

PENYAKIT *INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS* PADA SAPI DI INDONESIA DAN STRATEGI PENGENDALIANNYA

R.M. ABDUL ADJID dan M. SAEPULOH

Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. R.E. Martadinata No. 30, Bogor 16114

(Makalah diterima 27 Oktober 2009 – Revisi 8 Pebruari 2010)

ABSTRAK

Penyakit *Infectious Bovine Rhinotracheitis* (IBR) yang disebabkan oleh *Bovine herpesvirus-1* (BHV-1) diketahui telah menyerang ternak sapi di Indonesia dengan sebaran penyakit cukup luas. Penyakit ini telah menginfeksi ternak sapi di pusat-pusat perbibitan, inseminasi buatan (IB) ternak dan peternakan rakyat. Penyakit IBR yang bersifat infeksius ini dapat mengakibatkan kerugian ekonomi yang tidak sedikit, terutama karena mengganggu sistem reproduksi. Strategi pengendalian yang disarankan adalah pengendalian penyakit dilakukan secara bertahap dengan prioritas dimulai dari hulu ke hilir, dengan prioritas pertama adalah pembebasan penyakit IBR pada sapi di pusat-pusat perbibitan dan IB, kemudian prioritas kedua pembebasan sapi bibit di peternakan rakyat/*village breeding center* (VBC) dan prioritas terakhirnya pada ternak milik rakyat. Pada pusat-pusat perbibitan dan IB, pembebasan penyakit IBR dilakukan melalui kegiatan monitoring penyakit, pengeluaran ternak reaktor serta penerapan biosekuriti yang ketat. Pada sapi-sapi bibit yang ada di peternakan rakyat/VBC, upaya yang dilakukan meliputi penggunaan semen dari pusat-pusat IB yang bebas dari penyakit IBR, atau penggunaan pejantan unggul bebas penyakit IBR sebagai pemacek, monitoring penyakit serta melakukan biosekuriti. Pada ternak sapi milik rakyat, pengendalian secara umum yaitu dengan melaksanakan IB menggunakan semen berasal dari pusat-pusat IB yang bebas IBR serta vaksinasi rutin. Tahap terakhir ini dilaksanakan setelah dilakukan analisis tingkat keberhasilan dan nilai ekonomi dari pengendalian penyakit.

Kata kunci: Sapi, IBR

ABSTRACT

INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS (IBR) ON CATTLE IN INDONESIA AND THE STRATEGY FOR DISEASE CONTROL

Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) caused by *Bovine herpesvirus-1* (BHV-1) infects cattle and widely spreads in Indonesia. The disease infected cattle in breeding centers, artificial insemination centers and also holderfarmers. This infectious disease may cause economical losses primarily due to reproductive failure of infected animals. Recommended strategy for disease control is step by step control with priorities, started from upper to downstream, from breeding and artificial insemination (AI) centers as the first priority, then village breeding centers as the second priority, and the last priority is in cattle owned by smallholders. In the breeding and AI centers, eradication of the disease is carried out by surveillance, excluding reactors, and applying biosecurity. In the village breeding centers, the use of semen for AI should come from centers that free from IBR, the use of bull that free from IBR, surveillance and application of biosecurity. At the farmer levels, IBR control is done by using semen from AI centers free from IBR and routine vaccination. The final step is performed after evaluating the successful rate and economic impact of the disease control.

Key words: Cattle, IBR

PENDAHULUAN

Dalam rangka pengembangan ternak sapi di Indonesia, penyakit hewan yang bersifat menular dan mengganggu sistem reproduksi ternak merupakan kendala yang harus segera diatasi. Terganggunya sistem reproduksi ternak akibat infeksi penyakit menular sangat merugikan karena dapat mengakibatkan keguguran, penurunan fertilitas, bahkan kemajiran ternak. Salah satu diantara penyakit menular yang

mengganggu sistem reproduksi ternak sapi adalah *Infectious Bovine Rhinotracheitis* (IBR).

IBR merupakan penyakit yang sangat infeksius disebabkan oleh *Bovine herpesvirus-1* (BHV-1). Gejala klinis akibat penyakit ini seperti infeksi pustular vulvovaginitis pada sapi betina atau balanoposthitis pada sapi jantan, konjungtivitis, ensefalitis dan gejala sistemik lainnya seperti demam dan kelesuan (STRAUB, 1990). Infeksi pada sapi betina dewasa dapat menyebabkan penurunan produksi susu, menurunnya tingkat fertilitas, dan keguguran (MILLER *et al.*, 1991).

Dengan melihat akibat penyakit yang ditimbulkan, baik pada sapi betina dan sapi pejantan terkait dengan aspek reproduksi, maka penyakit ini merugikan dan perlu dikendalikan secara efektif dan efisien. Makalah ini mengkaji penyakit IBR pada ternak sapi, situasinya di Indonesia, serta menawarkan strategi pengendaliannya sesuai dengan kondisi di Indonesia.

PENYAKIT IBR PADA TERNAK SAPI

Gejala klinis

Berdasarkan gejala klinisnya, 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.*, 2000).

Gangguan pernapasan

IBR merupakan penyakit pernapasan pada sapi yang secara signifikan merugikan, khususnya bagi usaha perbibitan ternak sapi. Virus masuk ke dalam saluran pernapasan umumnya melalui udara (mengandung partikel air) yang mengandung virus IBR berasal dari hewan penderita. Utamanya, infeksi terjadi pada saluran pernapasan bagian atas, tetapi kadang-kadang juga terjadi pada bagian bawah paru-paru. Setelah berinkubasi 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 dan RWEYEMAMU, 1977). Pada tahap berikutnya, leleran hidung yang encer 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).

Meskipun jarang, IBR dapat terjadi pada pedet dan menyebabkan penyakit pernapasan yang ganas atau penyakit sistemik yang fatal dan cepat menimbulkan kematian. Infeksi IBR pada sapi yang baru lahir

mungkin disebabkan oleh kekurangan antibodi maternal dan komplikasi dengan faktor manajemen (MECHOR *et al.*, 1987).

Bila gejala klinis pernapasan pada sapi bunting 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).

Gangguan reproduksi

IPV merupakan infeksi vagina dan vulva yang ditandai dengan ekor tidak kembali ke posisi biasa. Kemudian timbul pustula (berdiameter 1 – 2 mm) yang menyebar melalui permukaan mukosa dan kadang-kadang disertai oleh leleran mukopurulen. Pustula yang lama, pecah meninggalkan bercak berwarna merah muda yang mengikis lokasi infeksi. Pada IPV, leleran hidung tidak tampak jelas. Penyakit pada tahap akut terjadi antara 2 – 4 hari, dan lesi hilang dengan sendirinya setelah 10 – 14 hari dari saat terjadinya penyakit. Jika infeksi sistemik terjadi pada sapi bunting, maka akan terjadi keguguran (MUYLKENS *et al.*, 2007).

Pada ternak jantan, penyakit IPB (Gambar 1) 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 lesi (MUYLKENS *et al.*, 2007). Hal inilah yang menjadi alasan bahwa pejantan pada pusat inseminasi buatan (IB) harus memiliki seronegatif terhadap BHV-1.



Gambar 1. Penis dan preputium pada sapi pejantan yang menderita gangguan balanoposthitis. Tampak terjadi hemoragik dan ulserasi pada bagian mukosa penis dan preputium (panah)

Sumber: VOGEL *et al.* (2004)

Gangguan syaraf (ensefalitis)

Meskipun BHV-1 dapat menyebabkan gangguan pada organ syaraf, ensefalitis jarang sekali terjadi pada sapi. Ensefalitis diperkirakan terjadi sebagai suatu proses lanjutan yang berhubungan dengan pernapasan akut atau pengaktifan kembali virus laten dari ganglia trigeminal dan cenderung mendekati penyebarannya ke pusat otak. Berbagai gejala klinis yang dapat ditimbulkan setelah terjadinya infeksi oleh *alphaherpesvirus* yaitu terjadinya gangguan syaraf dan mengakibatkan infeksi laten yang menetap pada sistem syaraf tepi inang (PRESTON, 2000). Gejala klinis syaraf ditandai dengan tidak terkoordinasi, berputar-putar, otot gemetar, berbaring, kehilangan keseimbangan, kebutaan, selalu menjilat panggul dan akhirnya mati (ENQUIST *et al.*, 2002). Kasus sporadis BHV-1 yang berhubungan dengan ensefalitis sudah umum terjadi di Australia dan Argentina. Galur BHV-1 yang menunjukkan neuropatogenik yang berpotensi mewakili varian antigenik dan dikelompokkan sebagai BHV-5. Gejala klinis lain yang berkaitan dengan BHV-1 termasuk kekeruhan pada kornea mata, mastitis, enteritis, dan dermatitis (WYLER *et al.*, 1989).

Infeksi laten dan reaktivasi

Kelatenan setelah sembuh dari infeksi akut primer merupakan gambaran umum dari infeksi oleh virus herpes. Mekanisme kelatenan dan pengaktifan kembali sebanding untuk semua virus herpes. Dalam keadaan laten, virus infeksius tidak dapat diisolasi dari leleran ingus pada hidung. Akan tetapi, DNA virus dapat dideteksi dari ganglia sensoris lokal sebagai sirkular DNA (episom) dengan menggunakan hibridisasi *in situ* atau PCR (D'ARCE *et al.*, 2002). Setelah terjadi infeksi, BHV-1 dapat menyebar dari infeksi lokal ke sistem syaraf dengan cara virus memasuki sel syaraf tepi. Selanjutnya, virus akan mencapai ganglia sensoris seperti ganglia trigeminal dan lumbosakral dan akhirnya infeksi laten menetap disana (VOGEL *et al.*, 2004). Tonsil (WINKLER *et al.*, 2000), limfoglandula (LN), *peripheral blood mononuclear cells* (PBMCs) dan mukosa hidung serta mata (LOVATO *et al.*, 2000) juga dipastikan sebagai tempat menetapnya infeksi laten. Sekali terinfeksi oleh BHV-1, maka ternak sapi tersebut akan berpotensi untuk mengeluarkan virus (*shedding*) selama hidupnya. Virus laten ini merupakan reservoir dalam inang kebal yang pada suatu saat akan terekresikan bila terjadi pengaktifan kembali (reaktivasi) (ROLLA *et al.*, 2003).

Ada berbagai cara yang dapat mengaktifkan kembali virus dalam keadaan laten, seperti halnya bila ternak tercekam (*stress*), terlalu sesak, pengapalan (transportasi), kedinginan, atau pemberian perlakuan dengan kortikosteroid (misal: *dexamethasone*),

semuanya akan mempercepat proses reaktivasi virus dari keadaan laten (MUYLKENS *et al.*, 2007). Selain faktor cekaman, enzim timidin kinase diduga dapat mengaktifkan virus dalam keadaan laten. Walaupun enzim timidin kinase tidak penting untuk replikasi virus pada kultur sel, tetapi dapat berfungsi sebagai pasokan metabolik yang diatur dalam neuron, sehingga memungkinkan virus herpes dapat keluar dari tempat persembunyiannya di trigeminal ganglion (VOGEL *et al.*, 2003). Virus yang teraktivasi, kemudian ditransportasikan melalui *axon* kembali ke saraf tepi, dilanjutkan ke tempat asal virus masuk. Hal ini akan menyebabkan terjadinya penularan virus ke ternak sehat lainnya. Pengeluaran virus lewat sekresi hidung, mata, atau kelamin merupakan sumber penularan bagi hewan lain, termasuk penularan dari induk ke anak (ROLLA *et al.*, 2003). Reaktivasi virus herpes pada umumnya menyebabkan gejala subklinis, seperti halnya pada mukosa hidung atau kelamin tidak mudah diamati (MUYLKENS *et al.*, 2007).

Antibodi penetral terutama diarahkan kepada glikoprotein amplop dan mencapai titer maksimum sekitar 5 hari pasca infeksi (pi) ($10^{5.22}$ TCID₅₀/ml) dan masih dapat terdeteksi hingga 11 hari (pi) ($10^{2.4}$ TCID₅₀/ml) (MEDINA *et al.*, 2009). Antibodi penetral awal hanya dapat didemonstrasikan bersamaan dengan adanya komplemen, selanjutnya komplemen tidak diperlukan lagi, akan tetapi keberadaannya dapat meningkatkan titer empat sampai delapan kali lipat (BOSCH *et al.*, 1996). Setelah terjadi infeksi primer, titer antibodi dapat turun sampai ke tingkat yang tidak terdeteksi, tetapi dengan meningkatnya umur, titer biasanya tinggi. Hal ini kemungkinan sebagai konsekuensi dari berlangsungnya kembali produksi virus. Respon antibodi sangat diperlukan untuk pencegahan infeksi sekunder dan reaktivasi dari infeksi laten (BABIUK *et al.*, 2003). Pada hewan dewasa, titer antibodi cenderung untuk tidak meningkat dalam kaitannya dengan sindroma seperti keguguran dan ensefalitis (VOGEL *et al.*, 2004).

Antigen virus diekspresikan pada permukaan sel yang terinfeksi merupakan sasaran bagi penghancuran oleh imun diperantarai-sel. Pada umumnya dianggap bahwa glikoprotein akhir merupakan sasaran penting bagi sel T sitotoksik, walaupun antigen awal (*intermediate early*) bagi *alphaherpesvirus* telah diidentifikasi sebagai antigen sasaran bagi sel T sitotoksik. Walaupun respon imun antibodi (humoral) dan diperantarai-sel (seluler) keduanya timbul setelah terjadi infeksi primer, itu tidak berpengaruh terhadap virus pada neuron terinfeksi secara laten, atau dalam menghambat keluarnya melalui jalur syaraf sensoris ke tempat infeksi epitel. Akan tetapi, pada episode yang timbul kembali, penyebaran virus pada epitel dibatasi oleh respon imun hanya sampai ke sel tetangganya, sehingga lesi yang timbul kembali biasanya lebih

ringan ketimbang lesi primernya (SMITS *et al.*, 2000). Oleh karena itu, untuk mencegah terjadinya pengeluaran virus (*shedding*), maka program vaksinasi sangat efektif untuk dilakukan, terutama menggunakan vaksin BHV-1 gE-gC *deleted mutant* yang mampu mencegah terjadinya pengeluaran kembali virus walaupun ternak tersebut telah diberi perlakuan dengan *dexamethasone* (MUYLKENS *et al.*, 2007).

Peranan infeksi laten sangat penting terutama bagi sapi pejantan bibit, karena sapi tersebut dapat mengeluarkan virus yang bereplikasi pada mukosa hidung, mata dan alat genital baik jantan maupun betina. Semen pada umumnya lebih sering terkontaminasi oleh virus yang berasal dari mukosa penis atau preputium pada saat ejakulasi dibandingkan dengan virus yang diproduksi pada testis, epididimis atau glandula asesoris genital lainnya (SNOWDOWN, 1965). Dengan menggunakan semen yang berasal dari sapi pejantan yang terinfeksi BHV-1 untuk inseminasi buatan, maka akan berisiko terjadinya penularan (GROM *et al.*, 2006) BHV-1 kepada sapi betina (PHILPOTT, 1993). Untuk menghilangkan risiko ini, maka harus menggunakan semen yang bebas BHV-1.

HEWAN RENTAN DAN CARA PENULARAN PENYAKIT

Hewan rentan

Bovine herpesvirus-1 tersebar secara luas diantara sapi di berbagai dunia. Berbagai spesies hewan liar telah terdeteksi memiliki sero-positif, akan tetapi gejala klinis yang berbeda hanya ditemukan pada sapi. Hewan yang seringkali memiliki sero-positif terhadap BHV-1 yaitu famili *Bovidae*, *Cervidae*, *Giraffidae*, *Hippopotamidae* dan *Suidae*. Sementara itu, kelinci, sigung (*skunk*), dan kambing, merupakan hewan yang rentan terhadap infeksi BHV-1 dan telah banyak digunakan sebagai hewan coba (STRAUB, 1990).

Cara penularan

Melalui saluran pernafasan

Penularan langsung melalui pernafasan dari virus BHV-1 sangat mudah dari satu ternak ke ternak lain atau dari kelompok satu ke kelompok lainnya. Hal ini disebabkan virus *shedding* dalam jumlah yang sangat banyak pada saluran pernafasan, mata, dan saluran reproduksi sapi yang terinfeksi. Virus dapat menyebar melalui sekresi hidung atau percikan yang mengandung virus (MARS *et al.*, 2000). Dikarenakan mekanisme penyebaran virus yang demikian, maka kontak langsung antar hewan merupakan risiko transmisi yang sangat tinggi. Pada penggemukan sapi yang penuh

sesak, dan bercampurnya ternak satu dengan yang lain mengakibatkan penyebaran virus akan lebih efektif (VAN DONKERSGOED dan BABIUK, 1991).

Melalui semen

Pada hewan jantan yang memperlihatkan balanopostitis atau pada kondisi laten (virus terdedah tanpa ada gejala klinis), maka semen menjadi sumber penularan virus yang sangat potensial. Virus IBR dapat menyebar melalui kawin alam atau kawin buatan melalui IB (WYLER *et al.*, 1989). Penularan penyakit melalui semen sapi pejantan terjadi sebagai berikut, yaitu sapi pejantan akan mulai terinfeksi BHV-1 pada preputium antara 2 dan 7 hari setelah infeksi pertama. Setelah infeksi pertama, virus seringkali sulit untuk diisolasi (HUCK *et al.*, 1971). Namun, sekali-sekali (*intermittent*) secara spontan dan seringkali terjadi virus *shedding*. Infeksi laten pada sapi akan mengakibatkan pengeluaran kembali virus apabila ternak tersebut mengalami cekaman, seperti saat transportasi, atau diberi perlakuan kortikosteroid (misalnya: *dexamethazone*). Dengan cara spontan atau perlakuan buatan akan memicu virus *shedding* dan seringkali tidak menunjukkan klinis dan virus tersebut dapat terdeteksi untuk waktu yang lama, bahkan dapat mencapai satu tahun setelah infeksi pertama (MUYLKENS *et al.*, 2007).

Pada umumnya, BHV-1 diekskresikan lebih banyak konsentrasinya pada tahap infeksi pertama dari pada infeksi kedua atau berikutnya yang hanya bersifat putus-sambung. Titer antara $10^5 - 10^{8.5}$ *Tissue Culture Infective Dose* (TCID₅₀) per ml dari bilasan preputium atau semen telah terdeteksi selama fase akut pada kasus infeksi alami maupun buatan (SPILKI *et al.*, 2004). Selama masa pengeluaran kembali virus baik secara spontan maupun melalui rangsangan alami atau perlakuan dengan rangsangan buatan, titer virus sangat bervariasi yaitu titer virus antara 10^1 dan $10^{5.2}$ TCID₅₀ per ml asal bilasan praeputium atau semen telah pula dilaporkan (MEDINA *et al.*, 2009). Akan tetapi virus tidak terdeteksi lagi setelah 14 pasca infeksi (SPILKI *et al.*, 2004). Dosis yang diperlukan untuk menginfeksi sapi setelah inokulasi intra-nasal atau intra-vagina dengan menggunakan BHV-1 galur lapang yaitu 3,2 TCID₅₀ (VAN OIRSCHOT, 1995).

Virus IBR dalam semen beku (*extended semen*) yang disimpan pada suhu 4°C akan tahan selama 7 hari, sementara bila semen tersebut disimpan pada suhu ruang akan tahan selama 5 hari. Selanjutnya, DREW *et al.* (1987) juga melaporkan bahwa virus IBR dalam semen beku tidak akan kehilangan sifat infektivitas setelah dilakukan 5 kali proses pembeku-cairan (*freezing-thawing*).

Penerapan IB yang menggunakan semen terinfeksi BHV-1 akan menyebabkan penurunan angka kelahiran,

memperpendek siklus estrus, dan memicu endometritis (VAN ENGELENBURG *et al.*, 1995).

DIAGNOSIS PENYAKIT 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.

Isolasi virus

Bovine herpesvirus-1 seringkali ditemukan pada mukosa hidung, mata dan preputium pada kasus balanopostitis. Pada kasus balanopostitis, semen merupakan bagian yang sering terkontaminasi oleh BHV-1 selama proses ejakulasi. Hal ini terjadi karena pada sapi yang terinfeksi BHV-1, maka virus akan bereplikasi pada bagian mukosa preputium sapi tersebut. Teknik yang sering digunakan di laboratorium untuk mendiagnosis atau mendeteksi antigen BHV-1 diantaranya yaitu dengan isolasi virus yang ada dalam sampel mukosa hidung, mata atau semen pada kultur sel (DEKA *et al.*, 2005). Sel kultur yang sering digunakan adalah sel MDBK atau sel lain yang rentan terhadap BHV-1. Keberadaan BHV-1 pada kultur sel ditandai dengan efek sitofatik (*Cytopathic effect* = CPE), virusnya kemudian diidentifikasi/dikonfirmasikan dengan menggunakan *immunofluorescence* (KEUSER *et al.*, 2004) atau dengan uji virus netralisasi (VN) (LEMAIRE *et al.*, 2000). Selanjutnya elektron mikroskop digunakan untuk mendeteksi virus secara morfologi.

Uji serologi

Uji serologi dilakukan untuk mendeteksi adanya antibodi terhadap virus IBR dalam darah/serum hewan. Uji serologi meliputi uji netralisasi serum dan ELISA. Pada uji netralisasi serum, uji ini menggunakan media kultur sel dimana reaksi netralisasi antibodi oleh virus IBR dapat diketahui, yaitu pada sel tidak terjadi efek sitofatik (OIE, 2008). Sementara uji ELISA menggunakan reaksi enzimatik dengan indikator perubahan warna substrat (OIE, 2008). Bila hewan mengandung antibodi terhadap virus IBR sementara hewan tidak pernah divaksin, maka dapat disimpulkan bahwa hewan tersebut telah terinfeksi oleh virus IBR. Namun bila hewan pernah divaksinasi, maka uji ini tidak dapat membedakan antibodi akibat vaksin atau infeksi alam.

Teknik *immunoassay*

Teknik *immunofluorescence* telah digunakan untuk mendeteksi BHV-1 dalam sedimen usapan mukosa nasal, bilasan preputium, paru, dan trakhea (SILIM dan ELAZHARY, 1983). Kelebihan teknik ini yaitu dapat mendeteksi BHV-1 dengan cepat. Kemudian, teknik imuno elektron mikroskop seringkali digunakan dan merupakan metode yang cepat, akan tetapi diperlukan konsentrasi virus yang tinggi. Sementara, ELISA dengan menggunakan antibodi monoklonal telah banyak digunakan untuk mendeteksi BHV-1 (SPILKI *et al.*, 2005; OKAZAKI *et al.*, 2006). Selanjutnya, SMITS *et al.* (2000) telah membandingkan beberapa metode hibridisasi dengan imuno-elektron mikroskop dan berbagai jenis kultur sel. Hasilnya menunjukkan bahwa isolasi virus ternyata paling sensitif bila dibandingkan dengan metode di atas yaitu dapat mendeteksi 5 TCID₅₀ virus pada semen.

Teknik molekuler biologi

Akhir-akhir ini, diagnostik virologi telah mengalami kemajuan pesat dengan dikembangkan teknik asam nukleat untuk mendeteksi keberadaan virus dalam sampel yang berasal dari hewan, baik yang menunjukkan klinis maupun normal. Hibridisasi asam nukleat dan reaksi berantai polimerase (*polymerase chain reaction* = PCR) telah dikembangkan sebagai perangkat uji yang sangat ideal dan handal untuk mendeteksi BHV-1 pada sampel karena uji tersebut sangat cepat, sensitif dan spesifik. Teknik PCR telah digunakan untuk mendeteksi secara langsung BHV-1 pada sampel klinis. Pendeteksian DNA BHV-1 gB, gC, gD, gE, gI dan timidin kinase dengan PCR telah dilaporkan (ROLLA *et al.*, 2003; 2005; AFONSO *et al.*, 2007; LATA, 2009; MEDINA *et al.*, 2009; MOORE *et al.*, 2000). Pengembangan teknik PCR untuk mendeteksi BHV-1 pertama kali diperkenalkan oleh VILCEK (1993) dengan menggunakan primer berasal dari gen yang menggunakan gB BHV-1. Sementara itu, *nested* PCR untuk mendeteksi BHV-1 dalam sampel semen cair dan semen beku yang menggunakan target gen gD pertama kali diperkenalkan oleh WIEDMANN *et al.* (1993), kemudian *nested* PCR lainnya dikembangkan oleh ROLLA *et al.* (2003).

SITUASI PENYAKIT IBR DI INDONESIA

Penyakit IBR pada ternak sapi dan kerbau telah ada di Indonesia. Secara serologis telah terbukti penyakit ini tersebar hampir di seluruh provinsi di

Indonesia. SAROSA (1985) melaporkan bahwa penyakit IBR telah menginfeksi sapi perah, sapi potong, dan kerbau di Indonesia (Tabel 1). Berdasarkan pemeriksaan serologis menunjukkan bahwa sapi berumur di atas 7 tahun cenderung lebih rentan terserang penyakit IBR (44,8%) dibandingkan dengan sapi berumur 2 – 3 tahun (30,5%) (SUDARISMAN 1992). Selanjutnya SAEPULLOH *et al.* (2008) melaporkan hasil deteksi DNA BHV-1 pada sediaan usap mukosa hidung asal sapi bibit dari daerah Bandung dan Bogor, yang secara klinik normal, menunjukkan bahwa 3,68% (14/381) terdeteksi positif dengan uji *nested* PCR (Tabel 2). Sedangkan pada sampel semen, baik semen cair maupun beku, dari sapi bibit asal daerah Bandung, Bogor dan Pasuruan telah terdeteksi 16,67% (4/24) positif menunjukkan adanya DNA BHV-1 (Tabel 3). Keadaan tersebut menunjukkan bahwa bila tidak dilakukan pengendalian penyakit, maka cepat atau lambat penyakit IBR akan segera menyebar di daerah tersebut dan ke daerah lainnya yang lebih luas mengingat penyakit IBR telah menyerang sapi bibit yang produknya disebarluaskan secara luas.

Penyakit IBR akan lebih mudah menyebar pada sapi yang sedang ditransportasikan serta pada sapi yang dikandangkan secara padat/berdesak-desakan, seperti yang dilaporkan oleh VAN DONKERSGOED dan BABIUK (1991) bahwa di daerah penggembukan sapi yang penuh sesak, dan bercampurnya ternak satu dengan yang lainnya mengakibatkan penyebaran virus lebih efektif.

Akhir-akhir ini telah terungkap bahwa berdasarkan analisis sekuens baik terhadap gen gD maupun gen gC BHV-1, keberadaan agen virus penyebab penyakit IBR di Indonesia terutama di Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Jawa Timur (Gambar 2 dan 3) disebabkan oleh virus IBR penyebab gangguan pernapasan atau IBR BHV-1.1 dan bukan disebabkan oleh virus IBR penyebab gangguan genital IBR BHV-1.2 (SAEPULLOH *et al.*, 2009). Hasil tersebut ditunjang dengan pengamatan di lapang dari tahun 2007 – 2008, yaitu dari 958 sapi yang diambil sampelnya, tidak satupun yang menunjukkan gejala klinis gangguan genital. Sedangkan klinis leleran ingus pada hidung dan hiperlakrimasi seringkali di jumpai. Menurut EDWARDS *et al.* (1991) hewan coba yang diinfeksi BHV-1.2 akan memperlihatkan klinis gangguan pernapasan dan akan mampu menyebarkan virus ke ternak sehat. Demikian pula sebaliknya bahwa BHV-1.1 seringkali berhasil diisolasi dari kasus gangguan pernapasan. Lebih lanjut, RIJSEWIJK *et al.* (1999) menyatakan bahwa sangat sulit membedakan secara tepat sifat biologi dari kedua genotipe BHV-1, antara BHV-1.1 dan BHV-1.2, karena keduanya dapat menginfeksi baik pada saluran pernapasan maupun genital hewan. Oleh karena itu, walaupun telah terkarakterisasi bahwa penyakit IBR di Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur termasuk ke dalam sub tipe BHV-1.1, kewaspadaan akan timbulnya penyakit gangguan genital (reproduksi) pada sapi perlu mendapat perhatian.

Tabel 1. Hasil uji serum netralisasi (SNT) IBR pada berbagai jenis sapi dan kerbau

Provinsi	Jumlah serum	Positif IBR	Jenis ternak
Jawa Barat	485	65	FH, PO, kerbau
Jawa Tengah	179	9	FH, PO, kerbau
D.I. Yogyakarta	28	14	Kerbau
Jawa Timur	112	21	PO, kerbau, sapi Madura
NTB	328	31	Sapi Bali
Kupang	70	9	Sapi Bali
Kalimantan Barat	74	54	Sapi Bali, sapi lokal
Bali	46	1	Sapi Bali
Sumatera Utara	85	14	FH, kerbau
Nanggroe Aceh	44	0	Sapi lokal
BIB Lembang	70	22	FH, Brahman, Ongole, kerbau, Limousin, Simmental, Brangus, Taurindicus
BIB Singosari	23	13	Brahman, Brangus, Taurindicus, Ongole, sapi Bali
Peternakan Tri S	57	18	FH, Brangus, silangan
Jumlah	1601	256	FH, PO, Madura, Bali, Brahman, Ongole, Simmental, Brangus, Taurindicus, lokal, silangan, kerbau

Sumber: SAROSA (1985)

Tabel 2. Hasil pemeriksaan PCR terhadap sediaan usap mukosa hidung asal hewan yang secara klinis normal

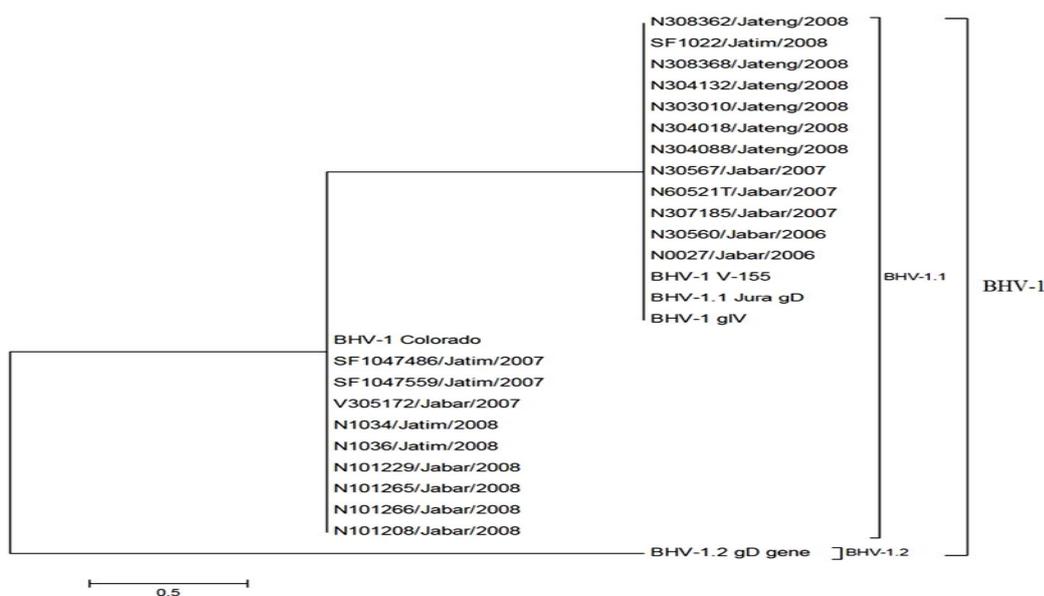
Asal sampel	Jenis sampel	Jenis hewan	Jumlah sampel	Hasil uji PCR	
				Positif	Negatif
Bandung	Usap mukosa hidung	FH	294	13	281
		FH	65	1	64
		Angus	3	0	3
Bogor	Usap mukosa hidung	Limousin	7	0	7
		Simmental	11	0	11
		Brangus	1	0	1
Total			381	14	367
Persentase (% terhadap total)				3,68	96,32

Sumber: SAEPULOH *et al.* (2008)

Tabel 3. Hasil pemeriksaan PCR terhadap semen segar dan *straw* asal hewan yang secara klinis normal

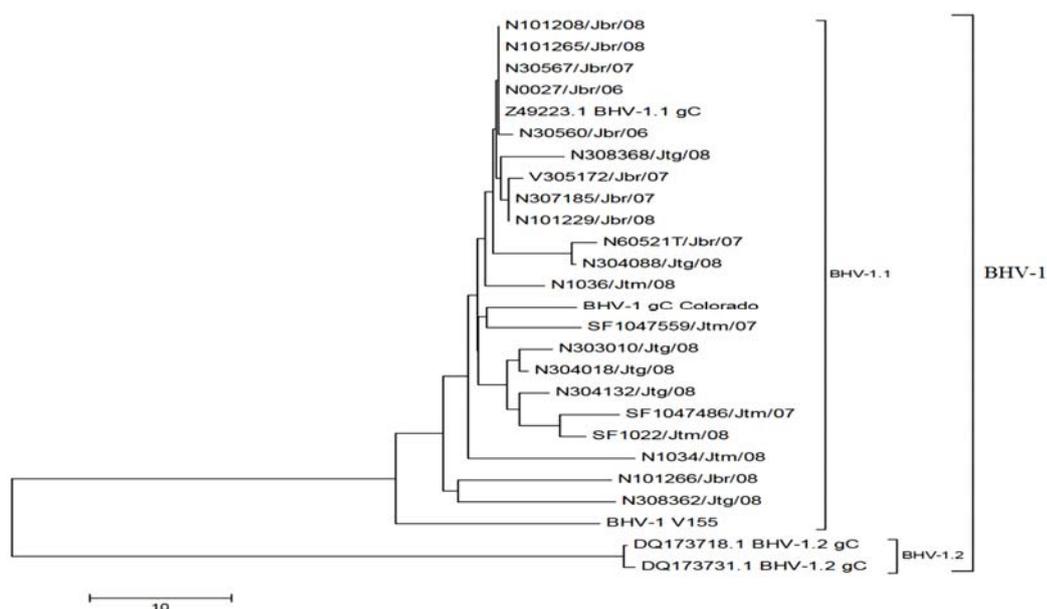
Asal sampel	Jenis sampel	Jenis hewan	Jumlah sampel	Hasil uji PCR	
				Positif	Negatif
Bandung	Semen beku	FH	5	0	5
		FH	2	2	0
		Simmental	1	0	1
Bogor	Semen beku	Limousin	1	0	1
		Sapi Bali	1	0	1
		Angus	1	0	1
Pasuruan	Semen segar	PO	13	2	12
Total			24	4	21
Persentase (% terhadap total)				16,67	83,33

Sumber: SAEPULOH *et al.* (2008)



Gambar 2. Analisis *Phylogenetic tree* terhadap urutan asam amino pada fragmen gen gD BHV-1

Sumber: SAEPULOH *et al.* (2009)



Gambar 3. Analisis *Phylogenetic tree* terhadap urutan asam amino pada fragmen gen gC BHV-1

Sumber: SAEPULLOH *et al.* (2009)

Kejadian klinis penyakit IBR di lapangan sampai dengan saat ini masih belum banyak dilaporkan. Hal ini kemungkinan disebabkan karena para peternak belum mengetahui gejala klinis penyakit IBR, serta belum menyadari pentingnya sebuah laporan kasus. Padahal pelaporan kejadian penyakit yang dini, meskipun hanya dari gejala klinis, akan membantu dan memudahkan dalam penanggulangan penyakit secara tuntas dan cepat setelah diketahui pasti melalui pengujian laboratorium. Selain itu, kemungkinan lain adalah dikarenakan sapi-sapi tersebut tidak menunjukkan gejala klinis yang khas dan berat, seperti keguguran. Pada data tersebut juga di atas memang ditunjukkan bahwa kebanyakan sapi yang terdeteksi positif BHV-1 dengan uji PCR adalah sapi yang secara klinis tampak sehat.

STRATEGI PENGENDALIAN PENYAKIT IBR

Upaya pemerintah, Direktorat Jenderal Peternakan, dalam hal untuk mengendalikan penyakit IBR telah diinstruksikan kepada jajaran dan pihak, serta pemangku kepentingan (*stakeholders*) yang terkait dengan pengembangan sapi bibit. Hal ini tercantum dalam Manual Standar Kesehatan edisi Pedoman Kesehatan Hewan Ternak Sapi Bibit (DITJENNAK, 2004) yang telah disusunnya. Dalam pedoman ini diatur tatacara pengendalian penyakit pada sapi bibit, termasuk IBR, pada pusat-pusat perbibitan dan inseminasi buatan (IB), yaitu tatacara penjaringan calon

bibit dan pelaksanaan surveilans di kedua jenis lokasi tersebut. Dengan demikian pedoman ini belum menyentuh bagaimana strategi untuk mengendalikan penyakit IBR di Indonesia secara utuh dan tuntas.

Berdasarkan informasi dan bukti yang ada, termasuk sifat penyakit dan perkembangan situasi penyakit IBR di Indonesia, maka secara hipotetik strategi pengendalian penyakit IBR pada ternak sapi di Indonesia disarankan untuk dilakukan secara bertahap dan dimulai dari hulu (sumber bibit/benih) yang kemudian sampai ke hilir (peternakan rakyat) serta dengan beberapa prasyarat sebagai berikut:

1. Untuk pengendalian penyakit diperlukan perangkat pendukung, berupa teknik diagnosis (deteksi virus, deteksi antibodi) yang telah dikuasai oleh laboratorium veteriner.
2. Tersedia vaksin IBR tidak aktif dalam jumlah yang cukup sebagai pencegah infeksi pada populasi yang dinamis dan sulit dikendalikan melalui tindakan biosekuriti.
3. Tersedia perangkat lunak berupa peraturan/kebijakan dan petunjuk operasional pengendalian penyakit yang jelas, tegas, aplikatif di lapangan, serta para peternak telah menerima informasi yang cukup tentang penyakit IBR.
4. Tersedia dana yang cukup untuk pelaksanaan program pengendalian penyakit.
5. Strategi pengendalian penyakit dilakukan dari hulu ke hilir secara tuntas dan bertahap sesuai kemampuan pendanaan.

Strategi pelaksanaan pengendalian penyakit IBR dilakukan dengan tahapan prioritas sebagai berikut:

1. Prioritas pertama adalah pembebasan penyakit IBR pada sapi di pusat-pusat perbibitan dan inseminasi buatan (IB). Upaya yang dilakukan adalah menerapkan persyaratan bahwa seluruh ternak yang ada di lokasi tersebut harus bebas dari penyakit IBR. Ternak bibit tidak divaksinasi untuk memudahkan pemantauan bila ternak kemudian berubah menjadi reaktor. Penerapan surveilans serologis/pendeteksian agen yang ketat untuk mengetahui sedini mungkin terhadap adanya hewan menjadi reaktor. Hewan yang dinyatakan sebagai reaktor maka hewan dikeluarkan dari kawasan dan tidak digunakan lagi sebagai bibit/sumber benih. Penerapan biosekuriti peternakan yang ketat mutlak dilaksanakan terhadap calon sapi bibit yang akan memasuki kawasan. Hanya ternak yang bebas IBR yang diperbolehkan memasuki kawasan dan kemudian menjadi bibit/sumber benih. Biosekuriti juga diterapkan bagi petugas pengelola hewan yang keluar dan yang akan masuk kawasan melalui desinfeksi, penggunaan pakaian kandang, kebersihan diri, dll. Biosekuriti juga diterapkan untuk pakan hijauan. Sumber hijauan pakan tidak berasal dari padang rumput dimana digembalakan ternak sapi/kerbau. Biosekuriti termasuk mencegah kontak ternak rakyat dengan kawasan dan ternak di dalamnya. Dengan demikian, lokasi kawasan telah didisain memiliki jarak yang cukup jauh dengan peternakan rakyat.
2. Prioritas kedua adalah pembebasan penyakit IBR pada sapi bibit di peternakan rakyat/VBC. Upaya yang dilakukan adalah menerapkan persyaratan bahwa semen yang digunakan untuk inseminasi buatan (IB) adalah semen berasal dari pusat-pusat IB yang bebas dari IBR. Jika menggunakan pejantan unggul, maka pejantan unggul berasal dari pusat-pusat perbibitan yang bebas dari IBR atau bila pejantan berasal dari VBC maka pejantan tersebut telah dibuktikan secara laboratorium bebas dari penyakit IBR. Semua sapi betina bibit telah dibuktikan bebas dari penyakit IBR, atau bibit sapi betina berasal dari pusat-pusat perbibitan yang bebas dari penyakit IBR. Monitoring penyakit dilakukan secara berkala untuk mengetahui adanya reaktor, dan ternak reaktor dikeluarkan dari kawasan dan tidak digunakan lagi sebagai bibit. Adanya perlakuan vaksinasi pada sapi betina bibit dapat dipertimbangkan tergantung pada situasi apakah pergerakan sapi bibit atau pencegahan kontak dengan sapi lainnya milik rakyat dapat dikendalikan. Sapi pejantan tetap tidak divaksin, bila menjadi reaktor maka pejantan dikeluarkan dari kawasan dan tidak digunakan sebagai pemacek.

Lalu lintas ternak melewati kawasan diperketat sebagai upaya biosekuriti agen penyakit.

3. Prioritas terakhir adalah pengendalian penyakit IBR pada ternak milik rakyat. Secara umum adalah dengan penggunaan semen untuk inseminasi buatan (IB) berasal dari pusat-pusat IB yang bebas dari IBR, atau pejantan bebas penyakit IBR, serta melakukan vaksinasi rutin. Tahap ini dilaksanakan setelah dilakukan analisis peluang keberhasilan dan nilai ekonomi. Hal ini karena untuk kegiatan ini diperlukan dana yang tidak sedikit, waktu yang panjang serta tingkat kesulitan yang tinggi terkait dengan situasi dan kondisi sistem peternakan yang ada, aspek sosial dan budaya masyarakat yang kompleks.

KESIMPULAN

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. 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 (peternakan rakyat). Oleh karena itu, maka pengendalian penyakit IBR pada tempat-tempat tersebut sudah harus segera dilaksanakan. Pengendalian penyakit dilakukan secara bertahap dengan prioritas pertama pada pusat-pusat perbibitan atau IB, prioritas kedua adalah sapi bibit di peternakan rakyat/VBC, serta prioritas terakhir adalah pada sapi milik rakyat. Pengendalian penyakit pada tahap terakhir ini dilakukan setelah dilakukan kajian yang mendalam meliputi faktor keberhasilan dan nilai ekonominya. Dukungan teknologi diagnosis (deteksi antibodi dan agen), ketersediaan vaksin, kebijakan/perangkat lunak/pedoman pengendalian dan peran aktif masyarakat, serta ketersediaan dana yang cukup merupakan prasyarat keberhasilan penerapan strategi pengendalian penyakit pada setiap tahapan pengendalian.

DAFTAR PUSTAKA

- AFONSO, D.A.F., L.S. ORTEGA, R.A.F. REDONDO, G.S. TRINDADE and E.F.B. STANCIOLI. 2007. Characterization of field *Bovine herpesvirus* samples using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *J. Virol. Methods* 140: 200 – 205.
- BABIUK, L.A., R. PONTAROLLO, S. BABIUK, B. LOEHR and S. VANDRUNEN LITTEL-VANDENHURK. 2003. Induction of immune responses by DNA vaccines in large animals. *Vaccine* 21: 649 – 658.

- BABIUK, L.A., M.J. LAWMAN and H.B. OHMANN. 1988. Novel viral vaccines for livestock. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 54: 355 – 363.
- BOSCH, J.C., M.J. KAASHOEK, A.H. KROESE and J.T. VAN OIRSCHOT. 1996. An attenuated *Bovine herpesvirus-1* marker vaccine induces a better protection than two inactivated marker vaccines. *Vet. Microbiol.* 52: 223 – 234.
- D'ARCE, R.C.F., R.S. ALMEIDA, T.C. SILVAB, A.C. FRANCO, F. SPILKI, P.M. ROEHE and C.W. ARNS. 2002. Restriction endonuclease and monoclonal Antibody analysis of Brazilian isolates of *Bovine herpesviruses* types 1 and 5. *Vet. Microbiol.* 88: 315 – 324.
- DEKA, D., N.K. RAMNEEK, N.K. MAITI and M.S. OBEROI. 2005. Detection of *Bovine herpesvirus-1* infection in breeding bull semen by virus isolation and polymerase chain reaction. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 24(3): 1085 – 1094.
- DITJENNAK. 2004. Manual Standar Kesehatan Hewan Edisi Pedoman Kesehatan Hewan Ternak Sapi Bibit. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian RI, Jakarta.
- DREW, T.W., C. HEWIT-TAYLOR, L. WATSON and S. EDWARDS. 1987. Effect of storage conditions and culture technique on the isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from bovine semen. *Vet. Rec.* 121: 547 – 548.
- EDWARDS, S., R.H. NEWMAN and H. WHITE. 1991. The virulence of British of bovid herpesvirus 1 in relationship to viral genotype. *Br. Vet. J.* 147: 216 – 231.
- ENQUIST, L.W., M.J. TOMISHIMA, S. GROSS and G.A. SMITH. 2002. Directional spread of an alphaherpesvirus in the nervous system. *Vet. Microbiol.* 86: 5 – 16.
- GIBBS, E.P.J. and M.M. RWEYEMAMU. 1977. *Bovine herpesvirus-1*. *Vet. Bull.* 47: 317 – 343.
- GROM, J.E., P. HOSTNIK, I. TOPLAK and D.B. MAGANJA. 2006. Molecular detection of BHV-1 in artificially inoculated semen and in the semen of a latently infected bull treated with dexamethazone. *Vet. J.* 171: 539 – 544.
- HUCK, R.A., P.G. MILLAR, D.H. EVANS, J.W. STABLES and A. ROSS. 1971. Penoposthitis associated with infectious bovine rhinotracheitis-infectious pustular vulvo-vaginitis (IBR/IPV) virus in a group of bulls. *Vet. Rec.* 88: 292 – 297.
- KEUSER, V., F. SCHYNTS, B. DETRY, A. COLLARD, B. ROBERT, A. VAN DERPLASSCHEN, P.P. PASTORET and E. THIRY. 2004. Improved antigenic methods for differential diagnosis of bovine, caprine, and cervine alphaherpesviruses related to *Bovine herpesvirus-1*. *J. Clin. Microbiol.* 42(3): 1228 – 1235.
- LATA, J. 2009. Detection of *Bovine herpesvirus 1* (BHV-1) infection in semen of Indian breeding bulls by polymerase chain reaction and its characterization by DNA sequencing. *Buffalo Bull.* 28(2): 76 – 84.
- LEMAIRE, M., V. WEYNANTS, J. GODFROID, F. SCHYNTS, G. MEYER, J.J. LETESSON and E. THIRY. 2000. Effects of *Bovine herpesvirus* type 1 infection in calves with maternal antibodies on immune response and virus latency. *J. Clin. Microbiol.* 38(5): 1885 – 1894.
- LOVATO, L.T., M.T. WINKLER, M. STONE-INMAN, A. DOSTER, and C. JONES. 2000. Detection of *Bovine herpesvirus* type 1 (BHV-1) viral DNA in peripheral blood mononuclear cells (PBMC). *Proc. of the 81st Annual Meeting.* Chicago, November 12 – 14 2000. Iowa University Press, Ames. pp. 129.
- MARS, M.H., M.C. DE JONG, C. VAN MAANEN, J.J. HAGE and J.T. VAN OIRSCHOT. 2000. Airbone transmission of *Bovine herpesvirus 1* infection in calves under field conditions. *Vet. Microbiol.* 76: 1 – 13.
- MECHOR, G.D., C.G. ROUSSEAU, O.M. RADOSTITS and L.A. BABIUK. 1987. Protection of new born calves against fatal multisystemic infectious bovine rhinotracheitis by feeding colostrum from vaccinated cows. *Can. J. Vet. Res.* 51: 452 – 459.
- MEDINA, M.R., M.A. SÁNCHEZ, H.D. DE ARCE LANDA and M.B. VALLE. 2009. Development and evaluation of a polymerase chain reaction assay to detect *Bovine herpesvirus 1*. *Span. J. Agric. Res.* 7(1): 59 – 66.
- MILLER, J.M., C.A. WHETSTONE and M.J. VAN DER MAATEN. 1991. Abortifacient property of *Bovine herpesvirus* type 1 isolate that represent three subtype determined by restriction endonuclease analysis of viral DNA. *Am. J. Vet. Res.* 52: 458 – 378.
- MOORE, S., M. GUNN and D. WALLS. 2000. A rapid and sensitive PCR-based diagnostic assay to detect *Bovine herpesvirus-1* in routine diagnostic submissions. *Vet. Microbiol.* 75: 145 – 153.
- MUYLKENS, B., J. THIRY, P. KIRTEN, F. SCHYNTS and E. THIRY. 2007. *Bovine herpesvirus-1* infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Vet. Res.* 38: 181 – 209.
- OIE (OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES). 2008. Infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustula vulvovaginitis. *In: Manual of Diagnostic Test and Vaccine for terrestrial Animals.* VALLAT, B. (Ed.). Chapter 2.3.5. OIE, Paris. pp. 752 – 759.
- OKAZAKI, K., S. FUJII, A. TAKADA and H. KIDA. 2006. The amino-terminal residue of glycoprotein B is critic for neutralization of *Bovine herpesvirus-1*. *Vir. Res.* 115: 105 – 111.
- PHILPOTT, M. 1993. The dangers of disease transmission by artificial insemination and embryo transfer. *Brit. Vet. J.* 149: 339 – 368.
- PRESTON, C.M. 2000. Repression of viral transcription during herpes simplex virus latency. *J. Gen. Virol.* 81: 1 – 19.
- RADOSTITS, O.M., O.C. GAY, D.C. BLOOD and K.W. HINCHLIFF. 2000. *Veterinary Medicine: A Textbook of the Disease of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*, 9th. W.B. Saunders Company Ltd. pp. 1173 – 1184.

- RIJSEWIJK, F.A., M.J. KAASHOEK, J.P. LANGEVELD, R. MELOEN, J. JUDEK, K. BIENKOWSKA-SZEWCZYK, M.A. MARIS-VELDHUIS and J.T. VAN OIRSCHOT. 1999. Epitopes on glycoprotein C of *Bovine herpesvirus-1* (BHV-1) that allow differentiation between BHV-1.1 and BHV-1.2 strains. *J. Gen. Virol.* 80: 1477 – 1483.
- ROLLA, J., M. LARSKA and M.P. POLAK. 2005. Detection of *Bovine herpesvirus-1* from an outbreak of infectious bovine rhinotracheitis. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 49: 267 – 271.
- ROLLA, J., M.P. POLAK and J.F. ZMUDZINSKI. 2003. Amplification of DNA BHV-1 isolated from semen of naturally infected bulls. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 47: 71 – 75.
- SAEPULLOH, M., I.W.T. WIBAWAN, D. SAJUTHI dan S. SETIYANINGSIH. 2009. Karakterisasi molekuler *Bovine herpesvirus type 1* (BHV-1) isolat Indonesia. *JITV* 14(1): 66 – 74.
- SAEPULLOH, M., R.M.A. ADJID, I.W.T. WIBAWAN dan DARMINTO. 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.
- SAROSA A. 1985. Kajian Prevalensi Serologi Penyakit *Infectious Bovine Rhinotracheitis* pada Sapi dan Kerbau di Beberapa Daerah di Indonesia. Tesis Master. Fakultas Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- SILIM, A. and M.A. ELAZHARY. 1983. Detection of infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhoea viruses in the nasal epithelial cells by the direct immunofluorescence technique. *Can. J. Comp. Med.* 47: 18 – 22.
- SMITS, C.B., C. VAN MAANEN, R.D. GLAS, A.L.W. DE GEE, T. DIJKSTRAB, J.T. VAN OIRSCHOT and F.A.M. RIJSEWIJK. 2000. Comparison of three polymerase chain reaction methods for routine detection of *Bovine herpesvirus-1* DNA in fresh bull semen. *J. Virol. Methods* 85: 65 – 73.
- SPIJKI, E.R., P.A. ESTEVES, M. DE LIMA, A.C. FRANCO, C. CHIMINAZZO, E.F. FLORES, R. WEIBLEN, D. DRIEMMER and P.M. ROEHE. 2004. Comparative pathogenicity of *Bovine herpesvirus-1* (BHV-1) subtypes 1 (BHV-1.1) and 2a (BHV-1.2a). *Pesq. Vet. Bras.* 24(1): 43 – 49.
- SPIJKI, F.R., P.A. ESTEVES, A.D. SILVA, A.C. FRANCO, F.A.M. RIJSEWIJK and P.M. ROEHE. 2005. A monoclonal antibody-based ELISA allows discrimination between responses induced by *Bovine herpesvirus* subtypes 1 (BoHV-1.1) and 2 (BoHV-1.2). *J. Virol. Meth.* 129: 191 – 193.
- STRAUB, O.C. 1990. Infectious bovine rhinotracheitis virus. *In: Virus Infections of Ruminants.* DINTER, Z. and B. MOREIN (Eds.). Elsevier Science, Amsterdam. pp. 71 – 108.
- SUDARISMAN. 1992. Studi Epidemiologi dan Isolasi Agen Penyakit *Infectious Bovine Rhinotracheitis* pada Sapi Perah di Indonesia. Laporan Hasil penelitian 1992 – 1993. Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- VAN DONKERSGOED, J. and L.A. BABIUK. 1991. Diagnosing and managing the respiratory from of infectious bovine rhinotracheitis. *Vet. Med.* 86: 86 – 91.
- VAN ENGELENBURG, F.A.C., F.W. VAN SCHIE, F.A.M. RIJSEWIJK and J.T. VAN OIRSCHOT. 1995. Excretion of *Bovine herpesvirus-1* in semen is detected much longer by PCR than by virus isolation. *J. Clin. Microbiol.* 33(2): 308 – 312.
- VAN OIRSCHOT, J.T. 1995. *Bovine herpesvirus 1* in semen of bulls and the risk of transmission: a brief review. *Vet. Q* 17(1): 29 – 33.
- VILCEK, S. 1993. Detection of the *Bovine herpesvirus-1* (BHV-1) genome by PCR. *J. Virol. Methods* 41: 245 – 248.
- VOGEL, F.S.F., E.F. FLORES, R. WEIBLEN, E.R. WINKELMANN, M.P. MORAES and J.F.M. RAGANÇA. 2004. Intrapreputial infection of young bulls with *Bovine herpesvirus type 1.2* (BHV-1.2): Acute balanoposthitis, latent infection and detection of viral DNA in regional neural and non-neural tissues 50 days after experimental reactivation. *Vet. Microbiol.* 98: 185 – 196.
- WIEDMANN, M., R. BRANDON, P. WAGNER, E.J. DUBOVI and C.A. BATT. 1993. Detection of *Bovine herpesvirus-1* in bovine semen by a nested PCR assay. *J. Virol. Methods* 44: 129 – 139.
- WINKLER, M.T., A. DOSTER and V. JONES. 2000. Persistence and reactivation of *Bovine herpesvirus-1* in the tonsils of latently infected calves. *J. Virol.* 74: 5337 – 5346.
- WYLER, R., M. ENGELS and SCHWYZER. 1989. Infectious *Bovine rhinotracheitis/vulvovaginitis* (BHV-1). *In: Herpesvirus Disease of Cattle, Horses and Pigs.* WITTMANN, G. (Ed.). Kluwer Academic Publishers, Boston. Mas: 1 – 72.