

Ringkasan

Studi Biologi Molekuler Resistensi *Salmonella typhi* Terhadap Kloramfenikol

Salmonella typhi sebagai penyebab kasus demam tifoid pada manusia dapat menyebabkan kematian lebih dari 600,000 pertahun. Dari data tersebut di atas terlihat demam tifoid adalah penyakit yang tersebar luas diseluruh dunia terutama di daerah tropik yang sampai sekarang masih merupakan problema epidemiologik (, Mirza *et al.*, 2000, Thong *et al.*, 2002, Wain, *et al.*, 2003, Mandal *et al.*, 2004). Penggunaan kloramfenikol sebagai obat pilihan dalam penyembuhan demam tifoid di Indonesia telah lama digunakan sehingga dapat terjadi perubahan terhadap masalah kepekaan *Salmonella typhi* sebagai penyebab demam tifoid terhadap antibiotika tersebut, yang mengarah pada masalah resistensi *Salmonella typhi* terhadap kloramfenikol. Resistensi terhadap kloramfenikol merupakan kenyataan yang secara global terjadi pada *Salmonella typhi* sesudah tahun 1972 yang dibawakan oleh plasmid yang *inkompatibel* antara lain kelompok IncH (Cooke and Wain, 2004). Sejak tahun 1990 semakin banyak *Salmonella typhi* yang resisten terhadap obat-obatan yang diberikan secara oral yang dulunya sangat bermanfaat, seperti kloramfenikol, ampisilin dan kotrimoxasol (Ivanoff, 2002).

Obyek dalam penelitian ini untuk membuktikan pemberian enzim CAT dan pemberian anti CAT terhadap kepekaan *Salmonella typhi*, transformasi DNA plasmid ke dalam kultur *Salmonella typhi*, DNA plasmid pengkode enzyme CAT, sekuens nukleotida plasmid CAT pada *Salmonella typhi* yang resisten dan perbedaan profil *whole* protein antara *Salmonella typhi* sensitif kloramfenikol dan *Salmonella typhi* resisten kloramfenikol.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan pendekatan *Post test only design*, dengan isolat *Salmonella typhi* yang diambil dari RSUD Dr. Soetomo, Lab.KESDA Surabaya dan Lab. Mikrobiologi UNAIR sebanyak 3 isolat yang konsisten resisten dan 3 isolat yang konsisten sensitif.

Hasil penelitian ini pada kultur bakteri resisten yang telah di beri anti CAT dan dipapar dengan kloramfenikol tetap resisten sebesar 66.6%. Hasil uji F

terhadap uji CAT Elisa ternyata produksi enzim CAT dengan kepekaan *Salmonella typhi* berbeda sangat bermakna ($P < 0,01$). Hasil uji F terhadap uji CAT ELISA ternyata produksi enzim CAT dengan plasmid *Salmonella typhi* yang sensitif dan resisten plasmid

DNA plasmid sensitif dapat ditransformasikan ke dalam sel kompeten *Salmonella typhi*. Hasil PCR dan sekuensing menunjukkan bahwa *Salmonella typhi* yang resisten isolat Surabaya memiliki fragmen DNA plasmid 293 bp dan homologinya 100% dengan DNA plasmid Acc.No. J01841.

Terdapat perbedaan profil whole protein antara *Salmonella typhi* yang sensitif dan resisten kloramfenikol, yang menunjukkan masa molekul protein enzim CAT 76 KDa.

Pemberian anti CAT pada *Salmonella typhi* resisten kloramfenikol yang telah dibuktikan dalam penelitian ini dapat digunakan sebagai alternatif dalam penentuan kepekaan bila ada kendala dalam penentuan kepekaan yang telah rutin dilakukan, dapat digunakan untuk pencegahan biomolekuler pada epidemi tifoid fever.

Deteksi keberadaan gen pengkode enzim CAT yang telah ditemukan dapat digunakan untuk deteksi *Salmonella typhi* yang resisten terhadap kloramfenikol.

Pengembangan dari hasil penelitian ini dapat dilakukan pada plasmid *Salmonella typhi* isolat Indonesia yang resisten kloramfenikol yang dikode oleh enzim CAT khususnya dilakukan pada karakterisasi plasmid yang rekombinan.

SUMMARY

Molecular Biology Studies on the Resistancy of *Salmonella typhi* to Chloramphenicol

Salmonella typhi as the cause agent of typhoid fever caused death of people more than 600.000 yearly. The datas showed typhoid fever is an epidemic disease spread widely in tropical and subtropical areas (Mirza *et al.*, 2000, Thong *et al.*, 2002, Wain *et al.*, 2003, Mandal *et al.*, 2004). In Indonesia chloramphenicol has been used to treat typhoid fever was used more than fifty years.. The resistency of the antibiotics has become a serious problem in handling infectious diseases. The resistency of *Salmonella typhi* to chloramphenicol happened since 1972 that was carried by incompatible plasmid called IncH groups (Cooke and Wain, 2004). In 1990 many *Salmonella typhi* that are resistant to some oral medicines were found, for instance to chloramphenicol, ampicilin and contrimoxazol (Ivanoff, 2002).

The objective of the study is to find the influence of CAT enzyme and anti CAT to the sensitivity in *Salmonella typhi*, transformation plasmid DNA into *Salmonella typhi* culture, plasmid DNA which code the CAT enzyme, nucleotide sequences of CAT plasmid resistance of *Salmonella typhi* and differences of whole protein profile between *Salmonella typhi* sensitive and resistance chloramphenicol.

By *post test only design* experimental method, *Salmonella typhi* isolates from Dr. Soetomo Hospital, Surabaya KESDA Laboratory, and Microbiology Laboratory of Airlangga University consists of three resistance and three sensitive *Salmonella typhi* were observed.

The results showed that 66.6% of resistant *Salmonella typhi* added with anti CAT and chloramphenicol still resistant. F test for the ELISA CAT test showed significant different of the production of CAT enzyme and the sensitifity of *Salmonella typhi* ($P < 0.01$). F test of ELISA CAT test resulted that CAT enzim which is produced from sensitive and resistance plasmid of *Salmonella typhi* is not significantly different ($P > 0.05$).

The sensitive plasmid DNA can be transformed into the competent *Salmonella typhi* cell. The PCR and sequencing showed that resistant chloramphenicol *Salmonella typhi* Surabaya isolate, have plasmid DNA fragment of 293 bp and 100% homology with plasmid DNA of Acc.No. J01841.

There are differences of whole protein profile between sensitive and resistant to chloramphenicol of *Salmonella typhi* Surabaya isolate, which showed mass molecule of CAT enzyme protein of 76 KDa.

The influence of CAT enzyme and anti CAT to *Salmonella typhi* resistant to chloramphenicol is an alternative way to solve the problem in sensitivity diagnostic, the competence of material gen transfer with transformation of *Salmonella typhi* can be used on biomolecular prevention in the epidemic of typhoid fever.

Detection of CAT enzyme gen code of the *Salmonella typhi* may be used to detect the chloramphenicol resistant *Salmonella typhi*.

Further research on plasmid *Salmonella typhi* Indonesia isolate with chloramphenicol resistant CAT code enzyme should be done especially on the characterization of recombinant plasmid.

ABSTRACT

Molecular Biology Studies on the Resistancy of *Salmonella typhi* to Chloramphenicol

Molecular biology research on the resistancy of *Salmonella typhi* to chloramphenicol has been done to find the influence of CAT enzyme and anti CAT on the sensitifity to chloramphenicol.

By *post test only design* experimental method, *Salmonella typhi* isolates from Dr. Soetomo Hospital, Surabaya KESDA Laboratory, and Microbiology Laboratory of Airlangga University consists of three resistance and three sensitive *Salmonella typhi* were observed.

The results showed that 66.6% of resistant *Salmonella typhi* added with anti CAT and chloramphenicol still resistant. F test for the ELISA CAT test showed significant different of the production of CAT enzyme and the sensitifity of *Salmonella typhi* ($P < 0.01$). F test of ELISA CAT test resulted that CAT enzim which is produced from sensitive and resistance transformation plasmid of *Salmonella typhi* is not significantly different ($P > 0.05$).

The sensitive plasmid DNA can be tranformed in to the competent *Salmonella typhi* cell. The PCR and sequencing showed that resistant chloramphenicol *Salmonella typhi* Surabaya isolate, have plasmid DNA fragment of 293 bp and 100% homology with plasmid DNA of Acc.No. J01841.

There are differences of whole protein profile between sensitive and resistant to chloramphenicol of *Salmonella typhi* Surabaya isolate, which showed mass molecule of CAT enzyme protein of 76 KDa.

Keywords: Molecular Biology , CAT enzyme, chloramphenicol, sensitive and resistance, resistancy mechanism .