

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ascaridia galli merupakan nematoda parasitik yang sering ditemukan pada unggas termasuk ayam (Susanti dan Prabowo, 2014). Infeksi terjadi bila unggas menelan telur yang mengandung larva 2 (L2) yang ada pada makanan atau minuman (Pudjiatmoko, 2014). *Ascaridia galli* patogen pada ayam kampung dan secara substansial dengan menyebabkan penurunan tingkat pertumbuhan, penurunan berat badan, produksi telur yang rendah, dan kematian pada ayam yang terinfeksi sehingga perlu dilakukan program pengendalian dan pencegahan infeksi parasit yang efektif (Bazh, 2013).

Keberadaan cacing *A. galli* masih menjadi kendala utama dalam industri perunggasan serta dapat menyebabkan kerugian secara ekonomi (Yazwinski *et al.*, 2013). Infeksi pada ayam didiagnosis dengan mendeteksi telur dalam pemeriksaan feses (Cupo dan Backstead, 2019). Identifikasi yang akurat penting dilakukan untuk mempersiapkan strategi pengobatan dan pencegahan infeksi nematoda ini (Biswas *et al.*, 2021). Metode yang spesifik dan lebih akurat perlu dilakukan untuk identifikasi berbagai spesies terutama pada spesies *A.galli*, salah satunya melalui analisis DNA, kemajuan terbaru dalam analisis genetik berdasarkan DNA adalah menggunakan mitokondria DNA yang cocok digunakan untuk analisis pada tingkat spesies dan telah dilakukan pada berbagai target gen (Masters *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2006; Roos *et al.*, 2004).

Pemeriksaan morfologis tidak seakurat analisis genetik (Cupo dan Beckstead, 2019). Teknik molekuler yang dikembangkan berdasarkan studi

penanda genetik, khususnya gen COX-1, ITS-1 dan ITS-2 sangat spesifik untuk mengetahui perbedaan spesies dari genus *Ascaridia* (Biswas *et al.*, 2021). Selama ini metode identifikasi molekuler yang telah sering digunakan untuk menentukan spesies *A. galli* adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Hu *et al.*, 2004). Metode tersebut sering digunakan karena memiliki tingkat keakuratan yang tinggi dalam amplifikasi produk dan penentuan spesies, mikroorganisme yang dideteksi tidak harus hidup dan tidak membutuhkan waktu yang lama (Sari, 2018).

Hasil penelitian Katakam *et al.*, (2010) tentang *A. galli* menggunakan metode PCR yang diamplifikasi menggunakan primer GCox1F4F, (5'-ATTATTACTGCTCATGCTATTTTGA-TG) dan GCox14R, (5'-CAAAACAAATGTTGATAAATCAAA GG) didapatkan hasil 533 *base pairs* (bp) nukleotida. Penelitian oleh Utami dan Sahara (2013) analisis genetik molekuler cacing *A. galli* di Yogyakarta berdasarkan nekletida DNA region ITS1 menggunakan primer AG_1F dan AG_1R didapatkan hasil pada fragmen 655 bp. Penelitian oleh Biswas *et al.*, (2021) amplifikasi DNA menggunakan primer ITS1-F dan ITS1-R untuk wilayah ITS1, ITS2-F dan ITS2-R untuk wilayah ITS2, dan pada primer JB3 dan JB4.5 untuk gen COX-1.

Ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*) terinfeksi larva stadium 2 (L2) *A. galli* (Pudjiatmoko, 2014). Infeksi dan cacing *A. galli* sering menyebabkan penurunan tingkat pertumbuhan dan penurunan berat badan (He *et al.*, 1990). Hal ini kemungkinan dihubungkan dengan kerusakan mukosa intestinum yang menyebabkan kehilangan darah dan menyebabkan infeksi sekunder, berat ringannya kerusakan mukosa intestinum tergantung pada jumlah cacing di dalam

intestinum (Prastowo dan Ariyadi, 2015). Infeksi cacing juga menyebabkan terjadinya pengurangan cairan makanan dan penyumbatan usus oleh cacing gelang dan cacing pita serta adanya bungkul-bungkul pada usus (Tabbu, 2002).

Penyebaran endoparasit terhadap ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*) dapat melewati media pakan, air, dan peralatan ternak yang terkontaminasi (Zalizar dkk., 2007). Penelitian oleh Rafif, (2018) menunjukkan bahwa persentase cacing *A. galli* pada usus halus ayam kampung di pasar Wonokromo Surabaya sebesar 66% duodenum, 36% jejunum dan 26% ileum. Tingginya persentase infeksi cacing *A. galli* dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu musim, manajemen pemeliharaan dan kebersihan kandang (Kusuma dkk., 2021).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka perlu dilakukan penelitian identifikasi molekuler *A. galli* pada ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*) di pasar Wonokromo Surabaya dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan primer gen mtDNA COX-1.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana profil molekuler DNA *A. galli* yang berupa panjang pita DNA (bp) pada daerah target mtDNA gen *Cytochrome Oxidase Sub-Unit 1* (COX-1) dengan teknik PCR?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas maka tujuan penelitian ini untuk mengetahui profil molekuler DNA *A. galli* berupa panjang pita DNA (bp) pada daerah target mtDNA gen *Cytochrome Oxidase Sub-Unit 1* (COX-1) dengan teknik PCR.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan mengenai profil molekuler DNA *A. galli* berupa panjang pita DNA (bp) pada daerah target mtDNA gen *Cytochrome Oxidase Sub-Unit 1* (COX-1) dengan teknik PCR.

1.5 Landasan Teori

Ascaridia galli merupakan cacing yang terbesar pada kelas nematoda umumnya menyerang unggas, termasuk ayam kampung. Salah satu faktor ayam kampung terinfeksi *A. galli* karena sistem pemeliharaannya secara tradisional, yaitu ayam kampung yang dibebaskan berkeliaran dan tidak dipelihara pada kandang khusus, sehingga ayam kampung menjadi mudah terinfeksi (Budiman, 2007). Penularan infeksi *A. galli* dapat terjadi melalui perantara pakan, air minum dan litter yang tercemar oleh feses yang mengandung telur infeksi *A. galli* (Balqis dkk., 2015). Cacing tanah dapat menjadi vektor mekanis, karena cacing tanah dapat menelan telur *A. galli* kemudian unggas memakan cacing tanah tersebut (Subekti dkk., 2013).

Pematangan seksual *A. galli* berlangsung di dalam traktus gastrointestinal inang definitif dan stadium infeksi larva 2 (L2) berlangsung di dalam telur resisten berembrio di lingkungan bebas. *Ascaridia galli* memiliki siklus hidup langsung tanpa membutuhkan inang sementara. Telur berkembang dari larva stadium 2 hingga larva stadium 5 di dalam usus halus inang definitifnya yaitu ayam kampung. Larva stadium 5 akan tumbuh dan dewasa di dalam lumen duodenum (Tabbu, 2002).

Ascaridia galli dapat memicu reaksi inflamasi dalam usus halus inang definitifnya. Infeksi cacing *A. galli* biasanya menimbulkan kerusakan yang parah pada intestinum selama bermigrasi pada fase jaringan, migrasi ini terjadi di lapisan mukosa intestinum (Tabbu, 2002). Infeksi cacing menyebabkan terjadinya perdarahan kronis karena larva yang bermigrasi menimbulkan kerusakan gastrointestinal diantaranya gastritis, enteritis, dan ulcerasi tracktus digestivus (Coles, 1986), serta terjadi penurunan luas permukaan vili usus halus (Zalizar dkk., 2007). Setiap peradangan mukosa umumnya diikuti dengan gangguan pencernaan, penyerapan nutrisi seperti elektrolit, vitamin, mineral, dan sekresi zat-zat yang berperan dalam proses pencernaan makanan (Anwar dan Zia, 2002). Infeksi cacing *A. galli* dapat menyebabkan penurunan laju pertumbuhan dan penurunan berat badan terkait dengan kerusakan mukosa usus halus yang menyebabkan produksi telur yang rendah (Prastowo dan Ariyadi, 2015).

Identifikasi *A. galli* secara akurat perlu dilakukan untuk kepentingan diagnosis yang tepat sehingga dapat meningkatkan pengendalian. Identifikasi molekuler salah satunya dilakukan dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Deoxyribonucleat* yang berada di organel sel mitokondria disebut dengan DNA mitokondria (mtDNA). *Deoxyribonuclea* (DNA) mitokondria memiliki jumlah yang sangat banyak di dalam sel, pewarisan secara material, ukuran relatif kecil, mengandung sedikit intron dan tidak ada rekombinasi gen sehingga sering digunakan untuk studi filogenetik (Hidayat, 2011). Gen MT CO-I atau disebut COX-I, COI dan COX-1 adalah gen mtDNA yang mengkode sintesis protein *Cytochrome C Oxidase* subunit 1. Gen COX-I dapat digunakan sebagai penanda

molekuler untuk mengetahui struktur genetika populasi spesies tertentu (Katakam *et al.*, 2010).

Prinsip kerja dari PCR yaitu menggunakan *reaction mixture* dengan memanfaatkan DNA polymerase yang bersifat termotabil dan fragmen DNA pendek yang disebut primer. *Taq polymerase* diisolasi dari *T. aquaticus* yang tumbuh pada suhu lebih dari 110°C. Enzim Taq dapat bertahan pada pemanasan berulang mencapai 94°C. Primer yang digunakan terdiri dari 20-30 nukleotida. Siklus PCR terdiri dari tiga tahapan yaitu denaturasi (pemisahan untai DNA ganda) pada suhu 90-97°C, *annealing* (pelekatan primer) pada suhu 50-60°C, dan polymerase (pemanjangan DNA) pada suhu 72°C (Yuenleni, 2019). Produk PCR kemudian diidentifikasi berdasarkan berat molekulnya dengan menggunakan elektroforesis gel agarose 2% (Katakam *et al.*, 2010).