

ABSTRAK

IDENTIFIKASI MOLEKULER *Haemoproteus columbae* PADA BURUNG MERPATI DI YOGYAKARTA BERDASARKAN SEKUEN DNA MITOKONDRIA GEN SITOKROM *b*

Achmad Priya Pamungkas

14/363796/KH/8046

Haemoproteus columbae merupakan salah satu protozoa darah yang sering ditemukan pada burung merpati. Infeksi spesies ini menunjukkan prevalensi yang cukup tinggi, namun gejala klinis yang diperlihatkan tidak spesifik, serta morfologi beberapa spesies dari genus *Haemoproteus* sulit untuk dibedakan. Analisis molekuler diperlukan untuk meneguhkan identitas spesies *Haemoproteus columbae*. Identifikasi molekuler dapat dilakukan dengan menentukan sekuen DNA mitokondria yang diperoleh menggunakan metode sekuensing DNA.

Sampel yang digunakan adalah darah burung merpati yang berasal dari wilayah Daerah Istimewa Yogyakarta dan telah diidentifikasi positif dengan pengamatan mikroskopis terinfeksi *Haemoproteus columbae*. Isolasi DNA dilakukan menggunakan DNA Mini Kit (*Blood/Cultured Cell*). Amplifikasi DNA hasil isolasi menggunakan teknik *nested* PCR yang dilakukan dua tahap dengan pasangan primer yang berbeda. PCR tahap pertama menggunakan primer HaemNF1 dan HaemNR3, selanjutnya produk hasil PCR digunakan sebagai *template* untuk PCR tahap kedua. HaemF sebagai primer *forward* dan HaemR2 sebagai primer *reverse* digunakan pada PCR tahap kedua. Sampel kemudian disekuensing untuk menentukan komposisi nukleotida. Analisis data dilakukan dengan *software Molecular Evolutionary Genetic Analysis* (MEGA) versi 7.0. Pohon filogenetik dianalisis dengan metode *Neighbor-Joining* dan nilai *bootstrap* 1000.

Produk PCR yang dihasilkan berukuran 526 bp. Sampel *H. columbae* memiliki identitas molekuler yang sama dengan *H. columbae* isolat Iran dari *Genbank* yang ditunjukkan dengan jarak genetik sebesar 0%.

Kata Kunci: *Haemoproteus columbae*, DNA mitokondria, *nested* PCR, nukleotida, sekuensing

ABSTRACT

MOLECULAR IDENTIFICATION OF *Haemoproteus columbae* FROM PIGEON IN YOGYAKARTA BASED ON CYTOCHROME *b* GENE OF MITOCHONDRIAL DNA SEQUENCE

Achmad Priya Pamungkas
14/363796/KH/8046

Haemoproteus columbae is a blood parasite which infects pigeons. The prevalence of infection from this species is quite high, but the clinical signs shown from the infected birds are not specific, and the morphological difference of some species from *Haemoproteus* genus is hard to determine. Molecular analysis is required to confirm the identity of *Haemoproteus columbae* species. Molecular identification can be analyzed from the nucleotide sequence of mitochondrial DNA acquired by sequencing method.

The DNA sample were isolated from the blood of pigeon found in Special Region of Yogyakarta and has been identified positive infection by microscopic observation. Amplification of the isolated DNA by nested PCR technique used two primer pairs. The first PCR used HaemNF1 and HaemNR3 primers, then the result product is used for the second PCR, which used HaemF and HaemR2 as the primers. The PCR reaction produced 526 bp DNA segment and then continued to DNA sequencing. The result of mtDNA segment sequences would be treated in multiple alignment with other protozoas taken from Genbank and then analyzed using MEGA 7.0.

Result of this research showed that the sample has the same molecular identity as *H. columbae* isolate Iran from Genbank indicated by genetic distance of 0%.

Keywords: *Haemoproteus columbae*, mitochondrial DNA, nested PCR, nucleotide, sequencing