

**RINGKASAN ABSTRAK
LAPORAN AKHIR
HIBAH KOMPETITIF PENELITIAN
UNTUK PUBLIKASI INTERNASIONAL BATCH III**



Judul Penelitian :

**PRODUKSI ENZIM REKOMBINAN REVERSE TRANSCRIPTASE
ASAL *SIMIAN RETROVIRUS* SEROTIPE-2 (SRV-2) UNTUK
MEDUKUNG PENELITIAN BIOTEKNOLOGI DI INDONESIA**

Ketua Peneliti:

Dr. drh. Joko Pamungkas, MSc

Anggota Peneliti:

Dr. drh. Diah Iskandriati

William R Morton, VMD

Richard F Grant, PhD

Uus Saepuloh, S.Si, M.Biomed

Silmi Mariya, S.Si

Dibiayai oleh

**Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional
sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Kompetitif Penelitian
Untuk Publikasi Internasional Nomor: 688/SP2H/PP/DP2M/2009, tanggal
26 Oktober 2009**

**PUSAT STUDI SATWA PRIMATA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

Desember 2009

PRODUKSI ENZIM REKOMBINAN REVERSE TRANSCRIPTASE ASAL *SIMIAN RETROVIRUS* SEROTIPE-2 (SRV-2) UNTUK MEDUKUNG PENELITIAN BIOTEKNOLOGI DI INDONESIA

Oleh:

Dr. drh. Joko Pamungkas; Dr. drh. Diah Iskandriati; William R Morton, VMD;
Richard F Grant, PhD; Uus Saepuloh, S.Si, M.Biomed; dan Silmi Mariya, S.Si

RINGKASAN

Simian retrovirus tipe D serotype-2 (SRV-2) merupakan virus dari famili *retroviridae* yang bisa menyebabkan sindroma penurunan kekebalan tubuh (*simian acquired immunodeficiency syndrome, SAIDS*) yang menular pada beberapa satwa primata genus *Macaca* serta memiliki beberapa kesamaan gejala klinis dengan penyakit AIDS pada manusia. Penelitian pendahuluan yang telah kami lakukan membuktikan bahwa angka prevalensi antibodi SRV-2 pada *Macaca fascicularis* dan *M.nemestrina* di Indonesia mencapai 30-40%. Cukup tingginya angka prevalensi tersebut dirasakan akan menghambat proses pemilihan bibit induk (*breeders*) dalam program penangkaran satwa primata bebas SRV.

Mengingat potensi infeksi aktif atau laten dan abnormalitas kekebalan yang terkait pada infeksi ini, maka SRV-2 merupakan salah satu target patogen yang harus dieliminasi dalam program panangkaran satwa primata genus *Macaca* bebas patogen tertentu (*specific pathogen free, SPF*). Keadaan tersebut memberikan motivasi kepada kami untuk melanjutkan penelitian kepada kegiatan pengembangan isolasi, identifikasi, karakterisasi virus SRV-2 isolat Indonesia. Perbanyakan dan pemurnian virus juga dilakukan untuk menggunakan isolat virus tersebut sebagai sumber antigen untuk uji diagnostik serologis terhadap antibodi SRV-2 dengan teknik ELISA dan Western blot. Selain itu, ditemukannya SRV-2 isolat Indonesia ini diharapkan akan memberikan informasi molekuler yang lengkap sehingga isolat tersebut bisa dimanfaatkan lebih lanjut. Salah satunya dengan mengembangkan enzim rekombinan *reverse transcriptase* yang dikode oleh gen *pol* SRV-2. Enzim *reverse transcriptase* sangat umum diaplikasikan

dalam biologi molekuler terutama dalam teknik *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). Teknik ini telah banyak digunakan dalam penelitian-penelitian biomedis, diagnostik, kloning gen, rekayasa genetik, rekayasa protein, protein rekombinan, dan karakterisasi DNA. Secara komersial, enzim tersebut sudah tersedia di pasaran, namun mengingat masih harus didatangkan dari luar negeri, maka harganya sangat mahal dan dibutuhkan waktu yang cukup lama untuk penyediaannya.

Kegiatan penelitian tahun pertama difokuskan pada isolasi, identifikasi, dan karakterisasi virus SRV-2 yang diisolasi dari *M. fascicularis* asal Indonesia. Identifikasi awal dilakukan dengan mengamplifikasi gen *env* SRV-2 menggunakan teknik PCR yang menghasilkan produk sebesar 2000 bp. Analisis antibodi SRV-2 dilakukan menggunakan teknik ELISA dan Western blot. Perbanyakkan isolat virus SRV-2 dilakukan dengan menginokulasikan virus terhadap sel A549. Tahapan purifikasi isolat virus dilakukan menggunakan teknik ultrasentrifugasi, ultrafiltrasi, dan kromatografi filtrasi gel Sepharose CL4B.

Selain itu juga dilakukan konstruksi bakal enzim rekombinan reverse transcriptase asal gen *pol* SRV-2 menggunakan vektor *E.coli*. Pada tahap ini telah dilakukan isolasi dan amplifikasi gen target *pol* SRV-2 dari *M. fascicularis* asal Indonesia. Amplifikasi dengan teknik PCR dilakukan setelah terlebih dahulu didesain primer spesifik SRV-2 *pol* 3195U dan SRV-2 *pol* 5798L yang bisa mengamplifikasi daerah *pol* SRV-2. Selanjutnya dilakukan kloning terhadap vektor pENTR/SD/D-TOPO yang akan memperantarai masuknya gen target ke dalam vektor destinasi. Hasil analisis terhadap plasmid pENTR/SD/D-TOPO menggunakan teknik sekuensing dengan primer spesifik yang dilanjutkan dengan analisis menggunakan program BLAST menunjukkan arah dan urutan nukleotida yang diinginkan dari target gen *pol* SRV-2.

Rekombinasi terhadap genom *E.coli* dilakukan menggunakan vektor pDEST17 dengan enzim LR clonase. Rekombinan selanjutnya ditranformasikan ke sel *E.coli* DH5 α . Hasil analisis terhadap adanya rekombinasi antara genom *E.coli* dengan *pol* SRV-2 dalam plasmid dilakukan dengan teknik sekuensing telah menunjukkan hasil yang diharapkan. Plasmid

selanjutnya akan ditransformasikan ke dalam sel *E.coli* BL21 AI untuk menghasilkan protein rekombinan yang diharapkan. Sampai laporan ini disusun masih dilakukan analisis ekspresi protein dengan teknik elektroforesis SDS-PAGE dan Western blot. Uji aktivitas enzim reverse transcriptase akan dilakukan dengan teknik real time PCR.