

**DETEKSI INFEKSI *BOVINE HERPES VIRUS -1*
PENYEBAB *INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS*
SECARA SEROLOGIS DAN MOLEKULER
PADA SAPI POTONG IMPOR**

**Wahyu Dwiyatmo
19/448634/PKH/00719**

INTISARI

Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) adalah penyakit pada sapi yang disebabkan oleh *Bovine Herpesvirus 1* (BHV-1). Penyakit IBR pada ternak sapi ini tersebar di seluruh dunia, sangat infeksius, mengakibatkan gangguan pernafasan, reproduksi, dan syaraf. Penyakit ini juga secara ekonomi merugikan dalam perdagangan internasional. Lalulintas sapi dari luar negeri saat ini masih cukup tinggi dengan tingkat prevalensi di negara asal yaitu Australia sebesar 15-96%. Infeksi subklinis sering terjadi dan juga menyebabkan infeksi laten, sehingga diperlukan deteksi antigen dan antibodi untuk mengetahui status kesehatan hewan. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi antibodi dan antigen BHV-1 pada sapi potong impor. Sampel di ambil dari 25 ekor sapi potong impor yang masuk melalui pelabuhan Tanjung Intan Cilacap dengan dua kali pengambilan. Pengambilan pertama dan kedua dilakukan dengan selang waktu 1 minggu. Sampel yang diambil meliputi sampel serum dan swab hidung dari sapi yang menunjukkan gejala klinis IBR. Sampel selanjutnya diuji dengan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) antibodi dan *real-time polymerase chain reaction* (PCR). Hasil pengujian ELISA antibodi menunjukkan bahwa 64% (16/25) seropositif dan 36% (9/25) seronegatif, sedangkan pada uji *real time* PCR diperoleh hasil positif 72% (8/12). Berdasarkan kedua uji tersebut, menunjukkan 40% (10/25) sampel terdeteksi seropositif ELISA dan positif *real time* PCR. Hasil seronegatif ELISA 9 sampel menunjukkan 88% (8/9) positif *real time* PCR. Hasil seropositif ELISA 16 sampel menunjukkan 37% (6/16) positif *real time* PCR. Kesimpulan dari penelitian ini adalah 40% sampel serum dan swab hidung dari sapi potong impor terdeteksi BHV-1 berdasar serologis ELISA dan *real time* PCR.

Kata Kunci : *Bovine Herpesvirus*, Elisa, *real Time* PCR.

Detection of Bovine Herpes Virus -I Infection Causes Infectious Bovine Rhinotracheitis by Serological and Molecular in Imported Beef Cattle

Wahyu Dwiyatmo
19/448634/PKH/00719

ABSTRACT

Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) is a disease in cattle caused by Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1). IBR disease in cattle is spread all over the world, is very infectious, causes respiratory, reproductive, and nervous disorders. This disease is also economically detrimental to international trade. Imports of cattle from other countries are still common, with a prevalence rate of 15-96 percent in the source country, Australia. Subclinical infections often occur and also cause latent infections, so that antigen and antibody detection is needed to determine the health status of animals. This study aims to detect BHV-1 antibodies and antigens in imported cattle. Samples were taken from 25 imported cattle that entered through the Tanjung Intan port by twice collections. The first and second takes were performed one week apart. The samples taken included serum and nasal swabs from cows showing clinical symptoms of IBR. The samples were then tested with an antibody Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and real-time polymerase chain reaction (PCR). The antibody ELISA test results showed that 64% (16/25) were seropositive and 36% (9/25) were seronegative, while the real time PCR test showed a positive result of 72% (8/12). Based on the two tests, it showed 40% (10/25) samples were detected as ELISA seropositive and real time PCR positive. The ELISA seronegative results of 9 samples showed 88% (8/9) positive for real time PCR. The ELISA seropositive results of 16 samples showed 37% (6/16) positive real time PCR. The conclusion of this study is that 40% of blood samples and nasal swabs from imported beef cattle detected BHV-1 based on serological ELISA and real time PCR..

Keywords : Bovine Herpesvirus; Elisa; Real Time PCR

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) adalah penyakit infeksius dan menular pada sapi domestik maupun sapi liar yang disebabkan oleh virus *Bovine Herpes Virus Type-1* (BHV-1). BHV-1 pertama kali diidentifikasi pada sapi perah di California, AS, pada tahun 1953, namun virus ini tetap menjadi patogen penting secara global dan memiliki dampak signifikan pada kesehatan dan kesejahteraan (Raaperi *et al.*, 2014). BHV-1 dapat menyebabkan infeksi laten seumur hidup dan dapat aktif kembali ketika seekor hewan sedang stress atau terpapar obat kortikosteroid (Zhu *et al.*, 2017).

Menurut *Office International des Epizooties* (OIE), penyakit IBR merupakan salah satu masalah utama pada peternakan sapi yang berpotensi membahayakan perdagangan internasional. Lalulintas sapi dari luar negeri saat ini masih cukup tinggi. Jumlah sapi potong impor dari Australia yang melalui Pelabuhan Tanjung Intan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Jumlah sapi potong impor dari Australia yang melalui Pelabuhan Tanjung Intan (Anonim^a, 2019)

Komoditas	Tahun				
	2015	2016	2017	2018	2019
Sapi Potong (ekor)	21,710	17,067	13,746	17,168	14,864

Tingkat prevalensi di negara asal yaitu Australia sebesar 15-96% (AFFA., 2000). Menurut Sudarisman (2003) di Indonesia reaksi positif serologi IBR tidak hanya terjadi pada hewan impor tetapi juga ternak asli Indonesia. Penyakit IBR

secara serologis telah ada pada sapi perah, sapi potong dan kerbau dari beberapa propinsi di Indonesia dengan prevalensi 5-72,9% (Sarosa, 1985). Naipospos (2014), menyebutkan seluruh UPT Perbibitan lingkup Ditjennakeswan (kecuali BPTUHPT Sapi Bali) menunjukkan titer antibodi positif berkisar 4-76%.

Badan Karantina Pertanian salah satunya mempunyai tugas mencegah masuk dan tersebarnya Hama Penyakit Hewan Karantina (HPHK). Pelaksanaan tindakan karantina untuk importasi sapi potong dari luar negeri ke wilayah Republik Indonesia harus dilakukan melalui penanganan dan pemeriksaan yang ketat terhadap ruminansia besar. *Infectious Bovine Rhinotracheitis* (IBR) adalah salah satu HPHK yang harus dilakukan pencegahan masuk dan tersebarnya penyakit sesuai dengan Undang-Undang nomor 21 tahun 2019 tentang Karantina Hewan, Ikan dan Tumbuhan. Penyakit IBR tidak dapat dideteksi dari gejala klinis saja. Diagnosis penyakit IBR telah dikembangkan dengan berbagai cara, yaitu dengan isolasi dan identifikasi virus, uji serologi, pemeriksaan *immunoassay*, serta pendeteksian material genetik melalui teknik molekuler biologi. Diagnosis infeksi BHV-1 bisa sulit karena berbagai alasan. Infeksi subklinis sering terjadi dan BHV-1 dapat menyebabkan infeksi laten (Radostits *et al*, 2006).

Uji ELISA adalah cara yang relatif sederhana, ekonomis, dan memiliki sensitivitas yang cukup tinggi (Hausmann *et al.*, 2007). Kelemahan uji ini adalah antibodi baru dapat dideteksi melalui uji serologis setelah 7-14 hari pasca infeksi (Radostits *et al.*, 2006). Uji PCR dapat mengkonfirmasi diagnosis pada tahap awal penyakit, dimana antigen sudah masuk ke dalam tubuh namun belum terbentuk titer antibodi. Hewan dalam kondisi infeksi laten dapat menunjukkan antibodi positif

(OIE,2018). Pemeriksaan serologis dan molekuler untuk memastikan adanya antibodi dan antigen BHV-1 dalam sampel sapi potong impor perlu dilakukan.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah : Apakah infeksi BHV pada sapi potong impor asal Australia dapat dideteksi dengan pemeriksaan antibodi dan antigen?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mendeteksi antibodi dan antigen BHV-1 pada sapi potong impor dalam upaya pencegahan masuk dan tersebarnya hama penyakit hewan karantina.

1.4 Manfaat Penelitian

Kejadian penyakit IBR pada sapi potong impor dapat digunakan sebagai bahan kebijakan dalam importasi sapi potong impor.

1.5 Keaslian Penelitian

Penelitian ini belum pernah dilakukan sebelumnya dan berikut adalah persamaan serta perbedaan dengan penelitian sebelumnya yang disajikan dalam tabel 2.

Tabel 2. Persamaan dan perbedaan dengan penelitian sebelumnya

No	Peneliti/ Tahun/ Judul	Persamaan	Perbedaan
1.	Hidayati <i>et al.</i> (2019), The Establishment of PCR Amplification, Cloning, and Sequencing of Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1) Glycoprotein D Gene Isolated in Indonesia	Deteksi BHV-1 dengan PCR	Menggunakan metode <i>Nested</i> PCR dan sampel yang digunakan adalah trachea
2	Zeedan <i>et al.</i> (2018), Serological and Molecular Identification of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus Isolation and Adaptation in Embryonated Chicken Eggs	Identifikasi Serologis dan Molekuler	Virus diisolasi dari <i>swab</i> hidung dan diadaptasi dalam <i>chorioallantoic membrane</i> (CAM) telur ayam
3.	Untari dkk. (2016), Detection of Bovine Herpes Virus-1 in Indonesia by Immunoperoxidase Monolayer Assay	Deteksi BHV-1	Menggunakan metode <i>Immunoperoxidase Monolayer Assay</i>
4.	Bashir dkk. (2011), Development of a sandwich ELISA for the detection of bovine herpesvirus type 1	Deteksi BHV-1	Menggunakan metode <i>sandwich</i> ELISA
5	Saepulloh dkk. (2008), Pengembangan <i>Nested</i> PCR untuk Deteksi <i>Bovine herpesvirus-1</i> (BHV-1) pada Sediaan Usap Mukosa Hidung dan Semen asal Sapi	Deteksi BHV-1	Menggunakan metode <i>Nested</i> PCR

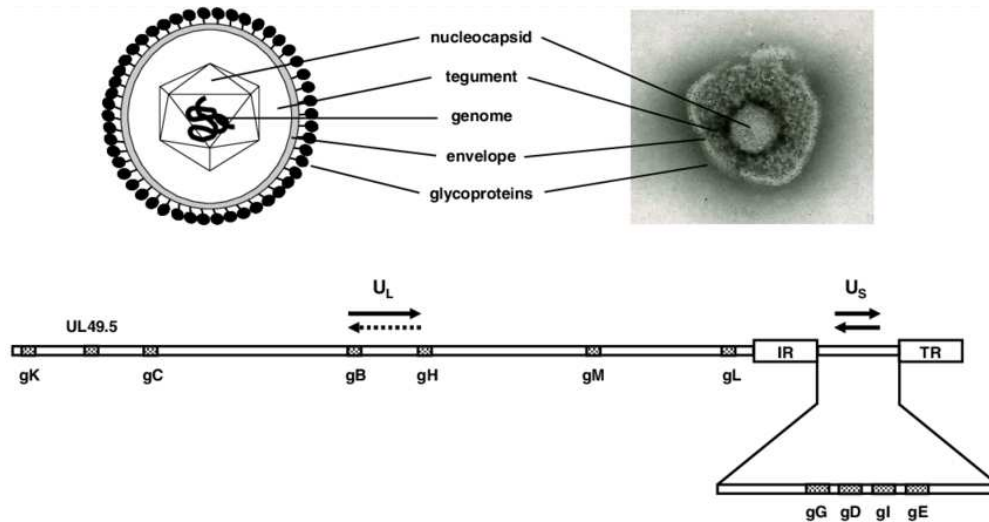
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR)

2.1.1 Etiologi IBR

Agen penyebab penyakit IBR yaitu virus BHV-1, terbagi menjadi 2 sub tipe, yaitu sub tipe 1 dan sub tipe 2. Virus BHV-1 sub tipe 1 berhubungan dengan galur yang dapat menyebabkan gangguan pernapasan, sedangkan sub tipe 2 adalah galur yang dapat menyebabkan gangguan genital seperti *Infectious Pustular Vulvovaginalis* (IPV) dan *Infectious Pustular Balanoposthitis* (IPB) (Radostit *et al.*, 2006).

Virus BHV-1 tahan terhadap pengaruh lingkungan. Inaktivasi virus di lingkungan tergantung pada faktor-faktor seperti suhu, pH, cahaya, dan kelembaban. Suhu pada 4°C, virus stabil selama 1 bulan. BHV-1 tidak aktif pada 56°C dalam waktu 21 menit, pada 37°C dalam waktu 10 hari dan pada 22 ° C dalam 50 hari (Gibbs & Rweyemamu 1977). Virus BHV-1 memiliki sifat sensitif terhadap eter, kloroform, aseton, alkohol, dan garam empedu. Virus ini tidak stabil pada pH 4,5 hingga 5,0, tetapi stabil antara pH 6 hingga 9. Virus sangat rentan terhadap 0,5% natrium hidroksida, 0,01% HgCl₂, 1% fenol dan senyawa amonium kuaterner 1%. Selain itu, 5% formalin dapat menonaktifkan virus dalam 1 menit. Dengan demikian, virus ini rapuh dan sensitif terhadap deterjen dan pelarut lipid (Kaur *et al.*, 2016). Organisasi morfologi dan genom alphaherpes virus dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Organisasi morfologi dan genom alphaherpes virus (Thiry *et al.*, 2006)

Virus IBR berbentuk bulat seperti bola dan memiliki virion pleumorfik dengan diameter yang bervariasi dari 120 sampai 200nm. Permukaan virion banyak terdapat *spike* yang panjangnya 8nm dan merata diseluruh permukaan virus (Murphy *et al.*,1999). Herpes virus pada umumnya memiliki untai dasar *double stranded* DNA yang dikode sebanyak 100-200 gen dan terbungkus oleh kapsid. Kapsid ini merupakan susunan rantai ikosahedral protein yang terdiri dari 162 kapsul dan diselubungi suatu lapisan protein yang disebut tegument. Tegument mengandung protein virus. dan lapisan amplop virus berupa lipid *bilayer* (Thiry *et al.*, 2006).

Ukuran genom virus kurang lebih 135,3 kilobasepare (kb) yang memiliki wilayah *unique short* (US) dan *unique long* (UL). Wilayah US diapit oleh pengulangan *internal repeat* (IR) dan *terminal repeat* (TR). Genom virus BHV-1 mengandung DNA untai ganda yang mengkode 70 protein, dimana 33 protein telah teridentifikasi sebagai protein struktural, 15 protein adalah non struktural protein,

sedangkan sisanya belum teridentifikasi dengan jelas fungsinya. Di antara sepuluh gen glikoprotein, enam terletak di wilayah UL yaitu adalah gL (UL1), gM (UL10), gH (UL22), gB (UL27), gC (UL44) dan gK (UL53), dan empat terletak di wilayah AS. Adalah gG (UL4), gD (UL6), gI (US7) dan gE (US8) (Muylkens, 2007). Protein pada BHV-1 terdiri dari glikoprotein utama yaitu gB, gC, dan gD, yang berperan dalam inisiasi infeksi dan respon imun. Virus BHV-1 pada awalnya mengikat permukaan sel sulfat heparin melalui gB dan C. Glikoprotein (gC) sebagai penempelan utama ke target sel yang berikatan dengan permukaan glican (Liman *et al*, 2000).

Glikoprotein (gD) memiliki sifat imunogenesitas yang sangat tinggi, lokasinya berada pada *virion envelope*. Glikoprotein D ini berperan dalam interaksi virus dengan sel inang, penyebaran virus dari sel ke sel dan fusi *virion envelope* dengan membrane plasma (Muylkens, 2007). BHV-1 tidak akan hidup apabila gen yang menyandi gD dihilangkan, sedangkan apabila gen yang menyandi glikoprotein *non essential* (gC, gE, gI, gG, dan M) dihilangkan, maka terjadi perubahan pada proses siklus replikasi virus (Ackermann, 1996).

Glikoprotein virus sangat berperan dalam patogenesis dan imunitas. Glikoprotein berfungsi sebagai proteksi imunologis, replikasi, penyebaran dari sel ke sel yang lain serta pelekatan virus pada sel inang, sehingga isolasi virus atau deteksi gen atau protein ini menjadi sangat penting untuk identifikasi agen penyakit IBR (OIE, 2018).

2.1.2 Patogenesis

Infeksi virus BHV-1 dapat mengakibatkan beberapa penyakit antara lain IBR, *infectious pustular vulvovaginitis* (IPV) dan *infectious pustular balanoposthitis* (IPB) (Muylkens *et al*, 2007). Virus disekresikan melalui sekreta hidung dan mata, cairan plasenta ternak sapi yang keguguran serta semen (Rola *et al.*, 2005). Virus BHV-1 kemudian masuk ke dalam saluran pernapasan umumnya melalui udara yang mengandung virus IBR dari hewan penderita. Infeksi BHV-1 terutama terjadi pada saluran pernapasan bagian atas, tetapi kadang-kadang juga terjadi pada bagian bawah paru-paru. Masa inkubasi BHV-1 selama 2 – 3 hari, ternak akan demam yang diikuti dengan peningkatan frekuensi pernapasan, anoreksia, penurunan produksi susu (pada sapi perah), serta menjadi kurus. Dalam jangka waktu satu atau dua hari, terbentuk leleran hidung encer dan hidung tampak kemerahan (Gibbs and Rweyemamu, 1977).

Leleran hidung yang encer pada tahap selanjutnya menjadi mukopurulen. Tahap akut ini terjadi sekitar 5 – 10 hari setelah ternak sembuh dari demam. Kejadian klinis yang berat tergantung kepada jenis galur virus yang menginfeksi, status imunologik hewan, keadaan lingkungan, infeksi sekunder dan umur hewan. Faktor-faktor tersebut dapat menyebabkan sindrom pernapasan kompleks yang disebut sebagai “demam pengapalan” (*shipping fever*). Sindrom ini merupakan ciri khas infeksi BHV-1 yang diikuti dengan infeksi sekunder (biasanya bakteri *Pasteurella haemolytica*) yang mungkin dapat berpotensi menghasilkan pneumonia yang fatal (Babiuk *et al.*, 1988). Gejala klinis pernapasan pada sapi bunting apabila terus berlanjut, sudah dapat dipastikan sekitar 25% ternak bunting akan mengalami

keguguran. Lamanya masa inkubasi pada sapi bunting terjadi keguguran antara 3 – 6 minggu dan paling sering terjadi pada usia kebuntingan 5 dan 8 bulan (Muylkens *et al.*, 2007).

2.1.3 Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) pada Sapi

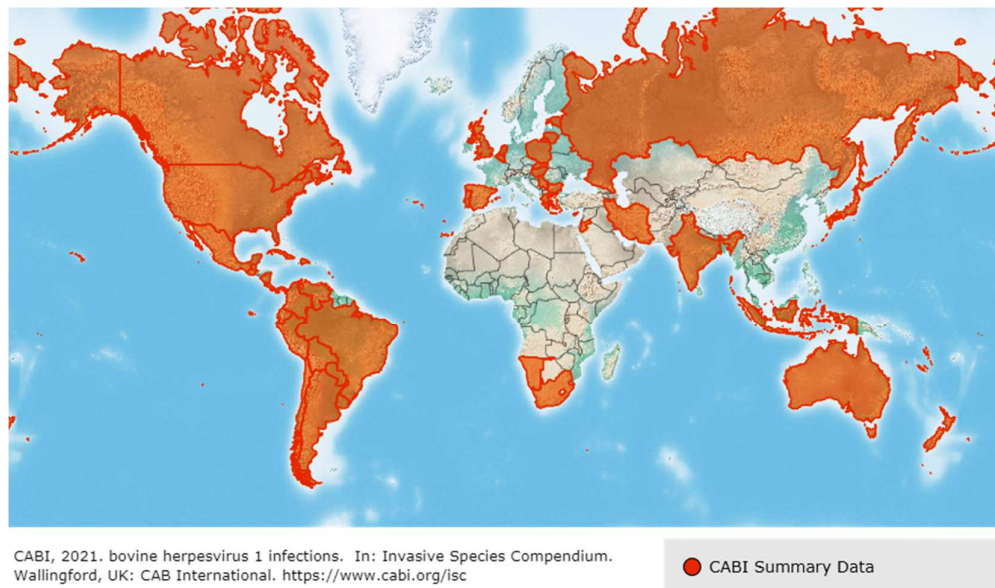
Gejala klinis pada sapi akibat BHV-1 seperti infeksi *pustular vulvovaginitis* pada sapi betina atau *balanoposthitis* pada sapi jantan, *konjungtivitis*, *ensefalitis* dan gejala sistemik lainnya seperti demam dan kelesuan (Straub, 2010). Infeksi sistemik bila terjadi pada sapi bunting, maka akan terjadi keguguran. Lamanya masa inkubasi pada sapi bunting terjadi keguguran antara 3 – 6 minggu dan paling sering terjadi pada usia kebuntingan 5 dan 8 bulan (Muylkens *et al.*, 2007). Penyakit IPB pada ternak jantan berkembang setelah masa inkubasi 1 – 3 hari yang ditandai dengan lesi pustula yang menyebar pada penis, timbulnya eksudat kecil dan demam. Infeksi pada pejantan dapat menularkan IPB ke sapi lain walaupun tidak terdapat adanya gejala klinis. Hal inilah yang menjadi alasan bahwa pejantan pada pusat inseminasi buatan (IB) harus memiliki seronegatif terhadap BHV-1 (Muylkens *et al.*, 2007).

Virus BHV-1 menyebar ke system syaraf dengan cara virus memasuki sel syaraf tepi. Virus akan mencapai ganglia sensoris seperti ganglia trigeminal dan lumbosakral, selanjutnya virus laten menetap (Vogel *et al.*, 2004). BHV-1 dapat menyebabkan gangguan pada organ syaraf, namun *ensefalitis* jarang sekali terjadi pada sapi. *Ensefalitis* diperkirakan terjadi sebagai suatu proses lanjutan yang berhubungan dengan pernapasan akut atau pengaktifan kembali virus laten.. Hewan yang terinfeksi secara laten bertindak sebagai pembawa virus (*carrier*) dan

merupakan sumber penyebaran penyakit (Rola *et al.*, 2003).

2.1.4 Penyebaran dan Penularan

Penyakit IBR pada ternak sapi tersebar di seluruh dunia, sangat infeksius, mengakibatkan gangguan pernafasan, reproduksi, dan syaraf yang secara ekonomi merugikan sehingga perlu diwaspadai keberadaannya (OIE, 2018). Penyebaran IBR di dunia dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Peta penyebaran IBR di dunia (CABI, 2021)

Keberadaan penyakit IBR pada ternak sapi di Indonesia telah terbukti, baik pada ternak sapi di pusat-pusat perbibitan dan inseminasi buatan (IB) maupun pada ternak sapi milik rakyat (Saepulloh dkk., 2010). Hasil kegiatan penanggulangan penyakit/gangguan reproduksi pada tahun 2016 di wilayah Lampung, diperoleh hasil bahwa dari 77 ekor sapi yang mengalami gangguan reproduksi terdapat 13 ekor sapi (16,8%) yang menunjukkan reaksi seropositif terhadap IBR (Yulianti, 2016). Saepulloh dkk. (2010) melaporkan hasil deteksi DNA BHV-1 pada sediaan

usap mukosa hidung asal sapi bibit di Jawa Barat, yang secara klinik normal, menunjukkan bahwa 3,68% (14/381) terdeteksi positif dengan uji *nested* PCR sedangkan pada Sapi PO mencapai 97,14% (68/70) dengan uji yang sama. IBR di seluruh perbibitan lingkup Dirjen PKH menunjukkan serologik positif dgn SNT (4%-76%) (Naipospos, 2014).

Penularan langsung virus BHV-1 melalui pernafasan sangat mudah dari satu ternak ke ternak lain atau dari kelompok satu ke kelompok lainnya. Virus dapat menyebar melalui sekresi hidung atau percikan yang mengandung virus. Transmisi virus melalui udara juga dapat terjadi pada kondisi percobaan dengan jarak 3,85 m (Mars *et al.*, 2000). BHV-1 seringkali ditemukan pada mukosa hidung, mata dan preputium. Virus akan bereplikasi pada bagian mukosa preputium sapi tersebut pada kasus balanopostitis. (Deka *et al.*, 2005). Setelah masa inkubasi selama 2–4 hari, keluarnya cairan dari hidung, air liur, demam, kurang nafsu makan, dan depresi menjadi jelas. Dalam beberapa hari cairan hidung dan mata berubah menjadi mukopurulen. Kebanyakan Infeksi berlangsung sangat ringan atau subklinis (Baibuk *et al.*, 1988).

2.1.5 Respon Imun Terhadap BHV-1

Respons imun terhadap infeksi BoHV-1 dipicu ketika virus mulai bereplikasi (Babiuk *et al.*, 1996). Respons imun yang dimediasi sel dan diperantarai antibodi muncul 7-14 hari setelah infeksi (OIE 2018). Antibodi diduga sangat penting dalam mencegah infeksi dan penyebaran virus, sementara imunitas yang diperantarai sel terlibat dalam pemulihan dari infeksi. Respon imun dapat bertahan seumur hidup, meskipun mungkin berada di bawah batas

deteksi beberapa uji setelahnya beberapa tahun (Babiuk et al., 1996). Respon kekebalan terhadap BHV-1 dibagi menjadi dua, yaitu respon humoral dan respon seluler. Respon kekebalan humoral terhadap BHV-1 dimulai dengan meningkatnya IgM dan IgG sebagai bentuk respon tahap pertama bila terjadi infeksi. Respon tahap kedua adalah terbentuknya IgG dan IgG2. Imunoglobulin M juga dapat muncul sebagai respon tahap kedua. Respon tahap pertama akan muncul 7 hari setelah hewan terinfeksi. Imunoglobulin G akan mencapai puncaknya 35 hari setelah hewan terinfeksi dan 14 hari pada hewan bunting (Radostits *et al.*, 2006)

Respon kekebalan seluler terhadap infeksi BHV-1 berupa respon transformasi limfosit menjadi sel yang lebih besar yang mampu menjalani mitosis (Blastogenik), *direct cytotoxicity*, dan produksi lymphokine. BHV-1 merangsang limfosit sekitar lima hari setelah infeksi dan mencapai puncaknya pada 8-10 hari setelah infeksi. Limfosit dan produksi interferon dapat menghambat perbanyakan virus BHV-1. Respon kekebalan dapat dideteksi pada epitel saluran pernafasan dan saluran reproduksi. Produksi lymphokine dihasilkan oleh gabungan antara makrofag dan sel T yang dirangsang oleh adanya virus BHV-1 (Radostits *et al.*, 2006)

2.2 Diagnosis IBR

Diagnosis penyakit IBR dapat dilakukan dengan berbagai cara, yaitu dengan isolasi dan identifikasi virus dari sampel, uji serologi, pemeriksaan immunoassay, serta pendeteksian genetik material melalui teknik molekuler biologi. Agen penyakit dapat diisolasi dari beberapa jenis sampel antara lain nasal