

Deteksi dan Identifikasi Molekuler *Trypanosoma evansi* pada Masa Karantina Kerbau di Pulau Flores dan Sumba, Nusa Tenggara Timur

Rina Tri Budiati
18/433699/PKH/00677

INTISARI

Penyakit Surra disebabkan *Trypanosoma evansi*. Karantina Pertanian mempunyai tugas untuk mencegah penyebaran penyakit terutama melalui lalu-lintas pengiriman ternak. Salah satu komoditas unggulan dari Provinsi Nusa Tenggara Timur adalah kerbau. Untuk mencegah penyebaran surra melalui lalu-lintas maka diperlukan identifikasi dan deteksi *Trypanosoma evansi* yang tepat dan lebih sensitif. *Gold standard* metode pemeriksaan adalah menemukan adanya parasit tetapi kemungkinannya relatif sangat kecil jika tidak saat parasitemia. Sampel berasal dari darah kerbau sebanyak 110 sampel. Metode pemeriksaan dengan deteksi konvensional yaitu *Haematocrit Centrifugation Technique* (HCT) dan preparat ulas darah tipis dengan pewarnaan *Giemsa*. Deteksi molekuler dengan PCR memakai primer ITS1 didesain dengan menggunakan aplikasi primer3 online dengan *GenBank accession number*: MK696287.1 diperoleh *forward* ITS1 (5'-ACCTGCAGCTGGATCATTTT-3') dan primer *reverse* ITS1 (5'-GCTGCGTTCTTCAACGAAAT-3'). Hasil pemeriksaan 59 sampel darah kerbau dari Pulau Flores adalah 7 sampel positif HCT, 1 sampel positif dengan ulas darah tipis dan 23 sampel positif dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Sampel asal Pulau Sumba sebanyak 51 sampel hanya dilakukan pemeriksaan preparat ulas darah tipis menunjukkan hasil nihil dan 19 sampel positif menggunakan PCR. Sensitivitas pengujian molekuler dengan PCR 100% dan spesifisitas sebesar 69,2%. Analisa hasil sekuensing disesuaikan *GenBank accession*: KR858270.1 (*complete genome* ITS1) sehingga menghasilkan 407 nukleotida. Hasil sekuensing kemudian disejajarkan berganda (*multiple alignment*) dengan *Crustal W* di *software* MEGA 10. Hasil ditemukan perbedaan urutan nukleotida antara sampel penelitian dengan data sekuens ITS1 di *GenBank* dengan *substitusi* nukleotida sebanyak 11 yang terjadi pada posisi 37, 38, 190, 307, 328, 341, 382, 384, 389, 398, dan 402. Sampel asal Pulau Flores dan Sumba identik dengan *T. evansi* dari Pulau Jawa (Ngawi), Indonesia (MK246125.1); *T. evansi* dari India (KR858270.1); dan *T. evansi* asal Thailand (MN121258.1). Pohon filogenetik diketahui primer ITS1 yang digunakan dapat memberikan informasi filogenetik molekuler dari *Trypanosoma* pada tingkat spesies dan lebih rendah. PCR adalah pengujian yang memiliki sensitivitas paling tinggi dibandingkan dengan pengujian lainnya. Terdapat variasi genetik ITS1 sampel dari Pulau Flores dan Pulau Sumba dengan data di *GenBank*.

Kata kunci: *Trypanosoma evansi*, Sumba, Flores, *Polymerase Chain Reaction*, MEGA, ITS1

Detection and Molecular Identification of *Trypanosoma evansi* in Buffalo Quarantine Period at Flores and Sumba Island, Nusa Tenggara Timur

Rina Tri Budiati
18/433699/PKH/00677

ABSTRACT

Surra disease caused by *Trypanosoma evansi*. Agricultural Quarantine has the duty to prevent the spread based on livestock shipping traffic. One of the leading commodities from East Nusa Tenggara Province is buffalo. To prevent transmission through traffic, proper and more sensitive detection and detection of *Trypanosoma evansi* is needed. The gold standard, a method of checking for parasites, but estimates are relatively small, if no parasitemia is performed. 110 blood samples from buffalo. The conventional detection method is the Hematocrit Centrifugation Technique (HCT) and a thin blood cover preparation with Giemsa staining. Molecular detection by PCR using ITS1 primers was designed using primer3 online applications with GenBank access number: MK696287.1 obtained by continuing ITS1 (5-ACCTGCAGCTGGATCATTTT-3') and primers reversing ITS1 (5'-GCTGCGTTCTCAACGAAAT-3'). The results of the examination of 59 buffalo blood samples from Flores Island were 7 positive samples HCT, 1 positive sample with thin blood smear and 23 positive samples with the Polymerase Chain Reaction (PCR). Samples from Sumba Island as many as 51 samples were zero positive samples only examined for thin blood smear and 19 positive samples using PCR. The sensitivity of molecular testing with PCR 100% and specificity of 69.2%. Analysis of sequencing results adjusted for GenBank's accession: KR858270.1 (complete genome of ITS1) to produce 407 nucleotides. The sequencing results are then multiple alignment with Crustal W in MEGA 10 software. The results are found in the nucleotide sequence between the study sample with ITS1 sequence data in GenBank with 11 nucleotide substitutions shown in options 37, 38, 190, 307, 328, 341, 382, 384, 389, 398, and 402. Samples from Flores and Sumba Islands are identical to *T. evansi* from Java (Ngawi), Indonesia (MK246125.1); *T. evansi* from India (KR858270.1); and *T. evansi* from Thailand (MN121258.1). Phylogenetic Trees obtained by ITS1 primers which can be used to provide molecular phylogenetic information from *Trypanosoma* at species level and lower. PCR is the test that has the highest sensitivity compared to other tests. There are genetic variations of ITS1 samples from Flores and Sumba Island with data on GenBank.

Kata kunci: *Trypanosoma evansi*, Sumba, Flores, *Polymerase Chain Reaction*, MEGA, ITS1