

Imunogenesitas Protein Pili *Salmonella Typhi* Pada Mencit Balb/C Dengan Mengukur Kadar TNF- α

Immunogenicity Of Protein Pili *Salmonella typhi* in BALB/c Mice by Measuring TNF- α Controls

Al Hidayani^{1*}

Sri Darmawati²

¹Universitas Muhammadiyah
Palangkaraya

²Universitas Muhammadiyah Semarang

*email: alhidayani@umpr.ac.id

Abstrak

Demam tifoid yang sering disebut penyakit tifus disebabkan oleh *Salmonella enterica* subspecies *enterica* sereovar *typhi* (*Salmonella typhi*). Virulensi bakteri *S.typhi* tergantung pada kemampuannya untuk menyerang sel hospes terdiri dari beberapa komponen seperti antigen dinding sel, antigen flagel, antigen Vi dan antigen pili. Pili merupakan salah satu faktor virulensi dari bakteri *S.typhi*, yang berfungsi sebagai alat untuk adhesi atau interaksi antara bakteri. Penelitian dilakukan untuk mengetahui bagaimana imunogenesitas protein pili bakteri *S.typhi* isolat BA07.4 yang diimunisasikan pada mencit Balb/C pada dosis yang bervariasi (2-6 μ g) dengan mengukur TNF- α . Analisis yang dilakukan didapatkan hasil optimum kadar TNF- α terdapat pada dosis 3 μ g dengan rerata kadar 62,152 pg/ml. Pada penelitian yang dilakukan, didapat hasil bahwa protein pili *S.typhi* dapat menginduksi antibodi spesifik terhadap antigen pili. Hal ini menunjukkan bahwa protein pili bersifat imunogenik, dapat menimbulkan terjadinya respon imun dan dapat menginduksi antibodi yang dapat mengenali sub unit protein pili yang diimunisasikan.

Abstract

Typhoid fever, often called typhoid disease, is caused by *Salmonella enterica* subspecies *enterica* sereovar *typhi* (*Salmonella typhi*). The virulence of *S.typhi* bacteria depends on its ability to invade host cells consisting of several components such as cell wall antigens, flagellum antigens, Vi antigens and pili antigens. Pili is one of the virulence factors of *S.typhi* bacteria, which functions as a tool for adhesion or interaction between bacteria. The study was conducted to determine how the immunogenicity of pili protein of *S.typhi* bacteria isolate BA07.4 was immunized in Balb/C mice at varying doses (2-6 μ g) by measuring TNF- α . The analysis carried out obtained the optimum results of TNF- α levels at a dose of 3 μ g with an average level of 62.152 pg / ml. In the research conducted, it was found that *S.typhi* pili protein can induce specific antibodies against pili antigens. This shows that the pili protein is immunogenic, can cause an immune response and can induce antibodies that can recognize the immunized pili protein sub-unit.

Kata Kunci:

Salmonella typhi, Protein pili,
Imunogenitas, TNF- α

Keywords:

Salmonella typhi, Pili protein,
Immunogenicity, TNF- α

PENDAHULUAN

Demam tifoid merupakan penyakit yang tersebar luas diseluruh dunia, terutama pada negara berkembang termasuk Indonesia (Bill et al., 2019).. Demam tifoid yang terjadi di Indonesia disebabkan antara lain karena faktor kebersihan makanan, kebersihan pribadi maupun lingkungan (Kementerian Kesehatan RI, 2013). Demam tifoid menduduki peringkat 3 dari 10 besar penyakit di rumah sakit dengan jumlah 5798 kasus. Untuk jumlah kasus demam tifoid di wilayah kerja Puskesmas Tlogosari Kulon pada tahun 2014 terdapat 211 kasus demam tifoid dan pada

tahun 2015 menduduki peringkat 4 kejadian demam tifoid di Kota Semarang dengan jumlah 570 kasus, pada tahun 2016 Puskesmas Tlogosari Kulon menempati peringkat 1 kejadian demam tifoid di Kota Semarang dengan jumlah 829 kasus.

Patogenitas bakteri *S.typhi* tergantung pada mikroba yang tertelan, strain virulensi, respon imun dari hospes dan juga paparan sebelumnya (Huang et al., 2005; Jajere., 2019). Virulensi bakteri *S.typhi* tergantung kemampuannya untuk menyerang sel hospes, yang memiliki lapisan lipopolisakarida lengkap, kehadiran antigen Vi, antigen somatik, antigen flagell, antigen pili, serta produksi dan ekskresi protein invasin. Pili

merupakan salah satu faktor virulensi dari bakteri *S.typhi*, tersusun dari protein pillin yang terdiri oleh beberapa sub unit protein pilli, disandi oleh gen *PilS*, yang diklasifikasikan sebagai pilli operon (Rakov et al., 2019). Pilli berfungsi sebagai alat untuk adhesi atau interaksi pengenalan antara bakteri, bakteri dengan sel pada permukaan sel hospes, serta bakteri dengan lingkungan di sekitarnya (Thanassi et al., 2012). Beberapa peneliti menggunakan antigen pilli *S.typhi* untuk mengukur kemampuan protein pilli dalam menimbulkan terjadinya respon imun dan menginduksi antibodi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental. Analisis data didapatkan dari data primer, setiap hasil yang didapatkan pada saat penelitian ditabulasikan dalam bentuk tabel ataupun gambar. Selanjutnya dianalisis secara deskriptif

1. Antigen protein pilli

Bahan penelitian yang digunakan dalam karakterisasi imunogenesitas protein pilli *Salmonella typhi* adalah; Protein pilli (sebagai antigen) *Salmonella typhi* BA07.4 isolat Semarang. Pelaksanaan penelitian diawali dengan Isolasi protein pilli dari *Salmonella typhi* dengan metode Bipasik, setelah itu dilakukan pemotongan dengan *super mixer*, selanjutnya dilakukan pemekatan dengan ammonium sulfat 40% dan dialisa hingga didapat protein pilli native (keseluruhan).

2. Imunisasi mencit

Hewan coba yang digunakan adalah mencit galur Blab/C betina umur 8 minggu dengan berat ± 30 gr setiap ekor (EC No. Sertifikat: 00034/04/LPPT/XI/2020).

3. Imunisasi mencit Balb/C untuk pengukuran TNF- α

Mencit Balb /C betina umur 8 – 10 minggu dengan berat ± 30 gr setiap ekor diimunisasi dengan cara sebagai berikut: pada hari pertama, dilakukan imunisasi

primer dengan emulsi dari 2, 3, 4, 5 dan 6 μ g antigen dalam PBS 1x dan *Freunds adjuvans* komplet 1:1 (v/v) metode intraperitoneal. Pada hari ke 14, dilakukan pengambilan darah pada masing-masing mencit, dengan tujuan untuk pengukuran kadar TNF- α .

4. Mengukur TNF- α

Pengukuran kadar TNF- α dilakukan dengan metode ELISA. Pada hari ke-14 masa percobaan, diambil darah (jantung) mencit kemudian pisahkan serum dan simpan pada suhu -20°C . Selanjutnya dilakukan uji ELISA TNF- α (*EliKineTM Mouse TNF- α ELISA Kit*). Absorbansi segera dibaca pada 450nm, konsentrasi sampel dihitung berdasarkan kurva standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

Data yang diperoleh dari hasil dianalisis secara deskriptif yang disajikan dengan tabel. Analisis dilakukan dengan menggunakan program SPSS *Statistic 17 for windows*.

Analisis data kadar TNF- α dilakukan dengan analisis secara deskriptif. Hasil pemeriksaan kadar TNF- α disajikan dalam tabel 1. Kadar optimum TNF- α ditunjukkan pada kelompok dosis 5 μ g dengan rerata kadar 36,392 pg/ML.

Tabel 1. Kadar TNF- α serum mencit Balb/C setelah Imunisasi dengan protein pilli *S.typhi* pada dosis 2-6 μ g

Dosis (μ g)	TNF- α [pg/mL]
	Mean \pm Std.Deviation
Kontrol (PBS 1x + Adjuvant komplet)	29,566 \pm 2,756
2	28,871 \pm 3,042
3	33,615 \pm 9,333
4	30,586 \pm 4,908
5	36,392 \pm 7,169
6	32,275 \pm 4,177

Analisis data kadar TNF- α pada mencit Balb/C diawali dengan analisis secara deskriptif, selanjutnya dilakukan pembuatan kurva untuk melihat regresinya dan dilanjutkan analisis menggunakan program SPSS. Hasil *One Way ANOVA* menunjukkan nilai *p* dari titer TNF-

α yaitu sebesar 0,455 ($p \leq 0,05$) dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara pemberian varian dosis dari antigen yang diimunisasikan pada mencit Balb/C terhadap kadar TNF- α .

PEMBAHASAN

TNF- α merupakan sitokin yang dihasilkan makrofag dan sel berinti satu yang lain, sebagai antibakteri yang baik melawan *Salmonella* spp, khususnya *Salmonella typhi*. Mekanisme utama pertahanan tubuh terhadap *S.typhi* pertama kali melalui perlawanan oleh neutrofil, kemudian diikuti oleh sel berinti satu. Secara *in vivo*, kadar TNF- α yang rendah terbukti dapat melindungi mencit dari infeksi *Salmonella*, dosis tinggi pemberian antigen memicu makrofag menginduksi TNF- α dengan kadar berlebih yang dapat menyebabkan gejala syok septik yang dapat berakibat fatal bagi hewan coba.

Hal ini setara dengan penelitian yang dilakukan oleh (Rogerson *et al.*, 2003; Poovassery *et al.*, 2010) menyatakan jika TNF- α merupakan suatu sitokin yang bersifat pirogen dan multifungsi diproduksi oleh makrofag, sel T, sel B serta sel mast, juga terlibat dalam immunoprotection/ perlindungan terhadap infeksi, tetapi juga berperan penting dalam penanda peradangan, autoimun serta patofisiologi. TNF- α pada kadarnya yang rendah dapat menjadi perlindungan bagi tubuh, dalam melawan antigen yang masuk, akan tetapi jika kadar yang dikeluarkan berlebihan, dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang sangat berat dan fatal (Irawati *et al.*, 2008).

KESIMPULAN

Protein pilli *S.typhi* bersifat imunogenik dapat menimbulkan terjadinya respon imun dan dapat menimbulkan terbentuknya antibodi yang dapat mengenali sub unit protein pilli yang diimunisasikan. TNF- α pada mencit Balb/C pada dosis imunisasi optimum 5 μ g, serta dapat menimbulkan terbentuknya antibodi pada dosis optimum 5 μ g.

Saran untuk penelitian selanjutnya diharapkan dilakukan pula pengukuran kadar TNF- α pada hari ke-4 setelah imunisasi mencit.

DAFTAR PUSTAKA

Bill. F, and M. G. Foundation. 2019. "Articles The Global Burden of *Typhoid* and *Paratyphoid* Fevers: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2017." *Lancet Infection Disease* 3099(18).

Irawati, L, N. Acang, and N. Irawati. 2008. "Artikel Penelitian Ekspresi Tumor Necrosis Factor-Alfa (Tnf- A) dan Interleukin-10 (Il-10) Pada Infeksi." *Majalah Kedokteran andalas* 10.

Poovasser, J, D. Sarr, G. Smith, T. Nagy, and J. M. Moore. 2010. "Malaria-Induced Murine Pregnancy Failure: Distinct Roles For Ifn- Γ And Tnf." *Nih Public Access* 183(8): 5342–49.

Rogerson, S. J Hviid, L. Duff, P. E. Leke, R. F. G. Taylor, D. W. 2003. "Placental Tumor Necrosis Factor Alpha but Not Gamma Interferon Is Associated with Placental Malaria and Low Birth Weight in Malawian Women." *Infection And Immunity* 71(1): 267–70.

Rakov, A. V, E. Mastriani, S. L. Liu, and D. M. Schifferli. 2019. "Association of *Salmonella* Virulence Factor Alleles with Intestinal and Invasive Serovars." *BMC Genomics*: 1–14.