

FF
FFA
T=D. 26/11
Soe
K

TESIS

**KARAKTERISASI PROFIL PROTEIN STRUKTURAL
Pasteurella multocida ISOLAT PUSVETMA DAN ISOLAT MAROS**



SOEKARNO

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007**

TESIS

KARAKTERISASI PROFIL PROTEIN STRUKTURAL
Pasteurella multocida ISOLAT PUSVETMA DAN ISOLAT MAROS

SOEKARNO
NIM. 090515532 M

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007

KARAKTERISASI PROFIL PROTEIN STRUKTURAL
Pasteurella multocida ISOLAT PUSVETMA DAN ISOLAT MAROS

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar pada
Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :

SOEKARNO
NIM. 090515532 M

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA


Tanggal 31 Juli 2007

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 31 Juli 2007

Oleh

Pembimbing I



Dr H Eddy Bagus Wasito, dr, MS, SpMK
NIP. 130 676 011

Pembimbing II



Dr Suwarno, drh, Msi
NIP. 131 836 994

Mengetahui
KPS S2 ilmu Kedokteran Dasar



Prof Retno Handajani, dr, MS, PhD
NIP. 130 541 984

Telah diuji pada

Tanggal 31 Juli 2007

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Budiono, dr, MKes.

Anggota :

1. Dr H Eddy Bagus Wasito, dr, MS, SpMK
2. Dr. Suwarno, drh, MSi
3. Lindawati Alimsardjono, dr, MKes, SpMK
4. Ratih Ratnasari, drh, SU

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT atas rahmatNya sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis dengan judul KARAKTERISASI PROFIL PROTEIN STRUKTURAL *Pasteurella multocida* ISOLAT PUSVETMA DAN ISOLAT MAROS.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr H Eddy Bagus Wasito, dr, MS, SpMK sebagai dosen pembimbing pertama yang telah membimbing penulis dan senantiasa menyediakan waktu untuk memberikan informasi dan arahan yang sangat berharga sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian ini.
2. Dr Suwarno, drh, MSi sebagai dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan terutama dalam masalah biologi molekuler dalam penelitian ini.
3. Drh Harry Besar Sosiawan, SU sebagai Kepala Pusat Veterinaria Farma Surabaya atas pemberian fasilitas dan dukungan kepada penulis selama melaksanakan tugas pendidikan program magister.
4. Drh Darmawan, MSi sebagai mantan plh. Kepala Pusat Veterinaria Farma yang memberikan dukungan dalam pengambilan program ini dan sebagai Kepala Bidang Produksi Aneka Vaksin dan Antisera Pusat Veterinaria Farma beserta staf terutama Drh Herawati, S., MKes dan Drh Hardiati yang telah membantu dalam pemakaian sarana untuk penelitian ini.

5. Dr Aulanni'am, drh, DESS Kepala Laboratorium Biologi Molekuler FMIPA Unibraw yang telah memfasilitasi keperluan bahan dan sarana laboratorium dalam menunjang penelitian ini.
6. Seluruh staf, karyawan, dan karyawan Laboratorium Bidang Pengujian Mutu Produksi Pusat Veterinaria Farma Surabaya yang telah membantu dalam pelaksanaan pemakaian hewan coba.
7. Kepada semua pihak yang tidak mungkin penulis sebut satu persatu, dan kepada keluarga yang telah memberikan bantuan dan dorongan serta saran-saran terhadap terlaksananya dan selesainya penelitian.

Penulis sadar bahwa tulisan ini jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran dari semua pihak masih tetap diharapkan.

Akhirnya penulis berharap semoga penelitian ini bermanfaat bagi masyarakat.

Surabaya, 31 Juli 2007

Penulis

RINGKASAN

Di Indonesia penyakit Ngorok atau *Septicemia Epizootica* (SE) atau *Haemorrhagic Septicaemia* (HS) disebabkan oleh kuman *Pasteurella multocida* tergolong dalam penyakit hewan menular strategis.

Program vaksinasi adalah cara terbaik untuk mengatasi penyakit ini. Vaksin yang baik tergantung dari jenis formulasinya maupun *seed* isolat yang dipakai, akan lebih baik apabila dibuat dari isolat lokal karena memaparkan serotipe yang diperlukan dan sangat menentukan keberhasilan vaksin tersebut untuk memberikan kemampuan membangkitkan respons imun spesifik seperti pembentukan antibodi.

Profil protein sebagai zat yang sangat berperan dalam penentuan imunogenisitas yang terdapat sebagai bagian dari membran sel baik dari berat molekul maupun kemampuan reaksi silang untuk mengenali berbagai induksi antibodi dari isolat lain sangat diperlukan.

Penulis melakukan penelitian karakterisasi profil protein *Pasteurella multocida* isolat Pusvetma dan isolat Maros, untuk mengetahui kisaran berat molekul protein kedua isolat *Pasteurella multocida*, antigenisitasnya terhadap antibodi spesifik dan kemampuan reaksi silang terhadap antibodi antar keduanya.

Penelitian diawali dengan pembiakan kedua isolat yang murni, untuk pembuatan antibodi poliklonal pada kelinci dengan menggunakan *adjuvant Seppic* ISA 50. Ekstraksi protein dari kedua isolat kuman *Pasteurella multocida*

dilakukan secara mekanik dengan sonikasi dan penambahan Tween, kandungan protein yang dihasilkan kadar 2660 µg/mL untuk isolat Pusvetma dan 2280 µg/mL untuk isolat Maros.

Karakterisasi profil protein dengan SDS-PAGE diperoleh beberapa 13 pita protein untuk isolat Pusvetma dan 12 pita untuk isolat Maros dengan kisaran 21 – 166 kDa. Uji afinitas antigenisitas protein kedua isolat dengan antibodi hasil induksinya memakai metode *dot blot* menunjukkan hasil yang positif, demikian juga terhadap reaksi silang antara *Pasteurella multocida* isolat Pusvetma dan isolat dari Maros dengan antibodi antar keduanya.

Dengan metode *western blot* menunjukkan adanya protein dengan BM 54,34 kDa pada isolat Pusvetma yang mempunyai afinitas dengan antibodi hasil induksinya dan BM 31,51 kDa dari kedua isolat yang mempunyai afinitas reaksi silang antara protein *Pasteurella multocida* isolat Pusvetma dan isolat Maros dengan antibodi antar keduanya.

Vaksin S.E yang terbuat dari *Pasteurella multocida* isolat Pusvetma dapat terus diproduksi karena mempunyai kandungan protein dengan kemampuan reaksi silang dengan isolat *Pasteurella multocida* dari daerah lain.

Penelitian selanjutnya disarankan protein yang spesifik tersebut yaitu BM 54,34 kDa pada isolat Pusvetma dan BM 31,51 kDa dari kedua isolat dilakukan elusi dan diuji imunogenisitasnya pada hewan coba sebagai bahan pertimbangan untuk bahan diagnostik deteksi kasus lapangan dan pembuatan vaksin subunit.

SUMMARY

The disease of Ngorok in Indonesia which is usually named *Septicaemia Epizootica* (SE) or *Haemorrhagic Septicaemia* (HS) was caused by *Pasteurella multocida* and classified as strategic contagious disease.

The vaccination program is the best method in the moment to eradicate the disease. To produce a good vaccine it is extremely depends on the formulation types and the seed isolate which was applied. It is better to use a local seed isolate because it roll out a serotype which can decide to give success in producing vaccines and to raise the spesific immune response as the antibody establishment.

The protein profile as a substance has extremely a role in deciding immunogenicity and it forms a part of cell membrane which was recognized by either a various antibody inductions of the isolate.

The research was intended to explore about the characterization protein profile of *Pasteurella multocida* from Pusvetma and Maros to know their molecule weight, and antigenicity against a specific antibody and the cross reaction ability of both.

The research was started by culturing both *Pasteurella multocida* to made the polyclonal antibody. the method applied was carried out by vaccination of the rabbit with seppic isa 50 adjuvant. The extraction of both *Pasteurella multocida* organism were carrier out by sonication and addition with tween 20. The protein contents of *Pasteurella multocida* were 2660 µg/ml for Pusvetma isolate and 2280 µg/ml for Maros isolate.

Protein profile characterization carried out by SDS-PAGE were obtained 13 protein ribbons for Pusvetma isolate and 12 protein ribbons for Maros isolate.

The affinity test of protein antigenicity of *Pasteurella multocida* Pusvetma isolates and Maros isolates with antibody as result of induction agains by dot blot method showed a positive result, even both of the antibodies pointed out a cross reaction with them.

By western blot method, both of *Pasteurella multocida* showed an affinity on protein and having 31.51 kDa of M.W (Molecule Weight) which has affinity a cross reaction with the antibodies of them.

The vaccine of SE made by *Pasteurella multocida* isolate came from Pusvetma can be produce continuously because it contains protein which has ability a cross reaction with other area.

Based on the research, the *Pasteurella multocida* Pusvetma isolate with antigenic protein 53,34 kDa and protein 31,51 kDa from Pusvetma isolate and Maros isolate can be judgment for diagnostic agent and to elution for imunogenicity testing to subunit vaccine production in the future.