

## Pengembangan Diagnostik Gen Transmembran dengan Kombinasi Metode NASBA (*Nucleic Acid Sequence-Based Amplification*) dan NALF (*Nucleic Acid Lateral Flow*) untuk Deteksi Virus Penyakit Jembrana

Fatimah

Intisari

Penyakit Jembrana merupakan penyakit viral akut, dengan tingkat kematian yang tinggi pada sapi Bali. Penyakit Jembrana tidak hanya ditemukan di daerah Bali, tetapi sudah meluas hingga daerah Sumatra, Kalimantan, dan Jawa Timur. Metode diagnostik secara mudah, cepat, dan akurat diperlukan dalam diagnosis dini penyakit tersebut, untuk mengurangi tingkat kerugian akibat kematian ternak sapi. Metode amplifikasi isothermal NASBA (*nucleic acid sequence based amplification*) digunakan pada proses amplifikasi gen *env-tm* virus Jembrana strain Tabanan 1987 untuk diagnosis penyakit Jembrana. Amplikon hasil amplifikasi NASBA dideteksi dengan perangkat *dipstick* berbasis metode NALF (*nucleic acid lateral flow assay*). Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan kemampuan rancangan primer (*Left* dan *Right*) dalam mengamplifikasi gen *env-tm* virus Jembrana strain Tabanan 1987 dengan menggunakan metode NASBA, dan mengkombinasikan NALF (*nucleic acid lateral flow assay*) dengan metode NASBA untuk mendeteksi virus Jembrana. Penelitian ini diawali dengan melakukan perancangan primer NASBA. Primer diuji menggunakan metode *onestep* RT-PCR untuk mengetahui kemampuan primer dalam mengamplifikasi gen *env-tm* virus Jembrana strain Tabanan 1987. Primer yang telah diuji *onestep* RT-PCR, ditambah dengan sekuens T7 pada primer *Left*, sebagai tempat pengenalan enzim T7 RNAPolymerase pada reaksi NASBA. Keberhasilan proses amplifikasi NASBA pada penelitian ini, diketahui dengan munculnya pita berukuran  $\pm 239$  bp. Hasil amplifikasi NASBA dilakukan hibridisasi dengan menggunakan *oligoprobe* berlabel biotin serta *oligoprobe* berlabel digoxigenin dan dideteksi menggunakan metode NALF dengan perangkat *dipstick*. Berdasarkan hasil pengujian menggunakan *dipstick* diketahui bahwa *probe* berlabel digoxigenin lebih spesifik dibanding dengan *oligoprobe* berlabel biotin. *Probe* berlabel kurang spesifik, karena selain dapat terdeteksi pada garis uji biotin, juga dapat terdeteksi pada garis uji digoxigenin. Berdasarkan hasil tersebut, dapat dikatakan bahwa metode NASBA dan NALF dapat dikombinasikan untuk mendeteksi virus Jembrana lebih dini.

Kata Kunci: NASBA, virus Jembrana strain Tabanan 1987, gen *env-tm*, NALF

**Development of NASBA (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification)  
and NALF (Nucleic Acid Lateral Flow) as a Combination Methods for  
Transmembrane Genes of Jembrana Disease Virus Detection**

Fatimah

Abstract

Jembrana disease is a viral and acute disease with a high rate of mortality in Bali cattle. Jembrana disease not only found in Bali, but also Sumatra, Kalimantan, and East Java Province. The diagnostic methods which are easy, cheap, and accurate are needed for early diagnostic in Jembrana disease, to reduce the mortality rate of the cattle. Isothermal amplification methods NASBA (*nucleic sequence-based amplification*) were used in amplification process of *env-tm* gene of Jembrana disease virus Tabanan strain 1987 to diagnose Jembrana disease. Amplicon of NASBA were detected using *dipstick* kit based on NALF (*nucleic acid lateral flow*) methods. This study was conducted to prove the ability of the primer design (Left and Right) to amplify the *env-tm* genes of Jembrana virus Tabanan strain 1987 using NASBA method, and combine NALF with NASBA method to detect Jembrana virus. This research begins with NASBA primer design. Primers were tested using the RT-PCR onestep method to investigate the primerability to amplify the *env-tm* genes of the Jembrana strain virus Tabanan 1987. Primers that have been tested onestep RT-PCR, coupled with T7 sequence on Left primers, as the introduction of T7 RNAPolymerase enzyme in the NASBA reaction. The reaction of NASBA were successfully conducted. It was seen by the appearance of the band sized  $\pm 239$  bp. The NASBA amplicon was hybridized using biotin labelled probe and digoxigenin labelled probe, then it was detected using NALFA method with dipstick device. The test results using dipstick was known that the amplicons labeled digoxigenin shown the positive result, meanwhile amplicons labeled biotin has less specific result, because amplicon not only could be detected on the biotin test line, but also detected on the digoxigenin test line. Based on the result, we can conclude that NASBA method and NALF could be combined to detect Jembrana disease virus.

*Key words:* NASBA, Jembrana Disease Virus Tabanan strain 1987, *env-tm* gene, NALF