

ARTIKEL ASLI

**PROTEIN PATTERN OF OUTER MEMBRANE PROTEIN OF
SALMONELLA TYPHI THAT ISOLATED USING
N-OCTYL GLUCOSIDE AND SARCOSYL**

**POLA PROTEIN DARI OUTER MEMBRANE PROTEIN YANG DIISOLASI
MENGUNAKAN N-OCTYL GLUCOSIDE DAN MENGGUNAKAN
SARCOSYL PADA SALMONELLA TYPHI**

Sri Murwani*, Dewi Santosaningsih*, Aisya Ramadhona**

*Lab. Mikrobiologi & Biomedik, Fakultas Kedokteran Unibraw

**Mahasiswa S1 Fakultas Kedokteran Unibraw

ABSTRACT

The main purpose of this research is to study protein pattern of outer membrane protein (OMP) *Salmonella typhi* used 2 different methods isolation were sarcosyl and n-octyl glucoside (NOG) methods. Further more purpose was effectiveness of OMP isolation activity. *Salmonella typhi* was obtained from typhoid fever patient in Saiful Anwar Hospital, Malang. This bacteria was identified and purified using common medium for Enterobacteriaceae identification. *Salmonella* was propagated use biphasic medium Luria agar and bacterial suspension in thyglicolat. The principal OMP isolation using sarcosyl method is ultracentrifugation of bacterial sonication, and presence of sarcosyl as detergent that separate OMP from outer membrane. The difference between sarcosyl and NOG is directly destroyed the whole cell of bacteria without sonication. Both OMP that obtained from 2 ways isolation were dialyzed for 2 x 24 hours. The Next procedure is electrophoresis of OMP used SDS-PAGE electrophoresis to see protein pattern. Molecular weight were calculated by measure Rf (relatif of flow) of protein fraction and were estimated by exponential regression. The decision of this research is the protein patterns of the OMP are different between isolated using NOG and sarcosyl. Protein fraction of *Salmonella typhi* which molecular weight less than 65 kDa could be detected using NOG and sarcosyl methods, and protein fraction which molecular weight more than 65 kDa could be detected using sarcosyl method only.

Key words: *Salmonella typhi*, Protein pattern, N-Octyl Glucoside and Sarcosyl

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola protein dari outer membrane protein (OMP) *Salmonella typhi*, yang diisolasi menggunakan 2 metode yang berbeda yaitu menggunakan sarcosyl dan n-octyl- glucoside (NOG). Apakah dengan cara isolasi yang berbeda akan ditemukan persamaan pola protein OMP tersebut. Harapan lebih lanjut adalah efektivitas kerja dalam mengisolasi OMP. *Salmonella typhi* diperoleh dari penderita typhoid fever di Rumah Sakit Saiful Anwar, Malang. Bakteri tersebut diidentifikasi dan dimurnikan menggunakan medium yang biasa digunakan untuk identifikasi Enterobacteriaceae. Kuman yang telah murni kemudian dipropagasi pada media bifasik Luria agar dan suspensi bakteri pada thyglicolat. Prinsip kerja dari isolasi OMP menggunakan sarcosyl adalah ultrasentrifugasi sonikasi kuman dengan menambahkan sarcosyl sebagai deterjen yang memisahkan OMP dari membran luar. Sedang NOG bekerja langsung memecah sel kuman utuh, tanpa dilakukan sonikasi. Outer membrane protein yang diperoleh dari kedua cara tersebut kemudian didialisa menggunakan phosphate buffer saline (PBS) selama 2 x 24 jam. Outer membrane protein dielektroforesis menggunakan SDS-PAGE untuk melihat gambaran pola proteinnya. Berat molekul fraksi-fraksi protein OMP dihitung dengan cara mengukur relatif of flow (Rf) fraksi protein dan dihitung menggunakan exponential regression. Dari penelitian ini dapat ditarik kesimpulan, bahwa penggunaan cara isolasi OMP yang berbeda akan diperoleh gambaran pola protein yang berbeda pula. Dari kedua cara isolasi tersebut, fraksi OMP *Salmonella typhi* yang berberat molekul kurang dari 65 kDa dapat terdeteksi dengan menggunakan NOG dan sarcosyl, sedangkan fraksi protein dengan berat molekul lebih dari 65 kDa hanya dapat terdeteksi dengan menggunakan sarcosyl.

Kata kunci: *Salmonella typhi*, pola protein, N-Octyl Glucoside dan Sarcosyl

LATAR BELAKANG

Dinding sel bakteri gram negatif mempunyai struktur yang lebih kompleks tetapi lebih tipis dibandingkan dengan dinding sel bakteri gram positif. Perbedaanannya, pada bakteri gram negatif mempunyai 2 membran, yaitu membran sitoplasma dan membran luar (*outer membrane*) dan adanya ruang periplasmik. (1,2)

Outer membrane mempunyai peranan penting pada virulensi bakteri gram negatif (2). Pada *outer membrane* terdapat banyak protein mayor maupun minor. Protein mayor dapat dikelompokkan dalam 3 group, yaitu *pore-forming protein* atau porin, nonporin protein dan lipoprotein, sedang protein minor berhubungan dengan *specific-transport* untuk molekul kecil seperti vitamin B12 dan Fe siderofor. (1)

Pada beberapa bakteri, protein pada *outer membrane* (OMP) mempunyai peranan sebagai adhesin untuk perlekatan pada sel hospes, misalnya adhesin *Helicobacter pylori* 19,6 KDa, merupakan protein pada permukaan sel. (5)

Outer membrane protein sekarang banyak dipakai sebagai sarana diagnosa, misalnya OMP dari *Salmonella typhi* telah digunakan untuk mendeteksi adanya antibodi penderita *typhoid fever* menggunakan *enzym immuno assay* (4). Protein 52 KDa dari OMP *Salmonella typhi* dikatakan mempunyai sifat imunogen yang baik, dapat mengaktivasi terbentuknya IgM pada manusia dan telah dipakai sebagai sarana diagnosa *typhoid fever*. (3). Dari hasil penelitian yang dilakukan pada kelinci menunjukkan, bahwa protein porin yang dengan berat molekul 37 dan 38 KDa serta protein OMP dengan berat molekul 29 KDa mempunyai reaktivitas yang sangat kuat (6).

Ada beberapa cara untuk mengisolasi OMP seperti penggunaan *n-octyl glucoside*, dan ada beberapa penelitian yang mempelajari efek penggunaan berbagai *detergent* dalam pemisahan *pore-forming protein* (porin) dari *mitochondrial outer membrane*. Dari hasil penelitian dilaporkan bahwa, *octyl glucoside* mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dalam pemisahan porin dalam membran lemak dibandingkan cara isolasi protein menggunakan *Triton X-100* (8).

Penggunaan *sarcosyl* dalam memisahkan OMP dari *Pasteurella multocida* A1 menunjukkan hasil yang lebih efektif dibandingkan dengan pemisahan membran menggunakan *sucrose gradient centrifugation*, karena lebih banyak OMP yang terbaca. Mayor protein akan lebih banyak terbaca pada konsentrasi *sarcosyl* yang tinggi (8). Berdasarkan studi yang membandingkan tehnik pengisolasian OMP pada *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh hasil bahwa penggunaan *sodium lauryl sarcosinate* (*sarcosyl*) memberikan gambaran OMP yang lebih banyak dibanding menggunakan *isopyronic sucrose gradient centrifugation* (10).

PERUMUSAN MASALAH

Mengingat manfaat OMP dalam bidang kedokteran khususnya sebagai sarana untuk menegakkan diagnosa, maka timbul suatu permasalahan, bagaimanakah suatu metode isolasi OMP dapat digunakan sesuai dengan kebutuhan. Dalam hal ini timbul suatu pertanyaan, bagaimanakah pola protein dari OMP

(*Salmonella typhi*) yang diisolasi menggunakan dua metode isolasi yang berbeda, yaitu menggunakan NOG dan *sarcosyl*.

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan Umum :

Melihat gambaran OMP yang diisolasi menggunakan dua macam deterjen yang berbeda.

Tujuan khusus :

Tujuan untuk mengetahui pola protein dari OMP yang diisolasi menggunakan dua metode isolasi yang berbeda.

Diharapkan dari hasil penelitian dapat memberikan gambaran pemilihan metode isolasi OMP yang lebih efektif sesuai dengan gambaran pola protein yang diinginkan.

Manfaat penelitian :

Hasil penelitian akan bermanfaat bagi para peneliti dalam pemilihan deterjen yang tepat untuk isolasi OMP, yaitu sesuai dengan berat molekul yang diinginkan.

TINJAUAN PUSTAKA

Salmonella typhi

Salmonella typhi merupakan salah satu bakteri Gram negatif yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* dan bersifat potensial patogen. *Salmonella typhi* merupakan penyebab demam tifoid Demam tifoid di Indonesia bersifat endemik dan merupakan problem kesehatan.

Salmonella typhi berbentuk batang, bergerak dengan flagella peritrikus, meragikan glukosa dan manosa tetapi tidak meragikan laktosa dan sukrosa. Mempunyai ukuran 1 – 3,5 µm x 0,5 0,8 µm dengan besar koloni rata-rata 2 – 4 mm. Kuman ini tumbuh pada suasana aerob dan anaerob, pada suhu 15 – 41°C dengan suhu optimum 37,5°C dan pH pertumbuhan 6 – 8. Pada media yang memenuhi syarat kelembaban, dapat hidup beberapa bulan sampai beberapa tahun. Di air dapat hidup 2 – 3 minggu, sedang dalam tinja 1 – 2 bulan (16).

Salmonella mempunyai toleransi terhadap empedu dengan konsentrasi tinggi, oleh karenanya untuk mengisolasi kuman ini dapat digunakan media perbenihan yang mengandung empedu. Media selektif yang digunakan untuk *Salmonella typhi* adalah *Bismuth Sulphit* dari Wilson dan Blair. Pada media ini koloni kuman berwarna hitam pekat, sehingga disebut *Black Jet Colonies* (16).

Salmonella typhi mempunyai 3 macam antigen, yaitu antigen O (somatik), yang terletak di lapisan luar kuman. Bagian ini merupakan lipopolisakarida yang tahan terhadap panas dan alkohol, tetapi tidak tahan terhadap formaldehid. Antigen H (flagelar), yang terletak pada flagella, fimbriae dan fili. Bagian ini merupakan protein. Sedangkan antigen lainnya adalah antigen Vi (kapsula), yang melindungi kuman terhadap fagositosis (16).

Pada umumnya dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai struktur yang lebih kompleks dibanding bakteri Gram positif. Ada dua bagian tambahan disamping membran sel. Dibagian luar membran sitoplasma merupakan yang terbuka yang disebut ruang periplasmik, disamping itu juga terdapat lapisan tipis dari peptidoglikan. Pada bagian luar lapisan

peptidoglikan terdapat membran tambahan yaitu *outer membrane* (membran luar) (2).

Pada bakteri Gram negatif, dinding selnya terdiri dari peptidoglikan, lipoprotein, *outer membrane* dan lapisan lipopolisakarida (LPS). Beberapa lapisan dari dinding sel merupakan bagian antigen mayor pada permukaan sel, salah satunya adalah LPS yang berhubungan dengan reaksi nonspesifik endotoksin. Dinding sel bakteri Gram negatif umumnya bersifat nonselektif permeable, terutama *outer membrane* (7). Dinding sel bakteri Gram negatif lebih tipis dibandingkan dinding sel bakteri Gram positif, lapisan peptidoglikan tebalnya 3 – 8 nm, sedangkan *outer membrane* tebalnya sekitar 6 – 10 nm dan biasanya mengandung lilin dan kelihatan bergelombang (1).

Outer Membrane Protein

Outer membrane mempunyai peranan yang penting dalam virulensi bakteri Gram negatif. *Outer membrane* terdiri dari lipid, protein dan polisakarida. Protein membran luar (*outer membrane protein/OMP*) mempunyai susunan yang lebih kompleks dibandingkan membran sitoplasma. Porin merupakan bagian yang terpenting dari OMP dan berhubungan dengan permeabilitas sel. Porin merupakan protein yang berbentuk pori-pori di *outer membrane* yang mengatur keluar-masuknya molekul-molekul kecil yang bersifat hidrofilik. Porin ini mengatur perpindahan molekul-molekul tersebut ke dalam ruang periplasmik untuk ditransport melalui membran sitoplasma. Fungsi *outer membrane* adalah untuk mengatur tekanan negatif sel, sebagai pori untuk masuknya molekul hidrofilik, barrier hidrofobik dalam difusi berbagai macam substansi, sebagai *phage-receptor* dan *bacteriocin-receptor*, berperan dalam proses konjugasi dan pembelahan sel, berhubungan patogenisitas kuman, mengatur stabilitas dari sel kuman dan mempertahankan agar enzim tetap berada dalam periplasmik (2,1). Kandungan protein (OMP) pada *outer membrane* dapat menjadikan permeabel terhadap cairan dengan berat molekul yang rendah (7).

Protein mayor dari OMP diberi nama sesuai dengan gen yang mengkodennya dan dapat dikelompokkan menjadi tiga group yaitu: *pore-forming protein* atau porin, *nonporin protein* dan *lipoprotein*. *Outer membrane protein* bakteri Gram negatif berperan dalam memfasilitasi keluar masuknya cairan melalui membran (1). Protein mayor disintesa di dalam ribosom dan menempel pada bagian dalam membran sitoplasma dan bagaimana mekanisme protein tersebut berpindah ke *outer membrane* belum jelas. Suatu hipotesa menyatakan, bahwa perpindahan tersebut terjadi dengan cara adesi antara *inner* dan *outer membrane*, dan bagian yang dapat menyebabkan terjadinya adesi dapat dilihat menggunakan mikroskop electron (7).

Outer membrane juga mengandung banyak protein minor yang berhubungan dengan reseptor untuk transport molekul kecil seperti vitamin B12 dan *Fe-siderophores*. Protein minor merupakan bagian kecil dari enzim, diantaranya fosfolipase dan protease (7).

Saat ini banyak diteliti tentang peranan OMP *Salmonella typhi* dibidang Kedokteran sebagai sarana diagnosa penyakit. Protein mayor dari OMP *Salmonella typhi* telah berperan sebagai antigen untuk mendeteksi antibodi pada penderita typhoid fever menggunakan *Enzyme Immunoassay* (EIA) (4), peranan protein 52 kDa dari OMP *Salmonella typhi* bersifat imunogen karena mengaktifasi terbentuknya Ig M pada penderita typhoid fever akut (3). *Outer membrane protein Salmonella typhi* mempunyai kemampuan untuk mengaktifasi *cellular immune system* dalam melawan invasi kuman *Salmonella typhi* (12,13). Penelitian lain menyebutkan, bahwa *Nitrocellulose membrane strip dotted* yang spesifik terhadap 50 kDa dari OMP *Salmonella typhi* telah digunakan sebagai serodiagnosa dari penderita typhoid fever (14).

Deterjen

Deterjen bersifat amfifilik, dan biasanya molekul yang terkandung kecil. Pada beberapa konsentrasi (disebut sebagai *critical micellar concentration* atau CMC), molekul bergabung melalui bagian hidrofobik menjadi agregat yang stabil (*micelle*). *Critical micellar concentration* untuk deterjen nonionik semakin menurun dengan peningkatan temperatur, sedang pada deterjen ionik semakin menurun dengan peningkatan konsentrasi garam. Jika deterjen ditambahkan pada membran, maka akan secara cepat memisahkan membran menjadi lapisan-lapisan sampai mencapai keadaan membran tidak stabil lagi dan mudah dipisahkan. Dengan kata lain dengan penambahan deterjen pada membran maka membran akan secara langsung dipisahkan antara komponen lemak dan proteinnya. Suatu membran atau protein akan memberikan respon yang lain terhadap deterjen yang lain pula (11).

Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) merupakan salah satu cara untuk memisahkan *integral membrane protein*. Pada PAGE digunakan deterjen non-denaturasi seperti *Triton X-100* dan *deoxycholate*. *Oligoxyethylene dedocyl sulphates* dan sodium dedocyl sulphate (SDS) merupakan deterjen non-ionik (11).

N-octyl glucoside (NOG) merupakan *nonionic detergent*, dapat digunakan untuk mengisolasi protein membran dari membran sel kuman. Deterjen tersebut menjadikan protein membran menjadi protein yang soluble, yaitu protein yang larut dalam air. Sedangkan pada isolasi OMP menggunakan *sarcosyl* (*n-lauroyl sarcosine*), *sarcosyl* berfungsi sebagai bahan untuk melisiskan membran protein (15).

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian dilakukan secara observasional dan dianalisa secara statistik.

Tempat Penelitian

1. Lab. Mikrobiologi, FK-Unibraw
2. Lab. Sentral Biomedik, FK-Unibraw
3. Lab. Biokimia, Pusat Antar Universitas, UGM

Alat

Alat-alat yang dipergunakan pada penelitian antara lain tabung reaksi, cawan petri, *refrigerated ultracentrifuge*, *refrigerated centrifuge*, sonikator, *micropipette*, pH-meter, inkubator, *shaking incubator*, satu unit alat untuk dialisa dan satu unit alat untuk elektroforesis, *eppendorf*, *blue tips*, *yellow tips*.

Bahan

Bahan-bahan untuk isolasi dan identifikasi *Salmonella typhi* berupa beberapa media yaitu : agar *Triple Sugar Iron* (TSI), *Mc Conkey Agar* (MCA), agar urease, *Bismuth Sulphite Agar* (BSA), media bifasik Luria agar-larutan *thyoglicolat*.

Bahan-bahan untuk elektroforesis antara lain : *acrylamide*, *bis-acrylamide*, tris, tris-HCl, TEMED, *ammonium per sulphate*, *methanol*, *commasic blue*, asam asetat glasial, *glycine*, *protein marker*, *buffer-sample*.

Phosphate Buffer Saline (PBS) dibuat dari bahan NaCl, Na_2HPO_4 dan NaH_2PO_4 . Bahan-bahan untuk isolasi OMP antara lain : *n-octyl glucoside* (NOG), *sarcosyl*, EDTA, tris.

Cara Kerja

1. Perbanyak kuman *Salmonella typhi*

Kuman diidentifikasi dan dimurnikan menggunakan media-media yang biasa digunakan untuk identifikasi *Enterobacteriaceae*, yaitu agar TSI, MCA, agar urease dan BSA. Setelah kuman murni, kemudian diperbanyak menggunakan media bifasik Luria agar- suspensi kuman pada *thyoglicolat*, diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, medium dikocok kemudian bagian cair medium disentrifus pada 6000 rpm selama 15 menit, untuk mengendapkan kuman.

2. Isolasi OMP menggunakan *sarcosyl*

Endapan kuman (yang diperoleh dari No.1) disuspensikan dengan bufer tris (1M tris, 1mM EDTA, pH. 7,4), kemudian disonikasi. Sonikasi dilakukan 4 x 1 menit pada tabung yang diberi pendingin air es. Setelah disonikasi, sel-sel yang masih utuh dan sel debris diendapkan menggunakan *refrigerated centrifuge* 4°C, 6000 rpm, selama 30 menit. Supernatan diambil dan ditambah *sarcosyl* sampai konsentrasi akhir *sarcosyl* 2 %. Untuk mengendapkan OMP suspensi tersebut diultrasentrifus pada 4°C, 40.000 rpm, selama 60 menit. Endapan merupakan OMP dan disuspensikan dengan bufer tris, kemudian didialisa menggunakan PBS, untuk menghilangkan sarkosil selama 2 x 24 jam.

3. Isolasi OMP menggunakan NOG

Endapan kuman (yang diperoleh dari No.1) disuspensikan dengan larutan NOG sehingga diperoleh konsentrasi akhir 0,5 %. Suspensi tersebut disentrifus pada 6000 rpm, 4°C, selama 30 menit. Endapan kemudian disuspensikan dengan PBS. Endapan tersebut merupakan OMP, kemudian didialisa untuk menghilangkan NOG menggunakan PBS, selama 2 x 24 jam.

4. Elektroforesis

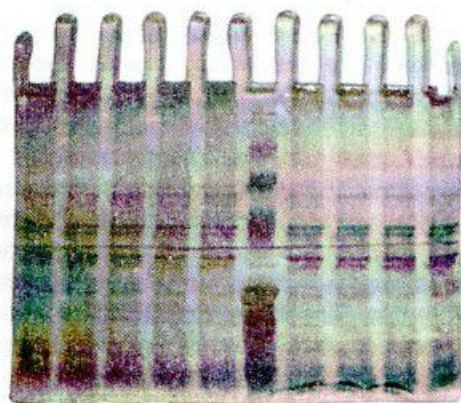
Outer membrane protein dielektroforesis menggunakan SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel

Electrophoresis) dengan konsentrasi *acrylamide* 12,5 %. Masing-masing OMP baik dari metode *sarcosyl* maupun NOG diisiikan pada sumuran 10 µl, sedang protein marker 5 µl. Elektroforesis dilakukan pada 150 v, 400 mA, selama 60 menit. Setelah elektroforesis selesai, dilakukan pewarnaan gel menggunakan *coomasic blue* pada *shaking incubator*, pada temperatur ruang, selama 24 jam. *Destaining* dilakukan menggunakan larutan *destaining* (*methanol* dan asam asetat glasial) pada *shaking incubator* sampai terlihat pita-pita protein.

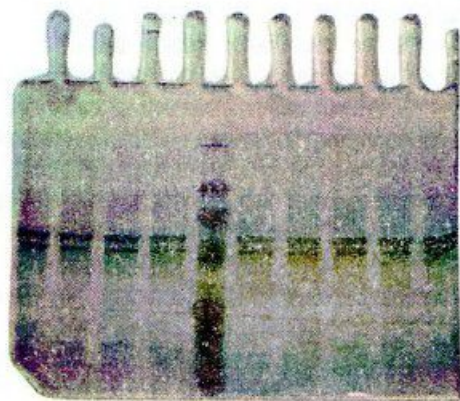
5. Analisa

Dari hasil elektroforesis, dihitung Rf (Relatif of flow) dalam mm dari pita-pita *protein marker*. Dari Rf dan berat molekul (BM) *protein marker* tersebut dibuat persamaan garis menggunakan *exponential regression*. Rf merupakan ordinat x dan BM merupakan ordinat y. Persamaan garis dari hasil perhitungan tersebut, digunakan untuk menghitung BM fraksi-fraksi OMP.

HASIL



Gambar 1. Hasil elektroforesis OMP *Salmonella typhi*, yang diisolasi menggunakan NOG



Gambar 2. Hasil elektroforesis OMP *Salmonella typhi*, yang diisolasi menggunakan sarkosil

PEMBAHASAN

Dari hasil elektroforesis OMP yang diisolasi menggunakan *sarcosyl*, diperoleh ada beberapa fraksi protein minor dan hanya ada 2 fraksi protein mayor. Berat molekul fraksi-fraksi protein tersebut (yang dapat dihitung) adalah : 91.602, 78.822, 67.825, 48.075, 37.546, 30.929, 27.936, 25.232, 17.039, 8.519, 6.984 Dalton (Gambar 1). Sedang hasil elektroforesis dari OMP yang diisolasi menggunakan NOG adalah sebagai berikut : 64.349, 56.466, 49.548, 45.290, 41.568, 38.151, 28.086, 24.746, 19.054, 16.720, 14.027, 12.308, 9.098, 7.984, 6.469, 5.925 Dalton (Gambar 2).

Hasil dari kedua metode isolasi OMP menunjukkan gambaran yang berbeda. Isolasi menggunakan NOG lebih banyak memberikan gambaran fraksi protein dibanding apabila menggunakan *sarcosyl*. Selain itu dapat juga disimpulkan untuk tujuan isolasi fraksi protein dari OMP *Salmonella typhi* dengan berat molekul lebih dari 60.000 Da dapat digunakan *sarcosyl*, sedang untuk tujuan isolasi protein dengan berat molekul yang rendah dapat digunakan NOG.

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa isolasi OMP menggunakan NOG memberikan gambaran fraksi protein yang lebih banyak apabila dibanding menggunakan *sarcosyl*. Perbedaan hasil tersebut kemungkinan dikarenakan karena metode isolasi yang berbeda, yaitu pada isolasi menggunakan NOG tidak dilakukan sonikasi kuman. Selain kemungkinan juga dapat dikarenakan karena perbedaan kedua deterjen tersebut, NOG merupakan *anionic-detergent*, sedangkan *sarcosyl* merupakan *ionic-detergent*.

Pada penelitian yang pernah dilakukan, isolasi OMP pada 10 isolat *Salmonella typhi* menggunakan metode isolasi sonikasi kuman menggunakan buffer yang mengandung triton X-100 2 % menunjukkan adanya tiga fraksi protein (polipeptida) mayor 34, 37 dan 38 kDa pada sebagian besar sampel, 3 sampel tidak terlihat fraksi protein 34 kDa, tetapi semua sampel

mempunyai fraksi protein minor dengan berat molekul antara 20,5 sampai 139,9 kDa (6). Empat sampel mempunyai fraksi 25 kDa dan 6 sampel mempunyai fraksi 29 kDa.

Melihat hasil penelitian ini dan hasil penelitian tersebut di atas, dapat dikatakan bahwa metode isolasi OMP dapat mempengaruhi hasil/ gambaran fraksi-fraksi proteinnya. Suatu metode isolasi OMP yang berbeda dapat menghasilkan pola protein OMP yang berbeda pula.

KESIMPULAN

Pemakaian metode isolasi OMP yang berbeda dapat memberikan gambaran pola protein yang berbeda pula.

Gambaran protein dari OMP (*Salmonella typhi*) yang diisolasi menggunakan *sarcosyl* berbeda dengan yang diisolasi menggunakan NOG.

Dari kedua cara isolasi tersebut, diperoleh gambaran bahwa fraksi protein OMP *Salmonella typhi* yang berberat molekul kurang dari 65 kDa dapat terdeteksi baik menggunakan NOG maupun *sarcosyl*, sedang fraksi protein yang berberat molekul lebih dari 65 kDa hanya dapat terdeteksi dengan menggunakan *sarcosyl*.

SARAN

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang pemakaian NOG dan sarkosil untuk isolasi menggunakan kuman spesies lain.

Pemberian nutrisi perioperatif masih merupakan bahan pertentangan pada teknik pemberian nutrisinya, oleh karena pada umumnya sebelum pembedahan penderita sudah dalam keadaan malnutrisi.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Freeman, B.A., Textbook of Microbiology. 22nd edition. Japan. 1995: 34 – 35.
- Paustian, T., The Gram Negative Cell Wall. University of Wisconsin-Madison. 1999: 1 – 3, <http://www.bact.wisc.edu/>
- Ekpo, P., Sarasombath, S., Banchuin, N., Sirisinha, S., Monoclonal Antibody to 52 KDa protein of *Salmonella typhi*. Journal of Clinical Microbiology. 1990: 42(8): 521- 526, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>
- Verdogu-Rodriguez, A., Lopez-Vidal, Y., Puente, J.L., Ruiz-Placois, G.M., Calva, E., Early Diagnosis of Typhoid Fever by an Enzyme Immunoassay Using *Salmonella typhi* Outer Membrane Protein Preparations. Europe Journal of Clinical Microbiology Infection Diseases. April 1993: 12(4): 248 – 254, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>.
- Mc, Carey, D.J. and Allerd, D.R., Characterization of Hemagglutinating Components on The *Anaplasma marginale* Initial Body Surface and Identification of Possible Adhesins. Journal Infection and Immunity. October 1994: 4587–4593.
- Moehario, L.H., Firdaus, E.S., Sudarmono, P., Assesment of Reactivities of Typhoid Fever Sera Against Outer Membrane Protein Preparations from Virulent Strains of *Salmonella typhi* in Jakarta. Third Asia-Pacific Symposium on Typhoid Fever and Other Salmonellosis. Abstract book. 1997: 33.
- Brooks, G.F., Botel, J.S., Ornston, L.N., Jawetz, Melnick and Adelberg's, Madical Microbiology. 19th edition. Conecticut. USA. 1989: 15-16, 19-20.
- Morton, R.J., Simons, K.R., Confer, A.W., Major Outer Membrane Proteins of *Pasteurella hemolytica* serovars 1-15: Comparison of Separation Techniques and Sueface-exposed Proteins on Sselected Serovars. Vet. Microbiology. Agustus 1996: 51(3-4): 319-330
- De, Pinto, V., Benz, R., Palmieri, F., Interaction of Non-classical Detergents with the Mitochondrial Porin, A New Procedure and Characterization of the Pore-forming Unit. European Journal Biochemical. 15 Juli 1989: 183(1): 179-187
- Ravaorinoro, M., Ciurli, C., Toma, E., Morisset, R., Rapid Method for Isolating Detergent-insoluble Outer Membrane Proteins from *Pseudomonas Aeruginosa*. Electrophoresis. Mei 1994: 15(5): 594-596

11. Harris, E.L.V and Angal, S., Protein Purification Applications: A Pratical Approach. England. 1990: 18-19
12. Isibisi, A., Ortiz, V., Vargas, M., Panigua, J., Gonzales, C., Moreno, J., Kumate, J., Protection Against *Salmonella typhi* Infection in Mice After Immunization with Outer Membrane Proteins Isolated from *Salmonella typhi*, Infectious Immunology. November 1988: 56 (11): 1953-1959. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>
13. Blanco, F., Isibisi, A., Gonzales, C., Ortiz, V., Panigua, J., Arreguin, C., Kumate, J., Human Cell Mediated Immunity to Porins from *Salmonella typhi*. Scandinavia Journal Infectious Disease. 1993: 25(1): 73-80. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>.
14. Ismail, A., Kader, Z.S., Kok-Hai, O., Dot Enzyme Immunosorbent Assay for Serodiagnosis of Typhoid fever, Southeast Asian Journal Trop. Med. Public Health. Desember 1991: 22(4): 563-566
15. Sigma., Biochemistry and Reagent for Life Science Research. USA. 1998
16. Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., Review of Medical Microbiology. 18th edition. Prentice Hall International Editions. Lange Medical Publications. 1986

LAMPIRAN

Perhitungan berat molekul fraksi-fraksi OMP yang diisolasi menggunakan NOG

Panjang *main gel* terwarna = 47 mm

Tabel 1. Hasil perhitungan Rf protein standard

Jarak Protein Marker (mm)	Rf (x)	BM Protein Standard (y)
3,5	0,074	205.000
9,5	0,202	116.000
13,5	0,287	66.000
19	0,404	45.000
27	0,574	29.000
30,5	0,649	20.000
35	0,745	14.200
40	0,851	6.200

Hasil perhitungan menggunakan *exponential regression*:

$r = -0,992$

$A = 257,982$

$B = -1,774$

$Y \text{ estimate} = 257,982 - 1,774 X$

Tabel 2. Hasil perhitungan berat molekul OMP *Salmonella typhi* menggunakan NOG

Fraksi OMP (mm)	Rf (x)	BM Fraksi OMP
16	0,340	64.349
17,5	0,372	56.466
19	0,404	49.548
20	0,426	45.290
21	0,447	41.568
22	0,468	38.151
25,5	0,543	28.086
27	0,574	24.746
30	0,638	19.054
31,5	0,670	16.720
33,5	0,713	14.027
35	0,745	12.308
38,5	0,819	9.098
40	0,851	7.984
42,5	0,904	6.469
43,5	0,926	5.925

Perhitungan berat molekul fraksi-fraksi OMP yang diisolasi menggunakan *sarcocyl*

Panjang *main gel* terwarna = 49 mm

Tabel 3. Hasil perhitungan Rf protein standard

Jarak Protein Marker (mm)	Rf (x)	BM Protein Standard (y)
9,5	0,194	205.000
16	0,327	116.000
20	0,408	66.000
25	0,510	45.000
32	0,653	29.000
34	0,694	20.000
37	0,755	14.200
43	0,876	6.200

Hasil perhitungan menggunakan *exponential regression* :

$r = -0,994$

$A = 542,592$

$B = -2,105$

$Y \text{ estimate} = 542,592 - 2,105 X$

Tabel 4. Hasil perhitungan berat molekul OMP *Salmonella typhi* menggunakan *sarcocyl*

Fraksi OMP (mm)	Rf (x)	BM Fraksi OMP
18	0,367	91.602
19,5	0,398	78.822
21	0,429	67.825
24,5	0,500	48.075
27	0,551	37.546
29	0,591	30.929
30	0,612	27.936
31	0,633	25.232
35	0,714	17.039
42	0,857	8.519
44	0,898	6.984

Tabel 5. Berat molekul fraksi-fraksi OMP *Salmonella typhi* yang diisolasi menggunakan sarcosyl dan NOG

No.	Sarcosyl	NOG
1	91.602	63.349
2	78.822	56.466
3	67.825	49.548
4	48.075	45.290
5	37.546	41.468
6	30.929	38.151
7	27.936	28.086
8	25.232	24.746
9	17.039	19.054
10	8.519	16.720
11	6.984	14.027
12		12.308
13		9.098
14		7.9857
15		6.469
16		5.925