

**LAPORAN  
MONITORING DAN DIAGNOSA PENYAKIT JEMBRANA  
DI WILAYAH KERJA BALAI VETERINER BUKITTINGGI  
TAHUN 2022**

---

**I. PENDAHULUAN**

**1.1. Latar Belakang**

Usaha peternakan merupakan salah satu usaha yang perlu ditingkatkan karena berkaitan dengan usaha pemerintah dalam meningkatkan gizi masyarakat. Dengan ketersediaan daging dan susu yang cukup dapat memenuhi kebutuhan gizi masyarakat karena seperti diketahui daging dan susu mempunyai nilai gizi tinggi. Ketersediaan daging dan susu dapat diperoleh salah satunya dari ternak sapi.

Dalam pengembangan sapi potong masih mendapat hambatan terutama untuk sapi Bali karena rentan terhadap Penyakit Jembrana. Penyakit tersebut untuk pertama kali diketahui menyerang sapi Bali di Desa Sangkaragung, Kabupaten Jembrana, Bali, pada tahun 1964. Dalam waktu kurang dari 1 tahun, penyakit ini telah mengakibatkan kematian lebih dari 60.000 ekor sapi di pulau Bali, sedangkan populasi sapi Bali pada waktu itu hanya berjumlah 300.000 ekor (Subronto, 1995).

Upaya untuk mencukupi kebutuhan gizi masyarakat harus diikuti dengan ketersediaan protein hewani salah satunya ketersediaan daging. Target pemerintah untuk mencapai swasembada daging dan mengurangi import sapi dan daging dari luar negeri harus didukung dengan usaha dan kerja keras dari semua pihak terutama insan peternakn. Oleh karena itu masalah penyakit hewan pada sapi harus mendapat perhatian serius.

**1.2. Tinjauan Pustaka**

**1.2.1. Penyakit Jembrana**

Penyakit Jembrana atau Jembrana *Disease* (JD) adalah penyakit viral pada sapi, terutama pada sapi Bali. Penyakit ini disebabkan oleh virus dari famili *Retrovirus*, sub famili *Lentivirinae* dan bersifat fatal pada sapi Bali, ditandai demam tinggi yang berlangsung selama 5 – 12 hari (rata-rata 7 hari) dengan suhu badan berkisar antara 40°C - 42°C, pembesaran kelenjar limfe (Lim-node, limfoglandula) yang menonjol

terlihat pada daerah bahu (Igl. Preskapularis), daerah perut lutut (Igl. Prefemoralis) dan daerah bawah telinga (Igl. Parotis) dan diare yang kadang-kadang bercampur darah dan menyebabkan kematian secara mendadak. Gejala lain yang terlihat pada sapi Bali yang terserang penyakit Jembrana ini berupa : adanya bercak-bercak darah pada kulit (keringat berdarah) dan adanya kepuccatan selaput lendir mulut, mata dan alat kelamin, serta terjadi kepincangan pada satu atau kedua kakinya. Sapi Bali yang terserang penyakit Jembrana sering kali abortus (Dharma dan Putra, 1997; Subronto, 1995, Wilcox dkk., 1992). Sampai saat ini penyakit Jembrana sudah merupakan penyakit endemik pada sapi Bali, di Bali tahun 1964 (Pranoto dan Pujiastono, 1967), di Lampung tahun 1967 (Soeharsono dan Darmadi, 1967), di Banyuwangi tahun 1978 (Tranggono, 1988), di Sumatra Barat tahun 1992 (Tembok, 1992), di Kalimantan Selatan tahun 1993 dan di Bengkulu Tahun 1995 (Soeharsono, S dan Temadja, 1995), sehingga didalam pengembangannya terdapat hambatan.

Penyakit Jembrana sering dijumpai menyerang sapi Bali berumur lebih dari 1 tahun dan umur yang paling peka berkisar antara 3 – 4 tahun. Tingkat morbiditas dapat mencapai 60% dengan mortalitas sekitar 10%, tetapi tingkat kematian penderita (*case fatality rate*) cukup tinggi, dapat mencapai 30%. Pengaruh jenis kelamin terhadap kejadian penyakit Jembrana dilaporkan oleh Putra (1999), menyatakan 31,8% sapi betina yang terserang JD dalam kelompok 1-6 tahun akan mati, dan 7,7% kematian sapi akan terjadi pada sapi jantan. Demikian juga tentang status fisiologi yang dinyatakan berpengaruh terhadap kejadian penyakit. Sapi bunting lebih peka dibandingkan dengan sapi tidak bunting. Enam puluh tiga ekor sapi bunting yang diamati, 51 ekor (81%) menderita JD, dibandingkan dengan 62% kasus JD pada sapi yang tidak bunting (umur > 3 tahun). Perbedaan kerentanan terhadap penyakit Jembrana pada kedua status hewan ini sangat signifikan.

Cara penularan penyakit Jembrana dinyatakan sebagai penyakit yang bersifat non kontangius dalam arti tidak terjadi penularan secara kontak badan, tetapi terjadi secara mekanis melalui penggunaan jarum suntik yang tercemar atau melalui gigitan serangga penghisap darah (Dharma dan Putra, 1997). Dalam kaitan ini, arthropoda penghisap darah telah dideskriminasi sebagai penyebar JD di lapangan. Hal ini sangat beralasan sebab beberapa kasus di lapangan dapat terjadi pada hewan yang dikandangkan saja dan relatif terisolir dari ternak lainnya. Oleh karena itu salah satu pengendalian wabah

dilakukan penyemprotan dengan insektisida, dan ditengarai pula *Boophilus mikroplus* dapat menularkan penyakit Jembrana secara transovarial.

Sampai saat ini belum diketahui adanya kemoterapeutika yang dapat membunuh virus Jembrana. Karena biasanya infeksi ikutan oleh kuman selalu terjadi, pengobatan ditujukan terhadap infeksi sekunder tersebut, dengan antibiotika berspektrum luas. Selain itu pemberian roboransia dan cairan elektrolit perlu dipertimbangkan (Subronto, 1995). Usaha pencegahannya telah dilakukan dengan memberikan vaksin yang berasal dari plasma atau limpa hewan penderita penyakit Jembrana, dan telah diketahui memberikan proteksi kekebalan antara 60 - 70%. Usaha pengembangan pembuatan vaksin terus dikembangkan untuk memperoleh vaksin yang murni, ekonomis dan sekaligus mampu mengeliminasi virus dari penderita sehingga eradikasi JD dapat dilakukan.

Setelah beberapa tahun, kejadian penyakit Jembrana dapat dilokalisasi di tiga Propinsi, yaitu Bali, Jawa Timur, dan Lampung. Namun tiba-tiba terjadi wabah yang cukup mengejutkan di daerah transmigrasi yang pengadaan sapi disponsori oleh IFAD di Kabupaten Sawahlunto Sijunjung Sumatera Barat pada bulan April 1992. Dalam waktu singkat 168 ekor sapi dari 398 sapi sakit telah mati (Hartaningsih, 1994).

### **1.2.2. Sejarah Kasus Jembrana di Regional II**

Sebelum tahun 1985 ras sapi yang ada di Sumatera Barat adalah *Ongole*, *Fries Holland*, Persilangan *Simenthal*, Persilangan *Limousine* dan sapi lokal. Pada bulan Desember tahun 1985, 500 ekor sapi Bali di datangkan ke Sumatera Barat dari Nusa Tenggara Timur, Nusa Tenggara Barat dan Sulawesi Selatan. Antara tahun 1987 dan tahun 1991 kurang lebih 7700 ekor sapi Bali didatangkan dari Nusa Tenggara Timur, Nusa Tenggara Barat dan Sulawesi Selatan atas bantuan Internasional *Fund for Agricultural Development* (IFAD), dan disebarkan ke Kabupaten Sawahlunto Sijunjung, Pesisir Selatan, Pasaman, Solok dan Kabupaten 50 Kota (Wilcox, G.E. dkk., 1996).

Penyakit Jembrana pertama kali *outbreak* di Sumatera Barat pada bulan April 1992 di Desa Beringin Sakti (Timpeh II) di Kabupaten Sawahlunto Sijunjung. Sebanyak 550 ekor sapi Bali telah disebarkan di lokasi ini pada bulan Maret 1990. Ketika terjadi *outbreak* pada tanggal 7 April 1992, di Desa Beringin Sakti terdapat 398 sapi Bali. Sampai tanggal 16 September 1992 penyakit Jembrana ini telah membunuh 105 sapi Bali (26,38%) dan menginfeksi 312 sapi lainnya (78,39%). Pada tanggal 27 September 1992,

Jembrana muncul di Desa Muara Takung (kurang lebih 25 km dari Desa Beringin Sakti) dan telah membunuh 28 ekor dari 100 ekor sapi Bali yang ada (28%) dan 41 ekor (41%) menunjukkan gejala klinis. Kedua area tersebut terisolasi dan jauh dari aktivitas maupun fasilitas publik, dan kurang lebih 200 km dari pusat Propinsi (5 jam ditempuh dengan kendaraan roda empat) atau 2 jam dari pusat Kabupaten (Wilcox,G.E.dkk., 1996).

Meskipun penyakit Jembrana ini bisa ditanggulangi di Sumatera Barat, investigasi dan riset lebih jauh perlu terus direkomendasikan di seluruh wilayah Indonesia dimana sapi Bali tersebar (Wilcox, G.E., dkk.,1996).

Penyakit Jembrana masih merupakan ancaman di bidang peternakan hampir di seluruh wilayah Indonesia. Kecepatan penyebaran (*morbiditas*) penyakit dan tingkat mortalitasnya yang tinggi memacu seluruh jajaran di bidang peternakan untuk terus mewaspadaai terjadinya penyakit ini. Tidak terkecuali wilayah Regional II juga perlu terus mewaspadaai dan memantau kemungkinan terjadinya penyakit ini, apalagi dalam sejarahnya penyakit ini pernah terjadi di beberapa daerah dalam wilayah Regional II. Terakhir kali hasil laboratorium menunjukkan satu sampel positif serologi pada tahun 2004. Sampel berasal dari Desa Ujung Labung, Kecamatan Tanjung Mutiara, Kabupaten Agam, Sumatera Barat (Anon, 2004). Pada tahun 2002 juga ditemukan sampel positif serologi dari beberapa tempat di Propinsi Sumatera Barat, Kabupaten Pesisir Selatan, meliputi Kecamatan Lunang Silaut sebanyak 84 sampel, Kecamatan Pancung Soal sebanyak 78 sampel dan Kecamatan IV Balai Tapan sebanyak 23 sampel (Anon, 2002). Dan pada tahun 1999 di Kabupaten Pesisir Selatan, tepatnya di Kecamatan Pancung Soal dilaporkan terjadi wabah Jembrana dan menelan korban 79 ekor sapi Bali mati (Anon, 1999).

Pada tahun 2013 wabah penyakit Jembrana terjadi di Kabupaten Rokan Hilir Propinsi Riau. Penyebaran penyakit ini meluas ke Kabupaten lainnya seperti Kabupaten Siak, Pelalawan, Kampar. Pada tahun 2014 penyebaran penyakit ini meluas ke kabupaten lainnya. Wabah ini mengakibatkan kematian ratusan ternak sapi Bali. Dengan melihat perkembangan status penyakit Jembrana di Propinsi Riau, maka pada tahun 2014 status Propinsi Riau merupakan daerah tertular penyakit Jembrana. Untuk menanggulangi penyakit Jembrana ini dilakukan vaksinasi penyakit Jembrana di semua Kabupaten dan difokuskan pada titik-titik terjadinya wabah.

Penyebaran penyakit Jembrana juga sampai di Propinsi Jambi, pada bulan Juni 2014 terjadi wabah di Kabupaten Muaro Jambi dan penyebarannya meluas ke

Kabupaten lainnya. Kebijakan vaksinasi Penyakit Jembrana dilakukan di Kabupaten Merangin, Muaro Jambi, Batanghari, Bungo, Sarolangun, Tebo, dan Tanjung Jabung Timur.

Penyakit Jembrana di Propinsi Sumatera Barat pada tahun 2014 terjadi di Kabupaten Dharmasraya dan tahun 2015 terjadi di Kota Sawahlunto. Pada tahun 2016 kejadian penyakit Jembrana di propinsi Riau hampir di semua Kabupaten/Kota. Dengan berjalannya waktu, sampai saat ini penyakit Jembrana sudah menyebar ke kabupaten/Kota dan bersifat sporadis di propinsi Sumatera Barat, Riau dan Jambi. Mengingat penyakit ini bersifat carrier, keberadaan proviral DNA virus Jembrana banyak ditemukan di sapi Bali di Kabupaten Pasaman Barat, Agam, Padang Pariaman, Solok Selatan, dan Dharmasraya Kebijakan vaksinasi juga telah dilaksanakan di Kabupaten tersebut.

Meskipun demikian minat peternak di Regional II untuk memelihara sapi Bali cukup besar. Masih terdapat cukup banyak tempat yang merupakan kantong pemeliharaan sapi Bali terutama di daerah-daerah transmigrasi.

### **1.3. Maksud dan Tujuan**

Sebagai kelanjutan kegiatan monitoring dan diagnosa penyakit Jembrana pada tahun 2021 di daerah-daerah yang sebelumnya pernah terjadi kasus penyakit Jembrana maupun yang belum pernah ada kasus penyakit Jembrana, berdasarkan informasi Dinas Peternakan setempat di lokasi yang pernah ada kasus penyakit Jembrana masih dilakukan vaksinasi Jembrana.

Protektifitas post vaksinasi dengan titer antibodi diatas 70% dinilai masih protektife terhadap penyakit Jembrana. Untuk daerah post vaksinasi dibawah 70% dalam mempertahankan protektivitas terhadap penyakit Jembrana harus segera melakukan vaksinasi kembali. Sedangkan pada daerah yang tidak jelas status vaksinasinya dengan hasil titer antibodi positif terhadap Jembrana perlu dilakukan pencarian informasi lebih lanjut, untuk menentukan status daerah tersebut terhadap penyakit Jembrana.

Pada kegiatan Monitoring dan Diagnosa Penyakit Jembrana tahun 2022 ini bertujuan untuk mengetahui tingkat prevalensi penyakit Jembrana di daerah tertular, melakukan pengamatan di lokasi kemungkinan penyakit ini akan berjangkit (*Early warning system*), mengingat banyak daerah yang mendatangkan sapi Bali dari propinsi

Lampung dan Banyuwangi (daerah tertular penyakit Jembrana) serta melakukan monitoring post vaksinasi untuk mengetahui keberhasilan vaksinasi yang telah dilakukan.

## II. MATERI DAN METODE

### 2.1. Materi

Materi yang digunakan dalam kegiatan ini adalah spesimen serum darah dan darah ber antikoagulant (EDTA) /*buffycoat* sapi Bali yang diambil di lokasi yang telah ditentukan. Surveilans pasif juga dilakukan dengan melakukan pengujian PCR dan Elisa JD terhadap sampel yang dikirim dari Dinas Peternakan maupun dari perorangan.

#### 2.1.1. Bahan dan Alat Pengambilan Spesimen

Bahan dan alat yang digunakan untuk pengambilan spesimen di lokasi adalah Supite 10 cc, tabung serum. test tube + antikoagulan, kapas, alkohol 70%

#### 2.1.2. Bahan dan Alat Pengujian Laboratorium

Bahan dan alat yang digunakan untuk pengujian di laboratorium adalah JDV ELISA KIT, ELISA Reader, Mikroplate, Mikropipet, tips, Primer JDV1 dan JDV3, 2x Reaction Mix, SS III Platinum Taq mix, Vivantis KIT, Qamp DNA viral (sampel *buffycoat*), RNeasy Mini KIT (sampel organ), Qamp RNA viral (sampel plasma), Agarose, TBE, RNase free water, Alkohol, Syber save, Marker, BSC Class II, Vortex, Spin, Sentrifus, 1,5 ml, 200 ul eppendorf tube, Mikropipet, Aerosol barrier tips, Thermal cycler, Microwave, Elektroforesis + power suply, Gel documentation.

### 2.2. Metode

Pengambilan sampel diutamakan pada serum darah dan darah ber antikoagulant (EDTA) sapi Bali di daerah-daerah yang punya riwayat pernah terjadi wabah Jembrana, daerah yang melakukan vaksinasi Jembrana, daerah yang pernah dilaporkan positif serologis, dan daerah yang potensial terjadi wabah Jembrana baik dengan pertimbangan populasi sapi Bali yang ada maupun dengan

pertimbangan tingginya alur lalu-lintas ternak dari dan ke daerah yang pernah terjadi wabah. Sampel yang dikirim aplikasi (Dinas Peternakan dan perorangan) berupa serum darah, darah ber antikoagulant (EDTA) dan organ.

Darah antikoagulan diproses dengan metode sentrifuse dan pencucian untuk mendapatkan *buffycoat*. Plasma darah juga dikoleksi apabila ternak diketahui sedang dalam fase menunjukkan gejala klinis (demam). Organ terutama limpa digerus dengan mortar dan dibuat suspensi 10% dengan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)* yang dilakukan di laboratorium Biotek Balai Veteriner Bukittinggi.

Serum darah dengan metode *Enzim-linked Immunosorbant Assay (ELISA)*, untuk mendeteksi adanya antibodi terhadap virus Penyakit Jembrana.

#### **Ekstraksi RNA dengan RNeasy Extraction Mini Kit (Qiagen, Cat 74105)**

Ekstraksi RNA dilakukan terhadap sampel organ hewan yang mati dan dicurigai terinfeksi virus Jembrana Disease. Organ digerus dengan mortar dan dibuat suspensi 10%.

1. Campur 6  $\mu$ l  $\beta$ -Mercaptoethanol, 600  $\mu$ l buffer RLT dan 100  $\mu$ l sampel virus (supernatan organ) ke dalam satu tabung *microtube* 2 ml.
2. Vortek dan diinkubasikan pada suhu ruang selama 5 menit.
3. Tambahkan 600  $\mu$ l etanol 70 % dan campur dengan pipet.
4. Tempatkan *RNeasy spin column* 2 ml dan diisi dengan hati-hati sebanyak 700  $\mu$ l sampel (hati-hati jangan menyentuh dinding *spin column*). Sentrifus dengan kecepatan 8000 g (10.000 rpm) selama 15 detik dengan suhu 15 °C.
5. Buang supernatan yang terdapat pada *microtube* 2 ml yang terdapat dibagian bawah. Masukkan sisa sampel ke dalam *RNeasy spin column* 2 ml dan sentrifus dengan kecepatan 8000 g (10.000 rpm) selama 15 detik.
6. Buang supernatan yang terdapat pada *microtube* 2 ml yang terdapat dibagian bawah. Tambahkan 700  $\mu$ l *wash buffer* RW1 ke dalam *spin column* 2 dan sentrifus dengan kecepatan 8000 g (10.000 rpm) selama 15 detik
7. Pindahkan *RNeasy spin column* kedalam *microtube* 2 ml yang steril lainnya. Tambahkan 500  $\mu$ l *wash buffer* RPE ke dalam *spin column* dan sentrifus dengan kecepatan 8000 g (10.000 rpm) selama 15 detik.

8. Buang supernatan yang terdapat pada *microtube* 2 ml yang terdapat dibagian bawah. Tambahkan 500 µl *wash buffer* RPE ke dalam *spin column* dan sentrifus dengan kecepatan 13.000 rpm selama 2 menit.
9. Pindahkan *spin column* ke dalam *microtube* 1.5 steril. Masukkan 50 µl RNase Free water (RFW) langsung ke dalam *spin column*.
10. Tutup dan sentrifus dengan kecepatan 8000 g (10.000 rpm) selama 1 menit untuk mendapatkan/melarutkan RNA.
11. RNA disimpan di dalam suhu -20°C atau langsung digunakan.

### **Ekstraksi RNA dengan QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Cat 52904)**

Ekstraksi RNA dilakukan pada sampel *plasma* hewan pada fase demam (klinis)

#### **Persiapan carrier RNA**

1. Tambahkan 310 µl *Buffer AVE* ke dalam 310 µg *lyophilized Carrier RNA*.
2. Campurkan dengan baik, kemudian *aliquot* beberapa mikroliter ( 20µl/tabung), simpan pada suhu -20°C.
3. Hitung jumlah carrier RNA yang akan dipakai dengan rumus :

1 sampel, <i>buffer AVL</i>	= 0,56 ml ditambah
1 sampel, <i>carrier RNA - buffer AVE</i>	= 5,6 µl

#### **Ekstraksi RNA**

1. Siapkan tabung 1,5 ml atau 2 ml dan masukkan 560 µl (*buffer AVL+ carrier RNA*)
2. Tambahkan 140 µl sampel (*plasma*), kemudian divortek 15 detik.
3. Inkubasi 15-25°C selama 10 menit.
4. *Dispin* beberapa detik.
5. Tambahkan 560 µl ethanol (96-100%), divorteks 15 detik, *dispin* beberapa detik.
6. Masukkan 630 µl larutan dari step nomor 5 ke dalam kolom QIAamp Mini, sentrifus 8000 rpm selama 1 menit, buang filtrat.
7. Ulangi step no. 6 sampai semua larutan sampel habis.
8. Tambahkan 500 µl buffer AW1, sentrifus 8000 rpm selama 1 menit. Buang filtrat.
9. Tambahkan 500 µl buffer AW2, sentrifus 14.000 rpm selama 3 menit. Buang filtrat, ulangi sentrifus kosong.



10. Tempatkan kolom pada mikrotube 1.5 ml baru, Tambahkan 60 µl AVE, untuk melarutkan RNA, inkubasi pada suhu kamar selama 1 menit, sentrifus 8000 rpm selama 1 menit.

11. RNA disimpan di dalam suhu -20°C atau langsung digunakan.

#### **Ekstraksi DNA dengan Qiamp Viral DNA Mini Kit (Qiagen Cat. No.51306)**

Ekstraksi DNA dilakukan pada sampel *buffycoat* pada hewan hidup.

1. Masukkan ke dalam microtube 1,5 ml sebanyak 200 µl sampel
2. Tambahkan 20 µl proteinase K, divorteks beberapa detik.
3. Tambahkan 200 µl Buffer AL. Vorteks 15 detik.
4. Inkubasi 56°C selama 10 menit. Spin down.
5. Tambahkan 200 µl ethanol absolut, divorteks lagi.
6. Pipet larutan tersebut ke dalam Qiamp Viral DNA *Mini spin column*, setrifus 8000 rpm selama 1 menit. Buang filtrat dan tabung koleksinya.
7. Tempatkan spin column dalam tabung koleksi 2 ml baru, Tambahkan 500 µl Buffer AW1. Sentrifus 8000 rpm selama 1 menit, buang filtrat dan tabung koleksinya.
8. Tempatkan spin column dalam tabung koleksi 2 ml baru, tambahkan 500 µl Buffer AW2. Sentrifus 14.000 rpm selama 3 menit, buang filtrat dan tabung koleksinya.
9. Lakukan sentrifus kosong 14.000 rpm selama 1 menit.
10. Tempatkan spin column dalam tabung koleksi 1,5 ml baru, tambahkan 50 µl Buffer AE untuk elusi. Ingkubasi pada suhu kamar selama 1 menit. Sentrifus 8000 rpm selama 1 menit.
11. Buang *spin column* dan DNA yang didapat disimpan di dalam suhu -20°C atau langsung digunakan.

#### **PCR Sampel Organ dan plasma**

1. Dalam *tube* steril 1,5 ml, disiapkan reagen PCR *mix* dengan menambahkan komponen-komponen dibawah ini :

Komponen	Volume 1 Reaksi
RNAse Free Water	4,5 ul
10 X Reaction Mix	12,5 ul
Primer F (20uM)	1,0 ul
Primer R (20uM)	1,0 ul
Superscript III RT/Platinum Taq Mix	1,0 ul
Jumlah	20 ul

2. *Vortex* dan *spin* beberapa detik
3. Aliquot ke dalam tabung 200 ul masing-masing 20 ul
4. Tambahkan *template* RNA, kontrol negatif, kontrol positif sebanyak 5 ul ke dalam masing-masing tabung.
5. Masukkan ke dalam mesin *thermal cycler* dengan program sbb:

<b>1. cDNA sintesis:</b> 50 °C selama 30 menit
<b>2. Aktivasi DNA Polymerase</b> 94°C selama 2 menit
<b>3 Cycling, 35 siklus</b> 94°C selama 30 detik 60°C selama 30 detik 72°C selama 1 menit
<b>1. Final extention reaction</b> 72°C selama 10 menit

#### PCR Sampel Buffycoat

1. Dalam *microtube* steril 0,2 ml, disiapkan reagen PCR *mix* dengan menambahkan komponen-komponen dibawah ini :

KOMPONEN	VOLUME (ul) 1 Reaksi
<i>RNAse Free Water</i>	13,75
Primer F (20 uM)	0.5
Primer R (20 uM)	0.5
10x <i>PCR buffer</i>	2,5
dNTP mix	2,5
<i>Taq Pol</i>	0,25
<b>Total</b>	<b>20</b>

2. *Vortex* dan *spin* beberapa detik
3. Tambahkan *template* RNA, kontrol negatif, kontrol positif sebanyak 5 ul ke dalam masing-masing tabung.
4. Masukkan ke dalam mesin *thermal cycler* dengan program sbb:

<b>1. Aktivasi DNA Polymerase</b> 94°C selama 2 menit
<b>2. Cycling, 35 siklus</b> 94°C selama 30 detik 60°C selama 30 detik 72°C selama 1 menit
<b>3. Final extention reaction</b> 72°C selama 10 menit

## Elektroforesis

1. Timbang 1-2 gram *agarose* dalam 100 ml bufer TBE 1X (Tris-Borat-EDTA).
2. Panaskan *agarose* dalam *microwave* sampai melebur dan menjadi cair.
3. Dinginkan *agarose* cair dalam suhu kamar sampai suhu *agarose* menjadi sekitar 50°C
4. Tambahkan *syber save* ke dalam *agarose* cair dengan konsentrasi akhir 0,01-0,03 %. Misal untuk 100 ml *agarose* ditambahkan kira-kira 1-3 ul *Syber save* dan dicampur sampai rata
5. Tuangkan *agarose* ke dalam cetakan gel *agarose* (terlebih dahulu dipasang sisir) dan biarkan sampai membentuk gel.
6. Masukkan gel ke dalam bejana elektroforesis dan tambahkan bufer TBE 1X sampai mencapai batas garis elektroforesis.
7. Di dalam tabung PCR 0,2 atau 0,5 ml buat campuran terdiri 1 bagian *loading buffer* DNA ditambah 9 bagian hasil PCR (misal 1 ml *loading buffer* + 9 ml hasil PCR).
8. Masukkan campuran ke dalam sumuran gel *agarose* dengan hati-hati. Untuk menghitung panjang molekul DNA dimasukkan marker DNA.
9. Untuk validasi hasil PCR ,kontrol negatif, kontrol positif, dan kontrol reaksi PCR (kontrol internal) dimasukkan ke dalam sumuran gel
10. Elektroforesis hasil PCR (DNA) selama 40-60 menit, dengan tegangan konstan (50-125 volt)
11. Setelah proses elektroforesis, gel diambil dan diletakkan di atas permukaan UV- *transilluminator* (*Gel documentation*)
12. Gel difoto dengan kamera digital
13. Identifikasi panjang molekul (dalam *base pairs*, disingkat **bp**) DNA sampel dan DNA kontrol dengan acuan marker DNA yang digunakan.

## Interpretasi hasil

1. **Hasil dianggap valid** jika pada kontrol positif muncul pita-pita DNA dengan panjang molekul DNA 365 bp dan sebaliknya kontrol negatif tidak muncul pita-pita DNA (artinya tidak ada kontaminasi). Berikut panjang molekul (dalam *base pairs* atau bp) masing-masing ampikon :
2. **Hasil positif** jika pada lajur dari sumuran sampel menunjukkan adanya pita-pita DNA yang sesuai (sejajar panjang molekulnya) dengan panjang molekul kontrol positif.
3. **Hasil negatif**, jika tidak muncul pita DNA pada lajur dari sumuran sampel/ spesimen seperti pada kontrol negatif.

## Uji Elisa

Uji Elisa dilakukan di laboratorium Virologi Balai Besar Veteriner Bukittinggi.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3. 1. Hasil

Lokasi monitoring dan diagnosa penyakit Jembrana pada tahun 2022 pada umumnya adalah daerah yang pernah dilakukan pengambilan sampel pada tahun 2021 ditambah dengan daerah yang banyak terdapat populasi ternak sapi Bali dan daerah terjadi wabah yang ada di Propinsi Sumbar, Jambi dan Riau dan Kepulauan Riau. Adapun pengambilan sampel dan hasil pengujian laboratorium terhadap penyakit Jembrana (PCR dan Elisa) seperti terlihat pada **Tabel 1 - Tabel 9**.

Pengambilan sampel darah dengan antikoagulan untuk dilakukan uji PCR dilakukan di lokasi monitoring, walau tidak ada kecurigaan terhadap adanya penyakit Jembrana yang sedang terjadi. Selain melakukan monitoring secara aktif juga dilakukan secara pasif, yakni melakukan diagnosa terhadap sampel yang dikirim oleh Dinas Peternakan sehubungan adanya kasus kematian sapi Bali yang dicurigai kemungkinan terinfeksi penyakit Jembrana.

#### 3. 2. Pembahasan

Beberapa teknik laboratorium telah dilakukan dalam pemeriksaan Penyakit Jembrana seperti Enzym Linked Immunosorbent Assay (ELISA) untuk deteksi antibodi virus Jembrana, Western Immunoblotting (WB), Imunohistokimia (IHK), dan Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk mendeteksi material genetik virus Jembrana. Dalam kegiatan monitoring dan diagnosa penyakit Jembrana di Regional II Bukittinggi menggunakan ELISA dengan tujuan dapat mengetahui gambaran secara umum ada tidaknya antibodi terhadap virus Jembrana pada ternak sapi Bali. Mekanisme dasar dari ELISA adalah meletakkan antigen pada dasar *microplate* untuk diserap sehingga dapat mengikat antibodi yang sudah di label dengan enzim yang akan memberikan reaksi warna yang sesuai dengan substrat yang ditambahkan dan dilanjutkan dengan pembacaan pada mesin ELISA reader. Selain Elisa dilakukan uji PCR untuk mendeteksi adanya material genetik virus penyakit Jembrana.

Tabel 1. Pengambilan sampel aktif dari di Propinsi Sumatera Barat, Riau, Jambi dan Kepulauan Riau tahun 2022

No	Kab/Kota	Serum Darah	Darah EDTA	Organ
1	Sumatera Barat	119	127	0
2	Riau	107	131	1
3	Jambi	93	56	0
4	Kepulauan Riau	48	70	0
<b>Jumlah</b>		<b>367</b>	<b>384</b>	<b>1</b>

Tabel 2. Hasil pengujian PCR dan Elisa virus Penyakit Jembrana (sampel aktif) dari Provinsi Sumatera Barat, Riau, Jambi dan Kepulauan Riau dan tahun 2022

No	Kab/Kota	Serum Darah	Seropositif Antibodi JD	Darah EDTA/Organ	Positif Virus JD
1	Sumatera Barat	119	1	127	29
2	Riau	107	2	131	19
3	Jambi	93	0	56	1
4	Kepulauan Riau	48	0	70	8
<b>Jumlah</b>		<b>367</b>	<b>3</b>	<b>384</b>	<b>57</b>

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa berdasarkan pengujian PCR, virus penyakit Jembrana masih bersirkulasi dalam bentuk *pro viral DNA* di Propinsi Sumatera Barat, Riau, Jambi dan Kepulauan Riau. Bahkan wabah penyakit Jembrana terjadi di Propinsi Sumatera Barat, Riau dan Jambi yang mengakibatkan banyak kematian ternak sapi Bali. Kasus penyakit Jembrana sudah tersebar di propinsi Sumatera Barat, Riau dan Jambi. Tingkat prevalensi berdasarkan hasil uji PCR di propinsi Sumatera Barat 22,83%, Propinsi Jambi 1,79%, Riau 14,50% dan Kepulauan Riau 11,43% . Hal ini mengindikasikan bahwa virus penyakit Jembrana masih bersirkulasi pada peternakan sapi Bali di Propinsi Sumatera Barat, Riau, Jambi dan Kepulauan Riau dalam bentuk material genetik (sebagai hewan *carrier*).

Sampai saat ini Provinsi Kepulauan Riau dapat dikatakan masih bebas kasus Penyakit Jembrana. Terdeteksinya virus ini (11,43%) pada ternak sapi Bali adalah ternak yang baru datang dari Lampung. Mengingat penyebaran sapi Bali saat ini cukup intensif, maka perlu pengujian untuk mendeteksi kemungkinan adanya material genetik pada sapi Bali

yang baru masuk. Untuk mengantisipasi terjadinya kasus klinis bahkan wabah, maka ternak yang positif tersebut sebaiknya dilakukan *slaughter*.



Gambar 1. Peta keberadaan virus Penyakit Jembrana di Provinsi Sumatera Barat, Riau, Jambi dan Kepulauan Riau

Pada tingkat Kabupaten, berdasarkan pengujian PCR pada sampel aktif keberadaan virus penyakit Jembrana di Provinsi Sumatera Barat tertinggi ada di Kabupaten Dharmasraya (66,67%), selanjutnya menyusul Kabupaten Pasaman Barat (22,72%). Hasil positif virus jembrana berdasarkan pemeriksaan PCR menunjukkan adanya material genetik virus jembrana dalam tubuh hewan, bisa bersifat *carier* atau memang sedang masa infeksi dan bergejala klinis.

Tabel 3. Hasil pengujian PCR virus Penyakit Jembrana sampel dari Provinsi Sumatera Barat tahun 2022 (kegiatan aktif)

Kab/Kota	Jumlah Sampel	Positif	Negatif
Dharmasraya	24	16	8
Padang Pariaman	20	0	20
Pasaman Barat	44	10	34
Pesisir Selatan	24	2	22
Sijunjung	15	1	14
<b>Jumlah</b>	<b>127</b>	<b>29</b>	<b>98</b>

Tabel 4. Hasil pengujian PCR virus Penyakit Jembrana sampel dari Provinsi Riau (kegiatan aktif) tahun 2022

Kab/Kota	Jumlah Sampel	Positif	Negatif
Bengkalis	19	3	16
Indragiri Hilir	13	7	6
Indragiri Hulu	4	4	0
Kampar	28	0	28
Kuantan Singingi	13	0	13
Pelalawan	19	2	17
Rokan Hulu	19	0	19
Siak	16	3	13
<b>Jumlah</b>	<b>131</b>	<b>19</b>	<b>112</b>

Hasil pengujian PCR tingkat kabupaten di propinsi Riau (kegiatan aktif) dapat dilihat pada tabel 4. Tingkat proporsi Penyakit Jembrana di Kabupaten Indragiri Hulu 100%, Kabupaten Indragiri Hilir 53,85%, Kabupaten bengkalis 15,79%, Kabupaten Siak 18,75%, Kabupaten Pelalawan 10,53%. Di Kabupaten Indragiri Hulu memiliki tingkat proporsi tertinggi yaitu 100% merupakan ternak yang menunjukkan gejala klinis dan menimbulkan kematian. Seperti telah disebutkan sebelumnya bahwa propinsi Riau telah dinyatakan daerah tertular penyakit Jembrana sejak April 2014 dengan Surat Keputusan Menteri Pertanian. Kasus klinis dan wabah telah terjadi di beberapa Kabupaten dan mengakibatkan kematian ternak sapi Bali. Keberadaan virus JD sebagai hewan *carrier* di propinsi ini cukup tinggi. Tindakan vaksinasi telah dilakukan di daerah sekitar wabah untuk melakukan pengendalian dan mencegah makin meluasnya penyebaran penyakit ini.

Tabel 5. Hasil pengujian PCR virus Penyakit Jembrana sampel dari Provinsi Jambi (kegiatan aktif) tahun 2022

No	Kab/Kota	Jumlah Sampel	Positif	Negatif
1	Batanghari	23	0	23
2	Merangin	7	0	7
3	Muaro Jambi	5	0	5
4	Tebo	21	1	20
	<b>Jumlah</b>	<b>56</b>	<b>1</b>	<b>55</b>

Hasil pengujian PCR tingkat kabupaten di propinsi Jambi (kegiatan aktif ) dapat dilihat pada tabel 5. Dari monitoring secara aktif, dari 56 sampel darah yang diambil terdapat 1,79% yang positif virus Penyakit Jembrana yakni di Kabupaten Tebo. Tindakan

vaksinasi yang telah dilakukan merupakan upaya pengendalian dan mencegah makin meluasnya penyebaran penyakit ini.

Tabel 6. Hasil pengujian PCR virus Penyakit Jembrana sampel dari Provinsi Kepulauan Riau (kegiatan aktif) tahun 2022

Kab/Kota	Jumlah Sampel	Positif	Negatif
Batam	10	5	5
Bintan	15	0	15
Karimun	12	3	9
Natuna	12	0	12
Tanjung Pinang	20	0	20
<b>Jumlah</b>	<b>69</b>	<b>8</b>	<b>61</b>

Pengujian PCR di propinsi Kepulauan Riau (kegiatan aktif) dapat dilihat pada tabel 6. Hasil positif PCR di Kota Batam 5 dari 10 sampel (50,00%) dan Kabupaten Karimun 3 dari 12 sampel (25,00%) positif virus Penyakit Jembrana. Secara klinis kasus penyakit Jembrana di propinsi Kepulauan Riau belum pernah terjadi. Adanya hasil positif PCR pada sapi Bali tersebut karena pemasukan ternak dari Lampung (propinsi tertular). Dinas Peternakan Propinsi secara intensif mengamati ternak yang positif *carrier* ini.

Tabel 7. Hasil pengujian PCR virus Penyakit Jembrana dari di Propinsi Sumatera Barat, Riau, Jambi dan Kepulauan Riau (kegiatan pasif) tahun 2022

Propinsi	Kab/Kota	Jumlah Sampel	Positif	Negatif
Sumbar	Agam	1	1	0
	Dharmasraya	27	2	25
Riau	Bengkalis	3	0	3
	Indragiri Hilir	2	0	2
	Pekanbaru	3	0	3
Jambi	Tanjung Jabung Timur	7	0	7
Kepri	Batam	10	0	10
<b>Jumlah</b>		<b>53</b>	<b>3</b>	<b>50</b>

Sampel monitoring pasif juga berasal dari kiriman Dinas Peternakan sehubungan adanya wabah dan kasus kematian ternak sapi Bali dan dicurigai karena penyakit Jembrana. Untuk meneguhkan diagnosa klinis dan epidemiologi di lapangan dilakukan pengujian laboratorium. Selama tahun 2022 Balai Veteriner Bukittinggi menerima kiriman sampel pasif sebanyak 53 sampel (tabel 7). Dari penerimaan sampel pasif dapat dilihat bahwa keberadaan virus Penyakit Jembrana di propinsi Riau, Jambi dan Kepulauan Riau 0%, tetapi di Sumatera Barat terjadi di Kabupaten Agam terdapat



kematian ternak dan hasilnya positif virus Penyakit Jembrana, sedangkan di kabupaten Dharmasraya terdapat 7,41% positif virus Penyakit Jembrana dalam bentuk hewan *carrier*.

Pengujian Elisa Penyakit Jembrana (Tabel 8) dapat dilihat bahwa dari 367 serum yang diuji terdapat 3 sampel (0,82%) seropositif antibodi terhadap virus Penyakit Jembrana. Tujuan pengujian ini untuk mengetahui keberhasilan vaksinasi Jembrana yang dilakukan. Dari hasil uji tersebut tingkat kekebalan yang didapatkan masih rendah, masih jauh dari target kekebalan yang diharapkan yaitu 70%. Adapun faktor penyebabnya kemungkinan karena kualitas vaksin, rantai dingin penyimpanan vaksin, kondisi kesehatan ternak pada waktu vaksinasi, kualitas dan kuantitas pakan yang diberikan, waktu pengambilan sampel serum (2-6 bulan post vaksinasi), kualitas KIT Elisa yang digunakan untuk pengujian. jumlah populasi yang divaksin. Jumlah populasi yang divaksin berpengaruh pada hasil akurasi vaksinasi, semakin tinggi jumlah populasi vaksin, semakin besar harapan didapatkan hasil vaksinasi yang protektif.

Tabel 8. Hasil pengujian serologis Elisa Jembrana sampel berasal dari provinsi Sumatera Barat, Riau, Jambi dan Kepulauan Riau (kegiatan aktif) Tahun 2022

No	Provinsi	Kabupaten/Kota	Jumlah sampel	Seropositif	Seronegatif
1	Sumatera Barat	Dharmasraya	24	0	24
		Padang Pariaman	20	0	20
		Pasaman Barat	36	1	35
		Pesisir Selatan	24	0	24
		Sijunjung	15	0	15
		<b>Jumlah</b>	<b>119</b>	<b>1</b>	<b>118</b>
2	Riau	Bengkalis	19	0	19
		Kampar	18	0	18
		Pelalawan	35	1	34
		Rokan Hulu	19	0	19
		Siak	16	1	15
		<b>Jumlah</b>	<b>107</b>	<b>2</b>	<b>105</b>
3	Jambi	Batanghari	20	0	20
		Sarolangun	53	0	53
		Tebo	20	0	20
		<b>Jumlah</b>	<b>93</b>	<b>0</b>	<b>93</b>
4	Kepulauan Riau	Batam	10	0	10
		Karimun	26	0	26
		Lingga	12	0	12
		<b>Jumlah</b>	<b>48</b>	<b>0</b>	<b>48</b>
<b>TOTAL</b>			<b>367</b>	<b>3</b>	<b>364</b>

Pengujian juga dilakukan terhadap sampel yang dikirim oleh Dinas Peternakan dan perorangan (kegiatan pasif). Hal ini terutama untuk kepentingan pemasukan Sapi Bali ke propinsi Riau yang dipersyaratkan untuk dilakukan pengujian Elisa Penyakit Jembrana.

Tabel 9. Penerimaan sampel pasif dan hasil uji Elisa dari di Provinsi Sumatera Barat, Riau dan Jambi

No	Propinsi	Kabupaten/Kota	Jumlah sampel	Seropositif	Seronegatif
1	Sumatera Barat	Payakumbuh	4	0	4
2	Riau	Bengkalis	233	0	233
		Kepulauan Meranti	50	0	50
		Pelalawan	100	0	100
3	Jambi	Batanghari	2	0	2
<b>Total</b>			<b>389</b>	<b>0</b>	<b>389</b>

Hasil uji Elisa positif antibodi Jembrana menunjukkan bahwa pada ternak yang bersangkutan terdapat material antigenik virus Jembrana yang dapat disebabkan oleh adanya vaksinasi atau apabila ternak tersebut tidak divaksin berarti ternak tersebut pernah terpapar oleh virus Jembrana dan tubuh berhasil membentuk pertahanan dan dapat menetralkan virus dalam tubuh untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya. Apabila ternak tersebut divaksin, maka dapat disimpulkan bahwa vaksinasi yang dilakukan dapat memberikan kekebalan bagi ternak tersebut.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### 4. 1. Kesimpulan

1. Hasil pemeriksaan adanya virus Jembrana dengan metode PCR, menunjukkan hasil positif pada empat provinsi yakni Sumatera Barat 20,65%, Jambi 1,59%, Riau 13,67% dan Kepulauan Riau 10,00%.
2. Hasil uji Elisa terhadap antibodi virus jembrana didapatkan hasil tingkat kekebalan di propinsi Sumatera Barat 0,81%, Riau 0,41%.

### 4.2. Saran

1. Untuk mendapatkan hasil surveilans yang lebih informatif dan representatif, pelaksanaan surveilans penyakit Jembrana masih perlu ditingkatkan mulai dari

perencanaan sampai pada pengambilan sampel dan pencarian data di lapangan.

2. Kerja sama dan koordinasi antara Balai Veteriner Bukittinggi dengan Dinas Peternakan Propinsi dan Kabupaten perlu ditingkatkan lagi.
3. Penyediaan Kit untuk pengujian Elisa dapat terlaksana tepat waktu, sehingga pengujian Elisa dapat dilakukan di Balai Veteriner Bukittinggi dan pengkajian hasil monitoring pasca vaksinasi dapat dilakukan dengan lebih efektif dan akurat.
4. Penanggulangan kasus penyakit Jembrana di lapangan hendaknya dapat dilakukan secara cepat dan terintegrasi.
5. Pemasukan sapi Bali ke wilayah Sumatera Barat, Riau, Jambi hendaknya dipersyaratkan bahwa sapi tersebut telah divaksinasi penyakit Jembrana dan telah memiliki antibodi berdasarkan hasil uji Elisa.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Anonimus (2017), Laporan Monitoring dan Diagnosa Penyakit Jembrana di Regional II tahun 2017, Balai Veteriner Bukittinggi.
- Dharma, D.N, P.W., Ladds, G.E., Wilcox, R.S., Chambell, (1994). Immunopathology of Experimental Jembrana Disease in Bali Cattle. *J. Vet. Immunopathology*.
- Hartaningsuh, N., G.E., Wilcox, D.M.N., Dharma, M., Soetrisno, (1993). Distribution of Jebrana Disease in Cattle in Indonesia. *J.Vet Microbiol*
- Putra, A.A.G., D.M.N, Dharma, S., Soeharsono, T. Syafriati (1983). Studi Epidemologi Penyakit Jembrana di Kabupaten Karangasem Tahun 1981. Tingkat Mortalitas, Tingkat Morbiditas, Atact Rate. Annual Report on Animal Disease Investigation in Indonesia During The Period of 1981 – 1982.
- Soeharsono S. (1993). Studies of Jembrana Disease in Bali Cattle. A thesis submitted for the degree of Doktor of Philosophy. Murdoch University.
- Tenaya I Wayan Masa, (2003), Deteksi proviral DNA virus Jembrana pada limfosit sapi Bali dengan uji PCR. Buletin Veteriner BPPV. Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner Denpasar
- Tenaya I Wayan Masa, dan Hartaningsih N (2004), Kajian Hasil Vaksinasi Penyakit Jembrana di Lampung Tengah. Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner Denpasar
- Wilcox G.E., G., Kertayadnya, N., Harataningsih, S., Soeharsono, D.M.N, Dharma, T., Robetson, (1992). Evidence for Viral Etiology of Jembrana Disease in Bali Cattle. *J. Vet. Microbiology*

