

PROTEIN PILI 96,4 kDa *Klebsiella pneumoniae* SEBAGAI PROTEIN HEMAGLUTININ DAN ADHESIN

Laila Rizqi Kurniawati¹, M. Ali Shodikin^{2*}, Dini Agustina², Kristianningrum Dian Sofiana³

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember, Jember, Indonesia

²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember, Jember, Indonesia

³Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember, Jember, Indonesia

ABSTRACT

Article History

Submitted: 02-06-2020

Accepted: 07-03-2021

Published: 30-03-2021

Keyword:

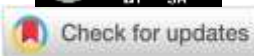
Klebsiella pneumoniae,
Pili,
Hemagglutinin,
Adhesin

Abstract:

Klebsiella pneumoniae is a bacteria of the genus *Klebsiella* in the family Enterobacteriaceae. *Klebsiella pneumoniae* causes serious infection. Virulence factors are important in the initial attachment of bacteria in infecting hosts are pili and Outer Membrane Protein (OMP). Pili as a virulence factor can be strongly attached specifically and able to avoid cleaning done by host cells. The adhesion ability of bacterium is influenced by its ability to agglutinate erythrocytes. Based on the preliminary studies that have been conducted, molecular weight of the pili protein obtained from SDS-PAGE electrophoresis is 96.4 kDa has a thick and high concentration band, no studies have shown that the pili protein 96.4 kDa is a hemagglutinin and adhesin protein. The purpose of this study is to determine the role of 96.4 kDa protein pili of *Klebsiella pneumoniae* as hemagglutinin and adhesin protein. The results of hemagglutination test using mice erythrocyte cells obtained the highest hemagglutination titer for the molecular weight of pili protein 96.4 kDa is in titer 1. Adhesion index with dilution titer had a significant relations which was 0.016 ($p < 0.05$) with $r = -0.847$. It was concluded that 96.4 kDa pili protein of *K. pneumoniae* is a hemagglutinin and adhesin protein.

Abstrak:

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri genus *Klebsiella* dalam famili Enterobacteriaceae. *Klebsiella pneumoniae* menyebabkan infeksi serius. Faktor virulensi penting dalam perlekatan awal bakteri untuk menginfeksi inang pili dan Outer Membrane Protein (OMP). Pili sebagai faktor virulensi dapat melekat kuat secara spesifik dan mampu menghindari pembersihan yang dilakukan oleh sel inang. Kemampuan adhesi suatu bakteri dipengaruhi oleh kemampuannya dalam mengagglutinasikan eritrosit. Berdasarkan studi pendahuluan yang telah dilakukan, berat molekul protein pili yang muncul dari hasil elektroforesis SDS-PAGE yaitu 96,4 kDa memiliki pita tebal dan berkonsentrasi tinggi serta belum ada penelitian membuktikan bahwa protein pili 96,4 kDa merupakan protein hemagglutinin dan adhesin. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui peran protein pili 96,4 kDa bakteri *Klebsiella pneumoniae* sebagai protein hemagglutinin dan adhesin. Penelitian ini dilakukan dengan mengisolasi protein pili *Klebsiella pneumoniae* kemudian dilakukan uji aglutinasi menggunakan sel eritrosit mencit dan uji adhesi menggunakan sel enterosit mencit. Hasil yang diperoleh dianalisis menggunakan *Saphiro-Wilk*. Hasil uji hemagglutinasikan dengan menggunakan sel eritrosit mencit didapatkan titer hemagglutinasikan paling tinggi untuk berat molekul protein pili 96,4 kDa adalah pada titer 1. Indeks adhesi dengan titer pengenceran memiliki hubungan yang bermakna yaitu 0,016 ($p < 0,05$) dengan nilai $r = -0,847$, sehingga disimpulkan protein pili 96,4 kDa *Klebsiella pneumoniae* merupakan protein hemagglutinin dan adhesin.



Corresponding Author:

M. Ali Shodikin

Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran,
Universitas Jember,
Jember, Indonesia

Email: alishodikin.fk@unej.ac.id

How to Cite:

L.R. Kurniawati, M.A. Shodikin, D. Agustina, and K.D. Sofiana, "Protein Pili 96,4 kDa *Klebsiella pneumoniae* Sebagai Protein Hemagglutinin dan Adhesin," Indones. J. Heal. Sci., vol. 5, no. 1, pp. 25-29, 2021.

PENDAHULUAN

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri Gram negatif genus *Klebsiella* yang tergabung dalam famili Enterobacteriaceae, berbentuk batang gemuk, berkapsul dan berdasarkan kebutuhan oksigennya, bakteri ini termasuk ke dalam bakteri fakultatif anaerob [4]. *Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan beberapa infeksi serius seperti pneumonia, abses hati, bakteremia, sepsis, infeksi nosokomial dan infeksi saluran kemih serta beberapa infeksi lainnya [2].

Klebsiella pneumoniae dapat menghasilkan *Extended-Spectrum-Beta-Lactamase (ESBL)* yang dapat menyebabkan resistensi pada beberapa antibiotik [4]. *Klebsiella pneumoniae* juga memproduksi beberapa faktor virulensi yaitu kapsul polisakarida, faktor adhesi, lipopolisakarida, dan aktivitas siderophor [2]. Faktor virulensi yang penting terhadap perlekatan awal bakteri untuk menginfeksi inang adalah faktor adhesi yang melibatkan pili dan *Outer Membrane Protein (OMP)*. OMP memiliki kemampuan melekat lebih kuat daripada pili, namun OMP jenis tertentu belum sepenuhnya diketahui keterlibatannya dalam menginfeksi sel inang, sedangkan pili dapat berikatan cukup spesifik dan secara umum diketahui berperan dalam patogenitas sel inang pada bakteri Gram negatif [1,4,8]. Kemampuan pili dalam melakukan adhesi dipengaruhi oleh kemampuannya dalam mengaglutinasi eritrosit [9]. Faktor adhesi memiliki potensi yang baik sebagai komponen dalam pembuatan vaksin.

Berdasarkan studi pendahuluan yang telah dilakukan, didapatkan berat molekul protein pili 96,4 kDa dengan pita yang tebal dan berkonsentrasi tinggi serta belum dibuktikan sebagai protein hemagglutinin dan adhesin, sehingga penelitian ini diharapkan menjadi dasar dan landasan dalam penelitian selanjutnya untuk membuktikan kemampuan protein pili 96,4 kDa sebagai protein hemagglutinin dan adhesin dalam pengembangan vaksin.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental untuk mengetahui peran 96,4 kDa protein pili *Klebsiella pneumoniae* sebagai protein hemagglutinin dan adhesin. Variabel bebas pada penelitian ini adalah berat molekul protein pili 96,4 kDa *Klebsiella pneumoniae*, sedangkan variabel terikatnya adalah aglutinasi eritrosit dan indeks adhesi. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, plate, obyek glass, cover glass, mikroskop, inkubator, sentrifus, SDS-PAGE elektroforesis, dialisa tube, Electroelusion chamber, beaker glass, magnetic stirrer, refrigerator, eppendorf, gunting pinset, pili cutter, shaking waterbath, shaking incubator, microplate V, vortex dan rotator plate, sedangkan bahan yang digunakan adalah isolat bakteri *K. pneumoniae* dari pasien VAP RS Saiful Anwar Malang yang didapatkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, mencit untuk isolasi sel enterosit mencit, pewarnaan Gram, medium MacConkey dan Brain Heart Infusion (BHI), medium Thiaprolin Carbonate Glutamate (TCG), Tri Chloroacetic Acid (TCA), Phosphate Buffer Saline (PBS), Tris HCl 5 mM pH 6,8, 2-mercapto etanol 5%, sodium dodecyl sulfate 2,5%, stacking gel 4%, gliserol 10%, mini slab gel 12,5 %, bromophenol blue, commassie brilliant blue R-250, etanol absolut, etanol dingin, aquades steril, larutan buffer, kloroform, cairan 1,55 mM KCL; 9,6 mM NaCl; 8 mM KH₂SO₄; 27 mM Na Citrat dan 5,6 mM Na₂HPO₄; 1,5 mM EDTA.

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu, identifikasi dan kultur bakteri *Klebsiella pneumoniae*, isolasi pili bakteri *Klebsiella pneumoniae*, identifikasi berat molekul pili bakteri dengan elektroforesis (SDS-PAGE), uji hema-

glutinas, isolasi sel enterosit menci, dan uji adhesi. Penelitian ini menggunakan uji korelasi-regresi untuk mengetahui hubungan antara indeks adhesi dengan konsentrasi protein pili 96,4 kDa, dengan batas signifikansi 0,05 ($p < 0,05$).

Adapun izin etik dari penelitian ini dikeluarkan oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember nomor 1284/H25.1.11/KE/2019.

HASIL DAN PEMBAHASAN

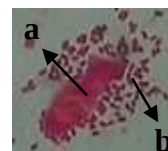
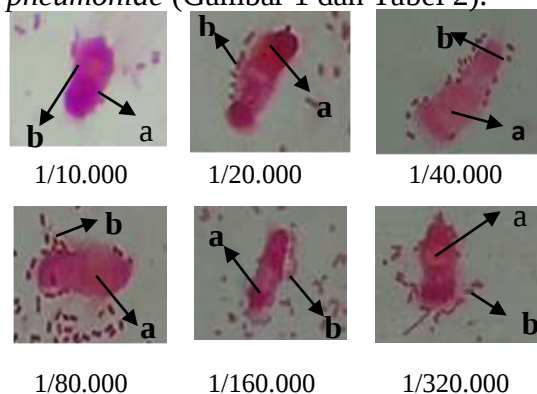
Protein pili yang telah dielektroelusi kemudian dilakukan spektrofotometri untuk mengetahui konsentrasinya menggunakan spektrofotometer. Protein pili 96,4 kDa memiliki konsentrasi 3,2 mg/ml. Hasil uji hemaglutinasi yang didapatkan terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1.
Hasil Uji Hemaglutinasi Protein Pili 96,4kDa

Sampel	Pengenceran							
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Pili 96,4 kDa	+	-	-	-	-	-	-	-

Protein pili yang telah diuji hemaglutinasi kemudian dilanjutkan ke uji adhesi. Uji adhesi dimulai dengan pengenceran 1/10.000, 1/20.000, 1/40.000, 1/80.000, 1/160.000, 1/320.000.

Berikut ini adalah hasil uji adhesi pada protein pili 96,4 kDa *Klebsiella pneumoniae* (Gambar 1 dan Tabel 2).



Kontrol

a : sel enterosit menci; b : bakteri

Gambar 1. Uji adhesi protein pili 96,4 kDa *Klebsiella pneumoniae* berdasarkan perbedaan perbesaran

Tabel 2.
Hasil perhitungan uji adhesi protein pili 96,4 kDa

Titer Pengenceran							
	Kontrol	1/320000	1/160000	1/80000	1/40000	1/20000	1/10000
Pengulangan							
I	1705	1284	1056	1244	1010	820	674
II	1823	1360	1338	1260	987	860	693
III	1840	1455	1290	1036	1192	889	639

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini menunjukkan bahwa protein pili 96,4 kDa *Klebsiella pneumoniae* dapat melakukan hemaglutinasi pada titer pengenceran 1 yang artinya protein pili *Klebsiella pneumoniae* 96,4 kDa merupakan protein hemaglutinin.

Proses hemaglutinasi ditandai dengan tidak adanya endapan pada bagian dasar *mikroplate*, apabila ditemukan suatu endapan eritrosit pada bagian bawah dinding *mikroplate* maka interpretasi uji hemaglutinasi adalah negatif karena tidak ada protein pili yang mengikat eritrosit [3]. Hemaglutinasi pada bakteri terjadi akibat adanya *lectin* pada bakteri yang berafinitas tinggi dan memiliki struktur domain yang dapat berikatan secara spesifik pada karbohidrat. *Lectin* dapat mengikat endapan polisakarida glikoprotein sehingga dapat menyebabkan terjadinya penggumpalan [6].

Berdasarkan penelitian sebelumnya [1] protein pili 12,8 kDa *Klebsiella pneumoniae* merupakan protein hemaglutinin dengan titer pengenceran tertinggi 1/256.

Perbedaan hasil uji hemaglutinasi pada masing-masing berat molekul dapat terjadi dikarenakan kemampuan masing-masing pili untuk mengikat eritrosit. Protein pili yang dapat mengikat eritrosit pada pengenceran yang lebih tinggi, maka protein pili tersebut memiliki kemampuan adhesi yang lebih kuat [3].

Protein pili 96,4 kDa yang telah dilakukan uji hemaglutinasi kemudian dilakukan uji adhesi untuk membuktikan bahwa protein pili 96,4 kDa merupakan protein adhesin. Protein adhesin pada bakteri melibatkan *lectin* yang umumnya berbentuk memanjang sebagai bentuk pelengkap protein untuk dapat mengikat dan berinteraksi dengan reseptor *glikolipid* dan *glikoprotein* dalam memfasilitasi bakteri melakukan perlekatan awal pada sel inang [5]. Proses adhesi secara spesifik diperantarai oleh reseptor inang yang mampu berikatan pada antigen di permukaan bakteri [7]. Antigen tersebut dapat berupa pili/fimbria, kapsul maupun komponen lain dari struktur bakteri [11]. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi protein pili yang diberikan maka akan semakin rendah indeks adhesi bakteri terhadap sel enterosit, hal tersebut sesuai dengan [10] yang ditulis dalam [3] bahwa adhesi bakteri dapat dihambat oleh molekul adhesi yang dapat berikatan pada reseptor spesifik inang. Semakin tinggi konsentrasi protein adhesin yang diberikan, maka semakin rendah bakteri yang menempel pada sel enterosit diakibatkan adanya reseptor atau ligan spesifik pada molekul adhesi berikatan terlebih dahulu pada reseptor spesifik sel inang. Penelitian ini membuktikan bahwa protein pili 96,4 kDa merupakan protein adhesin yang dapat berikatan pada reseptor spesifik sel inang.

Hasil analisis data diperoleh bahwa R^2 pada penelitian ini adalah 71,8 % sehingga dapat diketahui bahwa pengenceran atau konsentrasi protein pili yang diberikan berpengaruh sampai 71,8 % terhadap indeks adhesinya. Hasil tersebut dapat dipengaruhi oleh pH dan Suhu,

enzim. pH optimal sekitar pH 5,5-pH 7, sedangkan suhu maksimal dari proses adhesi adalah 20°C-30°C apabila terjadi kenaikan pH diatas 7 dan suhu diatas suhu maksimal maka kemampuan adhesi protein pili dapat terhambat [12]. Pengaruh konsentrasi protein pili sampai 71,8 % terhadap indeks adhesinya mengidentifikasi bahwa saat melakukan uji adhesi memenuhi kriteria pH dan suhu yang baik. Namun pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran pH dan suhu.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa pili 96,4 kDa *Klebsiella pneumoniae* dapat berperan sebagai protein hemaglutinin dan adhesin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada dr. Supangat, M.Kes, Ph. D, Sp.BA selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember; dr. M. Ali Shodikin, M.Kes, Sp.A selaku dosen pembimbing utama dan dr.Kristianningrum Dian S., M.Biomed selaku dosen pembimbing anggota serta ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada dr. Dini Agustina M.Biomed selaku dosen penguji utama dan koordinator Kelompok Riset Mikrobiologi serta dr. Adel Handoko M.Si selaku dosen penguji anggota dan Lilis Lestari, A. Md selaku analis Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah banyak membantu dan memberikan saran serta masukan sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- 1] D. Agustina "Immunoblotting Detection of Immunoglobulin G Post Subcutaneous Immunization Of Protein Hemagglutinin Pili Protein 12,8 kDa *Klebsiella pneumoniae* on Mice BALB/C," *Journal of Agromedicine and Medical Science*, Vol. 2, No. 3, pp. 40-46, 2017.

- [2] S. Clegg, and C. N. Murphy. "Epidemiology and Virulence of *Klebsiella pneumoniae*," *Microbiology Spectrum*, Vol.1, No.4, pp. 1-17, 2016.
- [3] A. A. Fitrianiingsih, "Haemagglutination of *Shigella flexneri* Subunit Pili Protein 18 kDa As a Molecule Adhesion in Mice Enterocytes," *Journal of Islamic Pharmacy*, Vol.1, No.2, pp. 22-29, 2017.
- [4] B. Li, Y. Zhao, C. Liu, Z. Chen, and D. Zhou, "Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*," *Future microbiology*, Vol.9, No.9, pp. 1071-1081, 2014.
- [5] V. Nizet, A. Varki, and M. Aebi, "Microbial Lectins: Hemagglutinins, Adhesins, and Toxins. *Essentials of Glycobiology* 3rd ed. 2017. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK453032/>. [Diakses 29 Januari 2019]
- [6] N. Nuraningsih, S. Darmawati, and B. Santosa, "Aktivitas Hemagglutinasia Protein Pilli *Salmonella typhi* terhadap Eritrosit Manusia dan Domba," In *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus*, 2018 Vol. 1, pp. 86-90.
- [7] M. K. Paczosa, and J. Mecsas, "*Klebsiella pneumoniae*: Going on The Offense with A Strong Defense," *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Vol. 3, No. 80, pp. 629-661, 2016.
- [8] S. C. Parija, *Microbiology and Immunology*. 2nd ed. Haryana : Elsevier, 2012.
- [9] A. Shareef, and E. T. Abdulla, "Hemagglutination Properties of Some Intestinal Bacterial Pathogens Isolated from Clinical Samples," *Tikrit Journal of Pure Science*, Vol. 3, No. 15, pp. 5-10, 2010.
- [10] K. Todar, "Todar's Online Textbook of Bacteriology *Shigella* and *Shigellosis*" 2011. <http://www.textbookofbacteriology.net/Shigella.html>.
- [11] M. M. Guli, "Patogenesis Penyakit Kolera Pada Manusia," *Biocelbes*, Vol.2, No. 15, pp. 18-24, 2016.
- [12] S. McEldowney dan M. Fletcher. 1988. "Effect of pH, temperature, and growth conditions on the adhesion of a gliding bacterium and three nongliding bacteria to polystyrene," *Microbial Ecology*. Vol.16, No. 2, pp. 183-195.