UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Deteksi Molekuler Gen Penyandi Protein ABC2 Transporter Trypanosoma evansi Isolat Ngawi dengan
Pemberian Isometamidium Chloride secara in vivo pada Mencit (Mus musculus)**
LU'LU' SAHARA W., Pembimbing Utama Dr. drh. R. Wisnu Nurcahyo, Pembimbing Pendamping Dr. drh. Rini Widaya
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

INTISARI

Deteksi Molekuler Gen Penyandi Protein *ABC_2* Transporter *Trypanosoma evansi* Isolat Ngawi dengan Pemberian *Isometamidium Chloride* secara *in vivo* pada Mencit (*Mus musculus)*

Lu'lu' Sahara Wusahaningtyas
17/418464/PKH/00633

Surra adalah penyakit hewan yang disebabkan oleh infeksi protozoa darah yaitu *Trypanosoma evansi*. Penyakit ini dapat menimbulkan kematian sehingga berdampak pada kerugian ekonomi bagi peternak. *Isometamidium chloride (ISM)* merupakan jenis trypanosidal yang biasa digunakan di Indonesia. Penggunaan obat yang tidak sesuai dengan dosis akan mempengaruhi tingkat keefektifan obat. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ketidakefektifan obat diduga berhubungan dengan gen penyandi Protein *ATP-Binding Cassette* (ABC) Transporter. Penelitian ini dirancang utuk melihat efektifitas ISM dan profil sekuen gen penyandi protein ABC yaitu ABC_2 pada *T. evansi* asal Ngawi yang telah diberi perlakuan ISM. Sebanyak 25 ekor mencit (BALB-C, jantan, 2 bulan, berat badan ± 30 gram) dibagi menjadi 5 kelompok, tiap kelompok terdapat 5 ekor mencit. Kelompok A (plasebo), kelompok B (ISM 0,025 mg/kg), kelompok C (ISM 0,05 mg/kg), kelompok D (ISM 0,1 mg/kg) dan kelompok E (ISM 0,5 mg/kg) diadaptasikan selama satu minggu, kemudian diinokulasikan *T.evansi (10^5* parasit/ekor mencit*)* secara intra peritonial. Pemeriksaan parasitemia dilakukan 24 jam pasca inokulasi dan diberi perlakuan ISM. Pengamatan parasitemia dilakukan setiap hari selama 25 hari dan diakhir penelitian tiap kelompok diambil satu sampel darah untuk dilanjutkan ke uji *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Pengujian PCR menggunakan primer ABC_2 F (5'-GCT TGT CCG ACC ATC TTG CA-3') dan ABC_2 R (5'-AGG TCC ACT CCC ATG CTA CA-3'). Data bio-assay patogenesitas *T.evansi* dan efektivitas ISM dianalisis secara deskriptif, sedangkan hasil sekuen dianalisis menggunakan BLAST dan Software MEGA 5. Hasil pengujian bio-assay patogenesitas isolat *T.evansi* asal Ngawi termasuk dalam virulensi tinggi (5,3 hpi). Uji efektifitas ISM dosis 0,025 mg/kg 0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg dan 0,3 mg/kg menunjukkan kurang efektif terhadap isolat *T.evansi* asal Ngawi yang di infeksikan secara *in vivo* pada mencit. Amplifikasi gen penyandi ABC_2 transporter *T.evansi* didapatkan 265 nukleotida (nt), tidak ada perbedaan nt antar sampel perlakuan ISM dan hanya terdapat 1 perbedaan nt apabila dibandingkan dengan Tbacb2 (U89027.1), *T. b. brucei* (XM 817911.1) dan *T. b. gammbiense* (XM 011779815.1).

Kata kunci : *Trypanosoma evansi*, parasitemia, PCR, gen penyandi protein ABC transporter.

Deteksi Molekuler Gen Penyandi Protein ABC2 Transporter Trypanosoma evansi Isolat Ngawi dengan
Pemberian Isometamidium Chloride secara in vivo pada Mencit (Mus musculus)
LU'LU' SAHARA W., Pembimbing Utama Dr. drh. R. Wisnu Nurcahyo, Pembimbing Pendamping Dr. drh. Rini Widaya
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

ABSTRACT

Molecular Detection of ABC_2 Transporter Gene Encode Protein Ngawi *Trypanosoma evansi* Isolate with *in vivo Isometamidium Chloride* Treatment in Mice (*Mus musculus)*

Lu'lu' Sahara Wusahaningtyas
17/418464/PKH/00633

Surra is a disease in animal caused by protozoa, *Trypanosoma evansi*, infection. This disease causes death in the host and economic loss for the breeders. One of trypanocidal drugs that usualy used in Indonesia is *Isometamidium chloride (ISM)*. If it not used accurate doses in treatment, it can reducing parasitic sensitivity. Recently, some researches found that the resistance of this drug was suspected relate with *ATP-binding protein* (ABC) transporter gene encode protein. This study aims to determine the effectivity of ISM in *T. evansi* isolate from Ngawi and screening the sequencing profile of ABC2 gene encode protein in *T. evansi* with in vivo ISM treatment. It used 25 BAlb-c mice (male, 8 weeks, ± 30 gram). Mice were divided into five groups and acclimated for one week. They were inoculated intra peritoneal with *T. evansi (*10^5 parasite/mice*)*. Parasitaemia examined in 24 hours after inoculation and the mice were treated with ISM (0,025 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg, and 0,3 mg/kg) and also placebo for the control group. Level of parasitemia checked every day till day 25. In the last day of study, each mouse from groups were tested PCR by using their blood. Polymerase Chain Reaction (PCR) used ABC2 F primers (5 'GCT TGT CCG ACC ATC TTG CA-3') and ABC2 R (5 '-AGG TCC ACT CCC ATG CTA CA-3'). Data of bio-assay patogenecity and ISM effectiveness analyzed descriptively, therefore sequencing of nucleotid data analyzed with BLAST dan MEGA. The result of bio-assay pathogenicity of *T. evansi* was highly virulence with average of mices death was 5,3 hpi. Effectiveness test of ISM drugs was less effective against *T.evansi* isolates infected in vivo on Balb-c mice. Amplification of ABC_2 transporter encoding genes was 265 nucleotides and there was only 1 nucleotide difference compared to Tbacb2 (U89027.1), *Trypanosoma brucei brucei* (XM 817911.1) and *Trypanosoma brucei gambiense* (XM 011779815.1).

Key words: *Trypanosoma evansi*, parasitaemia, PCR, ABC2 Gene Encode Protein.