

SKRIPSI

**IDENTIFIKASI MOLEKULER CACING *Raillietina* sp.
PADA BURUNG MERPATI MENGGUNAKAN POLYMERASE
CHAIN REACTION (PCR)**



Oleh

FLAVIA DOMITILLA YUNITA EKA PERWITASARI
NIM 061811133164

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

HALAMAN PENGESAHAN

**IDENTIFIKASI MOLEKULER CACING *Raillietina* sp. PADA BURUNG
MERPATI MENGGUNAKAN POLYMERASE CHAIN
REACTION (PCR)**

Skripsi
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh:
FLAVIA DOMITILLA YUNITA EKA PERWITASARI
NIM. 061811133164

Menyetujui
Komisi Pembimbing,



(Dr. Kusnoto, drh., M.Si.)
Pembimbing Utama



(Prof. Dr. Pudji Srianoto, drh., M.Kes.)
Pembimbing Serta

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**IDENTIFIKASI MOLEKULER CACING *Raillietina* sp. PADA
BURUNG MERPATI MENGGUNAKAN POLYMERASE CHAIN
REACTION (PCR)**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan 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



Flavia Domitilla Yunita Eka Perwitasari
NIM 061811133164

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal: 10 Oktober 2022

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. Eduardus Bimo Aksono H, drh., M.Kes.

Sekretaris : Dr. Mufasirin, drh., M.Si.

Anggota : Agus Sunarso, drh., M.Sc.

Pembimbing Utama : Dr. Kusnoto, drh., M.Si.

Pembimbing Serta : Prof. Dr. Pudji Sianto, drh., M.Kes.

Telah dinilai pada Sidang Skripsi

Tanggal: 31 Oktober 2022

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. Eduardus Bimo Aksono H, drh., M.Kes.

Anggota : Dr. Mufasirin, drh., M.Si.

: Agus Sunarso, drh., M.Sc.

: Dr. Kusnoto, drh., M.Si.

: Prof. Dr. Pudji Sianto, drh., M.Kes.

Surabaya, 31 Oktober 2022

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,


Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., MP.
NIP. 196201161992032001

RINGKASAN

FLAVIA DOMITILLA YUNITA EKA PERWITASARI. “Identifikasi Molekuler Cacing *Raillietina* sp. Pada Burung Merpati Menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)” di bawah bimbingan Dr. Kusnoto, drh., M.Si. selaku pembimbing utama dan Prof. Dr. Pudji Sianto, drh., M.Kes. selaku pembimbing serta.

Burung merpati merupakan salah satu jenis burung yang banyak dipelihara dan dibudidayakan di Indonesia, baik sebagai hobi maupun sumber protein hewani. Pembudidayaan burung merpati masih terdapat kendala terutama penyakit. Salah satu penyakit yang masih menjadi kendala yaitu infeksi parasitik oleh cacing dari kelas cestoda dengan genus *Raillietina*.

Diagnosa cacing di merpati lebih umum dilakukan dengan pemeriksaan morfologi menggunakan metode bedah saluran cerna atau pemeriksaan terhadap feses (Mijinyawa dan Junaid, 2017). Cacing Cestoda sendiri mempunyai kesamaan ciri morfologi secara makroskopis yang dapat menyulitkan dalam melakukan identifikasi morfologi sehingga diperlukan keahlian khusus dalam membedakan morfologi dari masing-masing cacing kelas Cestoda.

Teknik pemeriksaan yang lebih akurat menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* agar tidak terjadi kesalahan dalam mendiagnosa (Panich dan Chontananarth, 2021). Sampai saat ini di Indonesia penelitian mengenai identifikasi molekuler terhadap cacing *Raillietina* sp. belum pernah dilakukan sehingga diperlukan data mengenai keberhasilan hasil amplifikasi primer untuk

mengkonfirmasi hasil positif keberadaan cacing *Raillietina* sp. menggunakan metode identifikasi molekuler.

Jenis Penelitian ini adalah penelitian eksploratif laboratorik dengan rancangan *cross sectional study*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil identifikasi DNA cacing *Raillietina* sp. yang diamplifikasi menggunakan universal primer *Forward* JB11 (5'-AGA TTC GTA AGG GGC CTA ATA-3') dan *Reverse* JB12 (5'-ACC ACT AAC TAA TTC ACT TTC-3') pada regio gen ND1 pada sampel yang diisolasi dari usus halus burung merpati potong. Usus burung merpati potong diambil dari Pasar Wonokromo dan Pasar Darmo Permai, Surabaya, Jawa Timur sebanyak 68 set. Sampel diidentifikasi secara makroskopis untuk melihat lesi dan keberadaan cacing kemudian dilanjutkan identifikasi morfologi. Sampel yang diidentifikasi mirip secara morfologi dengan *Raillietina* sp. dilanjutkan identifikasi molekuler.

Hasil pengamatan secara makroskopis terhadap cacing dewasa *Raillietina* sp. berupa tubuh pipih berwarna putih hingga putih transparan dengan adanya segmentasi dan ukuran panjang tubuh bervariasi berkisar 14 – 25 cm. Pemeriksaan mikroskopis tampak bagian *scolex* berbentuk bulat dengan rostellum yang dipersenjantai kait dan *sucker* berbentuk bulat. Leher tampak tidak terlalu jelas setelah *scolex*. Pengamatan terhadap segmen tampak adanya segmen muda (*immature*), semen dewasa (*mature*), dan segmen *gravid*.

Sampel cacing dewasa yang diduga morfologinya mirip dengan *Raillietina* sp. diberi kode sampel C3 untuk diekstraksi. Hasil ekstraksi berupa *template* DNA yang didapat kemudian diamplifikasi menggunakan universal primer *Forward*

JB11 dan *Reverse* JB12. Amplikon target panjang pita DNA yang didapat menggunakan primer tersebut yaitu 489 bp (Butboonchoo *et al.*, 2016).

Pengaturan suhu dalam PCR *cycler* yang digunakan pada penelitian ini yaitu suhu pre-denaturasi 94°C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 52°C selama 1 menit, ekstensi pada suhu 72°C selama 30 detik, dan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit yang diulang sebanyak 35 siklus.

Produk PCR dielektroforesis pada tegangan 100 volt selama 30 menit dalam buffer TBE dan gel agarosa 2%, kemudian divisualisasikan dengan sinar ultraviolet menggunakan *UV Transluminator*. Visualisasi hasil elektroforesis terlihat adanya band DNA tebal pada fragmen sekitar 489 bp.

Hasil pemeriksaan PCR terhadap cacing *Raillietina* sp. menggunakan universal primer *Forward* JB11 dan *Reverse* JB12 telah berhasil mengamplifikasi regio gen ND1 untuk cacing dewasa *Raillietina* sp. ditunjukkan dengan muncul band tebal pada fragmen sekitar 489 bp.

**MOLECULAR IDENTIFICATION OF *Raillietina* sp. IN DOMESTIC
PIGEON USING POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)**

Flavia Domitilla Yunita Eka Perwitasari

ABSTRACT

Raillietina worm infection in pigeons is one of the most common worm infections in poultry industry and causes losses. Morphological diagnostic techniques are often difficult and require expertise in diagnosing so the accurate identification is needed to avoid misdiagnosis. This study aims is to determine the results of DNA identification of the worm *Raillietina* sp. which was amplified using the universal primers Forward JB11 (5'-AGA TTC GTA AGG GGC CTA ATA-3') and Reverse JB12 (5'-ACC ACT AAC TAA TTC ACT TTC-3') in the ND1 gene region. Samples were collected from 68 sets of pigeon small intestines. Amplification using this primer has succeeded for finding the DNA from *Raillietina* sp. indicated by the appearance of a thick band at the 489 bp fragment.

Keywords: *Raillietina* sp, pigeon, ND1, molecular identification, PCR

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji Syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan YME atas rahmat serta karunia yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyelesaian skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan dorongan semangat dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

Tuhan Yang Maha Esa atas segala Rahmat yang diberikan sehingga diperoleh jalan keluar dalam setiap masalah yang penulis hadapi dalam penulisan skripsi ini.

Prof. Dr. Pudji Sianto, drh., M.Kes. selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga (2015-2020) dan Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., M.P selaku dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga (2020-sekarang) atas kesempatan yang telah diberikan untuk mengikuti pendidikan dokter hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Dr. Kusnoto, drh., M.Si. selaku dosen pembimbing utama yang telah sabar membimbing dan memberi arahan demi terselesaikannya skripsi ini.

Prof. Dr. Pudji Sianto, drh., M.Kes. selaku dosen pembimbing serta yang telah banyak memberikan saran dan bantuan selama proses pengerjaan skripsi ini.

Dr. Eduardus Bimo Aksono H, drh., M.Kes. sebagai ketua penilai, Dr. Mufasirin, drh., M.Si. sebagai sekertaris penilai dan Agus Sunarso, drh., M.Sc. sebagai anggota penilai yang telah memberikan saran dan arahan selama sidang agar tercipta penulisan yang baik pada skripsi yang penulis susun.

Kepada Alm. ayah yang selama ini telah bekerja keras untuk dapat menyekolahkan hingga penulis bisa mencapai gelar S1, ayah yang selalu ingin melihat anaknya dapat wisuda dan menggapai impiannya walaupun Tuhan berkata lain. Teruntuk mama yang saat ini selalu mendampingi dan menyemangati agar jangan menyerah dan bersedih sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Teruntuk Theresia selaku anggota kelompok penelitian yang selalu memberikan dorongan demi terselesaikannya skripsi ini. Kepada Alfi, Bayu, Empat, Miuwmiuw, Silaw dan Bagus yang telah membantu selama penulisan skripsi. Serta masih banyak bantuan dari pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Semoga Tuhan senantiasa membalas kebaikan yang telah diberikan. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Surabaya, 17 Oktober 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
HALAMAN PERNYATAAN	ii
KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN.....	iii
KOMISI PENILAI SIDANG SKRIPSI.....	iv
RINGKASAN	v
ABSTRACT.....	viii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xv
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang Penelitian.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Landasan Teori	4
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Manfaat Hasil Penelitian.....	6
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 7
2.1 Burung Merpati.....	7
2.1.1 Klasifikasi.....	7
2.1.2 Morfologi.....	7
2.1.3 Anatomi usus halus burung merpati	8
2.2 <i>Raillietina</i>	9
2.2.1 Klasifikasi.....	9
2.2.2 Morfologi.....	10
2.2.3 Siklus hidup dan patogenitas <i>Raillietina</i>	13
2.2.4 Penyebaran infeksi cacing <i>Raillietina</i>	14
2.2.5 Diagnosa cacing <i>Raillietina</i> sp.	15
 SKRIPSI IDENTIFIKASI MOLEKULER CACING.... FLAVIA DOMITILLA	

2.2.6	Pengendalian cacing <i>Raillietina</i> sp.....	16
2.3	Identifikasi Molekuler	16
2.3.1	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	16
2.3.2	Regio gen ND1	18
BAB 3	MATERI DAN METODE.....	20
3.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	20
3.2	Sampel dan Besar Sampel	20
3.3	Tempat dan Waktu Penelitian.....	20
3.4	Bahan dan Alat Penelitian	20
3.4.1	Bahan penelitian	20
3.4.2	Alat penelitian.....	21
3.5	Prosedur Penelitian	22
3.5.1	Pengambilan sampel	22
3.5.2	Isolasi dan identifikasi morfologi	22
3.5.3	Ekstraksi dan amplifikasi DNA menggunakan PCR.....	23
3.6	Diagram Alir Penelitian	24
3.7	Analisis Data.....	24
BAB 4	HASIL PENELITIAN	25
4.1	Isolasi Sampel dan Pengamatan Morfologi Cacing Dewasa <i>Raillietina</i> sp.	25
4.2	Identifikasi Molekuler Dengan Menggunakan <i>Polymerase Chain Reaction</i>	27
BAB 5	PEMBAHASAN.....	29
BAB 6	KESIMPULAN DAN SARAN	33
6.1	Kesimpulan	33
6.2	Saran	33
DAFTAR PUSTAKA		34
LAMPIRAN		39

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Morfologi Skematik cacing dewasa <i>Raillietina</i> sp.....	10
Gambar 2.2 Morfologi skematik cacing <i>Raillietina echinobotrida</i>	11
Gambar 2.3 Morfologi skematik cacing <i>Raillietina tetragona</i>	12
Gambar 2.4 Morfologi skematik cacing <i>Raillietina cesticillus</i>	13
Gambar 3.1 Diagram alir penelitian.	24
Gambar 4.1 Pengamatan lesi usus halus burung merpati.	25
Gambar 4.2 Pengamatan makroskopis cacing dewasa <i>Raillietina</i> sp.....	26
Gambar 4.3 Pengamatan mikroskopis morfologi <i>scolex</i> cacing dewasa <i>Raillietina</i> sp.	26
Gambar 4.4 Hasil pengamatan morfologi strobila cacing dewasa <i>Raillietina</i> sp.	27
Gambar 4.4 Hasil elektroforesis produk PCR dalam agarose gel 2%.	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1 Pembuatan Preparat Permanen dan Pewarnaan <i>Semichen-Acetic Carmine</i>	39
Lampiran 2 Protokol Ekstraksi DNA dengan QIAamp DNA <i>Mini Kit</i>	40
Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian	41
Lampiran 4 Sertifikat Uji Kode Etik	44

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

PCR	: Polymerase Chain Reaction
ND1	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Dehydrogenase subunit 1
rDNA	: Ribosome Deoxyribonucleic Acid
bp	: Base Pairs
R	: Raillietina
DNA	: Deoxyribonucleic acid
kb	: Kilo Base Pairs
dNTP	: Deoxynucleoside triphosphate
sp	: species
µm	: Mikrometer
pmol	: Picomoles
MgCl ₂	: Magnesium Chloride
MgSO ₄	: Magnesium Sulfate
NaCl	: Natrium Chloride
µL	: Mikroliter
ATL	: Tissue lysis buffer
AL	: Lysis buffer
AW1	: Wash buffer 1
AE	: Elution buffer
AW2	: Wash buffer 2
TBE	: Tris/Borate/EDTA
UV	: Ultraviolet