

# Protein Haemagglutinin *Outer Membran Protein (OMP) 35 kDa* sebagai Protein Adhesin *Proteus mirabilis* pada Vesika Urinaria Kelinci

Enny Suswati\*) dan Diana Chusna Mufida

Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Jember  
JL. Kalimantan 37 Jember

Diterima 26-06-2009

Disetujui 25-11-2009

## ABSTRACT

*Proteus mirabilis* is opportunistic and nosocomial pathogen that usually found in clinical specimen from patients with catheter. The pathogenic mechanism of the bacteria are not fully elucidated especially its potential activity of the protein as hemagglutinin and adhesion molecule. The aim of this study is to evaluate the role of 35 kDa outer membrane protein from *P. mirabilis*. After identification, bacterial isolate of OMP fraction 12,5% SDS-PAGE were used to isolate OMP followed by hemagglutinin test and invitro adhesion test. The study showed that the 35 kDa OMP of *P. mirabilis* was a hemagglutinin protein that could agglutinate mice erythrocytes, rabbit erythrocytes, and human group O erythrocytes. Hemagglutination test were negative on erythrocytes human blood group A,B, and AB. The 35 kDa OMP was also adhesion protein showed by its activity to adhere to the rabbit vesica urinaria epithel receptor. The increase dose of 35 kDa OMP will decrease the amount of *P. mirabilis* bacteria to adhere to rabbit vesica urinaria epithel ( $p < 0,05$ ).

**Keywords:** adhesion protein, fimbriae, hemagglutinin protein, *Proteus mirabilis*

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang banyak diderita masyarakat Indonesia sejak dulu, diantaranya adalah infeksi saluran kemih (ISK). ISK merupakan keadaan tumbuh dan berkembang biaknya kuman dalam saluran kemih, meliputi infeksi di parenkim ginjal sampai infeksi di vesika urinaria dengan jumlah bakteriuria yang bermakna (Slayer & Whitt, 2002).

*Proteus mirabilis* merupakan salah satu penyebab terpenting ISK. ISK yang disebabkan oleh bakteri ini bersifat persisten, sulit diterapi, dan dapat berakibat fatal. *P. mirabilis* menghasilkan urease yang memecah urea menjadi ammonia dan karbondioksida yang akan meningkatkan pH urin. pH yang meningkat maka presipitasi komponen urin ( $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{Mg}^{2+}$ ) menjadi lebih mudah sehingga menimbulkan terbentuknya batu. Adanya batu baik di vesika urinaria dan ginjal menyebabkan infeksi saluran kemih menjadi persisten dan rekuren. Selain itu dengan adanya batu dan infeksi secara bersamaan akan mengakibatkan kerusakan ginjal, baik akut maupun kronik pyelonephritis dan juga dapat menimbulkan bakteremia (Perepelov *et al.*, 1999; Wassif *et al.*, 1995). Disamping itu *P. mirabilis* dapat invasi ke sel epitel dan menetap

di dalam sel epitel, menyebabkan bakteri ini menjadi sulit diterapi dengan beberapa jenis antibiotika seperti cotrimoksazol, amoksisilin-asam clavulonat, nitrofurantoin dan siprofloksasin (Mathoera *et al.*, 2002).

Patogenesis bakteri untuk menimbulkan suatu penyakit, secara umum ada dua tahap. Pada tahap pertama bakteri akan melakukan pelekatan ke sel inang, pada pelekatan awal diperankan oleh pili dan sifat pelekatannya adalah *anchoring*, setelah itu dilanjutkan dengan pelekatan melalui outer membrane sel, yang pelekatannya bersifat *doching*. Setelah melakukan pelekatan maka bakteri akan berkembang biak disertai dengan produksi bahan-bahan metabolisme bakteri yang dapat merugikan sel inang (Salyer & Whitt 2002).

Molekul adhesin merupakan salah satu faktor virulensi bakteri dan pada beberapa bakteri protein hemagglutinin berfungsi pula sebagai protein adhesin (Salyer & Whitt 2002; Noorhamdani 2005). Berat molekul adhesin bervariasi antara satu bakteri dengan bakteri yang lainnya. *Acinobacter baumannii* mempunyai molekul hemagglutinin dan juga merupakan molekul adhesin (Noorhamdani 2005). Demikian juga pada bakteri *Salmonella typhi* mempunyai molekul hemagglutinin yang juga berperan sebagai adhesin, yaitu protein pili dengan berat molekul 36 kDa (Sanarto

\*Telp: +62331337877

Email: enny\_suswati@yahoo.com

2002). Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa *Outer Membrane Protein P. mirabilis* merupakan protein hemagglutinin yang berfungsi sebagai adhesin, dengan berat molekul 35 kDa.

## BAHAN DAN METODE

**Identifikasi *P. Mirabilis*.** Spesimen secara aseptik ditanam pada medium agar Mac Conkey dan diinkubasi pada suhu 37°C, 18-24 jam. Koloni yang tumbuh dibuat pewarnaan Gram dan dilihat di bawah mikroskop. Identifikasi bakteri dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopis yaitu bakteri bentuk batang atau kokobasil. Jika dikultur pada media agar akan tampak fenomena swarming. Uji phenilalanin+, urease+, H<sub>2</sub>S +, ornithin+, indole-, fermentasi adonitol-, inositol-.

**Subkultur *P. Mirabilis*.** Bakteri yang akan digunakan adalah *P. mirabilis* galur lokal yang berasal dari urin pasien bakteriuria. Metode yang digunakan menurut petunjuk Ehara *et al.*, (1992), yaitu media TCG yang memperkaya pertumbuhan pili *P. mirabilis*. Media ini mengandung 0,02% thioproline, 0,3% NaHCO<sub>3</sub>, 0,15 bactotrytonr, 0,2% yeast extract, 0,5% NaCl, 2% bacto agar dan 1mM EGTA. Media agar dibuat dalam botol kapasitas 250 ml secara miring sebanyak 50 ml agar. *P. mirabilis* yang ditanam pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 jam. Kemudian suspensi bakteri sebanyak 10 ml dimasukkan dalam setiap botol yang mengandung media TCG. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam.

**Isolasi OMP *P. Mirabilis*.** Isolasi OMP *P. mirabilis* dilakukan dengan modifikasi Evans, sampel diambil dari endapan terakhir isolasi pili yang warnanya mendekati warna PBS, pelet disuspensikan dengan PBS pH 7,4 sampai volumenya sampai 15 kali kemudian ditambahkan (NOG) n-octyl B-D-glucopyranoside dengan konsentrasi 0,5%. Dihomogenkan dengan vortex menggunakan kecepatan penuh selama 1 menit. kemudian di setrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm suhu 4°C selama 30 menit. Cairan supernatan diambil dan dilakukan dialisa Cairan dialisis pada 24 jam pertama digunakan d H<sub>2</sub>O dan pada 24 jam kedua dipakai PBS pH 7,4 dilakukan sampai 6 kali.

**Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electroforesis (SDS-PAGE).** Monitoring berat molekul dikerjakan menggunakan SDS-PAGE (Smeds *et al.*, 2001). Sampel protein dipanaskan 100°C selama 5 menit

dalam larutan penyangga yang mengandung 5mM Tris HCl pH 6,8, 2- mercapto ethanol 5%, w/v sodium dodecyl sulfat 2,5%, v/v gliserol 10% dengan warna pelacak bromophenol blue. Dipilih mini slab gel 12,5% dengan tracking gel 4%. Voltase yang digunakan 125 mV. Bahan yang digunakan adalah coomassive brilliant blue dan molekul standart *sigma low range marker*.

**Pemurnian Fraksi Protein OMP.** Metode yang dilakukan seperti yang telah dikerjakan oleh Ehara dengan modifikasi (Sumarno 2000). Hasil SDS-PAGE koleksi fimbria gel, gelnya dipotong lurus pada bobot molekul yang diinginkan dan potongan pita tersebut dikumpulkan dan dimasukkan dalam membran dialisis memakai cairan penyangga elektroforesis, running buffer. Selanjutnya dilakukan elektroelusi menggunakan elektroforesis frontal apparatus aliran 125 mv selama 25 menit. Hasil elektroforesis dilakukan dialisis dengan cairan penyangga PBS pH 7,4 selama 2x24 jam @ 1 liter dan diganti dua kali. Cairan dialisat tersebut dilakukan uji hemagglutinasia.

**Uji Hemagglutinasia.** Uji hemagglutinasia dikerjakan menurut petunjuk dari Li (1999). Pengenceran sampel dibuat konsentrasi 1/2 pada mikroplat V, dimana tiap sumur volumenya 50 µl. Tiap sumur ditambahkan suspensi darah merah mencit konsentrasi 0,5% volume sama. Kemudian digoyang dengan rotator plate selama 1 menit. Selanjutnya diletakkan dalam suhu kamar selama 1 jam. Besarnya titer ditentukan dengan pengamatan adanya agglutinasia darah merah pada pengenceran yang terendah. Sampel yang diuji adalah crude pili, protein pili, protein Omp *Proteus mirabilis*. Darah yang dipakai adalah darah mencit, kelinci dan manusia.

**Isolasi Sel Epitel Vesica Urinaria Kelinci.** Isolasi sel epitel vesika urinaria kelinci dilakukan menurut metode Weisser (Nagayama *et al.*, 1995). Kelinci yang dipakai adalah kelinci yang sehat dengan kira-kira 1,5 kg. Kelinci dianestesi dengan menggunakan kloroform, kemudian diambil bagian vesika urinaria dipotong dan dibuka. Vesica urinaria dicuci dengan PBS pH 7,4 yang mengandung 1mM dithiothretiol pada suhu 4°C sampai tampak bersih. Setelah itu vesica urinaria dimasukkan dalam cairan yang mengandung 1.5mM KCl, 9.6 mMNaCl, 27 mMNa Citrat, 8 mM KH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan 5,6 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> dengan pH 7,4, selanjutnya jaringan diinkubasi pada shaking incubator selama 15 menit, dengan suhu 37°C. Supernatan dibuang dan jaringan dipindahkan dalam cairan yang mengandung 1,5 mM EDTA dan 0,5 mM

dithiothreitol. Selanjutnya jaringan yang berada dalam cairan yang mengandung EDTA dan dithiotretiol digojok kuat selama 15 menit pada suhu 37°C, kemudian supernatant dibuang. Jaringan dicuci dengan PBS dan disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 1000 rpm, dan diulang sebanyak tiga kali. Epitel vesica urinaria diisolasi dengan melakukan suspensi pada jaringan dengan menggunakan PBS steril dan selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 560 nm sampai konsentrasi 10<sup>6</sup>/ml. Epitel vesika urinaria ini siap untuk dilakukan uji adhesi .

**Uji Adhesi.** Uji adhesi modifikasi Nagayama *et al.*, (1995), pada uji adhesi bakteri *P. mirabilis* dibiakkan dalam laktosa broth pada suhu. Selanjutnya bakteri dipanen dengan menggunakan sentrifugasi 6000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Endapan disuspensi dengan PBS dan kandungan bakteri dibuat 10<sup>8</sup>/ml dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm.

Selanjutnya dibuat preparasi dosis protein fimbria masing-masing-g sebanyak 0 µl (kontrol), 25 µl, 50 µl, 100 µl, 200 µl, 400 µl dan 800 ul dalam 300 µl PBS. Pada masing-masing dosis ditambahkan suspensi epitel sebanyak 300 µl dan digoyang perlahan pada shaking waterbath pada suhu 37°C, selama 30 menit.

Kemudian ke dalam setiap campuran tersebut ditambah suspensi bakteri sebanyak 300 µl. Campuran diinkubasi dengan shaking inkubator selama 30 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya disentrifugasi 1500 rpm pada suhu 4°C selama 3 menit, kemudian endapan dicuci dua kali dengan PBS. Endapan diambil dan dibuat hapusan pada gelas obyek dan dicat dengan pewarnaan Gram. Preparat diamati dengan mikroskop pembesaran 1000 kali dan dihitung jumlah bakteri yang menempel pada sel epitel. Indeks adhesi adalah jumlah rerata bakteri yang menempel pada epitel, dihitung untuk setiap pengamatan terhadap 100 epitel ( Martino *et al.*, 1995).

**Analisis Statistik.** Menggunakan ANOVA dan uji regresi, dengan batas signifikan 0,05.

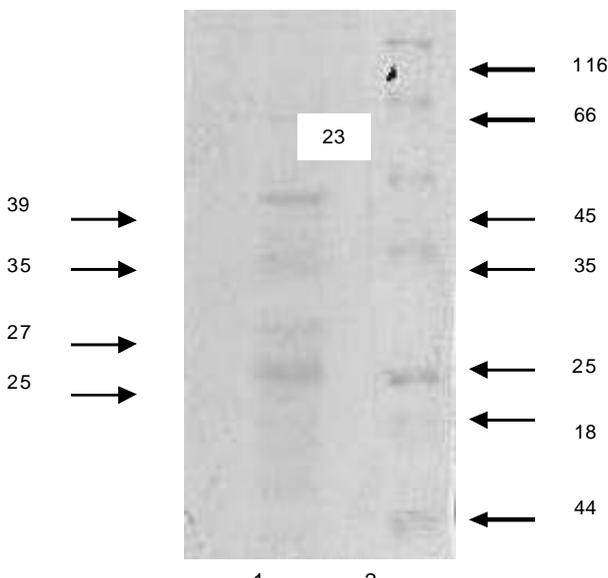
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Bakteri *P. mirabilis* diambil dari pasien infeksi saluran kemih di rumah sakit. Bakteri yang telah diidentifikasi tersebut dikultur pada media bifasik, TCG-BHI untuk memperkaya pertumbuhan pili. Setelah 48 jam bakteri tersebut dipanen dan dilakukan pemotongan pili secara bertingkat, sampai warna supernatant dari pili sama dengan warna PBS dan endapan terakhir dari pemotongan pili di beri NOG sampai kadar 0,05%. Selanjutnya supernatant bakteri OMP didialisis selama 2 x 24 jam dengan menggunakan PBS.

**Uji Hemaglutinasi.** Selanjutnya hasil potongan pili dan OMP tersebut dilakukan uji hemaglutinasi dengan menggunakan eritrosit mencit, yang bertujuan untuk melihat pili dan OMP potongan mana yang mengandung protein hemaglutinin. Hasil uji hemaglutinin terdapat pada Tabel 1.

Hasil uji hemaglutinasi ini menunjukkan bahwa OMP dengan titer 1/512 merupakan titer tertinggi. Selanjutnya OMP dilakukan SDS-PAGE untuk memprediksi berat molekul protein, dengan hasil seperti Gambar 1.

Hasil protein pada SDS-PAGE dari potongan OMP *P. mirabilis* menunjukkan ada beberapa protein yang menonjol yaitu protein dengan berat molekul 39 kDa, 35 kDa, 27 kDa dan 25 kDa. Pada penelitian ini dilakukan uji pada potongan OMP dengan berat molekul 35 kDa. Selanjutnya protein dengan berat molekul 35 kDa tersebut di potong dan dilakukan elektroelusi



(Sumur) 1 OMP *P. mirabilis*; (Sumur) 2 protein prunut

Gambar 1. Hasil SDS-PAGE Potongan OMP *P. mirabilis*

Tabel 1. Uji hemaglutinasi pili dan OMP *P. mirabilis* pada eritrosit mencit

Materi	Pengenceran									
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/1256	1/512	0
OMP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

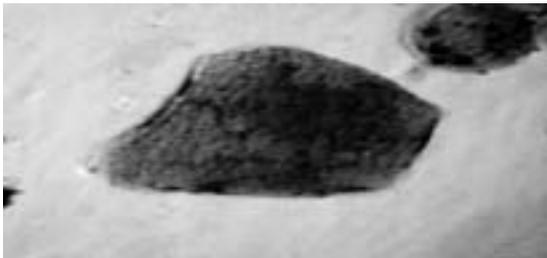
OMP *P. mirabilis*.

haemglutinasinya pada berbagai eritrosit dengan hasil seperti pada Tabel 2.

**Uji Hambat Adhesi.** Uji hambat adhesi *P. mirabilis* dilakukan secara invitro pada sel epitel vesika urinaria kelinci, menggunakan protein hemagglutinin OMP dengan berat molekul 35 kDa diberikan dosis bertingkat, mulai dari 400 µl sampai 12,5 µl dan dosis 0 µl sebagai kontrol. Gambaran epitel vesika urinaria yang telah dilakukan pengecatan gram adalah tampak pada Gambar 2.

Hasil uji hambat adhesi *P. mirabilis* pada sel epitel vesika urinaria, dilakukan dimulai dengan dosis protein hemagglutinin 0 µl sebagai kontrol tampak pada Gambar 3 dan dilanjutkan dengan dosis terbesar protein OMP hemagglutinin sampai dosis terkecil tampak pada Gambar 4.

Keterlibatan protein hemagglutinin dengan berat molekul 35 kDa dalam menghambat perlekatan *P. mirabilis* terlihat pada (gambar 4). Sedikitnya perlekatan bakteri pada sel epitel vesika urinaria setelah diinkubasi dengan protein hemagglutinin menunjukkan bahwa



Gambar 2. Epitel Vesika Urinaria Kelinci dengan Pengecatan Gram Direkam dengan Fotomikroskop Olympus dengan Perbesaran 1000 kali

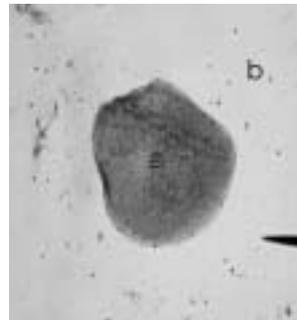


(a) Epitel vesika urinaria: (b) *P. mirabilis*

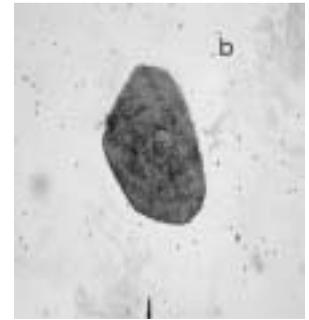
Gambar 3. Uji Hambat Adhesi *P. mirabilis* Vesika Urinaria Kelinci dengan Dosis Protein Hemagglutinin 0 µl. Direkam dengan Menggunakan Fotomikroskop Olympus dengan Pembesaran 400 kali.

protein tersebut dapat menghambat bakteri untuk melakukan perlekatan. Untuk lebih jelasnya indeks adhesi *P. mirabilis* pada sel epitel vesika urinaria kelinci dapat dilihat pada Tabel 3.

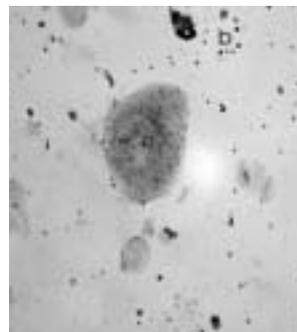
Perhitungan indeks adhesi pada Tabel 1 dan 3. memperlihatkan kecenderungan semakin tinggi protein



Gambar 4.a



Gambar 4.b



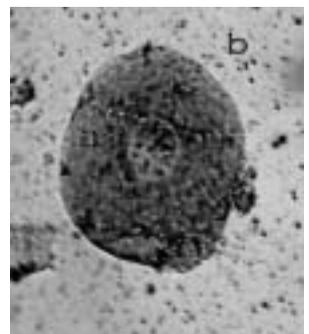
Gambar 4.c



Gambar 4.d



Gambar 4.e



Gambar 4.f

(a) Epitel vesika urinaria: (b) *P. mirabilis*

Gambar 4. a Hambat Adhesi dengan Dosis Protein 400 µl  
 Gambar 4. b Hambat Adhesi dengan Dosis Protein 200 µl  
 Gambar 4. c Hambat Adhesi dengan Dosis Protein 100 µl  
 Gambar 4. d Hambat Adhesi dengan Dosis Protein 50 µl  
 Gambar 4. e Hambat Adhesi dengan Dosis Protein 25 µl  
 Gambar 4. f Hambat Adhesi dengan Dosis Protein 12,5 µl  
 Gambar 4.a-4.f Uji Hambat Adhesi *P. mirabilis* pada Vesika Urinaria Kelinci Direkam dengan Menggunakan Fotomikroskop Olympus dengan Perbesaran 1000 kali.

Tabel 2. Hasil uji hemagglutinasinya OMP *P. mirabilis* berat molekul 35 kDa dengan pengenceran bertingkat terhadap berbagai jenis eritrosit

Sampel eritrosit	Pengenceran										
	1x	2x	3x	4x	5x	6x	7x	8x	9x	10x	
Mencit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
Kelinci	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
Manusia O	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
Manusia A	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Manusia B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
ManusiaAB	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	

dan dialisis, sehingga diperoleh protein larutan. Dari hasil elektroelusi dan dialisis OMP tersebut dilakukan uji hemaglutinin yang disalut, semakin sedikit perlekatan bakteri pada sel epitel vesika urinaria. Analisis statistik pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan regresi linier pada perhitungan indeks adhesi *P. mirabilis* pada sel epitel vesika urinaria tampak bahwa besarnya dosis mempengaruhi indeks adhesi *P. mirabilis* pada sel epitel vesika urinaria seperti yang ditampilkan pada Gambar 5, Tabel 4, Tabel 5.

Berdasarkan regresi linier, tampak bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara *P. mirabilis* protein OMP dengan bobot 35 kDa dengan epitel vesika urinaria kelinci dengan *R square* 0,980. Yang artinya 98% dosis protein mempengaruhi indeks adhesi.

*Proteus mirabilis* termasuk dalam family Enterobacteriaceae, dalam proses awal terjadinya penyakit melalui proses adesi yang diperankan oleh fimbria maupun OMP. Keberhasilan terjadinya infeksi sangat terpengaruh oleh kemampuan melakukan adhesi. Pada penelitian ini dilakukan uji adhesi terhadap OMP. Langkah awal penelitian yaitu melakukan kultur *Proteus mirabilis* pada media bifasik TCG-BHI dengan tujuan untuk menumbuhkan fimbria bakteri secara optimal. Setelah itu dilakukan pemotongan fimbria secara bertingkat, sampai supernatant potongan fimbria mempunyai kekeruhan yang sama dengan PBS diberi

NOG untuk mengelupas OMP. Hasil OMP dilakukan uji hemaglutinasi terhadap sel darah merah. Pada tahap ini dilakukan uji hemaglutinasi dengan menggunakan sel darah merah kelinci. Dari uji hemaglutinasi diperoleh hasil, OMP *P. mirabilis* mampu menghemaglutinasi sel darah merah sampai pengenceran 7x. Langkah selanjutnya adalah mengetahui berat molekul yang terkandung dalam OMP. Untuk mengetahui protein yang terdapat didalam OMP dilakukan SDS-PAGE. Berdasarkan hasil SDS-PAGE, pada Gambar 1, dapat dilihat OMP *P. mirabilis* mengandung protein dominan dengan berat molekul 45 kDa, 35 kDa, 23 kDa, dan 20 kDa.

Berdasar uji hemaglutinasi subunit OMP diperoleh hasil, protein subunit dengan berat molekul 35 kDa mampu menghemaglutinasi sel darah merah mencit sampai dengan pengenceran 9x, kelinci sampai dengan pengenceran 2x. Kemampuan OMP menggumpalkan sel darah merah ada dua tipe, yaitu *manosa resisten* (MRHA) dan *manosa sensitive hemaglutinasi* (MSHA). MRHA akan berubah menjadi MSHA apabila sel darah merah diberi asam tanat 0,01%. Protein hemaglutinin bakteri dapat berasal dari fimbria dan atau OMP. Struktur bakteri yang berperan dalam pelekatan adalah pili atau fimbria yang tersusun dari protein yang disebut pilin (fimbrial-adhesin) atau afimbrial adhesin yaitu suatu protein yang terdapat pada permukaan sel bakteri (Salyer & Whitt 2002). Adhesin pada beberapa bakteri berupa protein yang dapat mengaglutinasi eritrosit yang dikenal sebagai protein hemaglutinin (Nagayama et al., 1995).

Tabel 3. Hasil perhitungan indeks adhesi *P. mirabilis* pada epitel vesika urinaria kelinci dengan menggunakan protein hemaglutinin dengan berat molekul 35 kDa.

Ulangan	Indeks adhesi						
	400µl	200µl	100µl	50µl	25µl	12.5µl	0µl
I	182	280	435	630	748	820	1084
II	176	340	460	590	724	860	1076
III	190	325	420	615	694	910	1180

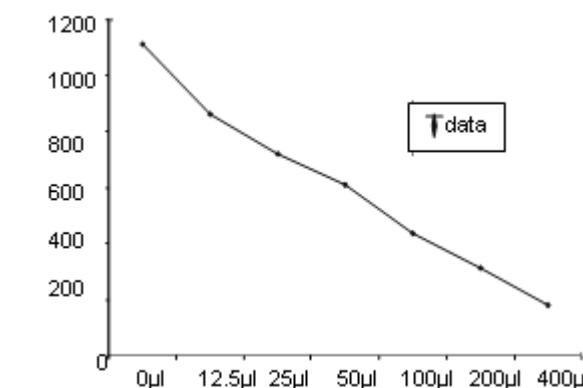
Tabel 4. Model summary regresi linier

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,990(a)	,980	,979	44,73368

Tabel 5. Coefficients regresi linier sederhana

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients		t	Sig.
	B	Std. Error	Beta			
1	(Constan)	10,571	21,828		,484	,634
	Titer protein	149,012	4,881	,990	30,530	,000

Pada tabel di atas menggambarkan persamaan regresi :  $y = 10,571 + (149,012) \times x$  Dimana :  $y$  = Indeks protein,  $x$  = titer protein



Gambar 5. Diagram Indeks Adhesi *P. mirabilis* pada Sel Epitel Vesika Urinaria Kelinci dengan Menggunakan Protein Hemaglutinin 35 kDa.

Kemampuan protein hemagglutinin mengaglutinasi sel darah merah hewan dan manusia tidak sama (Winarsih *et al.*, 1997; Sanarto 2002). Pada penelitian ini didapatkan variasi tersebut, OMP 35 kDa mampu menghemagglutinasi sel darah merah kelinci dan mencit. Data tersebut menunjukkan bahwa aktivitas hemagglutinasi bakteri *P. mirabilis* berbeda dengan bakteri yang lain. Aktivitas hemagglutinasi *Campylobacter pylori* terhadap eritrosit mencit, kelinci, marmot, domba, kuda, dan manusia menghasilkan reaksi yang positif (Nakazawa *et al.*, 1989). *Acinobacter* mempunyai protein fimbria F16 mampu menghemagglutinasi eritrosit mencit dan manusia golongan darah O, tetapi tidak dapat menghemagglutinasi eritrosit domba, marmot, tikus dan manusia golongan darah A, B (Noorhamdani 2005). *Vibrio cholera* O1 M094V memiliki protein fimbria dan OMP masing-masing dengan berat molekul 38 kDa yang mampu mengaglutinasi eritrosit mencit, kelinci dan darah manusia golongan O serta tidak mampu mengaglutinasi eritrosit marmot dan manusia golongan darah A, B, dan AB (Sumarno 2000). Bakteri *Salmonella typhi* memiliki protein hemagglutinin fimbria dan OMP masing-masing dengan berat molekul 36 kDa 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).

Bakteri *P. mirabilis* mempunyai kemampuan mengaglutinasi eritrosit mencit, kelinci dan manusia golongan darah O, demikian juga *Acinobacter*, *Salmonella typhi* dan *Vibrio cholera* O1M094V menunjukkan bahwa pada permukaan eritrosit golongan darah O terdapat reseptor yang komplementer dan mampu berikatan secara spesifik dengan adhesin dari berbagai jenis mikroba, khususnya bakteri Gram negatif. Karena reseptor pada permukaan eritrosit mirip dengan reseptor sel epitel hospes lainnya khususnya sel epitel yang menjadi tempat kolonisasi, maka diduga manusia golongan darah O pada permukaan eritrosit dan sel epitelnya mempunyai reseptor yang cocok dan komplementer dengan adhesin mikroba patogen dibanding dengan manusia golongan darah A, B, dan AB, sehingga manusia dengan golongan darah O lebih peka terhadap infeksi mikroba, termasuk *P. mirabilis*. Bukti tersebut didukung fakta empiric lain bahwa kejadian penyakit tukak lambung yang disebabkan oleh *Helicobacter pylori* meningkat pada manusia golongan

darah O (Robertson *et al.*, 2003). Selain itu manusia golongan darah O lebih peka terhadap infeksi jamur *Pityrosum ovale* (Shankar *et al.*, 2002) serta infeksi virus Norwalk sering menyerang penderita golongan darah O dan menunjukkan terdapat suatu hubungan antara factor genetic dan resiko terkena infeksi virus Norwalk (Hutson *et al.*, 2002). Langkah lanjut penelitian ini adalah mengidentifikasi protein adhesin, maka dilakukan uji adhesi dengan menggunakan protein hemagglutinin berat 35 kDa. Pada Gambar 2 terlihat banyak bakteri yang menempel pada sel epitel vesika urinaria kelinci dan selanjutnya pada Gambar 3, bakteri yang menempel lebih sedikit bila dibanding dengan Gambar 2. Pada Tabel 3 tampak bahwa semakin besar dosis protein hemagglutinin 35 kDa yang disalutkan ke epitel vesika urinaria kelinci, semakin sedikit bakteri yang menempel. Hal ini disebabkan karena reseptor *P. mirabilis* pada epitel vesika urinaria kelinci sudah dijenuhi oleh OMP dengan berat molekul 35 kDa. Semakin banyak reseptor yang dijenuhi oleh protein hemagglutinin maka bakteri yang menempel semakin sedikit. Dari uji adhesi ini didapatkan hasil secara empiric bahwa protein subunit pili dengan berat molekul 35kDa merupakan protein adhesin. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Sumarno pada *Vibrio cholera* O1M09V, bahwa protein hemagglutinin pili maupun OMP merupakan protein adhesin. Demikian juga pada *Acinobacter baumannii* protein F 16 merupakan protein hemagglutinin yang juga berperan sebagai protein adhesin (Noorhamdani, 2005).

## KESIMPULAN DAN SARAN

Telah dibuktikan bakteri *P. mirabilis* isolat dari urin penderita infeksi saluran kemih, memiliki OMP dengan berat molekul 35 kDa yang merupakan protein hemagglutinin dan juga berperan sebagai molekul adhesin dan diyakini sebagai salah satu faktor virulensi. Meskipun masih diperlukan penelitian lebih lanjut, molekul protein hemagglutinin adhesin dapat dikembangkan sebagai alat diagnostik dan kandidat vaksin dalam upaya pencegahan infeksi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh DP2M Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, Sesuai Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Hibah Bersaing Lanjutan Tahun Anggaran 2009 No: 829/H25.3.1/PL.6/2009 tanggal 10 Januari 2009.

### DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Ehara, M. Ishibashi, M. Ichinose, Y. Iwanaga, M. Schimotori, & S. Naito.** 1986. Purification and Partial Characterisation of Fimbriae of *Vibrio cholera* O-1; *Vaccine*. **5(3)**: 283-286.
- Hutson, A.M. Atmar, R.L. Graham. & D.Y. Ester, M.K.** 2002. Norwalk Virus Infection and Disease is Associated with ABO HistoBlood Group Type; *Infecton Disease*. **185(9)**: 1335-1337.
- Li Xin, Johnson. & E.D. Mobley, TLH.** 1999. Requirement of MrpH for Mannosa-Resistent *Proteus* Like fimbriae Mediated Hemagglutination by *Proteus mirabilis*; *Infection and Immunity*. **67**: 2822- 2833.
- Martino, P.D Bertin, Y. Girardeu, J.P. Livrelli, V. Jolly. & B. Daefeuille-Michaud, A.** 1995. Molecular Characterization and Adhesive Properties of CF29K, an Adhesin of *Klebsiella pneumoniae* Strain Involved in Nosocomial Infection', *Infection and Immunity*. **63**: 4336-4344.
- Mathoera, B.R Kok, J.D. Verduin, M.C. & Nijman, M.J.R.** 2002. Pathological and Therapeutic Significance of Cellular Invasion by *Proteus mirabilis* in Enterocystoplasty Infection Stone Model', *Infection and Immunity*. **70(12)**: 7022-7032.
- Nagayama, K. Oguchi, T. Arita. & M. Honda, T.** 1995. Purification and Characterizations of a Cell-Associated Hemagglutinin of *Vibrio parahaemolyticus*, *Infection and Immunity* **63**: 1987-1992.
- Nakazawa T, Ishibashi M, Konishi H, Takemoto T, Shigeeda M. & Kochiyama T.**1989. Hemagglutinin Activity of *Campylobacter pylori*', *Infection and Immunity*. **57**: 989-991.
- Noorhamdani.** 2005. Protein Fimbria 16kDa Bakteri *Acinobacter baumannii* dari Urin Penderita Infeksi Saluran Kemih Berperan sebagai Protein Hemagglutinin dan *Adhesin*', *Jurnal Ilmu Kedokteran Brawijaya*. **21(1)**: 44-52.
- Perepelov, Ujazda E., Senchenkova N.S., Shashkov.A. & Kaca.W.** 1999. Struktural and serological studies on the O-antigen of *Proteus mirabilis* O14, a new polysaccharide containing 2-[(R)-1-carboxyethylamino] ethyl phosphate, *European Journal of Biochemistry*. **261(2)**: 347-353.
- Robertson MS, Cade J.F, Savaio H.F. & Clancy R.L.** 2003. *Helicobacter pylori* Infection in the Australian Activity :Current Prevalence and Lack of Assosiation with ABO Nlood Group; *Intern Med J*. **33(4)**: 163-167.
- Salyer, AA. & Whitt, DD.** 2002. Bacterial Pathogenesis A Molecular Approach', ASM Press Washington DC. 115-127.
- Sanarto ,S.** 2002. Protein Adhesin *Salmonella typhi* sebagai Faktor virulensi Berpotensi Immunogenik Terhadap Produksi S-IgA Protektif; (Disertasi) Surabaya: Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.
- Shankar, SG. Rajjith, MS. Ranganathan, S. Sivaramakharisnana, M. Natarajan, V. & Rasool, SK.** 2002. Role of Blood Groups in the Infection rate of Dandruff Caused by *Pityrosporum ovale*; *Indian J Dermatol*. **47(1)**: 21-23.
- Smeds, A. Hemman, K. Jakava, V. Pelkonen, S. Imberechts, H. & Palva, A.** 2001. Chqaracterization of the Adhesin of *Eschericiae coli* F18 Fimbriae; *Infection and Immunity*. **69(5)**: 7941-7945.
- Sumarno.** 2000. Karakterisasi Molekuler Protein Adhesi *Vibrio cholera* O1M094V dan Protein Reseptornya pada Sel Epitel Usus Halus Tikua Putih (Wistar). Studi Patogenesis *Vibrio cholera* O1M094V. (Disertasi). Surabaya: Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.
- Winarsih S, Sumarno. & Roekistiningsih.** 1997. Kajian Fungsi dan Sifat Immunogenitas Protein Hemagglutinin 32kDa dan 20 kDa pada *Helicobacter pylori*; *Majalah Kedokteran Universitas Brawijaya*. **13(2)**: 135-141.
- Wassif, C. Cheek, D. & Belas, R.** 1995. Molecular Analysis of a Melalloprotease from *Proteus mirabilis*; *Journal of Bacteriology*. **177(20)**: 5790-5798.