

IDENTIFIKASI VIRUS PENYAKIT JEMBRANA PADA SAPI BALI MENGGUNAKAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) DI PROVINSI KEPULAUAN BANGKA BELITUNG

[Identification of Jembrana Disease Virus of Bali Cattle by Using *Polymerase Chain Reaction* (PCR) In the Province of Bangka Belitung Archipelago

Riko Irwanto^{1*}, Correy Wahyu Adi Sulisty², Ari¹, dan Aditya Jeffri Irawan²

¹Program Studi Biologi Fakultas Pertanian, Perikanan dan Biologi Universitas Bangka Belitung, Kampus Terpadu Universitas Bangka Belitung Gedung D Balunijuk, Kecamatan Merawang, Kabupaten Bangka, Provinsi Kepulauan Bangka Belitung, Indonesia

²Laboratorium Veteriner Dinas Pertanian Provinsi Kepulauan Bangka Belitung

^{1*}Email: riko-irwanto@ubb.ac.id; rikoirwanto170392@gmail.com

²Email: babelcorrey@gmail.com

ABSTRACT

Bali cattle is one of the typical Indonesian livestock that is widely reared because of its high reproductive and adaptation capabilities to the marginal land. However, behind these advantages, Bali cattle have a weakness of susceptible to the Jembrana disease. The disease causes a decrease in the immune system of Bali cattle that subsequently affects to other diseases leads to the death of the cattle. The method used in the identification of the Jembrana disease virus was *Polymerase Chain Reaction* (PCR) technique. Ten of Bali Cattle from Panca Tunggal Village of South Bangka Regency and 11 from Temberan village of Pangkalpinang Regency were selected to collect buffy coat from their blood serum. Provirus DNA was collected from the buffy coat then was amplified by the PCR. The result showed that 2 samples were positive Jembrana virus. The study suggests that PCR method could help in identification of the presence of Jembrana disease virus in Bali cattle. DNA analysis is recommended to perform to verify this present result.

Keywords: Bali cattle, Jembrana, PCR.

ABSTRAK

Sapi Bali merupakan salah satu hewan ternak khas Indonesia yang banyak dibudidayakan karena kemampuannya dalam reproduksi dan adaptasi terhadap lingkungan yang tergolong tinggi. Namun, dibalik keunggulan tersebut sapi Bali memiliki kelemahan yaitu rentan terhadap virus jembrana yang dapat menyebabkan penyakit jembrana. Penyakit ini akan menyebabkan penurunan daya tahan tubuh sapi Bali sehingga rentan untuk terkena penyakit lainnya yang akan berujung pada kematian sapi. Metode yang digunakan dalam identifikasi virus penyakit jembrana adalah teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Sebanyak 10 ekor sapi Bali dari Desa Panca Tunggal Kabupaten Bangka Selatan dan 11 ekor dari Desa Temberan Kota Pangkalpinang dipilih untuk diambil buffycoat dari serum darah. Provirus DNA diperoleh dari Buffycoat kemudian diampifikasi menggunakan PCR Hasil menunjukkan bahwa 2 sampel positif terdapat Virus Jembrana. Penelitian ini menunjukkan bahwa metode PCR dapat digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan penyakit Jembrana pada sapi Bali. Analisis DNA dianjurkan dilakukan untuk memverifikasi hasil yang diperoleh.

Kata kunci: Jembrana, PCR, Sapi Bali.

PENDAHULUAN

Sapi Bali merupakan salah satu hewan ternak khas Indonesia yang berasal dari Bali. Hewan ini sekarang banyak dipelihara karena memiliki kemampuan dalam pemanfaatan dan pengembangan cukup baik selain memiliki harga jual lebih tinggi diantara sapi khas Indonesia lainnya. Berdasarkan data Ditjen Peternakan Tahun 2011 tercatat jumlah sapi Bali di Indonesia mencapai 4.789.521 ekor tersebar di 33 provinsi (Hikmawaty *et al.*, 2014). Sapi Bali di Sulawesi Selatan di tahun 2011 populasinya mencapai 1.082.180 ekor, namun pada tahun 2013 mengalami penurunan populasi mencapai 1.070.471 ekor (Ismirandy *et al.*, 2018). Jumlah ini mengalami penurunan dengan terjadinya kemunculan sapi Bali mati mendadak. Permasalahan yang sering terjadi pada peternak yaitu penyakit yang menyerang

hewan ternaknya. Kondisi ini terutama dialami pada kelompok hewan ternak sapi (Buditjahjanto dan Ainul 2012).

Salah satu kasus yang menjadi permasalahan serius pada sapi Bali yaitu penyakit jembrana. Penyakit ini disebabkan oleh virus *Jembrana Disease Virus* (JDV) dengan kematian mencapai 20% (Margawati *et al.*, 2020). Selain itu dapat mengakibatkan kekebalan tubuh menjadi menurun sehingga sangat membahayakan terhadap populasi sapi Bali. Penyakit ini dapat menular terhadap sapi Bali lainnya melalui kontak yang diperantarai oleh serangga (Direktorat Kesehatan Hewan, 2015). Menurut Kusumawati (2011), angka kematian yang disebabkan oleh virus ini dapat mencapai 71% pada 1-6 minggu awal infeksi akut. Kasus kematian sapi Bali yang terjadi di Bali sepanjang tahun 2016 telah terjadi 254 ekor akibat penyakit ini (Catriningrum

*Kontributor Utama

*Diterima: 13 Januari 2021 - Diperbaiki: 13 April 2021 - Disetujui: 7 Juni 2021

dan Aisy, 2017). Adanya sapi Bali yang masuk ke Provinsi Bangka Belitung tentunya perlu dilakukan pengawasan dan pencegahan penyakit khususnya virus *Jembrana* dengan cara melakukan deteksi dini sebelum penyakit dari sapi Bali menular di lingkungan masyarakat.

Virus *Jembrana* merupakan virus RNA yang menginfeksi dengan menempel pada permukaan sel target, kemudian memasukkan materi genetik RNA ke dalam sel target. RNA virus kemudian mengalami transkripsi balik sehingga menjadi cDNA. DNA virus akan bermigrasi dari sitoplasma ke nukleus, dan enzim integrase akan mengintegrasikan DNA virus ke dalam DNA sel inang membentuk provirus (Krisnayanti *et al.*, 2020). Provirus (DNA) tersebut dapat ditemukan pada darah hewan sel target yang terinfeksi misalnya pada sapi Bali.

Virus *Jembrana* dapat dideteksi keberadaannya dengan memanfaatkan beberapa pengujian. Salah satunya dengan mendiagnosa suatu penyakit dapat dilakukan identifikasi melalui isolasi agen penyebab penyakit. Terobosan teknologi dengan sistem pengujian berbasis DNA merupakan salah satu alternatif yang bisa dimanfaatkan (Indriawati *et al.*, 2013) mengatakan virus ini akan mampu terdeteksi melalui teknologi yang berbasis molekuler pada tingkat DNA. Salah satu teknologi yang berbasis molekuler sering digunakan yaitu metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Kehadiran metode ini diharapkan mampu dengan cepat mendeteksi secara akurat keberadaan virus *Jembrana*. Penelitian ini diharapkan menjadi acuan dalam penggunaan metode PCR dan membantu proses pemetaan penyebaran virus *Jembrana* pada sapi Bali khususnya di Kabupaten Bangka Selatan dan Kota Pangkalpinang.

BAHAN DAN CARA KERJA

Sampel yang digunakan adalah 10 ekor sapi dari desa Panca Tunggal (tahun 2019) dan 11 ekor sapi dari desa Temberan (tahun 2020). Masing-masing darah sapi diambil 2,5 mL dicampur dengan EDTA dan disentrifus 8000 rpm hingga diperoleh *Buffycocot* (campuran sel darah putih dan trombosit). Selanjutnya ditambahkan PBS 2 mL dan disimpan pada suhu -70°C . Isolasi total DNA dari koleksi PBS-*Buffycocot* 200 μl , menggunakan kit DNA Isolation Invitrogen mengikuti prosedur yang disarankan oleh INVITROGEN. Total DNA yang dikoleksi disimpan pada suhu -70°C untuk digunakan selanjutnya pada proses PCR. Reagen PCR terdiri dari NFW 4,9 μl ; PCR 2x Mix kit lot 10 μl ; SS III platinum tag 0,5 μl ; primer F 0,8 μl ; primer R 0,8 μl ; koleksi DNA 3 μl ; sehingga total volume PCR mix adalah 20 μl . Program PCR diatur sebagai berikut: denaturasi awal 50°C 30 menit; annealing suhu 95°C selama 5 menit; Selanjutnya

siklus ketiga (40x) mengalami variasi suhu 95°C selama 20 detik, 55°C selama 45 detik, dan 72°C selama 5 menit untuk memastikan ekstensi sempurna. Adapun primer yang digunakan adalah JDV 1 (5' -GCA GCG GAG GTG GCA ATT TTG ATA GGA- 3') dan JDV 3 (5' -CGG CGT GGT GGT CCA CCC CAT G- 3') (Krisnayanti *et al.*, 2020). Hasil amplifikasi PCR selanjutnya dielektroforesis dalam 1,5% agarose gel (Bio Rad, DNA Electrophoresis Starter Lab Equipment Set) di jalankan pada 100 Volt, 300 mA dalam waktu 30 menit. Visualisasi Fragmen menggunakan gel documentation (Bio Rad, Gel Doc EZ Imager). Setelah itu, gel documentation dihubungkan dengan komputer dan kemudian dilakukan Scanning. Data dianalisis secara kualitatif dalam bentuk gambar hasil gel documentation dengan melihat pita yang terbentuk. Target pita DNA yang menandakan adanya DNA virus *Jembrana* pada ukuran 360 bp.

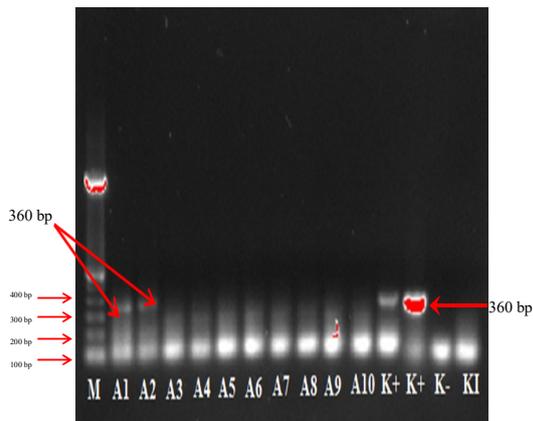
HASIL

Hasil dari sentrifugasi dan pemisahan sampel darah sapi Bali mulanya didapatkan *buffycocot* berupa kumpulan sel darah terutama kelompok *leukosit* (sel darah putih) dan *platelet* (trombosit). *Buffycocot* yang berhasil didapatkan ditunjukkan pada Gambar 1. *Buffycocot* yang diperoleh tersebut kemudian dilakukan isolasi DNA DNA (provirus) virus *Jembrana*.

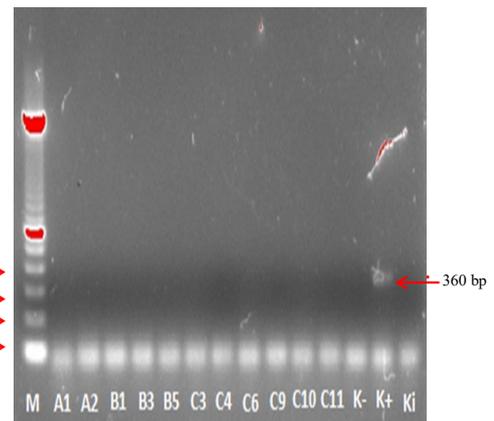


Gambar 1. Hasil *Buffycocot* dari darah sapi (*Buffycocot* from cattle blood)

Visualisasi keberadaan virus *Jembrana* dari gel elektroforesis ditunjukkan adanya pita sejajar dengan kontrol positif yang berukuran 360 bp. Pada visualisasi ini ditemukan 2 sampel yaitu AI dan A2 pada sapi Bali berasal dari Desa Panca Tunggal Kabupaten Bangka Selatan (Gambar 2). Sedangkan pada sampel sapi Bali Desa Temberan Kota Pangkalpinang tidak ditemukan adanya pita fragmen yang terbentuk (Gambar 3)



Gambar 2. Hasil Visualisasi Uji Virus Jembrana Metode PCR Sapi Bali Desa Panca Tunggal Kecamatan Bukit Besar Kabupaten Bangka Selatan Tahun 2019 (M= Marker (DNA Ladder); A1-A10= Sampel Uji sapi Bali; K- = Kontrol negatif; K+ = Kontrol positif; KI = Kontrol Internal) (*Visualization result of jembrana virus test with PCR method from Bali cattle, Panca Tunggal Village, Bukit Besar District, South Bangka Regency 2019 (M= Marker (DNA Ladder);; A1-A10= Bali cattle test sample; K- = negative control; K+ = positive control (360 bp); KI = Internal control)*)



Gambar 3. Hasil Visualisasi Uji Virus Jembrana Metode PCR Sapi Bali Desa Temberan Kota Pangkalpinang Tahun 2020 (M= Marker (DNA Ladder); A1-A10= Sampel Uji sapi Bali; K- = Kontrol negatif; K+ = Kontrol positif (360 bp); KI = Kontrol Internal) (*Visualization result of jembrana virus test with PCR method from Bali cattle, Temberan Village, Pangkalpinang city 2020 (M= Marker (DNA Ladder);; A1-A10= Bali cattle test sample; K- = negative control; K+ = positive control (360 bp); KI = Internal control).*)

PEMBAHASAN

Hasil visualisasi kedua sampel menunjukkan ketebalan pita yang berbeda. Artinya konsentrasi DNA yang berhasil diisolasi memiliki ukuran yang berbeda. Menurut (Pertiwi *et al.*, 2010) perbedaan konsentrasi DNA yang berhasil diisolasi akan menjadi faktor penentu ketebalan pita. Namun, pada sampel uji sapi Bali Desa Temberan memiliki konsentrasi DNA yang berhasil diisolasi lebih sedikit dibandingkan dengan sampel uji sapi Bali Desa Panca Tunggal. Kondisi ini dilihat dari pita yang terlihat tidak terlalu cerah.

Hasil visualisasi menunjukkan pada 10 sampel uji sapi Bali desa Panca Tunggal Kecamatan Pulau Besar Kabupaten Bangka Selatan ditemukan adanya pita yang terbentuk sejajar dengan kontrol positif yaitu sampel A1 dan A2 (Gambar 2). Namun pada 11 sampel sapi Bali Desa Temberan Kota Pangkalpinang tidak adanya pita yang terbentuk yang berarti negatif mengandung virus jembrana (Gambar 3). Apabila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Krisnayanti *et al.*, 2020). menyatakan hasil positif pengujian jembrana yang diidentifikasinya dengan metode PCR menunjukkan adanya pita fragmen yang muncul sesuai dengan penanda marker 360 bp (kontrol positif).

Polymerase Chain Reaction ini salah satu metode yang relatif sering digunakan. Namun masih banyak lagi metode lain yang dapat digunakan dalam pengujian identifikasi keberadaan virus jembrana pada sapi Bali. Menurut Direktorat Kesehatan Hewan, (2015), pengujian deteksi penyakit jembrana dapat dilakukan dengan metode *Indirect Enzyme Linked immunosorbent Assay* (ELISA), *Western Immunoblotting* (WIB), dan *Immunohistokimia* (IHK). Namun masing-masing pengujian memiliki tingkat sensitifitas dan spesififikasi yang berbeda-beda. Penelitian ini digunakan metode PCR karena memiliki tingkat sensitifitas dan spesififikasi yang tinggi berdasarkan fragmen primer. Kemampuan PCR dalam mengidentifikasi keberadaan virus jembrana dapat dimanfaatkan untuk keperluan pemantauan kesehatan hewan sehingga proses identifikasi yang dilakukan menjadi lebih cepat.

Kasus positif deteksi penyakit jembrana harus dilakukan penanganan yang serius. Virus ini tidak membahayakan manusia, namun berdampak terhadap hewan ternak sapi Bali lainnya. Hal ini dikarenakan sifat dari penyakit jembrana yang dapat ditularkan melalui lalat *Tabanus rubidus* dan kontak langsung. Berdasarkan Direktorat Kesehatan Hewan, (2015), penanganan pada

temuan sapi Bali yang terindikasi penyakit jembrana harus dilakukan pemisahan dengan ternak lainnya dan pemusnahan. Kondisi ini dilakukan untuk mengurangi penularan yang terjadi. Akibatnya peternak akan mengalami kerugian dan terjadinya penurunan produksi ternak di pasaran. Selain itu berdampak pula terhadap jalur lintas daerah yang akan dilakukan pengawasan aturan dan pengecekan kesehatan hewan ternak yang lebih ketat. Salah satu kebijakan yang telah dilakukan di Indonesia pada penularan penyakit ini dengan melakukan vaksinasi pada hewan ternak khususnya sapi Bali.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa teknik identifikasi PCR pada pengujian identifikasi virus jembrana dilakukan dengan tahapan yaitu: pengambilan sampel, pembuatan *buffycoat*, ekstraksi, *master mix*, amplifikasi, pembuatan agar, elektroforesis dan visualisasi. Pengujian virus jembrana pada sapi Bali di Kabupaten Bangka Selatan teridentifikasi kehadirannya pada 2 sampel. Hal ini dapat ditunjukkan melalui hasil visualisasi pada teknik pengujian PCR yang menunjukkan adanya pita DNA yang sejajar dengan kontrol positif virus jembrana.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Program Studi Biologi Fakultas Pertanian Perikanan dan Biologi Universitas Bangka Belitung; Kepala Dinas Pertanian Provinsi Bangka Belitung Bapak Juaidi, SP. MP., Kepala Laboratorium Kesehatan Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner dan Staf Laboratorium Kesehatan Hewan yang telah memberi kesempatan dan membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Buditjahjanto, A. dan Ainul, F.M., 2012. Identifikasi penyakit sapi pada sapi ternak dengan forward chaining. *Manajemen Informasi*, 1(1), pp. 19–23.
- Catringrum, D. dan Aisy, R. 2017. Jembrana virus penyebar kematian sapi Bali. CIVAS. <http://civas.net/2017/03/15/jembrana-virus-penebar-kematian-sapi-bali>.
- Direktorat Kesehatan Hewan, 2015. Pedoman pengendalian dan penanggulangan penyakit jembrana. In *directorate general of livestock and animal health services. Ministry of Agriculture*. Diakses di <http://>
- Hikmawaty, Gunawan, A., Noor, R. dan Jakaria, 2014. Identifikasi ukuran tubuh dan bentuk tubuh sapi Bali di beberapa pusat pembibitan melalui pendekatan analisis komponen utama. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 2(1), pp. 231–237.
- Indriawati, Margawati, E.T. dan Ridwan, M., 2013. Identifikasi virus penyakit jembrana pada sapi Bali menggunakan penanda molekuler gen env SU. *Berita Biologi*, 12(2), pp. 211–216.
- Ismirandy, A., 2018. *Laju Pertumbuhan dan Ukuran Tubuh Sapi Bali Lepas Sapih yang diberi Pakan Konsentrat pada Kategori Bobot Badan yang Berbeda*. Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.
- Krisnayanti, N.P.E., Pharmawati, M., Narayani, I. dan Agustini, N.L.P., 2020. Monitoring proviral DNA of jembrana disease virus in Bali vattle using PCR. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 7(1), pp. 14–20.
- Kusumawati, A., Hendarta, N.Y. dan Tampubolon, I.D., 2011. Deteksi virus penyakit jembrana dari jaringan blok parafin. *Proceeding Emerging and Reemerging Disease: Tantangan dan Peran Dokter Hewan di Era Global*. Yogyakarta, pp. 188–193.
- Margawati, E.T., 2020. Recombinant vaccine - a vaccine development and antigen for controlling jembrana disease in Bali cattle. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 439(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/439/1/012030>
- Pertiwi, N.P.D., Mahardika, I.G.N. dan Watiniasih, N.L., 2010. Optimasi amplifikasi DNA menggunakan metode PCR (*Polymerase chain reaction*) pada ikan karang anggota famili *Pseudochromidae* (Dotyback). *Biologi*, 19(2), pp.1–5.
- Pranawaty, R.N., Buwono, I.D. dan Liviawaty, E., 2012. Aplikasi *Polymerase chain reaction* (PCR) konvensional dan real time PCR untuk deteksi white spot syndrom virus pada kepiting. *Peikanan dan Kelautan*, 3(4), pp. 61–74.