

PENGUNAAN KONSENSUS PRIMER PCR PROTOKOL PREDICT DALAM MENGONFIRMASI KEBERADAAN *BOVINE HERPESVIRUS 1* (BoHV-1) PADA SAPI ACEH DI BPTU – HPT INDRAPURI.

Lilik Prayitno¹, Joko Pamungkas², Uus Saepuloh³, Ni Luh Putu Ika Mayasari², Mamik Rahayu¹, Gantiah⁴

¹Laboratorium Virologi Balai Veteriner Medan, Medan

²Divisi Mikrobiologi Medik Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor

³Laboratorium Bioteknologi Pusat Studi Satwa Primata Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Institut Pertanian Bogor, Bogor

⁴Laboratorium Biologi Molekuler Balai Veteriner Medan, Medan

Email: lilikprayitno58@gmail.com

ABSTRAK

Bovine Herpesvirus 1 (BoHV-1) merupakan anggota subkeluarga *Alphaherpesvirinae* dalam keluarga *Herpesviridae*, berperan sebagai agen penyebab terjadinya *Infectious Bovine Rhinotracheitis* (IBR). Penyakit IBR menyebabkan kerugian ekonomi pada industri peternakan sapi. Infeksi virus pada ternak sapi sangat berkaitan erat dengan beberapa kejadian secara klinis seperti *rhinotracheitis*, *balanoposthitis*, *vulvovaginitis*, abortus, penurunan produksi susu, infertilitas, dan penurunan bobot kelahiran. Penyakit IBR merupakan salah satu penyakit hewan yang penting di Indonesia dan masuk dalam penyakit hewan menular strategis nasional serta merupakan penyakit yang harus bebas pada pusat perbibitan di Indonesia. Tujuan penelitian ini adalah menguatkan dan pembuktian uji sebelumnya yaitu deteksi antibodi BoHV-1 dengan metode *Enzyme Linked Immunosorbant Assay* (ELISA) dan identifikasi molekuler BoHV-1 dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada target gen glikoprotein B (gB), mengindikasikan kemungkinan adanya BoHV-1 pada sapi Aceh di BPTU-HPT Indrapuri. Pengujian pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan konsensus primer PCR dengan target amplifikasi gen DNA *Terminase*. Deteksi antibodi terhadap BoHV-1 dengan menggunakan ELISA dilakukan pada tiga periode waktu yang berbeda, hasil ELISA berturut-turut menunjukkan seropositif yang tinggi yaitu (517/537) 96.28%, (633/681) 92.95%, dan (668/734) 91.01%, dengan kondisi hasil seropositif pada status hewan nonvaksinasi mengindikasikan telah terjadi infeksi virus BoHV-1 secara alamiah. Pada periode waktu ke tiga juga dilakukan pengambilan sampel usapan hidung sebanyak 375 untuk identifikasi molekuler menggunakan PCR, hasil amplifikasi gen gB semua sampel didapatkan hasil negatif. Kemudian 210 dari 375 hasil ekstraksi DNA digunakan untuk identifikasi molekuler dengan menggunakan konsensus primer PCR dengan target amplifikasi gen DNA *Terminase*. Empat dari 210 menunjukkan hasil positif PCR dilanjutkan dengan sekuensing. Hasil sekuen sampel yang didapat menunjukkan kemiripan identitas 99–100% terhadap sekuen referensi BoHV-1 dan BoHV-6. Hasil penelitian ini memberikan informasi ilmiah adanya BoHV-1 yang telah beredar di BPTU-HPT Indrapuri.

Kata kunci : BoHV-1, *Alphaherpesvirinae*, IBR

ABSTRAC

Bovine Herpesvirus 1 (BoHV-1), is one of a member of the *Alphaherpesvirinae* sub-family within *Herpesviridae* family, is role of the causative agent of *Infectious Bovine Rhinotracheitis* (IBR), IBR infection causes economic losses to the cattle industries. The viral infection in livestock has been associated with a variety of clinical manifestations such as *rhinotracheitis*, *balanoposthitis*, *vulvovaginitis*, *abortion*, *reduction in milk yield*, *infertility*, and *decrease of birth weights*. IBR disease is one of the most important animal diseases in Indonesia whittin national strategic infectious animal diseases as well as disease that must be eradicated from breeding and artificial insemination centers in Indonesia. The purpose of this study was to strengthen and verify previous tests of BoHV-1 antibody detection by *Enzyme Linked Immunosorbant Assay* (ELISA) method and molecular

identification of BoHV-1 by Polymerase Chain Reaction (PCR) on the target glycoprotein B (gB), the results indicating the possibility presence of BoHV-1 in Aceh cattle in BPTU-HPT Indrapuri. The molecular identification in this study was performed by using consensus primer PCR on the target DNA Terminase gene. Detection of antibodies against BoHV-1 with ELISA was performed in three different time periods, the results of ELISA showed high seropositive (517/537) 96.28%, (633/681) 92.95%, and (668/734) 91.01 %, with condition of nonvaccinated animal status, that indicating of natural presence BoHV-1 virus infection. Simultaneously with the third time period also carried out sampling of the 375 nasal swab to the molecular identification using PCR, gB gene amplification resulted all samples were negative. Then 210 out of 375 DNA extractions were used to the molecular identification by using consensus primer PCR on the target DNA Terminase gene. Four out of 210 nasal swab samples were positive PCR for herpes virus followed by sequencing. The results of positive sample sequence showed a 99-100% identities to the BoHV-1 and BoHV-6 sequences. This study provides scientific information the presence of BoHV-1 that has been circulating in BPTU-HPT Indrapuri.

Key words : BoHV-1, Alphaherpesvirinae, IBR

PENDAHULUAN

Bovine Herpesvirus-1 (BoHV-1) adalah virus DNA anggota dari keluarga *Herpesviridae* bersifat patogen pada ternak sapi yang banyak terjadi pada peternakan skala kecil ataupun skala industri besar. Penyakit ini ditandai dengan gejala klinis saluran pernafasan bagian atas seperti *mucopurulen nasal discharge*, *hyperemia* pada moncong, konjungtivitis, tanda lainnya seperti abortus, neonatal, penurunan produksi susu, fetus dibawah normal, infertilitas dan produktifitas ternak yang menurun secara umum (Muytken *et al.*, 2007; OIE 2010; Yildirim *et al.*, 2011). *Bovine Herpesvirus-1* telah diketahui sebagai penyebab terjadinya penyakit *Infectious Bovine Rhinotracheitis* (IBR), *Infectious Pustular Vulvovaginalis* (IPV) dan *Infectious Pustular Balanoposthitis* (IPB) (Ackermann dan Engels, 2006; Muytken *et al.*, 2007; OIE 2010). Virus IBR telah menyebar secara luas di dunia, tetapi telah diberantas dan bebas pada beberapa negara di Eropa seperti Austria, Denmark, Finlandia, Swedia, Italia, Switzerland dan Norwegia serta diikuti negara-negara lainnya yang aktif pada program pemberantasan penyakit tersebut (OIE 2010).

Model analisa yang dilakukan oleh van Schaik *et al.* (1999). Mengungkapkan bahwa infeksi BoHV-1 pada sapi perah mengakibatkan penurunan rata-rata produksi susu mencapai 0.92 kg/hari/ekor. Menurut Yildirim *et al.* (2011). Virus BoHV-1 juga telah berperan sebagai agen penyebab abortus pada sapi dengan umur kebuntingan trimester pertama dan kedua. Melihat tantangan dan kerugian tersebut, tentu sangat perlu dilakukannya tindakan pecegahan, pengendalian dan pemberantasan penyakit tersebut mulai dari pusat perbibitan sampai ke tingkat peternak kecil. Tindakan surveilans dan monitoring merupakan kegiatan yang sangat penting untuk mengetahui situasi penyakit dilapangan agar deteksi dan identifikasi penyebab baik secara serologi maupun molekuler dapat dilakukan. Hal ini sesuai dengan Keputusan Menteri Pertanian No.4026/kpts/OT.140/4/2013 (2013), tentang penetapan jenis penyakit hewan menular strategis (PHMS)

dan penyakit eksotik menyatakan bahwa IBR merupakan salah satu dari 22 penyakit PHMS dengan pengendalian dan penanggulangannya harus dilakukan oleh pemerintah pusat, pemerintah daerah provinsi, dan pemerintah daerah kabupaten/kota sesuai dengan kewenangannya. Selain itu, IBR merupakan salah satu penyakit yang harus bebas dari pusat perbibitan dan inseminasi buatan (IB) di Indonesia.

Surveilans dan monitoring secara serologis di Indonesia telah dilakukan secara rutin oleh Balai Veteriner (BVet) dan Balai Besar Veteriner (BBVet). Pengujian serologis dilakukan dengan menggunakan metode uji ELISA dari sampel-sampel yang diambil dari peternakan sapi rakyat dan pusat perbibitan. Beberapa hasil pengujian serologis secara rutin terhadap BoHV-1 menunjukkan hasil seropositif yang tinggi yaitu 66.65% (BVet Medan, 2014) dan 51.7% (BVet Bukittinggi, 2014). Deteksi molekuler BoHV-1 pada sapi yang secara klinis terlihat normal dengan menggunakan *nested* PCR pada sampel usap mukosa hidung dan semen yang diambil dari Bandung, Bogor dan Pasuruan, menunjukkan hasil 3.68% (14/381) positif di daerah Bandung dan Bogor dan 16.67% (4/24) positif di daerah Pasuruan (Saepulloh *et al.*, 2008).

Analisis sekuen dan karakteristik molekuler BoHV-1 yang beredar di Indonesia telah dilakukan penelitian sebelumnya. Hasil analisis sekuen dan karakteristik molekuler diketahui bahwa tipe BoHV-1 yang beredar di Indonesia adalah *Bovine Herpesvirus-1.1* (BoHV-1.1) melalui analisis sekuensing dan analisis *phylogenetic* pada gen glikoprotein D (gD) (Saepulloh *et al.*, 2009). Tujuan penelitian ini adalah menguatkan dan pembuktian uji sebelumnya yaitu deteksi antibodi BoHV-1 dengan metode *Enzyme Linked Immunosorbant Assay* (ELISA) dan identifikasi molekuler BoHV-1 dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada gen glikoprotein B (gB) dengan menggunakan konsensus primer PCR dengan target amplifikasi gen DNA *Terminase*.

BAHAN DAN METODA

Koleksi Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari dua jenis sampel yaitu serum dan usapan hidung yang berasal dari sapi Aceh di BPTU-HPT Indrapuri. Serum sapi di ambil dari darah sapi yang di koleksi melalui *vena jugularis* secara individual dengan menggunakan tabung mikro. Usapan hidung dikoleksi dengan melakukan usapan di dalam lubang hidung sapi menggunakan *cotton swab*, usapan hidung kemudian dimasukkan pada *Viral Transport Medium* (VTM).

Pengambilan sampel serum dilakukan tiga periode waktu yang berbeda yaitu Agustus, Juli dan Desember dengan jumlah sampel secara berurutan

yaitu 537, 681 dan 734. Pada periode ketiga pengambilan sampel serum, dilakukan juga pengambilan sampel usapan hidung sebanyak 375 tabung pada VTM. Semua sampel dimasukkan dalam kotak pendingin 4 °C dan dibawa ke laboratorium untuk disimpan pada -40 °C sampai sampel siap digunakan untuk pengujian.

Deteksi antibodi BoHV-1 dengan metode ELISA

Deteksi antibodi terhadap BoHV-1 dari sampel serum menggunakan *Infectious Bovine Rhinotracheitis* virus (BHV-1) gB *Antibody Test Kit* (IDEXX, Liebefeld-Bern, Switzerland) mengikuti panduan perusahaan. Serum uji, kontrol positif dan kontrol negatif sebanyak 50 µl dimasukkan ke dalam sumuran yang sudah diisi 50 µl larutan pencuci sebelumnya dilakukan pengenceran sepuluh kali. cairan dihomogenkan dan di inkubasi pada suhu 37 °C selama dua jam. Aspirasi semua cairan dan cuci dengan larutan pencuci 300 µl setiap sumuran sebanyak lima kali. Setelah sumuran dikeringkan, ditambahkan 100 µl konjugate dalam semua sumuran dan diinkubasi pada suhu 18-26 °C selama satu jam. Sumuran di cuci dan dikeringkan seperti langkah sebelumnya, kemudian ditambahkan 100 µl substrat dalam semua sumuran dan diinkubasi pada suhu 18-26 °C. Selama sepuluh menit larutan penghenti kerja substrat diberikan sebanyak 100 µl pada semua sumuran, kemudian ukur absorbansi sampel dan kontrol pada panjang gelombang 450 nm. Kemudian dilakukan perhitungan dari hasil. Hasil kalkulasi Optical Density (OD) 450 nm masing-masing sampel dilakukan mengikuti pedoman perusahaan (Tabel 1).

Tabel 1 Perhitungan Hasil Pembacaan Sampel Uji ELISA OD 450 nm

	Rataan Kontrol		Kriteria Valid		Sampel
	Positif (PCx)	Negatif (NCx)	(PCx)	(NCx)	Blocking %
Kalkulasi	$\frac{PC1 + PC2}{2}$	$\frac{NC1 + NC2}{2}$	PCx > 80	NCx < 0.5	$\frac{NCxA - \text{Sampel A}}{NCxA} \times 100$

Ekstraksi DNA

Sampel usapan hidung diambil minimal 200 µl digunakan pada proses ekstraksi. DNA virus diisolasi menggunakan QIAamp DNA *Blood mini Kit* (Qiagen, Hilden, Jerman) dengan mengikuti panduan perusahaan. DNA yang diperoleh selanjutnya disimpan pada suhu -40 °C atau dapat digunakan langsung pada pengujian identifikasi molekuler BoHV-1 dengan target gen glikoprotein B dan identifikasi molekuler BoHV-1 dengan konsensus primer PCR dengan target gen DNA *Terminase*.

Identifikasi Molekuler BoHV-1 dengan Target Gen Glikoprotein B

Identifikasi molekuler BoHV-1 dilakukan dengan metode Real-Time PCR, amplifikasi dilakukan pada gen Glikoprotein B dengan menggunakan sepasang primer yaitu Forward 5'-TGTGGACCTAAACCTCACGGT-3' dan Reverse Forward 5'-GTAGTCGAGCAGACCCG TGTC-3'. Proses amplifikasi dilakukan pada mesin real Time-PCR (7500 Real-Time PCR System, Applied Biosystem, USA). Proses PCR didalam mesin meliputi predenaturasi DNA 50 °C selama 2 menit, denaturasi DNA 95 °C selama 2 menit, *annealing* 95 °C selama 15 detik dan elongasi 60 °C selama 45 detik, proses tersebut diulang sebanyak 45 siklus dan diakhiri dengan elongasi akhir 45 °C selama 10 menit.

Identifikasi Molekuler BoHV-1 dengan Konsensus Primer PCR

Amplifikasi gen DNA *Terminase* dilakukan dengan *nested* PCR menggunakan *degenerate primer* pada protokol PREDICT (Anthony *et al.*, 2013). Identifikasi molekuler dilakukan dengan menggunakan primer sebanyak 2 pasang yaitu TS-TERM-707s 5'-TTGTGGACGAGRSIMAYTT YAT-3', TS-TERM-707as 5'-ACAGCCACGCCNGTICCGAIGC-3' pada tahap pertama dan TS-TERM-708s 5'-GCAAGATCATNTTYRTITCITC-3' dan TS-TERM-708as 5'-TGTTGGTCGTRWAIGCIGGRT-3'. Amplifikasi menggunakan mesin PCR (Veriti *Thermal Cycler*, Applied Biosystem, USA) mengacu pada Chmielewicz *et al.* (2001). Proses amplifikasi diawali dengan predenaturasi DNA pada suhu 94 °C selama 2 menit, kemudian dilanjutkan dengan proses sebanyak 45 siklus yaitu denaturasi 94 °C selama 30 detik, *annealing* 48 °C selama 60 detik dan elongasi 72 °C selama 60 detik. Amplifikasi diakhiri dengan elongasi akhir 72 °C selama 7 menit. Prosedur ini digunakan untuk amplifikasi PCR tahap pertama maupun tahap kedua. Elektroforesis menggunakan gel agarosa 1.8 % yang ditambahkan etidium bromida (EtBr) dengan konsentrasi 1 µg/ml dan marker DNA 100 bp (Vivantis, Malaysia). Selanjutnya hasil elektroforesis divisualisasi dengan *GelDoc* pada program Quantity One (BioRad).

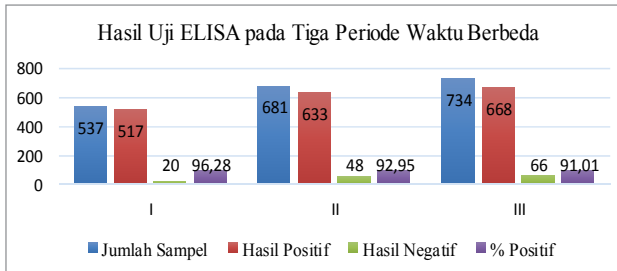
Sekuensing dan Analisis Molekuler

Hasil PCR positif dari konsensus primer dilanjutkan dengan sekuensing untuk diketahui runutan nukleotidanya. Hasil sekuensing kemudian dianalisis menggunakan aplikasi MEGA 6 (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis 6*) (Tamura *et al.*, 2013). Sekuen yang telah diperoleh dilakukan persejajaran dengan menu *Clustalw*. Hasil persejajaran dilanjutkan dengan penelusuran identitas (% *identity*) pada program *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) (McGinnis dan Madden, 2004).

HASIL

Hasil Deteksi antibodi terhadap BoHV-1 dengan ELISA

Deteksi antibodi terhadap BoHV-1 dengan menggunakan ELISA dilakukan pada tiga periode waktu yang berbeda, hasil kalkulasi Optical Density (OD) 450 nm masing-masing sampel dilakukan mengikuti pedoman pada Tabel 1. Hasil kalkulasi adanya antibodi pada sampel serum dinyatakan positif jika Blocking % antibodi ≥ 55 dan dinyatakan negatif jika Blocking % antibodi < 45 . Hasil uji ELISA Pada tiga periode berturut-turut menunjukkan seropositif yang tinggi (Gambar 1).



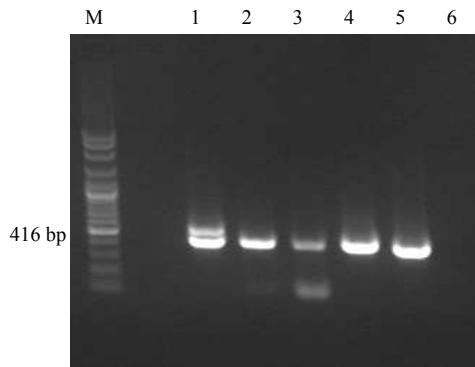
Gambar 1 Hasil Deteksi antibodi terhadap BoHV-1 dengan uji ELISA dengan pengambilan sampel tiga periode waktu berbeda pada sapi Aceh di BPTU-HPT Indrapuri.

Amplifikasi pada Gen Glikoprotein B dan Gen DNA *Terminase*

Deteksi molekuler BoHV-1 pada sampel usapan hidung dengan Real-Time PCR menggunakan target glikoprotein B, pemeriksaan yang dilakukan pada 375 tabung sampel usapan hidung menghasilkan negatif pada seluruh sampel yang di uji. Selanjutnya hasil ekstraksi DNA pada pengujian pertama digunakan untuk pengujian konsensus PCR sebanyak 210 tabung dari 375 tabung.

Amplifikasi konsensus PCR pada gen DNA *Terminase* virus dengan menggunakan primer TS-TERM-708s dan TS-TERM-708as didapatkan pita positif dengan ukuran sekitar 416 bp. Sebanyak empat sampel menunjukkan hasil pita positif terhadap keluarga virus herpes setelah dilakukan validasi terhadap kontrol positif uji menunjukkan hasil yang sama adanya pita positif (Gambar 2). Hasil ini kemudian dilakukan sekuensing untuk dianalisis spesies dari virus herpes tersebut.

Hasil PCR pada Target DNA *Terminase*



Gambar 2. Hasil Konsensus PCR dengan target amplifikasi DNA *Terminase*.
M : Marker, 1 : DIC 1.1, 2 : DIC 1.2, 3 : DIC 1.6, 4 : DIC 1.7, 5 : Kontrol Positif, 6 : NTC

Analisa Molekuler Gen DNA *Terminase*

Hasil Analisa molekuler dari hasil sekuensing gen DNA *Terminase* ditemukan kemiripan terhadap dua kelompok subkeluarga yaitu *Alphaherpesvirinae* dan *Gammaherpesvirinae*. Setelah dilakukan analisa lebih lanjut, subkeluarga *Gammaherpesvirinae* mempunyai kemiripan terhadap genus *Macavirus*, sedangkan subkeluarga *Alphaherpesvirinae* mempunyai kemiripan terhadap genus *Varicellovirus* (Tabel 2).

Tabel 2 Hasil Analisa Sekuen pada gen DNA *Terminase*

No	Sampel	Hasil PCR	Hasil BLAST	
			Sub Keluarga	Genus
1	DIC 1.1	Positif	<i>Alphaherpesvirinae</i>	<i>Varicellovirus</i>
2	DIC 1.2	Positif	<i>Alphaherpesvirinae</i>	<i>Varicellovirus</i>
3	DIC 1.6	Positif	<i>Gammaherpesvirinae</i>	<i>Macavirus</i>
4	DIC 1.7	Positif	<i>Alphaherpesvirinae</i>	<i>Varicellovirus</i>

PEMBAHASAN

Deteksi antibodi terhadap BoHV-1 dengan ELISA

Deteksi antibodi terhadap BoHV-1 dengan menggunakan ELISA telah dilakukan pada tiga periode waktu yang berbeda, jarak pengambilan sampel serum antara periode adalah enam bulan sampai satu tahun, sampel yang diambil dari semua kategori ternak sapi yaitu indukan, pejantan dan dara. Hasil ELISA berturut-turut menunjukkan seropositif yang tinggi yaitu

(517/537) 96.28%, (633/681) 92.95%, dan (668/734) 91.01%, berdasarkan informasi yang didapatkan bahwa BPTU-HPT Indrapuri merupakan pusat perbibitan yang belum melakukan program vaksinasi terhadap BoHV-1 (IBR). Pada kondisi hewan dengan status nonvaksinasi tetapi positif antibodi yang tinggi mengindikasikan telah terjadi infeksi virus BoHV-1 secara alamiah pada ternak di pusat perbibitan. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa peternakan sapi yang tidak menunjukkan gejala klinis dengan status nonvaksinasi menunjukkan hasil positif terhadap adanya BoHV-1 melalui uji serologis dan identifikasi molekuler (Mahajan *et al.*, 2013).

Analisa Molekuler Gen Glikoprotein B dan Gen DNA *Terminase*

Hasil amplifikasi gen glikoprotein B Real-Time PCR menghasilkan produk PCR negatif pada seluruh sampel yang di uji, melihat kondisi tersebut perlu dilakukan pendeteksian molekuler dengan menggunakan konsensus PCR yang dapat mendeteksi virus herpes tidak hanya pada tingkat genus tetapi dapat mendeteksi virus herpes pada tingkat keluarga. Penggunaan Konsensus PCR berhasil mengamplifikasi gen DNA *Terminase* dengan didapatkannya pita positif sekitar 416 bp (Gambar 2). Hasil ini sesuai penelitian sebelumnya deteksi virus herpes dengan menggunakan primer *degenerate* konsensus PCR pada target DNA *Terminase* menghasilkan produk PCR dengan kisaran panjang 419 bp (Chmielewicz *et al.*, 2001).

Menurut Saepulloh *et al.* (2009), *identity matrix* BoHV-1 isolat Indonesia berkisar antara 98.8 – 100 % dengan virus referensi *Bovine herpesvirus 1 strain Cooper*. Hal ini sesuai dengan hasil analisis identitas sekuen sampel gen DNA *Terminase* dengan menggunakan BLAST menunjukkan 99 – 100 % sekuen sampel identik terhadap sekuen virus referensi yaitu BoHV-1. Nilai tersebut merupakan persen identitas tertinggi dengan nilai *query cover* sebesar 100 % jika dibandingkan dengan sekuen virus referensi yang ada di *database GenBank* (Tabel 3). Dari data tersebut mengindikasikan bahwa sekuen sampel identik dengan sekuen virus referensi.

Tabel 3 Keidentikan sekuen sampel gen DNA *Terminase* dan virus referensi

Sampel	Virus Referensi	BLAST	No Akses
	<i>Bovine herpesvirus 1 strain Cooper</i>	100	KU198480.1
	<i>Bovine herpesvirus type 1.2 strain SP1777</i>	100	KM258883.1
	<i>Bovine herpesvirus type 1.2 strain SM023</i>	100	KM258882.1
DIC 1.1,	<i>Bovine herpesvirus type 1.2 strain K22</i>	100	KM258880.1
DIC 1.2,	<i>Bovine herpesvirus type 1.1 isolate NVSL</i>	100	JX898220.1
DIC 1.7	<i>Bovine herpesvirus type 1.1</i>	100	AJ004801.1
	<i>Bovine herpesvirus type 1 Cooper</i>	100	Z48053.1
	<i>Bovine herpesvirus type 1.2 strain B589</i>	99	KM258881.1
	<i>Bovine alphaherpesvirus 1 isolate 216 II</i>	99	KY215944.1
DIC 1.6	<i>Bovine herpesvirus 6 Pennsylvania 47</i>	99	KJ705001.1

Hasil menarik lainnya yaitu ditemukannya sekuen sampel yang mempunyai nilai identitas 99 % terhadap BoHV-6 sebagai sekuen virus referensi. BoHV-6 merupakan anggota subkeluarga *Gammaherpesvirinae* berkedudukan satu genus dengan *Alcelaphine herpesvirus 1* (AIHV-1) yang merupakan penyebab penyakit *Malignant Catarrhal Fever* (MCF) dari genus *Macavirus*. Hal ini mengindikasikan keberadaan virus BoHV-1 dan BoHV-6 secara molekuler telah beredar di BPTU-HPT Indrapuri agar dapat diwaspadai. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa gen DNA *Terminase* mampu mendeteksi virus herpes baik pada lintas hewan dan lintas spesies (Kurobe *et al.*, 2008; Kleiboeker *et al.*, 2002; VanDevanter *et al.*, 1996).

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil ELISA dengan seropositif tinggi pada sapi nonvaksinasi dalam tiga periode waktu berbeda yaitu (517/537) 96.28%, (633/681) 92.95% dan (668/734) 91.01%, mengindikasikan telah terjadi infeksi virus BoHV-1 secara alamiah pada ternak. Pengujian dan analisa molekuler dengan konsensus PCR tidak hanya mampu mendeteksi sekuen yang identik dengan BoHV-1, tetapi juga mampu mendeteksi BoHV-6. Kemampuan deteksi molekuler multispecies pada anggota keluarga *Herpesviridae* memberikan informasi ilmiah untuk dapat ditindaklanjuti dengan melakukan isolasi dan karakterisasi tingkat lanjut serta kewaspadaan dini adanya potensi *emerging diseases*. Kebijakan vaksinasi merupakan opsi pilihan yang dapat digunakan untuk pembebasan BoHV-1.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis tujukan kepada PREDICT yang telah

mendanai penelitian dan mengizinkan penggunaan protokol PREDICT, Drh Sintong HMT Hutasoit, MSi sebagai Kepala Balai Veteriner Medan dan Dr Drh Joko Pamungkas, MSc sebagai Direktur Pusat Studi Satwa Primata, Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat IPB (PSSP-LPPM IPB) atas bantuan dan fasilitas yang telah diberikan selama penelitian. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada seluruh staf Laboratorium Virologi dan Bioteknologi Balai Veteriner Medan dan kepada seluruh staf Laboratorium Bioteknologi PSSP-LPPM IPB atas bantuan dan pendampingan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ackermann M, Engels M. 2006. Pro and contra Infectious Bovine Rhinotracheitis Eradication. *Vet Microbiol.* 113:293–302.
- Anthony SJ, Goldstein T, Rejmanek D, Sanchez M.D, Seimon T, Fair J, Schneider B, Epstein J, Lipkin I. 2013. Laboratory Protocols for PREDICT Surveillance. USAID-PREDICT. 2(3):2013.
- [BVet Bukittinggi] Balai Veteriner Bukittinggi (ID). 2014. Kegiatan Penanggulangan Penyakit Reproduksi pada Sapi Potong. *Laporan Pelaksanaan Kegiatan No.530-2014*. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian Republik Indonesia.
- [BVet Medan] Balai Veteriner Medan (ID). 2014. Kegiatan Penanggulangan Penyakit Hewan Menular Strategis. *Laporan Pelaksanaan Kegiatan Tahun 2014*. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian Republik Indonesia.
- [Kementan] Kementerian Pertanian Republik Indonesia (ID). 2013. Keputusan Menteri Pertanian No.4026/kpts/OT.140/4/2013 tentang penetapan jenis penyakit hewan menular strategis, Kementerian Pertanian Republik Indonesia.
- Kleiboeker SB, Miller MA, Schommer SK, Ramos-Vara JA, Boucher M, Turnquist SE. 2002. Detection and multigenic characterization of a herpesvirus associated with malignant catarrhal fever in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) from Missouri. *J Clin Microbiol.* 40 (4):1311–1318.
- Kurobe T, Kelley GO, Waltzek TB, Hedrick RP. 2008. Revised phylogenetic relationships among herpesviruses isolated from sturgeons. *J Aquat Anim Health.* 20 (2):96–102.

- Mahajan V, Banga HS, Deka D, Filia G, Gupta A. 2013. Comparison of diagnostic tests for diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis in natural cases of bovine abortion. *J Com Path*, 149(4), 391-401.
- McGinnis S, Madden TL. 2004. BLAST: at the core of a powerful and diverse set of sequence analysis tools. *Nucleic Acids Res*. 32(2):W20–25.
- Muylkens B, Thiry J, Kirten P, Schynts F, Thiry E. 2007. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Vet Res*. 38(2):181–209.
- [OIE] Office International des Epizooties (FR). 2010. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals : Infectious Bovine Rhinotracheitis/ Infectious Pustular Vulvovaginitis. Chapter 2.4.13.
- Saepulloh M, Adjid RM, Wibawan IWT. 2008. Pengembangan Nested PCR untuk Deteksi Bovine herpesvirus-1 (BHV-1) pada Sediaan Usap Mukosa Hidung dan Semen asal Sapi. *JITV*. 13(2):155–164.
- Saepulloh M, Setyaningsih S, Sajuthi D, Wibawan IWT. 2009. Karakteristik molekuler Bovine Herpesvirus type 1 isolat Indonesia. *JITV*. 14(1)66–74.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipinski A, Kumar S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*. 30(12):2725–2729.
- VanDevanter DR, Warrener P, Bennett L, Schultz ER, Coulter S, Garber RL, Rose TM. 1996. Detection and analysis of diverse herpesviral species by consensus primer PCR. *J Clin Microbiol*. 34(7):1666–1671.
- VanSchaik G, Shoukri M, Martin SW, Schukken YH, Nielen M, Hage JJ, Dijkhuizen AA. 1999. Modeling the effect of an outbreak of bovine herpesvirus type 1 on herd-level milk production of Dutch dairy farms. *J Dairy Sci*. 82(5):944–952.
- Yildirim Y, Yilmaz V, Kalaycioglu AT, Dagalp SB, Majarashin AR, Celebi O, Akca D. 2011. An investigation of a possible involvement of BVDV, BHV-1 and BHV-4 infections in abortion of dairy cattle in Kars district of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 17:879–883.