



IVMA CCE 2010
 Indonesian Veterinary Medical Association
 Congress, Conference & Exhibition 2010



Kongres ke-16
Perhimpunan Dokter Hewan Indonesia
Konferensi Ilmiah Veteriner Nasional ke-11
1st Indonesia Small Animal Practitioners
International Conference

10 - 13 Oktober 2010
Hotel Gumaya, Semarang

Celebrating a Century of Veterinary in Indonesia

Didukung oleh
 Organisasi Seminat/ Sekeahlian/ Sebidang Kerja PDHI



Kumpulan Abstrak

Abstract of 11th National Veterinary Scientific Conference &
1st Indonesia Small Animal Practitioner International Conference

©Indonesian Veterinary Medicine Association (IVMA) 2010

All rights reserved. No part of this book may be reproduced in any form without permission in writing from the publisher, except by a reviewer who wishes to quote brief passages in a review written for inclusion in a magazine or newspaper.

Perpustakaan Nasional Indonesia

Cataloguing -in-Publication Data

The Indonesian Veterinary Medicine Association, 2010

The Proceeding of Indonesian Veterinary Medicine Association: Congress, Conference & Exhibition 2010 "Celebrating a Century of Veterinary in Indonesia", 11-13 September 2010, Hotel Semesta & Hotel Gumaya, Semarang, Indonesia.

ISBN : 978 – 602 – 97906 – 0 – 3

Type face : Calibri

Size : 10

Typeset and Printed by

The Indonesian Veterinary Medicine Association (IVMA)

Contact Address:

Sekretariat 1:

Pengurus Besar PDHI Gedung RS Hewan Jakarta Lt. 2

Jl. Harsono RM No. 28 (Blk), Ragunan - Jakarta 12550

Telp/ Fax: (62 21) 781 3359 - E-mail: ivmacce2010@yahoo.com / kivnas2010@yahoo.com

Web: www.ivmacce.com

Sekretariat 2:

ICONVEX

Jl. Bangka XI No. 7, Kemang - Jakarta 12720

Telp: (62 21) 719 7411 - Fax: (62 21) 719 7449

E-mail: info@indoconvex.com

Web: www.ivmacce.com

WA-SL 09	Studi kasus: Aircacculitis pada orangutan <i>Maryas V.Tandang, Heldy Setia R.</i>	97
WA-SL 10	Cacing parasitik pada ungko (<i>Hylobates agilis</i> F. Cuvier 1821) dan siamang (<i>Symphalangus syndactylus</i> Raffles 1821) di Taman Rekreasi Margasatwa Serulingmas Banjarnegara <i>Putri Indah Ningtias, Risa Tiuria, Hera Maheshwari</i>	99
WA-SL 11	Teknik koleksi cairan cerebrospinal dan analisa kandungannya terhadap malondialdehyde, dan glutathione sulfyl hydril pada <i>Macaca nemestrina</i> (Beruk) <i>Diah Pawitri, Erni Sulistiawati, Bambang Utoro, Dondin Sajuthi, I.N Budiarsa, Joko Pamungkas</i>	100
WA-SL 12	Blood chemistry and hematology performance of nonhuman primate (<i>Macaca fascicularis</i>) during exposure the ultrasound wave (30-100 kcz) as anti mosquito <i>Suprayogi A., B. Kiranadi, N. Kusumorini, A. S. Satijaningtjas, S. Murtini, and H.S. Darusman</i>	101
WA-SL 13	Perkembangan korteks serebelli monyet ekor panjang (<i>Macaca fascicularis</i>) pada masa prenatal sampai anak umur 105 hari <i>Tri Wahyu Pangestiningasih, Ayoe Pratiwi Handayani, Agnya Sinung Suminar, Diyah Sri Sayekti</i>	102
WA-SL 14	Studi morfologi dan morfometrik gigi molar monyet ekor panjang (<i>Macaca fascicularis</i>) <i>Hery Wijayanto, I Nengah Budiassa, Bagus Ardhana, Dwi Liliek Kusindarta, Tri Wahyu Pangestiningasih</i>	103
WA-SL 15	Terapi keratitis ulcerative mata anak gajah <i>M. Nanang Tejolaksono, Wiwik Misaco., Chuchu KS., Surya Wijaya Kusuma.</i>	103
WA-SL 16	Immobilisasi pada penyelamatan harimau Sumatera dengan kombinasi medetomidin dan ketamine hydrochloride <i>Yohana Tri Hastuti, Retno Sudarwati, Bongot Huaso Mulia, Ardyta Widianti, Ligaya ITA Tumbelaka</i>	104
ROSEWOOD ROOM:		
Mikrobiologi		
RW-MK01	Monitoring mycobacterium paratuberculosis (johne's disease) di Jawa 2005 - 2010 <i>Slamet Witono, Akhmad Junaidi</i>	107
RW-MK02	Deteksi cepat virus penyakit jembrana <i>Asmarani Kusumawati, Narendra Yoga Hendarta, Penny Humaidah Hamid, Pudji Astuti, Tri Untari, Sri Hartati</i>	108
RW-MK03	Hasil investigasi penyakit jembrana pada sapi bali di Kabupaten Bulungan Kalimantan Timur <i>Pinardhy Prawito, Anna Januar Fikri, Jimmy Syarwani Kalianda, Nur Jannah, Sulaxono Hadi</i>	110
RW-MK 04	Gambaran bakteri yang diisolasi dari susu sapi perah normal, mastitis subklinis dan mastitis klinis <i>Agnesia Endang Tri Hastuti Wahyuni, Ida Tjahajati, Fadjar Wahyudi, Franky, Rossa Setiya Darma, Lusya Widyawati, Ryan Pratami</i>	111

DETEKSI CEPAT VIRUS PENYAKIT JEMBRANA

Asmarani Kusumawati^{1,2*}, Narendra Yoga Hendarta^{2,3}, Penny Humaidah Hamid^{1,2}, Pudji Astuti¹,
Tri Untari¹, Sri Hartati¹

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta¹, Pusat Studi Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta², Jurusan Analisis kesehatan, Poltekkes Kementrian Kesehatan RI, Yogyakarta³, Indonesia.

Korespondensi : Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281, Indonesia;
e-mail : kartapati_2008@yahoo.com

Kata kunci; deteksi cepat, virus jembrana

Pendahuluan

Penyakit Jembrana (PJ) menyerang jenis sapi bali (*Bos javanicus*) secara akut dan menyebabkan kematian tinggi dan jenis sapi lainnya yaitu sapi Ongole (*Bos indicus*), sapi Friesian (*Bos Taurus*), dan kerbau (*Bos bubalis*) dengan pengaruh lebih ringan (Soeharsono et.al., 1995). Virus Penyakit Jembrana (VPJ) merupakan agen penyebab dari PJ yang diidentifikasi anggota dari family Retroviridae dan subfamily dari lentiviridae (Chadwick et. al., 1995). Penyakit Jembrana memiliki periode inkubasi pendek 5-12 hari, penyakit akut berakibat fatal dengan mortalitas tinggi. Binatang yang sembuh membangun respon antibodi terhadap virus dan resisten terhadap infeksi kembali sedikitnya 22 bulan dan membawa virus infeksius dalam darah selama sedikitnya 25 bulan setelah infeksi yang dapat menulari sapi sehat lainnya (Soeharsono et.al, 1995).

Metode diagnosis yang cepat, akurat dan mudah merupakan sarana untuk mencegah penyebaran PJ yang mudah menular. Diagnosis klinis dan immunologis tidak mudah diterapkan pada infeksi awal. Teknik diagnosis didasarkan asam nukleat merupakan metode deteksi yang lebih dini. Metode menggunakan amplifikasi asam nukleat pada suhu tunggal merupakan cara yang mulai banyak diterapkan selain amplifikasi asam nukleat yang umum (PCR) karena keunggulannya yaitu reaksinya cepat (30-60 menit) pada satu siklus reaksi pada suhu tunggal (60-63°C), dan hasilnya bisa langsung dilihat dengan adanya endapan putih atau ditambahkan SYBR *green fluorescence dye* muncul warna hijau jika dikenai sinar UV. Metode ini sangat sensitif dan spesifik dimana menggunakan 4 atau 6 primer yang berbeda yang hanya mengenal 6 atau 8 sekuen gen target (Parida et.al., 2008).

Bahan dan Metode

Ekstraksi RNA Total Limpa Sapi yang Terinfeksi VPJ. Ekstraksi RNA total dari jaringan limpa yang terinfeksi dengan reagen TRIZOL LS (Invitrogen Life Technologies) yang dikerjakan sesuai petunjuk perusahaan. Hasil pelet RNA total dilarutkan dalam 100 µL DEPC-treated H₂O (RNase free water). Kemurnian RNA ditentukan dengan spektrofotometer pada rasio absorpsi panjang gelombang 260/280 dan konsentrasi RNA pada gelombang 260 nm.

Purifikasi RNA Virus. Partikel RNA virus dari hasil ekstraksi RNA total diproses dengan mengambil 50 µl larutan ekstrak RNA ditambahkan 10 mM Tris-HCl dan 0,4% SDS dan diinkubasi selama 5 menit dalam es. Campuran ditambahkan fenol-kloroform 1:1 dan diinkubasi selama 15 menit dalam es. Selanjutnya disentrifugasi 3000 rpm selama 25 menit suhu 4°C. RNA pada fase atas diambil kemudian dipresipitasi dengan isopropanol 1:1 dan dicampur dengan baik. Campuran diinkubasikan pada suhu -20°C semalam.. Kemudian disentrifugasi 3000 rpm 25 menit suhu 4°C. Supernatan dibuang dan pelet dicuci dua kali dengan ethanol 70% sebanyak 1 ml. Pelet dilarutkan dengan 20 µl dH₂O-DEPC treated. Kemurnian RNA virus ditentukan dengan spektrofotometer pada rasio absorpsi panjang gelombang 260/280 dan konsentrasi RNA pada gelombang 260 nm.

Reaksi Amplifikasi Isothermal. Reagen yang dipakai yaitu : 2 µM setiap primer dalam FIP dan BIP, 0.2 µM setiap primer luar F3 dan B3, 1400 µM of dNTP mix (Promega), 0.6 M betaine (Fluka Biochemika), 6mM MgSO₄, 0.125 U AMV reverse transcriptase (RTase) (Promega), 8 U of Bst DNA polymerase (large fragment; New England Biolabs), dengan 1x buffer kit, dan untuk mempercepat LAMP ditambahkan 1 µM setiap primer loop 1F dan 1B. Template RNA sebanyak 1 µl dan volume akhir campuran reaksi adalah 25 µl dengan penambahan RNase free water. Reaksi amplifikasi menggunakan alat thermobath pada reaksi 63°C selama 30 menit dan dihentikan dengan inkubasi pada suhu 80°C selama 2 menit. Hasil reaksi dilakukan elektroforesis dengan mencampur 5 µl hasil amplifikasi dengan 2 µl loading dye dimasukan kedalam lubang gel agorose 1% yang mengandung good view fluorescent dan dialiri listrik searah 100 volt selama 30 menit. Hasil elektroforesi dilihat dengan transilluminator UV pada gelombang 302 nm.

Hasil dan Pembahasan

Gen *gag* adalah gen struktural yang mengkode protein penting yang terdiri dari 3 subunit yaitu *ma*, *ca*, dan *nc*. Gen *gag* diekspresikan menjadi prekursor GAG yang dimaturasi menjadi protein matriks (MA), capsid (CA), dan nukleokapsid (NC). Gen *gag* merupakan gen virus yang stabil pada sapi bali di Indonesia sehingga memenuhi syarat sebagai target amplifikasi untuk deteksi virus.

Primer untuk amplifikasi isothermal mengenali sekuen target gen CA virus penyakit jembrana sepanjang 211 bp oleh sepasang primer luar (F1 dan B3) dimana berfungsi untuk mengawali reaksi amplifikasi dengan amplifikasi non siklik. Dengan adanya enzim *Bst* polimerase yang mampu melepas untai ganda DNA dan selanjutnya mensintesis DNA pada suhu tunggal untuk reaksi amplifikasi seterusnya dilakukan oleh primer dalam (FIP dan BIP) pada tahap siklik yang membentuk struktur seperti bunga kol. Untuk mempercepat reaksi digunakan sepasang *loop* primer (1F dan 1B) (Notomi *et.al.*, 2000). Reaksi amplifikasi diawali pembentukan DNA virus dari template RNA virus oleh Enzim *Amv* reverse transcriptase dan diteruskan oleh sintesis DNA dari DNA yang terbentuk dari RNA oleh enzim *Bst* polimerase. Reaksi sangat cepat dengan adanya *loop* primer dan memiliki spesifitas dan sensitifitas yang tinggi dengan pemakaian 6 buah. Hal ini sesuai, pada penelitian ini menunjukkan tanpa adanya template (memakai air) tidak menghasilkan amplifikasi DNA dan juga absennya primer F1 dan B3 tidak terjadi reaksi amplifikasi. Hasil reaksi dielektroforesis dan dibaca menggunakan transilluminator sinar UV memperlihatkan karakteristik khas yaitu pita yang lebar berbentuk tangga yang rapat sebagai hasil dari hasil reaksi sintesis DNA yang bervariasi.

Dibandingkan dengan amplifikasi lain seperti RT-PCR yang memakan waktu reaksi 3-4 jam menggunakan alat khusus (thermocycler), reaksi amplifikasi isothermal ini hanya memerlukan waktu sekitar 30-45 menit hanya menggunakan alat sederhana seperti thermobath.

Kesimpulan

Teknik amplifikasi isothermal dapat digunakan untuk deteksi virus penyakit jembrana dengan cepat yaitu 30-45 menit dan dengan alat yang lebih sederhana (thermobath) dibandingkan dengan amplifikasi RT-PCR yang memerlukan waktu sedikitnya 3 jam dan alat khusus (thermocycler).

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didukung oleh bantuan Hibah Fundamental Perguruan Tinggi Universitas Gadjah Mada tahun 2009 dan Hibah Kompetensi DIKTI 2008

Daftar Pustaka

- Chadwick, B.J., Coelen, R.J., Wilcox, G.E., Sammels, L.M., and Kertayadnya, G. (1995). Nucleotide sequence analysis of Jembrana disease virus: a bovine lentivirus associated with an acute disease syndrome. *J. Gen. Virol.*, **76**: 1637-1650.
- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N. & Hase, T. (2000). Loop-mediated isothermal amplification reaction of DNA. *Nucl. Ac. Res.*, **28**, e63
- Parida, M., Sannarangaiah, S., Dash, P.K., Rao, P.V.L. & Morita, K. (2008). Loop mediated isothermal amplification (LAMP): a new generation of innovative gene amplification technique; perspectives in clinical diagnosis of infectious diseases. *Rev. Med. Virol.*, **18**, 407-421.
- Soeharsono, S., Wilcox, G.E., Putra, A.A., Hartaningsih, N., Sulistyana, K., and Tenaya, M. (1995). The transmission of Jembrana disease, a lentivirus disease of *Bos javanicus* cattle. *Epidemiol. Infect.*, **115**: 367-374.