

## INTISARI

### **PENENTUAN PATOTIPE VIRUS NEWCASTLE DISEASE PADA AYAM KAMPUNG DENGAN METODE *REVERSE TRANSCRIPTION POLYMERASE CHAIN REACTION (RT-PCR)* DAN *RESTRICTION ENDONUCLEASE ANALYSIS (REA)***

Wahyu Haryanto

*Newcastle Disease* merupakan penyakit viral pada unggas yang disebabkan oleh virus *Newcastle Disease* (ND). Virus ND merupakan virus beramplop *ss-RNA sense* negatif tidak bersegmen. Infeksi oleh virus ND menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang tinggi pada ayam tergantung patotipenya. Penentuan patotipe virus ND yang cepat sangat dibutuhkan terutama dalam usaha pencegahan dan pengendalian penyakit ini. Penelitian ini bertujuan membandingkan hasil penentuan patotipe virus ND antara metode RT-PCR-REA menggunakan enzim *Hin11* dengan metode analisis hasil sekuensing gen penyandi protein F virus ND yang telah umum digunakan. Manfaat yang diperoleh dari keberhasilan penelitian ini yaitu didapatkannya metode yang lebih cepat serta akurat dalam penentuan patotipe virus ND.

Empat isolat sampel virus ND yang berasal dari ayam kampung serta satu kontrol positif virus ND avirulen digunakan sebagai *template* pada amplifikasi dengan metode RT-PCR menggunakan sepasang primer A dan primer B. Produk RT-PCR divisualisasikan pada gel agarose 1.2% dengan besar 363 bp. Produk RT-PCR selanjutnya digunakan pada metode REA menggunakan enzim *Hin11* dan divisualisasikan pada gel agarose 2.5% untuk mengamati pola potongan fragmen DNA yang terbentuk. Produk RT-PCR juga disekuensing untuk analisis gen penyandi protein F virus ND.

Terdapat kesesuaian hasil penentuan patotipe virus ND antara metode RT-PCR-REA dengan metode analisis sekuensing DNA yang sudah umum digunakan. Metode RT-PCR-REA memiliki keunggulan dalam hal kecepatan hasil ( $\pm 1$  hari) dimana metode patotipe konvensional membutuhkan waktu  $\pm 3-8$  hari, sehingga metode RT-PCR-REA dapat digunakan sebagai metode diagnosis rutin pada kasus ND di lapangan.

**Kata kunci:** *Newcastle disease*, RT-PCR, REA, Sekuensing

## ABSTRACT

### PATHOTYPING OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS IN NATIVE CHICKEN USING REVERSE TRANSCRIPTION POLYMERASE CHAIN REACTION (RT-PCR) AND RESTRICTION ENDONUCLEASE ANALYSIS (REA) METHODS

Wahyu Haryanto

*Newcastle Disease* is a kind of viral disease infecting poultry. It caused by *newcastle disease virus* (NDV). The NDV is an enveloped virus, negative sense ss-RNA non-segmented. Infection by NDV cause high morbidity and mortality in chicken depend on its patotype. A fast method in patotyping NDV is required especially in order to prevent and control this disease. The purpose of this research is to compare result of pathotyping between method of RT-PCR-REA using enzyme *Hin11* with sequencing analysis method of gene coding Fusion protein NDV that generally had been used. The benefit of this research is to obtain more fast and accurate method in pathotyping NDV.

Four isolate sample origin from native chicken and one positive control of NDV avirulent used as a template in amplification by RT-PCR method. Its use a pair of primer A and B. The RT-PCR product visualized in agarose gel 1.2% result DNA fragmen size of 363 bp. The RT-PCR product used in REA method using enzyme *Hin11* and visualized by agarose gel 2.5 % to analyze the fragment DNA pattern. RT-PCR product also sequenced to analyze gene coding Fusion protein NDV.

There are a conformity in result of NDV patotyping between the RT-PCR-REA and DNA sequencing analysis method that already used. The RT-PCR-REA method has a benefit in quick result of patotyping NDV ( $\pm 1$  day) compared with conventional pathotyping method that required  $\pm 3-8$  days, so it can be used as a routine diagnose method in field cases of NDV.

**Keywords:** *Newcastle disease*, RT-PCR, REA, Sequencing