

**PENENTUAN SUBTIPE DAN STUDI KERAGAMAN GENETIK *PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME (PRRS) VIRUS* PADA BABI DI INDONESIA**

F a i s a l

NIM : 12/341206/SKH/00078

**INTISARI**

*Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS)* virus adalah penyakit pada babi yang disebabkan oleh virus yang tergolong pada famili Arteriviridae. Pada tahun 2006-2007 di Cina telah terjadi kasus HP-PRRS. Belum adanya data yang akurat tentang keberadaan virus PRRS di Indonesia sehingga perlu dilakukan suatu penelitian untuk mendapatkan informasi yang akurat. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui tipe dan keragaman genetik virus PRRS di Indonesia.

Isolasi RNA total virus menggunakan *PureLink™ micro-to-Midi Total RNA purification system*. Sintesis cDNA menggunakan *Superscript III First-strand Synthesis* dan *Taq Superscript™ III Polymerase* atau KAPPA Biosystem. Primer dirancang dengan bantuan *online Primer3*. Data sekuen dianalisis menggunakan MEGA versi 6.0. dan BioEdit 7.0. Filogram menggunakan *neighbor joining* dan jarak genetik menggunakan model Kimura 2 parameter. Amplifikasi ORF7 dengan PCR dan *nested PCR* didapatkan pita berturut-turut sepanjang 703bp dan 509bp, sedangkan amplifikasi ORF5 dan NSP2 didapatkan pita berturut-turut sepanjang 778bp dan 562bp. Hasil sekuen nukleotida ORF7 dan ORF5 didapatkan sepanjang 369 dan 600 nukleotida yang menyandi asam amino berturut turut 123 dan 200 asam amino. Pada NSP2 didapatkan urutan nukleotida sepanjang 471 basa dan menyandi 157 asam amino. Analisis filogenetik menunjukkan semua sekuen virus termasuk PRRS tipe 2. Filogram yang terbentuk pada ORF7 dan ORF5 menunjukkan virus lokal terdistribusi pada grup pertama dan tujuh virus PRRS tipe 2. Pada sekuen asam amino ORF7 ditemukan dua asam amino unik, yaitu 12N dan 43R. Kedua asam amino dapat dipakai sebagai penanda genetik untuk virus PRRS dari Indonesia khususnya Sumatera Utara. Beberapa virus PRRS lokal grup pertama ditemukan asam amino 13Q dan 151G sebagai penanda derivat virus vaksin yang dapat diisolasi dari lapang. Delesi 30 asam amino pada NSP2 virus lokal di posisi ke 481 dan 533 sampai 561, yang menandakan virus ini berasal dari wabah PRRS Cina tahun 2006 atau turunannya. Filogeni secara MCMC jelas menunjukkan bahwa grup virus PRRS 08.357.Taput merupakan turunan dari virus JX046390, Cina dan grup virus Nias (08.354.34) adalah turunan virus 12.217.1. Penelitian ini juga mampu mendeteksi keberadaan virus vaksin yang dapat diisolasi dari lapang.

Hasil analisis sekuen dan asam amino ORF7, ORF5 dan NSP2 pada virus lokal dapat menentukan keberadaan tipe virus dan dapat menentukan keragaman genetik dari virus PRRS di Indonesia. Virus PRRS di Indonesia berasal dari HP-PRRS atau turunannya dan virus vaksin dapat diisolasi dari virus lapang.

Kata kunci: ORF5, ORF7, NSP2, PRRS di Indonesia

DETERMINATION OF SUBTYPE AND GENETIC DIVERSITY OF PORCINE  
REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME  
VIRUS IN PIGS IN INDONESIA

F a i s a l

NIM : 12/341206/SKH/00078

ABSTRACT

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) is a pigs diseases caused by virus belong to the family of *Arteriviridae*. In 2006-2007 there has been a outbreaks HP-PRRS in China. There is no accurate data on the presence of PRRS virus in Indonesia, so that the research must be done to get accurate information. The aim of this study was to determine the type and genetic diversity of PRRS virus in Indonesia.

The RNA of virus was isolated using PureLink™ Micro to Midi Total RNA purification system. The cDNA collections using two step PCR, which consisted of Superscript III First-strand Synthesis and Taq Polymerase Superscript™ III or KAPPA Biosystems. Primers were designed using the online Primer3. The sequence data were analyzed using the MEGA version 6.0 and BioEdit 7.0. Phylogenetic reconstructions were generated using the neighbor joining and genetic distance employing Kimura 2 parameter models. The amplification of ORF7 using PCR and nested PCR generated amplicons of 703bp and 509bp respectively, whereas the amplification of ORF5 and NSP2 obtained band at 778bp and 562bp. Sequencing the nucleotide of ORF7 and ORF5 produce 369 and 600 nt, which encoded 123 and 200 amino acids respectively. Sequencing of generated 471 nt, which encoded for 157 amino acids. Phylogenetic analysis of the local PRRS viruses demonstrated that all of the local viruses sequence can be grouped in the PRRS virus type 2. Filogram demonstrated that the local PRRS viruses were distributed into two groups, namely first group and fourth group of PRRS virus type 2. The amino acid sequences of ORF7 showed two uniques amino acid, namely asparagine (12N) and lysine (43R). Both of these amino acids can be used as genetic markers for PRRS virus originating from Indonesia, especially North Sumatera. Amino acids at the position of 13Q and 151G from ORF5 can be formed in most of the local PRRS viruses which belonging to the first group. This indicates that these amino acids are marker the vaccine viruses isolated from the field. Deletion of 30 amino acids can be found in sequence of NSP2 local viruses which at 481 and 533 to 561 amino acids. Phylogeny using MCMC clearly demonstrated that PRRS virus 08.357.Taput group is derived from a virus JX046390 of China and Nias virus group (08.354.34) is the virus strain 12.217.1. This study was also able to detect the presence of vaccine virus can be isolated from the field.

Results of the analysis of amino acid sequence and ORF7, ORF5 and NSP2 the local virus can determine the presence of virus types and can determine the genetic diversity of PRRS viruses. PRRS virus in Indonesia comes from HP-PRRS or derivatives and vaccine virus can be isolated from field virus

Key words: ORF5, ORF7, NSP2, PRRS in Indonesia