

Isolasi protein membran luar salmonella typhi menggunakan dapar dinatrium hidrofosfat dan hepes serta karakterisasi dari isolat kuman penderita demam tifoid di Jakarta

Nurleny Sutanto, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=78902&lokasi=lokal>

Abstrak

Ruang lingkup dan cara penelitian: Demam tifoid merupakan penyakit endemic di Indonesia. Salah satu masalah utama dalam penanggulangan penyakit ini adalah belum adanya cara diagnosis pemasti yang dapat diandalkan, terutama untuk pengelolaan penderita. Saat ini laboratorium Mikrobiologi FKUI sedang mengembangkan suatu cara diagnosis dengan menggunakan protein membran luar (PML) S.typhi. Untuk itu diperlukan PML dalam jumlah banyak, sehingga perlu dicari cara isolasi yang cepat, mudah dan efisien. Dicoba 2 cara isolasi yaitu menggunakan dapar Hapes dan dinatrium hidrofosfat (Na_2HPO_4). Kuman dikultur selama 18-24 jam dalam medium kaldu nutrien yang ditambahkan ekstrak ragi 0,2% dan glukosa 1,257 Dengan sentrifugasi 1400xg sus.pensi 1/1000 volume kuman dipanen pada -lase "late logarithmic" dan disonikasi. Pemisahan protein membran Iuar dan protein membran dalam dilakukan dengan sentrifugasi 100.000>:g, selanjutnya dilakukan elektroforesis pada SDS-PAGE untuk membandingkan profil proteinnnya. Karakterisasi protein tersebut dilakukan dengan "Western blot".

Hasil dan kesimpulan: Jumlah protein yang dihasilkan dengan menggunakan dapar Na_2HPO_4 rata-rata $0,084 \times 10^{-7}$ ug per sel kuman, sedangkan ekstraksi dengan menggunakan dapar Hapes menghasi l kan protein rata--rata $0,051 \times 10^{-7}$ ug per sel kuman. Profil protein pada SDS-PAGE dapat dilihat dengan jelas pada konsentrasi protein 50 ug/ml untuk ekstraksi PML menggunakan dapar Hapes dan 30 ug/ml dengan Na_2HPO_4 . Fraksinasi pada SDS-PAGE dengan kedua cara diatas memperlihatkan pita-pita protein dengan berat molekul antara 26-116 kDa dengan pita protein mayor terletak antara 36-38 kDa . Hasil "Western blot" menggunakan serum pasien tifoid dan serum kelinci yang telah diimunisasi kuman S.typhi menunjukkan adanya reaktivitas yang kuat dengan protein 38 kDa. Tidak ditemukan reaksi silang dengan serum kelinci yang diimmunisasi dengan kuman S.paratyphi A atau B. Dari hasil yang diperoleh dapat dikatakan bahwa isolasi PML dengan menggunakan dapar $\text{Na}_2\text{HP04}$ lebih cepat, mudah dan praktis karena prosedurnya lebih singkat. Selain itu ekstraksi cara ini lebih efisien dare pada cara Hapes karena jumlah protein yang diperoleh lebih banyak, dan dibLLtuhkan jumlah yang lebih sedikit.