

IDENTIFIKASI VIRUS *CLASSICAL SWINE FEVER* PADA BABI DI PROVINSI SUMATERA UTARA TAHUN 2016

Faisal¹, Gantiah¹ dan Sintong HMT Hutasoit¹

¹Balai Veteriner Medan
faisal.dvm@gmail.com

ABSTRAK

Classical swine fever (CSF) virus adalah virus yang menginfeksi ternak babi dan merugikan secara ekonomi karena tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Propinsi Sumatera Utara merupakan salah satu sentral peternakan babi terbesar di Indonesia untuk itu perlu dilakukan monitoring penyakit pada ternak babi dan salah satunya adalah CSF. Studi ini bertujuan melakukan identifikasi dan distribusi virus CSF di Sumatera Utara. Sebanyak 816 darah (EDTA) dari 285 pemilik (farm) berhasil dikoleksi dari 20 Kabupaten/Kota di Sumatera Utara pada tahun 2016. Hasil pemeriksaan sampel secara qRT-PCR tahun 2016 ditemukan 61 sampel positif virus CSF yang tersebar di 9 kabupaten. Sebanyak 8 sampel berhasil di sekuen pada gen E2 secara parsial. Filogram yang dibentuk menggunakan software MEGA 7.0 dan Beast 1.8 kedelapan sekuen tersebar dalam 3 genotipe virus CSF. Hal ini menandakan virus CSF yang ada di Sumatera Utara kemungkinan telah mengalami divergenitas genetik dan mempunyai turunan virus yang berbeda-beda. Kajian terbatas perlu dilakukan dalam hal penentuan jenis vaksin yang beredar di Sumatera Utara berkaitan ditemukannya berbagai genotipe virus CSF di Sumatera Utara.

Kata Kunci: RT-PCR, Sekuen E2, CSF, Sumatera Utara

PENDAHULUAN

Classical swine fever (CSF) adalah penyakit viral pada babi yang sangat menular di seluruh dunia (Fenner *et al.*, 1993). *Classical swine fever* disebabkan oleh virus RNA dengan genus *Pestivirus* famili *Flaviviridae* (Wengler *et al.*, 1995). Epidemi CSF biasanya menyebabkan angka kesakitan dan kematian tinggi pada daerah padat populasi, untuk infeksi dengan virulensi rendah dapat tidak teramati (Meuwissen *et al.*, 1999, Dulac, 2004). Secara imunologis dan genetik virus CSF mempunyai hubungan antigenik yang dekat dengan *Bovine viral diarrhea virus* (BVDV) dan *Border disease virus* (BDV). Kedua virus ini termasuk genus *Pestivirus*.

Uji konfirmasi dari laboratorium pada kasus yang diduga CSF adalah sangat penting terutama untuk mendeteksi agen penyebab atau pengukuran titer antibodi (Depner *et al.*, 1994, Elbers *et al.*, 2002). Deteksi virus CSF dapat dilakukan dengan *reverse transcriptase polymerase chain* (RT-PCR) dan teknik ini telah dikembangkan untuk mendeteksi virus CSF pada darah (Chen *et al.*, 2009; Risatti *et al.* 2003). Pemeriksaan secara laboratorium dilakukan untuk mengeliminasi babi terinfeksi virus, mengetahui babi kontak dengan virus, dan pemeriksaan sebelum dilakukan *slaughter* telah terbukti menjadi penting dalam penyelidikan epidemiologi CSF (Koenen *et al.*, 1996; Mintiens *et al.*, 2001).

Di Indonesia CSF dilaporkan pertama kali tahun 1994 di Sumatera dan menyebar ke Jawa tahun 1995 dan Papua tahun 2004 (DAFF, 2008). Di Sumatera Utara peternakan babi merupakan salah satu kekuatan ekonomi keluarga. Ternak babi berdampak secara finansial, adat dan social. Adanya morbiditas dan mortalitas pada ternak babi berdampak terhadap perekonomian masyarakat. Studi ini memberikan data tentang identifikasi dan sebaran penyakit CSF pada peternakan babi di Provinsi Sumatera Utara.

MATERI DAN METODA

Sebanyak 816 darah (EDTA) berhasil dikoleksi dari tahun 2016 yang berasal dari monitoring Hog Cholera dan investigasi kasus kematian babi. Sebanyak sembilan dari 20 kab/kota positif CSF tahun 2016. Delapan sampel berhasil disekuens parsial pada gen E2.

Primer

Amplifikasi target dan sekuensing parsial gen E2 menggunakan sepasang primer primer forward 5'-GCTCCTGGTTGGTAACCTCGG-3' dan reverse 5'-TGATGCTGTCACACAGGTGAA-3'.

RT PCR

Bahan isolasi RNA menggunakan *PureLink™ micro-to-Midi Total RNA purification system* (Invitrogen). Master mix RT-PCR menggunakan *Taq Superscript™ III Polymerase* (Invitrogen). Program PCR yang dipakai adalah 48°C, 30 menit (1 siklus), predenaturasi 94°C, 2 menit (1 siklus), denaturasi 94°C, 30 detik, annealing 50°C, 30 detik, ekstension 68°C, 40 detik (40 siklus) dan ekstension akhir suhu 68°C, 5 menit (1 siklus). Bahan untuk elektroforesis menggunakan *agarose* (Invitrogen), TBE 10X (Invitrogen) dan Ethidium Bromida.

DNA sequencing

Hasil produk PCR dimurnikan dan disekuensing menggunakan Big Dyes TN Kits (Applied Biosystems, USA) dan ABI PRISMA 3700 DNA Analyzer. Setiap sampel di sekuensing dalam dua arah yaitu forward dan reverse.

Data Analisis

Filogram dibuat dengan menggunakan *molecular evolution genetics analysis* (MEGA) versi 7.0. (Tamura *et al.*, 2013). Rekontruksi filogeni menggunakan *neighbor joining* dengan model Kimura 2 parameter dan jarak genetik di hitung juga menggunakan model Kimura 2 parameter (Kimura, 1980). Bootstrap pada rekontruksi filogenetik memakai 1000x pengulangan

(Felsenstein, 1985). Untuk mengetahui asal usul virus digunakan analisis BEAST *software* 1.8.

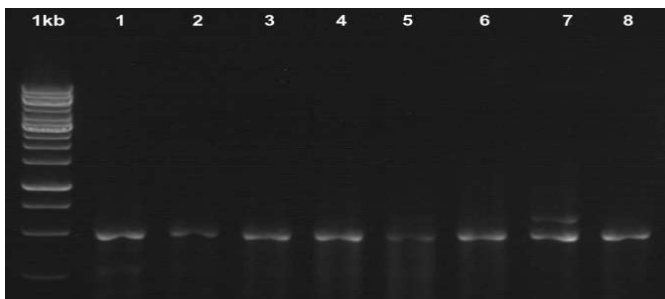
HASIL

Hasil uji qRT-PCR pada sampel tahun 2016 didapatkan 61 sampel positif dari 816 sampel virus CSF tersebar di 9 kabupaten/kota yaitu, Tapanuli Utara, Karo, Dairi, Pak Pak Bharat, Simalungun, Langkat, Binjai, Deli Serdang, dan Nias Barat. Gejala klinis yang terlihat adalah, babi menunjukkan depresi dan anoreksia, suhu tubuh tinggi dan dijumpai adanya perdarahan pada hidung, eritema kuping selain itu dijumpai diare, konstipasi, dan ada bintik merah di tubuh serta konjungtifitis (Gambar 1).



Gambar 1. Gejala klinis dan PA. A. bintik merah (eritema), B. Perdarahan di limfoglandula usus

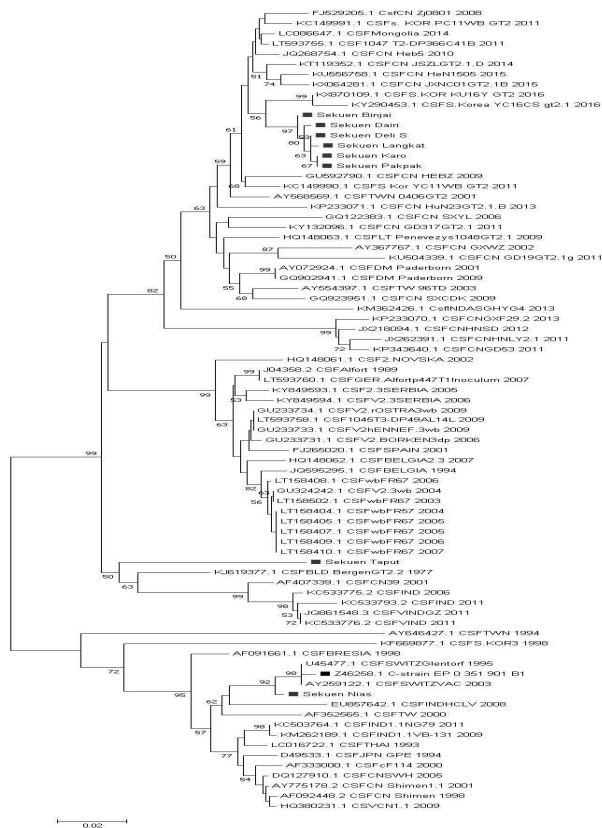
Delapan sampel berhasil disekuen secara parsial pada gen E2. Hasil elektroforesis ke delapan sampel dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil elektroforesis delapan sampel positif CSF. Semua sampel menunjukkan pita disekitar 507 bp. Nomor 1-8 adalah Dairi, PhakPhak, Deli Serdang, Karo, Binjai, Langkat, Taput dan Nias Barat. Marker adalah 1 kb.

Rekonstruksi filogenetik menggunakan MEGA 7.0 pada 79 sekuen parsial E2 memperlihatkan 8 virus CSF Sumatera Utara terdistribusi menjadi tiga grup (Gambar 3). Grup pertama ditempati oleh satu virus asal Nias Barat

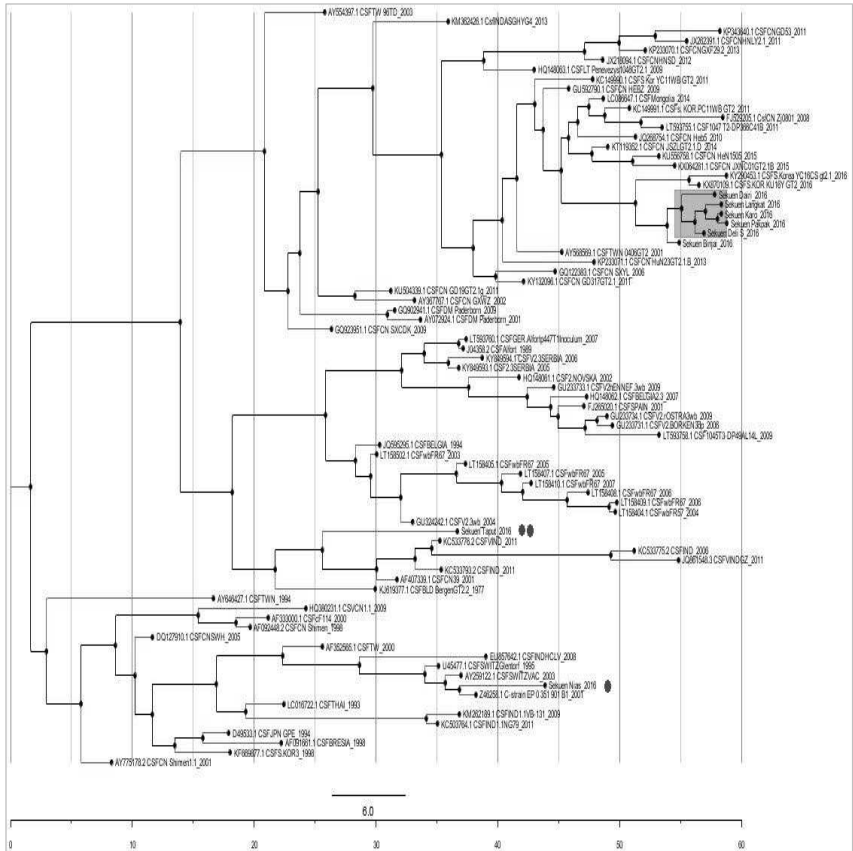
yang satu grup dengan virus vaksin dari Switserland (AY259122.1) dan vaksin C Strain EP 0351901 (Z46258.1). Grup virus ini termasuk ke dalam genotipe 1 virus CSF. Pada grup kedua ada satu virus asal Taput yang berkelompok dengan virus Belanda tahun 1977 (KJ619377.1), virus Cina tahun 2001 (AF407339.1) dan virus India tahun 2006 (KC533775.2). Kelompok virus ini termasuk ke genotipe 2.2 virus CSF. Terakhir adalah grup 3 dimana terdapat enam virus yaitu, virus asal Binjai, Dairi, Deli Serdang, Langkat, Karo dan Pakpak Bharat yang mengelompok dengan virus Korea Selatan tahun 2016 (KX870109.1 dan KY290453.1). Virus virus ini termasuk ke dalam genotipe 2.1 virus CSF.



Gambar 3. Filogram sekuen parsial E2 CSF dengan virus referens. Virus lokal (merah) terdistribusi menjadi tiga grup. Rekonstruksi filogeni dengan *neighbor joining* memakai MEGA 7, bootsrap 1000 kali dengan model Kimura 2 parameter

Untuk mengetahui asal dari virus CSF di Sumatera Utara dapat dianalisis dengan program *Bayesian Evolutionary Analysis by Sampling Trees* (BEAST). Gambaran filogeni secara BEAST 1.8 dapat dilihat pada Gambar 4, terlihat virus lokal terdistribusi menjadi tiga grup yang sama seperti

filogram menggunakan MEGA 7.0. Filogeni BEAST jelas menunjukkan bahwa grup virus Sumatera Utara terbagi menjadi 3 turunan virus.



Gambar 4. Filogram gen E2 parsial virus CSF dengan Bayesian MCMC, analisis memakai BEAST software 1.8. Virus Sumatera Utara terbagi menjadi tiga grup (merah titik satu dan dua serta tanda biru)

Virus Nias Barat merupakan turunan grup pertama virus ini menginduk ke virus vaksin Switzzeland (AY259122.1) atau vaksin C Strain EP 0351901 (Z46258.1). Grup kedua, virus Taput terlihat merupakan turunan dari virus Cina tahun 2001 (AF407339.1) virus ini mengelompok dengan virus Belanda tahun 1977 (KJ619377.1) dan virus India tahun 2006 (KC533775.2). Grup ketiga diisi oleh enam virus dan terlihat virus ini turunan dari virus Korea Selatan tahun 2016 (KX870109.1 dan KY290453.1).

PEMBAHASAN

Secara imunologis dan genetik virus CSF mempunyai hubungan antigenik yang dekat dengan *Bovine viral diarrhea virus* (BVDV) dan *Border disease virus* (BDV). Kedua virus ini termasuk genus Pestivirus. Homologi sekuen nukleotida ke dua virus ini berkisar 66% dan asam amino sebesar 85% dengan virus CSF. Uji konfirmasi dari laboratorium pada kasus yang diduga CSF adalah sangat penting terutama untuk mendeteksi agen penyebab atau pengukuran titer antibodi (Depner *et al.*, 1994, Elbers *et al.*, 2002).

Babi terinfeksi mengeluarkan virus melalui leleran hidung, air liur, urin dan kotoran (Paton and Wilke, 2003). Pemeriksaan secara laboratorium dilakukan untuk mengeliminasi babi terinfeksi virus, mengetahui babi kontak dengan virus, dan pemeriksaan sebelum dilakukan *slaughter* telah terbukti menjadi penting dalam penyelidikan epidemiologi CSF (Koenen *et al.*, 1996; Mintiens *et al.*, 2001).

Gold standar untuk diagnosa CSF dilakukan pada isolasi virus, Uji serologi untuk mendiagnosa CSF dapat menghasilkan hasil yang membingungkan karena antibodi yang dideteksi dapat merupakan antibodi dari virus lain (*cross reaction*) seperti Bovine Viral Diarrhoea atau *Border Disease Virus* (Terpstra and Wensvoort, 1997). Untuk mengatasi hal tersebut, uji RT-PCR dapat dilakukan dalam diagnosa CSF.

Munculnya wabah CSF dapat disebabkan oleh, tekanan dari sistem peternakan babi tradisional yang semi profesional, tingkat kepadatan peternakan yang tinggi, pengaruh musim, tekanan imunologis dari multi hospes (strain babi), dan penggunaan vaksin yang tidak tepat dapat memicu timbulnya mutasi dan menimbulkan wabah Hog Cholera. Tingginya suhu yang terjadi di Sumatera Utara tahun 2015 dan berlanjut ke tahun 2016 diduga sebagai salah satu penyebab munculnya wabah CSF.

Hasil filogram dengan MEGA 7.0 dan Beast 1.8 menunjukkan virus di Sumatera Utara sudah terbagi menjadi 3 genotipe virus CSF yaitu genotipe 1, 2.1, dan 2.2. Dinamika virus ini tentunya harus ditanggapi secara serius, karena pencegahan dan pengendalian virus CSF di Indonesia menggunakan vaksin CSF strain C dari Cina. Virus vaksin strain C ini berada pada genotipe 1 virus CSF. Perlu dilakukan kajian apakah virus vaksin strain- C Cina ini masih mampu untuk merangsang kekebalan optimal jika hewan terinfeksi virus CSF dari genotipe lainnya.

Strain vaksin yang beredar sebagai upaya pengendalian penyakit CSF di Indonesia adalah strain Cina, Kitasato, GPE, dan LOM. Banyaknya jenis vaksin yang beredar tentunya perlu dikaji ulang, apakah vaksin ini sudah sesuai dengan tingkat kebutuhan dari para peternak atau hanya sebagai pemicu munculnya strain baru yang nantinya akan merugikan para peternak

sendiri. Pemerintah dalam hal ini tentunya harus membuat kajian-kajian untuk kepentingan peternak dan pemerintah sendiri.

Seperti kita ketahui bersama penanggulangan wabah CSF di tangani dengan melakukan vaksinasi. Pencegahan yang efektif untuk mengatasi penyakit CSF adalah vaksinasi dan *stamping out* (Subronto, 2003). Hasil pengamatan Biront *et al*, (1987) menunjukkan bahwa kekebalan atau antibodi yang terbentuk akibat vaksinasi bukan hanya mampu melindungi babi dari terjadinya penyakit tetapi juga mampu mencegah replikasi virus di dalam tonsil atau tubuh babi. Ini berarti, vaksinasi dapat memotong rantai penyebaran virus. Selain itu vaksin ini aman untuk dipakai.

KESIMPULAN DAN SARAN

Telah terjadi diversitas genetik dari virus CSF yang beredar di Sumatera Utara. Virus yang beredar terbagi menjadi tiga bagian yakni, virus genotipe 1, 2.1, dan 2.2. dari virus CSF dunia. Perlu dilakukan kajian tentang penggunaan vaksin strain- C Cina yang termasuk pada virus genotipe 1, apakah masih mampu membuat kekebalan yang optimal terhadap infeksi dari virus CSF dari genotipe lainnya. Pemerintah perlu mengkaji kebijakan jenis vaksin yang dipakai terutama di Sumatera Utara sehubungan dengan banyaknya jenis vaksin yang beredar.

LIMITASI

Analisis dinamika virus CSF di Sumatera Utara sedapatnya dilakukan dengan menganalisis genom lengkap dari virus sehingga data yang dihasilkan dapat optimal dan kesimpulan lebih jelas. Namun keterbatasan dana sehingga analisis ini dilakukan hanya secara parsial, mungkin kedepan bisa dianggarkan lebih baik lagi.

DAFTAR PUSTAKA

- Biront , P., Leunen, J and Vandeputte, J. 1987. Inhibition of virus replication in the tonsils of pigs previously vaccinated with a Chinese strain vaccine and challenged oronasally with a virulent strain of classical swine fever virus, *Vet. Microbiol*, 14: pp. 105–113.
- Chen, H.T., Zhang,J., Ma,L.N., Ma,Y.P., Ding, Y.Z., Liu, X.T., Chen, L., Ma.L.Q., Zhang.Y.G., and Liu, Y.S. 2009. Rapid pre-clinical detection of classical swine fever by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. *Molecular and Cellular Probes* 23:71–74

- Departemen of Agriculture, Fisheries and Forestry (DAFF), 2008. Classical Swine Fever. Departemen of Agriculture, Fisheries and Forestry. Australia. <http://www.daff.gov.au/animal-plant-health/pests-diseases-weeds/animal/swine-fever>.
- Depner, K., Gruber, A., Liess, B., 1994. Experimental infection of weaner pigs with a field isolate of hog cholera/classical swine fever virus derived from a recent outbreak in Lower Saxony. 1: *Clinical, virological and serological findings*. Wien. Tierärztl. Mschr. 81, 370–373.
- Dulac, G.C. 2004. Hog Cholera. http://www.vet.uga.edu/vpp/gray_book/Handheld/hoc.htm (diunduh 3 Mei 2017)
- Elbers, A.R., Bouma, A., Stegeman, J.A., 2002. Quantitative assessment of clinical signs for the detection of classical swine fever outbreaks during an epidemic. *Vet. Microbiol.* 85, 323–332.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Fenner F.J, Gibbs E.P.J, Murphy F.A, Rott R, Studdert M.J, White D.O. 1993. *Veterinary Virology 2nd Ed*. Academic Press, San Diego, California, USA.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16:111-120.
- Koenen, F., G. Van Caenegem, J. P. Vermeersch, J. Vandenheede, and H. Deluyker, 1996: Epidemiological characteristics of an outbreak of classical swine fever in an area of high pig density. *Vet. Rec.* 139, 367–371.
- Kumar S., Stecher G., and Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33:1870-1874.
- Meuwissen, M.P., Horst, S.H., Huirne, R.B., Dijkhuizen, A.A., 1999. A model to estimate the financial consequences of classical swine fever outbreaks: principles and outcomes. *Prev. et. Med.* 42, 249–270.
- Mintiens, K., H. Deluyker, H. Laevens, F. Koenen, J. Dewulf, A. De Kruif. 2001. Descriptive epidemiology of a classical swine fever outbreak in the Limburg province of Belgium in 1997. *J. Vet. Med.* B 48, 143-149.

- Paton, D.J., and Wilke, I.G. 2003. Classical swine fever - an update. *Res Vet Sci* 75:169–178.
- Risatti, G. R., J. D. Callahan, W. M. Nelson, and M. V. Borca. 2003. Rapid detection of classical swine fever virus by a portable real-time reverse transcriptase PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* 41:500–505.
- Subronto. 2003. Ilmu Penyakit Ternak (Mamalia). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Terpstra, C and Wensvoort, G. 1997. A congenital persistent infection of bovine virus diarrhoea virus in pigs: clinical, virological and immunological observations,” *Vet Q*, vol. 19, no. 3, pp. 97–101, View at Google Scholar · View at Scopus
- Wengler, G., Bradley, D.W., Collett, M.S., Heinz, F.X., Schlesinger, R.W., Strauss, J.H., 1995. Flaviviridae. In: Murphy, F.A., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Ghabrial, S.A., Jarvis, A.W., Martelli, G.P., Mayo, M.A., Summers, M.D. (Eds.), *Virus Taxonomy. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Springer Verlag*, New York, pp. 415–427.