



AMPLIFIKASI DAN KARAKTERISASI *ORF062L* ISKNV PADA *MEGALOCYTVIRUS*

Amiqatul Fikriyah
13/351974/PMU/07731

INTISARI

Megalocytivirus merupakan genus terbaru dalam famili Iridoviridae yang menyebabkan kematian dan kerugian ekonomi yang signifikan pada budidaya perikanan. *Infectious spleen and kidney necrosis virus* (ISKNV) merupakan salah satu klaster dari *Megalocytivirus* yang paling banyak menginfeksi ikan budidaya di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari variasi genetik dan mengevaluasi potensi *open reading frame 62* (*ORF062L*) pada genom ISKNV sebagai penanda diagnostik pada infeksi *Megalocytivirus*. Dalam penelitian ini dilakukan isolasi DNA virus dari 9 isolat ikan yang berasal dari beberapa daerah di Indonesia. Deteksi dan amplifikasi *ORF062L* ISKNV dilakukan dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR). Deteksi isolat positif *Megalocytivirus* menggunakan primer spesifik OIE M1. Isolat positif *Megalocytivirus* digunakan sebagai *template* DNA untuk mengamplifikasi sekuen utuh *ORF062L* menggunakan 4 pasang primer yang dirancang dapat mengamplifikasi 4 fragmen gen berbeda dan saling bersinggungan. Hasil pembacaan sekuen dianalisis dan dibandingkan dengan sekuen *database* pada *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Prediksi putatif epitop sel T dan sel B dilakukan berdasarkan metode *T cell epitope prediction* nHLAPred (Compred) dan *B cell epitope prediction tools* pada *immune epitope database* (IEDB). Hasil identifikasi menunjukkan 6 dari 9 isolat positif *Megalocytivirus*. Analisis sekuen *ORF062L* dari 4 isolat Indonesia menunjukkan kemiripan 99,86-100% dengan spesies ISKNV. *ORF062L* berfungsi mengkode *viral protein 62* (VP62) yang terdiri dari 1209 aa dan merupakan bagian dari *DNA binding protein* yang dapat dikenali sebagai epitop oleh sel T maupun sel B berdasarkan analisis secara *in silico*. *ORF062L* ISKNV merupakan gen yang konservatif sehingga dapat digunakan sebagai penanda (*marker*) diagnostik pada infeksi *Megalocytivirus*.

Kata kunci: *DNA binding protein*, *in silico* epitop, *ORF062L* ISKNV, *Megalocytivirus*, *marker* diagnostik



AMPLIFICATION AND CHARACTERIZATION OF *ORF062L* ISKNV ON *MEGALOCYTVIRUS*

Amiqatul Fikriyah
13/351974/PMU/07731

ABSTRACT

Megalocytivirus is a newly defined genus of Iridoviridae that caused high mortality and significant economic losses in aquaculture. Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) is a cluster of *Megalocytivirus* that most widely infect fish in Indonesia. This research objectives are to study genetic variation and evaluate the potential of the 62th open reading frame (*ORF062L*) of ISKNV as a diagnostic marker in *Megalocytivirus* infection. DNA virus was isolated from 9 different fishes from several regions in Indonesia. Detection and amplification of *ORF062L* ISKNV were conducted by polymerase chain reaction (PCR) technique. Detection of *Megalocytivirus* was conducted using OIE M1 primer set. *Megalocytivirus* positive isolates used as the template to amplify full sequences of *ORF062L* using 4 sets of designed primers to amplify four different overlapping gene fragments. Nucleotide sequences of each fragment were analyzed and compared to database sequences at The National Center for Biotechnology Information (NCBI). Prediction of T-cells and B-cells putative epitopes was done by T cell epitope prediction nHLAPred (compred) and B cell epitope prediction tools in the Immune Epitope Database (IEDB). Identification results showed 6 of 9 isolates are *Megalocytivirus* positive. Sequence analysis of *ORF062L* ISKNV from 4 Indonesian isolates showed 99.86-100% similarity with ISKNV species. *ORF062L* encoding viral protein 62 (VP62), a DNA binding protein that consists of 1209 aa and can be recognized as epitopes by T cells and also B cells based on *in silico* analyses. *ORF062L* ISKNV is a highly conserved gene, therefore, this gene can be used as a diagnostic marker of *Megalocytivirus* infection.

Keywords: DNA binding protein, *in silico* epitope, *ORF062L* ISKNV, *Megalocytivirus*, diagnostic marker