

GAMBARAN PROFIL TOTAL POTEIN TERLARUT UNTUK MELIHAT HUBUNGAN KEKERABATAN *Aedes* sp. ISOLAT KENDAL

Tulus Ariyadi, Andri Sukeksi *
Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang
e-mail : mustoels@gmail.com

ABSTRAK

Kasus (DBD) di Indonesia pertama kali dilaporkan pada tahun 1968 di Surabaya. Di Jawa Tengah terjadi 7.144 kasus sedangkan di Kabupaten Kendal masuk dalam 20 kota / kabupaten yang angka kematian akibat DBD sebesar > 2 %. Pada daerah endemis sering kali dilakukan program pemberantasan nyamuk terutama dengan fogging menggunakan berbagai insektisida yang berdampak pada resistensi vektor, sedangkan pada daerah non endemis jarang / tidak pernah dilakukan program ini. Hasil kajian Analisis profil proteinya menunjukkan perbedaan pola pita pada masing – masing konsentrasi insektisida dan status resistensinya. Analisis profil protein ini sangat penting dalam rangka menentukan hubungan kekerabatan dalam satu strain makluk hidup.

Tujuan penelitian ini adalah untuk visualisasi profil protein *Aedes* sp menggunakan SDS – PAGE dari berbagai daerah di kab. Kendal. Obyek penelitian adalah larva dan nyamuk *Aedes* sp dari 3 wilayah di Kab.Kendal.

Hasil penelitian menunjukkan pola pita antar profil protein terdapat variasi dalam jumlah dan ketebalan pita protein baik larva dan nyamuk. Pita protein spesifik muncul sebanyak 3 – 11 dengan BM antara 250 – 15 kDa. Hasil ini memberikan gambaran bahwa pada satu spesies yang sama di wilayah tertentu terdapat variasi profil protein yang memungkinkan adanya keragaman hayati dalam mengungkap hubungan kekerabatan antar spesies tersebut.

Kata Kunci : *Aedes* sp, Profil Total Protein, Kab. Kendal.

PENDAHULUAN

Tahun 2005 di Jawa Tengah terjadi 7.144 kasus yang tersebar di seluruh kabupaten dan kota. Diantara kasus tersebut, 181 penderita diantaranya meninggal dunia (CFR = 2,53%). Kabupaten/kota yang mempunyai CFR >2% adalah Cilacap (2,33%), Karanganyar (3,03%), Semarang (3,29%), Surakarta (2,93%), dan Boyolali (5%). Di Kabupaten Kendal masuk dalam 20 kota / kabupaten yang angka kematian akibat DBD sebesar > 2 %. (Dinkes Semarang, 2009).

Meningkatnya jumlah kasus dan bertambahnya wilayah yang terjangkit, disebabkan makin baiknya sarana transportasi penduduk, adanya pemukiman baru, kurangnya perilaku masyarakat mengurus bak mandi, kurangnya persediaan air bersih. Urbanisasi yang cepat dan perkembangan pembangunan daerah pedesaan dapat mempengaruhi bionomik vektor penyebab DBD. Keadaan itu tidak terlepas dari peningkatan penduduk yang mencapai 1,49 %, serta degradasi kualitas fungsi lingkungan, sebagai akibat pembangunan yang tidak berpihak pada lingkungan (Azizah dkk, 2010).

Penelitian yang dilakukan Tulus, 2010, terjadi resistensi nyamuk vektor DBD *Aedes aegypti* di kelurahan Sambiroto, Kota Semarang terhadap insektisida Organofosfat (Malathion). Analisis profil proteinya menunjukkan perbedaan pola pita pada masing – masing konsentrasi insektisida dan status resistensinya. Analisis profil protein ini sangat penting dalam rangka menentukan hubungan kekerabatan dalam satu strain makluk hidup.

Dalam mempelajari keanekaragaman serta hubungan antar makluk hidup dapat dilakukan dengan pendekatan secara *Fenetik* maupun *Filogenik*. Sistematika tersebut meliputi kajian klasifikasi berdasarkan *takson*, identifikasi berdasarkan kesesuaian dengan makluk yang ditemukan sebelumnya, dan tata nama berdasarkan aturan *internasional*. Dengan perkembangan teknologi komputer dihasilkan sistematika numerik, kimiawi dan molekuler. Sistematika kimiawi adalah klasifikasi berdasarkan karakter kimiawi komponen sel dengan metode fisiko kimia seperti gas kromatografi, kromatografi lapis tipis, *HPLC*, spektroskopis dan elektroforesis. Komponen dinding sel, lapisan luar, komponen membran sitoplasma dan profil protein dapat digunakan sebagai bahan melakukan sistematika kimiawi. Hubungan Similaritas

merupakan bagian dari sitematika secara kimiawi yang dalam hal ini adalah profil total protein. Visualisasi profil protein menggunakan SDS – PAGE.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah melakukan koleksi telur *Aedes sp.* dari berbagai wilayah di Kabupaten Kendal untuk dilakukan pemeliharaan sehingga diperoleh larva dan nyamuk, visualisasi profil protein menggunakan SDS – PAGE.

1. Koleksi Telur *Aedes sp*

Nyamuk uji diambil dengan cara mengoleksi telur nyamuk dari beberapa wilayah endemis di Kabupaten Kendal yaitu pengambilan telur dengan *ovitrap* dilaksanakan selama 8 minggu. Pemasangan *ovitrap* dilakukan secara random. Kertas saring di dalam *ovitrap* diambil setiap tiga hari sekali. Setelah masa pemasangan *ovitrap* selesai maka semua *ovitrap* dikumpulkan kembali supaya tidak menjadi tempat nyamuk bertelur.

2. Pemeliharaan nyamuk di laboratorium

Telur *Aedes sp.* yang didapat dari setiap lokasi akan ditetaskan di dalam nampan berisi air bersih. Besarnya kebutuhan makanan larva tergantung pada jumlah dan instar larva dan dipelihara sampai menjadi nyamuk .

3. Isolasi Total Protein.

Nyamuk hasil pembiakan segera di bawa ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan profil total proteinya. Cara kerja pemeriksaanya menggunakan Metoda Ehara, 1986 dengan cara sebagai berikut :

Menggerus beberapa nyamuk dalam 10 ml PBS pH 7,4. Tabung sentrifus volume 250 ml disiapkan, kemudian menambah *Tricloro Acetid Acid* (TCA) hingga konsentrasinya 3% (6 ml TCA ke dalam 200 ml suspensi), menyentrifus 12500 rpm pada suhu 4°C selama 20 menit, supernatan berupa pellet protein. Menggambil konsentrat dari protein dan siap digunakan untuk *elektroforesis*.

4. Analisis protein metode SDS-PAGE.

Isolasi molekul protein dengan SDS–PAGE menurut metode Laemmli (1970) menyiapkan plat glas, spaser, sisir yang telah dibersihkan dengan detergen dan alkohol 70% untuk pencetak gel. Setelah alat pencetak gel siap, memasukkan 4 ml larutan 12 % sebagai gel pemisah, kemudian menambah butanol untuk menutup permukaan larutan secukupnya, ditunggu 30-60 menit sampai terjadi polimerisasi. Selanjutnya membersihkan gel dengan menyemprotkan aquades ke permukaannya, memasukkan sisir, dan gel pemampat yang telah disiapkan dimasukkan pula, menunggu selama 30 menit atau sampai terjadi polimerisasi, sisir diambil, gel siap digunakan. Selanjutnya gel yang telah mengalami polarisasi dipasang pada Biorat mini protein II, kemudian menambahkan ke dalamnya larutan elektroda bufer pH 8,3. Sampel ditambah 5x sampel bufer dengan perbandingan 4:1 (v/v), setelah itu campuran tersebut dipanaskan selama 2 menit didalam air yang telah mendidih. Sampel selanjutnya siap dimasukkan ke dalam gel, setelah itu diberi aliran listrik dengan tegangan 100 volt hingga bromo phenol blue keluar dari bagian bawah gel.

Gel diambil, selanjutnya diwarnai dengan perak selama 30-60 menit hingga pita-pita protein terwarnai. Selanjutnya untuk menghilangkan warna pada gel yang tidak mengandung protein diberi larutan destaining, larutan destaining diganti 3-4 kali hingga gel tampak bersih.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Keadaan Geografis Kab. Kendal

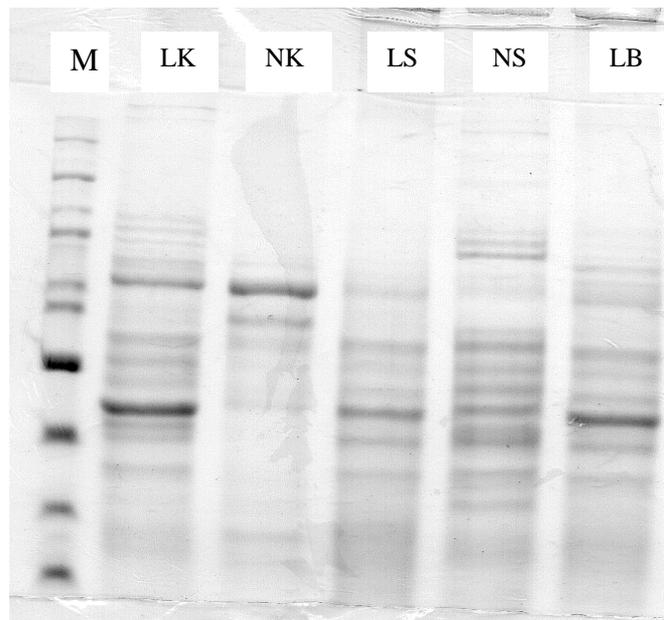
Kabupaten Kendal, sebelah Timur dengan ibukota Jawa Tengah Semarang Dimana hamper semua wilayahnya endemis terhadap demam berdarah, sebelah Selatan dengan Kabupaten Kedu dimana geografisnya banyak ditemukan gunung dengan udara yang sejuk, di sebelah Utara dibatasi oleh Laut Jawa dengan panjang garis pantai meliputi 13,6 Km.

Perbedaan karakter geografis ini akan banyak berpengaruh terhadap perkembangan penyakit terutama demam berdarah. Di satu sisi beriklim sejuk dengan banyaknya dataran tinggi namun disisi lain mobilitas penduduk sangat tinggi karena dengan perkotaan dan sentra

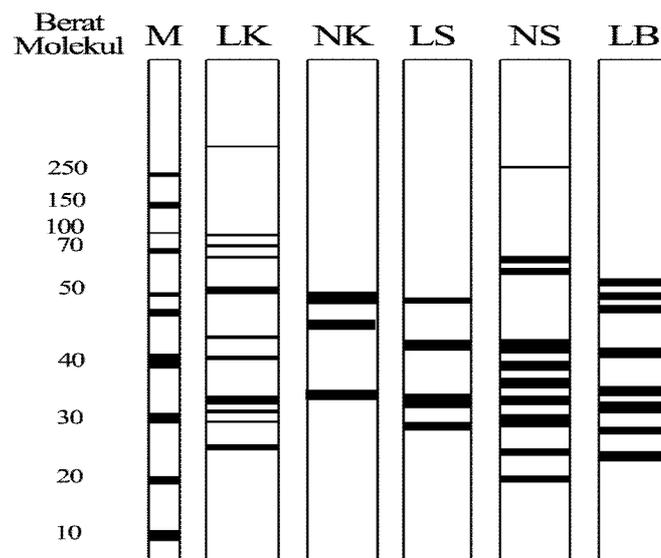
produksi. Secara geografis wilayah Kabupaten Kendal terbagi menjadi dua yaitu daerah dataran rendah dan daerah perbukitan. Kota Bawah merupakan pusat kegiatan pemerintahan, perdagangan dan industri, sedangkan Kota Atas lebih banyak dimanfaatkan untuk perkebunan, persawahan, dan hutan. Faktor lingkungan tersebut berpeluang menyebabkan vektor mengalami adaptasi dan bahkan melakukan mutasi genetik agar tetap bertahan pada lingkungan tersebut.

B. Hasil Analisis Profil Total Protein

Analisis profil total protein dilakukan dengan metode SDS-Page terhadap larva dan nyamuk *Aedes* sp dari 3 lokasi menunjukkan hasil sebagai berikut :
Jumlah pita protein sangat bervariasi yaitu 3 – 11 pita dengan BM antara 250 – 15 kDa.



Gambar 1 . Hasil Analisis Profil Total Protein Nyamuk *Aedes* sp Metode SDS Page dengan pewarnaan Perak. (M = Marker, LK = Larva Kendal, NK = Nyamuk Kendal, LS = Larva Singorojo, NS = Nyamuk Singorojo dan LB = Larva Boja).



Gambar 2 . Zimogram Proses elektroforesis Larva dan Nyamuk *Aedes* sp Kab. Kendal (M = Marker, LK = Larva Kendal, NK = Nyamuk Kendal, LS = Larva Singorojo, NS = Nyamuk Singorojo dan LB = Larva Boja).

Secara umum hasil ekpresi pita – pita protein ini terdapat beberapa perbedaan. Larva Kendal dan nyamuk Kendal terdapat variasi pola pita protein namun pada larva terdapat penebalan 2 pita yang lebih dominan pada BM 50 dan 30 kDa, sedangkan nyamuk terdapat 1 pita spesifik pada BM 50 kDa. Larva dan nyamuk Singorojo secara umum hampir sama gambaran profil total proteinya yaitu 1 penebalan pada BM 35 kDa. Larva Boja terdapat 1 penebalan pita pada BM 35 kDa.

Hasil ini memberikan gambaran bahwa pada stadium berbeda namun spesies yang sama di wilayah tertentu terdapat variasi profil protein yang memungkinkan adanya keragaman hayati dalam mengungkap hubungan kekerabatan antar spesies tersebut.

Dalam mempelajari keanekaragaman serta hubungan antar makhluk hidup dapat dilakukan dengan pendekatan secara *Fenetik* maupun *Filogenik*. Sistematika tersebut meliputi kajian klasifikasi berdasarkan *takson*, identifikasi berdasarkan kesesuaian dengan makhluk yang ditemukan sebelumnya, dan tata nama berdasarkan aturan *internasional*. Dengan perkembangan teknologi komputer dihasilkan sistematika numerik, kimiawi dan molekuler. Sistematika kimiawi adalah klasifikasi berdasarkan karakter kimiawi komponen sel dengan metode fisika kimia seperti gas kromatografi, kromatografi lapis tipis, *HPLC*, spektroskopis dan elektroforesis. Komponen dinding sel, lapisan luar, komponen membran sitoplasma dan profil protein dapat digunakan sebagai bahan melakukan sistematika kimiawi.

SIMPULAN

Hasil penelitian mengenai gambaran profil protein *Aedes* sp isolat Kendal menunjukkan jika dibandingkan antar profil protein terdapat variasi jumlah dan ketebalan pita protein baik larva dan nyamuk dari wilayah yang sama. Pita protein spesifik muncul sebanyak 3 – 11 dengan BM antara 250 – 15 kDa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terimakasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional Republik Indonesia (Dirjen DIKTI) atas dana penelitian Dosen Pemula tahun 2014

DAFTAR PUSTAKA

- Azizah G.T dan Faizah B.R. 2010. *Analisis Faktor Risiko Kejadian DBD di Desa Mojosongo Kabupaten Boyolali*. Buletin Eksplanasi Vol 5 No 2. 2010
- Damar Tri Boewono, 2008. *Diktat Kuliah Entomologi Kesehatan dan Manajemen Aplikasi Pengendalian Vektor*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit, Salatiga.
- Dinkes Semarang, 2009. Profil Kesehatan Kota Semarang. Perang Melawan DBD. <http://dinkes-kotasemarang.go.id/index.php?option=com>
- Depkes RI, 2004. *Perilaku dan Siklus Nyamuk Aedes aegypti Sangat Penting Diketahui Dalam Melakukan Kegiatan Pemberantasan Sarang Nyamuk Termasuk Pemantauan Jentik Secara Berkala*. Bulletin Harian. Jakarta.
- Depkes RI. 2005. *Pemberantasan Nyamuk Penular Demam Berdarah Dengue*. Dirjen Pengendali Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan. Jakarta.
- Ehara M, M, Ishibashi, S. Wantanabe, M. Iwanaga, S. Shimotori, dan T. Naito, 1986. *Fimbriae of Vibrio cholerae 01: Observation of fimbriae on the organism adherent to the intestinal epithelium and development of new medium to enhance fimbriae*. Trop. Med 28: 21 – 23.
- Herath. P. 1997. *Insecticides Resistance in Disease Vectors and its Practical Implication*. WHO. Geneva
- Joshi, V., DT. Maurya & RC. Sharma. 2002. *Persistence of Dengue 3 virus through transovarial transmission passage in successive generation of Aedes aegypti mosquito*. Am. Soc. Trop. Med. Hyg.
- Maurya, DT., Gokhale, & A. Basu. 2001. *Horizontal and vertical transmission of Dengue Virus in high and lowly susceptible strains of Aedes mosquito*. ACTA Virology
- Small G. 1998. *Genetical Background of Insecticide Resistance*, Paper Molecular Entomology Workshop, Center of Tropical Medicine Gadjah Mada University. Yogyakarta.
- Sri Darmawati dan Syaiful Anwar. *Sistematika Polifasik Salmonella sp Asal Jawa Tengah untuk Melacak Epidemiologi Penyebab Demam Tifoid dan Paratifoid*. Laporan Hibah Bersaing
- Titte K A. 2004. <http://www.litbang.depkes.go.id/maskes>. *Kajian Masalah Kesehatan Demam Berdarah Dengue*.
- Tulus A, 2010. *Uji kerentanan thd Insektisida dan Analisis profil total protein Nyamuk Aedes sp di Semarang*. Tesis
- WHO Expert Comite on Vektor Biology and Kontrol. 1980. *Resistance of Vectors of Diseases to Pesticides*. WHO Technical Report Series. No. 665. WHO Geneva. 82 p.
- WHO Expert Comite on Vektor Biology and Kontrol. 1992. *Vector Resistance to Pesticide*. WHO Technical Report Series. No. 818. WHO Geneva. 62 p.
- WHO. 1997. *Dengue Haemorrhagic Fever, Diagnosis, Treatment, Prevention and Control*. 2nd. Ed. WHO. Geneva.
- WHO. 2006. *Pesticides and Their Application: For the Control of Vectors and Pests of Public Health Importance*. WHO/CDC/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.1.
- Widiarti dkk, 2011. *Peta resistensi Vektor Demam Berdarah Dengue Aedes aegypti terhadap Insektisida kelompok Organofosfat, Pyrethroid di Propinsi Jawa tengah dan Yogyakarta*. Buletin Penelitian Kesehatan Vol. 39. No. 4 2011.