

## **DETEKSI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER *INTERNAL TRANSCRIBED SPACER 1* (ITS-1) PADA *Trypanosoma evansi***

**Edi Widodo**  
**15/388339/PKH/00538**

### **Intisari**

Trypanosomiasis (surra) merupakan penyakit pada sapi, kerbau, kuda dan unta yang disebabkan oleh *Trypanosoma evansi* (*T. evansi*) dan ditularkan secara mekanik oleh lalat penghisap darah. Surra menyebabkan kerugian ekonomi pada ternak, bersifat immunosupresif dan berpotensi menjadi penyakit zoonosis. *Internal transcribed spacer 1* (ITS-1) merupakan *marker* yang telah digunakan untuk deteksi dan identifikasi molekuler, analisis filogenetik, evaluasi proses evolusi dan penentuan taksonomi pada protozoa termasuk *Trypanosoma sp* di beberapa negara. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi *Trypanosoma evansi* secara molekuler menggunakan *marker* ITS-1 dan mengetahui variasi genetik ITS-1 *T. evansi* dari beberapa daerah di Indonesia. Sampel yang digunakan berjumlah 8 terdiri dari 1 isolat *T. evansi* (Brebek), 2 sampel darah mencit positif *T. evansi* (Hulu Sungai Utara dan Kotawaringin Timur), 1 sampel darah sapi positif CATT (Kulon Progo), 2 sampel darah kerbau positif HCT (Ngawi dan Purbalingga) dan 2 sampel DNA Sapi (Lampung dan Bengkulu). Deteksi molekuler menggunakan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) pada *region* ITS-1 rDNA dengan menggunakan primer *forward* (5' TGT AGG TGA ACC TGC AGC TGG ATC 3') dan primer *reverse* (5' CCA AGT CAT CCA TCG CGA CAC GTT 3'). Semua sampel menunjukkan hasil PCR positif berukuran 400 bp kemudian disekuensing. Hasil sekuensing dianalisis menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) dan *software Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) versi 7. Analisis BLAST menunjukkan bahwa sekuen ITS1 *T. evansi* semua sampel penelitian identik 96% - 100% dengan sekuen ITS-1 *T. evansi* di GenBank. Substitusi nukleotida sebanyak 35 nukleotida dan 1 insersi. Pohon filogenetik *neighbor joining* dan *maximum parsimony* berdasarkan sekuen ITS-1 *T. evansi* menunjukkan bahwa 8 sampel penelitian terbagi menjadi 3 kelompok. Kelompok pertama terdiri dari *T. evansi* asal Bengkulu, Lampung, Purbalingga dan *T. evansi* dari GenBank (Cina, Filipina, India dan Thailand). Kelompok kedua terdiri dari *T. evansi* asal Brebek, Kulon Progo, dan Ngawi. Kelompok ketiga terdiri dari *T. evansi* asal Hulu Sungai Utara dan Kotawaringin Timur. *Internal Transcribed Spacer 1* dapat digunakan sebagai *marker* untuk deteksi molekuler *T. evansi* dan terdapat variasi genetik *T. evansi* berdasarkan ITS-1 rDNA. Hasil penelitian menunjukkan adanya variasi genetik *internal transcribed spacer 1* (ITS-1) *T. evansi* di Indonesia.

Kata kunci : BLAST, ITS-1, MEGA, PCR, *Trypanosoma evansi*,.

## **DETECTION AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF *INTERNAL TRANSCRIBED SPACER 1 (ITS-1)* OF *Trypanosoma evansi***

**Edi Widodo**  
**15/388339/PKH/00538**

### **Abstract**

Trypanosomiasis (surra) is a parasitic disease in animals caused by *Trypanosoma evansi* that is infected mechanically by haematophagous flies. Surra caused economic disadvantages in livestock, particularly horses, cows, and buffalos in Indonesia, in addition surra is immunosuppressive and potential to be zoonotic disease. *Internal transcribed spacer 1 (ITS-1)* is a marker used to molecular detection, phylogenetic analysis, evaluate process of evolution and taxonomic identities of *Trypanosoma sp* in foreign countries. This study was conducted to detect *Trypanosoma evansi* molecularly used the *marker internal transcribed spacer-1* and know the genetic variation of ITS-1 *T. evansi* from several regions in Indonesia. There were 8 used samples consisting of 1 sample isolat of *T. evansi* (Brebes), 2 samples mice blood positive *T. evansi* (Hulu Sungai Utara, and Kotawaringin Timur), 1 sample cow blood positive CATT (Kulon Progo), 2 samples buffalo blood positive HCT (Ngawi and Purbalingga), and 2 samples DNA (Lampung and Bengkulu). The molecular detection used the technic of *polymerase chain reaction (PCR)* used forward primer (5' TGT AGG TGA ACC TGC AGC TGG ATC 3') and reverse primer (5' CCA AGT CAT CCA TCG CGA CAC GTT 3'). The electrophoresis result of PCR was obtained amplicone of 400 bp, and then continued by sequencing. The sequencing result was analyzed by *Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)* and *Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA)* version 7. BLAST analysis showed that the sequence of ITS-1 *T. evansi* from all samples was 96% - 100% identic with *T. evansi* sequence in GenBank. Thirty five nucleotida substitutions and one insertion were occurred. The construction of phylogenetic tree of *neighbor joining* and *maximum parsimony* based on ITS sequence showed that *T. evansi* divided into three groups. First group consist of *T. evansi* from Bengkulu, Lampung, Purbalingga together with *T. evansi* from GenBank (China, India, Phillipine and Thailand). Second group consist of *T. evansi* from Brebes, Kulon Progo and Ngawi. Third group consist of *T. evansi* from Hulu Sungai Utara dan Kotawaringin Timur. This research indicated clear evidence of existence of genetic diversity among *T. evansi* isolate from different geographical region in Indonesia.

*Keywords: BLAST, ITS-1, MEGA, PCR, Trypanosoma evansi.*