



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

PENGEMBANGAN METODE DETEKSI GEN gag-KAPSID VIRUS PENYAKIT JEMBRANA MENGGUNAKAN KOMBINASI METODE NUCLEIC ACID SEQUENCE-BASED AMPLIFICATION (NASBA) DAN NUCLEIC ACID LATERAL FLOW ASSAY (NALFA)

RENNY A M KAITU, Dr. drh. Asmarani Kusumawati, MP., Prof. Dr. drh. Sri Hartati, SU.

Universitas Gadjah Mada, 2017 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

PENGEMBANGAN METODE DETEKSI GEN *gag*-KAPSID VIRUS PENYAKIT JEMBRANA MENGGUNAKAN KOMBINASI METODE NUCLEIC ACID SEQUENCE-BASED AMPLIFICATION (NASBA) DAN NUCLEIC ACID LATERAL FLOW ASSAY (NALFA)

Oleh

Renny Agnesia Matiandaya Kaitu
14/371183/PMU/8233

INTISARI

Virus Penyakit Jembrana (VPJ) menyebabkan kematian yang tinggi pada sapi Bali. Deteksi yang cepat, mudah dan akurat dibutuhkan untuk mengurangi dampak buruk dari infeksi virus ini. *Nucleic Acid Sequence-Based Amplification* (NASBA) merupakan salah satu metode amplifikasi gen dengan suhu isothermal yang cepat, mudah dan murah. Deteksi hasil amplifikasi dengan NALFA (*Nucleic Acid Lateral Flow Assay*), dapat dilakukan dengan cepat, mudah dan akurat. Sehingga kombinasi dua metode ini dapat mengoptimalkan proses deteksi VPJ. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah metode NASBA dengan rancangan primer yang dibuat dapat digunakan untuk mengamplifikasi gen *gag*-CA Virus Penyakit Jembrana (VPJ), serta untuk mengetahui apakah metode NALFA dengan rancangan probe yang dibuat dapat digunakan untuk mendeteksi gen *gag*-kapsid VPJ hasil amplifikasi NASBA. Perancangan primer pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan program Primer3Plus. Primer kemudian diujicobakan pada reaksi amplifikasi dengan metode one step RT-PCR. Primer untuk NASBA dirancang dengan penambahan promotor sekuens T7 polimerase. Probe untuk reaksi NALFA dirancang dengan program Primer3Plus, dengan penambahan label. Probe yang dihibridisasi dengan amplikon NASBA kemudian diuji dengan menggunakan strip HybriDetect 2T Milenia Biotec. Hasil amplifikasi gen *gag*-CA Virus Penyakit Jembrana (VPJ) dengan metode NASBA menunjukkan munculnya pita produk pada visualisasi elektroforesis gel agarose dengan konsentrasi KCl 80 mM. Hasil uji NALFA menunjukkan hasil yang positif dengan munculnya garis pada garis kontrol dan garis uji. Probe dengan label digoxigenin lebih spesifik daripada probe dengan label biotin.

Kata kunci: Virus Penyakit Jembrana (VPJ), gen *gag*-kapsid, NASBA, NALFA



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

PENGEMBANGAN METODE DETEKSI GEN *gag*-KAPSID VIRUS PENYAKIT JEMBRANA
MENGGUNAKAN KOMBINASI METODE
NUCLEIC ACID SEQUENCE-BASED AMPLIFICATION (NASBA) DAN NUCLEIC ACID LATERAL FLOW
ASSAY (NALFA)

RENNY A M KAITU, Dr. drh. Asmarani Kusumawati, MP., Prof. Dr. drh. Sri Hartati, SU.

Universitas Gadjah Mada, 2017 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

**JEMBRANA DISEASE VIRUS *gag*-KAPSID GENE DETECTION
METHOD DEVELOPMENT USING COMBINATION OF NUCLEIC ACID
SEQUENCE-BASED AMPLIFICATION (NASBA) AND NUCLEIC ACID
LATERAL FLOW ASSAY (NALFA)**

Oleh

**Renny Agnesia Matiandaya Kaitu
14/371183/PMU/8233**

ABSTRACT

Jembrana Disease Virus (JDV) causes a high mortality in Bali cattle. Quick, easy and accurate detection is needed to reduce the adverse effects of this viral infection. Nucleic Acid Sequence-Based Amplification (NASBA) is fast, easy and cheap method of gene amplification in isothermal temperature. Detection of amplification results with Nucleic Acid Lateral Flow Assay (NALFA), can be done quickly, easily and accurately. So the combination of these two methods can optimize the VPJ detection process. This study was conducted with the aim of finding out whether the NASBA method with the primary design made can be used to amplify the gene *gag* of the Jembrana Disease Virus (JDV), and to find out whether the NALFA method with the probe design made can be used to detect JDV *gag*-capsid gene as NASBA amplification result. The primer design in this research is done by using Primer3Plus program. The primer is then tested on an amplification reaction by one step RT-PCR method. Primer for NASBA was designed with the addition of T7 polymerase sequence promoter. The probe for the NALFA reaction is designed with the Primer3Plus program and added with label. The probe that was hybridized with a NASBA amplicon was then tested using the HybriDetect 2T Milenia Biotech strip. The amplification of the gene *gag* of the Jembrana Disease Virus (JDV) with NASBA method shows the appearance of the product band on the visualization of agarose gel electrophoresis, using 80 mM KCl. The test results of NALFA showed positive results with the appearance of lines on the control line and test line, Probe with digoxigenine label is more specific than probe with Biotin label.

Keywords: Jembrana disease virus (JDV), *gag*-capsid gene, NASBA, NALFA