

TESIS

**PROFIL Strongylids PADA KUDA DI JAWA TIMUR
SECARA MORFOLOGIS DAN PCR**

PENELITIAN EKSPLORASI LABORATORIS



Oleh:

SESA PUPUT FEBRIYANTI
061924253003

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TESIS

**PROFIL Strongylids PADA KUDA DI JAWA TIMUR
SECARA MORFOLOGIS DAN PCR**

PENELITIAN EKSPLORASI LABORATORIS



Oleh:

SESA PUPUT FEBRIYANTI
061924253003

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

**PROFIL Strongylids PADA KUDA DI JAWA TIMUR
SECARA MORFOLOGIS DAN PCR**

TESIS

**untuk memperoleh gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Penyakit dan
Kesehatan Masyarakat Veteriner pada Fakultas
Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Surabaya**

**SESA PUPUT FEBRIYANTI
061924253003**

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul:

**PROFIL Strongylids PADA KUDA DI JAWA TIMUR
SECARA MORFOLOGIS DAN PCR**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 17 Oktober 2022



SESA PUPUT FEBRIYANTI
061924253003

HASIL PENELITIAN INI TELAH DISETUJUI
17 Oktober 2022

Oleh:

Pembimbing Ketua



Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., MP.

NIP. 196208281989032001

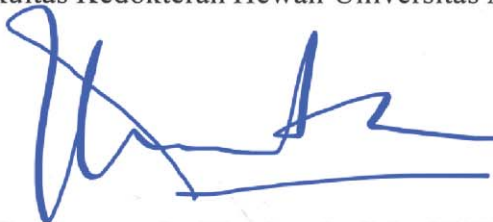
Pembimbing



Dr. Mufasirin, drh., M.Si.

NIP. 196711071993031003

Mengetahui,
Koordinator Program Studi Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat
Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga



Dr. Eka Pramyrtha Hestianah, drh., M.Kes.

NIP. 196403161990022001

Telah diuji seminar proposal pada
Tanggal: 26 Desember 2021

PANITIA PENGUJI USULAN PENELITIAN TESIS

Ketua : Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P.

Anggota : 1. Dr. Mufasirin, drh., M.Si.
2. Prof. Muchammad Yunus, drh., M.Kes., Ph.D.
3. Dr. Eduardus Bimo Aksono, drh., M.Kes.
4. Dr. Endang Supriharti, drh., M.S.

Tanggal: 17 Oktober 2022

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Muchammad Yunus, drh., M.Kes.,Ph.D
Sekretaris : Dr. Eduardus Bimo Aksono, drh., M.Kes.
Anggota : Dr. Endang Supriharti, drh., M.S.
Pembimbing I : Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P.
Pembimbing II : Dr. Mufasirin, drh., M.Si.

Surabaya, 17 Oktober 2022
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Dekan



Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., M.P.
NIP. 196201161992032001

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, karunia, serta anugerah sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul **Profil Strongylids pada Kuda di Jawa Timur Secara Morfologis dan PCR**. Penulis menyadari tesis ini tidak akan selesai tanpa doa, dukungan dan dorongan dari berbagai pihak. Adapun dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., M.P. yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan Magister di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P. selaku pembimbing utama dan Dr. Mufashirin, drh., M.Si selaku pembimbing serta atas saran, kritik, arahan, serta kesabaran dalam membimbing penulis. Panitia penguji Prof. Muchammad Yunus drh., M.Kes., Ph.D., Dr. Eduardus Bimo Aksono, drh., M.Kes., dan Dr. Endang Supriharti, drh., M.S. atas kesediaan dan bimbingannya.

Dr. Eka Pramyrtha Hestianah, drh., M.Kes. selaku Koordinator Program Studi Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner dan seluruh Staf pengajar S2 Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bimbingan, didikan, dan arahannya.

Suami penulis Arya Pradana Wicaksono, drh., M.Vet., yang senantiasa mendoakan dan membantu dalam penelitian ini. Orang tua penulis drh. H. Sigit Setiono dan ibu Hj. Zamila Ambarwati yang senantiasa mendoakan dan memotivasi penulis untuk menyelesaikan pendidikan Magister dengan baik.

Semua pemilik kuda di Jawa Timur beserta rekan-rekan yang telah memberikan izin dan membantu saya melakukan penelitian di beberapa wilayah di Jawa Timur.

Penulis menyadari bahwa terdapat kesalahan dan kekurangan pada penulisan tesis, untuk itu diharapkan kritik dan saran untuk kebaikan dan kesempurnaan penulisan mendatang. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi penulis dan semua pihak yang membutuhkan demi kemajuan perkembangan ilmupengetahuan di bidang Kedokteran Hewan.

Surabaya, 17 Oktober 2022

Penulis

RINGKASAN

Strongylids merupakan salah satu golongan cacing yang menginfeksi saluran pencernaan kuda. Penelitian Strongylids sangat dibutuhkan dikarenakan cacing ini diduga menjadi salah satu penyebab penyakit zoonosis. Di Indonesia, prevalensi Strongylids pada kuda sebesar 12% tepatnya di daerah Lombok Timur, Indonesia tetapi hanya sebatas identifikasi morfologis dan menghitung prevalensi.

Sampel yang positif Strongylids secara mikroskopik dilakukan tahap identifikasi molekuler yaitu *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Ekstraksi DNA dilakukan secara ekstraksi fisik yaitu dengan menggabungkan metode *freeze thaw* dan sonikasi. Identifikasi molekuler penanda gen 18S rRNA dengan primer *forward* SSUA (AAAGATTAAGCCATGCATG) dan primer *reverse* SSU22R (GCCTGCTGCCTTCCTTGGA).

Hasil dari pemeriksaan mikroskopis terdapat 3 sampel positif dengan Strongylids dari 65 sampel feses kuda di Jawa Timur dengan prevalensi sebesar 4,6%. Sampel positif yang dilanjutkan ke tahap PCR, hanya satu sampel dikarenakan DNA sampel tersebut paling banyak terekstraksi. Hasil dari PCR Strongylids pada kuda di Jawa Timur menghasilkan *band* 480bp. Penelitian serupa dengan menggunakan primer SSUA sudah pernah dilakukan di Inggris dan di Australia. Pada kedua penelitian tersebut menggunakan sampel larva, sehingga *band* yang dihasilkan lebih tebal dibanding dengan menggunakan telur cacing. Hal ini disebabkan DNA pada sampel feses mudah tercemar oleh bakteri dan

mikroorganisme lainnya sehingga DNA sulit untuk diekstraksi. Pemeriksaan PCR dilakukan dengan 8 suhu berbeda yakni 55°C, 54,7°C, 54°C, 53°C, 52°C, 51,1°C, 50,4°C, 50°C. Pada gradien suhu 52°C hasil *band* terlihat lebih tebal dibanding dengan suhu 53°C dan 54°C.

Perlu dilakukan berbagai macam metode ekstraksi DNA pada telur cacing Strongylids sehingga dihasilkan DNA *template* yang mencukupi untuk mendapatkan *band* yang lebih tebal dan perlu dilakukan penetasan telur cacing menjadi larva agar memudahkan ditahap ekstraksi DNA. *Band* yang dihasilkan sebesar 480bp adalah bukan *band* spesifik sehingga perlu dilakukan sekunsing DNA untuk mengetahui spesies cacing tersebut.

SUMMARY

Strongylids is one of the worms that infect the digestive tract of horses. Strongylids research is urgently needed because this worm is suspected one of the causes of zoonotic diseases. In Indonesia, the prevalence of Strongylids is 12%, precisely in the East Lombok area, Indonesia, but only limited to morphological identification and calculating prevalence.

Samples that were positive for Strongylids were microscopically subjected to a molecular identification step, namely Polymerase Chain Reaction (PCR). DNA extraction was carried out by physical extraction by combining freeze thaw and sonication methods. Molecular identification 18S rRNA gene with forward primer SSUA (AAAGATTAAGCCATGCATG) and reverse primer SSU22R (GCCTGCTGCCTTCCTTGGA).

The results of microscopic examination there were 3 positive samples with Strongylids from 65 samples of horse feces in East Java with a prevalence of 4.6%. The positive sample that was continued to the PCR stage was only one sample because the DNA of the sample was extracted the most. The results of the Strongylids PCR on horses in East Java produced a band 480bp. Similar studies using SSUA primers have been carried out in the UK and in Australia. However, both studies used larval samples, so the band produced was thicker than using worm eggs. This is because the DNA in stool samples is easily contaminated by bacteria and other microorganisms so that DNA is

difficult to extract. PCR examination was carried out at 8 different temperatures, namely 55°C, 54.7°C, 54°C, 53°C, 52°C, 51.1°C, 50.4°C, 50°C. At a temperature gradient of 52°C, the bands appear thicker than those at 53°C and 54°C. It is necessary to carry out various methods of DNA extraction on Strongylids worm eggs so that sufficient DNA templates are produced to get thicker bands and it is necessary to hatch worm eggs into larvae to facilitate the DNA extraction stage. The resulting band 480 bp is not a specific band so it should be tested with DNA sequencing due to know the species if the worm.

**Molecular Detection of Strongylids
in Horse at East Java**

Abstract

Strongylids infection still occurs in horses in Indonesia and in East Java there is no prevalence data or molecular research on Strongylids worms in horse. Research on Strongylids is urgently needed because this worm is suspected one of the causes of zoonotic diseases. This study aimed to identify Strongylids which infects horses through molecular methods. Identification of Strongylids in this study used morphological and molecular methods. A total of 65 horse faeces in East Java, namely in the cities of Surabaya, Malang, Kediri, and Pasuruan were examined microscopically after being collected with 10% formalin. Three microscopically positive samples showed a prevalence of 4.6%, only one was followed by a PCR test with a base pair target of 363bp. The results show that Strongylids in East Java has a not identical band to Strongylids in England with 480bp.

Keywords: Strongylids, Horse, Jawa Timur, zoonotic disease

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DEPAN	i
HALAMAN SAMPUL DALAM	ii
PRASYARAT GELAR	iii
PERNYATAAN.....	iv
PERSETUJUAN	v
PENETAPAN PANITIA PENGUJI.....	vii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	viii
RINGKASAN	x
SUMMARY	xii
ABSTRACT	xiv
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR TABEL.....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG.....	xx
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Gambaran Kuda di Jawa Timur.....	5
2.1.1 Klasifikasi kuda	7
2.2 Strongylids	8
2.2.1 Klasifikasi Strongylids	9
2.2.2 Siklus hidup	10
2.2.3 Epidemiologi Strongylids	11
2.2.4 Diagnosis Strongylids	11
2.2.4.1 Mikroskopis.....	11
2.2.4.2 PCR.....	12
2.2.4.3 Primer DNA	13
2.2.4.4 Aplikasi teknik PCR.....	14
2.2.4.5 Prinsip kerja PCR.....	15
2.2.4.6 Elektroforesis	16
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL.....	18
3.1 Kerangka Konseptual	18
BAB 4 MATERI DAN METODE.....	20
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	20
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	21

4.2.1	Populasi	21
4.2.2	Sampel	21
4.3	Materi Penelitian	21
4.3.1	Alat dan bahan penelitian	21
4.3.2	Lokasi dan waktu penelitian.....	22
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian	22
4.5	Metode Penelitian	22
4.5.1	Pengambilan sampel.....	22
4.5.2	Pelaksanaan penelitian	23
4.5.2.1	Pemeriksaan mikroskopis	23
4.5.2.2	Pemeriksaan PCR.....	25
4.5.2.3	Visualisasi elektroforesis	25
4.6	Kerangka Operasional Penelitian.....	27
BAB 5	HASIL PENELITIAN	28
5.1	Identifikasi Strongylids	28
5.1.1	Hasil pemeriksaan mikroskopis	28
5.1.2	Hasil pemeriksaan PCR.....	29
BAB 6	PEMBAHASAN	29
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN.....	34
DAFTAR PUSTAKA		35
LAMPIRAN		38

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Kuda ras Thoroughbread.....	7
2.2 Perkembangan embrio Strongylids	9
2.3 Siklus hidup Strongylids	11
5.1 Perkembangan embrio Strongylids di kuda Jawa Timur...	28
5.2 Hasil visualisasi PCR Strongylids	29

DAFTAR TABEL

Gambar	Halaman
5.1 Hasil Identifikasi Strongylids	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Surat Ijin Pengambilan Sampel	38
2. Dokumentasi Penelitian	39
3. Urutan Gen 18S sRNA <i>S.westeri</i>	40

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

18S	: 18 Svedberg
bp	: <i>Base pair</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
dNTP	: Deoksiribonukleotida
NTD	: <i>Neglected Tropical</i> <i>Disease</i>
TrifosfatPBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RNA	: <i>Ribonucleid Acid</i>
rpm	: <i>Revolutions per minute</i>
spp.	: Species
SSU-rRNA	: <i>Small Sub Unit Ribosamal Acid</i>
STH	: <i>Soil Transmitted Helminth</i>
μl	: Mikroliter
μm	: Mikrometer