

## DAFTAR ISI

Penelitian	Judul dan Sinopsis	Halaman
Endang Sawitri	<p><b>Judul:</b> Pola Histopatologik dan Sebaran Umur Kanker Serviks di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD A. W. Syahrane Samarinda</p> <p><b>Sinopsis:</b> Kanker serviks yang terbanyak adalah jenis karsinoma sel squamous dengan tipe paling sering merupakan tipe karsinoma tanpa keratinisasi. Ini berarti prognosis penderita kanker serviks di daerah Kalimantan Timur pada umumnya dan Samarinda pada khususnya bisa dikategorikan buruk karena sebagian besar kasus yang ada merupakan karsinoma invasif. Insidens kanker serviks ini banyak terjadi pada kelompok umur produktif dengan puncaknya paling sering pada kelompok umur 31-45 tahun.</p>	1-7
Maria Nindatu, dkk	<p><b>Judul:</b> Efek Biolarvasida Ekstrak Etanol Biji Hutun Terhadap Mortalitas Larva <i>Anopheles maculatus</i> (Diptera: Anophelidae) In Vitro</p> <p><b>Sinopsis:</b> Ekstrak etanol biji hutun (<i>B. Asiatica</i>) memiliki aktivitas larvasidal terhadap larva nyamuk <i>Anopheles maculatus</i> dengan nilai <math>LC_{50}</math> sebesar 0,061% dan semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji hutun maka semakin tinggi pula mortalitas nyamuk <i>anopheles maculatus</i> stadium larva.</p>	8-15
Rosaniya E. Rehiara	<p><b>Judul:</b> Pengaruh Fotoperiode Pralahir dan Pascalahir Terhadap Jumlah Lapisan Sel Spermatogenik Testis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.)</p> <p><b>Sinopsis:</b> Jumlah lapisan sel-sel spermatogenik <i>Rattus norvegicus</i> L. umur 35 hari semakin rendah sejalan dengan semakin meningkatnya umur kebuntingan induk. Jumlah lapisan sel-sel spermatogenik tertinggi diperoleh setelah perlakuan fotoperiode panjang pralahir dan pascalahir dengan umur kebuntingan induk hari ke 1.</p>	16-22
Pieter Kakisina	<p><b>Judul:</b> Suatu Kajian Mekanisme Maturasi Oosit</p> <p><b>Sinopsis:</b> Maturasi sitoplasma dan inti oosit selama perkembangan pra-ovulasi dapat dipandang sebagai sesuatu yang terpisah. Penentuan aktivitas MPF digunakan sebagai indikator maturasi sitoplasma oosit dan aktivitasnya dipicu oleh penurunan cAMP. Maturasi inti ditandai dengan pecahnya selubung inti atau vesikula germinalis yang dipicu oleh hormon LH. Protein kinase oosit yang spesifik yaitu c-mos, berperan penting dalam meng-upregulasi aktivitas MPF pada berbagai tahap maturasi oosit akhir (kelanjutan maturasi meiosis, penghambatan replikasi DNA antar meiosis I dan II serta pemeliharaan oosit pada perhentian metafase II hingga dibuahi). Protein kinase Rsk juga tampak berperan penting selama siklus sel meiosis karena berperan serta pada entri meiosis I dan dapat mendownregulasi S-phase antara meiosis I dan II. Kelompok kinase lain yang berperan penting dalam mendorong resumsi meiosis adalah mitogen-activated protein kinases (MAPK) yang memfosforilasi protein sitoskeleton dan lamina nukleus dalam pembelahan sel meiosis.</p>	23-38
Ruslin Hadanu	<p><b>Judul:</b> Senyawa Baru Potensial Antimalaria Turunan 5-bromo-1,10-fenantrolin: Sintesis dan Uji Aktivitas</p> <p><b>Sinopsis:</b> Sintesis senyawa turunan 5-bromo-1,10-fenantrolin dari bahan dasar 1,10-fenantrolin monohidrat melalui 2 tahap reaksi yang menghasilkan 5-bromo-1,10-fenantrolin, 6-bromo-(1)-N-metil-1,10-fenantrolinium sulfat, dan 6-bromo-(1)-N-etil-1,10-fenantrolinium sulfat yang mempunyai rendemen berturut-turut sebesar 74,11%, 94,24% dan 86,36% dan senyawa yang mempunyai aktivitas antiplasmodium paling tinggi pada seri senyawa turunan 5-bromo-1,10-fenantrolin adalah 6-bromo-(1)-N-metil-1,10-fenantrolinium sulfat yang mempunyai nilai <math>IC_{50} = 0,06 \pm 0,04</math> <math>\mu</math>M terhadap strain FCR-3 dan mempunyai nilai <math>IC_{50} = 0,03 \pm 0,01</math> <math>\mu</math>M terhadap strain D10 <i>P. falciparum</i> dan hampir setara dengan aktivitas antimalaria klorokuin.</p>	39-46

nama ini bisa sll g. sebagai : Terutama bebede

Dorta Simamora dan Loeki Enggar Fitri	<p><b>Judul:</b> Antioksidan Pada Infeksi Malaria</p> <p><b>Sinopsis:</b> Penggunaan antioksidan yang tepat pada infeksi malaria menunjukkan percepatan kesembuhan, adanya perbaikan pada eritrosit, penurunan parasitemia, penurunan aktivitas radikal bebas dan peningkatan aktivitas magrofaq dan fungsi fagositosis. Diketahui bahwa antioksidan eksogen seperti vitamin A, vitamin C vitamin E, NAC dan riboflavin dapat digunakan sebagai <i>adjunctive /supporting</i> terapi pada infeksi malaria yang akut maupun yang kronis.</p>	47-56
Martha Kaihena dan Meske Ferdinandus	<p><b>Judul:</b> Kelimpahan Bakteri Pada Daging Ayam Ras Yang Dijual di Pasar Tradisional Mardika Ambon</p> <p><b>Sinopsis:</b> Kelimpahan bakteri pada daging ayam ras yang dijual di pasar tradisional Mardika Ambon telah terkontaminasi dengan nilai total bakteri yakni <math>4,54 \times 10^5</math> CFU (<i>Colony Forming Unit</i>) per gram dan kelimpahan bakteri pada daging ayam ras yang dijual di pasar tradisional Mardika Ambon telah berada di atas ambang batas maksimum cemaran mikroba yang ditetapkan oleh SNI : 01-6366-2000 yaitu sebesar <math>1 \times 10^4</math> CFU (<i>Colony Forming Unit</i>) per gram.</p>	57-63
Theopilus W. Watuguly, dkk	<p><b>Judul:</b> Model Psikobiologis Tumor Secara Umum: Pembahasan Ditinjau dari Aspek Biologis</p> <p><b>Sinopsis:</b> Heterogenitas biologis yang sangat heterogen pada tumor manusia menunjukkan bahwa tidaklah mungkin untuk membuktikan faktor psikologis yang memiliki peran yang independen dalam perkembangan tumor. Namun, pertumbuhan organisme secara keseluruhan dan bagian konstituennya berada dibawah kontrol hormonal. Respon psikologis, terutama tanggapan emosional, menyebabkan perubahan pada banyak jaringan melalui pelepasan hormon stress limbik-hipotalamik-pituitari. Kanker adalah gangguan pertumbuhan sel yang melibatkan ketidakseimbangan di dalam regulasi jaringan normal. Oleh karena itu, cukup beralasan untuk mengungkapkan bahwa mekanisme psikoneuroendokrin memiliki peranan di dalam perkembangan kanker.</p>	64-82
I Nengah Kundera	<p><b>Judul:</b> Crude Extract of Alkaloid Jackfruit Flowers (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk) Expression towards Outer Membrane Protein (OMP) virulence <i>salmonella typhi</i></p> <p><b>Sinopsis:</b> Alkaloid ekstrak bunga <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk., memiliki efikasi antibakteri terhadap <i>Salmonella Typhi</i>. Konsentrasi optimal daya antibakteri alkaloid berdasarkan MIC/MBC pada konsentrasi &lt; 30%, karena pada konsentrasi ini mampu menghambat atau membunuh sel bakteri <i>Salmonella Typhi</i>. Beberapa ekspresi profil protein OMP yang dimiliki <i>Salmonella Typhi</i> yaitu : protein 34,5 kDa, 376,5 kDa, dan 38.5 kDa. Selain itu masih ada beberapa protein yang dikelompokkan protein mayor dengan BM 19 kDa -144 kDa. Belum ditemukan adanya perubahan ekspresi <i>outer membrane protein</i> (OMP) faktor virulensi bakteri <i>Salmonella Typhi</i> yang terpapar alkaloid, karena sesuai target penelitian ini akan diperoleh hasilnya pada riset tahap ke-2.</p>	83-91
Hamdi Mayulu	<p><b>Judul:</b> Tinjauan Perkembangan Kemajuan Bioteknologi Menurut Aspek Etika, Sosial dan Hukum.</p> <p><b>Sinopsis:</b> Melalui dukungan dan kemajuan bioteknologi, pemanfaatan komponen asal binatang, baik berupa jaringan, sel-sel atau organ tertentu untuk ditransplantasikan ke tubuh manusia yang sampai kini masih diupayakan oleh para ilmuwan, telah memberikan secercah harapan dalam mengatasi keterbatasan organ yang dibutuhkan puluhan ribu penderita. Pendapat mengenai teknologi transgenik sampai saat ini masih terpecah dua, yakni pro dan kontra. Transgenik memang menjanjikan sebagai solusi masalah pangan, pengobatan, dan masih banyak hal lain, mengingat efeknya terhadap lingkungan bisa membahayakan maka semestinya dilakukan secara hati-hati. Kepentingan moral dan hukum dalam mengklasifikasikan penemuan baru terhadap kehidupan manusia ataupun yang bukan manusia haruslah berpegang pada standar kehati-hatian yang tinggi. Walaupun secara tegas bukti status etika moral dapat memproteksi tetapi hal ini tidak dapat diukur atau dibuktikan secara nyata dalam semua kasus.</p>	92-99

*Handwritten notes at the bottom of the page, including a signature and some illegible text.*

# CRUDE EXTRACT OF ALKALOID JACKFRUIT FLOWERS (*Artocarpus heterophyllus* Lamk) EXPRESSION TOWARDS OUTER MEMBRANE PROTEIN (OMP) VIRULENCE *SALMONELLA* TYPHI

I Nengah Kundera

Program Biologi PMIPA Universitas Tadulako

Diterima 08 September 2009/Disetujui 28 September 2009

## Abstract

*The research has been conducted on the crude extract of alkaloid Jackfruit flowers (Artocarpus heterophyllus Lamk.) towards expression Outer Membrane Protein (OMP) Virulence Salmonella typhi. This study aims to determine the antimicrobial alkaloid from the flower extract of Artocarpus heterophyllus Lamk., against Salmonella typhi, and how to the expression affect of OMP bacteria. The result of this research indicate that the alkaloid extract of Artocarpus heterophyllus Lamk, has antibacterial efficacy to Salmonella Typhi. Top of ForThe optimal concentration of alkaloid based on the antibacterial MIC/ MBC at concentrations <30%, against Salmonella Typhi bacteria, because at this concentration was able to inhibit or kill the cells of Salmonella Typhi. The result of SDS-PAGE analysis has isolated a protein profile that has a molecular weight of pili 76 kDa, 37 kDa, 36 kDa are important for virulence. Whereas outer membrane proteins include the BM, 34.5 kDa, 376.5 kDa, and 38.5 kDa. In addition some proteins that are group OMP major protein with molecular weight of 19 to 144 kDa. In addition, this research has not found expression changes in outer membrane protein (OMP) virulence factors of Salmonella Typhi bacteria are exposed to alkaloid, because the research result obtained in the study are expected to stage 2 of this research grant. Top of Form*

**Keywords:** alkaloid, Salmonella Typhi, omp.

## Abstrak

Telah dilakukan penelitian mengenai Crude Ekstrak Alkaloid Bunga Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lamk.) Terhadap Ekspresi Outer Membrane Protein (OMP) Virulensi Salmonela Typhi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri alkaloid dari ekstrak bunga *Artocarpus heterophyllus* Lamk., terhadap *Salmonella Typhi*, dan bagaimana pengaruhnya terhadap ekspresi OMP bakteri. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa crude ekstrak alkaloid bunga *Artocarpus heterophyllus* Lamk., memiliki efikasi antibakteri terhadap *Salmonella Typhi*.

Konsentrasi optimal daya antibakteri alkaloid berdasarkan MIC/MBC pada konsentrasi < 30%, bakteri terhadap *Salmonella Typhi*, karena pada konsentrasi ini telah mampu menghambat atau membunuh sel *Salmonella Typhi*. Hasil analisis SDS-PAGE telah berhasil diisolasi profil protein pili yang memiliki BM 76 kDa, 37 kDa, 36 kDa yang penting untuk virulensi. Sedangkan protein outer membran meliputi BM, 34,5 kDa, 376,5 kDa, dan 38.5 kDa. Selain itu beberapa protein OMP yang dikelompokkan protein mayor dengan BM 19-144 kDa. Sebagai tambahan bahwa hasil penelitian ini belum menemukan perubahan ekspresi outer membrane protein (OMP) faktor virulensi bakteri *Salmonella Typhi* yang terpapar alkaloid, karena hasil penelitian ini diharapkan diperoleh pada penelitian tahap ke-2 dari hibah penelitian ini.

**Kata kunci:** alkaloid, *Salmonella Typhi*, omp.

## PENDAHULUAN

Secara empiris bunga *A. heterophyllum* Lamk., telah dimanfaatkan sebagai obat diare sehingga diduga ada senyawa bersifat antibakteri. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak bunga *A. heterophyllum* Lamk., mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* pathogen (EPEC), *S. enteritidis*, *V. cholerae* dan *Shigella flexneri* (Khanum, *et al.*, 2006). Oleh karena itu kandungan fitokimia dari bunga *A. heterophyllum* Lamk., berpotensi sebagai kandidat antibakteri. Penelitian ini penting dilakukan sebagai upaya penelusuran pemanfaatan bahan hayati menjadi kandidat antibiotik dimasa yang akan datang terhadap *Salmonella Typhi*. Oleh karena itu diperlukan berbagai aspek kajian, termasuk kajian molekuler faktor virulensi bakteri yang bertanggungjawab terhadap patogenitas (Hayashi, *et al.*, 2001).

Penyakit demam tifoid disebabkan oleh bakteri *Salmonella Typhi* masih menjadi masalah kesehatan di negara berkembang. Sekitar 22 juta kasus demam tifoid terjadi setiap tahun di dunia, dengan angka kematian sekitar 216.510 orang (Baker, *et al.*, 2007; Baker, *et al.*, 2008). Di negara berkembang insiden demam tifoid setiap tahun berkisar 12-622/100.000 penduduk (Forest, *et al.*, 2007). Beberapa peneliti membuktikan bahwa *outer membrane protein* (OMP) spesifik ini merupakan imunogen yang baik dalam menginduksi kekebalan seseorang terhadap *Salmonella Typhi*. OMP terletak pada permukaan bakteri Gram negatif, yang dianggap sebagai antigen penting dalam menginduksi respon imun (Indriyan, *et al.*, 2005).

Adanya kandungan alkaloid dan tanin bunga *A. heterophyllum* Lamk., menarik untuk diteliti mengenai efektivitas senyawa ini sebagai antibakterisidal dan respon molekuler bakteri melalui pengamatan perubahan keberadaan protein outer membran faktor virulensi bakteri *Salmonella Typhi*. Oleh karena itu bila terjadi perubahan ekspresi protein outer membran oleh tekanan senyawa alkaloid dari *A. heterophyllum* Lamk., maka diharapkan bakteri akan mengalami perubahan sifat virulensinya.

## MATERI DAN METODA PENELITIAN

### Bahan dan Alat Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 12 minggu dengan menggunakan rancangan percobaan acak lengkap (RAL). Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu: MHA, Agar MacConkey, MHB, NA, buffer posfat, NaCl fisiologis, aquades, *Salmonella*, bunga *A. heterophyllum* Lamk., etanol pa. Medium TCG, Mycobact, BSA, antigen-H (Widal), Chaps, SDS-PAGE (Sodium-dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis), Brain Heart Infusion (BHI) broth, TSIA. *Salmonella Typhi* hasil isolasi dari penderita demam tifoid di RS. Hasan Sadikin dan Labkes Undata Palu. Reagen kimia: TCA, ammonium sulfat, NaCl, NaCitrata, EDTA, EGT, dithiotreitol, KCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, ethanol pa., acrylamid, bis-acrylamid, glisin, tris-HCl, tris base, SDS, temed, amonium persulfat, commassie blue, metanol, asam asetat glasial, gliserol, brophenol blue, 2-mercatoethanol, Tween 20, p-nitrophenyl phosphat, diethanolamin, MgCl<sub>2</sub>. Pewarna Gram, Reagen Oksidase, Detergen untuk

OMP : Chaps [3-{(3-Cholamidopropyl)-dimethylammonio}-1-propanesulfonate] (Sigma Ultra), Protein marker (Wide range) dari Sigma Ultra (Anonim, 2007; Aulanni'am, 2004).

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu : labu mikropipet, otoklaf, inkubator, caliper, coloni counter, perkolator, evaporator mikroskop, inkubator, gelas objek, otoklaf, erlenmeyer, pengaduk gelas, gelas beker, lampu bunsen, lempeng mikrotiter, membran dialisis, membran elektroelusi, *magnetik stirer*, tabung sentrifus (ependorf 15 ml dan 100ml), wadah penyimpan gel hasil elektroforesis, alat elektroforesis vertikal (Bio-Red Mini Proten), alat Blotting (*Bio-Rad Trans-Blot SD-Semy-Dry Transfer Cell*). Membran dialisis, membran elektroelusi, tips, tabung sentrifus (ependorf 1,5 ml dan 100 ml), pipet mikro 5 – 20 il, 50 – 200 il, 200-1000 il, spoit disposibel dll (Raffatellu M, *et al*, 2007).

### Identifikasi *Salmonella Typhi*

Sebanyak 12 strain *Salmonella Typhi* yang diperoleh dari penderita demam tifoid dibiakkan pada medium Muller Hinton A garpada suhu 37°C selama 18–24 jam. Koloni bakteri yang tumbuh dilakukan pewarnaan Gram dan dilanjutkan penanaman pada medium deferensial MacConkey pada suhu 37°C, selama 18–24 jam. Hasil pertumbuhan koloni dari medium MacConkey ditanam lagi pada medium selektif BSA pada suhu 37°C, selama 18–24 jam (Castilla, *et al.*, 2006). Koloni bakteri yang tumbuh pada medium MacConkey dilakukan uji oksidase. Koloni bakteri dilakukan indentifikasi biokimiawi dengan *Microbact system* guna menentukan spesies bakteri.

### Pengujian Efektifitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri mengacu pada metode Kirby-Bauer (McKane L and Judi K, 1996). Konsentrasi alkaloid dan tanin yang digunakan yaitu 0, 30%, 40%, 50% dan 60%. Untuk menentukan MIC dan MBC maka dilanjutkan dengan pengujian antibiogram melalui metode tube delution, dengan menggunakan variasi konsentrasi yang sama.

### Pemisahan Fimbria dari Sel

Biakan cair dari medium MHB dipindahkan ke dalam tabung sentrifus 100 cc, lalu tambahkan *Trichloro acetic acid* (TCA) sehingga konsentrasinya 3%, disentrifus dingin pada suhu 4°C dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit. Endapan disuspensi dengan PBS pH7,4 secukupnya, kemudian dilakukan pemotongan fimbriae menggunakan alat omni-mixer modifikasi pada suhu 4°C (Timothy, *et al.*, 2006). Selanjutnya disentrifus dingin 4°C dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit. Filtrat dipisahkan (mengandung fraksi fimbriae) dan endapan disuspensi lagi dengan PBS pH 7,4 secukupnya, kemudian dilakukan pemotongan lagi. Proses pemotongan fimbriae diulangi beberapa kali guna mendapatkan perbedaan fraksi fimbriae dengan sel bakteri.

### Fraksi OMP (Outer Membrane Protein)

Bagian fraksi sel bakteri prosedur (2) disuspensi dengan PBS secukupnya, kemudian ditambahkan *Chaps* (3{(3-Cholamidopropyl)-dimethylammonio}-1-propanesulfonate), sehingga diperoleh kadar 0,5% (b/v). Lakukan pengocokan dengan vortex selama 5 menit, kemudian disentrifus dingin 4°C 12.000 rpm selama 15 menit. Filtrat diambil dan dilakukan analisis menggunakan PBS pH 7,4 untuk menghilangkan *Chaps*. Kemudian dialisis diendapkan dengan ammonium sulfat 35%, disentrifus pada suhu 4°C 6000 rpm selama 15 menit. Filtrat dibuang, selanjutnya endapan disuspensi dengan PBS secukupnya dan dilakukan dialisis kembali, sehingga diperoleh dialisis sebagai fraksi OMP (Dhaenens, *et al.*, 1997).

### Pengukuran Kadar Protein OMP

Menyiapkan tabung reaksi sesuai dengan jumlah sampel dan ditambah 1 tabung sebagai blanko. Masing-masing tabung reaksi diisi dengan 90µl NaCl 0,9%. Sampel protein OMP sebanyak 10µl dimasukkan ke dalam tabung reaksi, sedangkan tabung reaksi yang berfungsi sebagai blanko hanya diisi dengan 100 µl buffer. Masing-masing tabung reaksi selanjutnya ditambah dengan 5 ml preaksi Bradford,

divortex dan diinkubasi pada suhu ruang. Pengamatan nilai absorbansinya pada panjang gelombang 595 nm pada alat spektrofotometer. Berdasarkan nilai absorbansi tersebut hitung kadar protein masing-masing sampel dengan bantuan garis linier dari kurva standar kadar protein. Pengukuran SDS-PAGE protein, running sampel, pewarnaan gel, dan pengukuran berat molekul (Aulanni'am, 2004).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

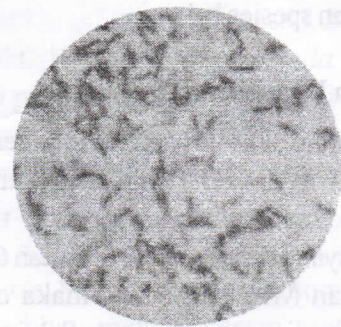
Untuk membuktikan kriteria sampel penelitian bahwa bakteri *Salmonella* Typhi yang digunakan berasal dari darah pasien yang telah didiagnosa menderita demam tifoid. Oleh karena itu dilakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri *Salmonella*. Sebanyak 16 sampel bakteri yang diperoleh dari RS. Hasan Sadikin Bandung dan Laboratorium Kesehatan Propinsi Sulawesi Tengah telah dilakukan proses identifikasi berdasarkan kriteria isolasi bakteri *Salmonella* Typhi. Ciri koloni bakteri *Salmonella* Typhi yang ditumbuhkan pada medium deferensial, khususnya MacConkey memperlihatkan koloni bulat, tepi tajam, permukaan halus, tidak berwarna atau buram, dengan diameter koloni 1-3 mm. Beberapa kriteria koloni ini ternyata sesuai dengan kriteria dalam proses identifikasi *Salmonella*.

Alasan penggunaan medium MacConkey sebagai salah satu sarana untuk isolasi *Salmonella* Typhi, karena sejak tahun 1905 medium MacConkey dijelaskan sebagai medium selektif, media deferensial yang digunakan untuk mengisolasi bakteri basil enterik gram-negatif. Medium ini mengandung nutrisi dasar yang juga berisi kristal violet dan garam empedu yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Mikroba yang mampu tumbuh pada MacConkey Agar dan mampu memfermentasi lactose, menghasilkan produk sampingan berupa asam sehingga mengakibatkan penurunan pH di daerah sekitar koloni bakteri. Penurunan pH juga menyebabkan indikator berwarna merah pada kondisi normal berubah menjadi warna kuning. Mikroba yang tidak memetabolisme laktosa tidak koloninya tidak berwarna dan tembus cahaya (transparan). Hasil penelitian ini menunjukkan ciri koloni yang sesuai dengan harapan dalam proses

identifikasi *Salmonella* Typhi. Selanjutnya pertumbuhan koloni bakteri pada medium BSA yang berwarna hitam. Terbentuknya warna hitam dari koloni *Salmonella* ini karena adanya kemampuan metabolisme bakteri untuk melepaskan  $H_2S$ . Isolasi *Salmonella* dengan menggunakan medium BSA merupakan suatu media modifikasi dari Bismut Sulfit Agar (BSA) dari Wilson dan Blair sejak tahun 1927. Media ini sejak awal dimanfaatkan untuk mengisolasi *Salmonella* Typhi dari perairan tercemar limbah serta dari bahan-bahan lain. Tipikal koloni *Salmonella* Typhi pada media ini adalah hitam dikelilingi oleh berwarna hitam kecoklatan dan sering memperlihatkan kemilau metalik. Media ini cukup memberi manfaat untuk isolasi *Salmonella* Typhi karena menunjukkan koloni khas hitam pekat (*black jet colony*). Hasil pewarnaan Gram sel bakteri *Salmonella* Typhi, ternyata diperoleh sel bakteri bentuk batang, berwarna merah maka bakteri ini digolongkan ke dalam bakteri Gram negatif. Secara lengkap proses pewarnaan Gram sel bakteri *Salmonella* Typhi, mengikuti standar proses pewarnaan Gram.



Gambar 1. Visualisasi hasil uji TSIA *Salmonella* Typhi



Gambar 2. Hasil pewarnaan Gram sel *Salmonella* Typhi dengan pembesaran (10 x 100)

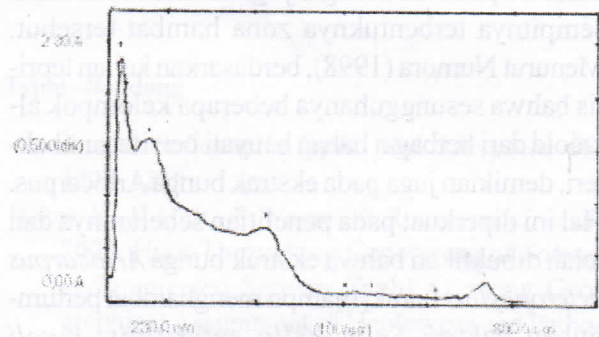
Penentuan karakterisasi *Salmonella* Typhi juga dilakukan melalui pembiakan bakteri pada medium TSIA, untuk menentukan produksi hidrogen sulfida ( $H_2S$ ), motilitas dan sifat biokimia lainnya. Pembiakan bakteri pada medium TSIA dilakukan melalui metode gores dan tusukan serta diinkubasi pada suhu  $37^\circ C$  selama  $1 \times 24$  jam. Hasil penelitian ini dengan seperti yang terlihat pada Gambar 5.4. Berdasarkan hasil penelitian terbukti bahwa bakteri *Salmonella* Typhi mampu menghasilkan hidrogen sulfida sebagai hasil sampingan metabolismenya. Selain itu terjadi perubahan warna merah pada indikator medium menjadi kuning sebagai pertanda perubahan pH media akibat terbentuknya asam. Pada bagian media yang diinokulasi dengan cara tusuk terbentuk warna hitam yang menunjukkan terbentuknya hidrogen sulfida, dari sisa metabolisme bakteri *Salmonella* Typhi. Pada uji ini telah terjadi fermentasi glukosa/dektrosa yang terdapat dalam media sebagai nutrisi, sehingga terbentuk sedikit hidrogen sulfida. Hasil uji oksidase menunjukkan hasil yang negatif. Sedangkan hasil uji motilitasnya dinyatakan positif, hal ini membuktikan bahwa sesuai dengan sifat-sifat bakteri *Salmonella* Typhi.

Pengujian sifat biokimia *Salmonella* Typhi bertujuan memperkuat hasil pengujian sebelumnya, guna menentukan sifat kimiawi dan kemampuan metabolisme *Salmonella* Typhi. Berdasarkan indikator bahwa *Salmonella* Typhi termasuk bakteri yang mampu memfermentasi beberapa kelompok gula misalnya; glukosa, manitol, lysine, pembentukan  $H_2S$ . Namun disisi lain bakteri ini tidak mampu mefermentasi laktosa, uji indol negatif, uji urease negatif serta bersifat motil. Berdasarkan kriteria uji biokimia tersebut di atas, bahwa dari sekitar 14 strain *Salmonella* yang dilakukan pengujian dengan kit *Mycrobact*, diperoleh 10 strain bakteri *Salmonella* Typhi yang layak dijadikan sampel penelitian. Persentase kedekatan hubungan ini juga turut menentukan hasil akhir dari identifikasi *Salmonella* Typhi. Berdasarkan hasil uji identifikasi di atas diharapkan sampel bakteri *Salmonella* yang digunakan benar-benar adalah *Salmonella* Typhi. Setelah diperoleh sekitar 10 strain *Salmonella* Typhi yang bersumber dari Palu dan Bandung, maka dilakukan subkultur

untuk menyimpan biakan sebagai sampel penelitian selanjutnya.

### Hasil isolasi alkaloid

Setelah dilakukan prosedur isolasi sebanyak 3 kali senyawa alkaloid maka telah diperoleh senyawa ini dalam bentuk *croud* alkaloi. Senyawa ini akan dicobakan sebagai bahan antibakteri terhadap *Salmonella* Typhi. Untuk memastikan bahwa senyawa yang diisolasi tersebut termasuk golongan alkaloid maka dilanjutkan pengukuran absorbansi dengan UV-vis.



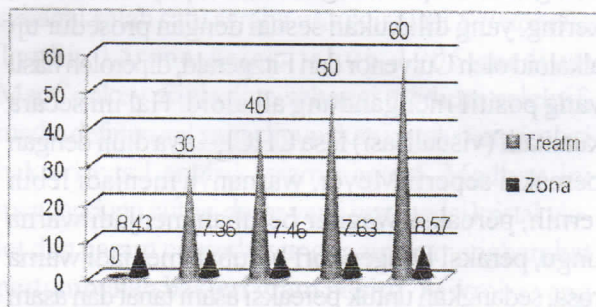
Gambar 3. Kurva Abs senyawa crude ekstrak alkaloid bunga *Artocarpus Heterophyllus* Lamk pada uji UV-vis.

Berdasarkan hasil uji fitokimia secara kualitatif, 175 gram sampel bunga *A. heterophyllus* Lamk., kering, yang dilakukan sesuai dengan prosedur uji alkaloid oleh Culvenor dan Fitzgerald, diperoleh hasil yang positif mengandung alkaloid. Hal ini secara kualitatif (visualisasi) fasa  $CHCl_3$ -nya diuji dengan pereaksi seperti Meyer, warnanya menjadi lebih jernih, pereaksi Wagner berubah menjadi warna ungu, peraksi Dragendorf berubah menjadi warna rosa, sedangkan untuk pereaksi asam tanat dan asam pikrat berubah menjadi warna kuning (Kundera I. N, 2002). Adanya perubahan warna oleh lima indikator ini, maka secara kualitatif bunga *A. heterophyllus* Lamk. mengandung alkaloid.

### Hasil uji sifat antimikroba Crude ekstrak alkaloid bunga *A. heterophyllus* Lamk., terhadap *Salmonella* Typhi.

Berdasarkan rerata lebar zona hambat pada penentuan MIC alkaloid terhadap *Salmonella* Typhi,

ternyata kontrol positif ethanol memiliki nilai zona hambat lebih lebar dari konsentrasi perlakuan alkaloid. Kecilnya zona hambat yang dibentuk oleh alkaloid mungkin disebabkan oleh beberapa hal, misalnya: (i) Minimnya jumlah cairan alkaloid yang terdapat dalam paper dis, sehingga daya hambatnya tidak maksimal. (ii) Sifat virulensi bakteri *Salmonella* Typhi yang lebih kuat sehingga mampu beradaptasi terhadap senyawa alkaloid tersebut. (iii). Menurunnya efikasi antibakteri dari bahan hayati dalam kondisi terpartisi bila dibandingkan pada kondisi yang utuh. (iv). Kemampuan difusi senyawa alkaloid pada media agar juga menentukan lebar sempitnya terbentuknya zona hambat tersebut. Menurut Numora (1998), berdasarkan kajian teoritis bahwa sesungguhnya beberapa kelompok alkaloid dari berbagai bahan hayati bersifat antibakteri, demikian juga pada ekstrak bunga *Artocarpus*. Hal ini diperkuat pada penelitian sebelumnya dan telah dibuktikan bahwa ekstrak bunga *Artocarpus heterophyllus* Lamk, mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella enteritidis*, *E. coli* (EPEC) dan *Vibrio cholerae* (Khanum<sup>39</sup>). Pada penelitian ini alkaloid yang diekstrak dari bunga *A. heterophyllus* Lamk., telah dibuat dalam bentuk crude melalui proses partisi dari wole ekstrak bunga *Artocarpus heterophyllus* Lamk.



Gambar 4. Grafik rerata zona hambat alkaloid terhadap *Salmonella* Typhi

Pengujian daya bunuh alkaloid terhadap *Salmonella* Typhi, melalui pengamatan hasil MBC, dengan menggunakan metode *tube delution*. Hasil pengujian dengan *tube delution* menunjukkan bahwa dari konsentrasi 30% sudah tidak terjadi perubahan warna media LB+ alkaloid. Selanjutnya setelah dilakukan pembiakan bakteri pada media MHA hanya ditemukan pertumbuhan koloni bakteri

pada kontrol, sedangkan dari konsentrasi 20% sudah tidak ada pertumbuhan koloni bakteri. Hal ini berarti bahwa telah terjadi kematian sel bakteri *Salmonella* Typhi karena perlakuan alkaloid. Oleh karena itu dapat dijelaskan bahwa dengan pemberian crude ekstrak alkaloid bunga *Artocarpus heterophyllus* Lamk., ternyata mempengaruhi terbentuknya zona hambat demikian juga pada pengujian MIC serta MBC. Nilai MIC pada pengujian alkaloid terhadap *Salmonella* Typhi berkisar pada konsentrasi 30%, sedangkan nilai MBC sudah diperoleh pada konsentrasi < 30%.

### Profil hasil SDS-PAGE protein Pili dan outer membran *Salmonella* Typhi

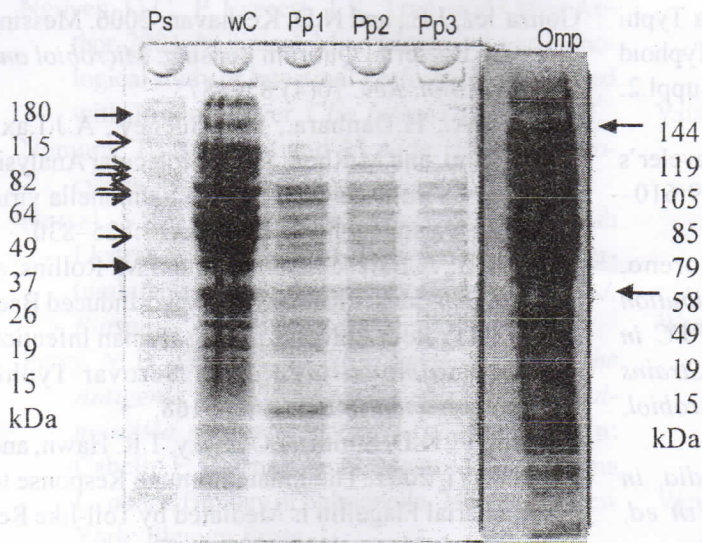
Sesuai dengan rencana penelitian ini bahwa akan dilakukan proses isolasi OMP, maka terlebih dulu dilakukan pemotongan pili *Salomonella* Typhi. Hasil isolasi pemotongan protein pili *Salmonella* Typhi setelah dilakukan pengukuran BM protein yang diperoleh melalui SDS-PAGE maka profil protein pili dan OMP dapat dilihat pada Gambar 5..

Setelah pemotongan pili *Salmonella* Typhi, maka akan terjadi pemisahan antara protein pili dan protein outer membran *Salmonella* Typhi. Hasil pemotongan pili ini telah ditemukan beberapa protein pili misalnya protein penyusun pili, 76 kDa dan protein 36 kDa. Beberapa ekspresi protein OMP juga dapat dibaca melalui hasil SDA-PAGE melalui wole sel *Salmonella* Typhi. Berat molekul protein OMP yang dapat diukur dengan menggunakan analisis regresi yaitu: protein 34,5 Kda, 376,5 kDa, dan 38.5 kDa. Selain itu masih ada beberapa protein yang dikelompokkan protein mayor dengan BM 19 kDa -144 kDa. Sesuai dengan rencana penelitian ini untuk isolasi OMP *Salmonella* Typhi yang diberikan treatmen alkaloid belum dilakukan pada tahap pertama penelitian ini, karena akan dikerjakan pada tahap ke dua. Jadi pada akhir penelitian ini belum ditemukan hasil perubahan protein OMP yang telah terpapar alalkoid.

### KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka disimpulkan bahwa, Alkaloid ekstrak bunga





Gambar 5. Profil protein pili dan OMP Strain *Salmonella* Typhi-Bandung

*Artocarpus heterophyllus* Lamk., memiliki efikasi antibakteri terhadap *Salmonella* Typhi. Konsentrasi optimal daya antibakteri alkaloid berdasarkan MIC/MBC pada konsentrasi < 30%, karena pada konsentrasi ini mampu menghambat atau membunuh sel bakteri *Salmonella* Typhi. Beberapa ekspresi profil protein OMP yang dimiliki *Salmonella* Typhi yaitu: protein 34,5 kDa, 376,5 kDa, dan 38,5 kDa. Selain itu masih ada beberapa protein yang dikelompokkan protein mayor dengan BM 19 kDa -144 kDa. Belum ditemukan adanya perubahan ekspresi *outer membrane protein* (OMP) faktor virulensi bakteri *Salmonella* Typhi yang terpapar alkaloid, karena sesuai target penelitian ini akan diperoleh hasilnya pada riset tahap ke-2.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, N. "<http://id.wikipedia.org/wiki/Nangka>, downloade, 6 Juni 2007.
- Arung, E.T., K.Shimizu., and R.Kondo., 2006. Inhibitory Effect of *Artocarpus heterophyllus* on Melanin Biosynthesis, *Biol. Pharm Bull.* 29 (9). 1966–1969.
- Aulanni'am. 2004. *Prinsip dan Teknik Analisis Biomolekul*, UB-USaha Nasional, 13–83.
- Baker, S., K.Holt., S. Whitehead., I. Goodhead., T. Perkins., B. Stocker., J. Hardy., and G. Dougan. 2007. *A Linear plasmid truncation Induces uni-directional flagellar Phase Change in H: z66 Positve Salmonella Typhi.* *Mol. Microbiol.* 66: 1207–1218.
- Baker, S., K.Holt., E. Vosse., P. Roumagnac., et al. 2008. High-Throughput Genotyping of *Salmonella enterica* Serovar Typhi Allowing Geographical Assignment of Haplotypes and Pathotypes Within an Urban District of Jakarta, Indonesia. *J.Clin.Microbiol.* 46(5):1741–1746.
- Bianco, A., Bonadies, F., Cianciolo, V., Melchioni, C., Rammuno, A., Dezzi, S., Nicoletti M., Serafini, M., and Ballero, M. 2002. Monoterpene Alkaloid from *Argyria radiata* (Bignoniaceae), *Natural Product Letters*, 16(2):77–80.
- Boyle, E.C., J. Bishop., G.A., Grassl., B.B., and Finlay. 2007. *Salmonella: From Pathogenesis to Therapeutics*, *J.Bacteriol*, 189(5):1489–1495.
- Brett-Finlay, and Siebers. 1995. Mechanisms of Mucosal Colonization and Penetration by Bacterial Pathogens; in *Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens*, 2nd ed, edited by; Roth J.A., Bolin C.A., Brogden K A., Minion F.C., and Wannermuehler M J., ASM Press, Washington DC., 33–63.
- Brock, T.D., M.T.Madigan., J.M. Martinko, and J.Parker. 1994. *Biology of Microorganism*, 7th ed. New Jersey, Prentice Hall. Brooks G.F, Butel J.S, Ornston L.N, Jawetz E, Melnick J.L, Adelberg, E.A. 1995, *Medical Microbiology*, 20<sup>th</sup> ed. London: Prentice-HALL International.
- Bruneton, J. 1999. *Pharmacognosy Phytochemistry Medicinal Plants*, 2 edition, Londres, New York, p. 312–799.

- Calva, E., and J.L.Puente. 1995. Salmonella Typhi Outer Membrane Proteins: Their roles in Typhoid Fever, SEA. *J.of Tropmed and PH*: 26 Suppl.2: 138-144.
- Carbura, J.A.C., and M.J.G. Farting. 2004. Traveler's diarrhea, *J.Gastroenterol, Hapatol*, 19:610-618.
- Castilla, K.S., C.S.A. Ferreira, A.M.Moreno, I.A.Nunes, A.J.P.Ferreira. 2006. *Distribution of Virulence Genes Sefc, Pefa and SPVC in Salmonella Enteritidis Phage Type 4 Strains Isolated in Brazil. Brazilian J. of Microbiol.* 37:135-139.
- Chapin, K.C., and P.R.Murray. 1999. *Media, in Manual of Clinical Microbiology 7th ed*, ASM, Washington DC 2005: 1687-1707.
- Clarke, M., and V. Sperandio. 2005. Even at the Host-Microbial Interface of the Gastrointestinal Tract III. Cell-to-Cell signaling among Microbial flora, Host, and Pathogens there is a whole lot of talking going on. *AJP-Gastrointes Liver Physiol.* 288:G11050-G1109.
- Demuth, D.R., and R.J. Lamont. 2006. Bacterial Cell-to-Cell Communication: Role in Virulence and Pathogenesis. *Cambridge Univ.Press.* 175-199. [/www.cambridge.org](http://www.cambridge.org).
- Dhaenens, L., F. Szczebara, and M.O. Husson. 1997. Identification, Characterization and Immunogenicity of Lactoferrin-Binding Protein from Helicobacter pylory, *Infect.Immun.* 65 (5):514-518.
- Forest, C., S.P. Faucher, K. Poirier, S.Houle, C.M. Dozois, and F. Daigle. 2007. Contribution of The stg Fimbrial Operon of Salmonella enterica Serovar Typhi During Interaction With Human Cells, *Infect. Immun.* 75(11):5264-5271.
- Gaind, R., B. Pagleitti, M.Murgia, R.Dawar, S.Uzzau, P.Cappuccinelli, M.Deb, P. Anggarwal, and S. Rubino. 2006. Molecular characterization of Ciprofloxacin-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Typhi and ParaTyphi A Causing enteric fever in India. *J.Antimicrob. Chemother.* 58: 1139-1144.
- Gerlach, R.G., D. Jackel, N. Geymeier, and M. Hansel. 2007. Salmonella Pathogenicity Island 4-Mediated Adhesion Is Coregulated With Invasion Genes in *Salmonella enterica*. *Infect.Immun.* 75(10):4697-4709.
- Gonza'lez, J.E., and N.D. Keshavan. 2006. Messing with Bacterial Quorum Sensing. *Microbiol and Mol. Biol. Rev.* 70(4):859-875.
- Gulig, P.A., H.Danbara., D.G.Gueney., A.J.Lax., F.Norel, and M.Rhen. 1993. Molecular Analysis of *spv* Virulence Genes of the Salmonella virulence Plasmids, *Mol.Microbiol.* 7:825-830.
- Harris, J.B., A.Baresch-Bernal, and S.M. Rollins, et al. 2006. Identification of In Vivo-Induced Bacterial Protein Antigens during Human Infection with *Salmonella enterica* Serovar Typhi. *Infect.Immun.* 74(9):5161-5168.
- Hayashi, F., K.D. Smith, A.Ozinsky, T.R. Hawn, and E.C. Yi. 2001. The Innate Immune Response to Bacterial Flagellin is Mediated by Toll-like Receptor 5, *Nature.* 410:1099-1103.
- Hidayat, I.W., M. Agma, S. Arigayo, A. Ramlan, and W. Kraus. 1994. *Phytochemical Screenings and Ethnobotanical Studies of Indonesian Plants part I*, Padjadjaran University, (crosseding), p: 6.
- Hsu, H.S. 1992. Pathogenesis of Typhoid Fever, an Experimental Model. 148-153. Singapore: World Scientific.
- Indriyan, A.K., S.Sharma, D. Durgapal, N. Kumar, and M. Kumar. 2005. Determinatin of Nutritive Value and Analysis of Mineral elements for Some Medicinally Value Plant from Uttaranchal, *Current Science*, v.89 (7):1252-1255.
- Ivanoff, B., and M.M. Levine. 1997. Typhoid Fever: Continuing Challenges from resilient Bacterial foe, *Bull. Inst. Pasteur*; 95:129-142.
- Khanum, S., N. Us-Saba, M. Qayyum, B. Ul-Islam and A.A. Qazibash. 2006. Emergence of Multidrug Resistant strains of *Salmonella* Typhi and Paratyphi A in the Rawalpindi/Islamabad. *J.Med.Sci.* 6(1):68-73.
- Kundera, I.N. 2002. Daya antibaktri Ekstrak Bunga Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lamk.) terhadap Beberapa Bakteri Patogen Saluran Pencernaan, PPS. Unpad. *J. Biosains*, 2:44-53.
- McKane, L., and K. Judi.1996. *Microbiology Essentials and Applications*, Second edition, McGraw-Hill, Inc.USA, p.787-809.
- Morris, C., M.C. Yip, I.S.M.Tsui, D.K.H. Wong, and J.Hackett. 2003. The Shufflon of *Salmonella enterica* serovar Typhi Regulates Type IVB Pillus-Mediated Bacterial Self-Association, *Infect.Immun.* 71:1141-1146.

- Nguyen, Q.C., P. Everest, T.K. Tran, and Other Author. 2004. A Clinical, Microbiological, and Pathological study of Intestinal Perforation Associated with Typhoid fever. *Clin. Infect. Dis.* 39:61-67.
- Nomura, T., Y.Hamo, and M.Aida. 1998. *Heterocycles*, 47, (2):1179.
- Nursal, S.M., dan N.R. Nganro. 1997. Pengaruh Ekstrak Akar Acanthus Illicifolus terhadap pertumbuhan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, *J. Biosains*, 2:32-37.
- Perry, M.B. 1993. *Some Structural Aspect of the Antigenic O-polysaccharide componen of Salmonella somatic lipopolysaccharides*. In: Cabello F, Hormaeche C, Mastroeni P., Bonina L., editor, *Biology of Salmonella*, 245:63-78. New York: Plenum Press.
- Raffatellu, M., R.I. Santos, D. Chessa, and Other Author. 2007. The Capsule Encoding the *viaB* Locus Reduces Interleukin-17 Expression and Mucosal Innate Responses in the Bovin Intestinal Mucosal during Infection with *Salmonella enterica* Serotype Typhi. *Infect. Immun.* 75(9): 4342-4350.
- Singh, B. 2001. Epidemiology: Typhoid Fever, *J. Indian. Acad. of Clin. Med.* 2:1-2.
- Sumarno. 2000. Karakterisasi Molekuler protein adhesi *Vibrio cholerae* O1 M094V dan protein reseptornya pada sel epitel Usus halus Tikus Putih (wistar), studi Patogenesis *Vibrio cholerae* O1 M094V, Disertasi Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Timothy, F., M.D. Jones., I.Amanda, E. Kathleen, Fullerton, R. Marcus, J.A. Bridget, P.V. McCarthy, D. Vugia, B. Shiferaw, N. Haubert, S. Wedel, and F.J. Angulo. 2006. A Case-Contol Study of The Epidemiology of Sporadic *Salmonella* Infection in Infants, *Pediatric J.* 118;6: 2380-2387.
- Vaishnavi, C., K. Rakesh., S. Gurpreet, K.Sudarshan, S. Satnam, and S. Kartar. 2005. Epidemiology of Typhoid Carriers Among Blood Donor and Patients With Biliary, Gastrointestinal and Other Related Diseases, *J. Microbiol. Immunol.* 49 (2); 107-112.
- Wardhani, P., Prihatini, and M.Y. Probahoedo. 2005. Widal Tube Test Capability Using Imported Antigen and Local Antigens, *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 12(1):31-37.
- Weinstein, D.L., B.L. O'Neill., D.M. Hone, and E.S. Metcalf. 1998. Differential Early Interactions between *Salmonella enterica* Serovar Typhi and Two Other Pathogenic *Salmonella* Serovars with Intestinal Epithelial Cells. *Infect. Immun.* 66 (5): 2310-2318.
- Xavier, K.B., S.T. Miller, W.Lu., and Other Author. 2007. Phosphorilation and processing of the quorum-sensing Molecule autoinducer-2 in enteric bacteri. *ACS Chem Biol.* 2(2):128-136 [Abstract].
- Zeng, H., Huixia-Wu, V. Sloane, R. Jones, Y. Yu, P. Lin, A.T. Gewirtz, and A.S. Neish. 2006. Flagellin/TLR5 Responses in Epitelia Reveal Intertwined Activation of Inflammatory and Apoptotic Pathways. *AJP- Gastrointest Liver Physiol.* 290:96-108.
- Zwadyk, P. 1992. *Enterobacteraceae: Salmonella and Shigella, Intestinal Pathogen*, in Joklik WK, Willet HP, Amos DB, Wilfert CM, Zinsser Microbiology 20th ed., Appleton & Lange, USA:556-565.