JURNAL JEUMPA
JURNAL PENDIDIKAN SAINS & BIOLOGI

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v11i1.9933

Variasi Genetik *Prion Protein Gene* pada Kucing Domestik (*Felis catus*) Menggunakan Metode RFLP *In Silico*

Genetic Variation of Prion Protein Gene in Domestic Cats (*Felis catus*) Using RFLP In Silico Method

Sari Rahma Pinta*, Chelsylia Dara Pratama, Fathma Dwi Fatiha, Silvia Muharani, Afifatul Achyar

Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Padang, Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Barat, Padang Utara, Padang, Sumatera Barat, 25171, Indonesia

corresponding author: sarirahmapinta@gmail.com

ABSTRAK

FSE adalah penyakit neurodegeneratif yang disebabkan oleh prion yang mempengaruhi semua keluarga kucing. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi variasi genetik dalam *prion protein gene* pada kucing domestik (*Felis catus*) menggunakan RFLP *In silico*. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang menyajikan karakteristik dari sampel yang diuji. Sampel yang digunakan yaitu sekuen *prion protein gene* dalam format fasta dari NCBI, dengan nomor identitas NCBI Popset 2445476754. Skrining enzim restriksi dilakukan menggunakan situs insilico.ehu.es. Metode RFLP *in silico* ini dilakukan menggunakan *tools* pada situs benchling.com dengan enzim restriksi yang diperoleh selama tahap skrining. Data yang telah didapatkan dianalisis secara deskriptif. Enzim restriksi yang digunakan yaitu enzim *HhaI* dengan sisi pemotongan pada basa G_CG'C dan enzim *DpnI* dengan sisi pemotongan pada GA'TC. Hasil restriksi dengan enzim *HhaI* pada 25 isolat *prion protein gene Felis catus* menghasilkan 4 variasi alel yaitu alel A1 (frekuensi alel 0.08), alel A2 (frekuensi alel 0.16), alel A3 (frekuensi alel 0.68) dan alel A4 (frekuensi alel 0.08). Restriksi yang dilakukan oleh enzim *DpnI* menghasilkan 2 alel yaitu alel B1(frekensi alel 0.84) dan alel B2 (frekuensi alel 0.16). Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai rujukan awal penelitian tentang gen Prion kucing domestik pada tahap yang lebih kompleks seperti bioinformatika, maupun pada tahap kerja laboratorium.
Kata Kunci: *Prion protein gene*; RFLP *in silico*; variasi genetik.

ABSTRACT

FSE is a neurodegenerative disease caused by prions that affect all cat families. This study aims to identify genetic variation in the prion protein gene in domestic cats (Felis catus) using In silico RFLP. This study is a descriptive study that presents the characteristics of the samples tested. The sample used was the prion protein gene sequence in fasta format from NCBI, with the NCBI Popset identity number 2445476754. Restriction enzyme screening was performed using the insilico.ehu.es site. The in silico RFLP method was carried out using tools on the benchling.com website with restriction enzymes obtained during the screening stage. The data were analyzed descriptively. The restriction enzymes used were the HhaI enzyme with the cutting side on the G_CG'C base and the DpnI enzyme with the cutting side on GA'TC. The results of restriction with the HhaI enzyme on 25 isolates of prion protein gene Felis catus produced four allele variations, namely allele A1 (allele frequency 0.08), allele A2 (allele frequency 0.16), allele A3 (allele frequency 0.68) and allele A4 (allele frequency 0.08). Restriction performed by the DpnI enzyme produced two alleles, allele B1 (allele frequency 0.84) and allele B2 (allele frequency 0.16). The results of this study can be used as an initial reference for research on the domestic cat Prion gene at a more complex stage as bioinformatics, therefore at the laboratory work stage.
Keywords: Genetic variation; prion protein gene; RFLP in silico.

Manuskrip disubmisi pada 19-04-2024;
disetujui pada 01-06-2024.

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v11i1.9933

PENDAHULUAN

Prion merupakan protein infeksius dengan kesalahan pelipatan pada konformasi *β sheet* yang mengubah protein normal menjadi bentuk yang menyimpang melalui proses polimerisasi berinti. Protein ini menyebabkan *Transmissible Spongiform Encephalopathies* (TSE), yang juga dikenal sebagai penyakit prion (Goedert et al., 2010). Istilah prion awalnya diciptakan untuk menunjukkan agen penyebab sekelompok gangguan neurodegeneratif progresif yang disebut *Transmissible Spongiform Encephalopathies* (TSE), seperti Creutzfeldt-Jakob (CJD) pada manusia, ensefalopati spongiformis sapi (BSE) pada sapi, penyakit kurus kronis (CWD) pada rusa, dan scrapie pada domba (Colby & Prusiner, 2011). Sedangkan pada family Felidae, penyakit ini dikenal dengan *Feline Spongiform Encephalopathy* (FSE).

FSE adalah penyakit neurodegeneratif yang disebabkan oleh prion yang mempengaruhi semua famili kucing. Penyakit ini selalu fatal begitu tanda-tandanya muncul. FSE dan BSE (*Bovine Spongiform Encephalopathy*) pada sapi disebabkan oleh agen yang sama (Pal & Chakravarty, 2020). FSE tercatat pernah ditemukan pada kucing peliharaan (kucing rumahan) dan kucing liar yang dipelihara. Jenis kucing yang dipelihara termasuk cheetah (*Acinonyx jubatus*), puma (*Puma [Felis] concolor*), ocelot (*Leopardus [Felis] pardalis*), harimau (*Panthera tigris*), singa (*P. leo*), kucing emas asia (*Catopuma temminckii*) dan kucing macan tutul (Bengal) Asia (*Prionailurus [Felis] bengalensis*). Dilaporkan bahwa tanda klinis FSE berkembang secara bertahap pada kucing rumahan. Pada awalnya, perubahan perilaku seperti agresif atau ketakutan yang tidak biasa dan tersembunyi biasanya terlihat. Selain itu, kelainan gaya berjalan dan ataksia sangat umum, dengan kaki belakang biasanya yang pertama terlihat. Kucing yang terkena dampak sering memiliki penilaian jarak yang buruk (Spickler, 2016).

Kucing adalah inang FSE, penelitian tentang polimorfisme gen PRNP (*Prion protein gene*) kucing masih jarang dilakukan. Selain itu, tidak ada laporan mengenai polimorfisme gen PRNP kucing pada hewan yang terinfeksi FSE. Karena polimorfisme genetik gen PRNP kucing dapat dikaitkan dengan kerentanan terhadap penyakit prion, identifikasi dan analisis fungsional polimorfisme gen PRNP pada sampel besar kucing sehat merupakan studi awal yang penting untuk mengidentifikasi faktor genetik terkait FSE yang potensial (Kim et al., 2020). Penyakit prion menyebabkan gangguan fungsi otak, penurunan fungsi intelektual intelektual, dan gerakan abnormal (*National Institutes of Health*, 2014). Sekitar 10-15% dari kasus penyakit prion pada manusia adalah hasil dari mutasi pada gen PrPC, sedangkan 85-90% sisanya diklasifikasikan sebagai sporadis atau didapat. Penyakit prion sporadis tidak memiliki kecenderungan genetik atau teridentifikasi mutasi pada PrPC dan terjadi ketika protein prion

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v11i1.9933

normal (PrPC) berubah menjadi bentuk protein prion sporadis yang abnormal (PrPSC) (Paudyal, 2017).

Perubahan yang terjadi pada nukleotida, gen, kromosom, dan genom pada suatu organisme disebut dengan variasi genetik (Achyar et al., 2021). Sekuensing DNA, *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), dan pohon filogenetik merupakan beberapa teknik yang umum digunakan dalan mengevaluasi variasi genetik. Dengan menggunakan sekuen gen yang tersedia pada database *genbank* NCBI, variasi genetik dapat dikaji secara *in silico*. Istilah "*in silico*" mengacu pada percobaan atau uji yang dilakukan dengan menggunakan metode simulasi komputer. Uji *in silico* dapat digunakan untuk memprediksi, membuat hipotesis, menghasilkan penemuan atau kemajuan baru dalam pengobatan dan terapi (Hardjono, 2013). *In silico* secara sederhana dapat didefinisikan sebagai metode untuk memasukkan pendekatan kondisi nyata ke dalam simulasi berbasis komputer melalui penggunaan software atau program aplikasi tertentu (Suharna, 2012; Johan, 2016).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi variasi genetik dalam *prion protein gene* pada kucing domestik (*Felis catus*) menggunakan RFLP *In silico*. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai rujukan awal penelitian tentang gen prion kucing domestik pada tahap yang lebih kompleks seperti bioinformatika, maupun pada tahap kerja laboratorium.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada November-Desember 2023 di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang menyajikan karakteristik dari sampel yang diuji. Sampel yang digunakan yaitu sekuen *prion protein gene* dalam format fasta dari NCBI, dengan nomor identitas NCBI Popset 2445476754. Sekuen dikirimkan oleh Guvendi, M., Can, H., Koseoglu, A.E., Erkunt Alak, S. dan Un, C tahun 2022 dengan sekuen pada lokus berukuran 675 bp (Guvendi et al., 2022). Data yang telah didapatkan dianalisis secara deskriptif.

Pemilihan enzim restriksi yang akan digunakan sesuai dengan pola RFLP dengan menggunakan *tools* pada situs insilico.ehu.es. *Tools* tersebut merupakan perangkat khusus yang digunakan untuk mengidentifikasi tempat-tempat pemotongan potensial pada sekuens DNA. Sekuen gen dalam format fasta dimasukkan ke dalam kolom yang telah disediakan. Untuk mempermudah analisis, hasil *alignment* setiap sekuen akan ditampilkan dan sekuen yang sama akan dibuang.

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v11i1.9933

Metode RFLP *in silico* dilakukan dengan menggunakan tools pada situs web www.benchling.com. Tahap awal yang dilakukan pada tools tersebut yaitu dengan melakukan registrasi akun dengan email. Langkah selanjtunya, impor sekuen yang telah diunduh dari NCBI ke folder proyek di situs Benchling. Pada pojok kanan layar terdapat simbol gunting yang digunkan untuk proses restriksi secara *in silico*. Nama enzim restriksi yang sudah ditentukan pada saat skrining dipilih pada kolom yang tersedia. Selanjutnya, menu "*run digest*" digunakan untuk melakukan restriksi. Untuk mendapatkan gambar elektroforegram, klik menu "*virtual digest*".

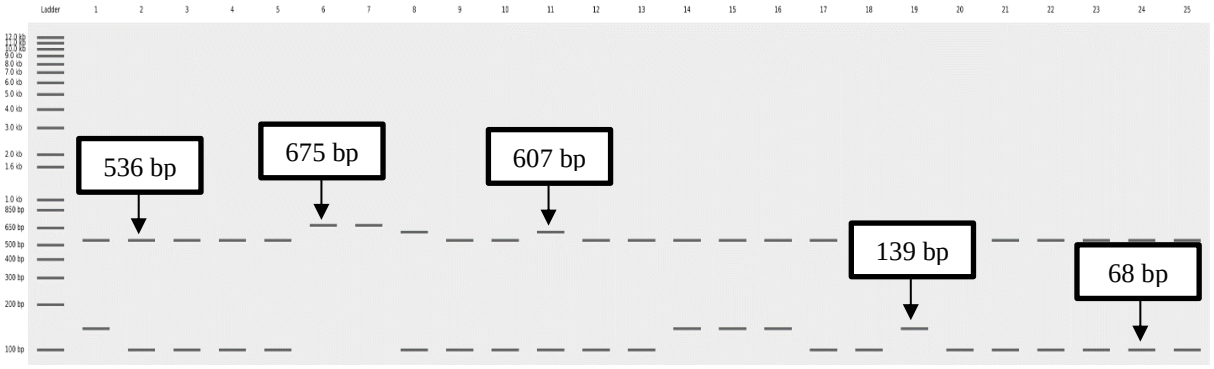
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil skrining enzim restriksi potensial, didapatkan beberapa enzim dengan berbagai sisi pengenalan. Enzim *HhaI* dengan sisi pemotongan pada basa G_CG'C dan enzim *DpnI* dengan sisi pemotongan pada GA'TC. Kedua enzim dipilih karena adanya keragaman pada sisi pemotongan yang terdapat pada seluruh sekuens *prion protein gene Felis catus* (kucing domestik) dalam PopSet 2445476754. RFLP *in silico* 25 isolat *Felis catus prion protein gene* NCBI Popset 2445476754 dilakukan pada situs Benchling menggunakan enzim restriksi hasil skrining yang telah didapatkan yaitu enzim *HhaI* dan enzim *DpnI*. Hasil RFLP *in silico* divisualisasikan dengan gel elektroforesis secara virtual.

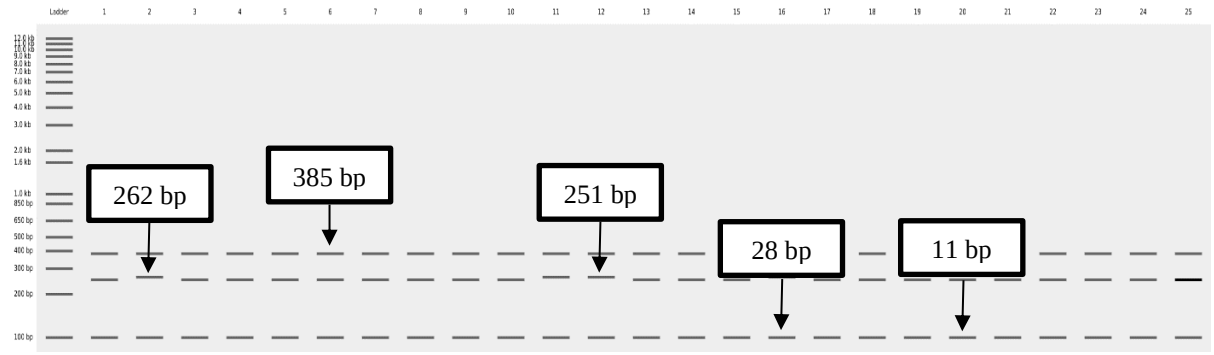
Hasil restriksi dengan enzim *HhaI* pada 25 isolat *prion protein gene Felis catus* menghasilkan 4 variasi alel yaitu alel A1 dengan panjang pita yakni 675 bp; Alel A2, 536 bp dan 139 bp; Alel A3, 536 bp dan 68 bp, serta alel A4 dengan panjang pita 607 bp dan 68 bp (Gambar 1). Alel A1 hanya menghasilkan 1 pita, sementara alel lainnya menghasilkan 2 variasi panjang pita. Hal ini dapat terjadi karena pada alel A1 tidak terdapat situs pengenalan restriksi sehingga tidak adanya pemotongan pada sekuens. Pada Alel A2 dan A3 salah satu pita yang dihasilkan memiliki panjang yang sama yaitu 536 bp artinya pada kedua alel terdapat situs pengenalan restriksi yaitu pada basa ke-536, namun bervariasi pada panjang pita kedua. Pada Alel A4, situs pengenalan restriksi terdapat pada basa ke-607, sehingga pemotongan baru terjadi pada situs pengenalan tersebut. Berdasarkan persentase kehadiran pita yang dihasilkan, alel A3 memiliki persentase terbanyak yakni 68% dengan jumlah kehadiran pada 17 isolat dan frekuensi alel yaitu 0.68. Kehadiran kedua terbanyak yaitu alel A2 dengan persentase kehadiran 16% pada 4 isolat dan frekuensi alel yang dihasilkan yaitu 0.16. Alel A1 dan A4 memiliki persentase yang sama yaitu sebanyak 8% dengan frekuensi alel 0.08 pada 2 isolat (Tabel 1).

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v11i1.9933



Gambar 1. Elektroforegram hasil restriksi dengan enzim *HhaI* secara *in silico* (Kiri: Ladder Life 1 kb plus, (1) ON713426.1, (2) ON713427.1, (3) ON713428.1, (4) ON713429.1, (5) ON713430.1, (6) ON713431.1, (7) ON713432.1, (8) ON713433.1, (9) ON713434.1, (10) ON713435.1, (11) ON713436.1, (12) ON713437.1, (13) ON713438.1, (14) ON713439.1, (15) ON713440.1, (16) ON713441.1, (17) ON713442.1, (18) ON713443.1, (19) ON713444.1, (20) ON713445.1, (21) ON713446.1, (22) ON713447.1, (23) ON713448.1, (24) ON713449.1, (25) ON713450.1)

Restriksi oleh enzim *DpnI* menghasilkan 2 alel yaitu alel B1 dengan panjang pita 385 bp, 251 bp dan 11 bp, serta alel B2 dengan panjang pita 385 bp, 262 bp dan 28 bp (Gambar 2). Alel B1 dan B2 sama-sama menghasilkan 3 variasi pita dengan situs pengenalan restriksi yang berbeda pada panjang pita kedua. Alel B1memiliki situs pengenalan restriksi pada basa ke-385 dan basa ke-636 sehingga menghasilkan pita kedua dengan panjang 251 bp, sedangkan alel B2 memiliki situs pengenalan restriksi pada basa ke-385 dan basa ke-647 sehingga pita kedua yang dihasilkan yaitu 262 bp. Frekuensi alel terbesar dimiliki oleh alel B1 yaitu 0.84 yang berarti alel ini hadir sebanyak 84% dari total semua isolat. Alel B2 memiliki frekuensi alel sebanyak 0.16 dengan persentase kehadiran sebanyak 16% dari total isolat (Tabel 1).



Gambar 2. Elektroforegram hasil restriksi dengan enzim *DpnI* secara *in silico* (Kiri: Ladder Life 1 kb plus, (1) ON713426.1, (2) ON713427.1, (3) ON713428.1, (4) ON713429.1, (5) ON713430.1, (6) ON713431.1, (7) ON713432.1, (8) ON713433.1, (9) ON713434.1, (10) ON713435.1, (11) ON713436.1, (12) ON713437.1, (13) ON713438.1, (14) ON713439.1, (15) ON713440.1, (16) ON713441.1, (17) ON713442.1, (18) ON713443.1, (19) ON713444.1, (20) ON713445.1, (21) ON713446.1, (22) ON713447.1, (23) ON713448.1, (24) ON713449.1, (25) ON713450.1)

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v11i1.9933

Tabel 1. Frekuensi alel *prion protein gene* pada *Felis catus* berdasarkan hasil RFLP *In Silico*

Enzim Restriksi	Situs Pengenalan Restriksi	Ukuran pita (bp)	Alel	Jumlah Kehadiran pita (N=25)	Persentase kehadiran pita (%)	Frekuensi Alel
HhaI	G_CG'C	675 bp	A1	2	8	0.08
		536 bp dan 139 bp	A2	4	16	0.16
		536 bp dan 68 bp	A3	17	68	0.68
		607 bp dan 68 bp	A4	2	8	0.08
DpnI	GA'TC	385 bp, 251 bp dan 11 bp	B1	21	84	0.84
		385 bp, 262 bp dan 28 bp	B2	4	16	0.16

Pembahasan

RFLP merupakan teknik dalam biologi molekuler yang mengeksplor variasi dalam urutan DNA homolog. Hasil dari variasi dalam urutan DNA akan dikenali oleh enzim restriksi yang mengarah pada fragmen DNA dengan berukuran berbeda. RFLP dapat digunakan sebagai penanda genetik untuk menunjukkan pewarisan DNA melalui keluarga dan telah digunakan dalam pemetaan genom, genotipe, forensik, tes paternitas, dan diagnostik penyakit keturunan (Sen, 2024). Kelebihan penggunaan RFLP in silico dapat dilihat dalam proses identifikasi organisme dengan kecepatan, kesederhanaan dan reproduktifitas yang tinggi dibandingan dengan metode konvensional. Metode ini juga dapat digunakan untuk validasi organisme karena dengan menggunakan aplikasi ini akan didapatkan enzim yang jelas dan mampu membedakan organisme yang satu dengan lainnya (Raspor et al., 2007).

Berdasarkan hasil RFLP *in silico* terhadap 25 isolat *prion protein gene* pada *Felis catus*, diketahui adanya variasi genetik dalam sisi pengenalan terhadap 2 enzim restriksi yang berbeda yaitu *HhaI* dan *DpnI*. Enzim restriksi merupakan protein yang dihasilkan oleh bakteri guna memotong DNA pada lokasi tertentu di sepanjang molekul (Britanica, 2024). Enzim restriksi memotong DNA pada situs pengenalan tertentu, menghasilkan fragmen DNA dengan panjang yang berbeda. Ketika DNA dua individu dipotong dengan enzim restriksi yang sama, fragmen yang dihasilkan akan berbeda tergantung keberadaan situs pengenalan dalam DNA tersebut. Teknik elektroforesis gel poliakrilamid, yang membedakan fragmen berdasarkan ukurannya, adalah salah satu cara untuk mengatasi variasi ini (Bukhout-White et al., 2018).

HhaI, enzim restriksi endonuclease Tipe II, mendeteksi urutan simetris 5′-GCG↓C-3′ dalam DNA dupleks dan membelahnya ('↓') untuk menghasilkan fragmen yang memiliki 2 basa dengan ujung 3′. *HhaI* terdiri dari tiga domain, masing-masing terdiri dari lima untai lembaran

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v11i1.9933

β dengan fungsi yang ditentukan. Domain pertama berisi situs katalitik; domain kedua berisi residu untuk pengenalan sekuens; dan domain ketiga berkontribusi pada pengikatan DNA non-spesifik (Horton et al, 2020). *DpnI* merupakan enzim endonuclease restriksi yang lebih mengenali adenin yang termetilasi daripada sitosin. Enzim ini diisolasi dari *Streptococcus* (sebelumnya *Diplococcus*) *pneumoniae*. *DpnI* yang telah dimodifikasi menjadi *R.DpnI* memotong sisi GATC secara efisien dan spesifik pada sisi pemotongan *blunt end*. Enzim ini termasuk enzim restriksi tipe II yang banyak digunakan dalam praktek bioteknologi seperti replikasi DNA bakteri (Siwek et al., 2012).

Polimorfism *Prion protein gene* (PRNP) memiliki peran penting terhadap munculnya penyakit Prion/ FSE pada family Felidae khususnya *Felis catus* (Kim *et al*., 2020). Analisis polimorfism terhadap gen ini sangat diperlukan untuk mengembangkan teknik pengobatan terhadap penyakit Prion yang diderita oleh kucing. Sebuah penelitian sebelumnya menunjukkan penentuan pertama urutan gen protein prion kucing domestik (*Felis catus*) (fPrnp), yang mirip dengan anjing (*Canis familiaris*) dan cerpelai (*Mustela putorius*), tetapi sangat berbeda dari urutan fPrnp sebelumnya (Lysek et al., 2004).

Penelitian lain menemukan 15 polimorfisme pada gen PRNP kucing, termasuk satu polimorfisme insersi/delesi (InDel) dan 14 SNP baru. Di antara polimorfisme ini, SNP Glu153Lys diprediksi memengaruhi stabilitas struktural dan kecenderungan amiloid PrP1 pada kucing. Studi ini juga membandingkan perbedaan struktural antara PrP anjing dan kucing untuk SNP yang terkait dengan resistensi penyakit prion pada anjing (Kim et al., 2020). Meskipun informasi tentang polimorfisme PNRP pada kucing domestik lebih sedikit, penelitian pada spesies lain menunjukkan bahwa polimorfisme PRNP dapat mempengaruhi stabilitas dan fungsi protein prion serta mempengaruhi kerentanan terhadap penyakit prion.

Pada anjing, sebuah studi tentang Gen Protein Prion (PRNP) mengungkapkan bahwa PrP anjing lebih stabil dibandingkan dengan hewan yang rentan terhadap penyakit prion, termasuk hamster. Hal ini menunjukkan bahwa polimorfisme pada gen PRNP mungkin berperan dalam resistensi anjing terhadap penyakit prion (Kim et al., 2020). Pada rusa kutub Eurasia (Rangifer tarandus tarandus), skrining genetik mengidentifikasi lima varian PrP, yang ditetapkan sebagai A, B, C, D, dan E, yang terstruktur dalam 14 genotip. Kehadiran empat, bukan lima pengulangan oktapeptida diamati pada Rangifer, dan substitusi non-sinonim S138N tidak terdeteksi pada rusa yang dianalisis (Moazami-Goudarzi, 2021). Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami sepenuhnya dampak polimorfisme PRNP terhadap karakteristik genetik kucing domestik.

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v11i1.9933

KESIMPULAN

Hasil analisis secara RFLP *in silico* pada *prion protein gene Felis catus* menunjukkan adanya variasi berdasarkan pengenalan restriksi enzim. Variasi terdapat pada sisi pengenalan restriksi enzim *HhaI* (Alel A1, A2, A3 dan A4) dan *DpnI* (Alel B1 dan B2). Frekuensi alel tertinggi untuk enzim restriksi *HhaI* adalah Alel A3 dan Alel B1 untuk enzim restriksi *DpnI*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dosen pengampu Mata Kuliah Genetika Populasi, Ibu Afifatul Achyar, M. Si., yang telah memberikan arahan dan saran dalam penelitian serta penyusunan artikel ini. Terima kasih kepada rekan peneliti yang telah berkoordinasi dengan baik selama pelaksanaan penelitian. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada seluruh pihak yang terlibat dalam penelitian ini, sehingga penelitian berjalan lancar.

REFERENSI

Achyar, A., Hindayageni, A., Humaira, F., Wijaya, N. N., Aqsha, N., & Zultsatunni'mah, Z. (2021). Analysis of Genetic Variations in Poly Gene Sequences in Dengue Virus 2 Using In-Silico RFLP. *Bioscience*, *5*(1), 80-86. https://doi.org/10.24036/0202151111916-0-00

Britannica, T. (2020). Editors of encyclopaedia. *Argon. Encyclopedia Britannica*. https://www.britannica.com/science/restriction-enzyme

Buckhout-White, S., Person, C., Medintz, I. L., & Goldman, E. R. (2018). Restriction Enzymes as a Target for DNA-Based Sensing and Structural Rearrangement. *ACS omega*, *3*(1), 495–502. https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01333

Colby, D. W. and Prusiner, S. B. (2011). Prions. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 3, a006833. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006833

Goedert, M., Clavaguera, F., & Tolnay, M. (2010). The propagation of prion-like protein inclusions in neurodegenerative diseases. *Trends in neurosciences*, *33*(7), 317-325. https://doi.org/10.1016/j.tins.2010.04.003

Guvendi, M., Can, H., Koseoglu, A. E., Erkunt A. S., & Un, C. (2022). Department of Biology, Ege University, Molecular Biology Section. Turkey. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/popset/?term=2445476754

Hardjono, S. (2013), Sintesis dan Uji Aktivitas Antikanker Senyawa 1-(2- Klorobenzoiloksi) urea dan 1-(4-klorobenzoiloksi) urea. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*. *2*(1), 1. http://repository.unair.ac.id/id/eprint/51551

Horton, J. R., Yang, J., Zhang, X., Petronzio, T., Fomenkov, A., Wilson, G. G., ... & Cheng, X. (2020). Structure of HhaI endonuclease with cognate DNA at an atomic resolution of 1.0 Å. *Nucleic acids research*, *48*(3), 1466-1478. https://doi.org/10.1093/nar/gkz1195

Kim, D. J., Kim, Y. C., Kim, A. D., & Jeong, B. H. (2020). Novel Polymorphisms and Genetic Characteristics of the Prion Protein Gene (*PRNP*) in Dogs-A Resistant Animal of Prion Disease. *International journal of molecular sciences*, *21*(11), 4160. https://doi.org/10.3390/ijms21114160

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v11i1.9933

Kim, H. H., Kim, Y. C., Kim, K., Kim, A. D., & Jeong, B. H. (2020). Novel polymorphisms and genetic features of the Prion Protein Gene (Prnp) in cats, hosts of feline spongiform encephalopathy. *Genes*, *12*(1), 13. https://doi.org/10.3390/genes12010013

Lysek, D. A., Nivon, L. G., & Wüthrich, K. (2004). Amino acid sequence of the Felis catus prion protein. *Gene*, *341*, 249–253. https://doi.org/10.1016/j.gene.2004.07.002

Moazami-Goudarzi, K., Andréoletti, O., Vilotte, J. L., & Béringue, V. (2021). Review on PRNP genetics and susceptibility to chronic wasting disease of Cervidae. *Veterinary Research*, *52*, 1-15. https://doi.org/10.1186/s13567-021-00993-z

National Institutes of Health. (2014). Prion disease. *https://medlineplus.gov/genetics/condition/prion-disease/*

Pal, A., & Chakravarty, A. K. (2020). Major diseases of livestock and poultry and problems encountered in controlling them. In *Genetics and Breeding for Disease Resistance of Livestock* (pp. 11–83). Elsevier. http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-816406-8.00002-4

Paudyal, A. (2017). Polymorphism In the PrPC Prion Protein Gene in Pigs. https://scholars.fhsu.edu/theses/14/

Raspor, P., Zupan, J., & Čadež, N. (2007). Validation of yeast identification by in silico RFLP. *Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology*, *15*(3), 267-281. https://doi.org/10.1111/j.1745-4581.2007.00097.x

Sen, S. K. (2024). *Restriction Fragment Length Polymorphism*. National Human Genome Research Institute. https://www.genome.gov/genetics-glossary/Restriction-Fragment-Length-Polymorphism

Siwek, W., Czapinska, H., Bochtler, M., Bujnicki, J. M., & Skowronek, K. (2012). Crystal structure and mechanism of action of the N6-methyladenine-dependent type IIM restriction endonuclease R.DpnI. *Nucleic acids research*, *40*(15), 7563–7572. https://doi.org/10.1093/nar/gks428

Spickler, A. R. (2016). *Feline Spongiform Encephalopathy*. The Center for Food Security and Public Health. https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/feline_spongiform_encephalopathy.pdf

Suharna. (2012). *Studi In Silico Senyawa Turunan Flavonoid terhadap Penghambatan Enzim Tirosinase* (Skripsi, UIN Alauddin Makassar). https://core.ac.uk/download/pdf/198219341.pdf