

**HAMBATAN PERLEKATAN *Salmonella typhi* PADA ENTEROSIT TIKUS
PUTIH (WISTAR) OLEH ANTIBODI POLIKLONAL ANTI PROTEIN
HEMAGLUTININ
SUB UNIT PILLI**

**OBSTRUCTION OF SALMONELLA TYPHI ATTACHMENT ON THE
WHITE MICE ENTEROSIT (WISTAR) BY POLYCLONAL ANTIBODY OF
ANTI PROTEIN HEMAGLUTININ OF PILLI SUB UNIT**

Sri Darmawati*

ABSTRACT

Typhoid Dengue is a disease caused by Salmonella typhi bacteria, and constitutes a serious disease in Indonesia and in other developing countries. This is due to the high prevalence of the disease (0.36% - 0.81%) per annum and due to various handicaps in term of clinical description, diagnosis and cure of this disease. The prevention effort that has been taken by preventing the incidence of initial pathogenesis. Therefore, it is necessary to find out the pathogen factor which plays a role in the entry of such bacteria into intestines as the initial pathogenesis. The general objective of this research is to analyze the handicap in attaching the Salmonella typhi on the white mice enterosit (Wistar) by polyclonal antibody of anti protein hemagglutinin of sub unit pilli 36 kDa and 18.6 kDa. The specific objectives of this research are to (1) find out the attachment pattern of Salmonella typhi on the white mice enterosit (Wistar) (2) find out the capability of attachment handicap of bacteria cell on the enterosit by ployclonnal antibody of anti protein hemagglutinin.

The research was conducted in several stages, namely the attachment testing by using the Nagayama at al. method, 1995 in which the testing used enterosit from white mice (Wistar) intestinal isolation that was performed according to Weiser (1973), the testing of handicap of bacterial attachment on the enterosit by polyclonal antibody of anti protein hemagglutinin of sub unit pilli 36 kDa and 18.6 kDa.

The research showed that the polyclonal antibody of anti protein hemagglutinin of sub unit pilli 36 kDa and 18.6 kDa from Salmonella typhi can slow down the bacterial attachment on white mice enterosit (Wistar)

Key words: Salmonella typhi, Polyclonal Antibody, Hemagglutinin

* Lecturer at the Study Program of DIII Health Analyst, Faculty of Nursing and Health Science, Muhammadiyah University Semarang

<http://Jurnal.unimus.ac.id>

PENDAHULUAN

Salmonella typhi (S.typhi) adalah bakteri sebagai penyebab terjadinya demam typhoid yang masih bersifat endemis, dan merupakan penyakit serius di Indonesia serta berbagai Negara berkembang lainnya. Hal ini terjadi karena angka kejadian cukup tinggi (0,36-0,81% pertahun) disertai adanya berbagai kendala dalam hal gambaran klinis, diagnosa dan pengobatan bagi penyakit ini. Usaha pencegahan antara lain dengan mencegah terjadinya awal patogenesis. Oleh karena itu perlu dicari faktor patogen yang berperan dalam masuknya bakteri kedalam usus halus sebagai awal patogenesis.

Pilli pada *Salmonella* merupakan salah satu faktor perlekatan pada permukaan mukosa intestinal, hal ini penting dalam proses invasi bakteri menembus dinding sel epitel yang merupakan awal mekanisme patogenesis. Setelah terjadi invasi bakteri ke dalam mukosa intestinal diikuti kolonisasi. Proses masuknya beberapa Enterobakteria patogen seperti *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Salmonella* telah dibuktikan bahwa pilli merupakan faktor kolonisasi (Fujita *et.al.*, 1989; Nakasone dan Iwanaga, 1990; Stephen, 1996; Brock *et.al.*,1991).Protein hemagglutinin yang merupakan protein sub unit pilli pada *Vibrio cholerae biotype Eltor* dan *Klasik*, pada *Pasteurella multocida* serotype B:2 bertanggung jawab terhadap perlekatan bakteri pada sel epitel pada host, yang kemudian diikuti kolonisasi, dan telah dibuktikan pula bahwa protei hemagglutinin sub unit pilli mampu memacu terbentuknya antibody yang bersifat melindungi terhadap infeksi oleh bakteri yang bersangkutan (Osek *et. Al.*, 1994; Widya dan Darmawati, 2000). Demikian pula bahwa protein hemagglutinin sub unit pilli dari

Salmonella typhi yang disolasi dari Rumah Sakit dokter Kariadi Semarang mampu mengacu terbentuknya antibodi (Darmawati, 2006). Penemuan mereka memberikan indikasi bahwa protein pilli memberikan indikasi bahwa protein pilli merupakan substansi yang imonogenik dan diperlukan untuk perlekatan bakteri pada sel inang, sedangkan protein hemagglutinin sub unit pilli yang bertanggung jawab pada perlekatannya.

Hasil penelitian ini diharapkan akan merupakan sumbangan data ilmiah dalam bidang kesehatan. Manfaat jangka panjang adalah terkupasnya faktor patogen *Salmonella typhi* penyebab salmonellosis. Lebih lanjut akan bermanfaat pada pembangunan kesehatan manusia dalam menaggulangi penyakit salmonellosis. Hasil penelitian ini diharapkan dapat untuk mengembangkan vaksin terhadap bakteri *Salmonella typhi* penyebab salmonellosis serta dapat untuk mengembangkan reagen diagnostik.

Tujuan umum penelitian ini untuk menganalisis hambatan perlekatan S.typhi pada enterosit tikus putih (Wistar) oleh antiiodi poliklonal anti protein hemagglutinin sub unit pilli 36 kDa, dan 18,6 kDa. Tujuan khusus yaitu untuk : (1) mengetahui pola perlekatan dari S. Typhi pada enterosit tikus putih (Wistar), (2) mengetahui kemampuan penghambatan perlekatan sel bakteri pada enterosit oleh antibody poliklonal anti protein hemagglutinin.

METODA

1. Bahan Penelitian

1.1. Galur Bakteri dan mencit

Sebagai bahan penelitian adalah bakteri *Salmonella typhi* yang diisolasi dari pasien di Rumah Sakit Dokter Kariadi Semarang. Enterosit yang digunakan untuk uji perlekatan dan uji hambatan perlekatan bakteri oleh antibodi poliklonal anti protein hemagglutinin sub unit pilli adalah enterosit yang diisolasi dari tikus putih

(Wistar) yang berumur 2 bulan.

1.2. Media Bakterial

Untuk pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* digunakan media Brain Heart Infusion/BHI cair (OXOID) dan media Agar Base (OXOID)

1.3. Bahan Penelitian yang lain

Selain yang sudah disebutkan di mukla, bahan-bahan pendukung penelitian ini antara lain NaCl (MERCK), K₂HPO₄ (MERCK), Na₂HPO₄ dengan pH 7,3 larutan penyangga PBS pH 7,4 yang mengandung 1,5 mM EDTA dan 0,5 mM dithiotreitol.

2. Cara Kerja

2.1. Uji perlekatan bakteri pada enterosit

Uji perlekatan menggunakan metode Nagayama *at al.* 1995., Pada uji tersebut menggunakan enterosit yang diisolasi dari intestinum tikus putih (Wistar) dikerjakan menurut Weiser (1973).

1) Isolasi enterosit saluran intestinal tikus putih

Dipilih tikus putih sehat dengan berat sekitar 250 g. Tikus dibunuh dengan larutan eter. Usus halus diambil, dipotong dan dibuka. Potongan usus tersebut dicuci dengan larutan PBS pH 7,4 yang mengandung 1mM dithiotreitol pada suhu 4 derajat C sampai bersih. Jaringan usus dimasukkan kedalam cairan yang mengandung: 1,5 mM KCL; 9,6mM NaCl; 27 Na citrat; 8 mM KH₂PO₄ dan 5,6 mM Na₂HPO₄ dengan pH 7,3, campuran tersebut diinkubasi dengan goyangan pelan dalam inkubator 37derajat C selama 15 menit. Supernatan dibuang, jaringan tersebut dicuci tiga kali dengan larutan penyangga PBS dengansentrifugasi 12.000 rpm selama 5 menit. Endapan jaringan tersebut disuspensikan dengan larutan penyangga PBS yang mengandung BSA 1%. Sel dihitung dengan hemocytomer (Nebauer) dengan pewarna biru tripan sehingga konsentrasi menjadi 10 pangkat 6 / ml. Suspensi enterosit tersebut disimpan

pada 4 derajat C.

2) Kultivasi bakteri.

Kultivasi bakteri *Salmonella typhi* isolat RS. Kariadi Semarang menggunakan BHI cair. Satu koloni bakteri dari media Mac Conkey diinkulisikan ke dalam 10 ml BHI cair, kemudian diinkubasi pada suhu 37derajat C selama 5 menit pada suhu 4derajat C, kemudian palet dicuci sebanyak 2 kali. Setiap kali pencucian diresuspensikan dengan PBS pH 7,4 sebanyak 1,5 ml, selanjutnya desentrifugasi dengan PBS pH 7,4 yang mengandung 1% BSA sampai kepadatan sel bakteri 1.10pangkat8 sel/ml.

3) Uji perlekatan dengan enterosit tikus putih (Wistar).

Sebanyak 100ul suspensi bakteri dicampur dengan 100ul suspensi enterosit. Campuran tersebut diinkubasi pada *shaking water bath* dengan goyangan pelan (270 rpm/menit) selama 60 menit suhu 37derajat C. Campuran suspensi tersebut disentrifus 12.000 rpm selama 2 menit. Pelat dicuci dengan larutan PBS yang mengandung BSA 1% sebanyak 50ul dioleskan pada gelas obyak dan dicat dengan cat gram dan kemudian dilihat di bawah mikroskop pola perlekatan sel bakteri pada enterosit.

2.2. Uji Hambatan Perlekatan.

Uji hambatan perlekatan dilakukan dengan cara penyekatan bakteri *S. Typhi*, dengan antibodi anti protein hemaglutinin sub unit pilli kemudian ditambah enterosit, larutan penyangga PBS pH 7,4 yang mengandung 1% BSA. Pada suspensi tersebut ditambahkan pada masing-masing eppendorf sebanyak 100ul dioleskan pada gelas obyek dan dilakukan dengan pengecatan Gram.

Penyekatan bakteri *Salmonella typhi* dengan antibodi anti protein hemaglutinn sub sub unit pilli dan uji penghambatan perlekatan.

Seratus mikroliter suspensi bakteri *S. Typhi* dalam eppendorf ditambahkan ke dalamnya 100ul antibodi anti protein hemaglutin sub unit pilli 36

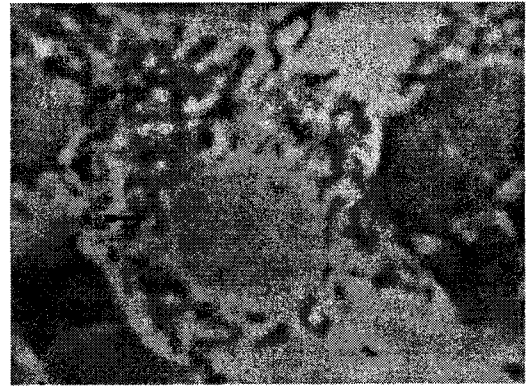
kDa dan 18,6 kDa, kemudian diinkubasi pada *shaking water bath* dengan goyangan pelan selama 60 menit. Pelet dicuci dengan larutan penyangga PBS pH 7,4 satu kali kemudian masing-masing disuspensikan dengan larutan penyangga PBS pH 7,4 yang mengandung 1% BSA. Ditambahkan ke dalam suspensi tersebut 100ul suspensi enterosit, diinkubasi lagi selama 30 menit. Selanjutnya campuran tersebut disentrifus dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit dan kemudian diambil 50 ul pelet, dioleskan pada gelas obyek yang telah dibersihkan dengan kapas alkohol, dilanjutkan pengecatan dengan metode Gram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Perlekatan Bakteri pada Enterosit Tikus Putih (Wistar)

Uji perlekatan bakteri *Salmonella typhi* pada enterosit tikus putih (Wistar) dilakukan secara *in vitro*. Sebanyak 100ul suspensi bakteri 10⁸ /ml. Dicampur dengan 100ul suspensi enterosit 10⁶ /ml. Campuran tersebut diinkubasi pada *shaking water bath* dengan goyangan pelan (270 rpm/menit) selama 60 menit suhu 37derajat C, campuran suspensi tersebut disentrifugasi 12.000 rpm selama 2 menit. Pelet dicuci dengan larutan PBS yang mengandung BSA 1% sebanyak 500ul dan kemudian disentrifugasi lagi. Cairan di atas di buang dan pelet diambil 50ul dioleskan pada gelas obyek dan dicat dengan metode Gram, kemudian dilihat dibawah mikroskop. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya kumpulan bakteri di permukaan enterosit, dapat dilihat pada gambar 5.4. Disini tampak bahwa dengan ditemukannya *Salmonella typhi* di permukaan enterosit menunjukkan adanya perlekatan bakteri pada enterosit. Hal ini sejalan dengan yang dilaporkan oleh Yamashiro dan Iwanaga (1996), bahwa pada beberapa enterobakteria patogen, seperti *Vibrio cholerae* non-01 dan non 0139 strain NAGV 14 yang

mengadakan perlekatan dan kolonisasi pada permukaan mukosa dari usus halus.



Gambar 1. Hasil uji perlekatan bakteri *Salmonella typhi* Isolat RS Kariadi Pada enterosit tikus putih (Wistar)

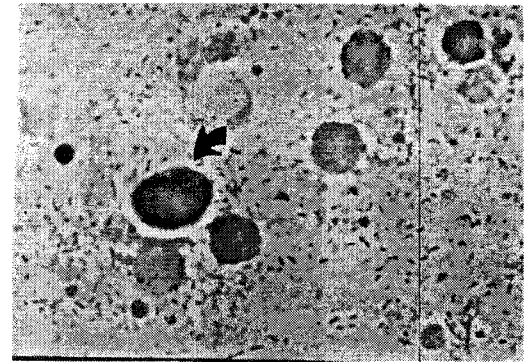
2. Hambatan Perlekatan bakteri pada Enterosit Tikus Putih (Wistar) oleh Antibodi Poliklonal anti protein Hemaglutinin Sub Unit Pili *Salmonella typhi*

Uji hambatan perlekatan bakteri oleh antibodi anti hemaglutinin 36 kDa maupun 18,6 kDa dilakukan secara *in vitro*. Seratus mikroliter suspensi bakteri *S. Typhi* dalam eppendorf ditambahkan ke dalamnya 100ul antibodi anti hemaglutinin 36 kDa dan 18,6 kDa, kemudian diinkubasi pada *shaking water bath* dengan goyangan pelan (270 rpm, menit) selama 60 menit. Pelat dicuci dengan larutan penyangga PBS pH 7,4 yang mengandung 1% BSA. Ditambahkan ke dalam suspensi tersebut 100ul suspensi enterosit, diinkubasi lagi selama 30 menit. Selanjutnya campuran tersebut disentrifus dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit dan kemudian diambil 50 ul pelet, dioleskan pada gelas obyek yang telah dibersihkan dengan kapas alkohol, dilanjutkan pengecatan dengan metode Gram, dapat dilihat pada Gambar 2.





A



B

Gambar 2. Hasil uji hambatan perlekatan bakteri *Salmonella typhi* Isolat RS. Kariadi (A) oleh antibodi anti hemaglutinin 18,6 kDa, (B) oleh antibodi anti hemaglutinin 36 kDa Pada enterosit tikus putih (Wistar)

Hasil uji hambatan perlekatan bakteri oleh antibodi anti hemaglutinin 36 kDa dan 18,6 kDa (Gambar 2) menunjukkan adanya hambatan perlekatan bakteri pada enterosit tikus putih Wistar hal ini menunjukkan pula bahwa antibodi anti protein hemaglutinin sub unit pilli tersebut ikut berperan dalam proses n sebagai awal dari proses patogenesis.

Hasil uji hambatan ini apabila dibandingkan dengan hasil uji perlekatan bakteri (Gambar 1) tampak bahwa hambatan perlekatan bakteri pada enterosit oleh antibodi anti hemaglutinin 36 kDa dan 18,6 kDa ditunjukkan dengan bertambahnya jarak antara enterosit dengan sel bakteri yang ada di sekitar enterosit tersebut baik pada hambatan oleh antibodi anti hemaglutinin 36 kDa maupun 18,6 kDa.

Dari hasil uji perlekatan dan uji hambatan perlekatan bakteri oleh antibodi anti hemaglutinin sub unit pilli tampak bahwa protein hemaglutinin sub unit pilli ikut berperan pada proses perlekatan bakteri pada sel inang. Hal yang serupa dapat dijumpai pada beberapa enterobakteria patogen seperti *Vibrio cholerae* biotipe El Tor dan klasik, bahwa proses masuknya bakteri tersebut kedalam sel inang diawali

dengan proses perlekatan yang diperantarai oleh pilli, dan protein hemaglutinin sub unit pilli merupakan faktor yang bertanggung jawab terhadap perlekatan bakteri pada sel epitel usus halus (Osek *et al.*, 1994; Yamashiro *et al.*, 1996). Pada penelitian yang dilakukan oleh Yamashiro *et al.* (1996) menyatakan bahwa protein hemaglutini sub unit pilli mampu memacu terbentuknya antibodi yang bersifat melindungi terhadap infeksi oleh bakteri yang bersangkutan. Selain itu menurut Darmawati dan Haribi (2006) antibodi tersebut juga berperan dalam menghambat terjadinya hemaglutinasi oleh protein hemaglutinin.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa antibodi poliklonal anti protein hemaglutinin sub unit pilli 36 kDa dan 18,6 kDa dari *Salmonella typhi* dapat menghambat perlekatan bakteri pada enteroikus putih (Wistar).

PUSTAKA

- Brock, T.D. Dan M.T.Madigan, 1991. *Biology of Microorganism*. Prentice Hall, America. Pp. 72-73.
- Darmawati, S. Dan Haribi, R, 2005.

- Analisis Protein-Pilli *Salmonella typhi* Isolat RS. Kariadi Semarang dengan Elektroforesis SDS-PAGE. Jurnal Litbang Universitas Muhammadiyah Semarang. Vol.2.No.3 September 2005
- Darmawati, S dan Haribi, R.2006. Analisis Molekuler Protein Hemaglutinin Sub Unit Pilli dari *Salmonella typhi* O dan *Salmonella typhi* H Penyebab Salmonellosis. Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia Cabang Surakarta
- Ehara M, M,Ishibashi, S. Watanabe, M. Iwanaga,. S. Shimotori, dan T. Naito, 1986. Fimbriae of *Vibrio cholerae* 01: observation of fimbriae on the organism adherent to the intestinal epithelium and development of new mwdium to enhance fimbriae. *Trop. Med.* 28: 21-23
- Freter, R dan G.W.Jones, 1976. Adhesive properties of *Vibrio cholerae*: nature of interaction wih intact mucosal surface. *Infection and immunity.* 14 : 246-256
- Gassmann, M., P., Thomames, T. Wesier, dan U.Hobscher, 1990. Efficient production of chicken egg yolk antibodies against a concerved Mammalian Protein. *FASEB. J.*4: 2518-2532
- Hanne, L.F. Dan R.A. Finkelstein, 1982. Characterization and distribution of hemaglutinin produced by *Vibrio cholerae*. *Infection and Immunity.* 36:209-214
- Nakasone, N. Dan M.Iwanaga, 1990. Pilli of *Vibrio parahaemolyticus*. Strain as a possible colonization factor. *Infection and Immunity.* 58:209-214
- Nagayama, K., T. Oguchi, M. Arita dan T. Honda. 1995. Purifaction and charcation of a cell - associated hemagglutinin of vibro Parahaemolyticus. *Infection and immunity.* 63 : 1987-1992
- Osek, J., G. Jonson., A.M. Svennerholm dan J. Holmgren. 1994. Role of antibodies againt biotype - specific *Vibrio cholerae* pili in protection against experimental classical and Eltor cholera. *Infection and Immunity.* 62 : 2901 -2907
- Punjabi, N.H. 2004. Demam Tifoid dan Imunisai Terhadap Penyakit ini. U.S. NAMRU-2, Jakarta. [http://www.papdi.Or.id/Imunisai/demam typhoid dan imunisasi terh.htm](http://www.papdi.Or.id/Imunisai/demam_typhoid_dan_imunisasi_terh.htm)
- Sambrook, J., E.F Fritsch, dan T. Manniatis, 1989. **Moleculer Cloning, A laboratory Manual.** Cold Spring Harbor Lab., New York
- Simanjutak, C. 1993. Demam Typoid. *Epidemiologi dan Perkembangan Penelitian.* Cermin Dunia Kedokteran. Vol. 3:52-53
- Weiser, M.M. 1973. Intestinal Epitelial Cell Surface Membran Glycoprotein Synthesis. *J. Biol. Chem.* 248: 2536-2541
- Widya A., Dan S. Darmawati, 2000. Isolasi dan Karakteristik Protein Sub Unit Pilli *Pasteurella multocida* Serotipe B:2. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis.* Fak. Peternakan UNDIP. Vol. 26 nomor 3

PEDOMAN PENULISAN

Naskah publikasi yang akan dikirimkan ke Jurnal Litbang UNIMUS dapat dalam bentuk artikel ulasan balik (review/mini review) dan artikel hasil penelitian, yang tidak dikirimkan atau belum dipublikasikan di majalah tau jurnal lain. Naskah dapat ditulis dalam bentuk Bahasa Indonesia dan Bahasa Inggris. Naskah yang ditulis dalam Bahasa Inggris harus diperiksa dan diperbaiki oleh ahli Bahasa Inggris sebelum dikirimkan ke redaksi. Artikel yang tidak sesuai dengan kaidah Bahasa Indonesia dan Bahasa Inggris akan ditolak dan redaksi tidak akan mengembalikan ke penulis.

Pengiriman naskah ke redaksi dalam bentuk naskah asli (*hard copy*) sebanyak tiga eksemplar dan satu *soft copy* dalam bentuk CD. Naskah diketik pada kertas HVS ukuran kuarto (A4) dengan program *Microsoft Word* huruf *New Times Roman font* 12 jarak 1.5 spasi. Naskah yang dikirimkan disertai dengan surat resmi dari penulis utama, nama semua anggota penulis, nama dan alamat institusi, nomer telpon dan faks, alamat e-mail dan nomer HP (bila memiliki). Redaksi tidak akan mengoreksi naskah bila tidak mengikuti ketentuan tersebut. Alamat Redaksi :

Jurnal Litbang UNIMUS
d.a. Jl. Kedung Mundu Raya no. 18
Semarang

FORMAT

Umum. Isi dari artikel hasil penelitian terdiri dari judul, pengarang, alamat, abstrak, kata kunci, pendahuluan, bahan dan metode, hasil dan pembahasan, simpulan, ucapan terima kasih dan daftar pustaka. Sedangkan artikel ulasan balik ditulis dengan format yang sama, tetapi tanpa sub-bab bahan dan metode dan hasil pembahasan. Gambar dan tabel diletakkan pada akhir

Naskah pada halaman terpisah, gambar dan tabel publikasi sebelumnya dapat disajikan bila mendapat persetujuan dari penulisnya. Semua halaman baik tulisan maupun gambar dan tabel diberi nomor halaman. Jumlah keseluruhan halaman antara 12-15 halaman (termasuk gambar dan tabel).

Judul. Pada judul dituliskan judul, nama, dan alamat institusi masing-masing penulis, dan catatan khaki yang berisikan siapa korespondensi harus ditujukan termasuk nomor telpon, faks serta alamat e-mail. Jika naskah ditulis dalam bentuk Bahasa Indonesia diikuti judul dalam Bahasa Inggris dan jika ditulis dalam Bahasa Inggris cukup dalam Bahasa Inggris saja.

Abstrak. Abstrak ditulis dalam bentuk bahasa Inggris dengan judul "Abstract". Abstract paling banyak terdiri atas 250 kata, yang berisi ringkasan pokok bahasa lengkap dari keseluruhan naskah tanpa harus memberikan keterangan terperinci dari setiap sub-bab. Kata kunci diberi judul "Key word" ditulis dalam bahasa Inggris.

Pendahuluan. Bab ini harus memberikan latar belakang yang mencukupi sehingga pembaca dapat memahami dan dapat menilai hasil yang dicapai dari penelitian yang dilaksanakan tanpa harus membaca sendiri publikasi-publikasi sebelumnya yang berhubungan dengan topik sebelumnya. Bab pendahuluan harus berisi latar belakang dan tujuan penelitian.

Bahan dan Metode. Bab ini berisi informasi teknis yang cukup sehingga orang lain dapat berhasil mengulangi penelitian dengan teknik yang sama. Bila metode sudah dikenal dan umum digunakan cukup dengan menyebutkan pustaka yang digunakan. Bila ada metode yang merupakan modifikasi atau kekhasan dari teknik alternatif maka sebutkan secara singkat teknik tersebut. Uraikan secara lengkap bila metode yang digunakan merupakan metode baru.

Hasil dan Pembahasan. Bab ini berisi hasil-hasil penelitian baik yang disajikan dalam bentuk tubuh tulisan, tabel maupun gambar. Hindari penggunaan grafik secara berlebihan bila dapat disajikan dalam bentuk tulisan secara singkat. Semua gambar dan tabel diberi nomor berurutan dan harus disitasi dalam bentuk tubuh tulisan. Hasil-hasil penelitian diinterpretasikan dan pembahasan dikaitkan dengan hasil-hasil yang pernah dilaporkan.

Simpulan. Bab ini berisi simpulan atas hasil pembahasan secara singkat, padat dan tanpa nomer urut.

Ucapan Terima Kasih. Bab ini dapat digunakan untuk menyebutkan sumberdana penelitian dan memberikan penghargaan kepada beberapa institusi atau orang yang membantu dalam pelaksanaan penelitian dan/atau penulisan laporan.

Daftar Pustaka. Daftar Pustaka ditulis memakai sistem nama dan disusun secara abjad. Beberapa contoh penulisan sumber acuan :

Jurnal:

Seminar, T.2006. Peran PKBM dalam Upaya Mobilitas Sosial Masyarakat Miskin di Kecamatan Semarang Utara. J. Penelitian Pendidikan 22: 78-96.

Buku:

Ritonga, A.1987. Statiska Terapan untuk Penelitian. Lembaga Penerbit Fakultas Ekonomi UI, Jakarta.

Bab dalam Buku:

Levi, P.E 1987. Toxuc Action. Di dalam: Hodgson, E and P.E.Levi. Modern Toxicology. New York: Elsevier. Hlm. 133-184.

Abstrak:

Rusmana, i. Dan Hadioetomo R.S. 1991. Bacillus thuringiensis Berl dari peternakan ulat sutra dan toksisitasnya. Abstrack Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia. Bogor, 2-3 Des 1991.

A- 26, hlm 26.

Prosiding:

Istiarti, T.2004. Prilaku seksual anak jalanan di Kota Semarang. Didalam: Prosiding Workshop dan Seminar Nasioanal Hasil-hasil Penelitian. Semarang, 20 April 2004. Hlm .

A.3.18.12Skripsi/Tesis/Disertasi:

Nurrahman. 1988. Pengaruh konsumsi sari jahe terhadap perlindungan limfosit dari stres oksidatif pada mahasiswa Pondok Pesantren Ulil Albaab di Bogor. (Tesis). Bogor. Institut Pertanian Bogor.

Informasi dari Internet:

Hansen, L. 1999. Non-targret effect of Bt corn pollen on the Monarch butterfly (Lepidopetra:Danaidae).<http://www.ent.iastate.edu/ensoc/ncb99/prog/abs/D81.html>.(21 Agu 1999).

