

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
INTISARI .....	x
ABSTRACT.....	xii
PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian .....	3
C. Manfaat Penelitian .....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
A. Virus <i>Newcastle Disease</i> (ND).....	4
A.1. Etiologi dan organisasi gen virus ND.....	4
A.2. Protein <i>Fusion</i> (F) gen virus ND.....	7
A.3. Patogenesis.....	10
A.4. Gejala Klinis.....	11
A.5. Diagnosis.....	12
B. <i>Deoxyribonucleic Acid</i> (DNA) dan <i>Ribonucleic Acid</i> (RNA) .....	13
B.1. <i>Deoxyribonucleic Acid</i> (DNA).....	13
B.2. <i>Ribonucleic Acid</i> (RNA).....	15
C. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	17
C.1. Primer.....	18
C.2. Enzim <i>Taq</i> Polimerase .....	18
C.3. Deoksiribonukleotida trifosfat.....	19
C.4. <i>Template</i> .....	19
C.5. Ion $Mg^{2+}$ dan <i>Buffer</i> .....	19
D. <i>Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction</i> (RT-PCR).....	21
D.1. <i>One-step</i> RT-PCR .....	23
E. Elektroforesis DNA dengan Gel Agarose .....	24
F. <i>Restriction Endonuclease Analysis</i> .....	26
G. Sekuensing DNA .....	30
G.1. Metode Maxam-Gilbert atau Metode <i>Chemical Cleavage</i> .....	30
G.2. Metode Enzimatis atau Metode Frederick Sanger.....	31
III. MATERI DAN METODE.....	33
A. Sampel.....	33
B. Waktu dan Lokasi Penelitian .....	33

C. Materi .....	34
C.1. Peralatan penelitian .....	34
C.2. Bahan penelitian.....	34
D. Metode .....	35
D.1. Amplifikasi gen F dengan metode RT-PCR .....	35
D.2. Elektroforesis produk RT-PCR.....	35
D.3. <i>Restriction endonuclease analysis</i> produk RT-PCR.....	36
D.4. Elektroforesis produk REA .....	36
D.5. Sekuensing DNA.....	37
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	38
V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	52
A. Kesimpulan .....	52
B. Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA.....	53
LAMPIRAN.....	56

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perbandingan antara DNA dan RNA.....	17
Tabel 2. Enzim restriksi.....	29
Tabel 3. Daftar sampel isolat virus ND pada penelitian ini.....	33
Tabel 4. Pola pemotongan produk RT-PCR gen F virus ND menggunakan enzim restriksi <i>Hin11</i> .....	43
Tabel 5. Perbandingan antara literatur dengan temuan hasil sekuensing.....	46
Tabel 6. Motif daerah <i>cleavage site</i> virus ND (asam amino 112-117).	47
Tabel 7. Karakteristik Patotipe Virus ND pada penelitian ini.....	48
Tabel 8. Perbandingan lamanya waktu yang diperlukan untuk penentuan patotipe virus ND dengan beberapa metode.....	51

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Organisasi Genome dan transkripsi virus ND, AAA (polyadenilate <i>site</i> ).....	5
Gambar 2. (a) partikel virus ND dari cairan allantois, (b) bagian nukleokapsid partikel virus ND.....	5
Gambar 3. Struktur virion dari virus <i>Newcasle Disease</i> .....	6
Gambar 4. Skema diagram glikoprotein F. Situs potensial glikosilasi ditunjukkan oleh tanda (•). Kotak bertitik menunjukkan domain <i>heptad repeat</i> (HR).....	9
Gambar 5. Struktur basa purin dan pirimidin.....	14
Gambar 6. Rantai DNA heliks ganda.....	15
Gambar 7. Skema PCR menunjukkan 3 tahapan pada tiap siklus (denaturasi DNA, annealing primer, ekstensi DNA).....	21
Gambar 8. Diagram skematik RT-PCR menunjukkan hasil isolasi RNA digunakan sebagai substrat pada proses reverse transkripsi untuk sintesis cDNA yang selanjutnya digunakan sebagai <i>template</i> amplifikasi PCR.....	23
Gambar 9. Metode Elektroforesis gel Agarose.....	25
Gambar 10. Hasil pemotongan oleh enzim restriksi endonuklease.....	28
Gambar 11. Pola pemotongan enzim restriksi.....	30
Gambar 12. Skema metode Maxam-Gilbert/Chemical.....	31
Gambar 13. Skema metode Sanger/Enzimatik.....	32
Gambar 14. Hasil Amplifikasi Gen Penyandi Protein F (363 bp) pada keempat isolat sampel ayam kampung dengan metode RT-PCR.....	40
Gambar 15. <i>Restriction site</i> virus ND strain avirulen (isolat LaSota <i>Genbank</i> ).....	41
Gambar 16. Pola pemotongan metode REA menggunakan enzim restriksi <i>Hin11</i> .....	42
Gambar 17. Hasil Purifikasi Produk RT-PCR.....	44
Gambar 18. Spektrofotogram hasil sekuensing sampel KP1 (primerB)	45
Gambar 19. Pohon filogenetik sampel dan perbandingan dengan <i>database Genbank</i> .....	50

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil sekuensing isolat sampel KP1.....	56
Lampiran 2. Hasil sekuensing isolat sampel KP2.....	56
Lampiran 3. Hasil sekuensing isolat sampel KP3.....	57
Lampiran 4. Hasil sekuensing isolat sampel KP4.....	57
Lampiran 5. Dokumentasi Pelaksanaan Kegiatan Penelitian.....	58
Lampiran 6. Elektroforesis produk (a) RT-PCR, (b) REA.....	59
Lampiran 7. Metode enzim restriksi pada virus ND avirulen (LaSota) menggunakan enzim <i>Hin11</i> menunjukkan adanya dua <i>restriction site</i> .....	60
Lampiran 8. Metode enzim restriksi pada virus ND virulen (KP2) menggunakan enzim <i>Hin11</i> menunjukkan tidak adanya <i>restriction site</i> .....	60