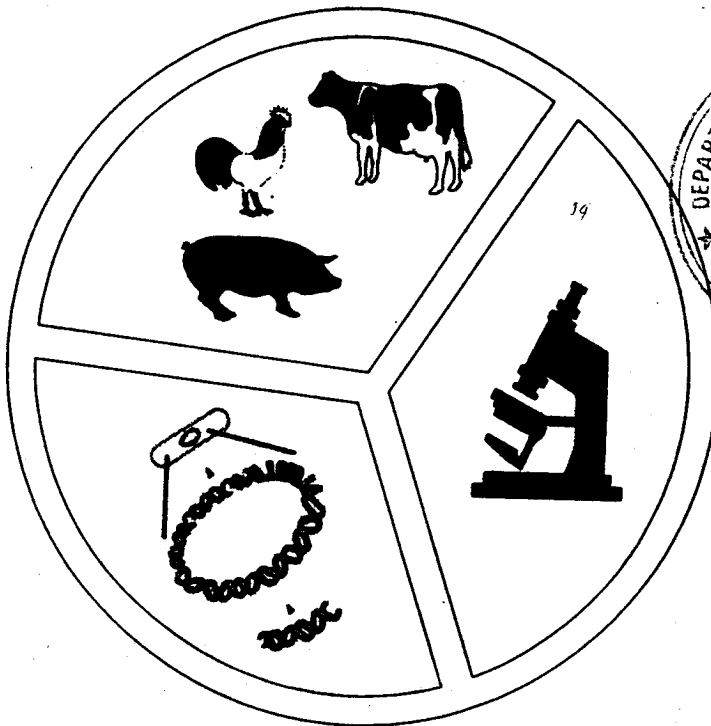


PROSIDING

SEMINAR NASIONAL TEKNOLOGI VETERINER UNTUK MENINGKATKAN KESEHATAN HEWAN DAN PENGAMANAN BAHAN PANGAN ASAL TERNAK

CISARUA, BOGOR 22 -24 MARET 1994



**BALAI PENELITIAN VETERINER
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
DEPARTEMEN PERTANIAN**

BOGOR, 1995

DAFTAR ISI

Halaman

Kata Pengantar	i
Materi Arahan Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian	xiii

I. MAKALAH UNDANGAN

Pembinaan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak (<i>Soehadji</i>).....	1
Peranan Pusat Antar Universitas (PAU) - Bioteknologi dalam Menunjang Penelitian Teknologi Veteriner untuk Meningkatkan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak (<i>Widya Asmara dan Wayan T. Artama</i>)	16
Peranan Perguruan Tinggi Dalam Pembinaan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak (<i>Emir A. Siregar</i>)	20
Keterpaduan Penelitian Veteriner Dalam Kegiatan IPTEKVET untuk Menunjang Pembangunan Subsektor Peternakan pada Pelita VI (<i>Sjamsul Bahri</i>)	29 ^v
Peluang Kerjasama Antar Swasta Nasional dan Lembaga Penelitian Pemerintah dalam Meningkatkan Upaya Pembinaan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak (<i>Tjiptardjo Pronohartono</i>)	40
Peranan Lembaga Swadaya Masyarakat dalam Meningkatkan Upaya Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak (<i>M. Yani</i>)	47
Peluang Kerjasama Penelitian Bidang Veteriner pada Tingkat Internasional (<i>Jan Nari</i>)	51
The Application of Serological, Biochemical and Molecular Techniques for The Differentiation of Stocks of <i>Trypanosoma evansi</i> (<i>Tudor W. Jones</i>)	56
Validation of Enzyme Linked Immunosorbent Immunoassays in The Diagnosis and Control of <i>Trypanosoma evansi</i> in South East Asia (<i>A. G. Luckins</i>).....	62
The Development of Vaccines for The Control of <i>Fasciola hepatica</i> Infection in Ruminants (<i>Terry W. Spithill</i>)	69
Residu dan Cemaran dalam Bahan Pangan Asal Hewan (<i>T.B. Murdiati dan Sjamsul Bahri</i>)	74
Application of PCR to The Identification of Sheep Associated MCF Virus (SA-MCF) in Both Natural and Dead End Hosts (<i>H. W. Reid and S. F. Baxter</i>)	82

Development of Recombinant Vaccines for New Castle Disease and Infectious Bursal Disease	
(Philip R. Lehrbach).....	86

II. TEKNOLOGI VETERINER

A. Virologi

Aplikasi Teknik Pengambilan Spesimen Otak dengan Menggunakan Straw untuk Diagnosis Rabies	
✓ (Tjandragita S., Agus Nurhadi dan Zulkifli)	93
Aplikasi Uji Hambat Hemaglutinasi untuk Serodiagnosis Penyakit Aujeszky	
✓ (A. Sarosa)	95 ~
Deteksi Antigen (Agen) Penyakit Jembrana dengan Teknik Immunohistokimia Labeled Avidin Biotin	
(Budiantono, D.M.N. Dharma dan A.A. G. Putra)	99
Deteksi Bovine Virus Diarrhoea pada Jaringan dengan Teknik Immunohistokimia	
✓ (Helmy Hamid dan Ng. Ginting).....	103 ✓
Prevalensi Reaktor Virus Akabane di Propinsi Lampung	
✓ (I. Sendow, Sri Marfiatiningsih dan Sukarsih)	107 ✓
Diagnosis <i>Malignant Catarrhal Fever</i> di Indonesia dengan Menggunakan Teknik Reaksi Berantai Polimerase (PCR)	
✓ (Agus Wiyono, Sif Baxter, M. Saefulloh, Sudarisman, R. Damayanti, P.W. Daniels dan H.W. Reid).....	112 ✓
Keragaman Genetik Isolat Virus Penyebab Wabah Penyakit Orf di Bogor, Jawa Barat	
✓ (R.M.A. Adjid)	121 ✓
Potensi Virus Newcastle Disease Galur Vaksin dalam Tempat Penyimpanan Darurat	
✓ (Darminto dan P. Ronohardjo)	127 ✓
Pathogenesis of Field Isolates of Acute Infectious Bursal Disease with High Mortality in Indonesia	
✓ (Lies Parede, H. Hamid, P. Ronohardjo dan R. Indriani)	131 ✓
Aplikasi Berbagai Program Vaksinasi dan Uji Tantang Terhadap Penyakit Gumboro pada Ayam Petelur	
✓ (Lies Parede, P. Ronohardjo, R. Indriani dan H. Hamid)	136 ✓
Survai Serologik Terhadap Infectious Laryngotrachietis (ILT) pada Ayam Buras dan Ras di Jawa Barat	
✓ (R. Haryadi M., Darminto dan Zulkifli).....	140 ✓
Studi Pendahuluan Pengembangan Metode Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) untuk Mendeteksi Antibodi Virus Rabies pada Anjing di Indonesia	
✓ (Tjandragita S)	148
Studi Berbagai Macam Aplikasi Vaksin Gumboro pada Ayam Broiler	
(Arini N., Sumpena N.J. dan Pudjiastono)	149

DIAGNOSIS MALIGNANT CATARRHAL FEVER DI INDONESIA DENGAN MENGGUNAKAN TEKNIK REAKSI BERANTAI POLIMERASE (PCR)

A WIYONO^{*}, SIF BAXTER^{**}, M SAEFULLOH^{*}, SUDARISMAN^{*}, R DAMAYANTI^{*},
PW DANIELS^{***} dan HW REID^{**}

^{*} Balai Penelitian Veteriner, Bogor

^{**} Moredun Research Institute-Edinburgh, Inggris

^{***} Berrimah Research Centre-Darwin, Australia

ABSTRAK

Malignant catarrhal fever (MCF) merupakan penyakit limfoproliferasi pada sapi, kerbau dan rusa. Di Indonesia, MCF merupakan penyakit ekonomis penting. Diagnosisnya hingga saat ini masih berdasarkan pada gejala klinik dan perubahan patologi. Teknik PCR telah dicoba dipergunakan untuk mendeteksi OHV-2, agen penyebab SA-MCF, pada beberapa kasus alami SA-MCF pada sapi Bali dan kerbau yang berasal dari Bogor (Jabar), Tegal (Jateng), dan Mataram (NTB), juga sapi Bali dan kerbau yang ditulari SA-MCF secara buatan. Infeksi OHV-2 dapat dideteksi pada kasus SA-MCF di Indonesia dengan teknik PCR. Berdasarkan hasil yang diperoleh ini, disimpulkan bahwa teknik PCR dapat dipergunakan untuk mendiagnosis MCF di Indonesia.

ABSTRACT

Malignant catarrhal fever (MCF) is a lymphoproliferative disease affecting cattle, buffalo and deer. In Indonesia, MCF is considered to be an economically important disease. The diagnosis is relied on clinical signs and pathological findings. PCR technique has been successfully used to detect OHV-2, SA-MCF causal agent, in some SA-MCF natural cases in Bali cattle and buffaloes from Bogor (West Java), Tegal (Central Java) dan Mataram (West Nusa Tenggara), as well as in experimentally infected SA-MCF cases in Bali cattle and buffaloes. Infection of OHV-2 was detected from all of SA-MCF cases in Indonesia using PCR. Based on this result, it is therefore concluded that MCF in Indonesia can be diagnosed using the PCR technique.

PENDAHULUAN

Malignant catarrhal fever (MCF) atau penyakit ingusan adalah penyakit yang menyerang sapi, kerbau dan ruminansi liar (rusa). Penyakit ini bersifat fatal dan menyebabkan proliferasi dan infiltrasi limfoid yang diikuti oleh nekrosis di berbagai jaringan (Plowright, 1984).

Ada dua macam MCF, dikenal di dunia, yaitu WA-MCF (*wildebeest-associated* MCF) atau MCF yang berkaitan dengan wildebeest, dan SA-MCF (*sheep-associated* MCF) atau MCF yang berkaitan dengan domba (Plowright *et al.*, 1960). WA-MCF dilaporkan terjadi di Afrika dan di kebun binatang yang memiliki hewan wildebeest. Sedangkan SA-MCF terjadi di seluruh dunia termasuk Afrika. Kedua tipe MCF secara klinik dan histopatologi tidak dapat dibedakan (Plowright, 1984). Agen penyebab WA-MCF sudah dapat diisolasi yaitu

Bovine herpesvirus-3 (Plowright *et al.*, 1960) yang kemudian disarankan oleh Reid *et al.*, (1975) namanya menjadi *Alcelaphinae herpesvirus-1* (AHV-1); sedang virus SA-MCF sampai saat ini belum bisa diisolasi. Akan tetapi dari kasus SA-MCF di Inggris dari kelinci, rusa dan sapi (Reid *et al.*, 1983) dan dari sapi Bali di Indonesia (Wiyono, data belum dipublikasi) diperoleh biakan sel limfoblastoid yang infeksi. Reid *et al.*, (1982) berhipotesis bahwa virus SA-MCF dalam sel limfoblastoid tersebut ada dalam bentuk episomal. Selanjutnya virus ini dinamakan *Ovine herpesvirus-2* (OHV-2) (Bridgen dan Reid, 1992; Roizman *et al.*, 1992).

Di Indonesia, MCF pertama kali dilaporkan oleh Paszotta terjadi pada kerbau di Kediri pada tahun 1894, dan kemudian menyebar di Madura, Lombok dan seluruh Jawa (Mansjoer 1954), dan bahkan telah dilaporkan terdapat di seluruh Indonesia kecuali di Propinsi Irian Jaya,

Maluku, Kalimantan Tengah, Barat dan Selatan (Partadiredja *et al.*, 1988). Secara ekonomis penyakit ini merupakan penyakit penting, walaupun kerugian yang pasti olehnya belum diketahui (Daniels *et al.*, 1988).

Diagnosis baku kedua macam MCF hingga saat ini masih berdasarkan gejala klinik dan kelainan patologik (Liggitt dan deMartini, 1980 dan Plowright, 1984). Sedangkan diagnosis secara serologik untuk SA-MCF tidak dapat dikerjakan karena virus agen penyebabnya belum dapat diisolasi (Heuschele, 1983). Disamping itu upaya isolasi agen SA-MCF belum menunjukkan hasil (Plowright, 1984). Oleh karena itu untuk mengetahui lebih jauh mengenai patogenesis dan epidemiologi SA-MCF disarankan untuk memanfaatkan teknik biologi molekuler (Campbell, 1988; Daniels *et al.*, 1988; Flanagan dan Hoffmann, 1988; Reid, 1988; Unruh *et al.*, 1988); pemakaian teknik PCR merupakan salah satu di antaranya.

Sejak pertama kali teknik PCR dikembangkan oleh Saiki *et al.* (1985) dengan memanfaatkan enzim polimerase tahan panas (Saiki *et al.*, 1988), maka teknik ini telah dipakai untuk mendeteksi berbagai macam virus yang menyerang manusia, antara lain virus Epstein-Barr (Telenti *et al.*, 1990) dan virus AIDS (Gibson *et al.*, 1993); juga virus yang menyerang hewan yaitu virus bovine leukosis (Brandon *et al.*, 1991) serta virus penyakit mulut dan kuku (House dan Meyer, 1993).

Penelitian biologi molekular pada MCF telah dilakukan pada WA-MCF yang dilaporkan oleh Shih *et al.* (1988) dan Hsu *et al.*, (1990). Hsu *et al.*, (1990) kemudian mengembangkan PCR untuk AHV-1. Sedangkan Baxter *et al.*, (1993) dengan memanfaatkan OHV-2 mengembangkan PCR untuk SA-MCF.

Tujuan penelitian ini adalah memanfaatkan teknik PCR yang telah dikembangkan oleh Baxter *et al.*, (1993) guna mendiagnosis kejadian MCF di Indonesia.

BAHAN DAN CARA

Sumber spesimen

Hewan normal : Sepuluh ekor sapi Bali yang secara klinik normal diperoleh dari pasar hewan Bekasi. Di samping itu juga diperoleh sepuluh ekor kerbau yang secara klinik normal dari Balai Penelitian Peternakan (Balitnak), Ciawi.

Kasus alami MCF : Kasus alami MCF diperoleh dari berbagai sumber, antara lain dari Balitnak, Balai Penelitian Veteriner (Balitvet), Bogor dan beberapa desa di Kabupaten Bogor.

Kasus MCF hasil penularan buatan: Dari salah satu kasus alami MCF di Balitnak, selanjutnya ditularkan secara buatan berturut-turut pada tiga kerbau dan tiga sapi Bali di Balitvet.

Spesimen diagnostik : Dua Dinas Peternakan mengirim spesimen guna pemeriksaan terhadap penyakit MCF, yaitu Dinas Peternakan Mataram-NTB dan Dinas Peternakan Tegal-Jawa Tengah.

Pemeriksaan histopatologik (HP)

Pemeriksaan dilakukan di Bagian Patologi Balitvet. Spesimen disimpan dalam 10% *Normal Buffered Formalin*, kemudian dilakukan prosedur standard pemotongan organ dan pewarnaan dengan H&E.

Pemeriksaan dengan teknik reaksi bertingkat polimerase (PCR)

Jenis spesimen

Dalam penelitian ini terdapat tiga macam spesimen yang dipergunakan, yaitu organ tanpa pengawet (organ segar), organ disimpan pada gliserin dan sel darah putih perifer (*peripheral blood leucocytes/PBL*).

Organ tanpa pengawet diperoleh dari kasus MCF baik alami maupun penularan buatan di

sekitar Bogor. Segera setelah spesimen diperoleh maka langsung disimpan pada -20°C hingga diproses lebih lanjut.

Spesimen organ yang disimpan dalam gliserin diperoleh dari kasus yang diduga MCF di Kabupaten Tegal.

Spesimen PBL dilarutkan dalam buffer ekstraksi dan disimpan pada -20°C . Spesimen ini diperoleh dari Bogor dan Mataram.

Penyiapan spesimen DNA

Semua spesimen di atas diekstraksi menggunakan fenol dan khloroform, kemudian dipresipitasi dengan etanol, sesuai dengan prosedur standard yang dijabarkan oleh Sambrook *et al.*, (1989). DNA yang diperoleh kemudian dikuantifikasi menggunakan alat spektrofotometer.

Perbanyakan DNA secara in vitro

Perbanyakan DNA secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan teknik PCR (Saiki *et al.*, 1985). Sepasang *nested primer* yang diberi nama 556/755 dan 556/555 digunakan dalam teknik PCR. Teknik PCR yang dipergunakan untuk penelitian ini adalah sesuai dengan yang dipakai oleh Baxter *et al.*, (1993). Pasangan *primer* 556/755 dan 556/555 menghasilkan 238 bp (*base pairs*/pasangan basa). Reaksi perbanyakan ini menggunakan katalisator yang

tahan panas yaitu *Taq DNA polymerase* (Saiki *et al.*, 1988).

Visualisasi hasil perbanyakan DNA

Hasil perbanyakan DNA secara *in vitro* diekstraksi terlebih dahulu dengan khloroform dan isoamilalkohol. Sebesar lima persen dari hasil ekstraksi tersebut dianalisis langsung dengan gel agaros yang mengandung etidium bromida (Sambrook *et al.*, 1989) dan DNA dalam gel tersebut dilihat menggunakan alat transluminator ultraviolet.

HASIL

Hasil pemeriksaan dengan menggunakan teknik PCR terhadap spesimen sepuluh sapi Bali yang secara klinik normal dari pasar hewan Bekasi menunjukkan bahwa tidak satu pun hewan tersebut mengandung virus SA-MCF (Tabel 1a). Sedangkan dari sepuluh ekor kerbau yang secara klinik normal di Balai Penelitian Peternakan, Ciawi, terdapat satu ekor hewan mengandung virus SA-MCF, yaitu kerbau No. 295 (Tabel 1b). Dan kurang dari empat bulan setelah diketahui mengandung virus SA-MCF, kerbau ini dilaporkan mati mendadak. Lebih lanjut data mengenai kerbau ini akan disajikan dan dibahas pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan PCR terhadap PBL dari hewan yang secara klinis normal

a. Hewan asal pasar hewan Bekasi

No	Nomor hewan	Spesies	Sampel	Tanggal ambil	Hasil PCR
1	SB 01	Sapi Bali	PBL	Okt 91	-
2	SB 03	Sapi Bali	PBL	Okt 91	-
3	SB 04	Sapi Bali	PBL	Okt 91	-
4	SB 06	Sapi Bali	PBL	Okt 91	-
5	SB 07	Sapi Bali	PBL	Okt 91	-
6	SB 08	Sapi Bali	PBL	Okt 91	-
7	SB 12	Sapi Bali	PBL	Okt 91	-
8	SB 15	Sapi Bali	PBL	Okt 91	-
9	SB 29	Sapi Bali	PBL	Okt 91	-
10	SB 30	Sapi Bali	PBL	Okt 91	-

b. Hewan asal Balai Penelitian Ternak, Ciawi

No	Nomor hewan	Spesies	Sampel	Tanggal ambil	Hasil PCR
1	387	Kerbau Murrah	PBL	Nop 91	-
2	295	Kerbau Lokal	PBL	Nop 91	-
3	268	Kerbau Lokal	PBL	Nop 91	-
4	437	Kerbau Murrah	PBL	Nop 91	-
5	156	Kerbau Lokal	PBL	Nop 91	-
6	167	Kerbau Lokal	PBL	Nop 91	-
7	166	Kerbau Lokal	PBL	Nop 91	-
8	152	Kerbau Lokal	PBL	Nop 91	-
9	4162	Kerbau Murrah	PBL	Nop 91	-
10	157	Kerbau Lokal	PBL	Nop 91	-

Dari Balitnak-Ciawi diperoleh sejumlah sembilan ekor kerbau yang sakit dan kemudian dibunuh atau kerbau mati mendadak. Hasil pemeriksaan PCR didampingkan dengan hasil pemeriksaan histopatologik (HP) pada Tabel 2a, terlihat bahwa dari sembilan kerbau terdapat empat yang didiagnosis bukan MCF baik secara PCR maupun HP (kerbau No. 347, 414, 157 dan 448), dan empat yang didiagnosis MCF secara PCR dan HP (kerbau No. 505, 226, 159 dan 171). Sementara itu diagnosis yang berbeda antara PCR dan HP diperoleh dari kerbau No. 295, yaitu kerbau yang telah diungkapkan pada Tabel 1 terdahulu. Secara PCR, kerbau yang mati mendadak ini diketahui mengandung virus SA-MCF, akan tetapi secara HP kelainan yang ada tidak cukup untuk mendiagnosis hewan tersebut terinfeksi MCF.

Pada saat yang hampir sama, kasus kematian hewan juga diperoleh dari Balitvet, yaitu sejumlah tiga ekor sapi Bali dan satu ekor kerbau (Tabel 2b). Sapi Bali HM dan MM adalah bagian percobaan penularan MCF secara kontak dengan domba bunting dan beranak. Kedua sapi Bali tersebut terlihat menunjukkan gejala klinik khas MCF setelah tujuh bulan berada di bawah kandang domba. Sakit kedua sapi Bali tersebut berselang satu minggu. Sapi Bali No. 05, merupakan salah satu dari beberapa sapi Bali di Balitvet yang berada sekitar 100 meter dari kandang domba bunting dan beranak, seperti

penelitian MCF disebutkan di atas. Ketiga sapi Bali ini dibunuh pada saat mendekati kematian. Kerbau No. 30 ditemukan mati mendadak tanpa gejala klinik yang jelas. Pada Tabel 2b ini juga terlihat adanya kecocokan antara hasil pemeriksaan PCR dan HP, yaitu ketiga sapi Bali (HM, MM dan 05) didiagnosis sebagai MCF sedang kerbau No. 30 didiagnosis bukan sebagai MCF.

Kejadian kematian pada kerbau di Kabupaten Bogor tidak luput dari penelitian ini (Tabel 2c). Terdapat tiga ekor kerbau sakit dan kemudian dipotong oleh pemiliknya (Kerbau No. 102, 103 dan 104). Kerbau No. 102 dan 103 didiagnosis MCF secara PCR dan HP, sedang kerbau No. 104 didiagnosis bukan MCF memakai kedua metoda pemeriksaan tersebut. Sementara itu satu ekor kerbau (No. 101) yang pada hari ketiga sakit diperiksa secara PCR dideteksi mengandung virus SA-MCF. Secara klinik kerbau No. 101 ini menunjukkan gejala khas MCF, yaitu antara lain demam tinggi, pembesaran limfoglandula, leleran airmata dan hidung kental, serta kekeruhan kornea mata. Akan tetapi oleh pemiliknya tetap dibiarkan hidup terus. Kurang dari tiga bulan kemudian kerbau ini dilaporkan mati mendadak tanpa gejala klinis yang jelas, sehingga spesimen untuk pemeriksaan HP dan pemeriksaan ulang PCR tidak tersedia.

Penelitian dilaksanakan juga pada kasus penularan buatan MCF di Balitvet. Salah satu

Tabel 2. Hasil pemeriksaan PCR dan HP terhadap spesimen yang berasal dari hewan yang secara alami sakit dan dibunuh atau hewan mati mendadak**a. Hewan asal Balai Penelitian Ternak, Ciawi**

No	Nomor hewan	Spesies	Tanggal	Sampel diuji	Hasil uji	
					PCR	HP
1	347	Kerbau	13/03/91	LN	-	-
2	505	Kerbau	15/05/91	LN	+	+
3	226	Kerbau	13/09/91	PBL	+	+
4	414	Kerbau	TA	PBL	-	-
5	295	Kerbau	29/02/92	PBL	+	-
6	159	Kerbau	22/04/92	PBL	+	+
7	157	Kerbau	05/05/92	LN	-	-
8	171	Kerbau	30/07/92	LN	+	+
9	448	Kerbau	05/10/92	LN	-	-

b. Hewan asal Balai Penelitian Veteriner

No	Nomor hewan	Spesies	Tanggal	Sampel diuji	Hasil uji	
					PCR	HP
1	HM	Sapi Bali	21/4/92	LN	+	+
2	MM	Sapi Bali	2/5/92	LN	+	+
3	05	Sapi Bali	7/5/92	PBL, LN	+	+
4	30	Kerbau	20/4/92	LN	-	-

c. Hewan asal Kabupaten Bogor

No	Nomor hewan	Spesies	Asal kasus	Sampel diuji	Hasil uji	
					PCR	HP
1	101	Kerbau	Sindangbarang	PBL	+	+
2	102	Kerbau	Banjarsari-Cia	LN	+	+
3	103	Kerbau	wi Banjarsari-Cia	PBL	+	+
4	104	Kerbau	wi Banjarsari-Cia	PBL	-	-

Catatan:

PBL : Peripheral blood leucocytes (sel darah putih perifer)

LN : Lymph node (limfoglandula)

TA : Tidak ada

HP : Histopatologi

kasus alami MCF dari Balitnak, yaitu kerbau No. 505, dipergunakan sebagai awal sumber inokulum pada penularan buatan secara berurut sebagai berikut (Tabel 3). Darah berheparin kerbau No. 505 pada saat terserang MCF

ditularkan pada sapi Bali No. 63. Selanjutnya pada saat sapi Bali No. 63 menunjukkan gejala klinis MCF, darahnya ditularkan pada sapi Bali No. 66 dan kerbau No. 36. Akhirnya pada saat kerbau No. 36 terserang MCF, darahnya

ditularkan pada kerbau No. 38 dan sapi bali No. 55. Kedua hewan terakhir inipun terserang MCF. Kesemua hewan di atas didiagnosis sebagai MCF secara PCR dan HP.

Spesimen diagnosis yang diterima Balitvet juga diteliti. Terdapat empat spesimen diterima dari Dinas Peternakan Tingkat II Tegal. Sebagaimana biasa spesimen dikirim untuk

pemeriksaan HP dan virologi. Untuk virologi, spesimen disimpan dalam pengawet gliserin. Sungguhpun pengawet gliserin bukan pengawet yang disarankan untuk penyimpanan spesimen guna pemeriksaan PCR, spesimen dari Dinas Peternakan Tegal ini tetap diperiksa secara PCR. Pada Tabel 4a terlihat bahwa tiga diantara spesimen tersebut secara HP didiagnosis MCF,

Tabel 3. Hasil pemeriksaan PCR dan HP terhadap spesimen dari kerbau dan sapi Bali di Balitvet yang diinfeksi dengan darah kerbau asal Balitnak-Ciawi yang terserang MCF

No	Nomor hewan	Jenis hewan	Sumber infeksi buatan	Sampel diuji	Hasil uji	
					PCR	HP
1	505	Kerbau	Kasus alami Balitnak	LN	+	+
2	63	Sapi Bali	505	PBL	+	+
3	66	Sapi Bali	63	PBL	+	+
4	36	Kerbau	63	PBL	-	+
5	38	Kerbau	36	PBL	+	+
6	55	Sapi Bali	36	PBL	+	+

Tabel 4. Hasil pemeriksaan PCR dan HP dari sampel diagnostik di Balitvet

a. Asal Dinas Peternakan TK II Tegal, Jawa Tengah

No	Jenis hewan	Kode (No sampel)	Sampel	Tanggal terima	Hasil uji	
					PCR	HP
1	Kerbau	T1 93/86	Otak dalam gliserin	23/1/93	+	+
2	Kerbau	T4 93/303	Otak dalam gliserin	TA	-	+
3	Kerbau	T5 93/458A	Otak dalam gliserin	7/4/93	-	+
4	Kerbau	T6 93458B	Otak dalam gliserin	7/4/93	-	-

b. Asal Mataram, Nusa Tenggara Barat

No	Nomor hewan	Kode (No sampel)	Asal kasus	Sampel	Tanggal terima	Hasil uji	
						PCR	HP
1	Kerbau	K J-7	RPH Mataram	PBL	21/2/93	-	-
2	Sapi Bali	SB J-8 93/287	RPH Mataram	PBL	21/2/93	+	+
3	Sapi Bali	94/246	Dispet Mataram	PBL	1/2/94	+	+
4	Sapi Bali	94/265	Dispet Mataram	Darah dalam heparin	1/2/94	+	+

yaitu 93/86, 93/303 dan 93/458A. Dan ternyata satu dari diantaranya, yaitu 93/86, bisa dideteksi mengandung virus SA-MCF dengan teknik PCR.

Dari NTB, terdapat dua macam spesimen yaitu dua spesimen hasil survai KJ-7 dan SBJ-8, dan dua spesimen diagnosis yaitu 94/246 dan 94/265 (Tabel 4b). Satu di antara dua spesimen diagnosis di atas dikirim berupa PBL disiapkan oleh Laboratorium tipe B Mataram sesuai prosedur standard. Terdapat kesesuaian antara hasil pemeriksaan HP dan PCR, yaitu satu hewan (KJ-7) didiagnosis bukan MCF, sedang tiga lainnya MCF.

PEMBAHASAN

Sapi Bali yang berasal dari pasar hewan dan secara klinik normal, ternyata dengan metoda PCR memang terbukti tidak mengandung virus SA-MCF. Akan tetapi dari kerbau normal di Balitnak, terdapat satu (No. 295) yang terinfeksi oleh OHV-2, agen penyebab SA-MCF. Hal tersebut terdapat dua kemungkinan mengapa kerbau No. 295 ini positif PCR. Pertama, mungkin bahwa hal ini merupakan fenomena infeksi laten seperti yang terjadi pada infeksi virus herpes lainnya, antara lain pada infeksi virus herpes simplex (HSV) 1 dan 2 (Openshaw, 1984), virus IBR (Pastoret *et al.*, 1984) dan pada virus pseudorabies (Ben-Porat *et al.*, 1984); akan tetapi kemungkinan tadi sangat kecil, karena selama ini diketahui bahwa penyakit MCF adalah penyakit yang fatal (Plowright, 1984). Kemungkinan kedua adalah bahwa kerbau tersebut sedang dalam masa inkubasi penyakit (Plowright, 1984); mengingat bahwa kerbau ini ditemukan mati mendadak kurang dari empat bulan, setelah diketahui bahwa kerbau tersebut membawa virus SA-MCF berdasarkan uji PCR dari PBL-nya. Dan pada spesimen limfoglandula kerbau ini, pada saat mati, yang diperiksa dengan teknik PCR dapat dideteksi kembali virus SA-MCFnya, yang berarti hewan

ini memang terinfeksi virus SA-MCF (Baxter *et al.*, 1993) sehingga besar kemungkinan kematian kerbau ini karena MCF. Sayangnya, secara HP perubahan yang ditemukan tidak cukup untuk memperkuat mendiagnosis MCF; besar kemungkinan bahwa perubahan patologis yang terjadi pada kerbau ini, pada saat mati, belum parah. Memang perubahan patologis seperti halnya perubahan klinis pada kasus MCF sangat bervariasi, mulai dari yang sangat ringan hingga yang paling parah. Adanya variasi gambaran klinis dan histopatologis pada kasus SA-MCF pada sapi Bali di Balitnak dilaporkan pula oleh Young *et al.*, (1988).

Sebagai tambahan, semua kerbau di Balitnak Ciawi dipelihara secara intensif dalam kandang yang relatif dekat letaknya dengan kandang domba yang beberapa diantaranya ada yang melahirkan. Beberapa domba ini juga diketahui mengandung virus SA-MCF dengan teknik PCR (Wiyono, data belum dipublikasi). Hoffmann *et al.* (1984) melaporkan bahwa kasus SA-MCF pada kerbau di Balitnak-Ciawi pada umumnya ringan.

Apabila benar bahwa kerbau No. 295 tersebut mati karena infeksi OHV-2 yang sudah bisa dideteksi kurang dari empat bulan sebelumnya, berarti masa inkubasi MCF pada kerbau No. 295 itu paling cepat adalah empat bulan (mungkin lebih). Menurut Plowright (1984), pada penularan buatan pada sapi, diketahui bahwa masa inkubasi MCF memang bervariasi, mulai dari sembilan hari hingga 77 hari. Karenanya masa inkubasi kerbau No. 295 ini sangat panjang dibandingkan data yang diperoleh Plowright tersebut.

Berkaitan dengan kejadian kerbau No. 295 ini, dugaan yang serupa juga mungkin berlaku pada salah satu kasus hewan sakit, yaitu kerbau No. 101 di Kabupaten Bogor. Seperti halnya di Balitnak, peternak kerbau No. 101 ini juga mempunyai beberapa ekor domba, termasuk domba yang sedang bunting dan beranak dengan

kandang yang letaknya berdekatan. Sehingga dengan klinis khas MCF dan dari spesimen PBLnya dapat dideteksi adanya infeksi OHV-2, maka besar kemungkinan kematian kerbau inipun, tiga bulan kemudian, karena MCF, walaupun pemeriksaan PCR dan HP pada saat mati tidak dilakukan. Hal ini sesuai dengan pendapat Plowright (1984) yang menyatakan bahwa *case fatality rate* MCF mendekati 100%.

Seperti halnya di Balitnak-Ciawi, maka di Balitvet juga dilaporkan terjadi beberapa kasus alami MCF. Kejadian ini berlangsung pada saat penelitian penularan secara kontak antara hewan peka, yaitu sapi Bali, dengan domba bunting dan beranak.

Menilik kecocokan hasil dan terdapat hubungan yang sangat baik antara pemeriksaan HP dan PCR dari spesimen yang berasal dari Balitnak, Balitvet dan NTB, maka PCR dapat dipakai sebagai alat diagnosis MCF. Semua hewan yang didiagnosis MCF secara HP, daripadanya bisa dideteksi infeksi OHV-2. Sebaliknya pada hewan sakit yang bukan MCF secara HP, dan sapi Bali yang klinis normal, tidak terdeteksi adanya virus SA-MCF. Kecualian untuk ini adalah kerbau No. 295 dan spesimen diagnostik yang berasal dari Tegal di mana hasil PCRnya tidak mendukung HP; hal ini bisa dipahami mengingat bahwa pengawet spesimen bukanlah pengawet standard untuk pemeriksaan PCR (Sambrook *et al.*, 1989), walaupun satu diantaranya dapat diketahui adanya infeksi OHV-2 (positif PCR).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Balitnak-Ciawi yang telah memungkinkan meneliti kasus kematian ternak di sana. Demikian pula kepada Dinas Peternakan Tingkat II Tegal dan Tingkat I Mataram serta Laboratorium tipe C Mataram

yang berkenan mengirim spesimen ke Balitvet penulis ucapkan hal yang sama. Sebagian dana penelitian ini berasal dari Overseas Development Administration (ODA)-London, untuk itu diucapkan terimakasih.

DAFTAR PUSTAKA

- Baxter, S.I.F., I. Pow, A. Bridgen dan H.W. Reid. 1993. Polymerase chain reaction detection of the sheep-associated agent of malignant catarrhal fever. *Archives of Virology* 132:145-159
- Ben-Porat, T., A.M. Deatly, B.C. Easterday, D. Galloway, A.S. Kaplan dan S. McGregor. 1984. Latency of pseudorabies virus. Dalam *Latent Herpesvirus Infections in Veterinary Medicine*, Eds. G Wittmann, RM Gaskell HJ Rziha, Martinus Nijhoff Publishers, Boston, pp365-383
- Brandon, R.B., H. Naif, R.C.W. Daniel dan M.F. Lavin. 1991. Early detection of bovine leucosis virus DNA in infected sheep using the polymerase chain reaction. *Research in Veterinary Science* 50:89-94
- Bridgen, A and H.W. Reid. 1991. Derivation of a DNA clone corresponding to the viral agent of sheep-associated malignant catarrhal fever. *Research Veterinary Science* 50:38-44
- Campbell, R.S.F. 1988. The Pathology of malignant catarrhal fever. Dalam *Malignant Catarrhal Fever in Asian Livestock*. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra. p.64-67
- Daniels, P.W., Sudarisman, A. Wiyono dan P. Ronchardjo. 1988. Epidemiological aspects of malignant catarrhal fever in Indonesia. Dalam *Malignant Catarrhal Fever in Asian Livestock*. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra. p20-31
- Flanagan, M and D. Hoffmann. 1988. Malignant catarrhal fever research in Queensland. Dalam *Malignant Catarrhal Fever in Asian Livestock*. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra. p.64-67
- Gibson, K.M., J. Mori dan J.P. Clewley. 1993. Detection of HIV-1 in serum, using reverse transcription and the polymerase chain reaction (RT-PCR). *Journal of Virological Methods* 43:101-110
- Heuschele, W.P. 1983. Diagnosis of malignant catarrhal fever due to alcelaphine herpesvirus-1. *Proceedings 11: Int Sym Vet Lab Diag*. p707-713
- Hoffmann, D., Soeripto, S. Sobironingsih, R.S.F. Campbell dan B.C. Clarke. 1984. The clinicopathology of a

- malignant catarrhal fever syndrome in the Indonesian swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). *Australian Veterinary Journal* 61:102-112
- House, C. dan R.F. Meyer. 1993. The detection of foot and mouth disease virus in oesophageal-pharyngeal samples by a polymerase chain reaction technique. *Journal of Virological Methods* 43:1-6
- Hsu, D., L.M. Shih, A.E. Castro dan Y.C. Zee. 1990. A diagnostic method to detect alcelaphine herpesvirus-1 of malignant catarrhal fever using the polymerase chain reaction. *Archives Virology* 114:259-263
- Liggitt, H.D. dan J.C. DeMartini. 1980. The pathomorphology of malignant catarrhal fever. I. Generalized lymphoid vasculitis. *Veterinary Pathology* 17:58-73
- Mansjoer, M. 1954. Penyidikan tentang penyakit Ingusan pada sapi dan kerbau di Indonesia, terutama di Pulau Lombok. Tesis PhD. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Indonesia, Bogor. p.187.
- Openshaw, H. 1984. A review of HSV latency in experimental animals. Dalam *Latent Herpesvirus Infections in Veterinary Medicine*, Eds. G Wittmann, RM Gaskell HJ Rziha, Martinus Nijhoff Publishers, Boston, pp33-39
- Partadiredja, M., I.G. Sudana dan SUSILO. 1988. Malignant catarrhal fever in Indonesia. Dalam *Malignant Catarrhal Fever in Asian Livestock*. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra. p14-18
- Pastoret, P.P., E. Thiry, B. Brochier, G. Derboven dan H. Vindevogel. 1984. The role of latency in the epizootiology of infectious bovine rhinotracheitis. Dalam *Latent Herpesvirus Infections in Veterinary Medicine*, Eds. G Wittmann, RM Gaskell HJ Rziha, Martinus Nijhoff Publishers, Boston, pp211-227
- Plowright, W. 1984. Malignant catarrhal fever virus: A lymphotropic herpesvirus of ruminants. Dalam *Latent Herpesvirus Infections in Veterinary Medicine*, Eds. G Wittmann, RM Gaskell HJ Rziha, Martinus Nijhoff Publishers, Boston, pp279-305
- Plowright, W., R.D. Ferris dan G.R. Scott. 1960. Blue wildebeest and the aetiological agent of bovine malignant catarrhal fever. *Nature* 188:1167-1169
- Reid, H.W. 1988. Current malignant catarrhal fever research in the United Kingdom. Dalam *Malignant Catarrhal Fever in Asian Livestock*. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra. p98-102
- Reid, H.W., D. Buxton, I. Pow, J. Finlayson dan E.L. Berrie. 1983. A cytotoxic T-lymphocyte line propagated from a rabbit infected with sheep-associated malignant catarrhal fever. *Research in Veterinary Science* 34:109-113
- Reid, H.W., W. Plowright dan L.W. Rowe. 1975. Neutralising antibody to herpesviruses derived from wildebeest and hartebeest in wild animals in East Africa. *Research in Veterinary Science* 18:269-273
- Roizman, B., R.C. Desrosiers, B. Fleckenstein, C. Lopez, A.C. Minson dan M.J. Studdert. 1992. The family Herpesviridae-an update. *Archives Virology* 123:425-449
- Saiki, R.K., S. Scharf, F. Faloona, K.S. Mullis, G.T. Horn dan N. Arnheim. 1985. Enzymatic amplification of beta-globin genomic DNA sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230:1350-1354
- Saiki, R.K., D.H. Gelfand, S. Stoffel, S.T. Scharf, R. Higuchi, G.T. Horn, K.B. Mullis dan H.A. Erlich. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239:487-491
- Sambrook, J., E.F. Fritsch dan T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning- A Laboratory Manual*. 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Shih, L.M., J.M. Irving, Y.C. Zee dan R.F. Pritchett. 1988. Cloning and characterization of a genomic probe for malignant catarrhal fever virus. *American Journal Veterinary Research* 49:1665-1668
- Southern, E.M. 1975. Detection of specific sequence among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *The journal of molecular biology* 98:503-517
- Telenti, A., W.F. Marshall dan T.F. Smith. 1990. Detection of Epstein-Barr virus by polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology* 28:2187-2190
- Unruh, D., B.T. Akoso dan W. Sudarto. 1988. The differential diagnosis of malignant catarrhal fever in Indonesia. Dalam *Malignant Catarrhal Fever in Asian Livestock*. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra. p77-82
- Young, M.P., Sudarisman, P.L. Young, P. Ronohardjo dan P.W. Daniels. 1988. Malignant catarrhal fever in Bali cattle. Dalam *Malignant Catarrhal Fever in Asian Livestock*. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra. p68-72.