

ABSTRAK

OPTIMASI AMPLIFIKASI GEN *fliC* DENGAN METODE PCR UNTUK DETEKSI *Salmonella typhi* GALUR INDONESIA

T. Robertus, 2007. Pembimbing I : Johan Lucianus, dr., M.Si.
Pembimbing II : Ernawati Arifin Giri Rachman, Ph.D.

Salmonella typhi, bakteri penyebab demam tifoid, pada umumnya hanya memiliki satu jenis tipe gen flagel, yaitu *H1-d*, yang diekspresikan oleh *fliC*, yang berukuran sekitar 1,5 kb. Beberapa isolat yang hanya ditemukan di Indonesia, mempunyai antigen *H1-j*, yang memiliki perbedaan pada gen *fliC* karena adanya delesi 261 pb bila dibandingkan dengan antigen *H1-d*. *Salmonella typhi* tersebut memiliki sifat motil dan virulensi yang berbeda, namun bagaimana hubungan antara sifat tersebut dengan perbedaan di tingkat gen belum banyak diketahui. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mencari kondisi PCR untuk mengamplifikasi gen *fliC* menggunakan primer *fliC-FWD* dan *fliC-REV* agar dapat dipakai untuk membedakan *Salmonella typhi* H1-d dan H1-j, sehingga dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut. Sampel yang digunakan adalah DNA hasil isolasi kromosom darah pasien yang diperoleh dari Rumah Sakit Immanuel Bandung. Proses amplifikasi dikerjakan dengan menggunakan templat hasil isolasi kromosom dengan pengenceran 1000× dengan konsentrasi primer masing-masing 25 µM. PCR dilakukan dalam 30 siklus, 94°C selama 60 detik, 45°C selama 60 detik, dan 68°C selama 120 detik. Analisis dengan elektroforesis gel agarosa 1% menunjukkan adanya pita antara 1 sampai 2 kb.

Kata Kunci : *Salmonella typhi*, gen *fliC*, PCR

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF *fliC* GENE AMPLIFICATION BY PCR METHOD IN SCREENING OF INDONESIAN STRAIN OF *Salmonella typhi*

T. Robertus, 2007. *First Tutor* : Johan Lucianus, dr., M.Si.
Second Tutor : Ernawati Arifin Giri Rachman, Ph.D.

Salmonella typhi, the etiologic agent of typhoid fever, typically has only one type of flagellar antigen, H1-d, which is encoded by *fliC*, a 1,5 kb gene. Some isolates, found in Indonesia, however, have H1-j antigen. The *fliC* gene that produce H1-j antigen has 261 bp less nucleotides than H1-d. The difference of the *fliC* gene result in the differences of both its virulence and pathogenesis. The general purpose of this research is to determine a condition of PCR to amplify the *fliC* gene using primer *fliC*-FWD and *fliC*-REV, in order to determine the differences between H1-d and H1-j, so that it can be used for further research. The samples are collected from extracted chromosomal DNA taken from patient of Immanuel Hospital Bandung. DNA amplification was performed with 1000× dilution extracted DNA using 25 μM of each of the primer. PCR was performed for 30 cycles of 60 s at 94°C, 60 s at 45°C, and 120 s at 68°C. Analysis with 1% electrophoresis gel agarose showed a 1 to 2 kb fragment.

Keywords : *Salmonella typhi*, *fliC* gene, PCR.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Identifikasi Masalah.....	2
1.3 Maksud dan Tujuan.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Metode Penelitian	3
1.6 Waktu dan Lokasi Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Salmonella typhi</i>	5
2.1.1 Karakteristik.....	5
2.1.2 Faktor Virulensi dan Toksin	6
2.1.3 Patogenesis.....	8
2.2 Gen <i>fliC</i>	11
2.3 <i>Salmonella typhi</i> Galur Indonesia (H1-j).....	13
2.4 Amplifikasi dengan Teknik PCR.....	17
BAB III ALAT, BAHAN DAN METODE	21
3.1 Subjek Penelitian	21

3.2 Metode Penelitian	21
3.3 Alat dan Bahan.....	21
3.3.1 Alat.....	21
3.3.2 Bahan	22
3.4 Cara Kerja.....	22
3.4.1 Tahap I : Pembuatan Templat	22
3.4.2 Tahap II : PCR	23
3.4.2.1 PCR menggunakan Primer Ca8 dan Ca9	23
3.4.2.2 PCR menggunakan Primer fliC-FWD dan fliC-REV	23
3.4.3 Elektroforesis	24
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1 Penanaman Sampel pada Medium <i>Salmonella Shigella</i>	25
4.2 PCR menggunakan Primer Ca8 dan Ca9	26
4.3 PCR menggunakan Primer fliC-FWD dan fliC-REV	27
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	30
5.1 Kesimpulan	30
5.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
RIWAYAT HIDUP	34

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 <i>Salmonella enterica</i>	5
Gambar 2.2 <i>Salmonella typhi</i> , pewarnaan gram	6
Gambar 2.3 <i>Salmonella typhi</i> , pewarnaan flagel	6
Gambar 2.4 Faktor-faktor virulensi yang penting dalam patogenesis <i>Salmonella</i>	7
Gambar 2.5 Proses invasi <i>Salmonella</i> pada mukosa usus.....	10
Gambar 2.6 <i>Color-enhanced scanning electron micrograph showing Salmonella typhimurium invading cultured human cell</i>	10
Gambar 2.7 Terjadinya rekombinasi gen <i>fliC-d</i> menjadi <i>fliC-j</i>	14
Gambar 2.8 Perbedaan fragmen DNA hasil PCR yang dianalisis pada elektroforesis gel agarose	15
Gambar 2.9 Tahap-tahap utama pada proses PCR.....	18
Gambar 2.10 Penggandaan gen secara eksponensial pada proses PCR.....	19
Gambar 4.1 Sampel berupa media Bactec dan sampel yang ditanam pada medium <i>Salmonella Shigella</i>	25
Gambar 4.2 Hasil PCR menggunakan primer Ca8 dan Ca9.....	26
Gambar 4.3 Hasil PCR menggunakan primer <i>fliC-FWD</i> dan <i>fliC-REV</i>	28