

**PRODUKSI DAN KARAKTERISASI ANTIBODI ANTI Fim-C  
Salmonella typhimurium PADA MENCIT DDY**

**Dea Apriyani<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Anggota Peneliti Muda Madya

Kelompok Peneliti Muda Universitas Negeri Jakarta

Email: deaapriyani@gmail.com

**ABSTRAK**

*Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan hasil produksi dan karakterisasi antibodi anti Fim-C S.typhimurium pada mencit DDY menggunakan metode ELISA dan Western Blot. Metode yang digunakan adalah eksperimen dan eksplorasi dikelompokkan menjadi empat, yaitu : Kelompok perlakuan 1 ( protein Fim – C S.typhimurium + Adjuvant ) , Kelompok perlakuan 2 ( protein Fim – C S.typhimurium ) , kelompok kontrol 1 ( FCA ). Penelitian ini menyimpulkan bahwa produksi antibodi anti Fim-C Salmonellatyphimurium telah berhasil dilakukan dengan dibuktikan melalui karakterisasi menggunakan teknik ELISA dan Western Immunoblotting. FIA adjuvant ) , kelompok kontrol 2 ( PBS1x). Protein Fim-C Salmonellatyphimurium dari penelitian sebelumnya digunakan sebagai antigen, disuntikan sebanyak empat kali pada mencit dengan 20 µg, 40µg, 60µg, dan 40µg. Hasil karakterisasi menggunakan teknik ELISA menunjukkan adanya kenaikan titer antibodi dari bleed 0 – bleed 4 pada kelompok eksperimen. Hasil karakterisasi menggunakan teknik Western Immunoblotting menunjukkan adanya interaksi antibodi anti Fim-C Salmonella typhimurium dan antigen Fim-C Salmonella typhimurium secara spesifik.*

**KataKunci:** *Salmonella typhimurium. Protein Fim- C Salmonella typhimurium. Antibodi anti Fim- C Salmonellatyphimuriu. ELISA. Western Immuno blotting.*

**ABSTRACT**

*This research aims to get the production and characterization of anti Fim-C S.typhi murium DDY mice using ELISA and Western Blot. The method use disexperimental and exploratory grouped into four, namely, the first treatment group (Fim-C protein of S.typhi murium + Adjuvant ) , treatment group 2 (Fim-C protein S.typhi murium), control group 1 (FCA). This study concluded that the production of antiFim-C Salmonella typhi murium has been successfully performed with proven through characterization using ELISA and Western Immuno blotting techniques. FIA adjuvant), control group 2 (PBS1x). Fim-C protein of Salmonella typhi murium from previous studies used as antigen, injected fourtimes in mice with 20 mg, 40mg, 60mg, and 40 mg. Characterization results using ELISA technique showe dan increase in antibody titer of the bleed 0 – bleed 4 in the experimental group. Results characterization using techniques Western Immuno blotting showed the interaction of anti Fim-C antigen Salmonella typhi murium and Salmonella typhi murium Fim-C specifically.*

**Keywords :** *Salmonella typhi murium. Fim-C protein of Salmonella typhimurium. Fim- C anti bodies Salmonella typhi murium. ELISA Western Immunoblotting.*

## Pendahuluan

Demam tifoid merupakan infeksi sistemik yang cukup serius yang diakibatkan oleh bakteri *Salmonella enterica* Serovar Typhi yang menjadi masalah kesehatan di negaradi wilayah Asia Tengah, Asia Tenggara, Afrika dan AmerikaLatin (Cuiet *al.*, 2010). Terhitung bahwa telah terjadi 22 juta kasus demam tifoid dan 200.000 kasus mengalami kematian pertahun. Gejala klinis yang ditimbulkan biasanya berupa demam, dangan gangguan pencernaan, serta gejala lain berupa sakit kepala, berkeringat, pusing, sembelit, dan gejala lainnya (Fraser *et al.*, 2009). *Salmonella enterica* Serovar Typhi murium merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang, tidak membentuk spora, memiliki diameter 0,7-1,5  $\mu\text{m}$  Panjang 2 - 5  $\mu\text{m}$ , dan flagella disekeliling tubuhnya dan merupakan jenis bakteri anaerob fakultatif (Lancelloti *et al.*, 2012). *Salmonella typhi murium* merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit tifus pada mencit dan gangguan infeksi usus seperti penderita peyakit tifus pada umum nya(Zhang *et al.*, 2003).

Bakteri ini memiliki kesamaan dengan *Salmonella typhi* yang merupakan agen penyebab demam tifoid. Hal ini menunjukkan bahwa mencit yang terinfeksi oleh *Salmonella typhimurium* dapat dijadikan sebagai model percobaan untuk mempelajari penyakit tifus pada manusia. Berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan nomor 365 / Menkes / SK / v / 2006 menyatakan bahwa dari telaah kasus di rumah sakit besar Indonesia, kasus demam tifoid menunjukkan kecenderungan meningkat dari tahun ketahun dengan rata-rata kesakitan 500-100.000 penduduk dengan kematian antara0,6-5%. Oleh karenaitu

dibutuhkan suatu tinjauan klinis untuk mengatasi kasus demam tifoid.

Proses patogenesis dari *Salmonella typhimurium* dalam mencit yaitu berawal dari proses masuknya bakteri dari lingkungan melalui membran mukosa, kulit, maupun organ dalam yang kemudian bakteri akan melakukan proses invasi dan adhesi dan berkoloni di organ usus. Adhesi yang spesifik membutuhkan interaksi antaramolekul permukaan bakteri dan inang. Protein rambut seperti *fim briae* disekitar permukaan terlibat dalam hal ini. Dalam beberapa studi menyebutkan bahwa komponen ekstraseluler seperti *fimbriae* dapat menginduksi respon imunitas dan dapat dijadikan kandidat antigen (Baratet *al.*, 2012).

Fim-C adalah protein yang memiliki prediksi homologi terhadap *fimbriae* yang terdapat pada outer membrane. Salah satu penelitian menyebutkan bahwa protein Fim-C ditemukan sebagai salah satu protein potensial dalam proses patogenesis (Muktiningsihet *al.*, 2009). Selama infeksi berlangsung, makrofag melakukan proses fagosit dan akan merangsang respon imun. Respon dari makrofag dapat dipicu oleh lipopo lisakarida, porin, membran luarprotein, protein fimbrial, flagella, lipoprotein, glikoprotein, dan 10 peptidoglikan yang merupakan komponen dari bakteri (Rosenbergeret *al.*, 2000).

Proses imunitas ini juga dijelaskan dalam vaksinasi, yaitu proses melibatkan antigen yang dapat menginduksi sistem imun. Masuknya antigen sebagai bahan asing yang berada dalam tubuh akan menghasilkan respon imun untuk mempertahankan kekebalannya. Saat ini *S. typhimurium* sedang dipelajari dalam pengembangan vaksin untuk penyakit demam tifoid pada manusia. Penggunaan model

patogenesis pada hewan uji seperti mencit dapat digunakan sebagai uji potensial penggunaan vaksin (Songet *al.*, 2010). Penggunaan vaksin sangat diperhitungkan dalam upaya penanganan kasus demam tifoid. Vaksin yang telah berkembang sampai saat ini adalah vaksin oral Ty 2 1a dan vaksin Vi polisakarida. Efek yang ditimbulkan dari penggunaan vaksin tersebut masih merugikan. Suatu cara untuk mengatasi hal ini adalah dengan penggunaan vaksin rekombinan. Vaksin rekombinan yang sedang dikembangkan oleh tim peneliti adalah vaksin rekombinan protein Fim-C *S. typhi* dan vaksin rekombinan Fim-C *S. typhimurium*. Protein Fim-C atau *fimbriae* adalah protein permukaan *S. typhi* yang digunakan untuk menempelkan dirinya pada sel inang dan beberapa objek lainnya. Protein Fim-C ditemukan sebagai salah satu molekul bioaktif karena merupakan protein potensial dalam proses patogenesis (Muktiningsih *et al.*, 2011). Dalam beberapa studi menyebutkan bahwa komponen ekstra seluler seperti *fimbriae* dapat menginduksi respon imunitas dan dapat dijadikan kandidat antigen (Baratet *al.*, 2012).

Metode karakterisasi antibodi dalam penelitian ini menggunakan teknik ELISA dan *Western Immunoblotting*. Tahapan metode ELISA adalah proses absorpsi, interaksi antigen-antibodi, pencucian, proses enzimatis, dan proses pembacaan sinyal menggunakan teknik spektrofotometri. Metode ini menunjukkan karakteristik pembentukan antibodi secara kuantitatif dengan adanya peningkatan respon antibodi pada setiap *bleed*. Sedangkan, *Western immunoblotting* digunakan dalam mengidentifikasi protein yang dipisahkan berdasarkan berat molekulnya menggunakan

elektroforesis gel. Metode ini menunjukkan bahwa adanya antigen

Fim-C *S. Typhi murium* dapat berinteraksi dengan antibodi spesifikanti Fim-C *S. typhi murium*. Antibodi yang terikat dan terdeteksi. Ketebalan pita menunjukkan jumlah protein yang ada (Mahmood dan Yang, 2012).

### Metodologi Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan dan mengetahui karakteristik serum darah yang mengandung antibodi anti Fim-C *S. Typhi murium* spesifik sebagai respon dari penyuntikan protein Fim-C. Metode yang dilakukan dalam penelitian ini adalah metode eksplorasi dan eksperimen yang terdiri dari beberapa tahap meliputi : Produksi antibodi anti Fim-C *S. Typhi murium*, Analisis titer antibodi dengan ELISA, Analisis spesifikasi antibodi dengan *Western immunoblotting*, Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung mikro sentri fuge steril, falcon, Kulkas (SHARP), *Freezer* (SHARP), Inkubator (Mermert), *Microcentrifuge* (Hettich Zentrifugen), alat-alat kaca bermerk Pyrex (tabung reaksi, cawan petri, corong, gelas kimia, gelas ukur, erlenmeyer, labu ukur), spatula, batang pengaduk, kawat ose, pinset, masker, sarung tangan, pipet tetes, mikropipet (Labnet; Bio-Rad), tabung mikrosentri fuge, tip untuk mikropipet, *syringe*, magnetik *stirrer* (stuart), pH meter (Eutech), kertas saring, timbangan analitik (Wiggen Hauser), *shaker* (New Brunswick Scientific), ELISA reader (BIO-TEK), ELISA plat (IWAKI), satu set alat elektroforesis (Bio-Rad), satu set alat *Western immunoblotting* (Bio-Rad). Bahan utama dan bahan kimia yang mendukung penelitian ini, protein Fim-C *Salmonella typhi imurium*,

Fruend's Complete/Incomplete Adjuvant (Sigma; Thermo Scientific), Buffer PBS (Thermo Scientific), MgCl<sub>2</sub>, Tween 20, susu skim (Tropicana Slim non Fat), *Pierce Goat Anti-Mouse ig G,(H+L) Peroxidase Conjugate* (Thermo Scientific), larutan substrat Tetra Metil Benzidine (TMB) (Thermo Scientific), aquades (Harum Kimia), Tris-HCl (BIO-RAD), glisin, SDS (Biogen Scientific), N, N, N', N'-tetra-etilen-diamin, amonium persulfat, akrilamid, bis akrilamid, *staining solution, destaining solution, SDS PAGE standard* (BIORAD), *sample buffer* (Thermo Scientific) NaOH, HCl 37%, 2-mercaptoetanol, bromphenolblue, NaCl, Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Bovine Serum Albumin, Tris Base (Biogen), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, metanol, etanol 96%, Substrat 3,3'-diaminobenzidine (DAB) (Thermo Scientific).

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Kimia FMIPA UNJ, Laboratory for Development of Technology Industry for Agryculture and Biomedic (LAPTIAB) BPPT PUSPIPTEK Serpong, laboratorium Biokimia FMIPA UNJ. Waktu penelitian dilakukan padabulan Oktober 2012– Mei 2013.

Prosedur penelitian ini meliputi Produksi antibodi antiFim-C *S. Typhimurium*, Analisis perkembangan pembentukan antibodi anti Fim-C *S. Typhimurium* dengan teknik ELISA, Analisis spesifikasi antibody antiprotein Fim-C dengan *Western immuno blotting*. Untuk uji Karakterisasi dilakukan dengan dua kelompok besar, yaitu kelompok perlakuan (KP), dan kelompok kontrol (KS). KP 1, mencampurkan protein Fim-C dan *Freund complete / Incomplete Adjuvant*. KP 2, menambahkan protein. KS 1, menambahkan *Freund Complete / Incomplete Adjuvant*. KS 2, disuntikan

oleh *Phosphate Buffer Saline* atau PBS. Semua perlakuan diuji pada 8 ekor mencit. Proses Imunasi dengan menambahkan Antigen, yang berasal dari campuran Fim-C dan *adjuvant* yaitu sebanyak 20 µg (dosis 1), 40 µg (dosis 2) 60 µg (dosis 3) dan 40 µg (dosis 4) protein Fim-C *S. typhi muria*. Pada analisis jumlah pembentukan antibodi sebagai antibodi antiFim-C *S. typhimurium* dengan teknik ELISA dengan pengaruh pada penambahan antibodi anti protein Fim-C *S. Typhi murium* mulai pada sampel. Pengujian serologis terhadap antibodi hasil respon imun dari antigen Fim-C dapat dilakukan dengan metode *Western immuno blotting*. dengan memvariasikan konsentrasi protein Fim-C yaitu 0,5 µg - 3 µg.

### Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan antibodi anti Fim-C *S. typhimurium* pada mencit DDY dan diuji secara serologis dengan metode ELISA dan *Western immunoblotting* dalam upaya pengembangan model vaksin rekombinan pada penyakit demam tifoid. Produksi antibodi anti Fim-C *S. Typhimurium* Analisis perkembangan pada Mencit DDY yang telah dikelompokan (KP 1, KP 2, KS 1, KS 2) dikondisikan selama 1 minggu dipelihara dalam kandang pada ruangan 20-25°C diberi makan dan minum dan dipantau berat badan serta kematian dan aktivitasnya. Pada hari pemindahan mencit ke laboratorium mencit ditimbang berat badannya dan hasil berat badan mencit mengalami penurunan pada hari ke-3 dikarenakan mencit diduga stress karena masih proses adaptasi namun pada hari ke-5 dan selanjutnya mengalami kenaikan yang menunjukkan mencit telah dapat beradaptasi dengan lingkungan laboratorium. Intramuscular (pangkal

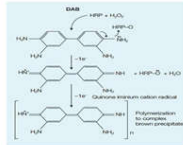
paha) dan intraperitonial (abdomen). Penyuntikan ke-1 dengan dosis 20 µg dan, ke-2 dengan dosis 40 µg, ke-3 dengan dosis 60 µg dan ke-4 dengan dosis 40 µg. Peningkatan dosis ini diharapkan dapat meningkatkan respon imun. Telah dapat beradaptasi dengan lingkungan laboratorium. Pengukuran dengan teknik ELISA dilakukan dengan membandingkan setiap *bleed* (*bleed* 0 - 4) dalam satu plate ELISA. Tabel 4 dan Gambar 16 menunjukkan jumlah titer antibodi yang dihasilkan pada setiap *bleed* pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Pada kelompok perlakuan 1 (KP 1) dan kelompok perlakuan 2 (KP 2) terjadi kenaikan titer antibodi yang dihasilkan pada setiap *bleed* yang menunjukkan adanya peningkatan respon antibodi terhadap jumlah antigen yang diberikan.

Kenaikan jumlah antigen Fim-C *S. typhimurium* yang diberikan pada mencit menghasilkan kenaikan jumlah antibodi spesifik anti Fim-C *S. typhimurium*. Hal ini terjadi akibat adanya peran sel B memori spesifik yang telah teraktivasi oleh antigen anti Fim-C *S. Typhimurium* yang lebih siap membentuk antibodi terhadap antigen yang masuk secara berulang sehingga produksi antibodi dalam tubuh akan meningkat. Titer antibodi pada kelompok kontrol 1 (KS 1) yang diberikan *adjuvant* dan kelompok kontrol 2 (KS 2) yang diberikan PBS tidak mengalami kenaikan respon antibodi dengan diberikannya *adjuvant* dan PBS masing masing secara berulang. Hal ini menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol tidak terjadi respon antibodi terhadap *adjuvant* dan PBS yang masuk kedalam tubuh dikarenakan kedua larutan tersebut tidak mempunyai sifat antigensitas sebagai benda asing yang dapat merangsang pembentukan antibodi. Hal ini

menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan dapat menghasilkan kenaikan antibodi spesifik anti Fim-C sebagai respon adanya penyuntikan antigen Fim-C berulang. Sedangkan kelompok kontrol tidak menghasilkan kenaikan respon antibodi spesifik.

Pada hasil titer antibodi pada *bleed* ke2 - 4 menunjukkan perbedaan nilai absorbansi dimana kelompok perlakuan menunjukkan kenaikan titer antibodi dengan kelompok perlakuan 1 menunjukkan kenaikan antibodi lebih besar dibandingkan kelompok perlakuan 2. Kenaikan titer antibodi kelompok perlakuan 1 yang diberikan campuran antigen Fim-C *S. Typhimurium* lebih besar dibandingkan kelompok perlakuan 2 yang hanya diberikan antigen Fim-C *S. typhimurium*. Hal ini membuktikan *adjuvant* dapat merangsang pembentukan antibodi dan menjaga protein antigen dari katabolisme yang berlangsung begitu cepat, sehingga protein dapat merangsang pembentukan antibodi spesifik yang diinginkan. Hasil pengukuran absorbansi antibodi dengan ELISA menunjukkan bahwa rata-rata jumlah antibodi mengalami peningkatan dari *bleed* ke 0 - 4 dari jumlah antigen yang digunakan yaitu 100 ng dan 300 ng keduanya mengalami kenaikan nilai absorbansi yang menunjukkan kenaikan jumlah antibodi yang mengikat antigen tersebut. Kenaikan ini menunjukkan bahwa protein Fim-C dapat menimbulkan respon imun dengan peningkatan jumlah antibodi pada setiap *bleed* nya. Jumlah antibodi mengalami kenaikan yang lebih baik dengan jumlah antigen 300ng dibandingkan jumlah antigen.

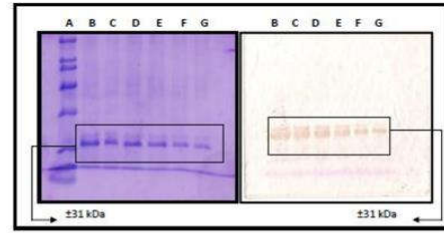
Pengujian serologis terhadap antibodi hasil respon imun dari antigen Fim-C dapat dilakukan dengan metode *Western immunoblotting*. Hasil uji deteksi antigen anti Fim-C terhadap antibodi yang dihasilkan menunjukkan adanya interaksi keduanya yang



**Gambar 1.** Perubahan Substrat DAB Menjadi Produk Berwarna Coklat. DAB melakukan donor elektron kepada HRP yang mengkatalisa reaksi oksidasi hydrogen peroksida. DAB membentuk senyawa radikal yaitu *Quinone Iminium*. Senyawa ini kemudian melakukan polimerisasi yang akan membentuk endapan coklat (Bio-Rad Laboratories, Inc., 2012)

ditandai dengan terbentuknya pita warna coklat yang merupakan produk adanya aktivitas oksidasi  $H_2O_2$  yang dikatalis oleh enzim horse radish peroksidase dimana enzim ini akan merubah DAB menjadi produk berwarna coklat. Reaksi disajikan pada gambar 1. Reaksi yang melibatkan enzim dan substrat menghasilkan produk yang berwarna coklat. HRP akan mengkatalis reaksi oksidasi hidrogen peroksida dalam larutan substrat dimana DAB dibutuhkan dalam proses transfer elektron oleh HRP ketika mengkatalisa reaksi oksidasi  $H_2O_2$  sehingga dihasilkan produk berwarna coklat yang tidak larut (Thermo Fisher Scientific Inc. 2011). Terjadinya reaksi tersebut menunjukkan adanya interaksi antigen pada membran nitro selulosa dengan antibodi primer dan interaksi antibodi primer dengan antibodi sekunder yang mengandung enzim HRP sehingga substrat dapat menghasilkan produk berwarna coklat selama proses *Western immunoblotting*.

Hasil *Western immunoblotting* pada membran nitro selulosa menunjukkan Sensitifitas antibodi pada kelompok eksperimen 1 (KP 1) dapat mendeteksi protein Fim-C *S. Typhimurium* minimal hingga konsentrasi 0,5  $\mu\text{g}$  sebagai antigen yang



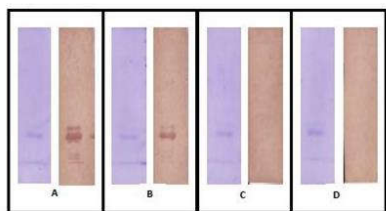
**Gambar 2.** Hasil SDS Page dan *Western Immunoblotting* pada Kelompok Perlakuan 1 (KP 1). Dengan konsentrasi protein 0,5 - 3  $\mu\text{g}$ . Lajur A : marker protein dengan ukuran tertentu. Lajur B : protein Fim-C *S. typhimurium* 3  $\mu\text{g}$ . Lajur C : protein Fim-C *S. typhimurium* 2,5  $\mu\text{g}$ . Lajur D : protein Fim-C *S. typhimurium* 2  $\mu\text{g}$ . Lajur E : protein Fim-C *S. typhimurium* 1,5  $\mu\text{g}$ . Lajur F : protein Fim-C *S. typhimurium* 1  $\mu\text{g}$ . Lajur G : protein Fim-C *S. typhimurium* 0,5  $\mu\text{g}$ .

ditunjukkan dengan adanya pita berwarna coklat pada membran nitro selulosa yang masih bisa dilihat dengan jelas. Gambar hasil SDS PAGE dan *Western immunoblotting* pada kelompok perlakuan 1 (KP 1) disajikan pada gambar 2.

Hasil menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 1 dapat menghasilkan pita lebih sensitif hingga 0,5  $\mu\text{g}$  sedangkan pada kelompok perlakuan 2 pita mendeteksi minimal hingga 1  $\mu\text{g}$ . Hal ini dikarenakan konsentrasi antibodi yang dihasilkan pada kelompok perlakuan 2 lebih rendah dibandingkan konsentrasi antibodi pada kelompok perlakuan 1 dimana pada kelompok perlakuan 1 diberikan *adjuvant* yang bertujuan untuk membantu antigen merangsang terbentuknya antibodi.

Selanjutnya pengujian *Western immunoblotting* dilakukan pada kelompok perlakuan dan kelompok control. Hasil menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan 1 dan 2 keduanya menunjukkan adanya respon antibodi terhadap antigen yang berada pada membran nitro selulosa dengan dihasilkannya pita berwarna coklat. Sedangkan pada kelompok kontrol 1 dan 2 keduanya tidak menghasilkan pita berwarna coklat. Gambar perbandingan hasil *Western immunoblotting* antar kelompok disajikan pada gambar 3. Hal ini menunjukkan bahwa antibodi kelompok perlakuan yang disuntikan antigen Fim-C dapat membentuk

respon antibodi anti Fim-C spesifik terhadap antigen Fim-C yang dibuktikan dengan adanya pita coklat pada membran nitro selulosa dan dapat disimpulkan bahwa protein Fim-C *S. Typhimurium* dapat menjadi model kandidat vaksin demam tifoid.



Gambar 3. Hasil SDS PAGE (biru) dan *Western immunoblotting* (coklat) semua kelompok. Adanya Interaksi antigen antibodi spesifikanti Fim-C *S. Typhimurium* teridentifikasi dengan adanya pitacoklat pada gambar A dan B. Gambar A : Hasil SDS PAGE dan *Western immunoblotting* kelompok KP 1. Gambar B : Hasil SDS PAGE dan *Western immunoblotting* kelompok KP 2. Gambar C : Hasil SDS PAGE dan *Western immunoblotting* kelompok KS 1. Gambar D : Hasil SDS PAGE dan *Western immunoblotting* kelompok KS 2.

## Kesimpulan

Antigen Fim-C *S. Typhimurium* dapat menginduksi terjadinya antibodi anti Fim-C *S. Typhimurium* pada hewan uji. Hal ini di buktikan dengan karakterisasi melalui teknik ELISA dan teknik *Western immunoblotting*. Pada Metode ELISA menunjukkan bahwa perlakuan1 memberikan respon imunitas yang lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan2, hal tersebut akibat pemberian *adjuvant*. Uji sirologis menggunakan teknik *Western immunoblotting* menunjukan bahwa

Adanya antigen Fim-C *S. Typhimurium* dapat berinteraksi dengan antibodi spesifik anti Fim-C *S. typhimurium*. Konsentrasi deteksi minimal antibodi kelompok perlakuan 1 menunjukan pada konsntrasi antigen 0,5µg. Kedua pengujian ini menunjukan bahwa antigen Fim-C *S. Typhimurium* dapat menghasilkan dan meningkatkan immuno genistas sehingga dapat dijadikan model kandidat vaksin demam tifoid.

## DaftarPustaka

- Barat, M., Willer, Y., Rizos, K., Claudi, B., Maze,A., Schemmer, A. K.,Kirchhoff, D., Schmidt, A., Burton,N., Bumann, D. 2012. Immunity to Intracellular Salmonella Depends on Surface-associated Antigens. *Plos Pathogens* 8(10).
- Fraser, A., Goldberg, E.,Acosta, C. J., Paul, M., Leibovici,L. 2009. Vaccines For Preventing Typhoid Fever.*The Cochrane Collaboration*:Issue 3.
- Lancellotti, M.,Izidoro,M. S., Varela, J. N., Alves, D. A., Pereira, R. F. C., Brocchi, M., dan Hollanda,L. M.2012. Effects Of *Salmonella enteritidis* Serovar Typhimurium Infection In Adenocarcinomic Human Alveolar Basal Epithelial Cells A549 In Vitro : Bacteria Induce Apoptosis In Adenocarcinomic Cell.*J Bacteriol Parasitol*3(9): 1-6.
- Mahmood, T dan Yang,P. C. 2012.*Western immuno blotting: Technique, Theory, and Trouble Shooting. North American Journal Medical Science* 4(9): 429–434.
- Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 2006. *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 364 / menkes /sk / v / 2006 tentang Pedoman Pengendalian Demam Tifoid Menteri Kesehatan Republik Indonesia*. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
- Muktiningih, Rachman,A., dan Kartika, I. R. 2011. Pengembangan Potensi Molekul Bioaktif *Fim-C Salmonella typhi* Sebagai Kandidat Vaksin Rekombinan Dalam Mencegah Penyakit

- Typhus Pada Manusia. Jakarta : Lembaga Penelitian UNJ.
- Muktiningsih, Dewi, F.K., Sukmawati, D. S., Sandra, R. N., dan Wulansari, F. 2009. *Pengembangan Metode Deteksi Bakteri Penyebab Penyakit Typhus pada Manusia dengan Polymerase Chain Reaction*. Jakarta:Lembaga PenelitianUNJ.
- Rosenberger, C.M., Scott, M.G., Gold, M.R., Hancock, R.E.W., dan Finlay<sup>2</sup>, B.B. 2000. *Salmonella typhimurium* Infection and Lipo polysaccharide Stimulation Induce Similar Changes in Macrophage Gene Expression. *J Immunol* 164:5894 - 5904.
- Song, J., Willinger, T., Rongvaux, A., Eynon, E.E., Stevens, S., Manz, M.G., Flavell, R. A., dan Galán, J. E. 2010. A Mouse Model For The Human Pathogen *Salmonella typhi*. *CellHost Microbe* 8(4): 369–376.
- Thermo Fisher Scientific Inc. 2001. Piercegoat Anti-Mouse Ig G, (H+L) Peroxidase Conjugate: 31430. Thermo Scientific Product Data Sheet:United States of America.