



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iv
PERSEMBAHAN	v
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
INTISARI	xvii
ABSTRACT	xviii
BAB I. PENDAHULUAN	
Latar Belakang	1
Rumusan Masalah	6
Tujuan Penelitian	6
Manfaat Penelitian	7
Keaslian Penelitian	8
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
Virus Newcastle Disease	14
Sejarah Penyakit ND	14
Etiologi	16
Protein Virus ND	17
Protein Fusion	19
Protein <i>Hemagglutinin-Neuraminidase</i>	20
Daya Tahan Virus	22
Hewan Peka	23
Patogenesis Virus ND	24
Patogenesis ND	26
Gejala Klinis ND	29
Diagnosis ND	34
Penyakit ND pada Unggas	36
Penyakit ND pada Ayam	36
Penyakit ND pada Burung Liar.....	38
Respon Imun terhadap infeksi Virus Newcastle Disease	40

	Vaksinasi ND	43
	Landasan Teori	46
	Hipotesis	51
BAB III.	MATERI DAN METODE	Halaman
	Tempat dan Waktu	52
	Materi	52
	a. Sampel Penelitian	52
	b. Bahan Karakterisasi Molekular	54
	c. Bahan Uji Biologis	57
	d. Bahan Uji Histopatologi.....	57
	Metode Karakterisasi Molekular	58
	a. Ekstraksi RNA	58
	b. RT-PCR real time untuk deteksi Newcastle Disease dan Avian Influenza	59
	c. Amplifikasi gen F dan HN utuh untuk analisa sekuensing	60
	d. Elektroforesis	61
	e. Sekuensing Menggunakan Metode Sanger	61
	f. Analisis Data Molekuler	62
	Metode Uji Biologis	63
	a. Isolasi dan Reisolasi pada TAB	63
	b. Uji Hemagglutinasi <i>Newcastle disease</i>	64
	c. Uji Patogenesitas	64
	d. Pengamatan Perubahan Patologis	65
	Metode Pengamatan Histopatologi	66
	a. Pembuatan preparat histopatologi dari embrio ayam	66
	b. Pengamatan mikroskopis pewarnaan HE	67
	c. Pelaksanaan IHK	67
	d. Pengamatan IHK	69
BAB IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	
	a. Karakterisasi Molekuler	71
	1. RT-PCR Real Time untuk Deteksi <i>Newcastle Disease</i> dan Avian Influenza	71
	2. Amplifikasi gen F dan HN	74
	3. Determinan Molekuler Penentu Patogenesitas ..	76
	4. Konstruksi Pohon Kekerbatan	79
	5. Variasi genetik gen F dan HN.....	83
	6. Jarak Genetik Virus Newcastle Disease	89
	b. Uji Biologis	
	1. Isolasi pada TAB	93
	2. Uji Hemagglutinasi <i>Newcastle disease</i>	95



3. Uji Patogenesisitas	97
c. Pengamatan Lesi Jaringan dan Distribusi virus ND pada Embrio	100
d. Hubungan Karakter Molekuler, Uji Biologis dan Lesi Patologis dari Virus ND	115
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	Halaman
Kesimpulan	118
Saran	119
DAFTAR PUSTAKA	120
RINGKASAN	141
SUMMARY	155
LAMPIRAN	168

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Struktur virus ND	18
Gambar 2 Bagan genomik virus ND	19
Gambar 3 Mekanisme proses replikasi APMV-1	28
Gambar 4 Skema perpotongan daerah nukleotida yang diamplifikasi 3 pasang primer <i>overlapping</i> yang mengamplifikasi gen HN	57
Gambar 5 Skema penelitian	70
Gambar 6 Hasil qRT-PCR Newcastle Disease	72
Gambar 7 Hasil qRT-PCR Avian Influenza	72
Gambar 8 Contoh hasil amplifikasi fragmen gen F dan HN	75
Gambar 9 Phylogenic Tree	82
Gambar 10 Hasil uji hemaglutinasi cepat	96
Gambar 11 Hasil uji hemaglutinasi lambat	96
Gambar 12 Embrio yang mengalami perubahan patologis	99
Gambar 13 Embrio yang dipanen setelah hari kelima pengamatan..	99
Gambar 14 Embrio yang mengalami perdarahan	100
Gambar 15 Gambaran histopatologi dan distribusi virus ND pada jaringan di Saluran pernapasan embrio ayam	104
Gambar 16 Gambaran histopatologi dan distribusi virus ND pada jaringan otak embrio ayam	106
Gambar 17 Gambaran histopatologi dan distribusi virus ND pada jaringan kulit embrio ayam	108
Gambar 18 Gambaran histopatologi dan distribusi virus ND pada proventrikulus embrio ayam	110
Gambar 19 Organ usus pasca infeksi virus ND	111
Gambar 20 Distribusi virus ND pada organ ginjal terlihat dengan adanya reaksi immunopositif dengan pewarnaan IHK...	112
Gambar 21 Distribusi virus ND pada organ hati dengan pewarnaan IHK.....	113
Gambar 22 Reaksi immunopositif virus ND pada organ paru embrio dengan pewarnaan IHK	114

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Keaslian penelitian	12
Tabel 2. Data informasi Virus ND yang digunakan pada penelitian ini....	53
Tabel 3. Sekuen nukleotida primer Gen M <i>Avian Influenza</i>	55
Tabel 4. Sekuen nukleotida primer gen M <i>Newcastle Disease</i>	55
Tabel 5. Sekuen nukleotida primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> gen F utuh ND ...	56
Tabel 6. Sekuen nukleotida primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> gen HN utuh ND	56
Tabel 7. Data virus ND dan informasi mengenai hasil uji molekuler dan biologis serta nomer akses pada genbank	73
Tabel 8. Data situs penting pada gen F isolat ND sampel dan beberapa dari genbank	84
Tabel 9. Data variasi situs penting pada gen HN isolat ND pada penelitian dan beberapa dari genbank.....	88
Tabel 10. Jarak genetik antar isolat virus ND dalam penelitian dan dengan virus ND dari GenBank	92
Tabel 11. Hasil pengamatan analisis histopatologi lesi dengan pengecatan HE dan distribusi virus ND virulen dan non-virulen pada organ mebrion dengan pengecatan IHK	101

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Elektroferogram dari file Abi hasil sekuensing gen F dan gen HN	168
Lampiran 2. Variasi nukleotida Gen F antara Virus ND genotipe I, II dan VII dalam penelitian ini dengan isolat ND dari Genbank	176
Lampiran 3. Variasi asam amino gen F virus ND dalam penelitian ini dengan virus ND dari Genbank	183
Lampiran 4. Variasi nukleotida gen HN virus ND berbeda genotype	187
Lampiran 5. Variasi asam amino gen HN virus ND dengan genotipe yang bervariasi dari GenBank	195
Lampiran 6. Data titer virus ND	198
Lampiran 7. Data uji patogenesis MDT virus ND	203
Lampiran 8. Surat keterangan kalaikan Etik (<i>Ethical Clearance</i>)	204
Lampiran 9. Lembar pernyataan penggunaan sampel/isolat virus ND Balai Veteriner Lampung	205
Lampiran 10. Daftar isolat yang digunakan dalam penelitian	206
Lampiran 11. Gambaran histopatologi dan distribusi virus ND pada jaringan embrio ayam	207

DAFTAR SINGKATAN

- AGP: *Agar Gel Precipitation*
- AMD: Antibodi maternal dapatan
- AOA-1: *Avian orthoavulavirus - 1*
- APMV-1: *Avian paramyxovirus -1*
- BHK: *baby Hamster Kidney-21 (BHK-21)*
- BLAST: *Basic Local Alignment Search Tool*
- CAV: *Chicken Anemia Virus*
- CEF: *Chicken Embryo Fibroblast*
- CS: *Cleavage Site*
- CT: *Cycle Threshold*
- DNA: *deoxyribonucleic acid*
- ECE: *Embryonated Chicken Egg*
- EDTA: *Ethylen Diamine Tetra Aceticacid*
- ELISA: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
- F: Fenilalanin
- PBS: *Phosphate-Buffered Saline*
- PBST: *Phosphate-Buffered Saline Tween*
- F: *Fusion*
- FKH: Fakultas Kedokteran Hewan
- HA: Hemagglutinasasi
- HAU: *HA Unit*
- HE: Hematoksin dan Eosin
- HN: *Hemagglutinin neuraminidase*
- HRA: *Heptad Repeat A*
- IBD: *Infectious Bursal Disease*
- HRB: *Heptad Repeat B*
- ICPI: *Intra Cerebral Pathogenicity Index*
- ICTV: *International Committee on Taxonomy of Viruses*
- IgA: Imunoglobulin A

IgY: Immunoglobulin B

IgM: Immunoglobulin M

IgG: Immunoglobulin G

IHK: Immuno Histo Kimia

IVPI: *Intra Venous Pathogenicity Indices*

ND: *Newcastle Disease*

NFW: *Nuclease Free Water*

NTC: *NonTemplate Control* (NTC).

L: *RNA polimerase*

LBM: *Live Bird Market*

LPAI: *Low Pathogenic Avian Influenza*

L: Leusin

M: *Matrix*

MDT: *Mean Death Time*

MEGA: *Molecular Evolution Genetics Analysis*

NCBI: *National Center for Biotechnology Information*

NP: *Nukleokapsid Protein*

OIE: *Office International des Epizooties*

P: *Phospoprotein*

qRT-PCR: *quantitative Reverse Transcriptase-Polimerase Chain Reaction*

RBC: *Red Blood Cell*

RNA: *Ribonucleic acid*

RT-PCR: *Reverse Transcriptase-Polimerase Chain Reaction*

SAN: Serum Antibody Negative

SPF: *Specific Pathogen Free*

TAB: Telur Ayam Bertunas

TBE: *Tris-borat EDTA*

T-lymphocytes: Thymus-lymphocytes)

UGM: Universitas Gadjah Mada

VN: *Virus Neutralization Test*

VVND: *Velogenik-Viscerotropic Newcastle Disease*



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

**Karakterisasi Molekuler Gen Fusion dan Hemagglutinin-Neuraminidase serta Patogenesis Virus
Newcastle Disease yang Diisolasi dari Ayam dan Burung Liar**

LIZA ANGELIYA, Prof. Dr. drh. Michael Haryadi Wibowo, MP.; Prof. drh. Widya Asmara, SU., Ph.D.; Dr. drh. Yuli Pur
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

VNND: *Velogenik-Neurotropic Newcastle Disease*

VTM: *Viral Transport Medium*