

TESIS

**KARAKTERISASI MOLEKULER GEN PENYANDI
SECOND INTERNAL TRANSCRIBED SPACER
(ITS-2) *Sarcoptes scabiei* PADA KELINCI DI
BEBERAPA DAERAH JAWA TIMUR**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK



Oleh :

NUR RUSDIANA
NIM 061814253004

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2020**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul:

Karakterisasi Molekuler Gen Penyandi *Second Internal Transcribed Spacer (ITS-2) Sarcoptes Scabiei* pada Kelinci di Beberapa Daerah di Jawa Timur

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, 30 Januari 2020



Nur Rusdiana
NIM 061814253004

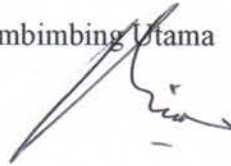
LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI

Tanggal 30 Januari 2020

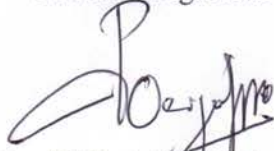
Oleh

Pembimbing Utama



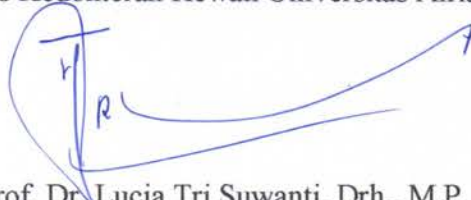
Prof. Dr. Nunuk Dyah Retno Lastuti, Drh., M.S
NIP. 195304181978032001

Pembimbing Serta



Dr. Poedji Hastuti, Drh., M.Si.
NIP. 19610311988032002

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



Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, Drh., M.P.
NIP. 196208281989032001

Usulan penelitian tesis ini telah diuji dan dinilai pada

Tanggal: 30 Januari 2020

PANITIA PENGUJI USULAN PENELITIAN TESIS

Ketua : Prof. Dr. Nunuk Dyah Retno Lastuti, Drh., M.S.

Anggota : Dr. Poedji Hastutiek, Drh., M.Si

Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, Drh., M.P.

Dr. Mufasirin, Drh., M.Si.

Dr. Eduardus Bimo Aksono, Drh., M.Kes.

.

Tesis ini telah diuji dan dinilai pada

Tanggal: 30 Januari 2020

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. Nunuk Dyah Retno Lastuti, Drh., M.S.

Anggota : Dr. Poedji Hastutiek, Drh., M.Si

Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, Drh., M.P.

Dr. Mufasirin, Drh., M.Si.

Dr. Eduardus Bimo Aksono, Drh., M.Kes.

Surabaya, 30 Januari 2020

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Pudji Srianto, Drh., M.Kes.

NIP.195601051986011001

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT atas karunia, taufik, rahmat dan hidayah-Nya serta berkat doa restu suami, orang tua, kakak adik tercinta, sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan tesis dengan judul **Karakterisasi Molekuler Gen Penyandi *Second Internal Transcribed Spacer (ITS-2) Sarcoptes scabiei* pada Kelinci di Beberapa daerah di Jawa Timur.**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada: Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Dr. Pudji Srianto, Drh., M.Kes dan Ketua Program Studi Magister Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, Drh., M.P. atas kesempatan mengikuti pendidikan di Program Studi S2 Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Prof. Dr. Nunuk Dyah Retno Lastuti, Drh., M.S. selaku pembimbing utama dan Dr. Poedji Hastutiek, Drh., M.Si. selaku pembimbing serta, atas saran dan bimbingannya. Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, Drh., M.P. selaku ketua penguji, Dr. Mufasirin, Drh., M.Si. selaku sekretaris penguji dan Dr. Eduardus Bimo Aksono, Drh., M.Kes. selaku anggota penguji. Seluruh Staf Pengajar Program Studi Magister Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan Magister.

Suamiku tercinta Ayyuby Fahni Andhika, ST. yang telah memberikan bantuan materiil, dorongan, semangat dan doa yang selalu mengiringi langkah

penulis sampai pada titik ini. Ayahanda Umar Hakim, ibunda Isti'anah, kedua mertua bapak Iskandi dan ibu Ninik Masrifah, Kakak-kakakku Mahillatul Qorin, AMAK., Yusuf Ramadhan SE., Rosita Feriana S.Pd., Ahmad Zainul Luthfi SE., serta adik-adikku Ida Rohimah S.Hi., Zainal Abidin, Amd., Nadhifatul Latifah Amd.Keb., Muhammad Ihkammuddin S.Sos. dan segenap keluarga besar yang selalu mendoakan dan memberi semangat kepada penulis untuk segera menyelesaikan tesis ini.

Sahabat-sahabatku yang senantiasa ada memberikan dukungan dan mendengarkan cerita penulis serta memberikan semangat untuk segera menyelesaikan tesis ini. Rekan-rekan seperjuangan S2 Fakultas Kedokteran Hewan angkatan 2018 atas kerjasamanya selama menempuh Pendidikan Pascasarjana di Fakultas Kedokteran Hewan dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu. Akhirnya kepada Allah SWT jualah penulis serahkan segalanya. Semoga segala bantuan dari semua pihak mendapat imbalan dan pahala berlipat ganda dari Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih terdapat kekurangan sehingga saran dan kritik yang membangun sangat dibutuhkan. Semoga tesis ini dapat dijadikan referensi dan menambah pengetahuan tentang *Sarcoptes scabiei* yang ada di Indonesia juga dapat digunakan sebagai acuan dasar pengembangan ilmu di bidang molekuler *Sarcoptes scabiei*.

Surabaya, 30 Januari 2020

Penulis

RINGKASAN

Skabies adalah penyakit kulit menular yang disebabkan oleh tungau *Sarcoptes scabiei* dan dianggap sebagai *emerging/re-emerging parasitic disease*. *S. scabiei* bersifat sangat menular dan ditransmisikan dengan cepat secara langsung maupun tidak langsung. Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) memiliki sensitifitas yang lebih tinggi untuk mendeteksi tungau dibandingkan menggunakan identifikasi melalui mikroskop dengan metode *scraping* kulit yang menunjukkan gejala khas skabies. Banyaknya kasus Skabies di Indonesia telah didukung oleh penelitian tentang prevalensi Skabies, namun penelitian di bidang molekuler sangat terbatas.

Hasil analisis sekuensing dari ribosom dan mitokondria menunjukkan bahwa tungau *Sarcoptes* dari asal geografis yang berbeda secara genetik dapat dibedakan. Penelitian sebelumnya juga telah menggunakan *Second Internal Transcribed Spacer* (ITS-2) *S. scabiei* sebagai penanda gen untuk mendeteksi adanya mutasi genetik yang disebabkan karena perbedaan letak geografis. Sampel yang didapat dari Kota Surabaya, Sidoarjo, Mojokerto, Pasuruan dan Nganjuk dibawa ke Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dan Laboratorium Hepatitis Intitute Tropical Disease Universitas Airlangga sebagai sampel karakterisasi gen penyandi ITS-2 *S. scabiei*. Deteksi *S. scabiei* pada penelitian ini dilakukan *scraping* kulit kelinci yang terinfeksi Skabies setelah itu dilakukan identifikasi morfologi *S. scabiei*. Sampel positif kemudian dilanjutkan dilakukan ekstraksi DNA dan uji konfirmasi PCR, dibaca menggunakan metode elektroforesis. Hasil positif uji PCR dilakukan sekuensing DNA yang selanjutnya dianalisis perubahan nukleotida, analisis homologi dan analisis pohon filogenetik dari *S. scabiei*.

Sampel dari kota Surabaya, Sidoarjo, Mojokerto, Pasuruan dan Nganjuk dengan uji mikroskopis ditemukan adanya *S. scabiei*. Metode PCR dilakukan pada kelima sampel positif yang dipilih acak dari masing-masing daerah. Hasil uji PCR menunjukkan hasil positif dengan teramplifikasinya pita DNA dengan panjang 304 bp. Hasil sekuensing DNA sampel dilakukan pencocokan dengan data *Gene Bank* menggunakan program *Basic Local Alignment Tools*

(BLAST) menunjukkan *S. scabiei* isolat sampel memiliki kesamaan *identity* dengan referensi sekuen yang digunakan acuan dalam desain primer dengan persentase paling rendah sebesar 91.23% dan persentase paling tinggi sebesar 98.68%. Terdapat perbedaan persentase pada isolat yang diteliti dan isolat dan *Gene Bank*, hal ini disebabkan karena pengaruh faktor lingkungan, letak geografis, iklim dan musim. Faktor tersebut menyebabkan terjadinya perubahan pada gen organisme.

Hasil Sekuensing dari kelima sampel setelah dilakukan analisis perubahan nukleotida menunjukkan adanya mutasi. Mutasi berupa delesi dan substitusi basa nitrogen. Mutasi yang terjadi kemungkinan dipengaruhi oleh ras kelinci yang terinfeksi dan lingkungan. Sebanding dengan penelitian sebelumnya, hasil analisis sekuensing dari ribosom dan mitokondria menunjukkan bahwa tungau *Sarcoptes* dari asal geografis yang berbeda secara genetik dapat dibedakan. Penelitian sebelumnya juga telah menggunakan *Second Internal Transcribed Spacer* (ITS-2) *S. scabiei* sebagai penanda gen untuk mendeteksi adanya mutasi genetik yang disebabkan karena perbedaan letak geografis.

Hasil pohon filogenetik menunjukkan bahwa *S. scabiei* isolat dari beberapa daerah di Jawa Timur memiliki kekerabatan dengan *S. scabiei* dari beberapa hewan inang selain kelinci dari beberapa negara seperti *S. scabiei* pada manusia, babi, kambing, sapi, *raccoon dog* dan hewan lainnya. kekerabatan yang terjadi dapat diakibatkan oleh adanya migrasi *S. scabiei* melalui host kelinci, hewan lain dan manusia.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai karakter molekuler dan analisis filogenetik *S. scabiei* pada inang lain di Indonesia serta dilakukan analisis lebih lanjut mengenai struktur protein menggunakan perangkat lunak, sehingga dapat diketahui perubahan nukleotida dapat mempengaruhi susunan protein yang terbentuk agar nantinya dapat dikembangkan ilmu di bidang molekuler *S. scabiei*.

SUMMARY

Scabies is a contagious skin disease caused by *Sarcoptes scabiei* and is considered an emerging / re-emerging parasitic disease. The Polymerase Chain Reaction (PCR) method has a higher sensitivity for detecting mites than using identification through a microscope with a skin scraping method that shows typical symptoms of Scabies. The number of cases of Scabies in Indonesia has been supported by research on the prevalence of Scabies, but research in the molecular method is very limited.

Sequencing analysis of ribosomal and mitochondria shows that genetic of *Sarcoptes* from different geographical origin can be distinguished. Previous studies have also used *S. scabiei* as a marker of genes to detect genetic mutations caused by differences in geographical areas. Samples obtained from the cities of Surabaya, Sidoarjo, Mojokerto, Pasuruan and Nganjuk were taken to the Parsitology Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Airlangga and the Laboratory of Hepatitis Intitute Tropical Disease at Airlangga University as samples of the characterization of the *S. scabiei* ITS-2 encoding gene. *S. scabiei* detection in this study from the skin scraping of rabbits infected with Scabies to identification of *S. scabiei* morphology. Confirmation test was carried out by molecular examination using Polymerase Chain Reaction (PCR) method from five positive sampel of Surabaya, Sidoarjo, Mojokerto, Pasuruan and Nganjuk.. PCR results are read using the electrophoresis method. The positive results of the PCR test were carried out DNA sequencing which was then analyzed differential of nucleotides, homology analyzed and phylogenetic tree analyzed from *S. scabiei* isolate Surabaya, Sidoarjo, Mojokerto, Pasuruan and Nganjuk

Samples from the Surabaya, Sidoarjo, Mojokerto, Pasuruan and Nganjuk with microscopic method found *S. scabiei*. The PCR method was carried out on the five positive samples chosen randomly from each region. PCR test results showed positive results with amplification of DNA bands with a length of 304 bp. The results of DNA sample sequencing were matched with data on Gene Bank using the Basic Local Alignment Tools (BLAST) program

showing *Sarcoptes scabiei* isolates of the samples have the same identity with the reference sequences used by reference in the primary design with the lowest percentage of 91.23% and the highest percentage of 98.68% . There are differences in the percentage of isolates studied and isolates on Gene Bank, this is due to the influence of environmental factors, geographical location, climate and season. These factors cause changes in the organism's genes.

Sequencing results of the five samples after analysis of nucleotide indicate mutation. Mutation is deletions and substitution of nitrogen bases. Mutation that occur are likely to be influenced by the infected rabbit breed and the environment. Comparable to previous studies, the results of sequential analysis of ribosomal and mitochondria indicate that *Sarcoptes* mites from genetically different geographical origin can be distinguished. Previous studies have also used *S. scabiei* as a marker of genes to detect genetic mutation caused by differences in geographical location.

The results of the phylogenetic tree show that *S. scabiei* isolates from several regions in East Java have a kinship with *S. scabiei* from several host animals besides rabbits from several countries such as *S. scabiei* in humans, pigs, goats, cows, raccoons dogs and other animals. the kinship that occurs can be caused by the migration of *S. scabiei* through a host of rabbits, other animals and humans.

Further research needs to be carried out on the molecular character and phylogenetic analysis of *S. scabiei* from other host in Indonesia and further analysis of the structure of proteins using software. It can be seen that nucleotide change can affect the composition of protein formed so that can be developed in molecular science of *S. scabiei*.