

PENENTUAN PATOGENESITAS MOLEKULER VIRUS NEWCASTLE DISEASE (ND) YANG DI ISOLASI DARI KASUS PENYAKIT ND PADA AYAM KOMERSIAL TAHUN 2013-2016

Oleh :

Sarwo Edy Wibowo
14/376246/PKH/00528

Intisari

Newcastle Disease (ND) atau yang dikenal dengan “Tetelo” merupakan penyakit pernafasan dan pencernaan yang disebabkan oleh *avian paramyxovirus* tipe 1 (APMV-1). Data di lapangan menunjukkan bahwa masih banyak kasus penyakit ND yang dihadapi peternak meskipun telah melakukan vaksinasi rutin. Kerugian yang ditimbulkan oleh penyakit ND adalah morbiditas dan mortalitas yang mencapai 100 %, serta penurunan produksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui patogenesisitas molekuler dan genotipe virus ND berdasarkan analisis sekuens fragmen gen F, serta melihat hubungan kekerabatan antara isolat dalam penelitian dengan isolat ND di Indonesia sebelumnya serta strain vaksin pada peternakan ayam yang menerapkan vaksinasi ND secara berkala. Penelitian ini menggunakan primer yang didesain dengan konsensus fragmen gen F dari GenBank dan desain dengan aplikasi amplifX pada posisi 91-800 nt dengan panjang 710bp. Primer yang diperoleh dilakukan pengecekan dengan BLAST primer dan di uji spesifisitas dengan beberapa virus penyakit unggas yaitu vaksin *infectious bronchitis* (IB) 120, virus vaksin *infectious laryngotracheitis* (ILT), virus vaksin *avian influenza* (AI), dan virus vaksin *infectious bursal disease* (IBD). Delapan sampel diperoleh dari beberapa peternakan komersial di beberapa daerah di Indonesia. Tiga sampel dilakukan isolasi pada telur ayam berembrio dan diidentifikasi menggunakan uji HA dan HI. Lima sampel lain dilakukan ekstraksi secara langsung dari gerusan organ paru. Sampel positif dari cairan allantois hasil isolasi dan identifikasi serta gerusan paru dilakukan ekstraksi dan amplifikasi gen F dengan menggunakan primer *forward* 5' TCT CTT GAT GGC AGG CCT CTT G '3 dan primer *reverse* 5' CCG CTA CCG ATT AAT GAG CTG AGT '3 dengan panjang produk 710 bp. Hasil amplifikasi uji spesifisitas menunjukkan primer spesifik pada virus ND. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh sampel positif virus ND. Analisis hasil sekuensing dengan menggunakan perangkat lunak MEGA v.7 didapatkan susunan asam amino penyusun *cleavage site* ¹¹²RRQKR↓F¹¹⁷ dan ¹¹²RRRKR↓F¹¹⁷ yang menunjukkan bahwa virus ND tersebut digolongkan strain velogenik. Berdasarkan analisis *phylogenetic tree* isolat ND-Layer/GK-SR1/2013, ND-Lay/Pullet-80/ 27/16 (N), ND-Bro/Lingga 2L/24/2 (N), dan ND-Lay/Smg-P/2015 merupakan genotip VII_d, sedangkan 3 isolat ND yaitu ND-Bro/Yog-P/2015, JKT/P1/2016 (Jakarta), dan JKT/P2/2016 (Jakarta) merupakan ND genotip VII_a. Jarak genetik isolat yang diteliti dengan virus ND Indonesia yang pernah dilaporkan sebelumnya pada fragmen gen F posisi 91-798 berkisar 0,4 – 9,6 % dengan tingkat homologi mencapai 90,4 – 99,5%.

Kata kunci: *Newcastle Disease*, protein fusi, uji spesifisitas, amplifikasi, sekuensing

MOLECULAR DETERMINATION PATHOGENESIS OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS ISOLATED FROM COMMERCIAL CHICKEN DURING 2013-2016

By:

Sarwo Edy Wibowo

14/376246/PKH/00528

Abstract

Newcastle Disease (ND) or known as "Tetelo" is a respiratory and digestive disease caused by avian paramyxovirus type 1 (APMV-1). Field data have shown that there were many Newcastle disease cases which faced by farmers even though routine vaccination has been done. Disadvantages caused by Newcastle disease were morbidity and mortality which reached up to 100%, and decrease of production. This study aimed to determine ND virus genotype and molecular pathogenesis based on sequence analysis of gene F fragments and see the kinship among the isolates in the study, in Indonesia previously, and vaccine strain in chicken farms that implemented ND vaccination regularly. This study used consensus primers designed by F gene fragment from GenBank and designed with applications amplifX in positions 91-800 nucleotides in length 710bp. Acquired primer was checked by BLAST primary and specificity test using several poultry disease virus, i.e. infectious bronchitis vaccine (IB) 120, infectious laryngotracheitis vaccine (ILT), avian influenza vaccine (AI), and infectious bursal disease vaccine (IBD). Eight samples were obtained from several commercial farms in several regions in Indonesia. Three samples were isolated in embryonated chicken egg and identified by HA and HI test. Five other samples were extracted from crushed lung organ. Positive samples of allantois fluid and crushed lung later were extracted, then amplified the F gene using forward primer 5' TCT CTT GAT GGC AGG CCT CTT G' 3 and reverse primer 5' CCG CTA CCG ATT AAT GAG CTG AGT'3 with long products 710 bp. Based on the result of specificity test amplification, all the primer was specific to ND virus which are positive as ND virus. Analysis of sequencing result using MEGA v.7 software showed amino acid, the composer of ¹¹²RRQKR↓F¹¹⁷ and ¹¹²RRRKR↓F¹¹⁷ cleavage site, as an indicator that the ND virus are classified to velogenic strain. Based on phylogenetic tree analysis, isolates ND-Layer/GK-SR1/2013, ND-Lay/Pullet-80/ 27/16 (N), ND-Bro/Lingga 2L/24/2 (N), and ND-Lay/Smg-P/2015 were genotype VIId, whereas isolates ND-Bro/Yog-P/2015, JKT/P1/2016 (Jakarta), and JKT/P2/2016 (Jakarta) were ND genotype VIIa. Genetic space of studied isolates using previously reported Indonesia ND virus toward F gene fragment in 91-798 position was about 0,4 – 9,6% which homology rate reached up to 90,4 – 99,5%.

Keywords: Newcastle Disease, fusion proteins, specificity test, amplification, sequencing