

Skripsi

PROFIL PROTEIN INTESTIN DAN *EXCRETORY-SECRETORY* (ES)

CACING *Mecistocirrus digitatus* DAN *Haemonchus sp* DEWASA



NOVIA RETNO PRIHATININGTYAS

SURABAYA - JAWA TIMUR

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS AIRLANGGA

SURABAYA

2006

PROFIL PROTEIN INTESTIN DAN *EXCRETORY-SECRETORY* (ES)

CACING *Mecistocirrus digitatus* dan *Haemonchus sp* DEWASA

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh :

NOVIA RETNO P

060112939

Menyetujui :

Komisi Pembimbing,

Dr. Bambang Sektiari L., DEA., Drh

Pembimbing Pertama

Halimah Puspitawati., M.Kes., Drh

Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui
Panitia Penguji,

Prof. Dr. Setiawan Koesdarto, M.Sc., Drh

Ketua

Nanik Sianita W, SU., Drh

Drh

Sekretaris

Dr. Bambang S L, DEA., Drh

Anggota

M. Yunus, M.Kes, Ph.D.,

Anggota

Halimah P, M.Kes., Drh

Anggota

Surabaya, 17 Februari 2006

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,

Prof. Dr. Ismudiono, M. S., Drh

NIP 130687297

KATA PENGANTAR

Dengan mengucap syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan karuniaNya akhirnya penulis dapat menyelesaikan tulisan ini yang merupakan salah satu syarat memperoleh gelar sarjana Kedokteran Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Dalam penelitian yang berjudul “ **Profil Protein Intestin dan *Excretory-Secretory* cacing *Mecistocirrus digitatus* dan *Haemonchus sp.* Dewasa** “ penulis mencoba untuk menganalisa protein intestin dan ES cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp* dewasa berdasarkan massa molekul relatif (MR) dengan menggunakan teknik SDS-PAGE. Upaya ini merupakan langkah awal untuk mendapatkan protein spesifik yang dapat digunakan untuk melakukan diagnosis secara serologis terhadap *Mecistocirrus* dan *Haemonchosis*

Dalam penulisan makalah seminar hasil penelitian penulis banyak menerima bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. Bapak Prof. Dr. Ismudiono, M.S., drh., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga beserta staf pimpinan atas kesempatan yang diberikan.

2. Bapak Dr. Bambang Sektiari L, DEA., Drh., sebagai dosen pembimbing pertama dan Ibu Halimah Puspitawati, M. Kes., Drh sebagai pembimbing kedua juga sebagai pendukung proyek penelitian yang senantiasa dengan penuh kesabaran membimbing penulis hingga terselesaikannya tulisan ini.
3. Ibu Hermin Ratnani, M. Kes., Drh sebagai dosen wali dan seluruh dosen Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmu kepada penulis selama perkuliahan.
4. Bapak Kusnoto, M.Si., Drh yang dengan penuh keikhlasan hati membantu dalam penyempurnaan tulisan ini serta Bapak Suwarno yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian di Laboratorium Helminthologi.
5. Prof. Dr. Setiawan Koesdarto, M.Sc., Drh., Nanik Sianita W, SU., Drh., Muchammad Yunus, M. Kes., Ph.D., Drh selaku dosen penguji yang telah memberi kritik, saran dan pengarahan dalam penulisan skripsi ini.
6. Ibunda Sri Utami atas segala pengorbanan seluruh jiwa dan raga yang tak ternilai. Bapak, Ibu Hartoyo serta saudara-saudaraku yang senantiasa membantu dan mendoakan. Mas Wid terimakasih untuk komputernya.
7. Keluarga Besar Yayasan Tunas Paratama Bhakti yang telah memberikan dukungan moriil maupun materiil sehingga penulis dapat menyelesaikan studinya.

8. Stefanus Denny Krisnawan yang selalu membantu, menyemangati dan menemani beserta keluarga yang selalu mendoakan.
9. Rekan penelitian Anang, Juliani, Linda serta seluruh angkatan 2001 dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan demi penyempurnaan tulisan ini.

Penulis sepenuhnya menyadari masih banyak terdapat kekurangan mengingat keterbatasan kemampuan dan pengetahuan yang penulis miliki, oleh karena itu saran dan kritik yang sifatnya membangun sangat penulis harapkan.

Akhirnya penulis hanya mampu memohon kepada Tuhan Yang Maha Esa semoga amal kebaikan yang tak ternilai tersebut mendapat balasan dari Tuhan Yang Maha Esa. Semoga tulisan ini bermanfaat bagi pembaca. Amin.

Surabaya, Februari 2006

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
ABSTRAK.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 <i>Mecistocirrus digitatus</i>	4
2.1.1 Taksonomi.....	4
2.1.2 Morfologi.....	5

2.1.3 Siklus Hidup.....	5
2.1.4 Epidemiologi.....	6
2.1.5 Gejala Klinis.....	7
2.2 <i>Haemonchus sp.</i>	8
2.2.1 Taksonomi.....	8
2.2.2 Morfologi.....	9
2.2.3 Siklus Hidup.....	10
2.2.4 Epidemiologi.....	11
2.2.5 Gejala Klinis.....	12
2.3 Tinjauan Antigen Parasit.....	13
2.4 Analisis Protein dengan SDS-PAGE.....	15
BAB III. MATERI DAN METODE.....	17
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
3.2 Materi Penelitian.....	17
3.2.1 Bahan Penelitian.....	17
3.2.2 Alat-alat Penelitian.....	18
3.3 Tahapan Penelitian.....	18
3.3.1 Sampel Intestin dan ES <i>M. digitatus</i> dan <i>Haemonchus sp.</i>	18
3.3.2 Analisis Protein dengan Metode SDS-PAGE.....	19
3.4 Pengolahan Hasil Analisis Protein.....	22

BAB IV. HASIL.....	25
4.1 Analisis Protein Intestin dan <i>Excretory-Secretory</i> (ES) <i>M.digitatus</i>	25
4.2 Analisis Protein Intestin dan <i>Excretory-Secretory</i> (ES) <i>Haemonchus sp.</i>	27
BAB V. PEMBAHASAN.....	29
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	33
6.1 Kesimpulan.....	33
6.2 Saran.....	34
RINGKASAN.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN.....	41

DAFTAR TABEL

Tabel

Halaman

4.1 Hasil Perhitungan Massa Molekul Relatif (MR) Protein <i>Excretory-Secretory</i> dan Intestin <i>M. digitatus</i>	26
4.2 Hasil Perhitungan Massa Molekul Relatif (MR) Protein <i>Excretory-Secretory</i> dan Intestin <i>Haemonchus sp.</i>	28
4.3 Hasil Perhitungan Massa Molekul Relatif (MR) Protein Intestin dan ES <i>M. digitatus</i> dan <i>Haemonchus sp</i> dewasa.....	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar

Halaman

2.1 <i>Mecistocirrus digitatus</i> . Posterior Jantan (a) Posterior Betina (b).....	5
2.2 <i>Haemonchus sp</i>	9
3.1 Kerangka Operasional.....	24
4.1 Hasil Analisis Protein <i>Haemonchus sp</i> dengan Teknik SDS-PAGE.....	25
4.2 Hasil Analisis Protein <i>M. digitatus</i> dengan Teknik SDS-PAGE.....	27

DAFTAR LAMPIRAN**Lampiran****Halaman**

1	Persamaan Kubik untuk Menentukan Hubungan Antara Nilai Rf dengan Massa Molekul Relatif Protein.....	41
2	Perhitungan Analisis Protein Intestin <i>M. digitatus</i>	43
3	Perhitungan Analisis Protein <i>Excretory-Secretory M. digitatus</i>	44
4	Perhitungan Analisis Protein <i>Excretory-Secretory Haemonchus sp.</i>	45
5	Perhitungan Analisis Protein Intestin <i>Haemonchus sp.</i> ..	46
6	Dokumentasi Penelitian.....	47

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Sektor peternakan terutama peternakan sapi merupakan salah satu mata pencaharian penduduk di negara berkembang seperti Indonesia. Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan usaha peternakan adalah bebas dari penyakit termasuk yang disebabkan oleh parasit cacing. Mengingat Indonesia adalah negara tropis dengan iklim lembab dan panas yang merupakan kondisi optimal untuk perkembangan telur dan larva cacing.

Menurut Soulsby (1986) penyakit cacingan sangat merugikan, terutama karena menyebabkan kekurusan, terhambatnya pertumbuhan dan penurunan produksi, menurunnya daya tahan tubuh terhadap serangan penyakit lain dan pada infeksi yang berat dapat menimbulkan kematian. Seberapa besar parasit itu merugikan dan dalam manifestasi yang bagaimana belum dipahami oleh sebagian besar peternak. Lain halnya dengan kuman, virus yang menimbulkan penyakit mematikan, penyakit akibat cacing biasanya hanya menimbulkan gejala sub klinis (Kusumamihardja, 1998). Cacing Nematoda saluran pencernaan merupakan golongan cacing yang banyak menginfeksi hewan ruminansia.

M. digitatus yang sering dikelirukan dengan cacing *Haemonchus sp.* adalah salah satu cacing yang banyak menginfeksi hewan ruminansia terutama sapi. Berdasarkan penelitian Puspitawati (2001) infeksi *M. digitatus* lebih

dominan daripada *Haemonchus sp.* pada sapi yang dipotong di Rumah Pemotongan Hewan (RPH) Pegirian Surabaya.

M. digitatus merupakan cacing penghisap darah (*haematophagus*) yang dapat ditemukan dalam abomasum sapi, kerbau, zebu, domba dan kambing. Cacing ini mempunyai morfologi yang hampir sama dengan cacing *Haemonchus contortus* terutama bentuk khas *barber's pole* yang berasal dari intestin yang berwarna merah karena berisi darah dan dililit oleh organ uterus yang berwarna putih (Soulsby, 1986), namun ukuran tubuh dari cacing *M. digitatus* lebih besar dan panjang bila dibandingkan dengan *Haemonchus contortus*. Cacing tersebut kemungkinan besar akan menghisap darah lebih banyak dari induk semangnya (Puspitawati,2001), sehingga memungkinkan kerugian yang ditimbulkan oleh cacing *M. digitatus* jauh lebih besar daripada *H. contortus*. Soulsby (1986) menyatakan bahwa *M. digitatus* termasuk salah satu cacing patogen yang penting pada sapi, kerbau, dan hewan ruminansia lainnya. Sedikitnya informasi mengenai *M. digitatus* menyebabkan cacing tersebut sering diabaikan. Namun demikian gejala klinis dari *M. digitatus* mempunyai kemiripan dengan haemonchosis, sehingga diagnosis nya sulit karena dapat dikacaukan dengan haemonchosis. Diagnosis dengan pemeriksaan feses membutuhkan waktu yang lama. Untuk mengatasi masalah ini diperlukan diagnosis yang lebih dini dan spesifik pada mecistocirrusis dan haemonchosis.

Dari uraian di atas, maka perlu adanya penelitian untuk pengembangan diagnosis secara serologis maupun upaya penanggulangan secara biologis dengan memanfaatkan vaksin. Untuk hal tersebut sebagai langkah awal dan mendasar

dilakukan penelitian ini guna mengetahui profil protein dari intestin dan *Excretory-Secretory* (ES) cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* dewasa. Diharapkan dengan cara diagnosis tersebut hasilnya akan lebih cepat dan spesifik dibanding dengan pemeriksaan tinja, nekropsis dan pemupukan tinja.

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana profil protein intestin dan ES dari cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* dewasa yang dinyatakan dalam massa molekul relatif (MR)?

I.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil protein intestin dan ES *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* yang dinyatakan dalam massa molekul relatif (MR).

I.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi ilmiah tentang profil protein intestin dan ES dari cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* dewasa yang diharapkan dapat menunjang dalam pencarian antigen yang spesifik sebagai bahan diagnosis.
2. Diharapkan sebagai langkah awal mampu membantu pengembangan teknik diagnosis laboratorik penyakit yang disebabkan oleh cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Mecistocirrus digitatus*

2.1.1 Taksonomi

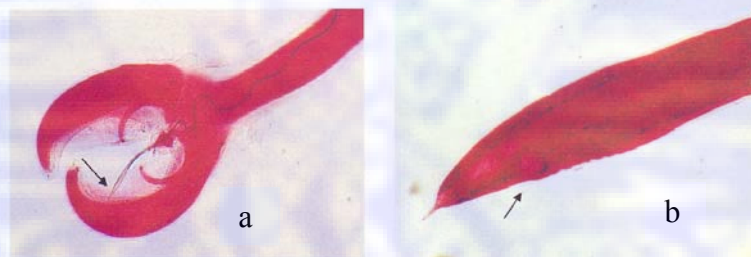
Menurut Soulsby (1986), taksonomi *M. digitatus* adalah sebagai berikut :

Filum	: <i>Nemathelminthes</i>
Kelas	: <i>Nematoda</i>
Ordo	: <i>Strongylida</i>
Famili	: <i>Trichostrongylidae</i>
Genus	: <i>Mecistocirrus</i>
Spesies	: <i>Mecistocirrus digitatus</i>

M. digitatus termasuk salah satu parasit cacing penghisap darah yang dengan mata langsung sulit untuk dibedakan dengan *Haemonchus sp.* Pada umumnya *M. digitatus* terdapat pada kerbau dan sapi di beberapa daerah di Asia (Urquhart *et al*, 1994). Cacing tersebut dapat menyerang abomasum beberapa hewan ruminansia seperti domba, kambing, sapi, zebu, kerbau serta lambung babi.

2.1.2 Morfologi

M. digitatus mempunyai lebih kurang 30 buah garis longitudinal pada kutikulanya. Servikal papilla menonjol, bukal kapsul kecil dengan gigi langsing yang disebut lanset. Cacing jantan mempunyai panjang lebih dari 31 mm, bursa kopulatrik kecil, lobus dorsal simetris, *rays* ventral kecil, sedangkan *rays* lateroventral dan anteroventral lebih panjang dibanding *rays* yang lain. Spikula panjang dan langsing dengan panjang 3,8–7 mm. Panjang cacing betina tidak kurang dari 43 mm. Uterus melilit berbentuk spiral dengan usus yang membentuk warna belang merah putih (seperti *Haemonchus sp.*). Vulva terletak 0,6–0,9 mm dari ujung posterior tanpa vulva flap. Telur dikeluarkan bersama kotoran dengan ukuran 95–120 μm x 56–60 μm (Soulsby, 1986; Kusumamihardja, 1993).



Gambar 2.1 *Mecistocirrus digitatus*. Posterior jantan. Tampak spikula panjang, langsing (a) Posterior betina. Tampak vulva slit (b) (Wulan, 2005)

2.1.3 Siklus Hidup

Siklus hidup cacing *M. digitatus* termasuk tipe langsung, yaitu tanpa memerlukan induk semang perantara. Telur keluar bersama dengan tinja, menetas dan berkembang di luar tubuh induk semang menjadi larva stadium satu

(L1) kemudian menjadi larva stadium dua (L2) yang masih belum infeksi. Stadium infeksi (L3) dicapai dalam waktu 15 -18 hari yang akan mengkontaminasi padang rumput dan menginfeksi induk semang bila termakan inang. Di dalam lambung L3 akan mengalami ecdysis menjadi L4, pada stadium L4 dimulai periode parasitik (mulai menghisap darah induk semang) di dalam abomasum induk semang (Kusumamihardja, 1993). Tahap larva empat cukup lama yaitu dari hari ke sembilan sampai dengan hari kedua puluh delapan setelah terjadi infeksi. Periode prepaten berlangsung selama 59-82 hari (Soulsby, 1986; Kusumamihardja, 1993; Dunn, 1978; Urquhart *et al*, 1994; dan Van Aken *et al*, 1997).

2.1.4 Epidemiologi

Menurut Dunn (1978), distribusi *M. digitatus* terutama di Asia termasuk Rusia, konsentrasi terbesar dapat ditemukan di India, Pakistan, Bangladesh, Sri Lanka, Mauritius, Burma, Thailand, Malaysia, Indonesia dan Negara-negara di wilayah Indo-China. Kejadian secara sporadis terjadi di Amerika Selatan dan Eropa. Jithendran (1999) melaporkan bahwa *M. digitatus* termasuk *gastrointestinal nematodes* yang menginfeksi sapi dan kerbau di 12 desa yang terletak di lembah Kangra-India dengan infeksi tertinggi diperoleh selama bulan Juli-September. Selanjutnya Van Aken *et al* (1998) menginformasikan bahwa kejadian *M. digitatus* pada 3 wilayah peternakan di Mindanao-Filipina sebesar 30 % pada sapi berumur 1-30 bulan, dengan EPG menunjukkan peningkatan pada sapi berumur lebih dari 10 bulan dan setelah itu stabil atau terdapat penurunan

namun tidak berbeda nyata sampai pada umur 24 bulan. Di Indonesia pernah dilaporkan oleh Kusumamihardja (1993) bahwa pada tahun 1963 di Kabanjahe, Sumatera Utara ada seekor sapi dewasa mati tanpa tanda adanya penyakit lain kecuali ditemukannya cacing *M. digitatus* dalam lambungnya. Dalam penelitian yang lain Kusumamihardja (1998) juga pernah menemukan *M. digitatus* di peternakan sapi perah di Pengalengan, Jawa Barat. Demikian pula oleh Retnani dkk. (1988) yang dikutip oleh Sujoni (2002), menemukan cacing *M. digitatus* pada sapi Ongole yang dipotong di Rumah Pematangan Hewan (RPH) Kotamadya Bogor, sedangkan penelitian oleh Sri Subekti dkk (1993) telah menemukan cacing *M. digitatus* di daerah Jawa Timur.

Di Jepang dilaporkan oleh Ogawa *et al* (1997) bahwa angka kejadian (*incidence rate*) *M. digitatus* selama tahun 1987-1993 adalah 0,2 pada tahun 1988 dan 0,4 pada tahun 1990. Di daerah empat musim, pada pertengahan musim dingin larva imatur *M. digitatus* muncul dengan persentase cukup tinggi dan akan meningkat populasinya. Selanjutnya larva akan menjadi dewasa pada awal musim semi.

2.1.5 Gejala Klinis

M. digitatus seperti *Haemonchus sp.* merupakan cacing penghisap darah (*haematophagous*) dengan menimbulkan gejala klinis pada induk semang yang mirip dengan haemonchosis yaitu adanya anemia dan penurunan berat badan (Soulsby, 1986). Pendapat yang sama juga dikemukakan oleh Urquhart *et al*, (1994) yang menginformasikan bahwa gejala yang ditimbulkan oleh *M. digitatus*

sama dengan *H.contortus*. Kusumamihardja (1993) menyebutkan gejala yang ditimbulkan adalah anemia, kurus dan lemah terutama pada anak sapi dan anak kerbau. Sedangkan menurut Van Aken *et al* (1997), infeksi *M.digitatus* dapat mengakibatkan anemia dan hilangnya protein plasma serta penurunan berat badan, pada pemeriksaan darah menunjukkan adanya penurunan *Packed Cell Volume* (PCV) yang nyata nampak pada hari ke 70-80 setelah infeksi.

Perubahan anatomis yang terjadi adalah perdarahan pada mukosa abomasum dan hipoproteinemia (Soulsby, 1986). Hipoproteinemia yang terjadi dapat berakibat edema bawah rahang (*bottle jaw*)

2.2 *Haemonchus sp.*

2.2.1 Taksonomi

Haemonchus merupakan genus nematoda yang paling penting pada domba, kambing dan sapi. Cacing ini hidup di abomasum domba, kambing, sapi dan ruminansia lain. Berdasarkan habitat dan bentuknya sering di sebut cacing lambung berpilin atau cacing kawat pada ruminansia (Levine, 1990).

Klasifikasi cacing *Haemonchus sp.* menurut Soulsby (1986) adalah sebagai berikut:

Filum	: <i>Nemathelminthes</i>
Kelas	: <i>Nematoda</i>
Ordo	: <i>Strongylida</i>
Famili	: <i>Trichostrongylidae</i>
Genus	: <i>Haemonchus</i>

Species : *Haemonchus contortus*

Haemonchus placei

Haemonchus similis

Haemonchus longisitipes

2.2.2 Morfologi

Ujung anterior cacing berdiameter kurang dari 50 μm , dengan bukal kapsul yang kecil berisi gigi yang ramping atau lanset di dasarnya. Terdapat papilla servikal yang jelas menyerupai bentuk duri (Levine 1990).



Gambar 2.3 Cacing *Haemonchus sp*
(<http://www.nematode.net/Species.Summaries/index.php,2005>)

Cacing betina mempunyai ukuran panjang antara 18–20 mm dan berdiameter 0,5 mm dengan warna spesifik yaitu berselang seling merah putih seperti spiral. Uterus yang putih membelit secara spiral mengelilingi usus yang berwarna merah. Pada bagian posterior terdapat vulva yang tertutup oleh cuping vulva di bagian depannya, yang terbentuk sebagai suatu tonjolan yang besar dan panjang. Kadang-kadang cuping vulva tampak berbentuk seperti bungkul yang kecil (Soulsby, 1986; Levine, 1990)

Cacing jantan mempunyai ukuran panjang antara 10–20 mm dan berdiameter 0,4 mm. Cacing berwarna coklat kemerahan yang sebenarnya adalah warna bagian intestin yang penuh dengan darah dari induk semangnya. Pada ujung posteriornya terdapat bursa kopulatrik yang terdiri dari tiga lobi, yaitu sepasang lobus lateral dengan ukuran yang relatif besar, dan sebuah lobus dorsal yang terletak asimetris dan lebih dekat dengan lobus lateral yang sebelah kiri. Spikula yang dimiliki berukuran panjang antara 0,46–0,50 mm dan mempunyai gubernakulum yang panjangnya sekitar 0,2 mm dengan ujung berkait (Levine, 1990).

Telur *Haemonchus sp.* mempunyai ukuran antara 62-90 μm x 39-50 μm . Biasanya dikeluarkan bersama feses induk semangnya dalam keadaan mengandung sel telur yang sudah mengadakan pembelahan menjadi 16 – 32 sel. Seekor cacing betina diperkirakan mampu memproduksi telur sebanyak 10.000 butir setiap hari (Soulsby, 1986).

2.2.3 Siklus Hidup

Pada lingkungan yang menguntungkan telur akan menetas menjadi larva stadium pertama. Dalam waktu kurang lebih empat hari larva mengalami ekdisis menjadi larva stadium kedua. Larva stadium pertama dan kedua ini akan memakan mikroorganisme yang terdapat pada tinja induk semang. Larva stadium kedua mengalami ekdisis menjadi larva yang infeksius yaitu larva stadium ketiga dalam waktu 4 sampai 6 hari. Perkembangan larva–larva ini dipengaruhi oleh perbedaan lingkungan yaitu temperatur, iklim dan kelembaban. Larva

infektif lebih tahan terhadap kekeringan dan udara dingin dibanding dengan larva stadium pertama dan kedua karena selubung kutikula yang terdapat pada stadium kedua tidak dilepaskan sehingga larva stadium ketiga mempunyai dua selubung. Larva infektif tidak memperoleh makanan tetapi dapat hidup dari persediaan makanan yang disimpan dalam sel-sel intestin. Larva infektif bergerak aktif (mempunyai ekor) dan memanjat rerumputan pada pagi hari dan malam hari (Levine, 1990).

Penyebaran penyakit terjadi secara langsung melalui rumput yang terkontaminasi larva infektif. Pada musim penghujan penyebarannya cepat, oleh karena fluktuasi jumlah telur nematoda pada kotoran cenderung di pengaruhi oleh fluktuasi curah hujan dengan titik tertinggi pada musim hujan dan terendah pada musim kemarau (Soulsby, 1986).

2.2.4 Epidemiologi

Distribusi *Haemonchus sp.* tersebar di seluruh dunia (kosmopolitan), namun lebih banyak dijumpai di daerah savanna tropis dan sub tropis yang lembab dengan temperatur hangat (Olsen, 1967; Ristic, 1981; Urquhart, 1994) dikutip oleh Subekti dkk (2001). Menurut Amin dan Nasution (1984) yang dikutip oleh Subekti dkk (2001) menyatakan kejadian haemonchosis pada ruminansia kecil di kabupaten Aceh besar sebesar 45 % dari semua tingkatan umur penderita dengan derajat infeksi ringan. Atmowisastro dan Kusumamihardja (1989), melaporkan di Kabupaten Bogor kejadian infeksi tertinggi pada domba disebabkan oleh *Haemonchus sp.* Pada domba yang

dipelihara di Perkebunan Karet di Sumatera Utara prevalensi *Haemonchus sp.* mencapai 80 % (Berajaya dan Nurhadi, 1995). Sementara itu menurut Suhardono (1995) yang dikutip oleh Kusumaningsih (1997) pada sapi-sapi perah di Garut, Jawa Barat, juga dijumpai cacing *Haemonchus sp.*

2.2.5 Gejala Klinis

Haemonchosis perakut tidak umum terjadi, tetapi dapat terlihat ketika hewan yang rentan terinfeksi larva dalam jumlah banyak secara mendadak. Jumlah parasit yang banyak menyebabkan anemia yang parah, tinja berwarna gelap dan kematian hewan mendadak karena kehilangan darah akut akibat adanya gastritis hemorragis yang parah (Urquhart *et al*, 1994).

Haemonchosis akut pertama kali terlihat ketika hewan-hewan rentan baru saja terinfeksi cacing yang berat. Anemia bisa parah, tapi ada respon eritropoetik dari sumsum tulang. Anemia itu disertai dengan hipoproteinemia dan udem di bawah mandibula (bottle jaw) atau bisa juga pada sisi ventral dari dada dan abdomen. Hewan akan menjadi lemah, tinja berwarna gelap dan bulu rontok. Diare bukan merupakan ciri yang umum, kadang timbul diare atau konstipasi, sedangkan nafsu makan bervariasi. Diare dapat terjadi bila infeksi terjadi bersamaan dengan banyaknya hijauan muda yang dimakan ataupun ada infeksi campuran dengan cacing *Trichostrongylus*. Beberapa saat sebelum kematian, hewan menjadi sangat lemah sehingga tidak dapat berdiri. Pemeriksaan darah menunjukkan penurunan yang tajam dari jumlah eritrosit dan terdapat adanya sel-sel darah yang abnormal. Telur dalam feses biasanya jumlah banyak dan bisa

terdapat 1000-10000 parasit pada abomasum (Soulsby, 1986; Urquhart *et al*, 1994).

Haemonchosis kronis sering terjadi dan erat hubungannya dengan kepentingan ekonomis. Kejadian kronis ini disebabkan oleh infeksi berkepanjangan dengan jumlah parasit yang sedikit (100-1000 ekor). Morbiditas dapat mencapai 100 % tapi angka kematiannya rendah. Hewan menjadi lemah dan kurus. Anemia dan hipoproteinemia dapat menjadi parah atau tidak parah, tergantung pada kapasitas eritropoietik dari hewan tersebut, zat besi yang tersimpan dan cadangan metabolisme (Soulsby, 1986).

2.3 Tinjauan Antigen Parasit

Antigen adalah substansi yang dapat dikenali sistem imun tubuh sebagai benda asing (*non self*) yang diukur berdasarkan keberhasilan mengikat antibodi, agar bersifat antigenik maka molekul harus besar dan berstruktur kimiawi kompleks, walaupun molekul kecil dapat berlaku sebagai antigen tetapi molekul besar jauh lebih baik (Tizard, 1982).

Makromolekul dengan struktur yang kompleks seperti protein merupakan antigen yang jauh lebih baik daripada polimer besar sederhana, misalnya lemak, karbohidrat, dan asam nukleat maupun polimer satu asam amino karena hampir semua protein dengan massa molekul relatif (MR) lebih besar dari 1000 Dalton (Da) adalah antigen (Tizard, 1982).

Adapun imunogen adalah antigen yang diukur berdasarkan kemampuannya dalam memicu sistem imun untuk menghasilkan antibodi,

biasanya molekul dikatakan bersifat imunogenik apabila terjamin keasingannya dan mempunyai berat molekul lebih dari 5000 Da (Abbas, *et al.* 2000). Sedangkan molekul yang lebih kecil dikatakan imunogenik bila terkait pada makromolekul sebagai karier (Tizard, 1982).

Keistimewaan dari antigen yang berasal dari parasit adalah arti antigen tersebut terhadap hospes maupun parasit itu sendiri. Sebagian antigen yang dihasilkan oleh parasit dapat memicu respon imun hospes (*host protective antigen*) tetapi sebagian lagi justru untuk pertahanan parasit tersebut terhadap hospes, hal ini sesuai dengan pendapat Tizard (1982) yang menyebutkan bahwa keberhasilan menginfeksi dari suatu parasit tidak diukur dari gangguan yang ditimbulkan pada hospes melainkan berdasarkan kemampuan untuk menyesuaikan dan atau menyatukan diri dengan lingkungan di dalam tubuh hospes, dari segi imunologis, suatu parasit dikatakan berhasil bila mampu menyatukan diri dengan hospes sehingga tidak dianggap asing.

Berbagai jenis antigen parasit dapat diketahui dari sumber dan lokasi serta populasi dan siklus hidup parasit. Berdasarkan sumber dan lokasi parasit, antigen terbagi menjadi: 1) *Exoantigen* terlarut yang berasal dari parasit hidup atau dalam media buatan merupakan produk ekskresi berupa metabolit; 2) *Somatic antigen* terlarut yang berasal dari cacing stadium dewasa atau larva yang hancur atau dari sel permukaan tubuh parasit; 3) Parasit yang mati atau fragmen-fragmen larva cacing. Sedangkan berdasarkan stadium dan siklus hidup antigen terbagi menjadi: 1) Spesifikasi genus, spesies, strain dan stadium hidup; dan 2) Parasit yang mengalami perubahan bentuk (el-Massry, 1999 dikutip oleh Kusnoto, 2003).

Perlu diperhatikan bahwa pada setiap stadium hidup selalu terdapat protein yang tetap selain beberapa protein yang berbeda, hal ini disebabkan oleh profil protein pada setiap stadium hidup parasit umumnya mempunyai perbedaan dan persamaan, tergantung stadium hidupnya (Patterson, 1989). Protein yang tetap atau selalu ditemukan pada setiap stadium hidup sebagai protein dominan (Kodyman et al, 2000).

2.4 Analisis Protein dengan Teknik SDS-PAGE

Elektroforesis sering digunakan untuk karakterisasi protein berdasarkan Berat Molekul (BM). Salah satu metode elektroforesis yaitu *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS). *Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (PAGE) merupakan standar metode pengujian terhadap Berat Molekul (BM) protein, struktur sub unit dan kemurnian protein. Protein adalah molekul yang amfoterik mengandung kedua grup karboksil negatif dan grup amino positif. Selama SDS-PAGE protein dipisahkan melalui migrasi matrik tiga dimensi dengan elektrik, maka matrik mempunyai dua fungsi yaitu memisahkan protein sesuai ukuran, bentuk dan muatan listrik. Hal ini memerlukan pH *buffer* yang sesuai (Rantam, 2003).

Prinsip dasar SDS-PAGE adalah denaturasi protein oleh *Sodium Dodecyl Sulphate* dilanjutkan dengan separasi molekul berdasarkan massa molekul relatif (MR) dengan metode elektroforesis menggunakan gel poliakrilamid. Metode ini dapat mengikat atau mendeteksi protein berdasarkan berat molekulnya tetapi tidak spesifik terhadap jenis protein tertentu (Davis *et al*, 1994). Selama elektroforesis, SDS dan protein yang berukuran kecil bergerak melalui pori gel

dengan lebih mudah dan cepat daripada protein yang berukuran besar. Protein yang terpisah akan terlihat seperti pita (Lodish *et al*, 1995).

Beberapa keuntungan elektroforesis dengan gel adalah; 1) Dapat digunakan untuk pemisahan sampel yang besar jumlahnya khusus untuk senyawa makromolekul; 2) Komposisi matrik gel dapat diubah-ubah sesuai kebutuhan. Gel dengan kadar yang rendah membuat matrik mempunyai pori yang besar dengan demikian dapat digunakan untuk memisahkan molekul yang besar serta mengurangi gesekan antara molekul dan pori gel atau bekerja sebagai anti konveksi. Sebaliknya matrik dengan gel yang mempunyai kadar tinggi akan membentuk pori yang kecil, ini berguna sebagai penyaring makromolekul (Wongsosupantio, 1990).

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan Agustus 2005, di Laboratorium Helminthologi Bagian Parasitologi dan Laboratorium Biomolekuler Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dan Laboratorium *Tropical Disease Center* Universitas Airlangga Surabaya.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Sampel yang digunakan adalah intestin dan ES cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* dewasa. Cacing *M. digitatus* didapatkan dari bagian abomasum sapi dan cacing *Haemonchus sp.* di abomasum kambing atau domba yang diambil dari Rumah Pemotongan Hewan (RPH) Pegirian, Surabaya.

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah: *aquadest*, *phosphate buffer saline* (PBS), RPMI-1640, *acrylamide*, *Tris-HCL*, *sodium dodecyl sulphate*, *tetramethyldiamin* (TEMED), *Ammonium Persulphate* (APS), *electrophoresis buffer*, *laemmli buffer*, *methanol*, *acetic acid*, *glutaraldehyde*, NaOH, NH₃, AgNO₃, *formaldehyde*, *zitronsaure*.

3.2.2 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: tabung reaksi, gelas objek, nampan plastik, inkubator dan freezer -30°C , sentrifus, *dissecting microscope*, pinset, cawan petri, sonikator, *microtube*, *chamber* SDS-PAGE, *glass plate*, *comb*, *shaker*, *power supply*, pH meter.

3.3 Tahapan Penelitian

3.3.1 Sampel intestin dan ES *M. digitatus* dan *Haemonchus sp*

Cacing dewasa *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* dikoleksi dari Rumah Potong Hewan Pegirian, Surabaya. Kemudian dicuci dengan NaCl fisiologis hingga bersih, dan dilakukan preparasi di bawah *dissecting microscope* guna mengkoleksi intestinnya.

Intestin yang dikoleksi dicuci dengan PBS pH 7,4 kemudian disonikasi 3x1 menit (sampai hancur sempurna), dengan interval istirahat 1 menit. Selanjutnya homogenat tersebut disentrifuse 5.000 rpm selama 5 menit. Supernatan dipanen dipisahkan dengan peletnya selanjutnya disimpan dengan temperature -30°C untuk bahan analisis protein.

Untuk memperoleh ES dari cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.*, setiap 200 ekor cacing dimasukkan kedalam 100 ml PBS, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 15-20 menit. PBS diganti dengan medium RPMI-1640 yang mengandung antibiotik tanpa *Foetal Calf Serum* (FCS), lalu diinkubasikan dalam *waterbath* pada suhu 37°C selama 4 jam. Setelah 4 jam, cacing dipindahkan ke wadah lain, sedangkan cairan yang tertinggal

merupakan ES, dikoleksi kemudian di sentrifuse 35.000 rpm (4°C) disimpan pada suhu -30°C, selanjutnya akan digunakan untuk *running electrophoresis*.

3.3.2 Analisis Protein dengan Metode SDS-PAGE

Supernatan hasil penghancuran (sonikasi) intestin dan ES dari cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* kemudian dilisis dengan buffer lisis dan *dirunning* dengan SDS-PAGE.

SDS-PAGE adalah salah satu cara yang digunakan untuk memisahkan protein. Pemisahan dengan menggunakan SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) yaitu suatu deterjen bermuatan negatif yang dapat mengikat protein. SDS merupakan suatu deterjen anion sodium dodesil sulfat yang digunakan untuk melarutkan protein murni, sedangkan protein penyusunnya dipisahkan dalam pita terpisah sesuai dengan berat molekul dengan *electrophoresis gel polyacrylamide* (SDS-PAGE) (Davis *et al.*, 1994). Teknik SDS-PAGE dilakukan dengan beberapa langkah yaitu:

1. Mencetak *Separating Gel* 12,5 %

Pembuatan *separating gel* dengan cara mencampurkan bahan-bahan untuk penyusunan *separating gel* 12,5 % yaitu *acrylamide* 2,5 ml, tris HCL pH 8,8 sebanyak 1,2 ml, SDS 0,5 % 1,2 ml, *aquadest* 1,1 ml, TEMED 5 µl, APS 10 % sebanyak 30 µl. Campuran harus homogen dimasukkan ke dalam *glass plate* yang telah bersekat untuk melakukan fiksasi dan ditambahkan butanol 5 % diatas bagian *separating gel*, kemudian inkubasi pada suhu kamar selama 30 menit agar *separating gel* menjadi padat.

Langkah selanjutnya adalah membuang butanol 5 % dan mencuci *separating gel* dengan menggunakan *electrophoresis buffer* yang telah diencerkan 10 kali. Dengan kertas filter, *separating gel* dibersihkan dan dikeringkan.

2. Mencetak *Stacking Gel* 5 %

Membuat *stacking gel* dengan mencampurkan bahan-bahan *stacking gel* sampai homogen yaitu *acrylamide* 0,33 ml, tris HCL pH 6,8 sebanyak 0,4 ml, SDS 0,5 % sebanyak 0,4 ml, aquadest 0,87 ml, TEMED 2 μ l, APS 10 % 10 μ l. *Stacking gel* dimasukkan dalam *running gel* sampai penuh. *Comb* dimasukkan ke dalam *stacking gel*. Di inkubasi pada suhu kamar selama 25 menit sampai *stacking gel* memadat. *Comb* dilepas dan dibersihkan, *stacking gel* dicuci satu kali dengan *electrophoresis buffer*.

3. Menyiapkan Sampel

Suspensi sampel sebanyak 15 μ l dimasukkan dalam tabung *ependorf* yang tutupnya sudah dilubangi dan dicampur dengan *Laemli buffer* (indikator warna) 15 μ l. Tabung *ependorf* yang telah berisi campuran dipanaskan dalam suhu 100 °C selama 5 menit.

4. *Elektrophoresis*

Glass plate yang berisi gel dimasukkan ke dalam *running chamber* dan dituangi *electrophoresis buffer* sebanyak 800 ml. Marker dan sampel dimasukkan ke dalam lubang gel. *Running* dilakukan dengan voltase 200V dan kuat arus 40mA \pm 2 jam atau sampai marker dan sampel turun.

Setelah turun listrik dimatikan, gel dilepas perlahan dan dimasukkan dalam cawan petri yang sudah berisi larutan pencucian.

5. Pencucian

Pencucian yang dilakukan ada 4 tahap dengan larutan yang berbeda. Pencucian pertama menggunakan campuran *methanol* 100 ml, *acetic acid* 15 ml ditambahkan *aquadest* ad 200 ml. Cawan petri yang berisi gel dan larutan pencuci digoyang diatas *shaker* dengan kecepatan 80 selama 30 menit. Setelah 30 menit larutan pencuci dibuang dan diganti dengan larutan pencuci yang kedua yaitu campuran dari *methanol* 10 ml, *acetic acid* 15 ml ditambahkan *aquadest* ad 200 ml, digoyang dengan kecepatan 80 selama 30 menit. Pencucian ketiga dengan larutan *Glutaraldehyde* 5 % yaitu 5 ml *glutaraldehyde* dengan 95 ml *aquadest* digoyang dengan kecepatan 80 selama 30 menit. Pencucian yang terakhir dengan *aquadest* 100 ml selama 30 menit dan pencucian ini dilakukan tiga kali.

6. Pewarnaan

AgNO_3 ditimbang sebanyak 0,8 gram dan dicampur dengan 4 ml *aquadest*. Kemudian campuran tersebut dimasukkan ke dalam larutan yang terdiri dari NaOH 0,36 % sebanyak 21 ml, NH_3 25 % sebanyak 1,4 ml dan *aquadest* sebanyak 73,5 ml. Larutan yang dimasukkan ke dalam cawan petri digoyang dengan kecepatan 80 selama 15 menit. Kemudian dibuang dan dicuci dengan 100 ml *aquadest* selama 20 menit sebanyak dua kali diatas *shaker*.

7. Stop Reaksi

Pengembang warna yang terdiri dari *formaldehyde* 3,7 % sebanyak 100 μ l *zitroenzuur* 5 % sebanyak 200 μ l ad 100 ml *aquadest* dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi gel. Selama 5 menit digoyang diatas *shaker* dengan kecepatan 80. Stop reaksi dimasukkan bersama dengan *acetic acid* 10 %, kemudian buang dan diganti dengan larutan yang terdiri dari gliserin 10 ml dan *aquadest* 90 ml agar gel tidak rusak.

3.4 Pengolahan Hasil Analisis Protein

Hasil pengolahan SDS-PAGE berupa pita (*band*) diukur untuk menghitung berat molekul (BM) atau massa molekul relatif (MR) sampel. Menurut Rybicki dan Maud (1996) berat molekul (BM) atau massa molekul relatif ditentukan berdasarkan log BM atau log MR dari protein standar dan nilai Rf (*Retardation factor*). Nilai Rf merupakan perbandingan antara jarak migrasi molekul protein dengan jarak migrasi zat warna. Kemudian mencari persamaan dengan menentukan kurva standart dari Rf dan log BM atau log MR. Sampel yang diketahui dibaca sebagai log MR dari sampel setelah menghitung Rf pada agar yang sama.

Menurut Mayer dan Walker (1987), untuk menghitung nilai MR dari protein yang belum diketahui, mula-mula log 10 MR dari protein standar dihitung, kemudian menghitung mobilitas relatif yaitu perbandingan jarak perpindahan protein dengan jarak perpindahan zat warna.

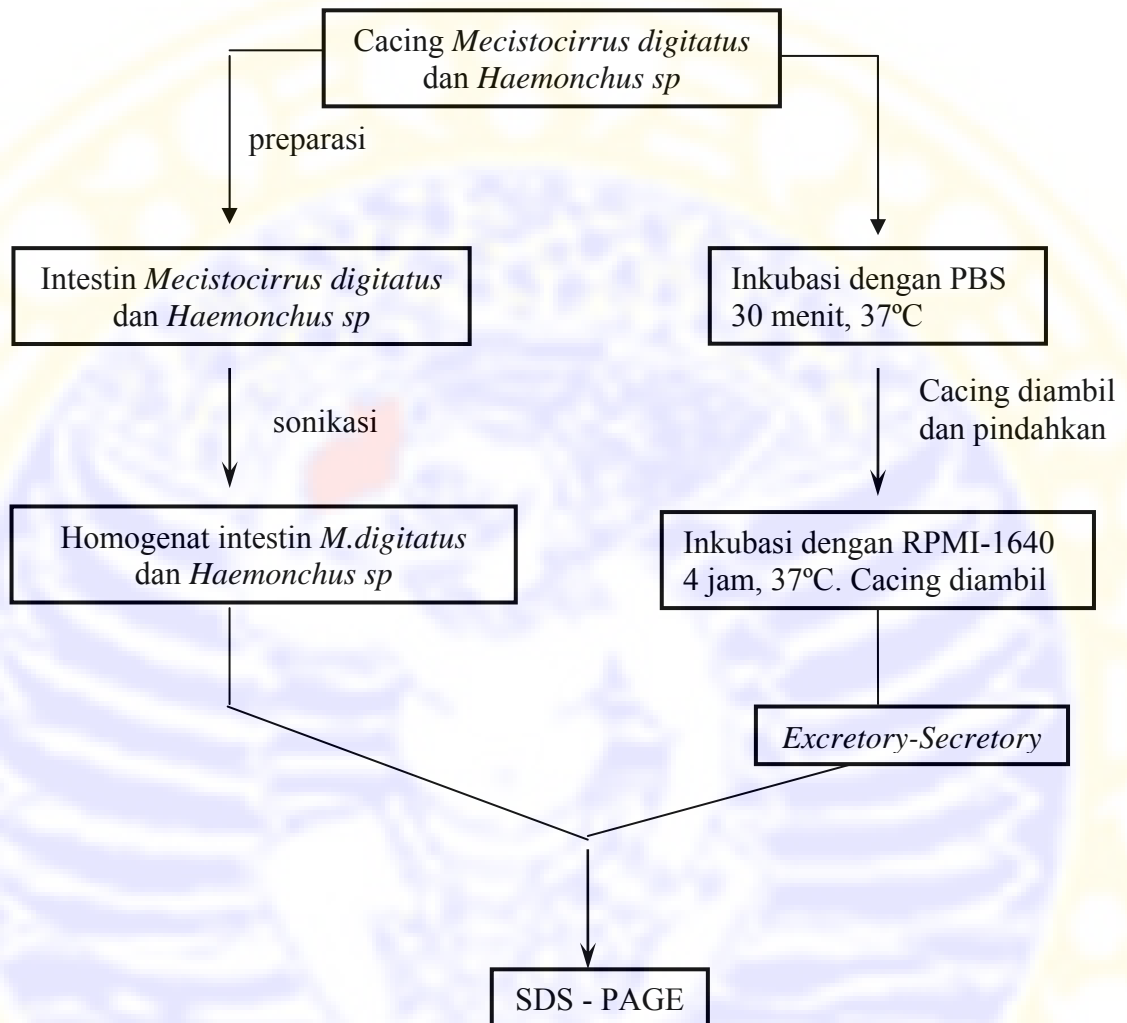
Cara pembacaan hasil SDS-PAGE, menurut Rantam (2003) berat molekul atau massa molekul relatif antigen dapat dicari dengan menghitung nilai Rf (*Retardation factor*) dari masing-masing pita dengan rumus:

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan protein dari tempat awal gel preparasi}}{\text{Jarak pergerakan warna dari tempat awal gel preparasi}}$$

Massa molekul relatif ditentukan dengan cara mengkonversi data nilai Rf dan MR dari protein standar. Nilai Rf disimbolkan dengan X, sedangkan Y adalah logaritma MR ($\log MR$) protein standar.

Nilai Rf dinyatakan sebagai nilai X (variabel bebas) dan nilai $\log BM$ atau $\log MR$ marker dalam satuan Da dinyatakan dengan nilai Y (variabel terikat), kemudian mencari persamaan regresi yang sesuai setelah persamaan regresi didapat, nilai X (Rf) sampel dimasukkan kedalam persamaan untuk mendapatkan nilai MR protein sampel.

3.5 Kerangka Operasional



Gambar 3.1 Kerangka Operasional

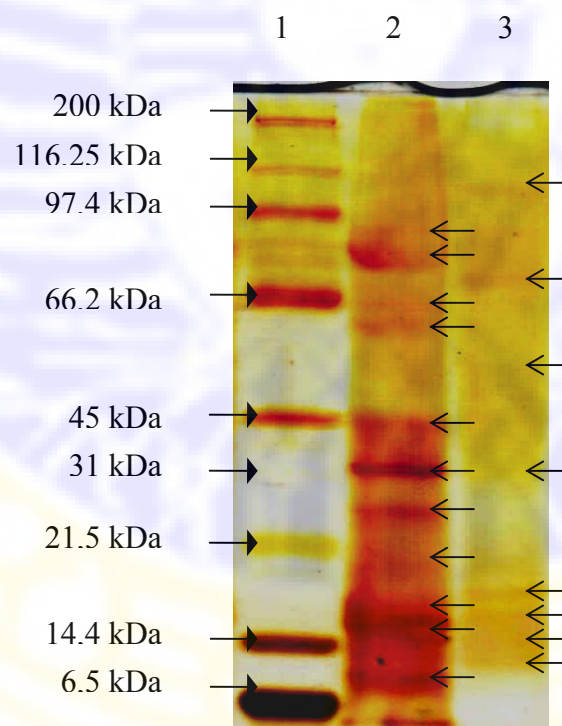
BAB IV

HASIL

Massa molekul relatif intestin dan *Excretory-Secretory (ES)* cacing *M. digitatus* dan cacing *Haemonchus sp.* pada penelitian ini dianalisis dengan teknik SDS-PAGE. Untuk menentukan massa molekul relatif (MR) protein-protein tersebut, dilakukan perhitungan menggunakan persamaan regresi antara nilai Rf dan log MR (Da) (Lampiran 1). Persamaan kubik $y = 5,432 + (-3,443)x + 6,065x^2 + (-4,467)x^3$. Panjang Gel 114 mm.

4.1 Analisis Protein Intestin dan *Excretory-Secretory (ES)* *M. digitatus*

Hasil analisis tersaji pada Gambar 4.1:



Gambar 4.1. Hasil analisis protein *M. digitatus* dengan teknik SDS-PAGE .
Keterangan. 1.Marker, 2. Intestin,3. *Excretory-Secretory*

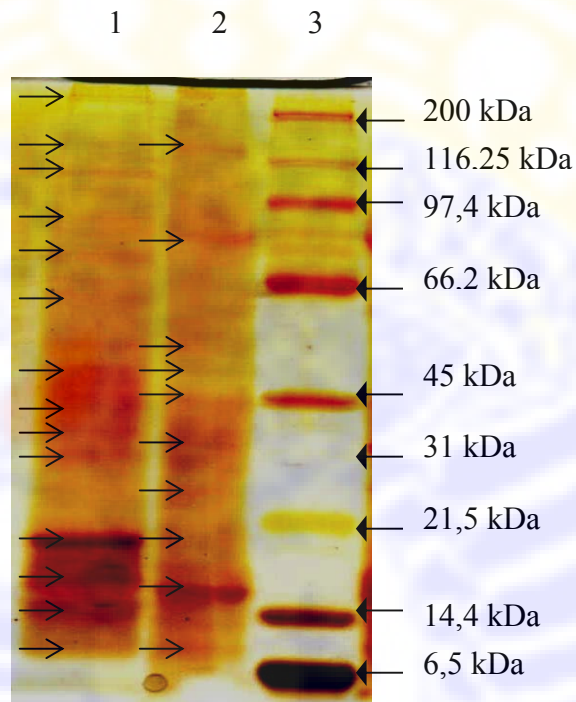
Hasil analisis intestin cacing *M. digitatus* didapat 11 massa molekul relatif (MR). Pada ES *M. digitatus* didapat delapan macam pita protein (Tabel 4.1). Secara lengkap hasil perhitungan MR protein intestin cacing *M. digitatus* dapat dilihat pada (Lampiran 2) dan ES cacing *M. digitatus* dapat dilihat pada (Lampiran 3).

Tabel 4.1 Hasil Perhitungan MR protein intestin dan ES cacing *M. digitatus*

No	Intestin	Excretory-Secretory
1	88.63	109,29
2	73.21	68,42
3	63.20	48,66
4	58.94	40,98
5	45.91	21,55
6	40.24	18,01
7	33.95	15,47
8	25.17	10,86
9	17.16	
10	14.66	
11	8.85	

4.2 Analisis Protein Intestin dan *Excretory-Secretory* (ES) *Haemonchus sp.*

Hasil analisis protein tersaji pada Gambar 4.2 :



Gambar 4.2. Hasil analisis protein *Haemonchus sp.* dengan teknik SDS-PAGE .
Keterangan. 1. *Excretory-Secretory*, 2. Intestin, 3. Marker.

Pada ES *Haemonchus sp.* diperoleh 14 macam pita protein, pada intestin *Haemonchus sp.* didapat sepuluh macam pita protein (Tabel 4.2). Secara lengkap hasil perhitungan MR protein ES cacing *Haemonchus sp.* dapat dilihat pada (Lampiran 4) dan intestin dapat dilihat pada (Lampiran 5).

Tabel 4.2. Hasil Perhitungan MR protein ES dan Intestin cacing *Haemonchus sp*

No	<i>Excretory-Secretory</i>	Intestin
1	221,56	141,97
2	149,14	76,91
3	109,29	52,98
4	97,84	50,06
5	68,42	45,91
6	59,94	39,50
7	52,23	33,11
8	49,35	25,17
9	45,91	17,16
10	41,71	8,23
11	25,17	
12	18,01	
13	13,08	
14	8,85	

Tabel 4.3 menunjukkan hasil penghitungan MR protein intestin dan ES cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* dewasa.

Tabel 4.3. Hasil Perhitungan MR protein intestin dan ES cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* dewasa.

No	Intestin <i>M. digitatus</i>	ES <i>M. digitatus</i>	Intestin <i>Haemonchus sp.</i>	ES <i>Haemonchus sp.</i>
1	88,63	109,29	141,97	221,56
2	73,21	68,42	76,91	149,14
3	63,20	48,66	52,98	109,29
4	58,94	40,98	50,06	97,84
5	45,91	21,55	45,91	68,42
6	40,24	18,01	39,50	59,94
7	33,95	15,47	33,11	52,23
8	25,17	10,86	25,17	49,35
9	17,16		17,16	45,91
10	14,66		8,23	41,71
11	8,85			25,17
12				18,01
13				13,08
14				8,85

BAB V

PEMBAHASAN

Pada intestin dari cacing *M. digitatus* yang dilakukan dengan teknik SDS-PAGE didapatkan 11 macam pita protein. Adapun 11 macam protein yang diperoleh dengan MR sebesar 88,63 kDa; 73,21 kDa; 63,20 kDa 58,94 kDa; 45,91 kDa; 40,24 kDa; 33,95 kDa; 25,17 kDa; 17,16 kDa; 14,66 kDa dan 8,85 kDa. Pada penelitian yang dilakukan Puspitawati dkk (2003) didapat lima macam protein, yang besarnya berturut-turut 87,35 kDa; 59,0 kDa; 48,51 kDa; 14,01 kDa dan 12,44 kDa. Hal ini mungkin saja terjadi karena perbedaan pada proses preparasi sampel, kadar protein dalam sampel, dan proses denaturasi sampel. Pada hasil penelitian Puspitawati dkk (2003) pita yang dihasilkan tebal dan tidak jelas, sedang pada penelitian ini lebih jelas, disamping itu pada penelitian Puspitawati dkk (2003) intestin cacing dewasa *M. digitatus* jantan dan betina dipisah, namun pada penelitian ini intestin jantan dan betina dijadikan satu.

Pada *Excretory-Secretory* (ES) dari cacing *M. digitatus* diperoleh delapan macam pita protein yang mempunyai MR berturut-turut 109,29 kDa; 68,42 kDa; 48,66 kDa; 40,98 kDa; 21,55 kDa; 18,01 kDa; 15,47 kDa dan 10,86 kDa. Selama ini belum didapatkan informasi mengenai MR ES dari cacing *M. digitatus*.

Hasil analisis protein *Excretory-Secretory* (ES) dari cacing *Haemonchus* sp. yang dilakukan dengan teknik SDS-PAGE menunjukkan adanya 14 macam pita protein yang mempunyai MR berturut-turut 221,56 kDa; 149,14 kDa; 109,29 kDa; 97,84 kDa; 68,42 kDa; 59,94 kDa; 52,23 kDa; 49,35 kDa; 45,91 kDa; 41,71

kDa ; 25,17 kDa; 18,01 kDa ;13,03 kDa ; 8,85 kDa. Pada penelitian Arisandy (2005) diperoleh lima protein yaitu 42,3 kDa; 39,3 kDa; 28,9 kDa; 24,4 kDa; 13,9 kDa. Dari hasil yang diperoleh terdapat perbedaan, hal ini karena pada penelitian Arisandy (2005) menggunakan marker dengan berat molekul 6,5 kDa sampai 45 kDa (low marker), sedangkan pada penelitian ini menggunakan marker dengan berat molekul 6,5 kDa sampai 200 kDa (*broad range*), disamping itu juga terdapat kesamaan pita yang dimaksud yaitu dengan MR 13 kDa. Menurut Kusnoto (2003) perhitungan menggunakan regresi akan menimbulkan kemungkinan adanya perbedaan relatif dalam menentukan jarak pita protein maupun panjang dan awal pengukuran gel, maka kemungkinan ada beberapa protein yang memiliki sedikit perbedaan dengan peneliti lain, tetapi sebenarnya yang dimaksud adalah pita protein yang sama.

Hasil analisis protein untuk mengetahui MR intestin dari cacing *Haemonchus sp.* yang dilakukan dengan teknik SDS-PAGE didapat sepuluh macam pita protein berturut-turut 141,97 kDa; 76,91 kDa; 52,98 kDa; 50,06 kDa; 45,91 kDa; 39,50 kDa; 33,11 kDa; 25,17 kDa; 17,16 kDa dan 8,23 kDa. Pada penelitian yang dilakukan Lastuti dkk (2001) diperoleh 13 protein yaitu 46 kDa; 41,2 kDa; 36 kDa; 27,4 kDa; 24 kDa; 19,6 kDa; 14,9 kDa; 11,4 kDa; 9 kDa; 7 kDa; 4 kDa; 3,8 kDa; 3,6 kDa, sedangkan pada whole cacing *Haemonchus sp* didapat 9 macam pita protein yaitu 49 kDa; 47,1 kDa; 35,7 kDa; 30,1 kDa; 25,3 kDa; 23,4 kDa; 18,6kDa; 16,7 kDa; 14,8 kDa (Amriasih, 2003).

Hasil elektroforesis ES dan intestin cacing *Haemonchus sp.* dewasa menunjukkan adanya empat kesamaan pita protein yang dimaksud yaitu protein dengan massa molekul relatif 52 kDa; 45 kDa; 25 kDa dan 8 kDa. Hanya saja pita protein pada ES *Haemonchus sp.* lebih jelas dan tebal dibanding pita protein intestin *Haemonchus sp.*, hal ini kemungkinan disebabkan oleh kadar atau jumlah isolat yang tinggi pada ES dibanding intestin *Haemonchus sp.* Untuk itu perlu dilakukan evaluasi pada kolekting sampel, teknik pemekatan dan dialisis sampel (Puspitawati, 2003)

Pada hasil analisis protein ES dan intestin dari cacing *M. digitatus* dewasa menunjukkan adanya kesamaan pita protein yaitu dengan MR 40 kDa. Pada ES *Haemonchus sp.* dan ES *M. digitatus* terdapat kemiripan dengan MR 109,29 kDa; 68,42 kDa dan 18,01 kDa, pada intestin dengan MR berkisar 45,91 kDa; 33,95 kDa; 25,17 kDa; 17,16 kDa dan 8,23 kDa. Hal ini mungkin saja terjadi karena *Haemonchus sp.* dan *M. digitatus* merupakan cacing yang mempunyai famili, habitat dan hospes yang sama. Hasil analisis cacing *M. digitatus* pita protein yang tampak lebih jelas dan tebal terdapat pada intestin, sedangkan *Haemonchus sp.* pada ES. Tebal tipisnya pita protein yang tercatat pada gel merupakan gambaran ekspresi suatu protein oleh gen penyandi protein tersebut, semakin tebal pita protein yang terlihat semakin banyak ekspresi protein oleh sel penyandi (Lastuti dkk., 2001).

Campuran protein yang dianalisis dengan PAGE hampir selalu terdiri dari molekul yang berbeda ukuran dan muatannya, bila diseparasi akan didapatkan beberapa zona atau pita yang berbeda. Seperti pada banyaknya pita

protein yang diperoleh dari intestin cacing *M. digitatus* dan cacing *Haemonchus sp.*

Beberapa faktor yang berpengaruh dalam separasi yaitu konsentrasi *acrylamide* dan *bisacrylamide*, pH, kekuatan ion, gradient potensial, suhu dan waktu *running* (Sutiman dkk., 1996). Berdasarkan hasil pengamatan terhadap hasil *running* SDS-PAGE menunjukkan bahwa keberhasilan *running* tersebut dipengaruhi beberapa hal antara lain kebersihan isolat, tingkat kemurnian isolat, dan kadar protein dalam homogenat. Kebersihan isolat mempengaruhi kualitas pita protein yang terbentuk pada gel. Pita yang terlihat tajam dan terang akan memudahkan analisis protein dan dokumentasi. Kemurnian sampel dan kadar protein sampel yang baik akan menghasilkan pita protein yang baik dan jelas sehingga dapat memudahkan analisis massa molekul relatif (MR) pada pita yang terbentuk (Kusnoto., 2003).

Protein dengan berat molekul besar kemungkinan dapat digunakan sebagai bahan antigen untuk pengembangan bahan diagnostik dan vaksin sub-unit *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* Menurut Tizzard (1982) bahwa molekul besar jauh lebih baik berlaku sebagai antigen dari pada molekul kecil, meskipun sifat antigenitas ditentukan juga oleh keasingan dan kompleksitas fisikokimiawi yang lain seperti kekuatan dan kerumitan makromolekul. Menurut Bellanti (1993) zat yang imunogenik selalu antigenik, tetapi antigen tidak selalu imunogenik.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil elektroforesis intestin cacing *M. digitatus* dengan SDS-PAGE didapat 11 macam pita protein dengan MR sebesar 88,63 kDa; 73,21 kDa; 63,20 kDa 58,94 kDa; 45,91 kDa; 40,24 kDa; 33,95 kDa; 25,17 kDa; 17,16 kDa; 14,66 kDa dan 8,85 kDa.
2. Pada ES *M. digitatus* didapat delapan macam pita protein yang mempunyai MR berturut-turut 109,29 kDa; 68,42 kDa; 48,66 kDa; 40,98 kDa; 21,55 kDa; 18,01 kDa; 15,47 kDa dan 10,86 kDa
3. Pada ES *Haemonchus sp.* didapat 14 macam pita protein yang mempunyai MR berturut-turut 221,56 kDa; 149,14 kDa; 109,29 kDa; 97,84 kDa; 68,42 kDa; 59,94 kDa; 52,23 kDa; 49,35 kDa; 45,91 kDa; 41,71 kDa ; 25,17 kDa; 18,01 kDa ;13,03 kDa ; 8,85 kDa.
4. Pada intestin *Haemonchus sp.* diperoleh sepuluh macam pita protein yang mempunyai massa molekul relatif berturut-turut 141,97 kDa; 76,91 kDa; 52,98 kDa; 50,06 kDa; 45,91 kDa; 39,50 kDa; 33,11 kDa; 25,17 kDa; 17,16 kDa dan 8,23 kDa.
5. Pada ES *M. digitatus* dan ES *Haemonchus sp.* terdapat kemiripan dengan MR 109,29 kDa; 68,42 kDa dan 18,01 kDa, pada intestin dengan MR berkisar 45,91 kDa; 33,95 kDa; 25,17 kDa; 17,16 kDa dan 8 kDa.

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap fraksi-fraksi protein dari intestin dan ES cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp* agar diperoleh protein yang spesifik sehingga dapat dijadikan sebagai bahan pengembangan teknik diagnosis laboratoris Mecistocirrusis dan Haemonchosis secara imunologis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., and Pober, J.S. 2000. Cellular and Molecular Immunology. 4th ed. Saunders Company. Philadelphia.
- Amriasih, K. 2003. Identifikasi Fraksi Whole Protein Cacing *Haemonchus contortus* Dewasa. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Arisandy, D. 2005. Profil Protein Ekskresi-sekresi *Haemonchus contortus* Dewasa yang Imunogenik dengan Teknik Immunoblotting. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Atmowisastro, S. dan S. Kusumamihardja.1989. Pengaruh “deworming” pada Daya Reproduksi Ternak Domba dan Kambing di Tujuh Desa Lingkar Kampus Darmaga Kabupaten Bogor. Maj. Parasitol. Ind. 3(3&4):55-60.
- Bellanti, J. A. 1993. Immunologi III. Diterjemahkan oleh Prof. Dr. A. Samik Wahab. Gajah Mada University Press. Hal. 86-95.
- Berijaya dan A.Nurhadi. 1995. Infeksi cacing nematoda gastro-intestinal pada domba di perkebunan karet. Maj. Parasitol. Ind. 8(2):7-13.
- Davis, L., M. Kuehl and Battey. 1994. Basic Molecular in Biology. Appleton and Lange Press. Connecticut. 616-689.
- Dunn A. M. 1978. Veterinary Helminthology, 2ndEd. William Heinemann Medical Books Ltd. London.
- Jithendran KP, and Bhat TK.1999. Epidemiology of parasitoses in dairy animals in the North West Humid Himalayan region of India with particular reference to gastrointestinal nematodes. Trop. Anim. Health Prod. 31(4): 205-214.
- Kodyman F,N., Schallig, H. D., Van Leeuwen, M.A., Mac Kellar, A., Huntly, J. F., Cornelissen, A. W., Vervelde, L. 2000. Protection in lambs vaccinated *Haemonchus contortus* antigens is age related, and correlates with IgE rather than IgG₁ antibody. Parasite Immunol: 22(1): 13-20.
- Kusnoto, 2003 Isolasi dan Karakterisasi Protein Immunologi Larva Stadium II *Toxocara cati* Isolat local. **Tesis**. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga. Hal. 3: 11-13: 14.
- Kusumamihardja, S. 1993. Parasit dan Parasitosis pada Hewan Ternak dan Hewan Piaraan Di Indonesia. PAU Bioteknologi, IPB, Bogor.

- Kusumamihardja, S. 1998. Pengaruh Pemberian Anthelmintik pada Peningkatan Produksi susu sapi perah di Pengalengan Jawa Barat. Prosiding Semisar Nasional V. Bogor. 319-323.
- Kusumaningsih, A. 1997. Kontrol biologi terhadap penyakit cacing nematoda saluran pencernaan ruminansia dengan Kapang Nematofagus. Maj. Parasitol. Ind. 10(2).
- Lastuti N.D.R., Mufasirin, Aksono HP.2001. Profil Protein Intestin *Haemonchus contortus* Dewasa. Laporan Penelitian.Lembaga Penelitian Unair.Surabaya.
- Levine. 1990. Parasitologi Veteriner. Diterjemahkan oleh Gatot Ashadi. Gajah Mada University Press. 214-215, 320-323.
- Lodish, H., D. Baltimore, A. Berk, S.C. Zipusky, P. Matsudaria and Darnel. 1995. Molecular Cell Biology. Thirth Eddition. Scientific American Book. New York.
- Meyer, R.J., and J.H. Walker. 1987. Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology. Academic Press Inc. Harcourt Brace Jovanich Publisher. 61-95, 179, 258
- Ogawa T, Ishikawa M, and Inoue T. 1997. Trends of Epidemics of Bovine Infectious Diseases in Japan During 1987-1993. <http://ss.nlah.affrc.go.jp/NIAH/epidemic-e/bov-87-89.html>
- Patterson R. M 1989. The Immune Resposn to Helminth Parasites. In: ELISA Tecnology in Diagnosis and Research. Graham and Burgers Eds. James Cook University of North Queensland, Australia. Pp: 279-297.
- Puspitawati H. 2001^a. Profil Morfologi Cacing *Haemonchus sp.* dan *Mecistocirrus digitatus* dengan Pewarnaan *Carmin*, dan *Scanning Electrone Microscope* (SEM). **Tesis**. Program Pasca Sarjana Unair
- Puspitawati H. 2001^b. *Cacing Mecistocirrus digitatus* dan *Haemonchus sp.* pada sapi Madura dan Peranakan Ongole (PO) di RPH Pegirian Surabaya. Med. Ked. Hewan Unair. 2001. 17(1)
- Puspitawati H, Mufasirin, Sri Subekti 2003. Profil Protein Intestin Cacing *Mecistocirrus digitatus* Dewasa. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga
- Rantam, F. A. 2003. Metode Immunologi. Airlangga University Press. Surabaya.

- Rybicki and M. Purves. 1996. Enzyme-Assited Immunoelectroblotting (IEB or Western Blooting). Departement of Microbiology. University of Cape Town. ([http:// web. Uct.ac.za?microbiology/western.html](http://web.Uct.ac.za?microbiology/western.html))
- Soulsby, E., J. L. 1986. Helminth, Artropode and Protozoa of Domestic Animals. Bailliere Tindall and Cassell London 7th Ed. P 231-257
- Subekti, S., R.B. Soedjoko, S. Soehartojo dan N.D.R. Lastuti. 1993. Pola beternak sapi perah dan pengaruhnya terhadap infeksi cacing (Helminthiasis) di daerah dataran tinggi dan dataran rendah di Wilayah Propinsi Jawa Timur. Media Kedokteran Hewan Vol. 9 No.1: 44-51
- Subekti, S., Halimah, P., Sri Mumpuni. 2001. Ultrastruktur dan Morfologi Beberapa Spesies *Haemonchus sp.* Dari Kambing/Domba yang Dipotong di RPH Pegirian Kotamadya Surabaya. Lembaga Penelitian Unair
- Sujoni. 2002. Uji *In Vitro* Ekstrak Buah Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Mortalitas Cacing *Mecistocirrus digitatus*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sutiman B., Sumitro, Sri Rahayu, Fatiyah, Sri Widyarti, Esti. 1996. Diktat Kuliah dan praktikum kursus teknik-teknik dasar analisis protein dan DNA. Universitas Brawijaya. Malang.
- Tizard Ian R. 1982. An Introduction of Veterinary Immunology. WB Saunders Company. Diterjemahkan oleh Masduki Partariredja dan Soehardjo Hardjosworo. 1987. Airlangga University Press. Hal 303-324
- Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., Jennings, F.W. 1994. Veterinary Parasitology. The University of Glasgow. Scotland.
- Van Aken D, Vercrysse J, Dargantes AP, Lagapa JT, Raes S, Shaw DJ. 1997. Pathophysiological aspect of *Mecistocirrus digitatus* (Nematoda : *Trichostrongylidae*) infections in calves. Vet. Parasitol. 69 (3-4) : 255-263
- Van Aken D, Vercrysse J, Dargantes AP, Lagapa JT, Shaw DJ. 1998. Epidemiology of *Mecistocirrus digitatus* and gastrointestinal nematode infections in cattle of Mindanao, Philipines. Vet. Parasitol Jan. 15; 74 (1) : 29-41
- Wongsosupantio S. 1990. Pedoman Kuliah Elektroforesis Gel Protein. Pusat Antar University-Bioteknologi UGM. Yogyakarta. Hal 8-26
- Wulan.R. 2005. Daya Anthelmintik Perasan Rimpang Kunyit (*Curcuma domestika*) terhadap Cacing *Mecistocirrus digitatus* Secara *In Vitro*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.

RINGKASAN

Novia Retno Prihatiningtyas. “ Profil Protein Intestin dan *Excretory-Secretory* Cacing *Mecistocirrus digitatus* dan *Haemonchus sp* Dewasa “.

Penelitian ini dilaksanakan dibawah bimbingan Dr. Bambang Sektiari L, DEA., Drh sebagai pembimbing pertama dan Halimah Puspitawati, M.Kes., Drh sebagai pembimbing kedua.

Cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* merupakan cacing nematoda saluran pencernaan yang banyak menginfeksi ruminansia. Cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* dapat ditemukan dalam abomasum sapi, kerbau, domba dan kambing. Gejala klinis *Mecistocirrus* mempunyai kemiripan dengan *Haemonchosis* yaitu dapat menyebabkan anemia, penurunan berat badan dan dapat mengakibatkan kematian sehingga diagnosis nya sulit. Diagnosis dengan pemeriksaan feses membutuhkan waktu yang lama.

Untuk mengatasi masalah ini diperlukan diagnosis yang lebih dini dan spesifik pada *Mecistocirrus* dan *Haemonchosis* dengan mengembangkan uji serologis dengan menggunakan protein spesifik dari *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* Sebagai sumber protein yang dapat digunakan intestin dan ES cacing dewasa *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.*

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil protein intestin dan ES *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* dewasa yang dinyatakan dengan massa molekul relatif (MR). Cacing *M. digitatus* didapatkan dari bagian abomasum sapi dan cacing *Haemonchus sp.* di abomasum kambing atau domba. Homogenat intestin

dan ES cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* yang didapat digunakan untuk analisis protein dengan teknik SDS-PAGE (*sodium dodecyl sulphate*). SDS-PAGE adalah suatu proses pemurnian dan pemisahan protein antigen berdasarkan massa molekul relatif (MR).

Hasil analisis SDS-PAGE intestin cacing *M. digitatus* didapat 11 massa molekul relatif (MR) berturut-turut 88,63 kDa; 73,21 kDa; 63,20 kDa 58,94 kDa; 45,91 kDa; 40,24 kDa; 33,95 kDa; 25,17 kDa; 17,16 kDa; 14,66 kDa dan 8,85 kDa. Pada *Excretory-Secretory* (ES) *M. digitatus* didapat delapan macam pita protein yang mempunyai MR berturut-turut 109,29 kDa; 68,42 kDa; 48,66 kDa; 40,98 kDa; 21,55 kDa; 18,01 kDa; 15,47 kDa dan 10,86 kDa. Pada *Excretory-Secretory* (ES) *Haemonchus sp.* didapat 14 macam pita protein yang mempunyai MR berturut-turut 221,56 kDa; 149,14 kDa; 109,29 kDa; 97,84 kDa; 68,42 kDa; 59,94 kDa; 52,23 kDa; 49,35 kDa; 45,91 kDa; 41,71 kDa ; 25,17 kDa; 18,01 kDa ;13,03 kDa ; 8,85 kDa. Pada intestin *Haemonchus sp.* didapat sepuluh macam pita protein yang mempunyai massa molekul relatif berturut-turut 141,97 kDa; 76,91 kDa; 52,98 kDa; 50,06 kDa; 45,91 kDa; 39,50 kDa; 33,11 kDa; 25,17 kDa; 17,16 kDa dan 8,23 kDa. Pada ES *M. digitatus* dan ES *Haemonchus sp.* terdapat kemiripan dengan MR 109,29 kDa; 68,42 kDa dan 18,01 kDa, pada intestin dengan MR berkisar 45,91 kDa; 33,95 kDa; 25,17 kDa; 17,16 kDa dan 8 kDa.

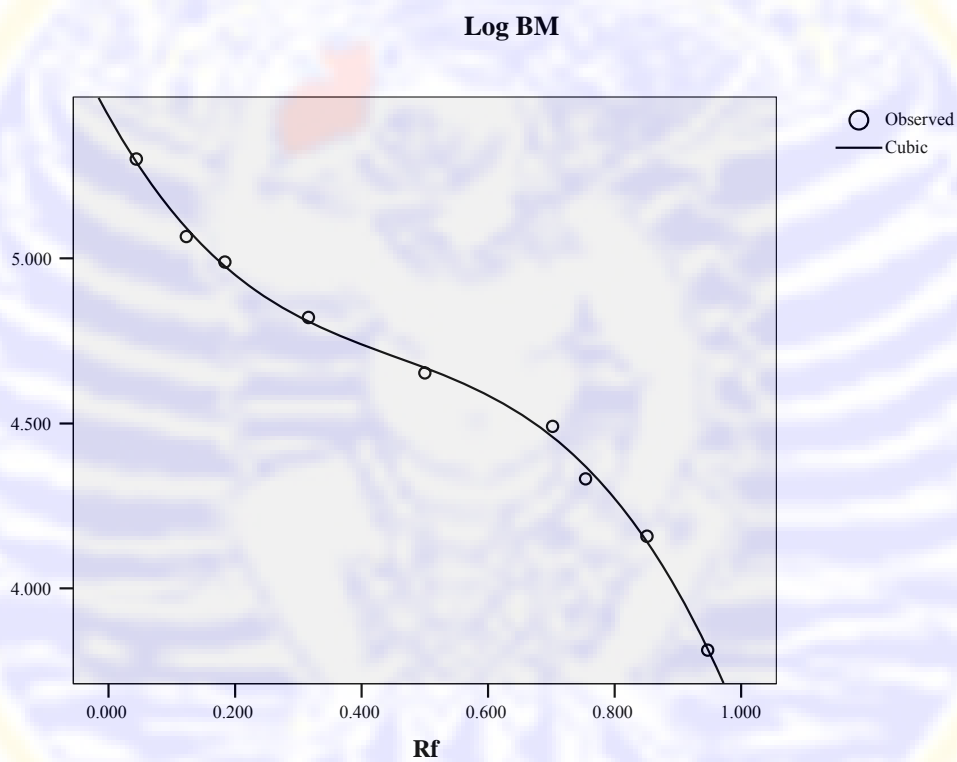
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap fraksi-fraksi protein dari intestin dan *Excretory-Secretory* (ES) cacing *M. digitatus* dan *Haemonchus sp.* Agar diperoleh protein

yang spesifik sehingga dapat dijadikan sebagai bahan pengembangan teknik diagnosis laboratoris *Mecistocirrusis* dan *Haemonchosis* secara imunologis.

Lampiran 1. Persamaan Kubik untuk Menentukan Hubungan Antara Nilai Rf dengan Massa Molekul Relatif

Panjang gel 114 mm, Rf = *Retardation factor*

Curve Fit Marker



Cubic

Model Summary

R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
,999	,998	,996	,028

The independent variable is Rf.

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Regression	1,800	3	,600	741,474	,000
Residual	,004	5	,001		
Total	1,804	8			

The independent variable is Rf.

Coefficients

	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
	B	Std. Error	Beta		
Rf	-3,443	,345	-2,447	-9,990	,000
Rf ** 2	6,065	,801	4,313	7,576	,001
Rf ** 3	-4,467	,526	-2,934	-8,486	,000
(Constant)	5,432	,036		149,579	,000

Persamaan kubik $y = 5,432 + (-3,443)x + 6,065x^2 + (-4,467)x^3$.

Lampiran 2. Hasil Penghitungan MR protein *intestin* cacing *M. digitatus*

Jarak Gel (mm)	Rf	Log MR (Da)	MR (Da)	MR (kDa)
23	0.202	4.9475	88633.93	88.63
30	0.263	4.8646	73214.99	73.21
37	0.325	4.8007	63197.51	63.20
41	0.360	4.7704	58938.63	58.94
58	0.509	4.6619	45909.23	45.91
66	0.579	4.6047	40243.89	40.24
74	0.649	4.5308	33946.89	33.95
84	0.737	4.4009	25170.98	25.17
93	0.816	4.2344	17155.37	17.16
96	0.842	4.1660	14655.48	14.66
104	0.912	3.9471	8853.19	8.85

Lampiran 3. Hasil Penghitungan MR protein ES cacing *M. digitatus*

Jarak Gel (mm)	Rf	Log MR (Da)	MR (Da)	MR (kDa)
17	0.149	5.0386	109294.9	109.29
33	0.289	4.8352	68422.67	68.42
54	0.474	4.6872	48663.13	48.66
65	0.570	4.6126	40982.65	40.98
88	0.772	4.3335	21552.62	21.55
92	0.807	4.2556	18013.58	18.01
95	0.833	4.1896	15473.91	15.47
101	0.886	4.0358	10859.25	10.86

Lampiran 4. Hasil Penghitungan MR protein ES cacing *Haemonchus sp*

Jarak Gel (mm)	Rf	Log MR (Da)	MR (Da)	MR (kDa)
3	0.026	5.3455	221564.4	221.56
10	0.088	5.1736	149142.0	149.14
17	0.149	5.0386	109294.9	109.29
20	0.175	4.9905	97836.8	97.84
33	0.289	4.8352	68422.6	68.42
40	0.351	4.7777	59937.6	59.94
49	0.430	4.7179	52227.5	52.23
53	0.465	4.6933	49351.4	49.35
58	0.509	4.6619	45909.2	45.91
64	0.561	4.6202	41706.1	41.71
84	0.737	4.4009	25170.9	25.17
92	0.807	4.2556	18013.5	18.01
98	0.86	4.1165	13076.76	13.08
104	0.91	3.9471	8853.19	8.85

Lampiran 5. Hasil Penghitungan MR protein intestin cacing *Haemonchus sp.*

Jarak Gel (mm)	Rf	Log MR (Da)	MR (Da)	MR (kDa)
11	0.096	5.1522	141971.1	141.97
28	0.246	4.8860	76913.04	76.91
48	0.421	4.7241	52978.54	52.98
52	0.456	4.6995	50061.06	50.06
58	0.509	4.6619	45909.23	45.91
67	0.588	4.5966	39500,26	39.50
75	0.658	4.5200	33113.11	33.11
84	0.737	4.4009	25170.97	25.17
93	0.816	4.2344	17155.37	17.16
105	0.921	3.9156	8233.79	8.23

Lampiran 6. Dokumentasi penelitian



Sonikator



Shaker



Dissecting Microscope



**Keterangan : A = Alat Elektroforesis Model BIO-RAD
B = Chamber untuk Running**

