

IDENTIFIKASI PROFIL PROTEIN ISOLAT *TRYPANOSOMA EVANSI* DENGAN METODE SDS-PAGE

Ichwan Yuniarto¹, Nur Jannah¹ dan Umi Kulsum²

Balai Veteriner Banjarbaru

ABSTRAK

Surra merupakan salah satu penyakit menular yang disebabkan oleh *Trypanosoma evansi* dan merugikan secara ekonomis di dunia peternakan dan veteriner, terutama di negara-negara Afrika, Amerika Selatan, Timur Tengah dan Asia. Pada tahun 2010-2011 Surra di Indonesia telah mengakibatkan kematian 1159 ekor kuda, 600 ekor kerbau dan seekor sapi. Menurut hasil surveilans Balai Veteriner Banjarbaru tahun 2012 di Kalimantan terjadi 14 kasus Surra, tahun 2013 terjadi 25 kasus dan pada tahun 2014 terjadi 26 kasus Surra melalui pemeriksaan ulas darah. Protein mempunyai peranan penting dalam proses biologi karena protein merupakan komponen utama penyusun sel makhluk hidup. Identifikasi profil protein menggunakan *Soluble Trypanosoma Antigen* (S_{Tr}Ag) tiga isolat *Trypanosoma evansi* menggunakan metode SDS PAGE 12 % dengan pewarnaan *Commassie Brilliant Blue*. Hasilnya menunjukkan bahwa tiga isolat tersebut mempunyai profil protein yang berbeda meskipun satu spesies yang sama. Isolat A terdapat 14 protein dengan BM 174,76 – 7,17 kD, isolat B teridentifikasi 15 protein dengan BM 143,11 – 7,17 kD dan isolat C teridentifikasi 13 protein dengan BM 90,02 – 7,12 kD.

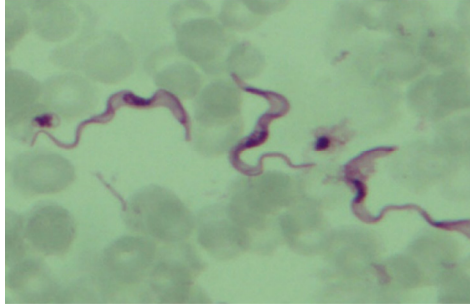
Kata kunci : *Trypanosoma evansi*, Surra, profil protein, SDS PAGE.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Surra merupakan penyakit yang disebabkan oleh parasit darah *Trypanosoma evansi*. Parasit ini yang tersebar luas di kawasan Asia Tenggara, termasuk di benua Afrika dan Amerika (Davison *et al.* 2000; Abdel-Rady, 2008). Surra dapat menyerang jenis ternak sapi, kerbau, onta, kuda, keledai, domba, kambing, selain itu juga menyerang anjing, kucing, gajah, coati, capybara dan marsupial (Stephen, 1986).

Kasus Surra di Pulau Sumba, Provinsi Nusa Tenggara Timur pada tahun 2010 – 2011 mengakibatkan kematian sebanyak 1760 ekor ternak, terdiri dari kuda 1159 ekor, kerbau 600 ekor dan sapi 1 ekor (Ditkeswan 2012). Menurut hasil surveilans Balai Veteriner Banjarbaru tahun 2012 di Kalimantan terjadi 14 kasus Surra, tahun 2013 terjadi 25 kasus dan pada tahun 2014 terjadi 26 kasus Surra berdasarkan hasil pemeriksaan ulas darah.



Sumber : Dokumentasi Balai Veteriner Banjarbaru, 2012.

Gambar 1. *Trypanosoma evansi* pada ulas darah sapi bali dengan pewarnaan Giemsa.

Protein mempunyai peranan penting dalam proses biologi karena protein merupakan komponen utama penyusun sel makhluk hidup termasuk *Trypanosoma evansi*. Protein berfungsi sebagai katalisator, sebagai pengangkut dan penyimpan molekul lain seperti oksigen, mendukung secara mekanis sistem kekebalan (imunitas) tubuh, menghasilkan pergerakan tubuh, sebagai transmitor gerakan syaraf dan mengendalikan pertumbuhan dan perkembangan (Katili, 2009). Protein ini memainkan berbagai peranan dalam benda hidup dan bertanggung jawab untuk fungsi dan ciri-ciri benda hidup. Singh *et al* (1995) juga telah melaporkan adanya keragaman profil protein pada membran sel dari tujuh isolat *T. evansi* dari India bagian utara. Isolat dari Indonesia juga mempunyai profil protein yang berbeda. Hal ini dilaporkan oleh Yuniarto (2016) bahwa adanya variasi profil protein isolat dari beberapa wilayah kasus Surra di Indonesia.

Kegiatan ini bertujuan untuk melakukan identifikasi profil protein isolat *Trypanosoma evansi* dari wilayah yang berbeda. Hasil dari kegiatan ini diharapkan dapat menjadi informasi dasar mengenai profil protein isolat *Trypanosoma evansi*.

BAHAN DAN METODE

Kegiatan ini menggunakan tiga isolat *Trypanosoma evansi* dari wilayah kasus Surra di Indonesia (Tabel 1) yang telah diproses menjadi *Soluble Trypanosoma Antigen* (S_{Tr}Ag) dan dilakukan di Laboratorium Parasitologi Balai Veteriner Banjarbaru pada bulan Mei 2016. Identifikasi profil protein *Soluble Trypanosoma Antigen* (S_{Tr}Ag) *Trypanosoma evansi* dilakukan menggunakan teknik *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis* / SDS-PAGE (Laemmli, 1970).

Tabel 1. Isolat *Trypanosoma evansi* dari wilayah kasus Surra di Indonesia

No.	Kode	Asal Daerah	Hewan	Tahun
1	A	Kabupaten Hulu Sungai Utara, Provinsi Kalimantan Selatan	Kerbau rawa	2013
2	B	Kabupaten Sumba Timur, Provinsi Nusa Tenggara Timur	Kerbau	2012
3	C	Kabupaten Sumba Timur, Provinsi Nusa Tenggara Timur	Kerbau	2012

Kuantifikasi Protein

Konsentrasi protein masing – masing STrAg diukur menggunakan metode Bradford (Bradford, 1976) yang telah dimodifikasi. Protein standar dibuat menggunakan *Bovine Serum Albumin*, dengan konsentrasi 0; 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,50 mg/ml. STrAg dan protein standar masing – masing diambil 10 µl dan dilarutkan dalam 190 µL larutan Bradford. Setelah dilakukan homogenisasi, 80 µl dari setiap protein standar dan protein sampel (STrAg) dimasukkan ke *microplate* dan dibaca menggunakan *ELISA Reader* dengan panjang gelombang 620 nm. Nilai absorbansi kemudian dikonversi menjadi kadar protein.

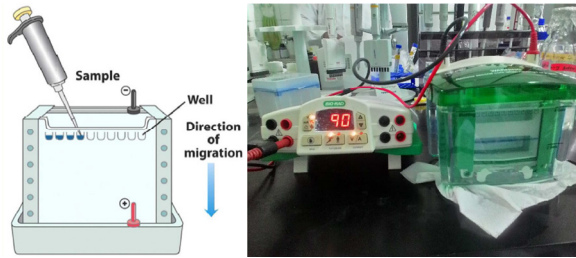
Persiapan Sampel

Sampel / STrAg dengan konsentrasi 10 µg dicampur dengan sampel buffer (*Laemmli sample buffer + 2-mercaptoethanol*) dengan perbandingan 1 : 1 ke dalam *microtube*. Homogenisasi sampel dengan menggunakan mikropipet.

Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis/SDS-PAGE

Gel 12 % (*TGX Stain-Free™ Fastcast Acrylamide, 12%*) dipasang pada *casting frame* alat elektroforesis kemudian ditambahkan *running buffer (Tris/Glycine/SDS buffer)*. Sampel yang telah disiapkan dan *marker* dengan batasan berat molekul 250 – 10 kD (*Precision plus protein standard dual color*) dimasukkan ke dalam *well*. Elektroforesis dijalankan dengan tegangan 110 volt selama 90 menit atau setelah warna biru turun seluruhnya.

Gel hasil elektroforesis dilepaskan pelan-pelan ke dalam cawan petri yang berisi larutan pewarna (*Commassie Brilliant Blue*) kemudian digoyang selama 15 menit atau sampai timbul pita-pita proteinnya. Selanjutnya, larutan pewarna dibuang dan diganti dengan larutan *destaining* (digoyang sampai gel jernih) kemudian setelah gel jernih larutan *destaining* diganti dengan aquades.



Gambar 2. Proses memasukkan sampel ke dalam *well* (gambar kiri), proses running SDS PAGE 12 % dengan *mini protean tetra system* (gambar kanan).

Berat Molekul (BM) Protein

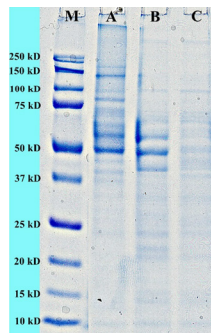
Penentuan berat molekul dilakukan dengan menghitung nilai Rf (*Retention factor*) dari masing-masing pita (*band*) dengan rumus seperti di bawah ini :

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

Formula yang diperoleh dapat berupa regresi linier, kuadratik atau kubik dan digunakan untuk menghitung berat molekul pada sampel dengan menentukan nilai Rf sampel (X) dan berat molekul sampel (Y). Selanjutnya, hasil dimasukkan ke *software* penghitungan berat molekul (*Rf converter*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi profil protein tiga isolat *Trypanosoma evansi* dari wilayah kasus Surra yang berbeda di Indonesia dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Profil protein dari tiga isolat yang berbeda (M : protein standar 250 – 10 kD; A : isolat dari Kabupaten Hulu Sungai Utara, Provinsi Kalimantan Selatan; B dan C : isolat dari Kabupaten Sumba Timur, Provinsi Nusa Tenggara Timur) pada SDS PAGE 12% dengan pewarnaan *Commasie Brilliant Blue*.

Pada gambar 3 secara umum terlihat jelas bahwa dari tiga isolat *Trypanosoma evansi* menunjukkan profil protein yang berbeda. Meskipun demikian perbedaan itu tidak menjadikan isolat tersebut berbeda spesies tetapi masih satu spesies yang sama yaitu *Trypanosoma evansi*. Hasil ini tidak berbeda dengan Uche *et al.* (1992) yang melaporkan bahwa adanya perbedaan profil protein *Trypanosoma evansi* dari tiga negara yang berbeda yaitu isolat dari Indonesia, Mesir dan Yaman dengan menggunakan metode SDS PAGE. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Yuniarto (2016) bahwa terdapat perbedaan profil protein dari sembilan isolat yang diisolasi dari hewan dan wilayah yang berbeda di Indonesia. Isolat *Trypanosoma evansi* yang diisolasi dari wilayah yang sama (kabupaten Serang, Banten) dan dalam waktu yang bersamaan (tahun 2014) mempunyai profil protein yang berbeda (Yuniarto, 2016).

Perbedaan dapat dilihat dari jumlah protein (garis/pita) yang teridentifikasi dan ketebalan protein pada tiap – tiap isolat. Isolat A terdapat 14 protein dengan BM 174,76 – 7,17 kD, Isolat B teridentifikasi 15 protein dengan BM 143,11 – 7,17 kD dan isolat C sebanyak 13 protein teridentifikasi dengan BM 90,02 – 7,12 kD. Isolat A mempunyai protein mayor (tebal) lebih banyak dibandingkan isolat B sedangkan isolat hanya mempunyai protein minor (tipis). Perbedaan ini lebih berkaitan dengan regulasi ekspresi protein terkait fisiologi individual dari setiap isolat. Mengingat protein merupakan komponen utama penyusun dan komponen fungsional makhluk hidup sehingga dengan melihat profil protein ketiga isolat tersebut dapat dipastikan bahwa fungsi fisiologi individual dari ketiga isolat tidak sama. Hal ini dapat dikatakan bahwa profil protein yang berbeda menyebabkan adanya variasi sifat maupun tingkah laku individu dari masing – masing isolat meskipun masih dalam satu spesies yang sama.

Dalam beberapa penelitian terhadap isolat *Trypanosoma evansi* dari Indonesia menunjukkan adanya variasi spesies atau dapat juga disebut subpopulasi yang diamati dari pola parasitemia dan kecepatan membunuh inang serta respon terhadap trypanosidal yang berbeda. Subekti *et al.* (2013) membagi pola biologis *Trypanosoma evansi* berdasarkan perbedaan pola parasitemia dan patogenesis pada mencit menjadi tiga kategori yaitu biotipe 1 mempunyai kemampuan membunuh, periode prepaten dan peningkatan parasitemia paling cepat, biotipe 2 dan biotipe 3 kemampuan membunuh, periode prepaten dan peningkatan parasitemianya lebih lama dari pada biotipe 1. Biotipe 2 mempunyai ciri adanya parasitemia undulan dan biotipe 3 mampu mempertahankan parasitemia tinggi dalam waktu lama tanpa adanya parasitemia undulan. Subekti *et al.* (2015) melaporkan bahwa isolat Indonesia dari wilayah yang berbeda menunjukkan kepekaan yang bervariasi terhadap trypanosidal. Isolat dari Kalimantan Selatan hanya efektif dengan pengobatan *suramin* sedangkan isolat dari wilayah Lampung, Banten dan

Nusa Tenggara Timur masih dapat menggunakan trypanosidal selain *suramin* yaitu *diminazene diaceturate* dan *melarsomine dihydrochloride*.

KESIMPULAN

Profil protein tiga isolat dari wilayah kasus Surra yang berbeda di Indonesia yaitu isolat A dari Kabupaten Hulu Sungai Utara, Provinsi Kalimantan Selatan terdapat 14 protein dengan BM 174,76 – 7,17 kD sedangkan dua isolat dari Kabupaten Sumba Timur, Provinsi Nusa Tenggara Timur yaitu isolat B teridentifikasi 15 protein dengan BM 143,11 – 7,17 kD dan isolat C ada 13 protein yang teridentifikasi dengan BM 90,02 – 7,12 kD.

Hasil kegiatan ini menunjukkan adanya perbedaan profil protein dari ketiga isolat yang berarti bahwa ketiga isolat tersebut juga mempunyai fisiologi yang berbeda meskipun masih dalam satu spesies yang sama yaitu *Trypanosoma evansi*.

Identifikasi profil protein dapat menunjukkan adanya variasi individu atau subpopulasi dalam satu spesies yang sama.

SARAN

Dengan adanya variasi profil protein *Trypanosoma evansi* diharapkan dapat menjadi informasi penting dalam menetapkan langkah – langkah pengendalian Surra di Indonesia.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang variasi profil protein dari masing – masing isolat *Trypanosoma evansi* yang dapat dijadikan bahan utama alat diagnosa Surra yang lebih spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Rady A. 2008. Epidemiological studies (parasitological, serological and molecular techniques) of *Trypanosoma evansi* infection in camels (*Camelus dromedarius*) in Egypt. *Vet. World* 1 (11) : 325 – 328.
- Balai Veteriner Banjarbaru. 2013. *Peta Penyakit Hewan 2012*. Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. Banjarbaru (ID).
- Balai Veteriner Banjarbaru. 2014. *Peta Penyakit Hewan 2013*. Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. Banjarbaru (ID).

- Balai Veteriner Banjarbaru. 2015. *Peta Penyakit Hewan 2014*. Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. Banjarbaru (ID).
- Bradford M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72 : 248 – 254.
- Davison HC, Thrusfield MV, Husein A, Muharsini S, Partoutomo S, Rae P and Luckins AG. 2000. The occurrence of *Trypanosoma evansi* in buffaloes in Indonesia, estimated using various diagnostic tests. *Epidemiol. Infect.* 124 : 163 – 172.
- Direktorat Kesehatan Hewan. 2012. *Pedoman pengendalian dan pemberantasan penyakit Trypanosomiasis (Surra)*. Jakarta (ID) : Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan.
- Katili AS. 2009. Struktur dan fungsi protein kolagen. *Jurnal Pelangi Ilmu* 2 (5) : 19 – 29.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of head bacteriophage T4. *Nature*, 227 : 680-685.
- Singh V, Singh A and Chhabra, MB. 1995. Polypeptide profiles and antigenic characterization of cell membrane and flagellar preparations of different stocks of *Trypanosoma evansi*. *Veterinary Parasitology* 56 : 269 – 279.
- Stephen Lorne E. 1986. *Trypanosomiasis a veterinary perspective*. Pergamon Press. Oxford (UK).
- Subekti DT, Sawitri DH, Wardhana AH dan Suhardono. 2013. Pola Parasitemia dan Kematian Mencit yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi* Isolat Indonesia. *JITV* 18 (4) : 274 – 290.
- Subekti DT, Yuniarto I, Sulinawati, Susiani H, Santosa B, Amaliah F, Utomo BN, Dahlan M, Suharyanto dan Sukarya. 2015. Perbedaan Kepekaan Antar Isolat *Trypanosoma* Indonesia Terhadap Beberapa Trypanosidal. *JITV* in press.
- Uche UE, Ross CA and Jones TW. 1992. Identification of the surface components of *Trypanosoma evansi*. *Research in Veterinary Science* 53 : 252-253.
- Yuniarto I. 2016. *Karakterisasi Protein Isolat Trypanosoma evansi dari Wilayah Kasus Surra di Indonesia* [thesis]. Institut Pertanian Bogor. Bogor (ID).