

KESAN TINDAKAN MAHANIMBINE DAN GIRINIMBINE KE ATAS
Acanthamoeba castellanii

LAI GEE KEAN

JABATAN SAINS BIOLOGI
FAKULTI SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI PUTRA MALAYSIA TERENGGANU
TERENGGANU
1999/2000

1100024419

LP 10 FST 1 2000



1100024419
Kesan tindakan Mahanimmine dan Girinimbine ke atas
Acanthamoeba castellanii / Lai Gee Kean.



1100024419

PERPUSTAKAAN KOLEJ UNIVERSITI SAINS & TEKNOLOGI MALAYSIA (KUSTEM)			
Pengarang <i>Lai Gee Kean</i>		No. Panggilan <i>LP 10 FST</i>	
Judul			
Tarikh	Waktu Pemulangan	Nombor Ahli <i>2000</i>	Tanda Tangan

*LP
10
FST
1
2000*

KESAN TINDAKAN MAHANIMBINE DAN GIRINIMBINE KE ATAS

Acanthamoeba castellanii

Oleh

LAI GEE KEAN

Laporan projek ini merupakan sebahagian daripada keperluan untuk
mendapatkan (ijazah Bachelor Sains (kepujian) Biologi)

FAKULTI SAINS DAN TEKNOLOGI
KOLEJ UNIVERSITI TERENGGANU
UNIVERSITI PUTRA MALAYSIA TERENGGANU
TERENGGANU

2000

1100024419

KESAN TINDAKAN MAHANIMNINE DAN GIRINIMBINE KE ATAS
Acanthamoeba castellanii

Oleh

LAI GEE KEAN

Laporan projek ini merupakan sebahagian daripada keperluan untuk
mendapatkan Ijazah Bachelo Sains (kepujian) Biologi

Fakulti Sains dan Teknologi

Kolej Universiti Terengganu

UNIVERSITI PUTRA MALAYSIA TERENGGANU

2000

Terengganu, 68p

PENGHARGAAN

Terlebih dahulu saya ingin mengucapkan jutaan terima kasih kepada Dr. Nakisah Mat Amin selaku penyelia projek saya. Beliau telah banyak memberi dorongan dan nasihat serta berkongsi pengalaman beliau sepanjang saya melakukan projek ini. Tanpa bimbingan beliau, nyakni saya tidak akan menghabiskan projek ini dengan sempurna.

Saya ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang iklas kepada penasihat akademik saya, Prof. Madya Dr. Awang Soh atas nasihat yang dan pertolongan yang diberi. Ucapan iklas ini juga ditujukan kepada Prof. Madya Dr. Mohd. Aspollah Hj. Sukari dan Prof. Madya Dr. Mohd. Kamel Abd. Ghani yang sudi menyumbangkan bahan-bahan kajian dalam menjayakan projek ini. Buat khas kepada Prof. Madya Dr. Faizah Shahrarum, yang sudi mengeluarkan masa pada saat-saat genting dalam membantu bersama-sama saya melaksanakan projek. Di sini, ingin saya sampaikan ucapan jutaan terima kasih.

Saya juga ingin menunjukan ucapan terima kasih kepada Puan Kartini Mohamad yang telah banyak membantu saya serta sudi berkongsi membeban kerisauan saya pada saat-saat genting. Mengambil kesempatan ini juga, saya ingin mengucap terima kasih kepada Kak Sue yang telah banyak membantu saya serta berkongsi ilmu sepanjang saya melakukan projek ini. Tidak terlupa juga kepada Kak Fatimah, Kak Tie dan juga Kak Dah yang turut telah banyak membantu saya pada saat-saat ketika saya memerlukan bantuan.

Ingin juga saya mencurahkan perasan terima kasih tak terhingga kepada ayahnda, bonda, kekanda, dan adinda yang dikasihi serta disayangi. Kesediaan kamu atas sokongan semangat moral serta kasih sayang yang diberi pada setiap saat masa telah mengukuhkan ketabahan hati saya dalam mengharungi segala percubaan serta kesulitan dan cabaran yang dihadapi sepanjang melaksanakan projek.

Akhir sekali, saya mengambil peluang ini bagi menyampaikan ucapan terima kasih kepada Kelvin, SitiRuhaya dan Nor Omaima serta seluruh rakan-rakan kursus Biologi tahun akhir sesi 2000 yang masing-masing mengambil berat tentang saya. Terutama kepada senior saya, Boon Gee yang telah banyak berkongsi ilmu serta pengalaman beliau bersama saya. Tidak terlupa juga kepada Ya Tack, Soon Lai, Ong, Chee Kuang, Guan Hong, Meng Giap serta rakan-rakan lain yang tidak dapat disebutkan nama sekali gus. Ribuan terima kasih atas bantuan dan ambil berat daripada kamu.

Abstrak

Kajian kesan tindakan ekstrak tulen tumbuhan *Murraya koenigii*, Mahanimbine dan Girinimbine ke atas aktiviti proteinases *A.castellanii* dilakukan melalui kaedah *Gelatin Sodium Dodecyl sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis buffer system* (Gelatin SDS-PAGE). Manakala kesan tindakan polimeran mikrotubul dengan menggunakan anti α -tubulin-FITC konjugat serta β -tubulin-FITC konjugat dilihat di bawah mikroskop fluoresen.

Elektroforesis gelatin-SDS-PAGE dalam kajian ini berjaya menghasilkan dua garis (band) proteinase yang mempunyai berat molekul (M_r) ~ 80 kDa dan ~ 55 kDa. Proteinase dengan berat molekul kira-kira 80kDa dapat direncat sepenuhnya oleh Mahanimbine dan Girinimbine pada kepekatan 45ppm. Ini menunjukkan ekstrak tumbuhan bertindak sebagai perencat kepada aktiviti proteinases dalam *A.castellanii*. Penggunaan perencat seperti Antipain ($50\mu\text{M}$), Leupeptin ($50\mu\text{M}$) dan PMSF ($100\mu\text{M}$) yang dapat merencat aktiviti protease ini mencadangkan ia adalah jenis protease serine. Walau bagaimanapun, protease dengan $M_r \sim 55$ kDa tidak dapat direncat oleh Mahanimbine dan juga Girinimbine serta perencat lain sepenuhnya.

Kehadiran mikrotubul mitosis dalam kebanyakan sel amoeba dalam sampel kawalan pengulturan *A.castellanii*, menunjukkan berlaku proses pembahagian mitosis dalam sel, Manakala, dalam sel-sel dari sampel rawatan Mahanimbine (45ppm) dan Girinimbine (45ppm), pengesanan mikrotubul hanya dalam sebahagian kecil daripada

populasi sel. Ini menunjukkan ekstrak tulen ini berupaya merencat pembentukan mikrotubul, dengan itu merencat pembahagian sel trofozoit *A.castellani*.

Observation on the effects of *Atherisa laevis* pure extracts, Mahanimbine and Girmimbine on proteinases activities in *A. castellanii* was done on Gelatin Sodium Dodecyl Sulfate Polycrylamide Gel Electrophoresis buffer system (Gelatin SDS-PAGE). Meanwhile, the effect of these extracts on on microtubul polymerization in *A. castellanii* was detected by anti α -tubulin-FITC conjugate and β -tubulin-FITC conjugate staining, under fluorescence microscopy.

Two bands of proteinases enzymes with approximate molecular weight (M_r) \sim 80kDa and \sim 55kDa were observed on gelatin-SDS-PAGE gels. The enzymes with the $M_r \sim$ 80kDa was observed completely inhibited by Mahanimbine and Girmimbine at the concentration of 45ppm. This proteinases activity was also inhibited by inhibitors such as Antipain (50 μ M), Leupeptin (50 μ M) and PMSF (100 μ M), suggesting that is the enzyme serine protease type. There is no inhibition however, occurred to the enzyme with $M_r \sim$ 55kDa, using the same concentration of Mahanimbine and Girmimbine, or other inhibitors used in this study.

The mitotic microtubul were detected in most cells of *A. castellanii* from control sample, indicating that division of cell was occurred in the cells. Meanwhile, microtubul were detected in few cells in cultures treated with Mahanimbine (45ppm) or Girmimbine (45ppm). This indicates that these pure extracts is able to inhibit the formation of microtubules. Thus, inhibit the cell division.

Abstract

Observation on the effects of *Murraya koenigii* pure extracts, Mahanimbine and Girinimbine on proteinases activities in *A. castellanii* was done on Gelatin Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis buffer system (Gelatin SDS-PAGE). Meanwhile, the effect of these extracts on microtubul polymerization in *A. castellanii* was detected by anti α -tubulin-FITC conjugate and β -tubulin-FITC conjugate staining, under fluorescence microscopy.

Two bands of proteinases enzymes with approximate molecular weight (M_r) ~ 80 kDa and ~ 55 kDa were observed on gelatin-SDS-PAGE gels. The enzymes with the $M_r \sim 80$ kDa was observed completely inhibited by Mahanimbine and Girinimbine at the concentration of 45ppm. This proteinases activity was also inhibited by inhibitors such as Antipain ($50\mu\text{M}$), Leupeptin ($50\mu\text{M}$) and PMSF ($100\mu\text{M}$), suggesting that is the enzyme serine protease type. There is no inhibition however, occurred to the enzyme with $M_r \sim 55$ kDa, using the same concentration of Mahanimbine and Girinimbine, or others inhibitors used in this study.

The mitotic microtubul were detected in most cells of *A. castellanii* from control sample, indicating that division of cell was occurred in the cells. Meanwhile, mitotic microtubul were detected in few cells in cultures treated with Mahanimbine (45ppm) and Girinimbine (45ppm). This indicates that these pure extracts are able to inhibit the formation of microtubules. Thus, inhibit the cell division.