



**LAPORAN PENELITIAN
PROYEK DUE-LIKE BATCH III**



JUDUL PENELITIAN

**KARAKTERISASI PROTEIN ANTIGENIK *SARCOPTES SCABIEI* VAR.
CAPRAE UNTUK PENGEMBANGAN KIT DIAGNOSTIK PADA KAMBING**

OLEH:

**Kadek Rachmawati, M.Kes.,Drh
Nunuk Dyah Retno Lastuti, M.S.,Drh
Ririen Ngesti Wahyuti, M.Kes.,Drh**

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
DESEMBER 2006**

- ACARUS SCABIEI
- SCABIES IN SHEEP



**LAPORAN PENELITIAN
PROYEK DUE-LIKE BATCH III**



LP 105/07
Rac
K

JUDUL PENELITIAN

**KARAKTERISASI PROTEIN ANTIGENIK *SARCOPTES SCABIEI* VAR.
CAPRAE UNTUK PENGEMBANGAN KIT DIAGNOSTIK PADA KAMBING**

OLEH:

**Kadek Rachmawati, M.Kes.,Drh
Nunuk Dyah Retno Lastuti, M.S.,Drh
Ririen Ngesti Wahyuti, M.Kes.,Drh**

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

010 507191
**UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
DESEMBER 2006**

**MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

RINGKASAN

Karakterisasi Protein Antigenik *Sarcoptes scabiei* var. *caprae* Untuk Pengembangan Kit Diagnostik

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 berdarah. Tungau tidak selalu mudah ditemukan dan umumnya dengan *scraping* ditemukan positif sekitar 30-50%.

Tujuan penelitian ini untuk mengkarakterisasi protein dari ektoparasit *S. scabiei* var. *caprae* stadium dewasa yang bersifat antigenik guna pengembangan uji diagnostik lanjut untuk scabies pada kambing serta guna mendapatkan perangkat diagnosa parasiter yang akurat dan efisien.

Kambing yang menunjukkan gejala scabies seperti timbulnya krusta dan penebalan kulit pada daerah telinga, moncong, sekitar mata atau leher dan punggung dilakukan *scraping* sampai agak berdarah untuk mengisolasi *S. scabiei* var. *caprae*. Hasil isolasi dilakukan karakterisasi protein yang antigenik dengan tahapan sebagai berikut: pembuatan homogenat antigen dengan cara sonikasi, karakterisasi *whole* protein dengan SDS-PAGE, karakterisasi protein yang antigenik dengan metode *Western Blott* dan dilanjutkan dengan analisis *Stratifying Western Blot*

Hasil elektroforesis protein 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

tercat tebal yaitu 205,8 kDa dan 57,3 kDa, 48,9 kDa dan 40 kDa. Hasil karakterisasi dengan *Western Blotting* teridentifikasi protein yang spesifik atau antigenik dengan menggunakan antibodi dari serum kambing yang terinfeksi didapatkan lima pita protein yang bersifat antigenik yaitu 205,8 kDa, 57,3 kDa, 43,0 kDa, 40,0 kDa dan 27, 6 kDa. Hasil *straiiffing western blot* menunjukkan bahwa protein berat molekul 205,8 dan 57,3 kDa dikenal oleh semua sampel yang berasal dari antibodi berbeda, yang berarti antigen tersebut dapat digunakan untuk mendeteksi scabies pada kambing.

(Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang dibiayai oleh Proyek DUE-Like Batch III dengan Nomor Kontrak : 53/PL/DUE-Like/UA/2006)

SUMMARY

Characterization of Antigenic Proteins of *Sarcoptes scabiei* var.*caprae* to Development of Diagnostic Kitt on Goat

Kadek Rachmawati *, Nunuk Dyah Retno Lastuti**, Ririen Ngesti Wahyuti**

*Department of Basic Medical Science, Faculty of Veterinary Medicine , Airlangga University

**Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine , Airlangga University

The aims of this research were to characterized of antigenic proteins of *Sarcoptes scabiei* var.*caprae* which were isolated from goat. The mites were isolated by skin scraping from goat that showed clinical signs such as scratching, itching, inflammation of the skin accompanied by an exudate which coagulates and form crusts on the surface. The methods of research was conducted by electrophoresis of SDS-PAGE, characterization of antigenic proteins by *Western Blott* and *Straiffing Western Blott*

The result of research by SDS-PAGE electrophoresis showed that *Sarcoptes scabiei* var.*caprae* have 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 dan 26,1 kDa respectively and 4 dominan bands (205,8 kDa, 57,3 kDa, 48,9 kDa and 40 kDa) and characterization by Western Blott have been identified 5 antigenic proteins, that are 205,8 kDa, 57,3 kDa, 43,0 kDa, 40,0 kDa dan 27, 6 kDa. Analized by *Straiffing Western Blott* showed that the protein of 205,8 kDa and 57,3 kDa were recognized by all antibody sera of goats, that means the antigen could be diagnostic kitt to scabies detection on goat.

(Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga yang dibiayai oleh Proyek DUE-Like Batch III dengan Nomor Kontrak : 53/PL/DUE-Like/UA/2006)

Key word : *Sarcoptes scabiei* var.*caprae*, antigenic, protein.

PRAKATA

Patut kami panjatkan puji syukur kepada Tuhan YME bahwa penelitian yang berjudul "Karakterisasi Protein Antigenik *Sarcoptes scabiei* var.*caprae* untuk Pengembangan Kit Diagnostik pada Kambing" dapat diselesaikan sesuai dengan jadwal yang telah ditentukan.

Ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada berbagai pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini, antara lain:

1. Prof. Dr. Fasich selaku Direktur Proyek DUE-Like Batch III
2. Tjitjik Sri Tjahjandarie, PhD, selaku Direktur Eksekutif LPIU DUE-Like
3. Prof. Dr. Ismudiono, MS.,DRH, selaku Dekan FKH Unair
4. Nunuk Dyah Retno L, MS.,Drh, selaku Asdir Akademik LPIU DUE-Like
5. Retno Biyanti, MS.,Drh, selaku Koordinator DUE-Like
6. PIC Hibah Penelitian DUE-Like
7. Semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini hingga selesai

Kami menyadari bahwa laporan penelitian ini masih banyak kekurangannya, oleh karena itu kritik dan saran kami harapkan untuk kesempurnaan hasil penelitian ini. Semoga hasil penelitian ini bermanfaat dalam upaya pengendalian scabies pada kambing khususnya dalam pengembangan diagnose molekuler.

Desember, 2006

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	i
RINGKASAN	ii
SUMMARY	iv
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	5
BAB III. TINJAUAN PUSTAKA	6
BAB IV. METODE PENELITIAN	11
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	25

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Kambing penderita scabies parah	17
Gambar 2. Morphologi <i>S.scabiei</i> var. <i>caprae</i>	17
Gambar 3. Hasil elektroforesis dengan SDS-PAGE	18
Gambar 4. Hasil imunobloting dengan Western Blott	20
Gambar 5. Hasil analisis <i>Straiffing Western Blot S.scabiei</i> var. <i>caprae</i>	22

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan Berat Molekul	26
Lampiran 2. Abstrak penelitian mahasiswa	28



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Scabies atau kudis adalah penyakit kulit yang gatal dan menular pada mamalia domestik maupun mamalia liar yang disebabkan oleh ektoparasit jenis tungau (*mite*). *Host* dari tungau tersebut adalah spesifik, yang berarti mempunyai berbagai varietas sesuai dengan asal *host*nya seperti varietas *caprae* (kambing), varietas *ovis* (domba), varietas *canis* (anjing) varietas *hominis* (manusia), varietas *suis* (babi), dan pada kelinci varietas *cuniculi*. Secara morfologi antar varietas tidak ada perbedaan namun secara genetika menunjukkan ada perbedaan (Walton *et al*, 1999). Berdasarkan eksperimental tidak terjadi penularan scabies dari anjing ke tikus, marmut, babi, sapi, kucing, domba dan kambing (Arlan, 1984 yang dikutip Ljunggren, 2005), hal tersebut menunjukkan *S. scabiei* mempunyai *host* spesifik.

Prevalensi scabies pada manusia di negara yang belum berkembang sebesar 4% sampai 27% (Guldbakke, 2006), sedangkan prevalensi pada ternak cukup tinggi seperti pada babi sebesar 20% sampai 80% (Damriyasa *et al*, 2004) yang menimbulkan kerugian pada peternakan babi di Eropa dan Amerika Utara yang diperkirakan sebesar 7 euro per ekor, demikian pula yang dialami oleh negara lain seperti Belgia, Finlandia, Netherland, dan Swedia. 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, 2004). Prevalensi kudis scabies yang cukup tinggi juga dilaporkan di Malaysia (Dorny *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).

Penyakit kudis erat kaitannya dengan sanitasi lingkungan yang kualitasnya buruk, daerah yang kekurangan air serta hidup berdesakan sehingga mudah terjadi kontak langsung antara satu dengan lainnya. Prevalensi scabies pada manusia tinggi, para ahli dermatologi memperkirakan bahwa lebih dari 300 juta kasus scabies pada manusia terjadi setiap tahun di dunia, dengan kurang memperhatikan sanitasi (Arlian, 1994). Walaupun penyakit tidak selalu fatal tetapi gatal yang disebabkan tungau seringkali tidak tertahan dan sering menyebabkan infeksi sekunder yang berakibat *cellulites*, *lymphangitis* atau *acut glomerulonephritis* (Kemp *et al.*, 2002). Scabies adalah penyakit endemis yang merugikan masyarakat seperti yang terjadi pada penduduk Aborigin di Australia dimana 50% anak-anak terinfestasi oleh *S. scabiei*. Infestasi ini menurunkan kualitas hidup karena menyebabkan rasa gatal yang hebat dan sering disertai infeksi sekunder dengan bakteri *streptococcus* yang menimbulkan komplikasi serius termasuk *septicemia* dan kerusakan ginjal serta pernah dihubungkan adanya *outbreak rheumatic heart diseases* (Harumal *et al.*, 2003).

Walaupun penyakit ini 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, R.J., *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 (Learch, 2001). 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 berdarah. 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. Banyak teknologi yang dikembangkan untuk diagnosis secara serologis namun sensitifitasnya rendah. Walaupun upaya telah dilakukan untuk mengembangkan diagnosis dengan ELISA namun problem utama yang dihadapi adalah kesulitan mendapatkan mites *S.*

scabiei. Pengembangan diagnosis maupun pengembangan vaksin ke arah molekuler masih terus diteliti (Dougall *et al*, 2005., Petersson *et al* , 2005., Harumal *et al*, 2003., Tarigan, 2004).

Berdasarkan permasalahan tersebut di atas, maka perlu kajian cara pengembangan diagnosis secara molekuler scabies yang mempunyai sensitifitas dan spesifisitas tinggi sehingga hasilnya lebih akurat. Pengembangan penelitian parasitologi ke arah molekuler melalui karakterisasi protein *S. scabiei* yang bersifat antigenik bisa dipertimbangkan sebagai bahan kit diagnostik untuk pengembangan diagnosis scabies pada kambing.

1.2. Rumusan Masalah

Untuk mendapatkan bahan kit diagnostik diperlukan antigen yang spesifik yaitu bersifat antigenik yang dapat bereaksi dengan antibodi, maka perlu dilakukan penelitian karakterisasi protein spesifik melalui elektroforesis dengan SDS-PAGE dan *Western Blotting* agar bisa diidentifikasi bagaimana karakter protein *Sarcoptes scabiei* var. *caprae* yang bersifat antigenik dan dinyatakan dengan berat molekul (kDa).

BAB II

TUJUAN DAN MANFAAT

Tujuan Penelitian

Mengkarakterisasi protein dari ektoparasit *S.scabiei* var. *caprae* stadium dewasa yang bersifat antigenik guna pengembangan uji diagnostik lanjut untuk scabies pada kambing serta guna mendapatkan perangkat diagnosa parasiter yang akurat dan efisien.

Manfaat Penelitian

Hasil penelitian dapat digunakan untuk pengembangan uji diagnostik secara sensitif dan spesifik khususnya untuk ektoparasit yang disebabkan oleh *S. scabiei* var. *caprae* pada kambing.

BAB III

TINJAUAN PUSTAKA

3.1. Morphologi dan Siklus Hidup

Tungau yang termasuk genus parasit ini adalah penyebab penyakit kudis pada hewan domestik dan liar. Beberapa peneliti menyatakan bahwa *sarcoptes* mempunyai spesies yang berbeda dan para ahli biologi dan fisiologi, menyatakan bahwa spesiesnya adalah *S. 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.

Sarcoptes scabiei adalah parasit yang kecil, bentuk bulat dengan garis luar kasar. Tungau betina berukuran 330-600 μ x 250-400 μ dan jantan berukuran 200-240 μ x 150-200 μ , mempunyai kaki pendek dan sepasang kaki ke tiga dan ke empat tidak ke luar dari tepi tubuhnya. Posisi *caruncles* (*sucker*) pada jantan tampak pada kaki 1,2 dan 4, sedangkan pada yang betina pada kaki 1 dan 2. 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 posterior dengan bifid tipis dan adanya rambut (Soulsby, 1986).

Siklus hidup berbagai varietas pada hewan adalah sama. Tungau betina membuat lubang/terowongan di dalam kulit dan meletakkan telurnya sekitar 40-50 telur ke dalam terowongan. Betina bertelur sekitar 3-5 telur setiap hari dan menetas dalam 3-5 hari menjadi larva berkaki enam. Larva ke luar dari terowongan dan mengembara dalam kulit,

tetapi beberapa kembali ke terowongan asal dan secara kontinyu berkembang menjadi *nympha*. Hal tersebut makin memperbanyak kerusakan permukaan kulit, kerusakan lain pada *stratum corneum* mengalami *moulting pocket* (kerak) yang mana juga sebagai makanannya. Di sana ada dua stadium *nympha* yang mungkin tinggal di *pocket* larva atau mengembara dan membuat *pocket* baru. *Nympha* mempunyai 4 pasang kaki tetapi tidak ada genital *aperture*. Akhirnya diproduksi jantan dan betina, siklus seluruhnya mencapai 17 hari. Betina berada di *moulting pocket* sampai dibuahi oleh jantan, kemudian betina keluar dari *pocket* dan masuk kembali ke terowongan atau membuat baru dan bertelur kembali sekitar 4-5 hari, kadang-kadang betina tidak hidup lama hanya sekitar 3-4 minggu. Infeksi terjadi karena kontak dengan larva, *nympha* dan betina muda yang dibuahi. *Mites* sangat tahan terhadap kekeringan dan tidak dapat hidup lebih lama di luar *host*. Di dalam kondisi laboratorium optimal, *mites* dapat hidup sekitar 3 minggu. *S. scabiei* var. *canis* dapat hidup lebih dari 9 hari pada temperatur 15 dan 25° C dan pada kelembaban antara 25-85%. Parasit akan makan serum dan debris (reruntuhan) dari epidermis dan kadang-kadang darah (Soulsby, 1986).

Sarcoptes scabiei adalah parasit permanen, mengalami siklus yang pendek sekitar 14 hari dalam kondisi yang sesuai dan tungau akan berkembang dalam jaringan kulit, serta membentuk terowongan di bagian lapisan kulit superficial dengan bergerak 2 mm setiap hari untuk meletakkan telurnya (2 sampai 3 telur setiap hari selama 2 sampai 4 minggu). Stadium telur menetas menjadi larva dan berubah menjadi *protonymph*, *tritonymph* dan dewasa. Masa inkubasi bervariasi dan tergantung pada hewan dan jumlah parasit bisa sekitar 1-3 minggu (Soulsby, 1986).

3.2. Gejala Klinis

Parasit menembus kulit untuk menghisap *lymphe* dan juga makan sel epidermis yang muda sehingga menyebabkan iritasi dan menimbulkan gatal yang hebat disertai garukan dan 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, hal tersebut memperluas terjadinya infeksi.

Sarcoptes lebih menyukai bagian tubuh yang tidak tertutup banyak bulu seperti bagian muka dan telinga kambing, domba, kelinci, siku, moncong serta pangkal ekor dari anjing dan serigala, bagian kepala dan leher kuda, bagian *sacral* dan leher sapi dan bagian tubuh belakang babi. Ketika penyakit dimungkinkan menyebar, maka kemungkinan infestasi bisa meluas ke seluruh tubuh. Scabies jarang menyerang pada domba wool. Gejala lokal tampak kulit tebal dan berlipat serta tertutup krusta, pada lesi awal terdapat papula atau vesicula dengan eksudat, yang menimbulkan iritasi dan lebih cenderung menggaruk dan menggigit. Luka yang kecil tidak mempengaruhi kesehatan secara umum tetapi luka yang besar dapat menimbulkan kekursan dan bahkan kematian.

Mekanisme terjadinya gejala klinis belum diketahui secara jelas, hanya dijelaskan akibat iritasi dan reaksi hipersensitifitas, khususnya exo-Ag yang dikeluarkan oleh mites yaitu tipe I, III dan IV (Carlotti, D.N, 2004). Pruritus adalah gejala khas dan makin meningkat pada malam hari sesuai dengan aktivitas tungau sebagai akibat penetrasi dari tungau betina dan klasik pada laki-laki, namun belum diketahui pada anjing. Lesi primer jarang, sebagai akibat lesi sekunder karena trauma akibat garukan dan gigitan. Gejala yang tampak adalah *erythrema diffuse*, papula dan adanya kerak. Lesi

sekunder tidak spesifik seperti kulit terkelupas, kerak, dan hiperpigmentasi. Sekunder dermatosis dapat terjadi seperti *kerato-seborrhoeic*, *alopecia*, *pyotraumatic dermatitis* dan otitis eksterna, dengan diikuti infeksi sekunder bakteri folliculitis (25%) dari kasus yang terjadi

3.3. Diagnosis

Diagnosis berdasarkan gejala klinis dan *scrapping* kulit sampai lapisan kulit yang basah terkelupas, kemudian hasil *scrapping* diperiksa di bawah mikroskop untuk menemukan parasitnya, itu kemungkinan kesulitan dalam mendiagnosis secara pasti. Kesulitan diagnosis disebabkan adanya kemiripan gejala klinis penyakit kulit yang disebabkan oleh jamur maupun kutu yang menimbulkan krusta dan bulu rontok namun tidak terjadi penebalan kulit. Penyakit kudis lain disebabkan oleh *psoroptes*, *notoedres* dan *chorioptes* bisa terjadi infeksi yang bersamaan, namun bisa dibedakan morfologinya.

Penelitian molekuler untuk scabies masih terbatas karena kesulitan dalam mengisolasi tungaunya. Tungau tidak selalu mudah ditemukan dan umumnya dengan *scrapping* positif sekitar 30-50% dari kasus yang ditemukan. *Scrapping* terutama pada daerah krusta-papula. Pada manusia dapat ditemukan sekitar 12 mite. Pernah ditemukan kasus *Norwegians scabies* dengan jumlah yang tinggi pada kerak yang tebal yaitu 200/cm² pada laki-laki, 18000/g pada bayi dan 1000/cm² pada kelinci dan terutama pada gangguan immunodefisiensi (Harumal *et al*, 2003) telah mengidentifikasi *S. scabiei* var. *hominis* penyebab alergi pada manusia, secara imunohistokimia menunjukkan bahwa alergen M-177 adalah apolipoprotein yang terlokalisasi di sekitar organ interna dan kutikula serta telur dari *mite*. Penelitian yang sama menunjukkan bahwa tungau

penyebab alergi terkuat pada anjing yang mempunyai berat molekul lebih dari 90 kDa (Schumann, R.J, *et al*,2001). Penelitian molekuler scabies pada anjing, telah dilakukan karakterisasi antigen dari *S. scabiei* var. *canis* dari berat molekul 79 kDa mengandung 719 asam amino, dengan analisis sekuensing menunjukkan IgG spesifik untuk ASA 1 (*Atypical Sarcoptes Antigen 1*) yang masuk ke dinding atau lapisan kulit dari terowongan yang dibuat oleh tungau (Ljunggren, *et al*, 2005). Analisis molekuler terhadap tungau *S. scabiei* dilakukan untuk mengatasi terbatasnya studi dari scabies karena kesulitan untuk mengisolasi parasit, sehingga digunakan teknologi *DNA recombinant*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *paramyosin* berperan dalam respon imun untuk *S. scabiei*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Isolasi *S.scabiei* var. *caprae* dari kambing penderita scabies

Kambing 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 *scrapping* sampai agak berdarah, kemudian diletakkan di dalam gelas petri. Hasil *scrapping* dimasukkan dalam tabung konikel 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 supernatan yang diperoleh dikumpulkan, sedangkan endapan yang berisi kerak dilarutkan kembali dengan PBS dan disentrifus untuk mendapatkan supernatan yang banyak mengandung sarcoptes. Supernatan 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 pada kambing. Sebagian isolat dicuci dengan PBS dan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk membersihkan kotoran serta darah yang terbawa waktu *scrapping*, pencucian tersebut dilakukan sampai tiga kali. Endapan yang terbentuk berupa *pellet*, kemudian disimpan dalam freezer – 80° C, yang siap digunakan untuk elektroforesis protein sarcoptes.

Pellet yang diperoleh kemudian disonikasi pada 30 kHz diulang sebanyak 16 kali, masing-masing selama 4 menit dengan waktu istirahat 2 menit. Larutan hasil sonikasi kemudian disentrifus dengan kecepatan 16.000 rpm selama 5 menit, kemudian supernatan yang dihasilkan siap digunakan sebagai sampel protein untuk SDS-PAGE dan didialisis semalam sebelum digunakan dan konsentrasinya diukur menggunakan spektrofotometer.

4.2. Karakterisasi Protein

4.2.1 Elektroforesis protein dengan SDS-PAGE

Prinsip dari metode ini adalah protein dielektroforesis dalam deterjen ionik yaitu *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS). Deterjen ini akan mengikat residu hidrofobik dari bagian peptida, salah satu dari setiap asam amino sehingga dapat membuka rantai peptida secara komplit, sehingga protein SDS-komplek akan migrasi melalui poliakrilamid 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, Aquadest 1,1ml, Temed 5 dan APS 30 μ l 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 μ l dan APS 20 μ l 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 *bioered* (elektroforesis), 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 *petri dish* dan dilakukan pencucian sebagai berikut: 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 aquades 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 μl , aquades 100 ml dan *Zitronensaure* 100 μl digoyang sampai warna keluar, kemudian reaksi dihentikan dengan 1 ml *Acetic Acid* yang dilarutkan dalam 9 ml aquades (10%).

Penentuan Berat Molekul Antigen

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

4.2.2 Immunoblotting (Western Blotting)

Gel hasil elektroforesis protein *Sarcoptes scabiei* var.*caprae* dengan SDS-PAGE dilakukan *imunoblotting (Western blot)* menggunakan antibodi dari serum kambing terinfeksi, dengan metode sebagai berikut:

Kertas *Whatmann* dan membrane *nitrosellulose* yang akan digunakan dipotong sebesar gel kemudian direndam *transblot/transbuffer*. Kertas *Whatmann* yang sudah dibasahi dengan *transfer buffer* diletakkan pada *blotter* sebanyak 5 lapis kemudian *membrane nitrosellulose* diletakkan di atas lapisan terakhir dan dihindarkan dari adanya rongga udara. Gel hasil elektroforesis diletakkan di atas membran dan dihindarkan dari rongga udara kemudian di atas gel diletakkan kertas *Whatmann* yang sudah dbasahi *transfer buffer*.

Lapisan kertas dijepit dengan gabus dan dimasukkan *transblot* sampai penuh dan dijalankan pada 125 V dengan kuat arus 40 mA selama semalam (*over night*). Setelah selesai, *membrane nitrosellulose* diambil pelan-pelan dan dicuci dengan PBS lalu dipindahkan ke dalam cawan petri baru.

Selanjutnya membran *diblocking* dengan *creamer* 2% dalam PBS dan digoyang selama 1 jam. *Membran nitrosellulose* dicuci dengan PBS *Tween* 0,05% sebanyak 3 kali masing-masing selama 10 menit di atas *shaker*, kemudian membran *nitrosellulose* direndam dalam larutan berisi antibodi primer (1:10) dan diinkubasi pada suhu kamar selama 1 jam. Membran dicuci dengan PBS *Tween* 0,05% sebanyak 3 kali masing-masing selama 10 menit dengan *shaker*.

Selanjutnya membran *nitrocellulose* direndam dengan antibodi sekunder (*conjugate anti goat* yang berlabel *Horse Redish Peroxidase*) diencerkan 1:1000 dalam buffer, diinkubasi selama 1 jam, kemudian membran dicuci dengan PBS Tween 0,05% sebanyak 3 kali masing-masing selama 10 menit dengan *shaker*. Membran diwarnai dengan substrat DAB (*Diamino benzidine*) 10 mg dalam 20 ml PBS ditambah 100µl H₂O₂, sampai terlihat pita proteinnya. Reaksi dihentikan dengan memindahkan membran *nitrocellulose* ke dalam aquadest, kemudian membran dikeringkan pada suhu kamar dan hasilnya dianalisis.

4.2.3. Analisis protein dengan *Straiffing Western Blott*

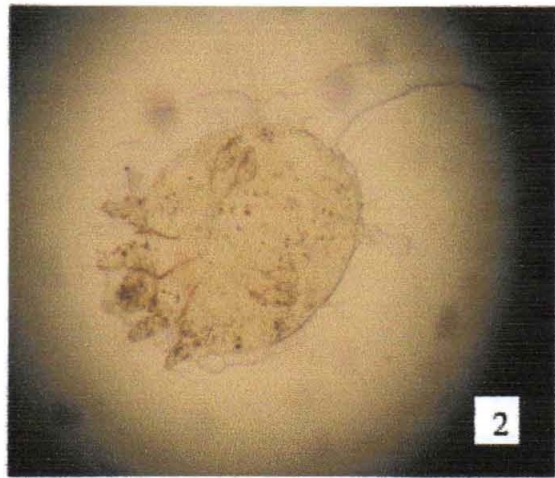
Gel hasil elektroforesis protein *Sarcoptes scabiei* var. *caprae* dengan SDS-PAGE dilakukan *straiffing western blott*, prinsipnya sama dengan *immunoblotting* namun menggunakan antibodi yang berbeda dengan antigen sama, dalam penelitian ini sampel menggunakan antibodi dari serum kambing terinfeksi (enam sampel).

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi tungau *S.scabiei* var. *caprae* diperoleh dari kambing yang menderita scabies parah (gambar 1) 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 aktif membentuk terowongan sehingga ternak 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.

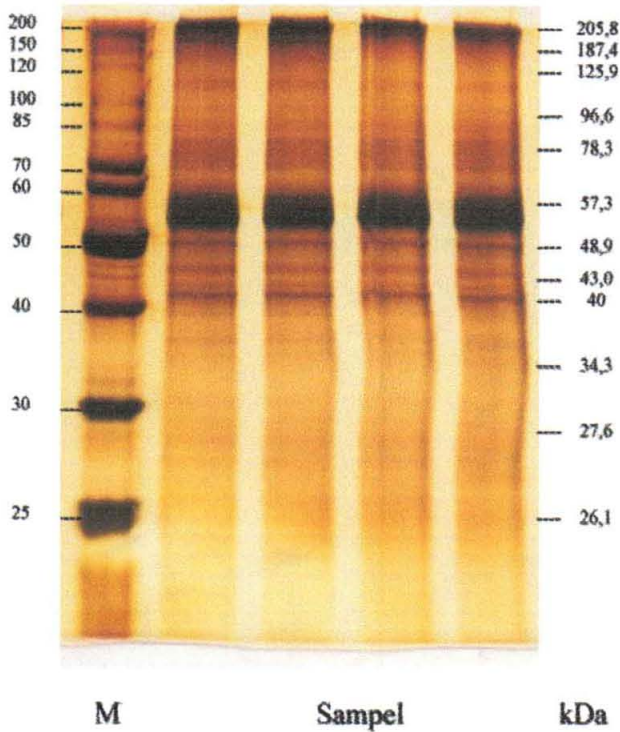
Hasil identifikasi menunjukkan morfologi *S. scabiei* var.*caprae* berbentuk oval, bagian ventral datar dan bagian dorsal konvex seperti tubuh kura, mempunyai ukuran rata-rata 494, 83 μm x 409,76 μm pada tungau betina dan tungau jantan berukuran 219,46 μm x 170,84 μm , hal tersebut sesuai dengan Soulsby (1986) bahwa *Sarcoptes scabiei* adalah parasit yang kecil, bentuk bulat dengan garis luar kasar dan berukuran 330-600 μm x 250-400 μm pada yang betina dan berukuran 200-240 μm x 150-200 μm pada tungau jantan. Selain itu dilengkapi dengan kaki pendek dan sepasang kaki ke tiga 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 2).



Gambar (1) Kambing terinfeksi scabies, (2) *S.scabiei* var.*caprae* bagian ventral betina

Sampel yang dikarakterisasi sebagai protein spesifik adalah *S. scabiei* var.*caprae* betina maupun jantan stadium dewasa sejumlah lebih kurang 1000 tungau. Berdasarkan pengukuran kadar protein terlarut dari ekstrak protein *S. scabiei* setelah disonikasi sebanyak 16 kali masing-masing selama 4 menit dengan waktu istirahat 2 menit didapatkan kadar sebesar 1,597 gram %

Hasil elektroforesis protein 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 tercat 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 (AgNO_3)

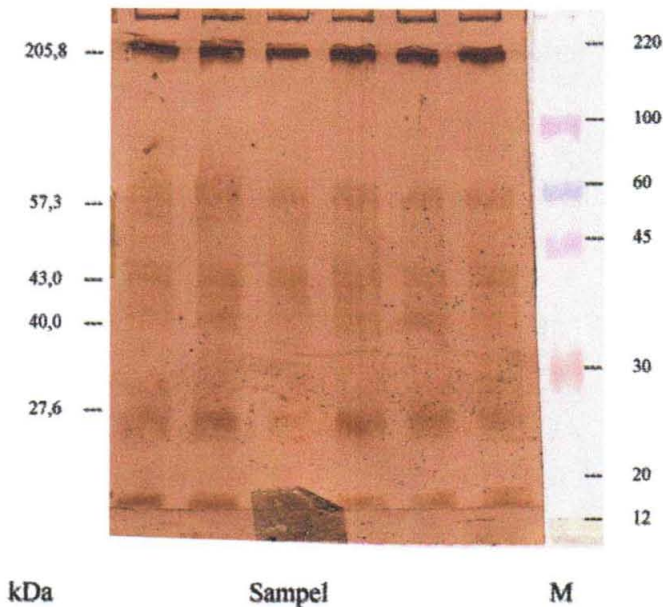
Karakterisasi dengan SDS-PAGE belum menunjukkan antigen yang spesifik, prinsip dari metode SDS-PAGE adalah denaturasi protein oleh *sodium dodecyl sulphate* dilanjutkan dengan separasi molekul berdasarkan berat molekulnya dengan metode elektroforesis yang menggunakan gel dalam hal ini yang digunakan adalah *polyacrilamide*. Metode tersebut dapat mendeteksi protein berdasarkan berat molekulnya tetapi tidak spesifik terhadap jenis protein tertentu. Berdasarkan hasil karakterisasi menunjukkan 12 pita protein, beberapa diantaranya memang protein *S. scabiei* var. *caprae* yang berasal dari beberapa organ *sarcoptes*. Hal tersebut sesuai dengan hasil pemeriksaan *S. scabiei* secara imunohistokimia menunjukkan bahwa alergen M-177 adalah apolipoprotein yang terlokalisir disekitar organ interna dan kutikula serta telur dari *mite*

pada varietas *hominis* dan protein lainnya bisa berasal dari protein kerak kulit *host* hasil *scraping*.

Gel hasil elektroforesis protein *S. scabiei* var.*caprae* dengan SDS-PAGE kemudian dilakukan *immunoblotting* dengan metode *Western blot* untuk menentukan kadar relatif dan berat molekul suatu protein dalam suatu campuran berbagai jenis protein. Metode ini menggabungkan selektifitas elektroforesis gel dengan spesifitas *immunoassay* antibodi yang sesuai, dalam hal ini menggunakan antibodi dari serum kambing yang terinfeksi. Pita protein dengan berat molekul yang berbeda yang terpisah pada gel, kemudian protein pada gel ditransfer ke membran *nitrocelulose* dengan proses kapiler (*blotting*) sehingga membran mendapatkan replika dari susunan makromolekul. Protein yang diikat pada membran dapat mempertahankan antigenisitasnya dan dengan mudah direaksikan dengan antibodi, posisi protein antigen pada membran dapat dideteksi dengan cara mereaksikan dengan antibodi spesifik berlabel enzim (dalam penelitian ini digunakan konjugat yang dilabel dengan *horse redish peroxidase*) yang menghasilkan sinyal *chemiluminesen* maka bercak *chemiluminesen* pada film yang menunjukkan posisi ikatan antigen-antibodi yang dicari merupakan ukuran berat molekul dan kadar antigen (Abbas dan Lichtman, 2003).

Hasil karakterisasi dengan *Western Blotting* teridentifikasi protein yang spesifik atau antigenik dengan menggunakan antibodi dari serum kambing yang terinfeksi didapatkan lima pita protein yang bersifat antigenik yaitu 205,8 kDa, 57,3 kDa, 43,0 kDa, 40,0 kDa dan 27, 6 kDa (hasil selengkapnya disajikan pada gambar 4), diantara lima protein yang menunjukkan *major protein* (pita protein yang tercatat tebal) adalah 205,8

kDa yang berarti mempunyai reaktivitas tinggi sehingga protein yang tercat tebal tersebut mempunyai sensitifitas yang tinggi sebagai bahan antigen diagnostik.



Gambar 4 : Hasil karakterisasi protein antigenik *S-scabiei* var. *caprae* dengan *Western Blot* pewarnaan DAB

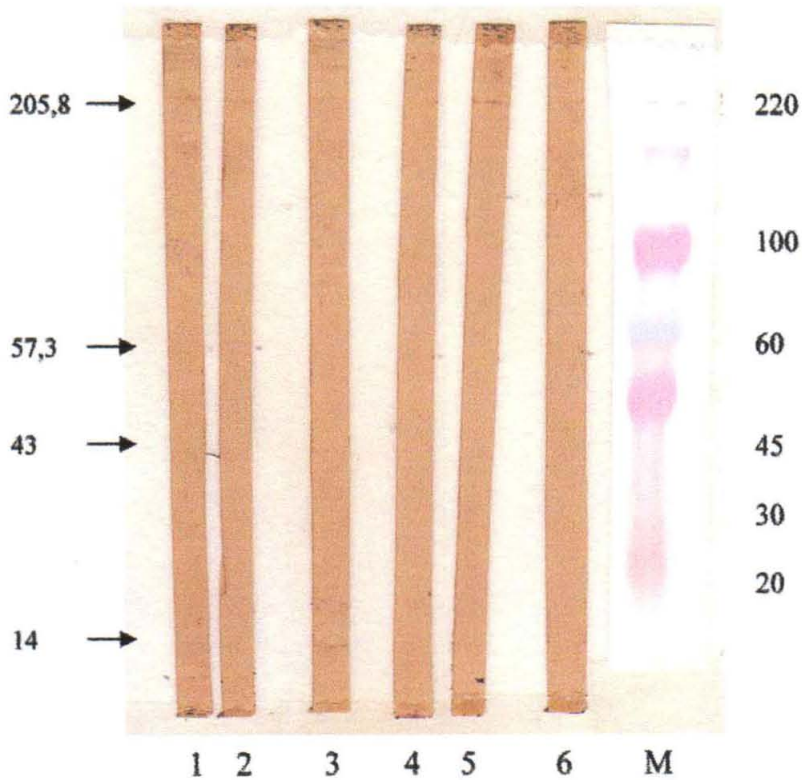
Hasil tersebut tidak berbeda jauh dengan penelitian Tarigan (2004) menunjukkan hasil karakterisasi respon antibodi Ig G dengan analisis *imunoblot* teridentifikasi paling sedikit lima antigen yaitu 220, 135, 116, 43 dan 38 kDa, antigen tersebut dikenali oleh serum pada 10 hari setelah infestasi, terutama protein dengan berat molekul 220 kDa, kemudian serum tidak mengenalinya 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 *test diagnostic* 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.

S. scabiei mempunyai *host* spesifik, hal tersebut berarti masing-masing varian *S. scabiei* mengandung antigen dengan karakteristik protein spesifik yang berperan dalam patogenesis dan immunogenitas, seperti yang ditunjukkan hasil penelitian molekuler dinyatakan bahwa tungau penyebab alergi terkuat pada anjing adalah antigen yang mempunyai berat molekul lebih dari 90 kDa (Schumann, *et al*, 2001), demikian pula beberapa penelitian yang lain seperti hasil studi karakteristik *S. scabiei* yang diisolasi dari *Red Fox* menunjukkan bahwa bagian *paramyosin* dari *S. scabiei* mempunyai berat molekul 17 kDa yang dinamakan MSA1 (*Mayor Sarcoptes Antigen 1*) yang diperkirakan mempunyai peranan dalam respon imun (Matson, 2001). Telah dilakukan rekombinan terhadap ASA1 (*Atypic Sarcoptes Antigen 1*) yang diisolasi dari anjing dengan berat molekul 79 kDa diduga bersifat antigenik (Ljrunngren, *et.al.*, 2005).

Hasil karakteristik protein dengan *straiiffing western blot* (Gambar 5) menunjukkan bahwa semua sampel (6 sampel dari serum antibodi yang berbeda) dapat dikenali oleh antigen dengan protein berat molekul 205,8 kDa, sedangkan protein dengan berat molekul 57,3 kDa mengenali antibodi dari kambing no 1, 2, 4 dan 6, sedangkan protein berat molekul 43 kDa mengenal antibodi sampel no 1 dan 6. Berdasarkan pengamatan gejala klinis bahwa kambing yang menunjukkan gejala agak parah adalah no 1, 3, 4 sedangkan yang paling parah adalah kambing no 6 dengan krusta tebal bagian telinga, mata dan punggung sedangkan gejala ringan pada kambing no 2 dan 5 karena

setelah mendapat pengobatan tiga bulan sebelum pengambilan darah. Gambaran tersebut menunjukkan bahwa protein berat molekul 205,8 kDa dan 57,3 kDa dapat dikenali oleh antibodi kambing dengan gejala klinis ringan sampai berat.



Gambar 5. Hasil analisis *Straiffing Western Blot S.scabiei var. caprae* (sampel antigen sama sedang antibodi berbeda)

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN



KESIMPULAN

1. Hasil karakterisasi protein *Sarcoptes scabiei* var. *caprae* stadium dewasa 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
2. Hasil immunoblotting protein *Sarcoptes scabiei* var. *caprae* stadium dewasa didapatkan lima pita protein yang spesifik (antigenik) yaitu 205,8 kDa, 57,3 kDa, 43,0 kDa, 40,0 kDa dan 27, 6 kDa.
3. Hasil *straffing western blot* menunjukkan bahwa protein berat molekul 205,8 kDa dikenal oleh semua sampel yang berasal dari antibodi berbeda sedangkan protein berat molekul 57,3 kDa dikenali oleh sampel no 1,2,4 dan 6, yang berarti antigen tersebut dapat digunakan untuk mendeteksi scabies pada kambing.

SARAN

1. Penelitian lebih lanjut untuk karakterisasi protein yang imunogenik
2. Penelitian lebih lanjut dengan PCR dan analisis sekuensing terhadap protein yang bersifat antigenik
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut hubungan antara *Sarcoptes* dengan reaksi hipersensitifitas

DAFTAR PUSTAKA

- Arlian, L.G., M.S. Morgan, D.L. Vyszynski-Moher, and B.L. Stemmer. 1994. *Sarcoptes scabiei*: The circulating antibody response and induced immunity to Scabies. *Exp. Parasitol.* 78:37-50.
- Carlotti, D.N. 2004. Canine Scabies. Proceeding 29th World congress of the world small animal association (<http://www.vin.com/proceedings.plx>).
- Damriyasa, I.M., K. Failing., R. Volmer., H. Zahner and C. Bauer. 2004. Prevalence, risk factors and economic importance of infestations with *Sarcoptes scabiei* and *Haematopinus suis* in sows of pig breeding farms in Hesse, Germany. *Medical and Veterinary Entomology* 18:361-367.
- Dorny, P.T. Van Wyngaarden, 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.
- Dougall, A., D.C. Holt, K. Fischer., B.J. Currie., D.J. Kemp dan S.F. Walton. 2005. Identification and characterization of *Sarcoptes scabiei* and *Dermatophagoides pteronyssinus* glutathion s-transferases: Implication as a potential major allergen in crusted scabies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 73(5), pp. 977-984
- Gabaj, M.M., W.N. Beesley and M.A. Awan. 1992. A survey on farm animals in Libya. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 86:537-542.
- Guldbakke, K.K. 2006. Crusted scabies : a clinical review journal of Drugs in Dermatology. (http://findarticles.com/p/articles/mi_mOPDE).
- 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: 54-60.
- Kemp, D.J., S.F. Walton., P. Harumal and B.J. Currie. 2002. The scourge of scabies. *Biologist* 49: 19-24
- Ljunggren, E.L. 2005. Molecular Analysis of *Sarcoptes scabiei*. Doctoral diss. Dept. of Biomedical Sciences and Veterinary Public Health, SLU. *Acta Universitatis agriculturae Sueciae*. Vol. 2005:47. ISSN 1652-6880, ISBN 91-576-7046-3

- Mattson, J.G., Ljunggren, E.L.L. Bergstrom, K. 2001. Paramyosin from the parasitic mite *Sarcoptes scabiei* : cDNA cloning and heterologous expression. *Parasitology* 122:555-62
- Schumann, R.J., M.S. Morgan., R. Glass and L.G. Arlian. 2001. Characterization of house dust mite and scabies mite allergens by use of canine serum antibodies. *Am J Vet Res.* 62:1344-1348
- Soulsby, E.J.L. 1986. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. 7th. Ed. Bailliere Tindall. London.
- Tarigan, S. 2004. Antibody responses in naive and sensitised goats infested by *Sarcoptes scabiei*. *JITV* 9:258-265
- Walton, S.F., M.R. Myerscough and B.J. Currie. 2000. Studies in vitro on the relative efficacy of current acaricides for *Sarcoptes scabiei* var *hominis*. *Trans. of The Royal. Soc of Trop. Med. Hyg* 94:92-96

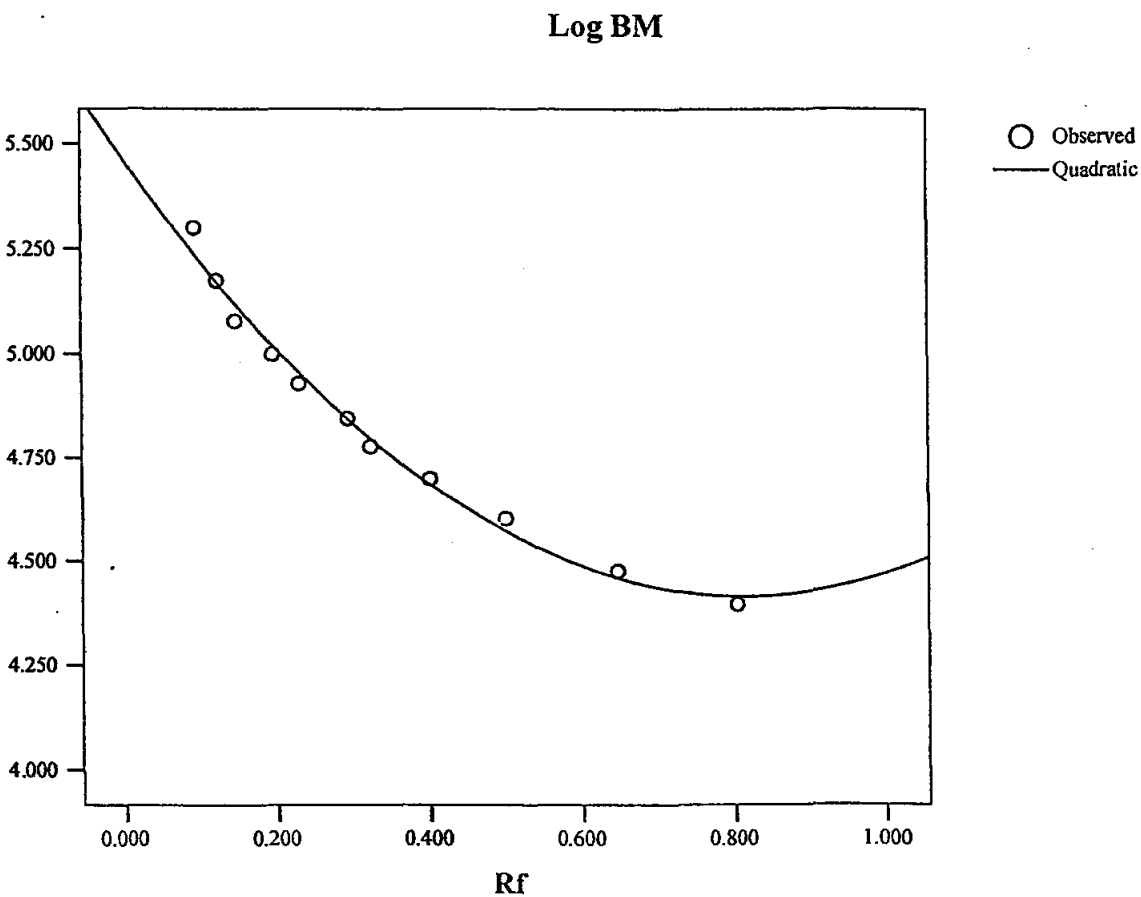


arker

Jarak	Rf	BM (y KDa)	BM (y Da)	log y (Da)
9,5	0,093	200,0	200000	5,301
12,5	0,123	150,0	150000	5,176
15,0	0,147	120,0	120000	5,079
20,0	0,196	100,0	100000	5,000
23,5	0,230	85,0	85000	4,929
30,0	0,294	70,0	70000	4,845
33,0	0,324	60,0	60000	4,778
41,0	0,402	50,0	50000	4,699
51,0	0,500	40,0	40000	4,602
66,0	0,647	30,0	30000	4,477
82,0	0,804	25,0	25000	4,398

panjang Gel = 102mm;

Curve Fit



Quadratic

Model Summary

R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
,995	,989	,987	,033

The independent variable is Rf.

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Regression	,815	2	,407	371,909	,000
Residual	,009	8	,001		
Total	,823	10			

The independent variable is Rf.

Coefficients

	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
	B	Std. Error	Beta		
Rf	-2,576	,199	-2,046	-12,944	,000
Rf** 2	1,582	,224	1,115	7,055	,000
(Constant)	5,465	,035		157,109	,000

Perhitungan BM sampel

arak sampel	Rf sampel	y*	BM (da)	BM kDa
35,0	0,343	4,7583	57319,2	57,3
40,0	0,392	4,6891	48876,5	48,9
44,5	0,436	4,6333	42983,3	43,0
47,5	0,466	4,5995	39764,9	39,8

$$* = 5,465 - 2,576 x + 1,582 x^2$$

KARAKTERISASI PROFIL PROTEIN *SARCOPTES SCABIEI* PADA KAMBING DENGAN SDS-PAGE

Freshinta Jellia Wibisono
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil protein dari tungau *Sarcoptes scabiei* berdasarkan massa molekul relatifnya yang diharapkan dapat sebagai dasar penelitian immunogenitas protein *Sarcoptes scabiei* sehingga dapat digunakan sebagai dasar pengembangan pembuatan vaksin dalam upaya pengendalian penyebaran penyakit scabies akibat infestasi dari tungau *Sarcoptes scabiei*. Kambing yang menunjukkan gejala scabies seperti timbulnya krusta dan penebalan kulit pada telinga, moncong, sekitar mata atau leher dan punggung dilakukan scraping sampai timbul bintik-bintik darah untuk mengisolasi *Sarcoptes scabiei*. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi. Sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit sehingga didapatkan whole protein dari *Sarcoptes scabiei*. Protein dianalisis dengan menggunakan teknik SDS-PAGE 12 % untuk mendeteksi pita protein pada *Sarcoptes scabiei* yang dinyatakan dalam massa molekul relatif. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa karakterisasi protein tungau *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, 57.3 kDa, 48.9 kDa, dan 40.0 kDa.

Kata Kunci : *Sarcoptes scabiei*, Scabies, Profil Protein, SDS-PAGE.

**KARAKTERISASI PROFIL PROTEIN *SARCOPTES SCABIEI* PADA
KAMBING DENGAN SDS-PAGE**

Oleh:

FRESHINTA JELLIA WIBISONO
060313161

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



Nunuk Dyah Retno Lastuti, M.S., drh.
Pembimbing Pertama



Prof. Romziah Sidik B., PhD., drh.
Pembimbing Kedua

**PENGUKURAN TITER ANTIBODI PADA KELINCI
YANG DIIMUNISASI PROTEIN *Sarcoptes scabiei* var. *caprae*
DENGAN BERAT MOLEKUL 205,8 kDa**

Oleh:

ARDHI HANGGARA
NIM.060313197

**Mengetahui,
Dosen Pembimbing**



Nunuk Dyah Retno Lastuti, M.S., Drh.
Pembimbing pertama



Dadik Raharjo, MKes., Drh.
Pembimbing kedua

**PREVALENSI *SARCOPTES SCABIEI* PADA KAMBING
DI DUKUH BANYU URIP DESA KEDUKBEMBEM
KECAMATAN MANTUP KABUPATEN LAMONGAN**

OLEH

IIP ZULIANA RACHMAWATI
NIM 060313152

**Menyetujui
Komisi Pembimbing,**



(Dr. E. Bimo Aksono H., MKes., Drh)
Pembimbing Pertama



(Nunuk Dyah Retno Lastuti, MS., Drh)
Pembimbing Kedua

**PREVALENSI *SARCOPTES SCABIEI* PADA KAMBING
DI DUKUH BANYU URIP DESA KEDUKBEMBEM
KECAMATAN MANTUP KABUPATEN LAMONGAN**

Iip Zuliana Rachmawati

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui angka prevalensi *Sarcoptes scabiei* yang menginfestasi ternak kambing di Dukuh Banyu Urip Desa Kedukbembem Kecamatan Mantup Kabupaten Lamongan. Penelitian ini menggunakan metode dengan melihat gejala klinis pada ternak yang terserang scabies dan pemeriksaan mikroskopis dari hasil scraping atau kerokan pada daerah yang terinfeksi yang ditambahkan KOH 10% untuk mengetahui ada tidaknya *Sarcoptes scabiei* pada ternak yang diduga terserang scabies. Dari pemeriksaan tersebut didapatkan preparat yang positif *Sarcoptes scabiei* dan preparat yang negatif, sehingga data yang ada dimasukkan ke dalam rumus prevalensi untuk mendapatkan angka prevalensi *Sarcoptes scabiei*. Hasil yang didapatkan setelah melakukan penelitian dengan melihat gejala klinis dan pemeriksaan mikroskopis didapatkan angka prevalensi sebesar 80%. Ini menunjukkan bahwa ternak kambing di Dukuh Banyu Urip Desa Kedukbembem Kecamatan Mantup Kabupaten Lamongan yang terserang scabies yang disebabkan oleh *Sarcoptes scabiei* sebanyak 80%.