

Aplikasi real time polymerase chain reaction untuk mendeteksi red sea bream iridovirus pada benih bawal bintang trachinotus blochii =
Application of real time polymerase chain reaction for detecting of red sea bream iridovirus at snubnose pompano trachinotus blochii / Eka Nurdian

Eka Nurdian, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20404096&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Benih bawal bintang memperlihatkan perubahan tingkah laku seperti kehilangan kemampuan berenang dan berkumpul di dasar kolam, diduga terinfeksi RSIVD. Real time PCR dengan SBYR green telah diaplikasikan secara luas untuk diagnosis penyakit. Kesederhanaan, sensitifitas, rentang deteksi yang dinamis, reproduktifitas, dan jaminan skrining dengan kecepatan waktu yang tinggi membuat real time PCR sesuai untuk mendeteksi virus (Niesters, 2002). Oleh karena itu dilakukan aplikasi metode real time PCR dengan SYBR green untuk mendeteksi RSIV pada benih bawal bintang. Penelitian ini menggunakan primer 1F dan 1R untuk skrining Megalocytivirus, grunt fin cell line untuk kultur RSIV, pengklonan menggunakan vektor pGEM-T easy dan primer MCPspecR697-F4 dan MCP-specR888-R6 untuk deteksi RSIV dengan metode real time PCR menggunakan SYBR green. Karakterisasi dari CPE menunjukkan sel GF menjadi berbentuk bundar dan sel-sel GF terlihat berpendar pada inokulasi RSIV pada hari ke lima sampai ke tujuh. Kurva standar menghasilkan R^2 0,99999, slope -2,41675 dan y-intercept 38,68938. Limit deteksi 10 salinan DNA. Spesimen klinis menunjukkan hasil positif pada jaringan hati, limpa dan ginjal. Jumlah salinan DNA paling banyak dari ekstraksi limpa yaitu: 6054 dan 4182 salinan DNA sedangkan pada organ ginjal sebanyak 72 dan 101 salinan DNA dan hati 1 dan 2 salinan DNA. Metode real time PCR menggunakan SYBR green berhasil diaplikasikan untuk mendeteksi RSIV pada benih ikan bawal bintang.

ABSTRACT

Snubnose pompano juvenile showed behavioral changes such as losed the ability to swim and congregated at the bottom of the pool, suspected of being infected RSIVD. Real time PCR with green SBYR has been widely applied to the diagnosis of the disease. Simplicity, sensitivity, dynamic range of detection, reproducibility, and the assurance screening with a high speed makes real time PCR according to detect viruses (Niesters, 2002). Therefore, it is done in real time application method with SYBR green PCR to detect RSIV on Snubnose pompano juvenile. This study using the primers 1F and 1R for screening Megalocytivirus, grunt fin cell line for RSIV culture, cloning using pGEM-T easy vector and primer MCPspecR697-F4 and MCP-specR888-R6 for RSIV detection by real-time PCR method using SYBR green. GF cells infected by RSIV showed round and flourescence as a result of CPE at day 5 to 7. Subnose pompano juvenile positive infected by RSIV at 191 bp. Standard curve equation R^2 : 0.99999, slope: - 2.41675 and y-intercept: 38.68938. qPCR using primers MCP-specR674-F4 and MCP-specR888 R6 primer assay showed detection limit of 10 copies of the. Liver, spleen and kidneys of Subnose Dart juvenile were infected by RSIV, positively. The highest of copy number of DNA were shown in the spleen (6054 and 4182 copies DNA, respectively), while in kidney were 101 and 72 copies DNA respectively. The lowest

copy number DNA were shown in the liver (1 to 2 copies DNA, respectively). SYBR green quantitative PCR method can be applied to detect RSIV on Subnose pompano juvenile.