

**IDENTIFIKASI OUTER MEMBRANE PROTEIN (OMP) *Shigella flexneri*
SEBAGAI PROTEIN HEMAGLUTININ PADA ERITROSIT MENCIT**

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



Oleh:

Mustofa Aidid

NIM: 0910713022

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2013

DAFTAR ISI

Lembar Pengesahan	ii
Abstrak	iii
Abstract	iv
Daftar Isi	v
Daftar Tabel	ix
Daftar Gambar	x
Daftar Singkatan	xii
Kata Pengantar	xv
Bab 1 Pendahuluan	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Kegunaan Penelitian	3
1.4.1 Manfaat Akademik	3
1.4.2 Manfaat Praktis	3
Bab 2 Pembahasan	
2.1 Genus <i>Shigella</i>	4
2.2 <i>Shigellosis</i>	4
2.3 Struktur Dasar Histologi <i>Tractus Gastrointestinalis (GI)</i>	5
2.4 Sistem Imun pada Usus	7

2.5 Patogenesis <i>Shigellosis</i>	8
2.6 Peranan Gen <i>Shigella</i> dalam Invasi dan Virulensinya	10
2.7 Respon Imun Tubuh dalam Menghadapi Infeksi <i>Shigella</i>	12
2.8 Hemaglutinasi, Patogenitas, dan <i>OMP Shigella</i>	14
2.9 Kedekatan Hubungan <i>E. coli</i> , <i>S. Typhi</i> , dengan <i>Shigella spp.</i>	17

Bab 3 Kerangka Konsep Penelitian

3.1 Kerangka Konsep Penelitian	19
--------------------------------------	----

Bab 4 Metode Penelitian

4.1 Rancangan Penelitian	20
4.2 Populasi dan Sampel	20
4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian	20
4.4 Instrumen Penelitian	21
4.5 Definisi Operasional	21
4.6 Skema alur penelitian	22
4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data	23
4.7.1 Persiapan Mencit dan Pengambilan Darah Mencit	23
4.7.2 Persiapan Bakteri <i>S. flexneri</i>	24
4.7.3 Pengumpulan <i>Pili</i>	25
4.7.4 Persiapan Koleksi <i>OMP</i>	26
4.7.5 Persiapan Elektroforesis	27
4.7.6 Persiapan Elektroelusi dan Dialisis	29
4.7.7 Persiapan Uji Coba <i>HA (Hemagglutination Assay)</i>	30
4.8 Analisis Data	32

Bab 5 Hasil Penelitian

5.1 Hasil Kultur Bakteri <i>S. flexneri</i>	33
5.2 Uji hemaglutinasi bakteri utuh (<i>whole-cell</i>) <i>S. flexneri</i>	35
5.3 Pemrosesan sel utuh <i>S. flexneri</i> untuk mendapatkan OMP	36
5.4 Profil SDS-PAGE Sel Utuh, Pelet, <i>Pili</i> , dan OMP dari <i>S. flexneri</i>	38
5.5 Hasil Uji Hemaglutinasi OMP Terpilih	40

Bab 6 Pembahasan

6.1 Kultur dan Isolat bakteri <i>S. flexneri</i>	43
6.2 Elektroforesa OMP <i>S. flexneri</i>	44
6.3 Hasil Uji Hemaglutinasi Sel Utuh <i>S. flexneri</i>	45
6.4 Hasil Uji Hemaglutinasi dan Kitan antara Hemaglutinasi OMP <i>S. flexneri</i> dengan OMP dan Kemampuan Adhesi Bakteri Famili <i>Enterobacteriaceae</i> Lainnya	45

Bab 7 Kesimpulan

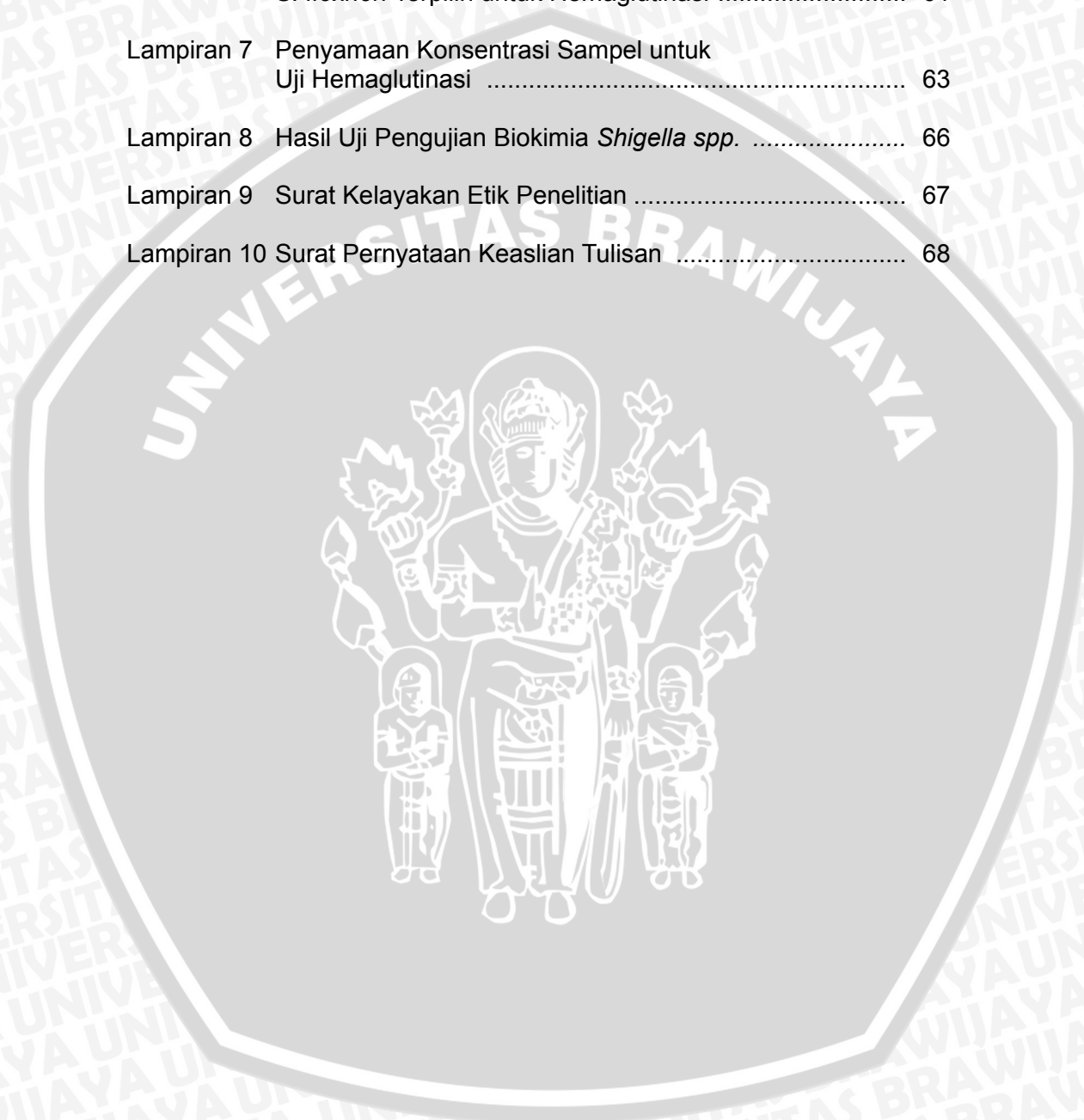
7.1 Kesimpulan	48
7.2 Saran	48

Daftar Pustaka	49
----------------------	----

Lampiran

Lampiran 1 Hasil Pemisahan Kultur <i>S. flexneri</i> dari Medium BHI dan Bahan Ekstra Selnnya	54
Lampiran 2 Hasil Pemotongan <i>Pili</i> Bakteri <i>S. flexneri</i>	56
Lampiran 3 Hasil Detergenisasi Bakteri <i>S. flexneri</i> dengan <i>CHAPS</i>	57
Lampiran 4 Perhitungan Berat Molekul OMP yang Menjadi Kandidat untuk Uji Hemaglutinasi.....	58
Lampiran 5 Hasil Produksi OMP untuk Elektroelusi dan Dialisa	60

Lampiran 6	Hasil Elektroelusi dan Dialisa <i>OMP</i> <i>S. flexneri</i> Terpilih untuk Hemaglutinasi	61
Lampiran 7	Penyamaan Konsentrasi Sampel untuk Uji Hemaglutinasi	63
Lampiran 8	Hasil Uji Pengujian Biokimia <i>Shigella spp.</i>	66
Lampiran 9	Surat Kelayakan Etik Penelitian	67
Lampiran 10	Surat Pernyataan Keaslian Tulisan	68



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Deskripsi Peran <i>Pili</i> dan <i>OMP</i> Bakteri Famili Enterobacteriaceae ..	18
Tabel 4.1	Jumlah Bahan untuk Pembuatan <i>Main Gel</i> dan <i>Stacking Gel</i> <i>SDS-PAGE</i>	26
Tabel L4.1	Perhitungan berat molekul sampel <i>OMP</i>	59
Tabel L7.1.	Perhitungan Berat Bersih Sampel yang Akan Diuji Hemaglutinasi	64
Tabel L7.2	Penyamaan Konsentrasi Sampel yang Akan Diuji Hemaglutinasi	64



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Skema Histologi <i>Tractus Gastrointestinalis</i>	5
Gambar 2.2	Struktur Histologi Folikel Limfa pada Usus (<i>Peyer's Patch</i>).....	7
Gambar 2.3	Patogenesis <i>Shigellosis</i>	8
Gambar 2.4	Struktur Putatif TTSA pada <i>S. flexneri</i>	11
Gambar 2.5	Peranan Gen dalam Patogenesis <i>Shigella spp.</i> dan <i>E. Coli</i>	12
Gambar 3.1	Kerangka Konsep Penelitian	18
Gambar 4.1	Skema Alur Penelitian	22
Gambar 5.1	Hasil Kutlur <i>Shigella spp.</i> pada medium SSA	33
Gambar 5.2	Gambaran mikroskopis sel bakteri <i>Shigella spp.</i> (pewarnaan Gram) pembesaran 1000x.....	34
Gambar 5.3	Hasil uji identifikasi bakteri menggunakan sistem Microbact™	34
Gambar 5.4	Hasil Uji Hemaglutinasi Bakteri Utuh <i>S. flexneri</i>	35
Gambar 5.5	Gambaran profil SDS-PAGE Sel Utuh, Pelet, <i>Pili</i> , dan <i>OMP</i> dari <i>S. flexneri</i>	38
Gambar 5.6	Hasil Uji Hemaglutinasi (HA) <i>OMP S. flexneri</i> yang sudah diseleksi menggunakan SDS-PAGE pengenceran 1/1 sampai 1/2 ²³	41
Gambar L1.1	Hasil Pengendapan Kultur <i>S. flexneri</i> dari Medium <i>BHI</i> yang sudah diberi <i>TCA</i>	54
Gambar L1.2	Hasil Pencucian <i>Pili S. flexneri</i> dari medium <i>BHI</i> dan Bahan Ekstra Selnya	55
Gambar L2.1	Hasil Pemotongan <i>Pili</i> Bakteri <i>S. flexneri</i>	56
Gambar L3.1	Hasil pemisahan <i>OMP S. flexneri</i> yang Telah Tercukur <i>Pili</i> -nya menggunakan <i>CHAPS</i>	57
Gambar L4.1	Profil SDS-PAGE dari Gambar 5.2 dengan Garis Referensi	59

Gambar L5.1 Hasil Produksi <i>OMP</i> untuk Isolasi <i>OMP</i>	60
Gambar L6.1 Hasil Isolasi <i>OMP</i>	61
Gambar L8.1 Hasil Uji Pengujian Biokimia <i>Shigella spp.</i> dari Labkesda Surabaya.	66



DAFTAR SINGKATAN

APS	: <i>Ammonium Persulfate</i>
Aquadest	: <i>Aquadestillata</i>
CD4	: <i>Cluster of Differentiation subtype 4</i>
CD80	: <i>Cluster of Differentiation subtype 80</i>
CHAPS	: <i>3-[(3-Chloamidopropyl)-dimethyl-ammonio]-propanesulfate</i>
BHI	: <i>Brain Heart Infusion</i>
ddH ₂ O	: <i>Double distilled H₂O</i>
dkk.	: <i>dan kawan-kawan</i>
<i>E. coli</i>	: <i>Eschericia coli</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
EIEC	: <i>Enteroinvasive E. coli</i>
<i>et al.</i>	: <i>et allies (id., dan kawan-kawan (dkk.))</i>
GALT	: <i>Gastrointestinal Associated Lymphoid Tissue</i>
Ha	: <i>Hemaglutinin</i>
HA	: <i>Hemagglutination Assay (id. Uji Hemagglutinas)</i>
IL-1	: <i>Interleukin – 1</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin - 1 - beta</i>
IL-12	: <i>Interleukin – 12</i>
IL-18	: <i>Interleukin – 18</i>
ics	: <i>intracellular sperading (gene)</i>

<i>ipa</i>	: <i>invasion plasmid antigen</i>
<i>ipg</i>	: <i>invasion plasmid gene</i>
kb	: <i>kilobase</i>
kDa	: <i>Kilo Dalton</i>
<i>LPS</i>	: <i>Lipopolysaccharide</i>
mL	: <i>mili litre (id., mili liter)</i>
<i>MN</i>	: <i>Mononuclear</i>
<i>MHCII</i>	: <i>Major Histocompatibility Complex type II</i>
<i>NFKB</i>	: <i>Nectrosis Factor Kappa Beta</i>
<i>NO</i>	: <i>Nitrogen Oxide</i>
No.	: <i>Nomer</i>
<i>NOG</i>	: <i>n-octyl-B-D-glucopyranoside</i>
<i>OMP</i>	: <i>Outer Membrane Protein</i>
<i>O9Sf</i>	: <i>OMP 9 kDa S. flexneri</i>
<i>O11Sf</i>	: <i>OMP 11 kDa S. flexneri</i>
<i>O28Sf</i>	: <i>OMP 28 kDa S. flexneri</i>
<i>O34Sf</i>	: <i>OMP 34 kDa S. flexneri</i>
<i>O55Sf</i>	: <i>OMP 55 kDa S. flexneri</i>
<i>PBS</i>	: <i>Phosphate Buffer Solution</i>
<i>PMN</i>	: <i>Polymorphonuclear</i>
<i>S. flexneri</i>	: <i>Shigella flexneri</i>
<i>S. dysenteriae</i>	: <i>Shigella dysenteriae</i>
<i>S. Typhi</i>	: <i>Salmonella Typhi</i>
<i>Sel-M</i>	: <i>Sel mikrofold</i>

SDS-PAGE : Sodium Dodecyl Sulfate – Polyacrilamide Gel Electrophoresis

SN1 : Supernatan pertama

SN2 : Supernatan ke-dua

SN3 : Supernatan ke-tiga

SN4 : Supernatan ke-empat

SSA : *Salmonella Shigella Agar*

spp. : *species*

TBS : *Tert-butyl dimethylsilyl*

TCA : *Trichloroacetic Acid*

TCG : *Tris-Citrate-Glucose*

TLR-2 : *Toll Like Receptor – 2*

TM : *Trade Mark*

TNF- α : *Tumor Necrosis Factor – alpha*

TTSA : *Type Three (III) Secretion Apparatus*

virB : *Virulence factor – B*

μ L : *micro litre (id., mikro liter)*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kita panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya. Rasa terima kasih yang tak lepas penulis sampaikan kepada :

1. Kedua orang tua penulis Hasan Zein Aidid dan Adibah Basalamah yang telah memebrikan dukungan materi dan moral, dan telah mendidik dan membesarkan penulis dengan baik dan penuh kasih sayang,
2. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya,
3. Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, MSc, Sp.ParK selaku ketua program Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya,
4. dr. Rita Rosita, M.Kes selaku dosen penguji, atas segala bimbingan, pengarahan dan kesabarannya sehingga TA ini dapat terselesaikan dengan baik,
5. Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM., SpMK(K) selaku dosen pembimbing pertama sekaligus dosen penguji, atas segala bimbingan, pengarahan dan kesabarannya, sehingga TA ini dapat terselesaikan dengan baik,
6. Prof. Dr. dr. Noorhamdani AS, DMM., SpMK(K) selaku dosen pembimbing kedua sekaligus dosen penguji, atas segala bimbingan, pengarahan dan kesabarannya, sehingga TA ini dapat terselesaikan dengan baik,
7. Keluargaku seluruhnya,
8. Sahabat-sahabat seperjuanganku, Rama dan Wilkha, Adi Sunarbowo dan Sunarbowo, Mba Lian, Mba Andina, teman-teman sejawat penelitian Vaksin

Shigella dysenteria yang tergabung dalam penelitian payung Prof. Sumarno tahun 2011, dan semua teman-temanku yang tidak dapat kusebutkan satu persatu, atas bantuan bahan-bahan rujukan dan bantuan tenaga waktunya,

9. Mas Ali, Mba Suci, Mas Slamet dan Mas Hendrik, dan Bu Uci lab. Mikro, serta seluruh staf Laboratorium Biomedik dan Mikrobiologi atas bantuannya dalam pelaksanaan penelitian ini,
10. Seluruh laboran dan staff Lab. Biomedik, Lab. Mikrobiologi, Lab. Faal, Lab. Biokimia, dan staff administrasi FKUB yang telah sabar memberikan bantuannya selama ini, dan
11. Segenap penghuni dan pengurus MNS Univ. Brawijaya Malang.

Demikian alhamdulillah penulisan tugas akhir ini penulis selesaikan dalam kurun waktu lebih kurang satu tahun. Akhir kata penulis mohon maaf jika dalam penulisan ini masih banyak terdapat kekurangan dan karenanya saran dan perbaikan akan penulis terima dengan senang hati dan dapat dikirim ke mustofa.aidid@gmail.com.

Penulis,

20 Juni 2013,

Mustofa Aidid