhi* mampu mengaglutinasikan sel darah merah manusia golongan darah A sampai pengenceran 8 kali (titer 1/8), golongan darah B sampai pengenceran 8 kali (titer 1/8), golongan darah AB terjadi hemaglutinasi sampai pengenceran 2048 kali (titer 1/2048) dan pada golongan darah O terjadi hemaglutinasi sampai dengan pengenceran 4 kali (titer 1/4) yang ditunjukkan pada gambar 1 tabel 1. Serta dapat mengaglutinasikan sel darah merah domba sampai pengenceran 32 kali (titer 1/32) yang ditunjukkan pada gambar 2 tabel 1

Tabel 1:

Interpretasi Hasil Uji Hemaglutinasi Protein Pilli *S.typhi* MG -1

Eritrosit	Titer	Aktivitas Hemaglutinasi (HA)	Ket
A	1/8	8	+
B	1/8	8	+
AB	1/2048	2048	+
O	1/4	4	+
Domba	1/32	32	+

Pembahasan

Hemaglutinasi adalah terjadinya aglutinasi sel darah merah oleh berbagai komponen mikroorganisme seperti protein bakteri atau virus (Natih, 2010). Hemaglutinasi mempunyai aktifitas dalam perlekatan reseptor (Garjito, 2013). Uji hemaglutinasi berguna sebagai identifikasi adhesi pada beberapa protein bakteri. Adhesi bakteri merupakan suatu lektin, yaitu protein yang mempunyai afinitas tinggi untuk berikatan secara spesifik dengan karbohidrat pada reseptor sel hospes. Secara umum, lektin dapat mengaglutinasi sel eritrosit. Interaksi lektin dengan eritrosit dapat terjadi dengan spesifik berdasarkan tipe golongan darah. Spesifitas ini terjadi karena terdapat interaksi spesifik antara lektin dengan molekul karbohidrat pada permukaan sel yang disebabkan lektin secara struktur memiliki domain yang dapat berikatan secara spesifik dengan suatu molekul karbohidrat (Sharon. N *et al*, 2004). Lektin mengikat karbohidrat secara reversibel, mengikat endapan polisakarida dan glikoprotein sehingga terjadi penggumpalan. Penggumpalan juga disebabkan oleh adanya ikatan terhadap karbohidrat dalam darah, golongan darah A terdapat karbohidrat N-asetil-D-Galaktosamine, golongan darah B terdapat D-galaktosa, golongan darah O terdapat L-fucose. Protein pilli *S.typhi* mempunyai protein lektin yang mampu berikatan dengan semua karbohidrat yang terdapat pada semua jenis golongan darah.

Berdasarkan Tabel 4, dapat diketahui bahwa protein pilli *S.typhi* MG – 1 mampu mengaglutinasi eritrosit manusia golongan darah A sampai pengenceran 8 kali (titer 1/8), eritrosit manusia golongan darah B sampai pengenceran 8 kali (titer 1/8), eritrosit manusia golongan darah AB sampai pengenceran 2048 (titer 1/2048) dan eritrosit manusia golongan darah O sampai pengenceran 4 kali (titer 1/4). Sedangkan pada eritrosit domba dapat diaglutinasi sampai pengenceran 32 kali (titer 1/32). Hal ini terjadi karena pada membran eritrosit manusia golongan darah A, B, AB, dan O mempunyai karbohidrat yang strukturnya cocok dengan struktur protein pilli *S.typhi* MG-1, sedangkan struktur karbohidrat pada eritrosit domba hanya mengalami kesesuaian dengan struktur protein pilli *S.typhi* MG-1 sehingga tampak sebagai reaksi aglutinasi.

Perbedaan hasil dari aglutinasi sel darah merah manusia dan sel darah merah domba dengan protein pilli *S.typhi* dapat dipengaruhi oleh antigen yang terdapat pada sel darah merah dan kandungan karbohidrat pada membran sel darah merah (Mutiawati, 2013). Semakin tinggi titer hemaglutinasi yang terjadi, maka semakin tinggi patogenitas dari *S.typhi* dalam menginfeksi sel host. Dalam hal ini dapat dijadikan sebagai kandidat vaksin karena target utama dari hemaglutinin adalah merangsang terbentuknya antibodi pada sel hospes.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan kesimpulan bahwa protein pilli *S.typhi* MG-1 dapat mengaglutinasi eritrosit manusia golongan A sampai titer 1/8, golongan darah B sampai titer 1/8, golongan darah AB sampai titer 1/2048, dan golongan darah O sampai titer 1/4 dan dapat mengaglutinasi eritrosit domba sampai titer 1/32. Dengan menggunakan protein pilli *S.typhi* sebanyak 50 µl.

DAFTAR PUSTAKA

- Abrar, M. 2009. *Peranan Hemaglutinin Escherichia coli Dalam Proses Adhesi*. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh
- Abrar, M dkk. 2012. *Isolasi dan Karakterisasi Hemaglutinin Staphylococcus aureus Penyebab Mastitis Subklinis Pada Sapi Perah*. Jurnal Kedokteran Hewan. Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh
- Agustina, W dkk. 2012. *Antibody Protein Hemagglutinin Subunit Pili With MW 49,8 kDa Shigella Dsentrise Can Inhibit Shigella dysentriae Adhesion on Mice Enterocyte*. Journal of Pharmacy Vol 2 Issue 5. Malang

- Ariyati, I. 2016. *Hubungan Golongan Darah ABO dengan Kadar Kolesterol Darah Pada Pasien Hipertensi Di Puskesmas Panjaitan 1 Kulon Progo*. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta
- Cita, P. Y. 2011. *Bakteri Salmonella Typhi dan Demam Typoid*. Jurnal Kesehatan Masyarakat Vol 6 No 1
- Darmawati, S. 2009. *Keanekaragaman Genetik Salmonella Typhi*. Jurnal Kesehatan Vol 2 No 1. Analisis Kesehatan FIKKES UNIMUS. Semarang
- Darmawati, S. 2009. *Keanekaragaman Genetik Salmonella typhi*. Jurnal Kesehatan Vol 2 No 1. Analisis Kesehatan FIKKES UNIMUS. Semarang
- Darmawati, S dkk. 2012. *Analisis Molekuler Profil Protein Pilli Untuk Mengungkap Hubungan Similaritas 26 Strain Salmonella typhi Isolat Jawa*. Prosiding Seminar Nasional Unimus
- Gunawan, Y. 2012. *Gambaran Darah Merah Domba Yang Disuperovulasi Sebelum Kawin dan Disuntik hCG Hari Ke-6 Setelah Kawin Pada Awal Kebuntingan*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian. Bogor
- Natih, dkk. 2010. *Preparasi Immunoglobulin G Kelinci Sebagai Antigen Penginduksi Antibodi Spesifik terhadap Virus Avian Influenza H5N1 Strain Lengkok*. Jurnal Veteriner Vol. 11 No. 2 : 99-106, 2010. ISSN : 1411-8327
- Noorhamdani. 2005. *Protein Fimbria 16 kDa Bakteri Acinetobacter Baumannii Dari Urin Penderita Infeksi Saluran Kemih Berperan Sebagai Protein Hemagglutinin Dan Adhesin*. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang
- Luturmas, A dkk. 2010. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Vibrio alginolyticus Pada Ikan Kerapu Tikus (Cromileptes altivelis) Sebagai Faktor Virulensi Bakteri Patogen*. Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Pattimura
- Saptaningtyas, R dkk. 2015. *Haemagglutination Activity Of Salmonella typhi Flagellin Protein Based on ABO Blood Group*. Health and Nursing Faculty Muhammadiyah University Of Semarang. Semarang
- Sharon, N et al. 2004. *History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules*. Glycobiology vol. 14 no. 11
- Utama, H. I. 2000. *Aktivitas Hemagglutinasi Isolat Streptococcus agalactiae Pada Berbagai Sel Darah Merah Hewan Dan Manusia*
- Utami, P. Y dkk. 2016. *Uji Efek Immunostimulan Kombinasi Ekstrak Mahkota Bunga Kasumba Turate (Carthamus tinctorius L) Dan Ekstrak Umbi Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia) Pada Mencit (Mus musculus)*. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makasar