

(76)

JURNAL
PENELITIAN

**MEDIKA
EKSAKTA**

Efek Isolat Aktif Antimalaria dari *Arthocarpus Champeden* Terhadap Eritosit Terinfeksi *Plasmodium Falciparum*

■ Tutik Sri Wahyuni, Aty Widyawaruyanti

Identifikasi Morfologi dan Profil Protein Tungau *Sarcoptes Scabiei* pada Kambing dan Kelinci

■ Ririen Ngesti Wahyuti, Nunuk Dyah Retno L, Endang Suprihati

Isolasi, Identifikasi dan Pemurnian Human Menopause Gonadotropin (hMG) dari Perempuan Menopause Untuk Memanipulasi Pertumbuhan Folikel dan In Vitro Maturasi pada Sapi Perah

■ Herry Agoes Hermadi, Wurlina and Mas'ud Hariadi

Peranan Ekstrak Daun Wungu (*Gnaphyllum Pictum* (L.) Griff.) Untuk Menghambat Atrofi Kelenjar Mammas Mencit Betina Ovariectomi

■ I.B. Rai Pidada, Listijani Suhargo

Pembuatan Elektroda Selektif Ion La^{3+} Tipe Kawat Terlapis dengan Ionofor Senyawa Karboksimetoksi Tertierbutil Kaliks[*n*]arena

■ Muji Harsini dan Hamami

Pembuatan Ipal Mini Untuk Limbah Domestik

■ Faidur Rochman

Faktor Risiko Penularan Malaria di Daerah Berbatasan

■ Hari Basuki Notobroto, Atik Choirul Hidajah

Kadar Logam Berat Cadmium, Protein dan Organoleptik pada Daging Bivalvia dan Perendaman Larutan Asam Cuka

■ Retno Adriyani and Trias Mahmudiono

J. Penelit. Med. Eksakta.	Vol. 8	No. 2	Hal. 89-152	Surabaya Agustus 2009	ISSN 1411-6626
------------------------------	--------	-------	-------------	--------------------------	-------------------

JURNAL PENELITIAN

**MEDIKA
EKSAKTA**

Terbit setiap 4 bulan sekali, pada bulan April, Agustus dan Desember

Jurnal Penelitian MEDIKA EKSAKTA memuat tulisan ilmiah berupa hasil penelitian dalam bidang kedokteran, kedokteran gigi, farmasi, kedokteran hewan, perikanan, kesehatan masyarakat, sains dan teknologi

Susunan Dewan Redaksi Jurnal Penelitian MEDIKA EKSAKTA, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga, Berdasarkan SK Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga Surabaya Nomor : 568/J03.2/KP/2008, tanggal 18 Juni 2008

- Pelindung : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian
Kepada Masyarakat Universitas Airlangga
- Ketua Penyunting : Dr. Mustofa Helmi Effendi, DTAPH., drh.
- Wakil Ketua Penyunting : Dr. Jenny Sunariani, MS., drg.
- Penyunting Pelaksana : Dr. Imam Susilo, dr., Sp. PA.
Dr. Bambang Sektiari L., DEA., drh.
Dr. Jusak Nugraha, dr, MS., Sp. PK(K).
Dr. A. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes.
Dr. Theresia Indah Budhy S., drg., M.Kes.
Dr. Sukardiman, MS., Apt.
Hadi Pcerwono, M Sc., Ph.D.
Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes.
Dr. Suwarno, drh., M Kes.
Dr. Alfiah Hayati, Dra., M Kes.
Dr. Alfinda Novi Kristanti
Dr. Arif Wibowo, dr., MS.
Dr. Tri Martiana, dr., MS.
- Pelaksana Tata Usaha : Sudiro | Ridwan | Ahmad Mansur
- Alamat : Jurnal Penelitian MEDIKA EKSAKTA,
Lembaga Penelitian dan Pengabdian
Kepada Masyarakat Universitas Airlangga
Kampus C Uair, Mulyorejo, Surabaya 60115
Telp: (031)5995246, 5995247, 5995248
Fax: (031) 5962066
- e-mail : medika_eksakta@yahoo.com

JURNAL PENELITIAN

MEDIKA EKSAKTA

DAFTAR ISI

Efek Isolat Aktif Antimalaria dari <i>Arthocarpus Champeden</i> Terhadap Eritosit Terinfeksi <i>Plasmodium Falciparum</i>	✓
THE EFFECT OF ANTIMALARIAL ACTIVE ISOLATE FROM ARTHOCARPUS CHAMPEDEN ON PLASMODIUM FALCIPARUM INFECTED ERYTHROCYTE Tutik Sri Wahyuni, Aty Widyawaruyanti.....	89-93
Identifikasi Morfologi dan Profil Protein Tungau <i>Sarcoptes Scabiei</i> pada Kambing dan Kelinci	
IDENTIFICATION OF MORPHOLOGY AND PROTEIN PROFILE OF SARCOPTES SCABIEI MITES ON GOAT AND RABBIT Ririen Ngesti Wahyuti, Nunuk Dyah Retno L, Endang Suprihati	94-101
Isolasi, Identifikasi dan Pemurnian <i>Human Menopause Gonadotropin (hMG)</i> dari Perempuan Menopause Untuk Memanipulasi Pertumbuhan Folikel dan <i>In Vitro</i> Maturasi pada Sapi Perah	
ISOLATION, IDENTIFICATION AND PURIFICATION OF PROTEIN human MENOPAUSE GONADOTROPIN (hMG) FROM WOMEN MENOPAUSE FOR FOLLICLE GROWTH AND IN VITRO MATURATION IN DAIRY CATTLE Herry Agoes Hermadi, Wurlina and Mas'ud Hariadi	102-110
Peranan Ekstrak Daun Wungu (<i>Graptophyllum Pictum</i> (L.) Griff.) Untuk Menghambat Atrofi Kelenjar Mammariae Mencit Betina Ovariectomi	
THE ROLE OF DAUN WUNGU ETHANOL EXTRACTS FOR MAMMARY GLAND ATROPHY INHIBITION IN OVARIECTOMIZED MICE I.B. Rai Pidada, Listijani Suhargo.....	111-115
Pembuatan Elektroda Selektif Ion La^{3+} Tipe Kawat Terlapis dengan Ionofor Senyawa Karboksimetoksi Tertierbutil Kaliks[n]arena	
MAKING THE COATED WIRE La^{3+} ION SELECTIVE ELECTRODE WITH CARBOXYMETHOXY TERTIERBUTHYL CALIX[N] ARENE COMPOUND Muji Harsini dan Hamami.....	116-124
Pembuatan Ipal Mini Untuk Limbah Deterjen Domestik	
MINI IPAL MAKING FOR DOMESTIC DETERGENT WASTEWATER Faidur Rochman.....	125-133
Faktor Risiko Penularan Malaria di Daerah Berbatasan	
RISK FACTORS OF COMMUNICATION OF MALARIA IN AREAS DIVIDED BY ADMINISTRATIVE BOUNDARIES Hari Basuki Notobroto· Atik Choirul Hidajah	134-142
Kadar Logam Berat Cadmium, Protein dan Organoleptik pada Daging <i>Bivalvia</i> dan Perendaman Larutan Asam Cuka	
CADMIUM CONCENTRATION, PROTEIN AND ORGANOLEPTIC OF BIVALVES AND VINEGAR SOAKING Retno Adriyani and Trias Mahmudiono	143-152

EFEK ISOLAT AKTIF ANTIMALARIA DARI
ARTHOCARPUS CHAMPEDEN TERHADAP ERITOSIT
TERINFEKSI PLASMODIUM FALCIPARUM

THE EFFECT OF ANTIMALARIAL ACTIVE ISOLATE FROM
ARTHOCARPUS CHAMPEDEN ON PLASMODIUM FALCIPARUM
INFECTED ERYTHROCYTE

Tutik Sri Wahyuni⁽¹⁾, Aty Widyawaruyanti⁽¹⁾

ABSTRACT

Artocarpus champeden is Indonesian plant that has been used as antimalarial drug traditionally. Isolation of dichlorometana extract of *Artocarpus champeden* stem bark was done in this research. Antimalarial activity of isolate was done by in vitro method and the isolate showed potential activity as antimalarial with IC50 0,0685 µg/mL. The effect of isolate on *Plasmodium falciparum*- Infected Erythrocyte was done by light microscope and electron microscope, scanning electron microscope. The analysis by light microscope showed that isolate inhibit parasite development, from ring stage to trophozoite stage. The scanning electron microscope (SEM) analysis showed that isolate inhibited knob formation.

Key word : *Artocarpus champeden*, antimalarial, Knobs

⁽¹⁾ Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

PENDAHULUAN

Malaria merupakan satu dari penyakit yang membutuhkan perhatian besar di dunia, yang mengancam jutaan manusia setiap tahun. Di Indonesia, menurut hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2001, terdapat 70 juta penduduk tinggal di daerah endemik malaria dan 56,3 juta penduduk diantaranya tinggal di daerah endemik malaria sedang sampai tinggi dengan 15 juta kasus malaria klinis. Pada 2003 malaria tersebar di 6.053 desa pada 226 kabupaten di 30 provinsi. Meskipun insiden malaria sejak tahun 2000 cenderung menurun, tetapi masih terjadi Kejadian Luar Biasa (KLB = outbreak) malaria pada 7 propinsi yang menyerang 35 desa dan menyebabkan kematian sebesar 211 orang penduduk (DepKes, 2004).

Komponen dari tanaman merupakan salah satu yang ditawarkan dalam upaya menemukan obat antimalaria. Suksesnya penemuan terhadap artemisinin dan quinine sebagai obat antimalaria yang poten, mendorong ditemukannya senyawa-senyawa baru dari tanaman yang potensial sebagai antimalaria. Sampai saat ini telah diketahui beberapa senyawa baru hasil isolasi tanaman obat dari golongan alkaloid, terpenoid, flavonoid dan xanthon yang memiliki aktivitas antimalaria (Saxena *et al.*, 2003).

Di Indonesia, salah satu tanaman yang digunakan secara tradisional sebagai obat antimalaria adalah *Artocarpus champeden* Spreng (cempedak). Di Irian Jaya, secara empiris kulit batang tanaman ini telah digunakan untuk mengobati penyakit malaria disamping untuk obat disentri dan penyakit kulit (Hakim *et al.*, 1998).

Isolasi terhadap ekstrak diklorometana didapatkan isolat yang aktif sebagai antimalaria dengan IC_{50} : $0,024 \pm 0,011 \mu\text{g/ml}$ (Nuri, 2006). Penelitian selanjutnya isolasi terhadap ekstrak diklorometan *A. champeden* didapatkan sembilan isolat. Hasil uji antimalaria *in vitro* terhadap isolat-isolat tersebut

menunjukkan bahwa delapan dari sembilan isolat ekstrak diklorometana tersebut mampu menghambat pertumbuhan *P. falciparum* dengan IC_{50} pada isolat 1:0,2800 $\mu\text{g/ml}$; isolat 2:0,0083 $\mu\text{g/ml}$; isolat 3:26,2350 $\mu\text{g/ml}$; Isolat 4:0,0156 $\mu\text{g/ml}$, Isolat 5:0,5245 $\mu\text{g/ml}$; Isolat 6:0,0006 $\mu\text{g/ml}$; Isolat 7:0,0800 $\mu\text{g/ml}$; isolat 8: 0,0066 $\mu\text{g/ml}$; Isolat 9:0,4999 $\mu\text{g/ml}$ (Zaini, 2005). Suatu obat atau bahan obat dianggap memiliki aktivitas anti-malaria jika memiliki IC_{50} kurang dari 1 μM pada uji antimalaria *in vitro* dan kurang dari 5 -25 mg/kg BB mencit pada uji *in vivo* (Fidock, 2004).

Pemberian obat antimalaria pada eritrosit yang terinfeksi parasit dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perubahan morfologi sel parasit (Philipson, 1991). Perubahan morfologi tersebut dapat dikaitkan dengan mekanisme dan target dari obat malaria dalam membunuh parasit (Fidock, 2003). Untuk mengetahui perubahan morfologi pada parasit malaria dapat digunakan mikroskop elektron. Untuk mengetahui perubahan pada permukaan sel dapat digunakan metode *Scanning Electron Microscope* (SEM) (Torii & Aikawa, 1998).

Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi ekstrak diklorometana dari *A. champeden*, selanjutnya diuji aktivitasnya sebagai antimalaria. Pengaruh isolat tersebut terhadap perkembangan parasit diamati dengan mikroskop cahaya sedangkan pengaruhnya terhadap pembentukan knob pada permukaan eritrosit terinfeksi *P. falciparum* diamati dengan *scanning electron microscope* (SEM).

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kulit batang cempedak (*A. champeden Spreng*) telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bogor, Jawa Barat.

Kulit batang cempedak yang telah diserbuk diekstraksi berturut-turut dengan n-hexana, diklorometana, dan metanol. Fraksinasi dilakukan terhadap ekstrak diklorometana

menggunakan kolom kromatografi vakum dengan fase gerak campuran kloroform-etil asetat-metanol. Kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan kolom lambat, fase gerak kloroform-etil asetat-metanol dengan berbagai perbandingan. Fraksi yang aktif dimurnikan dengan kromatografi lapis tipis preparatif menggunakan lempeng silika gel RP-18 dan fase gerak asetonitril-metanol-air. Selanjutnya isolat yang diperoleh diuji aktivitasnya secara *in vitro*. Dan pengaruh isolat terhadap perkembangan parasit diamati dengan mikroskop cahaya sedangkan morfologi eritrosit terinfeksi *Plasmodium falciparum* diamati dengan *scanning electron microscope* JOEL JSM-35. Pengamatan dengan mikroskop cahaya dilakukan pada jam ke -0, 6, 24 dan 48. Pengamatan dengan SEM dilakukan pada jam ke- 6 dan 24 setelah inkubasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi terhadap 2,5 kg serbuk kulit batang *A. champeden* didapatkan ekstrak diklorometana sebanyak 20 g. Selanjutnya dilakukan isolasi dengan kromatografi kolom dan dari fraksi aktif dimurnikan dengan preparatif kromatografi lapis tipis dan didapatkan isolat sebanyak 22 mg. Hasil uji aktivitas antimalaria secara *in vitro*, isolat menunjukkan aktif sebagai antimalaria dengan nilai IC_{50} 0,0685 μ g/ml. Pengaruh isolat terhadap perkembangan parasit menunjukkan adanya hambatan perkembangan pertumbuhan parasit. Pada jam ke-0 menunjukkan stadium cincin, jam ke -6 sudah mulai ada perkembangan menuju trofozoit, pada jam ke-24 sudah berkembang menjadi trifofozoit dan skizon, dimana tampak adanya hemozoin pada vakuola makanan, selanjutnya pada jam ke-48 parasit menunjukkan stadium cincin. Sedangkan pada isolat dan kontrol positif menunjukkan gambaran yang berbeda. Pada jam ke 0-6 kontrol

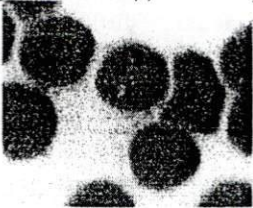
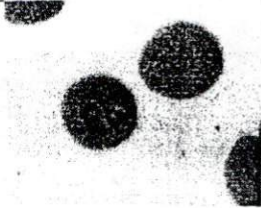
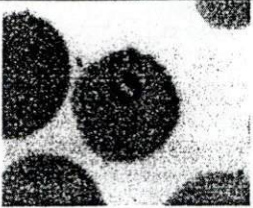

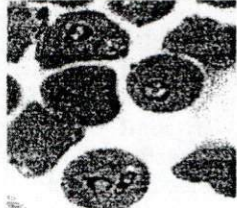







positif dan isolat berada pada stadium cincin, jam ke-24 berada pada stadium cincin dan terjadi penebalan sitoplasma tapi vakuola makanan tidak membesar, dan jam ke 48 menunjukkan stadium cincin. Berdasarkan hal tersebut menunjukkan adanya hambatan perkembangan parasit dari fase ring ke trofozoit.

Pengamatan dengan SEM menunjukkan bahwa pada jam ke-24 terhadap kultur yang diberi isolat, gambaran tonjolan pada membran luar eritrosit tidak tampak dengan jelas, demikian juga pada kontrol positif. Hal ini berbeda dengan kontrol negatif dimana tonjolan pada membran luar eritrosit terlihat jelas. Dengan adanya perbedaan kondisi pembentukkan *knob* pada permukaan eritrosit yang diberi isolat dengan kontrol negatif menunjukkan adanya pengaruh isolat terhadap pembentukkan *knob*.

Gambaran morfologi sel dapat digunakan sebagai salah satu informasi mekanisme kerja suatu senyawa aktif antimalaria terhadap *P.falciparum*. (Hoppe *et al.*, 2004).

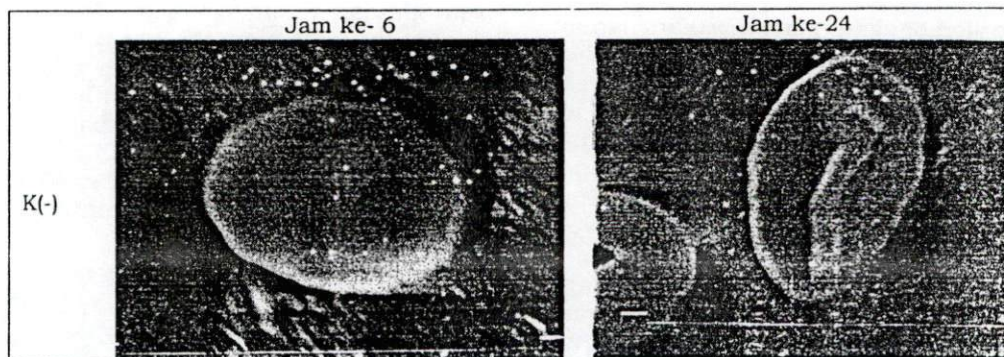
Dengan adanya perbedaan kondisi pembentukkan *knob* pada permukaan eritrosit yang diberi isolat dengan kontrol negatif menunjukkan adanya pengaruh isolat terhadap pembentukkan *knob*. Hambatan perkembangan pembentukkan trofozoit dapat menghambat lepasnya sporozoit-sporoit baru yang akan menginfeksi eritrosit baru. Trofozoit merupakan stadium dimana metabolisme dan pengambilan nutrisi oleh parasit paling tinggi. Adanya hambatan perkembangan parasit dari ring ke trofozoit dapat terjadi hambatan pengambilan nutrisi, hal ini dapat menyebabkan kematian parasit. Hambatan pembentukkan *knob* dapat mengurangi patogenitas parasit karena cytoadheren tidak terbentuk.

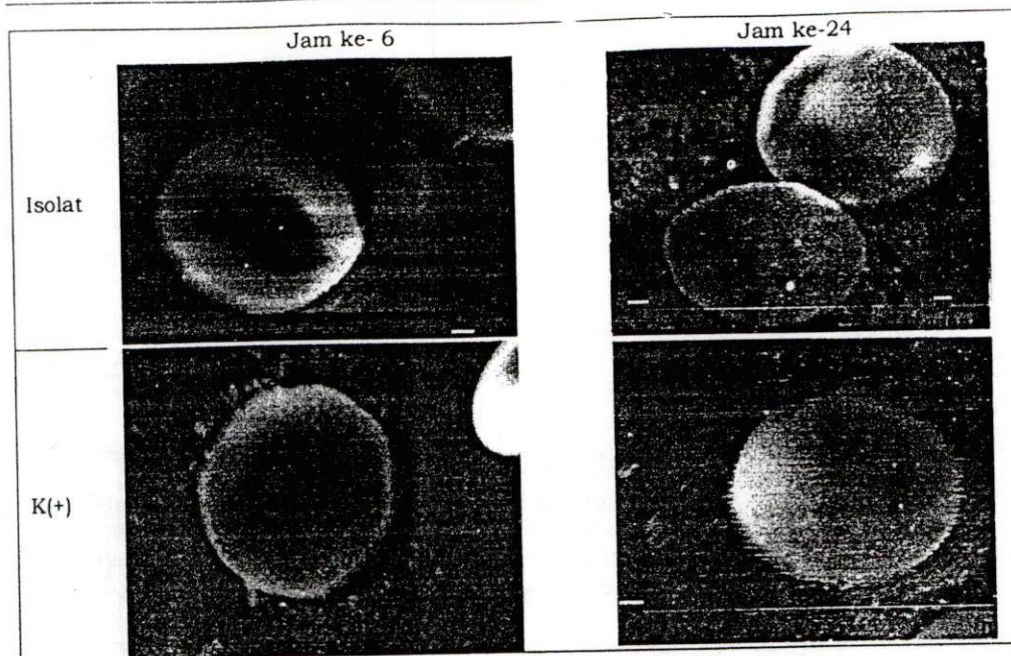
Hasil Pengamatan Perkembangan Parasit dengan Mikroskop Cahaya

Jam Ke-	Nama Sampel		
	K(-)	Isolat	K(+)
0			
6			
24			
48			

Pengamatan eritrosit terinfeksi P.falciparum dengan mikroskop cahaya

Hasil Pengamatan dengan mikroskop elektron





Gambar 2. Pengamatan eritrosit terinfeksi *P.falciparum* dengan Scanning Electrone Microscope (perbesaran 10.000 kali).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Isolasi terhadap kulit batang *A.champeden* diperoleh isolat yang aktif sebagai antimalaria terhadap *P.falciparum* yang menghambat perkembangan parasit dari fase ring ke fase trofozoit dan menghambat pembentukan knob pada permukaan eritrosit terinfeksi *P.falciparum*.

Saran

Penelitian ini hanya digunakan SEM yang memberikan gambaran pada membran sel eritrosit yang terinfeksi, untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme isolat sebagai antimalaria.

DAFTAR PUSTAKA

DepKes RI, 2004. Penggunaan Artemisin untuk Atasi Malaria di Daerah yang Resisten Klorokuin, Ministry of Health, Republic of Indonesia <http://www.depkes.go.id>, diakses tanggal 1 September 2006.

- Fidock DA, Rosenthal PJ, Cröft SL, Brun R, Nwaka S, 2004. Antimalarial Drug Discovery; Efficacy Models For Compound Screening, *Nature Reviews, Drug Discover*, Vol.3. p 509-520.
- Hakim EH, Marlina EE, Mujahidin D, Achmad SA, Ghisalberti EL, Makmur L, 1998. Artokarpin dan heteroflavanon-A, Dua Senyawa Flavonoid Bioaktif dari *Artocarpus champeden*, *Laporan Penelitian*, Lembaga Penelitian Institut Teknologi Bandung
- Nuri, 2006. Aktivitas Antimalaria Isolat Yang Berasal Dari Ekstrak Diklorometana Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng.) Secara In Vitro, *Tesis*, Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Surabaya.
- Saxena S, Pant N, Jain DC, Bhakuni RS, 2003. Antimalarial Agents from Plant Sources, Review Articles, *Current Science*, Vol. 85 No. 9, p.1314-1326
- Zaini NC, Dachlan YP, Syafruddin, 2005. Potensi dan Mekanisme Aksi Senyawa Aktif Antimalaria dari Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng.), *Laporan Penelitian Hibah Penelitian Tim Pascasarjana - HPTP*, Universitas Airlangga, Surabaya

IDENTIFIKASI MORFOLOGI DAN PROFIL PROTEIN TUNGAU
SARCOPTES SCABIEI PADA KAMBING DAN KELINCI

IDENTIFICATION OF MORPHOLOGY AND PROTEIN PROFILE OF
SARCOPTES SCABIEI MITES ON GOAT AND RABBIT

Ririen Ngesti Wahyuti⁽¹⁾, Nunuk Dyah Retno L⁽¹⁾, Endang Suprihati⁽¹⁾

ABSTRACT

The aims of this research were to identify morphology and protein profile of *Sarcoptes scabiei* adult mites which were isolated from goat and rabbit. The mites were isolated by skin scraping from goat and rabbit showed clinical signs such as scratching, itching, of the skin accompanied by an exudate which coagulates and form crusts on the surface. The mites were identified based on morphology and protein profile by SDS-PAGE electrophoresis.

The result showed that diameter of *S. scabiei* var. *caprae* adult female around 494.83 μm x 409.76 μm and diameter of adult male around 219.46 μm x 170.84 μm . The diameter of *S. scabiei* var. *cuniculi* adult female around 465.31 μm x 357.66 μm and diameter of adult male around 283.75 μm x 196.44 μm . Based on statistical analysis showed that no significantly difference ($p > 0.05$) of diameter of goat and rabbit mites.

The characterization by SDS-PAGE showed that *Sarcoptes scabiei* var. *caprae* has 12 protein bands were 205,8 kDa, 187,4 kDa, 125,9 kDa, 96,6 kDa, 78,3 kDa, 57,3 kDa, 48,9 kDa, 43,0 kDa, 40,0 kDa, 34,3 kDa, 27,6 kDa and 26,1 kDa respectively and 4 dominant bands (205,8 kDa, 57,3 kDa, 48,9 kDa and 40 kDa). *Sarcoptes scabiei* var. *cuniculi* has 9 protein bands were 75,3 kDa, 61,9 kDa, 50,9 kDa, 44 kDa, 41,5 kDa, 39,4 kDa, 37,4 kDa, 35,1 kDa and 24,9 kDa with 5 dominant bands (75,3 kDa, 61,9 kDa, 50,9 kDa, 44 kDa and 24,9 kDa).

Keyword: *S. scabiei* var. *cuniculi*, *S. scabiei* var. *caprae*, whole protein, morphology

PENDAHULUAN

Scabies atau kudis adalah penyakit kulit yang gatal dan menular pada mamalia domestik maupun mamalia liar yang disebabkan oleh ektoparasit jenis tungau (mite) *Sarcoptes scabiei*, dengan berbagai varietas seperti pada kambing *S. scabiei* var. *caprae*, pada domba *S. scabiei* var. *ovis*, pada kelinci *S. scabiei* var. *cuniculi* pada anjing *S. scabiei* var. *canis*, pada manusia *S. scabiei* var. *hominis* dan pada babi *S. scabiei* var. *suis*. Meskipun antara

mamalia satu dengan lainnya berbeda varietas namun dimungkinkan terjadi penularan pada induk semang lainnya.

Prevalensi scabies pada populasi kambing lebih fluktuatif, mulai kurang dari 5% sampai mendekati 100% dan mortalitas cukup tinggi antara 67 - 100% pada kambing berumur muda dan sekitar 11% untuk kambing dewasa (Brotowijoyo, 1987; Manurung et al., 1987 yang dikutip oleh Tarigan, 2002). Prevalensi kudis scabies yang cukup tinggi juga

⁽¹⁾ Departemen Pasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

di laporkan di Malaysia (Domy *et al.*, 1994) dan di Libya (Gabaj *et al.*, 1992). Kejadian *scabies* pada babi tampaknya juga cukup tinggi sebesar 33,7% (Gutierrez *et al.*, 1996) dan di Tanzania sebesar 88% (Kambarage *et al.*, 1990).

Secara morfologi *Sarcoptes scabiei* pada kambing dan kelinci tidak ada perbedaan, yaitu ektoparasit yang berukuran kecil, bentuk bulat dengan garis luar kasar. Tungau betina berukuran 330-600 µm x 250-400 µm dan jantan berukuran 200-240 µm x 150-200 µm, mempunyai kaki pendek dan sepasang kaki ketiga dan keempat tidak tampak dari dorsal tubuhnya. *Sarcoptes* dibedakan dengan genus lain berdasar adanya *leg sucker (pulvillus)*, dimana pada *Sarcoptes* jantan dapat dijumpai adanya *leg sucker* pada kaki ke-1, 2 dan 4, sedang pada yang betina dapat dijumpai pada kaki ke-1 dan 2. Beberapa peneliti menyatakan bahwa *Sarcoptes* mempunyai spesies atau varian yang berbeda dan para ahli biologi dan fisiologi menyatakan bahwa spesiesnya adalah *Si scabiei* yang mana spesifik terhadap induk semangnya.

Bagaimanapun dimungkinkan penularan *mites* dari bermacam-macam spesies induk semang ke yang lain, demikian pula dimungkinkan berkaitan dengan proses evolusi dari induk semang, namun masih dapat menularkan dari spesies satu ke yang lain (Soulsby, 1986).

Walaupun penyakit ini telah diketahui sudah seribu tahun yang lalu dan bersifat persisten terhadap kesehatan masyarakat dan beban ekonomi, namun belum ada alat diagnostik yang praktis dan kontrol pencegahan yang tersedia. Studi tentang biologi molekuler untuk *scabies* masih terbatas mengingat kesulitan dalam mengisolasi parasit. Beberapa penelitian yang telah dilakukan antara lain penelitian

terhadap karakterisasi tungau *scabies* penyebab alergi pada manusia yang menggunakan reaksi silang dengan serum antibodi *var. canis* menunjukkan bahwa allergen terbesar adalah protein dengan berat molekul lebih dari 90 kDa (Schumann, *et al.*, 2001). Penelitian lain tentang karakterisasi protein *S.scabiei* stadium dewasa menunjukkan bahwa hasil SDS-PAGE terlihat dari 33 pita (*band*) yang berkisar 15-225 kDa, tetapi hanya ada 18 pita (*band*) yang potensial (Arlan, *et al.*, 1994).

Diagnosis *scabies* yang berlaku selama ini masih didasarkan pada gejala klinis dan pemeriksaan mikroskopis dari *scraping* kulit yang menunjukkan gejala krusta, hal tersebut menjadi kesulitan pada saat menangani ternak dan menyalahi secara etik (*ethical clearance*) karena untuk pemeriksaan adanya tungau diperlukan *scraping* kulit sampai timbul bintik-bintik darah. Tungau tidak selalu mudah ditemukan dan umumnya dengan *scraping* ditemukan positif sekitar 30-50%. Demikian pula jika terjadi *scabies* pada manusia, seringkali merasa enggan kalau dilakukan *scraping* pada kulitnya.

Berdasarkan permasalahan tersebut di atas, bahwa hasil karakterisasi protein *sarcoptes* pada masing-masing spesies induk semang menunjukkan perbedaan berat molekul protein yang spesifik, maka dalam penelitian ini bertujuan ingin mengetahui apakah ada perbedaan morfologi berdasarkan ukuran tungau jantan dan betina serta ingin mengetahui bagaimana profil protein *sarcoptes* pada kambing dan kelinci. Hasil penelitian tersebut dapat digunakan sebagai dasar penelitian karakterisasi protein spesifik dalam pengembangan diagnosis molekuler *scabies*.

Berdasarkan permasalahan tersebut di atas maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

Bagaimana morfologi dan profil protein *S.scabiei* yang diisolasi dari kambing dan kelinci yang terinfeksi *scabies*?

METODE PENELITIAN

Isolasi S.scabiei dari kambing dan kelinci penderita *scabies*

Kambing dan kelinci yang menunjukkan gejala *scabies* seperti timbulnya krusta dan penebalan kulit pada daerah telinga, moncong, sekitar mata atau leher dan punggung, dilakukan sebagai berikut:

Kulit yang mengalami krusta dilakukan *scraping* sampai timbul bintik-bintik darah, kemudian diletakkan di dalam gelas petrich. Hasil *scraping* dimasukkan dalam tabung konikal berukuran 10 ml dan dilarutkan dalam larutan *Phosphat Buffer Saline* (PBS) kemudian disentrifus dengan kecepatan lebih kurang 2000 rpm selama 10 menit (agar kerak dan lemak mengendap). Selanjutnya supernata yang diperoleh dikumpulkan, sedangkan endapan yang berisi kerak dilarutkan kembali dengan PBS dan disentrifus untuk mendapatkan supernata yang banyak mengandung *sarcoptes*. Supernata diperiksa di bawah *disecting* mikroskop dengan pembesaran 40 kali dan *sarcoptes* yang terlihat diambil satu persatu dengan pipet kemudian dimasukkan dalam tabung berisi PBS.

Hasil isolasi *sarcoptes* diidentifikasi berdasarkan kunci identifikasi Soulsby (1986), dengan melakukan pengukuran (diameter) *sarcoptes* jantan dan betina baik pada kelinci maupun kambing. Sebagian isolat dicuci dengan PBS dan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk membersihkan kotoran serta darah yang terbawa waktu *scraping*, pencucian tersebut dilakukan sampai tiga kali. Endapan yang terbentuk berupa pellet, kemudian disimpan

dalam freezer - 70° C, yang siap digunakan untuk elektroforesis protein *sarcoptes*.

Karakterisasi Protein dengan Elektroforesis protein SDS-PAGE

Prinsip dari metode ini adalah protein dielektroforesis dalam detergen ionik yaitu *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS). Deterjen ini akan mengikat residu hidrophobik dari bagian peptida, salah satu dari setiap asam amino sehingga dapat membuka rantai peptida secara komplit, sehingga protein SDS-komplek akan migrasi melalui poliacrilamid dan tergantung dari berat molekulnya. Prosedur SDS-PAGE sebagai berikut:

Pertama kali dipersiapkan bahan untuk running gel (12%) yang terdiri dari : Acrilamide 2,5 ml, Tris HCl (pH 8,8) 1,2 ml, SDS 10% 1,2 ml, Aquades 1,1ml, Temed 5 dan APS 30 µl kemudian larutan tersebut dimasukkan lewat dinding sampai lebih kurang satu cm dari atas, kemudian ditambahkan butanol satu ml, dibiarkan membeku lebih kurang 25 menit.

Selanjutnya dibuat *stacking gel* 5% yang terdiri dari :acrilamide 0,66 ml, Tris HCl (pH 6,8) 0,8 ml, SDS 10% 0,8 ml, aquades 0,8 ml, Temed 4 µl dan APS 20 µl dan disiapkan sampel yang sudah dicampur dengan laemly buffer dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit. Jika gel sudah membeku, butanol dibuang dan dibersihkan dengan kertas saring, selanjutnya *stacking gel* dituangkan kemudian dimasukkan comb dan dibiarkan membeku. Kemudian comb diambil dan dibersihkan dari sisa gel pada cetakan dengan *E.buffer*, selanjutnya cetakan gel diambil dan dimasukkan dalam alat *bioed* (*elektrophoresis*), kemudian dijalankan dengan 125 volt dan 40 mA dan dibiarkan sampai turun semua, setelah warna biru (laemly turun), alat dimatikan dan gel diambil dari cetakan.

Kemudian gel dimasukkan dalam cawan petri dan dilakukan pencucian: a) pencucian I: Methanol 25 ml, Acetic Acid 3,75 ml, Aquades add 100 ml. b) pencucian II: Methanol 2,5 ml, Acetic Acid 3,75 ml dan aquades add 100 ml. c) pencucian III: Glutaral dehid 10%. d) pencucian IV dengan aquades 100 ml 3 kali (30 menit), masing-masing pencucian selama 30 menit.

Pengecatan Silver menggunakan $AgNO_3$ 0,8 gram ditambah 4 ml aquades dicampurkan ke dalam larutan NaOH 0,36% 21 ml, NH_3 1,4 ml dan aquadest 73,5 ml, larutan tersebut digoyang selama 15 menit. Selanjutnya dicuci dengan aquades 3 kali (2 menit), kemudian diberi pengembang warna dengan larutan formal dehide 50 μ l, aquadest 100 ml dan *Zitronensaure* 100 μ l digoyang sampai warna keluar, kemudian reaksi dihentikan dengan 1 ml *Acetic Acid* yang dilarutkan dalam 9 ml aquadest (10%). Penentuan Berat Molekul Antigen.

Penentuan berat molekul antigen dilakukan dengan menghitung nilai *Rf* (*Retardation factor*) dari pita (*band*) yang tampak setelah SDS-PAGE dengan rumus:

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan wama dari tempat awal}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

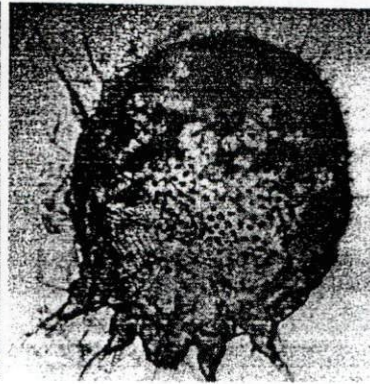
Isolasi tungau *S.scabiei var. caprae* diperoleh dari kambing yang menderita *scabies* parch yang diperoleh dari Kabupaten Lamongan, Desa Mantup, demikian pula *varietas cuniculi* diisolasi dari kelinci yang berasal dari Kota Batu- Malang dengan menunjukkan gejala klinis tampak kulit tebal dan berlipat serta tertutup krusta pada daerah moncong, sekitar mata, telinga luar, leher serta punggung disertai eksudat terutama daerah telinga. Hal tersebut

karena iritasi akibat tungau yang aktif membentuk terowongan sehingga temak lebih cenderung menggaruk dan menggigit karena gatal yang hebat sehingga mengakibatkan pembengkakan disertai eksudat membeku dan membentuk krusta pada permukaan kulit. Selanjutnya terjadi keratinisasi dan proliferasi jaringan ikat yang berakibat kulit menjadi tebal dan berlipat serta kehilangan bulu sehingga memperluas terjadinya infeksi.

Hasil identifikasi menunjukkan morfologi *S.scabiei var. caprae* berbentuk bulat, bagian ventral datar dan bagian dorsal konvex seperti tubuh kura (Gambar 1 dan 2), mempunyai ukuran rata-rata 494, 83 μ m x 409,76 μ m pada tungau betina dan tungau jantan berukuran 219,46 μ m x 170,84 μ m, sedangkan ukuran *sarcoptes* pada kelinci (*S.scabiei var. cuniculi*) pada yang betina 465,31 μ m x 357,66 μ m dan tungau jantan berukuran 283,75 μ m x 196,44 μ m. Berdasarkan analisis statistik dengan uji T berpasangan menunjukkan ukuran *sarcoptes* antara kelinci dan kambing baik jantan maupun betina tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$). menurut Soulsby (1986) bahwa *Sarcoptes scabiei* adalah parasit yang kecil, bentuk bulat dengan duri-duri luar kasar dan berukuran 330-600 μ m x 250-400 μ m pada yang betina dan berukuran 200-240 μ m x 150-200 μ m pada tungau jantan. Selain itu dilengkapi dengan kaki pendek dan sepasang kaki ketiga dan ke empat tidak keluar dari tepi tubuhnya. Bagian permukaan dorsal ditutup oleh *fine fold* dan sejumlah *scale triangular* kecil. Bagian dorsal betina sebelah pertengahan anterior terdapat tiga spina pendek, enam spina panjang pada bagian posterior terdapat bifid tips dan adanya rambut.



Gambar 1. *S. scabiei* var. *caprae* ventral

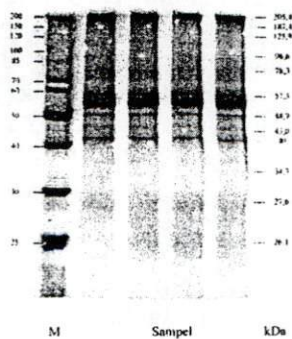


Gambar 2. *S. scabiei* var. *cuniculi* dorsal

Sampel yang dikarakterisasi sebagai protein spesifik adalah *S. scabiei* dari kambing dan kelinci betina maupun jantan stadium dewasa sejumlah masing-masing lebih kurang 1000 -1200 tungau.

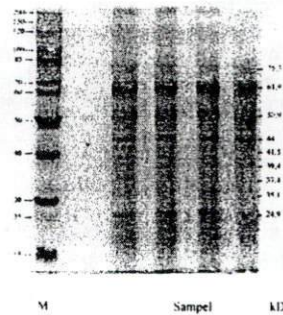
Hasil elektroforesis protein *sarcoptes* kambing dengan SDS-PAGE 12 menunjukkan 12 pita (*band*) protein yaitu 205,8 kDa, 187,4 kDa, 125,9 kDa, 96,6 kDa, 78,3 kDa, 57,3 kDa, 48,9 kDa, 43,0 kDa, 40,0 kDa, 34,3 kDa, 27,6 kDa dan 26,1 kDa.

Beberapa pita protein tampak tercatat tebal yaitu 205,8 kDa dan 57,3 kDa, 48,9 kDa dan 40 kDa. Hasil selengkapnya disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil karakterisasi protein *S. scabiei* var. *caprae* dengan SDS-PAGE 12% dengan pewarnaan silver (Ag'03)

Hasil elektroforesis protein *sarcoptes* dari kelinci dengan SDS-PAGE 12 terlihat berat molekul protein agak berbeda dengan kambing, seperti tampak pada gambar 4 , pada kelinci menunjukkan 9 (sembilan) pita protein dengan berat molekul berturut-turut sebagai berikut: 75,3 kDa, 61,9 kDa, 50,9 kDa, 44 kDa, 41,5 kDa, 39,4 kDa, 37A kDa, 35,1 kDa dan 24,9 kDa dengan 5 pita tercatat tebal yaitu 75,3 kDa, 61,9 kDa, 50,9 kDa, 44 kDa dan 24,9 kDa.



Gambar 4. Hasil karakterisasi protein *S. scabiei* var. *cuniculi* dengan SDS-PAGE 12% dengan pewarnaan silver (AgN03).

Ditinjau dari ukuran *sarcoptes* kambing dan kelinci baik tungau jantan maupun betina secara statistik menunjukkan tidak ada perbedaan ($p > 0,05$). Berdasarkan karakterisasi dengan SDS-PAGE menunjukkan

perbedaan pita protein diantara kambing dan kelinci, hal tersebut kemungkinan juga berbeda di dalam virulensinya antar spesies induk semang (host spesifik) meskipun dengan spesies *sarcoptes* yang sama. Beberapa peneliti menyatakan bahwa *sarcoptes* mempunyai varietas yang berbeda dan para ahli biologi dan fisiologi, menyatakan bahwa spesiesnya adalah *S.scabiei* yang mana spesifik terhadap induk semangnya, dan berdasarkan analisis molekuler menunjukkan bahwa ITS 2 dari gene rRNA bahwa genus *sarcoptes* adalah monospesifik (OIE, 2004; Soulsby, 1986).

Karakterisasi dengan SDS-PAGE belum menunjukkan antigen yang spesifik, prinsip dari metode SDS-PAGE adalah denaturasi protein oleh *sodium dodecyl sulphate* dilanjutkan dengan separasi molekul berdasarkan berat molekulnya dengan metode elektroforesis yang menggunakan gel dalam hal ini yang digunakan adalah polyacrilamide. Metode tersebut dapat mendeteksi protein berdasarkan berat molekulnya tetapi tidak spesifik terhadap jenis protein tertentu. Berdasarkan hasil karakterisasi *sarcoptes* pada kambing maupun pada kelinci menunjukkan pita protein yang teridentifikasi beberapa diantaranya memang protein *S.scabiei var.caprae* atau varietas *cuniculi* yang berasal dari beberapa organ *sarcoptes* seperti kutikula atau organ interna dari tungau dewasa. Hal tersebut sesuai dengan hasil pemeriksaan *S.scabiei* secara imunohistokimia menunjukkan bahwa alergen M-177 adalah apolipoprotein yang terlokalisir disekitar organ intema dan kutikula serta telur dari mite pada varietas *hominis* (Harumal *et al.*, 2003) dan protein lainnya bisa berasal dari protein kerak kulit host hasil *scraping*.

Hasil tersebut tidak berbeda jauh dengan penelitian Tarigan (2004)

menunjukkan hasil karakterisasi respon antibodi Ig G pada kambing dengan analisis imunoblot teridentifikasi paling sedikit lima antigen yaitu 220, 135, 116, 43 dan 38 kDa, antigen tersebut dikenali oleh serum pada 10 hari setelah infestasi, terutama protein dengan berat molekul 220 kDa, kemudian serum tidak mengenalnya pada stadium akhir infestasi (50 hari setelah infestasi), namun antigen yang lain seperti 180, 135, 43 dan 38 kDa telah dikenali Ig G secara terus menerus sepanjang perjalanan infestasi, karena dikenali secara konsisten oleh serum maka apabila antigen tersebut dipurifikasi diperkirakan dapat dipakai untuk mengembangkan uji diagnostik imunologis untuk *scabies*. Demikian pula ada 11 antigen yang dikenali oleh Ig E serum adalah 130, 72, 64, 58, 44, 41, 39, 27 dan 25 kDa pada kambing yang diinfestasi dengan *Sarcoptes scabiei* Ig E diduga memainkan peranan utama dalam proteksi, antigen tersebut kemungkinan dapat dipakai sebagai komponen utama vaksin anti *scabies*.

Penelitian molekuler yang sama menunjukkan bahwa tungau penyebab alergi terkuat pada anjing adalah antigen yang mempunyai berat molekul lebih dari 90 kDa (Willadsen, 2001).

Hasil penelitian dengan SDS-PAGE tersebut harus dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengkarakterisasi protein yang antigenik maupun yang imunogenik dengan Western Blotting untuk pengembangan metode diagnostic yang akurat.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Simpulan, (1) Berdasarkan analisis statistik dengan uji T berpasangan menunjukkan ukuran *sarcoptes* antara kelinci dan kambing baik jantan maupun betina tidak

menunjukkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$), (2) Hasil karakterisasi profil protein *Sarcoptes scabiei* var. *caprae* pada kambing dengan SDS-PAGE 12% didapatkan 12 pita protein yaitu 205,8 kDa, 187,4 kDa, 125,9 kDa, 96,6 kDa, 78,3 kDa, 57,3 kDa, 48,9 kDa, 43,0 kDa, 40,0 kDa, 34,3 kDa, 27,6 kDa dan 26,1 kDa dengan 4 pita tercat tebal yaitu 205,8 kDa dan 57,3 kDa, 48,9 kDa dan 40 kDa, dan (3) Hasil karakterisasi protein *Sarcoptes scabiei* var. *cuniculi* pada kelinci dengan SDS-PAGE 12 % didapatkan 9 pita protein yaitu 75,3 kDa, 61,9 kDa, 50,9 kDa, 44 kDa, 41,5 kDa, 39,4 kDa, 37,4 kDa, 35,1 kDa dan 24,9 kDa dengan 5 pita tercat tebal yaitu 75,3 kDa, 61,9 kDa, 50,9 kDa, 44 kDa dan 24,9 kDa.

Saran

Saran (1) Penelitian lebih lanjut untuk karakterisasi protein yang antigenik dan imunogenik dengan Western Blotting agar lebih diketahui protein yang spesifik berperan dalam proses imunologi, dan (2) Penelitian lanjut analisis molekuler dengan PCR dan sequencing DNA terhadap protein yang bersifat antigenik untuk mengkarakterisasi susunan asam amino penentu virulensi dari *sarcoptes*.

Rekomendasi tindak lanjut, penelitian lebih lanjut untuk mengkarakterisasi protein spesifik (antigenik dan imunogenik) dari hasil SDS-PAGE.

DAFTAR PUSTAKA

- Arlan, L.G., M.S. Morgan, D.L. Vyszenski-Moher, and B.L. Stemmer. 1994. *Sarcoptes scabiei*: The circulating antibody response and induced immunity to Scabies. *Exp. Parasitol.* 78:37-50
- Brotowijoyo, M.D., 1987. Scabies pada hewan dan permasalahannya. *Bulletin FKH UGM* 7: 1-5
- Carletti, D.N. 2004. Canine Scabies. *Proceeding 29th World congress of the world small animal association* (<http://www.vin.com/proceedings.pl>)
- Dorny, P.T. Van Wyngaerden, J. Vercruysse, C. Symeons, and A. Jalia, A. 1994. Survey on the importance of mange in the aetiology of skin lesions in goats in Peninsular Malaysia. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 26:81-86.
- Gabay, M.M., W.N. Beesley and M.A. Awan. 1992. A survey on farm animals in Libya. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 86:537-542
- Gutierrez, J. F., J. Mendez De Vigo, J. Castella, E. Munoz and D. Ferrer. 1996. Prevalence of sarcoptic mange in fattening pigs sacrificed in a slaughterhouse of northeastern Spain. *Vet. Parasitol.* 61:145-149
- Harumal, P., M. Morgan., S.F. Walton., D.C. Holt., J. Rode., L.G. Arlian., B.J. Currie and D.J. Kemp. 2003. Identification of a homologue of a house dust mite allergen in cDNA library from *Sarcoptes scabiei* var. *hominis* and evaluation of its vaccine potential in a rabbit *S. scabiei* var. *canis model*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 68(1). 5460
- Kambarage, D.M., P Msolla and J. Falmer-Hansen, 1990. Epidemiological studies of *Sarcoptes* mange in Tanzanian pig herds. *Trop. Anim. Health* 22: 226-230
- OIE World Organization. 2004. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (http://www.oie.int/eng/normes/mm_anual/A-00130.htm).
- Schumann, R. J., M. S. Majcrie, S. Morgan. R. Gless and LG Arlian, 2001. Characterization of house dust mite and scabies mite allergen by use of canine serum antibodies. *Am Jouna of vet researc* 62 (9) 1344-1348
- Soulsby, E.J.L 1986. Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animal. 7th ed. The English and protozoa of society and Baillire, Tindall, London. 504-506
- Tarigan, S. 2002. Dermatopathology of Caprine Scabies and Protective Immunity in Sensitised Goats Against *Sarcoptes scabiei* Reinfestation. *JITV.* 7(4): 265-271
- Tarigan, S. 2003. Histopathological changes in native and sensitised goats caused by *Sarcoptes scabiei* *JITY*(8): 114-121
- Tarigan, S. 2004. Antibody responses in native and sensitised goats infested

by *Sarcoptes scabiei*. *JTIV* 9(4):258-265

Willadsen, P. 2001. The molecular revolution in the development of

vaccines against ectoparasites. *Vet. Parasitol.* 101:353-367