

OPTIMASI METODE EKSTRAKSI DNA TELUR CACING *Haemonchus contortus* UNTUK PENGUJIAN MOLEKULER

TRIANA JUNIATI



**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN HEWAN
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.





PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Optimasi Metode Ekstraksi DNA Telur Cacing *Haemonchus contortus* untuk Pengujian Molekuler” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2024

Triana Juniati
B0401201102

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ABSTRAK

TRIANA JUNIATI. Optimasi Metode Ekstraksi DNA Telur Cacing *Haemonchus contortus* untuk Pengujian Molekuler. Dibimbing oleh RIDI ARIF dan SRI RAHMATUL LAILA.

Haemonchosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh cacing *Haemonchus contortus* dan sering terjadi pada ruminansia kecil. Deteksi dini kecacingan dapat dilakukan dengan memanfaatkan pengujian molekuler berbasis *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Telur cacing *H. contortus* sebagai salah satu target deteksi memiliki lapisan dinding yang kuat sehingga diperlukan metode ekstraksi DNA yang sesuai agar mendapatkan hasil PCR yang optimal. Penelitian ini bertujuan mendapatkan metode ekstraksi telur cacing *H. contortus* paling optimal yang dapat digunakan untuk identifikasi molekuler. Metode ekstraksi dilakukan dengan 3 perlakuan berbeda yakni pemanasan; pendinginan dan pemanasan; serta tanpa perlakuan suhu. Berdasarkan gambaran pita DNA target hasil PCR yang dibaca menggunakan elektroforesis, ketiga perlakuan menunjukkan kualitas pendaran pita yang sama dan panjang amplifikasi DNA yang sesuai yakni 260 bp. Perlakuan dengan tanpa penerapan suhu khusus merupakan metode yang paling efisien karena membutuhkan waktu yang paling minimum.

Kata kunci: ekstraksi, *H. contortus*, PCR, telur

ABSTRACT

TRIANA JUNIATI. Optimization of *Haemonchus contortus* Egg DNA Extraction Method for Molecular Testing. Supervised by RIDI ARIF and SRI RAHMATUL LAILA.

Haemonchosis is a disease caused by the worm *Haemonchus contortus* and often occurs in small ruminants. Early detection of helminthiasis can be done by utilizing Polymerase Chain Reaction (PCR)-based molecular testing. *H. contortus* worm eggs as one of the detection targets have a strong wall layer so that an appropriate DNA extraction method is needed in order to obtain optimal PCR results. This study aims to obtain the most optimal *H. contortus* worm egg extraction method that can be used for molecular identification. The extraction method was carried out with 3 different treatments, namely heating; cooling and heating; and without temperature treatment. Based on the description of the PCR target DNA band read using electrophoresis, the three treatments showed the same quality of band luminescence and the appropriate DNA amplification length of 260 bp. Treatment with no special temperature application is the most efficient method because it requires the minimum time.

Keywords: eggs, extraction, *H. contortus*, PCR

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

OPTIMASI METODE EKSTRAKSI DNA TELUR CACING *Haemonchus contortus* UNTUK PENGUJIAN MOLEKULER

TRIANA JUNIATI

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan pada
Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN HEWAN
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Skripsi:
1. Dr. drh. Leni Maylina, M.Si



Judul Skripsi : Optimasi Metode Ekstraksi DNA Telur Cacing *Haemonchus contortus* untuk Pengujian Molekuler

Nama : Triana Juniati
NIM : B0401201102

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. drh. Ridi Arif



Pembimbing 2:
Dr. drh. Sri Rahmatul Laila



Diketahui oleh

Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Hewan:
Dr. drh. Wahono Esthi Prasetyaningtyas, M.Si
NIP 198006182006042026



Digitally signed by:
Wahono Esthi Prasetyaningtyas
Date: 20 Agu 2024 12:58:51 WIB
Verify at design.ipb.ac.id

Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan
Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis:
Prof. drh. Ni Wayan Kurniani Karja, MP, Ph.D
NIP 196902071996012001



Digitally signed by:
Prof. drh. Ni Wayan Kurniani Karja
Date: 20 Agu 2024 12:58:51 WIB
Verify at design.ipb.ac.id

Tanggal Ujian:
16 Agustus 2024

Tanggal Lulus: 21 AUG 2024



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Oktober 2023 sampai bulan Desember 2023 ini berjudul “Optimasi Metode Ekstraksi DNA Telur Cacing *Haemonchus contortus* untuk Pengujian Molekuler”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Dr. drh. Ridi Arif sebagai dosen pembimbing pertama dan Dr. drh. Sri Rahmatul Laila sebagai dosen pembimbing kedua sekaligus dosen pembimbing akademik atas bimbingan, arahan, dan masukan yang diberikan kepada penulis selama pengerjaan skripsi ini. Terima kasih yang tak terhingga kepada kedua orang tua penulis, Bapak Mokhammad Sopan dan Ibu Kemisah, atas segala pengorbanan yang diberikan kepada penulis hingga detik ini. Hal-hal esensial seperti kasih sayang, doa, nasihat, dukungan moril dan material lainnya sungguh sangat berarti. Terima kasih juga kepada keluarga tercinta, yaitu Mbak Atun, Dhorri, Putri, Ola, Daariin, the Pawrents, Puput, serta teman-teman terdekat penulis yang telah menghibur, memberi semangat, dan menjadi tempat pulang yang hangat.

Penulis menyadari bahwa terdapat banyak kekurangan dalam penulisan dan penyusunan skripsi ini, sehingga penulis menyampaikan banyak terima kasih atas kritik dan saran terhadap skripsi ini. Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Agustus 2024

Triana Juniati

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	vii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	1
1.3 Manfaat	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Domba	3
2.2 <i>Haemonchus contortus</i>	3
2.2.1 Taksonomi	3
2.2.2 Karakteristik Telur	4
2.3 Metode PCR	4
III METODE	5
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	5
3.2 Alat dan Bahan	5
3.3 Prosedur Penelitian	5
3.3.1 Koleksi Cacing <i>H. contortus</i> dan Pemanenan Telur	5
3.3.2 Persiapan Deteksi Molekuler PCR	6
a. Pembuatan 1M Dithiothreitol (DTT)	6
b. Pembuatan <i>Lysis Solution</i>	6
c. Ekstraksi DNA Sampel	6
a) Metode Pemanasan	6
b) Metode Pendinginan dan Pemanasan	6
c) Metode Tanpa Perlakuan Suhu	6
d. Penyiapan Primer	7
e. Pembuatan <i>Master Mix</i>	8
3.3.3 Pelaksanaan PCR	8
3.3.4 Elektroforesis	8
a. Pembuatan Gel Agarose 1%	8
b. Pelaksanaan Elektroforesis dan Pembacaan Pita DNA	9
3.4 Analisis Data	9
IV HASIL	10
4.1 Koleksi Cacing <i>H. contortus</i> dan Pemanenan Telur	10
4.2 Preparasi dan Ekstraksi Telur <i>H. contortus</i>	11
4.3 Pelaksanaan PCR	12
4.4 Hasil Elektroforesis	13
V PEMBAHASAN	14
5.1 Koleksi Sampel Telur <i>H. contortus</i>	14
5.2 Preparasi dan Ekstraksi Telur <i>H. contortus</i>	14
5.3 Pelaksanaan PCR	15
5.4 Hasil Elektroforesis	16

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

VI	SIMPULAN DAN SARAN	17
6.1	Simpulan	17
6.2	Saran	17
	DAFTAR PUSTAKA	19
	RIWAYAT HIDUP	23

DAFTAR TABEL

1. Desain ekstraksi DNA dan preparasi perlakuan	7
2. Komposisi <i>master mix</i> PCR	8

DAFTAR GAMBAR

1. Penyayatan abomasum dan cacing hasil koleksi	10
2. Cacing <i>H. contortus</i>	10
3. <i>Vulva flap</i> setelah disayat dan mengeluarkan telur	11
4. Telur cacing <i>H. contortus</i>	11
5. Handling telur <i>H. contortus</i> dengan mikropipet	12
6. Hasil ekstraksi DNA	12
7. Hasil elektroforesis	13