

## Profil Protein *Klebsiella pneumoniae* K3 Pasca Inaktivasi Sinar Gamma dan Pemanasan Suhu 65 °C

### (Protein Profile of *Klebsiella pneumoniae* K3 After Inactivation by Gamma Rays and Heat at 65 °C)

I. SUGORO<sup>1</sup>, I. DJAJANEGARA<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi – BATAN Jakarta

<sup>2</sup>Pusat Teknologi Bioindustri – BPPT Serpong

Diterima 14 Desember 2010, Disetujui 2 Maret 2011

**Abstrak:** *Klebsiella pneumoniae* merupakan salah bakteri koliform yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia atau hewan. Bakteri ini mendominasi sampel susu sapi perah yang terinfeksi mastitis dan memiliki tingkat resistensi terhadap antibiotik. Vaksinasi merupakan salah satu cara untuk mencegah timbulnya penyakit tersebut. Teknik nuklir dapat digunakan untuk memperoleh bahan vaksin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan bahan vaksin *K. pneumoniae* hasil inaktivasi dengan iradiasi gamma. Sebagai pembanding dilakukan pula inaktivasi sel *K. pneumoniae* dengan pemanasan suhu 65 °C. Tahapan percobaan terdiri dari penentuan dosis inaktivasi, pengukuran kandungan protein, analisis profil protein, dan uji *in vivo* dengan hewan percobaan mencit. Hasil percobaan menunjukkan bahwa dosis yang diperlukan untuk menginaktivasi sel bakteri *K. pneumoniae* dengan iradiasi gamma adalah  $\geq 600$  Gy dan dengan pemanasan suhu 65 °C adalah  $\geq 30$  menit. Iradiasi gamma dan pemanasan suhu 65 °C tidak mempengaruhi kadar protein total *K. pneumoniae*. Dari dua perlakuan tersebut, terdeteksi pula pita pada berat molekul sekitar 35, 36, dan 60 kDa yang diduga merupakan protein antigen. Tetapi, karena profil protein antigen iradiasi gamma memiliki intensitas yang lebih tinggi, dapat disimpulkan bahwa metode iradiasi gamma memiliki intensitas yang lebih tinggi, dapat disimpulkan bahwa metode iradiasi gamma lebih baik untuk pembuatan bahan vaksin dari bakteri.

**Kata kunci:** *Klebsiella pneumoniae*, protein, sinar gamma, pemanasan.

**Abstract:** *Klebsiella pneumoniae* is one of coliform bacteria which causes human and mammalian diseases. The bacteria dominate in dairy cow milk which has been infected by mastitis and has resistant on antibiotic. Vaccination is one of aims to prevent the diseases. Nuclear technique could be used to have a vaccine candidate. This research was conducted to get inactivated *K. pneumoniae* by gamma irradiation and heat inactivated as vaccine candidate. The experiments were done by determination of inactivated doses, protein content, and protein profile analysis. *K. pneumoniae* could be inactivated using gamma rays by doses higher than 600 Gy. Neither irradiation nor heat (65 °C) influenced the *K. pneumoniae* total protein content. The intensity of protein profile in gamma ray inactivated was higher than heat inactivated. There were 35, 36, and 60 kDa protein which were diagnosed as antigen protein. It could be concluded that inactivated by gamma irradiation *K. pneumoniae* could be chosen as a vaccine candidate and as a model for other bacterial vaccine.

**Keywords:** *Klebsiella pneumoniae*, inactivated vaccine, gamma rays, heat, protein.

#### PENDAHULUAN

INFEKSI merupakan masalah yang besar dalam kesehatan dan telah menghabiskan dana yang sangat

\* Penulis korespondensi, Hp. 085811112659  
e-mail: idjajanegara@yahoo.com

besar untuk pencegahan atau pun penanganan. Hilangnya harapan hidup atau produktivitas akibat penyakit infeksi bukan sekedar masalah kesehatan semata, tetapi juga menyangkut permasalahan sosial dan ekonomi. Infeksi ini dapat menyerang manusia maupun hewan sebagai inang atau vektor.

Infeksi ataupun penyakit akibat infeksi pada manusia telah menyebabkan kematian sebesar 13 juta orang di seluruh dunia setiap tahun, terutama di negara-negara berkembang seperti Indonesia<sup>(1)</sup>. Empat puluh tiga persen kematian di negara berkembang disebabkan oleh penyakit infeksi sedangkan di negara maju hanya sebesar satu persen. Kematian yang besar ini dapat dicegah jika dilakukan diagnosa yang cepat dan tepat serta didukung oleh penanganan yang efektif dan efisien<sup>(2)</sup>. Pada hewan penyakit infeksi telah menurunkan tingkat produksi dan kualitas hasil ternak. Selain itu, karena terinfeksi suatu penyakit menyebabkan hewan dikarantina atau dibunuh.

Salah satu alternatif yang dapat digunakan dalam penanganan penyakit infeksi ini adalah dengan menggunakan teknik nuklir untuk pembuatan bahan vaksin. Berbagai penyakit yang bersumber dari virus, bakteri, protozoa dan cacing telah banyak yang memanfaatkan teknik nuklir dalam proses pembuatan bahan vaksinnya. Vaksin dapat merangsang sistem imun pada inang untuk melawan infeksi organisme patogen.

Iradiasi gamma dapat mengubah agen penyakit patogen menjadi non patogen yang mampu menstimulasi sistem kekebalan dalam tubuh<sup>(3)</sup>. Iradiasi dapat melemahkan agen penyakit tanpa menghilangkan daya imunogeniknya dan mampu meningkatkan daya kekebalan pada hewan yang dicobakan<sup>(4)</sup>. Respons imunitas yang ditimbulkan vaksin iradiasi pun lebih tinggi dibandingkan dengan cara pemanasan dan kimia. Selain itu, vaksin hasil iradiasi tidak membutuhkan pendingin yang merupakan suatu keuntungan karena vaksin membutuhkan pendingin yang sangat tidak praktis<sup>(5,6)</sup>.

Dalam penelitian ini akan digunakan bakteri dari jenis koliform, yaitu isolat *Klebsiella pneumoniae* K3. Isolat ini merupakan hasil isolasi dari susu sapi perah yang terinfeksi mastitis di Kabupaten Garut. Isolat ini mendominasi setiap sampel susu yang terinfeksi mastitis dengan tingkatan berbeda setelah *Escherichia coli*<sup>(7)</sup>. Selain itu, isolat ini memiliki tingkat resistensi tinggi terhadap antibiotik yang biasa digunakan untuk pengobatan penyakit mastitis, yaitu ampicilin dan streptomisin<sup>(8)</sup>. Salah satu produk vaksin mastitis yang beredar di pasaran adalah J5 Bacterin dan Mastiguard untuk bakteri koliform dan *Endovac bovi* untuk bakteri Gram negatif. Vaksin-vaksin tersebut telah banyak digunakan oleh para peternak di Amerika Serikat, Selandia Baru dan Australia serta dapat menurunkan kejadian mastitis sampai dengan 60%<sup>(9)</sup>.

Percobaan sebelumnya menunjukkan, bahwa bakteri dari jenis koliform seperti *E. coli* dapat diinaktivasi dengan iradiasi gamma pada kisaran dosis > 600 Gy<sup>(10)</sup>. Protein yang bersifat antigen masih terdeteksi pada kisaran 60 kDa dan mengalami peningkatan konsentrasi<sup>(11)</sup>. Selain *E. coli* telah

dilakukan pula penelitian pembuatan bahan vaksin iradiasi dengan menggunakan isolat bakteri *Brucella abortus* yang termasuk jenis koliform. Bakteri ini merupakan penyebab penyakit keguguran pada hewan maupun manusia. Tipe vaksin yang digunakan adalah vaksin inaktif rekombinan. Rekombinasi dilakukan untuk melemahkan bakteri dengan cara menginsersikan gen plasmid bakteri *E. coli* sehingga *B. abortus* memiliki karakteristik membran yang sama dengan *E. coli*. Selanjutnya mutan tersebut diinaktivasi dengan iradiasi sinar gamma dengan dosis 300 Gy. Vaksin inaktif hasil iradiasi tersebut ternyata mampu meningkatkan imunitas yang lebih baik dibandingkan dengan hasil pemanasan suhu 65 °C<sup>(12)</sup>.

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN.** Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Klebsiella pneumoniae* K3 dari sampel susu sapi yang terinfeksi mastitis di Garut, medium *Tryptic Soy Broth* (TSB) Pronadisa®, *Agar bacteriological Oxoid*®, Larutan Lowry Merck®, larutan untuk elektroforesis Biorad®, NaCl 0.85%, akuabides, aseton Merck®, etanol Merck®, larutan Turk Merck®, larutan Hayem Merck®, dan Trypan blue Merck®.

**METODE. Penentuan fase mid log *K. pneumoniae*.** Biakan yang berumur 1 hari pada agar miring TSA diinokulasikan sebanyak 3 Òse ke dalam medium TSB 30 mL lalu diinkubasi pada suhu 37 °C dengan agitasi 120 rpm selama 24 jam, dijadikan sebagai biakan inokulum. Kekeuhan contoh diukur dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  660 nm, kemudian sebanyak 10% v/v ( $10^{12}$  sel/mL) dimasukkan ke dalam 30 mL medium TSB untuk pembuatan kurva tumbuh. Nilai absorbansi biakan diukur pada menit ke-0, 30, 60, 90, 150, 210, 270 dan 330. Hasil yang diperoleh dibuat kurva tumbuh dengan waktu sebagai sumbu x dan absorbansi sebagai sumbu y, untuk menentukan fase mid log. Fase mid log ditentukan berdasarkan kecepatan perubahan nilai absorbansi tertinggi<sup>(11)</sup>.

**Penentuan dosis inaktivasi *K. pneumoniae* hasil iradiasi gamma.** Biakan pada fase mid log dipanen hingga diperoleh jumlah sel  $10^{12}$  sel/mL dan ditempatkan di dalam vial gelas sebanyak 10 mL. Penentuan jumlah sel dilakukan dengan cara memasukkan nilai absorbansi ke persamaan regresi kurva standar absorbansi terhadap jumlah sel. Selanjutnya diiradiasi gamma dengan dosis 0, 100, 200, 400, 600, 800, 1000 dan 1500 Gy di *Irradiator Gamma Chamber 4000 A* dengan laju dosis 1089.59 Gy/jam. Biakan hasil iradiasi kemudian dihitung jumlah selnya dengan teknik *droptest* untuk uji inaktivasi dalam medium TSA<sup>(12)</sup>.

**Penentuan waktu inaktivasi *K. pneumoniae* hasil pemanasan suhu 65 °C.** Biakan pada fase mid



log disentrifugasi pada kecepatan 10000 rpm dan suhu 1°C selama 10 menit. Kemudian biakan dibilas dengan NaCl 0.85% sebanyak 2 kali. Penentuan jumlah sel dilakukan dengan cara memasukkan nilai absorbansi ke persamaan regresi kurva standar absorbansi terhadap jumlah sel. Pelet yang diperoleh diencerkan hingga diperoleh jumlah sel  $10^{12}$  sel/mL dan ditempatkan di tabung inkubasi sebanyak 5 mL. Selanjutnya dipanaskan dalam "water bath" inkubator selama 0, 5, 10, 15, 30, 45 dan 60 menit pada suhu 65 °C. Biakan hasil pemanasan kemudian dihitung jumlah selnya dengan teknik *droptest* untuk uji inaktivasi dalam medium TSA. Biakan hasil pemanasan kemudian dihitung jumlah selnya dengan teknik *droptest* untuk uji inaktivasi dalam medium TSA<sup>(11)</sup>.

**Pengukuran protein dan analisis profil protein *K. pneumoniae*.** Biakan hasil iradiasi dan pemanasan diukur kandungan protein selnya dengan metode Lowry<sup>(10)</sup>. Sementara itu, profil protein dianalisis dengan menggunakan metode elektroforesis satu dimensi SDS-PAGE dengan sistem buffer Laemmli dan konsentrasi gel poliakrilamid 10% (BioRad). Ke dalam biakan inaktif hasil iradiasi dan pemanasan sebanyak 20  $\mu$ L ditambahkan 10  $\mu$ L aseton dan disonikasi selama 15 menit sebelum dilarikan ke dalam SDS-PAGE protein gel. Gel diwarnai dengan commassie R-250 (BioRad). Hasil yang diperoleh dianalisis dengan bantuan program LabImage 2006 untuk menentukan jumlah larik dan intensitas protein.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

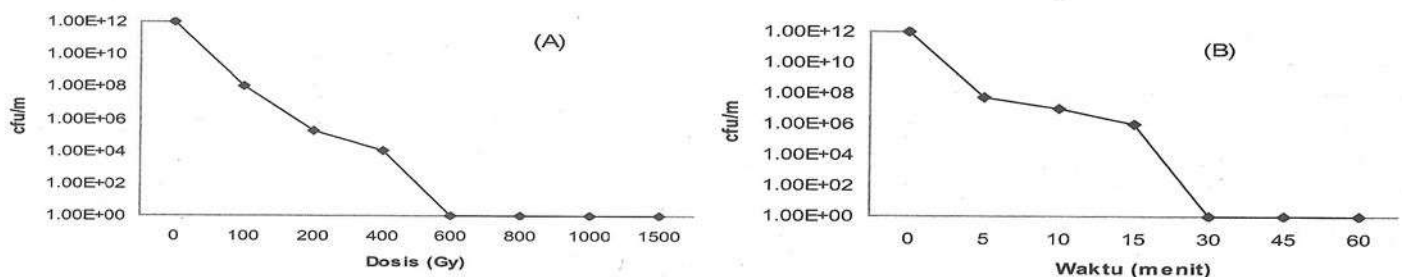
**Penentuan waktu inaktivasi sel *K. pneumoniae* hasil iradiasi gamma dan pemanasan.** Hasil inaktivasi menggambarkan bahwa iradiasi dengan dosis berbeda pada biakan bakteri *K. pneumoniae* menunjukkan adanya penurunan jumlah sel yang hidup sebanding dengan meningkatnya dosis (Gambar 1). Dosis yang diperlukan untuk menginaktivasi sel bakteri *K. pneumoniae*, yaitu berkisar 600-1500 Gy. Hal ini dapat

dilihat dari tidak terjadinya pertumbuhan sel bakteri *K. pneumoniae*. Iradiasi menyebabkan kerusakan struktur sel, terutama dinding sel yang berperan dalam proses replikasi. Selain itu, kemungkinan akibat dari perubahan DNA yang akan mempengaruhi metabolisme sel. Dengan demikian, dosis tersebut dapat digunakan untuk bahan vaksin inaktif.

Pada dosis 0 Gy (kontrol) sampai dengan dosis < 600 Gy, sel bakteri *K.pneumoniae* masih hidup. Bakteri koliform lainnya, yaitu *Escherichia coli*<sup>(10)</sup> dan *Yersinia enterocolitica*<sup>(13)</sup> mengalami inaktivasi setelah dosis > 800 Gy. Efek iradiasi terhadap sel bakteri menyebabkan dua kemungkinan, yaitu sel bakteri akan tetap hidup atau sel bakteri akan mengalami kematian. Kerusakan yang terjadi pada DNA dan kromosom dapat menyebabkan sel tetap hidup atau mati. Bila tingkat kerusakan yang dialami sel tidak terlalu parah dan proses perbaikan berlangsung dengan baik dan tepat, maka sel bisa kembali normal seperti sebelum terpapar radiasi. Bila proses perbaikan berlangsung tetapi tidak tepat, akan dihasilkan sel yang tetap dapat hidup tetapi telah mengalami perubahan. Artinya, sel tersebut tidak lagi seperti sel semula, tetapi sudah menjadi sel yang baru atau abnormal tetapi hidup. Selain itu, bila tingkat kerusakan yang dialami sel sangat parah dan bila proses perbaikan tidak berlangsung dengan baik, sel akan mati<sup>(14)</sup>.

Kondisi inaktif pada sel bakteri dapat terjadi karena terganggunya metabolisme sel yang menyebabkan sel bakteri tidak mampu bereplikasi atau hilangnya kemampuan sel untuk membelah diri. Bentuk efek radiasi terhadap molekul-molekul penting, sel ataupun jaringan telah menimbulkan berbagai macam perubahan, gangguan ataupun kerusakan pada sistem biologi, seperti molekul DNA, molekul enzim, molekul protein, lemak dan karbohidrat<sup>(14)</sup>.

Selain perlakuan dengan iradiasi, dilakukan pula perlakuan dengan pemanasan. Perlakuan ini dilakukan sebagai pembandingan metode inaktivasi pembuatan bahan vaksin. Pemanasan pada suhu 65 °C dengan



Gambar 1. Hubungan dosis iradiasi gamma (A) dan waktu pemanasan pada suhu 65 °C (B) terhadap jumlah sel *K.pneumoniae*.



waktu yang berbeda pada biakan bakteri menunjukkan adanya penurunan jumlah sel yang hidup sebanding dengan bertambahnya waktu (data tidak ditunjukkan). Waktu yang diperlukan untuk menginaktivasi sel bakteri *K. pneumoniae*, yaitu setelah 30 menit. Bakteri *coliform* lainnya pun, *E. coli*<sup>(16)</sup> dan *Y. enterocolitica*<sup>(17)</sup> mengalami inaktivasi pada waktu yang sama, yaitu setelah 30 menit pemanasan suhu pada suhu 65 °C.

Inaktivasi akibat pemanasan dapat terjadi karena terganggunya metabolisme sel yang menyebabkan sel bakteri tidak mampu bereplikasi atau hilangnya kemampuan membelah diri. Metabolisme terganggu karena terjadinya kerusakan enzim. Enzim memiliki penyusun utama berupa protein yang sangat peka terhadap perubahan lingkungannya. Aktivitas protein banyak tergantung pada struktur dan konformasi molekul protein yang tepat. Bila konformasi protein berubah, salah satunya oleh perubahan suhu, maka aktivitas biokimiawinya berkurang. Perubahan konformasi alamiah menjadi suatu konformasi yang tidak menentu merupakan suatu proses yang disebut denaturasi. Proses denaturasi ini biasanya dapat berlangsung secara reversibel ataupun tidak reversibel. Protein akan mengalami koagulasi apabila dipanaskan pada suhu 50 °C atau lebih<sup>(18)</sup>.

Efek radiasi dan pemanasan akan menimbulkan adanya perubahan antigen yang sangat menentukan kualitas bahan vaksin. Salah satu antigen yang berperan adalah dari jenis senyawa protein. Oleh karena itu, selanjutnya akan dibahas mengenai pengaruh radiasi dan pemanasan terhadap kandungan dan profil protein.

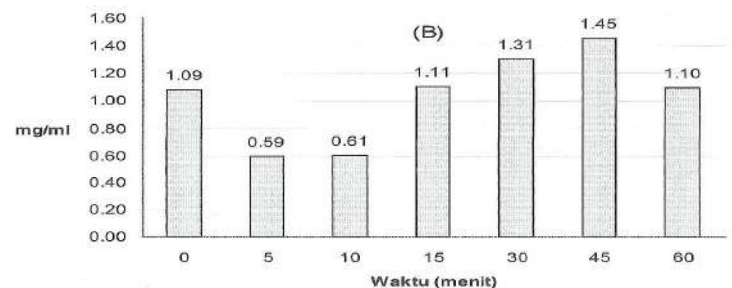
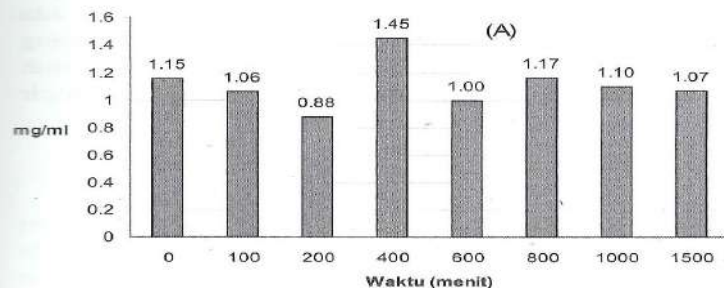
**Konsentrasi protein sel *K. pneumoniae* hasil iradiasi gamma dan pemanasan.** Iradiasi dengan dosis berbeda pada biakan bakteri menunjukkan adanya perubahan konsentrasi protein sel bakteri *K. pneumoniae* yang bervariasi (Gambar 2). Secara statistik, konsentrasi protein total hasil iradiasi menunjukkan adanya pengaruh yang nyata ( $P < 0.05$ ). Pengaruh sangat nyata terjadi pada dosis yang selnya masih aktif, yaitu dosis 200 dan 400 Gy. Efek iradiasi terhadap molekul penting,

antara lain pada molekul protein. Diasumsikan bahwa radiasi dapat mempengaruhi konfigurasi 3 dimensi molekul protein sehingga menjadi terbuka dan siap melakukan suatu reaksi<sup>(15)</sup>.

Konsentrasi protein total dosis 0 Gy, yaitu 1.15 mg/mL, setelah diiradiasi konsentrasi protein total terendah terjadi pada dosis 200 Gy, sebesar 0.88 mg/mL, sedangkan tertinggi terjadi pada dosis 400 Gy, sebesar 1.45 mg/mL (Gambar 2A). Hal ini terjadi diduga karena sifat acak dari kerusakan yang ditimbulkan oleh iradiasi gamma. Pengurangan dan pertambahan konsentrasi protein dapat disebabkan oleh perubahan dan gangguan pada protein tersebut, baik aktivitas maupun strukturnya. Khayunita<sup>(17)</sup>, menyatakan bahwa adanya kemungkinan kecepatan peningkatan aktivitas pembelahan sel terjadi pada dosis tertentu, tidak selalu mengikuti interval peningkatan dosisnya.

Seperti halnya dengan konsentrasi protein hasil iradiasi, ternyata waktu pemanasan yang berbeda menghasilkan konsentrasi protein sel bakteri *K. pneumoniae* yang bervariasi (Gambar 2B). Secara statistik, konsentrasi protein total hasil pemanasan menunjukkan adanya pengaruh yang nyata ( $P < 0.05$ ). Konsentrasi protein mengalami penurunan setelah pemanasan dan perlahan mengalami peningkatan kembali hingga waktu pemanasan 45 menit.

Meningkatnya kadar protein disebabkan inaktivasi dengan pemanasan hanya merusak kemampuan membelah diri bakteri, sedangkan sintesis protein tetap dapat berlangsung karena lisosom sebagai tempat sintesis protein tidak dirusak. Sintesis protein yang terjadi memungkinkan dihasilkannya *Heat Shock Protein* (HSP) dengan adanya pemanasan, sehingga menyebabkan meningkatnya kadar protein pada sel bakteri. *Heat Shock Protein* adalah satu kelompok protein yang jumlahnya meningkat bila sel-sel diberi perubahan suhu atau tekanan lain. Peningkatan ini diatur secara transkripsional. Pengaturan dramatis dari HSP ini kebanyakan diinduksi oleh *Heat Shock Faktor* (HSF), yang merupakan salah satu kunci terhadap tanggapan



Gambar 2. Konsentrasi protein *K. pneumoniae* hasil iradiasi gamma (A) dan pemanasan pada suhu 65 °C (B).



kejutan panas (*Heat Shock Response*)<sup>(18)</sup>.

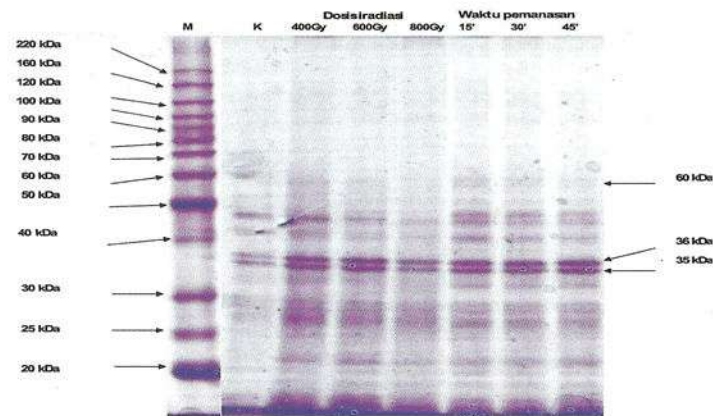
**Karakteristik profil protein *K. pneumoniae* hasil iradiasi gamma dan pemanasan.** Hasil elektroforesis SDS-PAGE protein total sel *K. pneumoniae* menunjukkan pola yang hampir sama, tetapi intensitasnya (konsentrasi) berbeda (Gambar 3). Secara statistik, profil protein hasil iradiasi dan pemanasan berbeda nyata dengan kontrol, sedangkan profil protein antar dosis iradiasi atau waktu pemanasan tidak berbeda nyata.

Hasil dari analisis laboratorium *Image* menunjukkan protein dari sel *K. pneumoniae* pada dosis 0 Gy (kontrol) memiliki jumlah pita sebanyak 12 buah, sedangkan protein sel yang diiradiasi memiliki jumlah pita sebanyak 18 untuk dosis 400 Gy dan 17 buah untuk dosis 600 Gy dan 800 Gy. Selain itu, intensitas pita-pita setelah diiradiasi cenderung meningkat. Hal ini terjadi karena adanya perubahan yang diakibatkan oleh iradiasi sinar gamma, baik pada struktur maupun ikatan proteinnya. Perubahan struktur dapat diakibatkan oleh denaturasi protein, degradasi protein, maupun perubahan DNA.

Protein yang terdenaturasi mengalami dua kemungkinan, yaitu pengembangan rantai peptida dan pemecahan protein menjadi unit yang lebih kecil tanpa disertai pengembangan molekul. Kemungkinan pertama denaturasi protein terjadi pada rantai polipeptida, sementara yang kedua terjadi pada bagian-bagian molekul yang bergabung dalam ikatan sekunder. Ikatan-ikatan yang dipengaruhi oleh proses denaturasi ini adalah ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik misalnya pada leusin, valin, fenilalanin, triptofan<sup>(18)</sup>. Alatas<sup>(14)</sup>, menambahkan bahwa selain terjadinya denaturasi protein, dimungkinkan terjadi degradasi protein. Degradasi protein dapat menyebabkan protein tersebut kehilangan fungsinya sebagai protein dan degradasi struktur dapat berasal dari hilangnya gugus samping.

Munculnya protein baru dapat terjadi karena adanya perubahan rantai DNA yang merupakan sumber informasi dalam sintesis protein. Lebih banyaknya protein yang terdeteksi pada dosis 400 Gy dapat disebabkan pula oleh masih aktifnya sel melakukan metabolisme dan replikasi. Pada dosis inaktif, yaitu dosis 600 Gy dan 800 Gy jumlah pita yang muncul lebih sedikit karena sel telah inaktif. Antigen protein bakteri *K. pneumoniae* pada berat molekul 35, 36, dan 60 kDa mengalami perubahan dengan peningkatan dari intensitas warna. Hal ini memperkuat hasil konsentrasi protein dengan metode Lowry (Gambar 1 & Gambar 2), dimana kadar protein hasil iradiasi mengalami perubahan yang nyata.

Profil protein hasil iradiasi ternyata tidak terlalu berbeda dengan hasil pemanasan (Gambar 3). Pita yang terbentuk setelah pemanasan 15 menit sebanyak



**Gambar 3. Profil protein *K. pneumoniae* hasil iradiasi gamma dan pemanasan (M : marker; K : kontrol/tanpa perlakuan).**

15 pita, pada pemanasan 30 menit bertambah menjadi 18 pita, sedangkan pada pemanasan 45 menit, pita yang terbentuk menurun menjadi 17 pita. Terbentuknya pola yang hampir sama menunjukkan bahwa pemanasan tidak mengubah secara total protein antigen seiring dengan lamanya waktu pemanasan. Intensitas profil protein yang mengalami peningkatan kemungkinan karena dihasilkannya protein dari jenis HSP.

Protein antigen dengan berat molekul pada 35, 36, dan 60 kDa dapat terdeteksi pada perlakuan pemanasan seperti halnya dengan hasil iradiasi. Tetapi bila dilihat kadarnya berdasarkan intensitas, ternyata hasil pemanasan lebih rendah dibandingkan dengan hasil iradiasi. Protein dengan BM 35 kDa dan 36 kDa hasil pemanasan menunjukkan terjadinya peningkatan kadar protein, sedangkan pada BM 60 kDa tidak mengalami peningkatan. Peningkatan terjadi karena efek pemanasan, dimana protein tersebut merupakan kelompok HSP. Hasil elektroforesis pun menunjukkan adanya pita-pita baru yang menunjukkan bahwa terbentuk HSP pada berat molekul tersebut. Jadi, hasil profil protein dengan cara elektroforesis membuktikan bahwa HSP memang terbentuk. Pemanasan dapat menyebabkan terjadinya denaturasi, tetapi tidak ada ikatan kovalen pada kerangka rantai polipeptida yang rusak. Deret asam amino khas protein tersebut tetap utuh setelah denaturasi, walaupun aktivitas biologi hampir semua protein menjadi rusak.

## SIMPULAN

Iradiasi gamma memiliki potensi untuk digunakan dalam pembuatan bahan vaksin, karena penggunaan dosis iradiasi yang tidak terlalu tinggi, cukup efektif dalam menginaktivasi sel bakteri tanpa harus menghilangkan

kemampuan antigeniknya. Selain itu, intensitasnya cenderung meningkat dibandingkan dengan pemanasan. Tetapi hal tersebut perlu dibuktikan lebih lanjut dengan pengujian secara *in vivo* menggunakan hewan percobaan.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. IAEA. Combating infection in developing countries. Vienna, Austria; 2000.
2. Machi S. Nuclear techniques serve mankind. Japan Atomic Industrial Forum (JAIF) Inc.; 2002.
3. IAEA. Animal health: Global support for diagnosing infectious diseases. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. IAEA Bulletin. 2010.
4. Bandyopadhyay SM and Mandal C. Targeting glycoproteins or glycolipids and their metabolic pathways for antiparasite therapy. *Adv Exp Med Biol*. 2008. 625:87-102.
5. Rachmilewitz D. Toll-like receptor 9 signaling mediates the anti-inflammatory effects of probiotics in murine experimental colitis. *Gastroenterology*. 2004. 520-28.
6. Datta SK. Vaccination with irradiated *Listeria* induced protective T cell immunity. *H Immunity J Immuni*. 2006. 5-13.
7. Bahri S. dan Sugoro I. Isolasi dan identifikasi bakteri *coliform* pada susu sapi perah yang terinfeksi mastitis. *Jurnal Biologi dan Lingkungan Al-Kaunyah*. FST-UIN Syahid, Jakarta. 2007.
8. Luki S. Sensitivitas Antibiotik bakteri *coliform* penyebab penyakit mastitis [skripsi]. Depok: ISTN; 2009.
9. Ruegg P. Evaluating the effectiveness of mastitis vaccines. Madison: University of Wisconsin; 2001.
10. Sugoro I, dan Hermanto S. Penentuan dosis inaktif bakteri *Escherichia coli* hasil iradiasi gamma. *Prosiding Seminar Nasional KKL, PTKMR – BATAN*, 2008.
11. Ikmalia, Hermanto S, Sugoro I. Profil protein *Escherichia coli* hasil inaktivasi sinar gamma. *Prosiding Seminar Nasional Biokimia, UI, Jakarta*, 2008.
12. Sanakkayala N, Okolovska A, Gulain J, Hogenesch H, Sriranthan N, Boyle S, Schurig G, Vemuilapalli R. Induction of antigen-specific Th1-type Immune responses by gamma-irradiated recombinant *Brucella abortus* RB51. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. American Society for Microbiology. 2005.
13. Nuraeni N. Profil protein *Yersinia enterocolitica* hasil inaktivasi sinar gamma [skripsi]. Jakarta: Prodi Biologi UIN Syahid; 2008.
14. Alatas Z. Efek paparan radiasi pada manusia. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Keselamatan Radiasi dan Biomedika Nuklir. Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN); 2005.
15. Tetriana D, dan I Sugoro. Peran teknik nuklir dalam pembuatan vaksin. *Buletin ALARA vol 2*. BATAN. 2009.