

INTISARI

DETEKSI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER *EXPRESSION-SITE-ASSOCIATED GENE (ESAG) 6* PADA *Trypanosoma evansi*

Fathur Rohman Haryadi
13/359957/PKH/514

Trypanosomiasis (*Surra*) disebabkan oleh *Trypanosoma evansi* merupakan salah satu penyakit parasit darah yang penting, menyerang hewan ternak dan domestik lainnya di Indonesia. *Surra* menyebabkan kerugian ekonomi pada ternak, bersifat immunosupresif dan berpotensi menjadi penyakit zoonosis. *Expression-Site-Associated Gene (ESAG) 6* merupakan *marker* yang belum banyak digunakan untuk deteksi molekuler. Penelitian ini ditujukan untuk deteksi *Trypanosoma evansi* secara molekuler berdasarkan ESAG 6 dan mengetahui variasi genetik ESAG 6 dari beberapa daerah di Indonesia, beserta data pembandingan dari *GenBank*. Sampel yang digunakan berjumlah 4 sampel terdiri dari 1 isolat hidup *Trypanosoma evansi* hospes kerbau (Brebes), 1 sampel darah positif CATT hospes sapi (Kulon Progo), dan 2 sampel stok DNA hospes sapi (Bengkulu, Lampung). Deteksi molekuler menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction (PCR)* pada gen target ESAG 6 dengan menggunakan primer forward (5'- ACA TTC CAG CAG GAG TTG GAG -3') dan primer reverse (5'- CAC GTG AAT CCT CAA TTT TGT -3'). Elektroforesis hasil PCR diperoleh amplicon berukuran 237 bp. Analisis hasil sekuensing menggunakan *Basic Local Aligment Search Tool (BLAST)* dan software *Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA)* versi 7, menunjukkan bahwa sekuen ESAG 6 *Trypanosoma evansi* asal Brebes, Bengkulu, Lampung, dan Kulon Progo identik 97-98% dengan sekuen *Trypanosoma evansi* di *GenBank* (KR858301.1). Substitusi nukleotida sebanyak 21, dan tidak terjadi delesi maupun insersi pada keempat sampel. Adanya perbedaan nukleotida dan jarak genetik diantara sampel *Trypanosoma evansi* penelitian maupun dengan data di *GenBank*, kecuali untuk *Trypanosoma evansi* asal Bengkulu dan Lampung. Konstruksi pohon filogenetik *neighbor joining* menunjukkan bahwa *Trypanosoma evansi* asal Brebes, Kulon Progo, Bengkulu, dan Lampung memiliki kekerabatan terdekat dengan *Trypanosoma evansi* clone 1019 (JF894242.1) dengan nilai *bootstrap* 64%. Penelitian dapat disimpulkan, *Trypanosoma evansi* dapat dideteksi secara molekuler dengan *marker* ESAG 6, adanya variasi genetik sekuen ESAG 6 *Trypanosoma evansi* diantara beberapa daerah di Indonesia maupun dengan sekuen ESAG 6 di *GenBank*, kecuali untuk *Trypanosoma evansi* asal Bengkulu dan Lampung (homolog 100%).

Kata kunci : *Expression-Site-Associated Gene (ESAG) 6*, sekuensing, *Surra*, *Trypanosoma evansi*, variasi genetik

ABSTRACT

Detection and Identification Molecular of *Expression-Site-Associated Gene* (ESAG) 6 on *Trypanosoma evansi*

Fathur Rohman Haryadi
13/359957/PKH/514

Trypanosomiasis (Surra) caused by *Trypanosoma evansi* is one of the blood parasitic diseases, attacking livestock and other domestic in Indonesia. Surra caused economic disadvantages in livestock, in addition Surra is immunosuppressive and potential to be zoonotic disease. *Expression-Site-Associated Gene* (ESAG) 6 is a marker that has not been widely used for molecular detection. This study is aimed at detecting *Trypanosoma evansi* molecularly based on ESAG 6 and knowing ESAG 6 genetic variation from several regions in Indonesia, along with comparison data from *GenBank*. The samples used were 4 samples consisting of 1 live isolate *Trypanosoma evansi* buffalo host (Brebek), 1 positive CATT blood sample cow host (Kulon Progo), and 2 stock DNA samples cow host (Bengkulu, Lampung). Molecular detection uses the *Polymerase Chain Reaction* (PCR) technique on the ESAG 6 target gene by using a forward primer (5'- ACA TTC CAG CAG GAG TTG GAG -3') and reverse primer (5'- CAC GTG AAT CCT CAA TTT TGT -3'). Electrophoresis of PCR result obtained by amplicon measuring 237 bp. Analysis of sequencing results using *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) and *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) software version 7, shows that the ESAG 6 *Trypanosoma evansi* sequence of Brebek, Bengkulu, Lampung, and Kulon Progo is identical 97-98% with the *Trypanosoma evansi* sequence in *GenBank* (KR858301.1). Nucleotide substitution of 21, and no deletions or insertions in all four samples. Differences in nucleotides and genetic distances between *Trypanosoma* study *evansi* samples and with data in *GenBank*, except for *Trypanosoma evansi* origin Bengkulu and Lampung. The construction of phylogenetic *neighbor joining* tree shows that *Trypanosoma evansi* from Brebek, Kulon Progo, Bengkulu and Lampung has the closest kinship with *Trypanosoma evansi* clone 1019 (JF894242.1) with 64% *bootstrap* value. Research can be concluded, *Trypanosoma evansi* can be detected molecularly with marker ESAG 6, the genetic variation of ESAG 6 sequence *Trypanosoma evansi* among some regions in Indonesia and with ESAG 6 sequence in *GenBank*, except for *Trypanosoma evansi* origin Bengkulu and Lampung (homolog 100%).

Keywords : Surra, *Trypanosoma evansi*, *Expression-Site-Associated Gene* (ESAG) 6, sequencing, genetic diversity