

Survei Penyakit *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome* pada Peternakan Babi di Bali

(*SEROLOGICAL SURVEILLANCE OF PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME IN PIGGERIES IN BALI*)

I Nyoman Suartha¹, I Made Suma Anthara², I Wayan Wirata³, Tri Komala Sari⁴, Ni Made Ritha Krisna Dewi⁵, I Gusti Ngurah Narendra⁵, I Gusti Ngurah Mahardika^{4,5}

¹Laboratorium Penyakit Dalam; ²Laboratorium Farmakologi; ³Laboratorium Bedah, ⁴Laboratorium Virologi; ⁵UPT Laboratorium Biomedika Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Denpasar
Jl PB Sudirman Denpasar, Telepon 081 238 05727, Email: gnmahardika@indosat.net.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan dan beban virus *porcine respiration and reproductive syndrome* (PRRS) pada peternakan babi di Bali. Sampel dikumpulkan dari 10 peternakan babi intensif dan peternakan rakyat di Bali yang tersebar di delapan kabupaten. Jumlah sampel sera yang dikumpulkan sebanyak 305. Antibodi dideteksi dengan *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) dan virus PRRS dideteksi menggunakan *reverse transverse polymerase chain reaction* (RT-PCR). Hasil deteksi antibodi dan isolasi virus menunjukkan rata-rata persentase babi positif antibodi anti-PRRS adalah 13,4% (14,3% pada peternakan rakyat dan 11,7% pada peternakan intensif). Rataan prevalensi virus PRRS dengan RT-PCR adalah 8,9% (15,3% pada peternakan rakyat dan 5,6% pada peternakan intensif). Tampaknya virus PRRS telah endemik pada peternakan babi di Bali. Vaksinasi, manajemen peternakan, biosafety dan tindak karantina sebaiknya diimplementasi pada peternakan babi di Bali untuk mencegah kerugian peternak akibat PRRS.

Kata Kunci : *porcine reproductive and respiratory syndrome*, ELISA, RT-PCR, PRRS

ABSTRACT

This study aimed to determine the presence and burden of Porcine Respiration and Reproductive Syndrome (PRRS) virus in pig farms in Bali. A total of 305 sera samples were collected from 10 intensive pig farms and backyard piggeries located in eight districts, in Bali. The PRRS antibody and the virus was detected using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and transverse reverse polymerase chain reaction (RT-PCR), respectively. The results showed that, generally the average percentage of positive swine anti-PRRS antibody was 13.4%, 14.3%, and 11.7% in the backyard farms and commercial farms, respectively. Whereas, the detection rate of PRRS virus was 8.9% (15.3% and 5.6% in the backyard farm and commercial farms, respectively). It was concluded that PRRS virus is endemic in pigs, in Bali. Vaccination, management, biosafety, and quarantine should be implemented to prevent the economic loss due to PRRS.

Keywords : *porcine reproductive and respiratory syndrome* , pig, Bali, Elisa, RT-PCR

PENDAHULUAN

Industri peternakan babi berperan penting dalam meningkatkan perekonomian masyarakat di beberapa bagian Indonesia. Peternakan babi terkonsentrasi di Provinsi Sumatra Utara, Jawa Tengah, Bali, Sulawesi Utara Nusa Tenggara Timur, Maluku, dan Papua. Jumlah babi di seluruh Indonesia diperkirakan enam

juta ekor ([Http://database.deptan.go.id](http://database.deptan.go.id)), sebagian besar dari populasi tersebut berasal dari peternakan rakyat.

Berbagai penyakit menular asal virus pada babi telah menyebar di seluruh Indonesia. Hal itu dapat terjadi akibat ketergantungan industri peternakan babi di Indonesia dengan mitra internasional dalam hal penyediaan produk biologi asal babi, sperma babi unggul, dan

embrio, akan tetapi laporan tersebut sangat terbatas.

Penyakit *Porcine Respiration and Reproductive Syndrome* (PRRS) dilaporkan telah menyebar di seluruh dunia dan menimbulkan kerugian yang tinggi pada peternakan babi (Neumann *et al.*, 2005). Di Indonesia, virus PRRS telah dilaporkan terdeteksi di Sumatra Utara (Salusianto 2009), tetapi virus PRRS belum pernah dilaporkan di Bali yang merupakan salah satu sentra peternakan babi di Indonesia. Dengan demikian, PRRS penting untuk diketahui penyebarannya di Bali.

Virus PRRS termasuk famili *Arteriviridae*, ordo *Nidovirales* (Zimmermann *et al.*, 1997; Blaha 2000). Virus PRRS menyebabkan kegagalan pernafasan pada babi neonatus, aborsi pada induk bunting (Blaha 2000), gangguan multisistem setelah masa sapih dan penggemukan (Burch 2008). Penyakit ini dapat ditularkan melalui air liur (Prickett *et al.*, 2008.), semen (Yaeger *et al.*, 1993), dan alat transpor yang tercemar virus (Dee *et al.*, 2007). Hal itu yang memudahkan penyebaran penyakit PRRS ke peternakan di negara lain terutama yang mengimpor semen untuk bibit babi unggul.

Penyebaran dini dari pejantan dapat dideteksi melalui pemeriksaan darah yang diambil dengan teknik apus darah dari arteri aurikularis (Broes *et al.*, 2007). Adanya gejala demam pada pejantan tidak dapat digunakan sebagai patokan untuk diagnosis PRRS (Reicks *et al.* 2006).

Studi ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan dan beban virus PRRS pada peternakan babi di Bali.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel

Sampel darah dengan antikoagulan dikumpulkan dari 10 peternakan babi intensif dan peternakan rakyat di Bali. Selanjutnya serum dikumpulkan untuk deteksi antibodi dan spesimen jaringan dan darah untuk isolasi virus. Jumlah sampel serum dari babi yang secara klinis sehat per kandang adalah 30. Sampel jaringan diambil dari babi yang secara klinis sakit. Babi dengan tanda-tanda klinis dicurigai PRRS dinekropsi. Lesi pascamati dicatat dan jaringan seperti paru-paru, hati, limpa, ginjal dan kelenjar getah bening superfisial organ alat reproduksi dikumpulkan dalam wadah tanpa medium dan disimpan pada suhu -20°C untuk

pemeriksaan virus, sebagian sampel dikumpulkan pada wadah dengan formalin 10% untuk pemeriksaan histopatologi.

Deteksi Antibodi

Antibodi terhadap virus PRRS dideteksi menggunakan ELISA kit komersial Anigen PRRSV Ab ELISA 2.0® (Anigen Animal Genetics Inc., Korea). Serum diencerkan 1:40 dengan larutan pengencer yang telah tersedia. Serum yang telah diencerkan ditambahkan masing-masing ke dalam sumuran *mikroplate* kode NHC dan PRRS yang sebelumnya telah dilapisi dengan antigen rekombinan PRRS dan antigen NHC. Protokol yang sama dilakukan untuk kontrol positif dan negatif. *Mikroplate* diinkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit dan selanjutnya dicuci sebanyak lima kali. *Mikroplate* ditambahkan anti-porcine-HRP dan diinkubasikan selama 30 menit. *Mikroplate* dicuci sebanyak lima kali. Substrat ditambahkan untuk setiap sumur dan diinkubasikan selama 15 menit. Setelah itu *stop solution* ditambahkan 100 µL ke setiap sumur. Nilai absorbansi dibaca dengan spektrometer pada panjang gelombang 450 nm dan panjang gelombang referensi 620 nm. Validitas uji dinilai sesuai aturan pabrik. *Cut-off criteria* (S/P rasio) dihitung sesuai dengan manual yang disediakan. Rasio S/P yang lebih besar atau sama dengan 0,4 dianggap positif, sedangkan rasio S/P yang kurang dari 0,4 dianggap negatif.

Deteksi Virus

Virus PRRS dideteksi dari sampel lapangan dengan menggunakan *reverse-transcriptase-polymerase chain reaction* (RT-PCR). Primer yang digunakan adalah NSP2-F5'-AAAGACCAGATGGAGGAGGA-3', NSP2-R 5'-GAGCTGAGTATTTTGGGCGTG-3', ORF5-F 5'-ATGTTGGGGAAGTGCTTGACC-3', dan ORF5-R 5'-CTAGAGACGACCCCATTTGTTCCGC-3' (Feng *et al.*, 2008). RNA genom diisolasi dari serum atau jaringan menggunakan protokol ekstraksi Trizol (Invitrogen) setelah sampel jaringan ditambahkan proteinase K dalam SDS 2%. RT-PCR untuk deteksi virus PRRS dilakukan dengan menggunakan *Super-Script™III One-Step RT-PCR system* dengan *Platinum® Taq DNA Polymerase* (Invitrogen). Kondisi reaksi dilakukan dalam 0,2 mM dNTP, 1,6 mM MgSO₄, dengan konsentrasi masing-masing primer 600 µM. Setelah penambahan 1-3 µL sampel RNA dan enzim, tabung PCR dimasukkan ke dalam *thermocycler* (GenAmp PCR System 9700). Siklus RT-PCR yang lengkap

adalah selama 60 menit pada suhu 45°C, prapemanasan dan tahap aktivasi *Tag-polimerase* pada suhu 95°C selama tujuh menit. Selanjut sebanyak 40 siklus yang masing-masing 45 detik pada suhu 94°C, selama 45 detik pada suhu 50-55°C, dan pada suhu 72°C selama 60 detik. Tahap sintesis akhir pada suhu 72°C selama lima menit. Setelah RT-PCR, sebanyak 10-20% produk ditambahkan dengan 1-2 µL *loading dye* (*Bromphenol-blue* dan *Cyline Cyanol*), kemudian dimasukkan ke dalam sumur cetakan gel agarose 1%, bersamaan dengan sampel, DNA *ladder* 100 bp (Ivitrogen) juga ikut dielektroforesis. Gel agarose diwarnai dengan 25µg/ml ethidium bromida. Produk divisualisasikan dalam kotak UV dan didokumentasikan menggunakan Photodoc-TI-Hood.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel sera yang dianalisis dalam penelitian ini sebanyak 305, dengan rincian sebanyak 98 sampel sera dari peternakan rakyat dan 197 sampel sera dari peternakan intensif dari Bali. Sampel yang dari Bali diambil dari

delapan kabupaten (Tabel 1).

Tanda-tanda klinis yang diamati pada anak babi sampel adalah diare, kekurusan, batuk, dermatitis, dan pembengkakan limponodus inguinalis superfisial. Informasi dari peternak yang digunakan sebagai sampel menyatakan babi induknya sering mengalami kluron. Gambar gejala klinis dan temuan patologis ditunjukkan pada Gambar 1. Lesi patologi yang menonjol adalah pembengkakan limfo-nodus inguinalis superfisial, cairan asites, nekrotik limpa, nekrosis multifokal ginjal, dan konsolidasi paru-paru.

Perubahan histopatologi (Gambar 2) yang paling menonjol ditemukan di jaringan paru-paru, berupa penebalan septa alveoli, eksudat fibrinosa pada alveoli dan bronkus, dan terbentuknya trombus pada pembuluh darah paru-paru. Perubahan menonjol pada glandula dan limpa adalah nekrosis dan haemorrhagi. Pada ginjal ditemukan nefritis interstitial, trombus dan hemorhagi fokal.

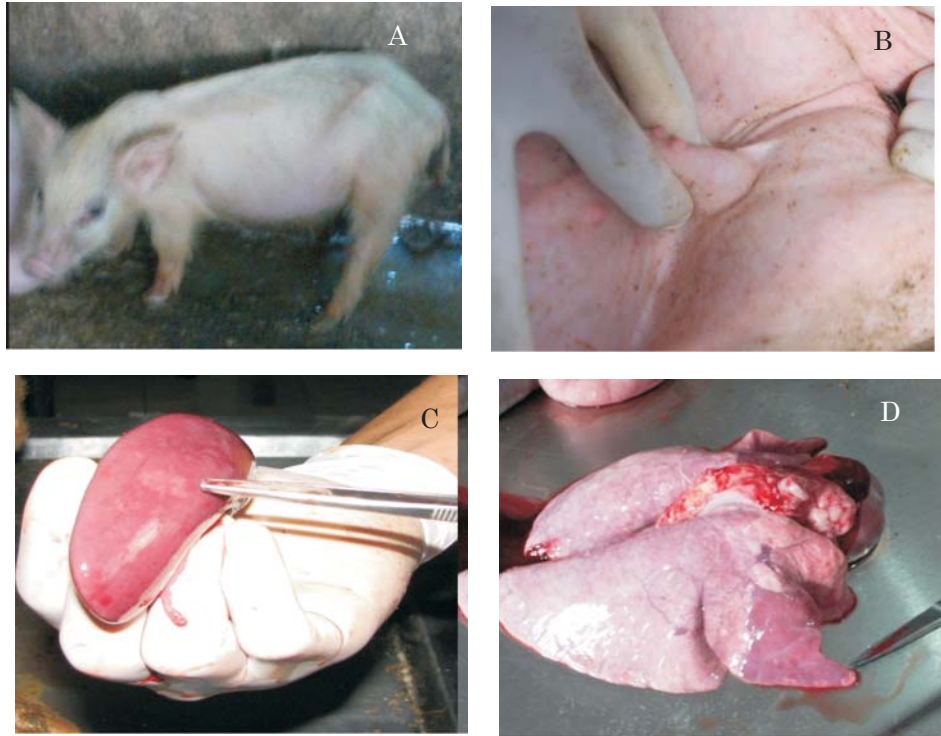
Hasil deteksi antibodi dan isolasi virus (Tabel 1 dan 2) menunjukkan rataan antibodi anti-PRRS adalah 13,4% (14,3% pada peternakan rakyat dan 11,7% pada peternakan

Tabel 1. Distribusi, jumlah sampel, asal serum, antibodi anti-PRRS dan deteksi virus.

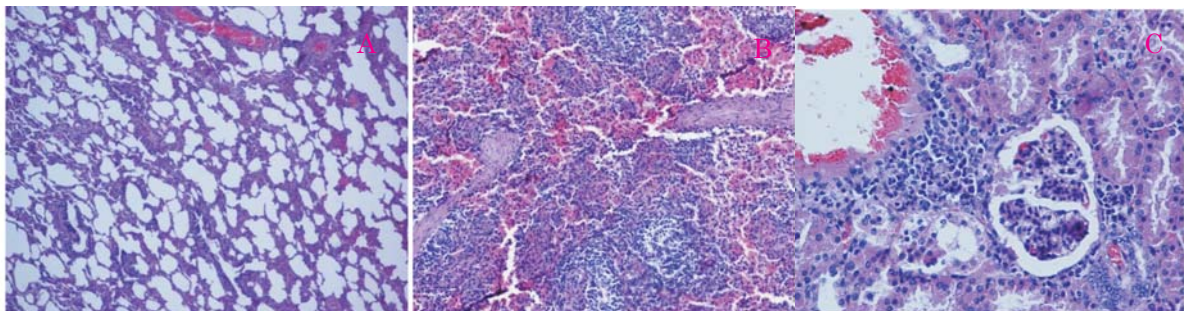
Asal Sampel	Tipe Peternakan	Jumlah Sampel	Antibodi positif PRRS	Prevalensi antibodi PRRS	Positif Virus PRRS	Prevalensi Virus PRRS
Badung	Rakyat	12	0	0,0%	9	75,0%
	Intensif	22	4	18,2%	1	4,5%
Bangli	Rakyat	23	3	13,0%	1	4,3%
	Intensif	31	4	12,9%	0	0,0%
Buleleng	Rakyat	14	9	64,3%	0	0,0%
Karangasem	Rakyat	31	0	0,0%	3	9,7%
Klungkung	Intensif	38	4	10,5%	6	15,8%
Jembrana	Intensif	14	4	28,6%	1	7,1%
Tabanan	Rakyat	7	1	14,3%	1	14,3%
	Intensif 1	58	3	5,2%	2	3,4%
	Intensif 2	34	4	11,8%	1	2,9%
Gianyar	Rakyat	11	1	9,1%	1	9,1%
Total		305	41	13,4%	27	8,9%

Tabel 2. Prevalensi antibodi anti-PRRS dan deteksi virus PRRS pada peternakan rakyat dan intensif di Bali.

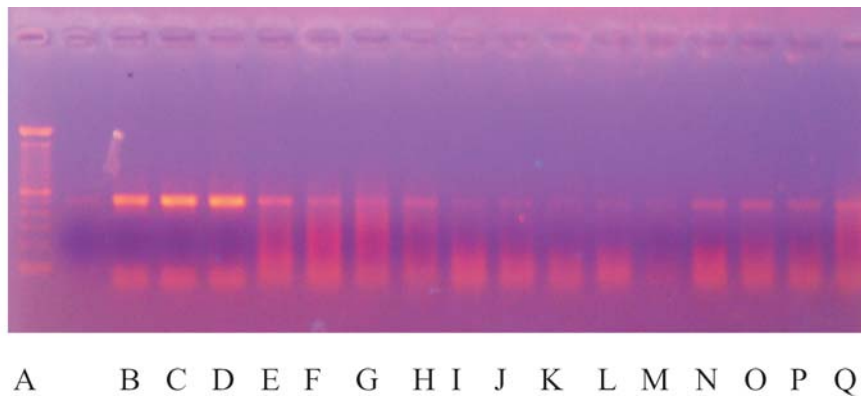
Tipe Peternakan	Jumlah sampel	Positif Antibodi anti PRRS	Prevalensi PRRS Antibodi	Virus PRRS Positif	Prevalensi Virus PRRS
Rakyat	98	14	14,3%	15	15,3%
Intensif	197	23	11,7%	11	5,6%



Gambar 1. Gejala klinis kekurusan (A) dan kebengkakan limfonodus superfisial inguinalis (B), nekrosis multifokal pada ginjal (C) dan konsolidasi paru (D)



Gambar 2. A: Penebalan septa alveoli paru (pembesaran 100X), B: Limpoid nekrosis dan hemorrhagia limpa (pembesaran 100X), C: nefritis and pembentuka thrombi (pembesaran 500X)



Gambar 3. Foto PRRS RT-PCR gel agarosa 1% yang ditambahkan dengan ethidium bromida dan visualisasi dalam transluminator UV. A: DNA penanda 100-bp; BCD : positif virus PRRS; E,F,G,H,I,J,K,L,O,P,Q: negatif virus PRRS

intensif). Rataan prevalensi virus PRRS adalah 8,9% (15,3% pada peternakan rakyat dan 5,6% pada peternakan intensif). Gambar hasil deteksi virus PRRS menggunakan RT-PCR disajikan pada Gambar 3.

Laporan tentang penyakit PRRS sangat sedikit di Indonesia. Tetapi, indikasi ke arah penyakit tersebut seperti kegagalan reproduksi, lambatnya pertumbuhan pascasapih dan adanya gangguan respirasi yang sulit ditangani banyak dilaporkan oleh peternak. Indikasi terhadap infeksi PRRS pada peternakan babi telah dilaporkan di Sumatra Utara (Salusianto, 2009). Penelitian itu melaporkan bahwa kelompok ternak babi memiliki penampilan yang jauh lebih baik setelah divaksinasi PRRS dibandingkan dengan kelompok ternak babi yang tidak divaksinasi.

Sejarah penyakit yang diperoleh dari peternak yaitu kegagalan reproduksi dan aborsi secara berulang-ulang pada induk, pada anak babi pra dan pascasapih terjadi gangguan pernafasan, kekerdilan, dan kematian tinggi pada saat neonatus. Gejala klinis reproduksi dan respirasi adalah gejala yang paling umum ditemukan pada penyakit PRRS (Dorr *et al.*, 2006), selain gejala gangguan pertumbuhan pascasapih (Zimmermann *et al.* 1997). Babi yang terserang PRRS sangat mudah kena infeksi sekunder dari bakteri maupun infeksi virus (Dorr *et al.*, 2007). Tanda-tanda klinis yang teramati anak babi mengalami diare, kecurusan, batuk, dermatitis, dan pembengkakan limfonodus inguinalis superfisial. Gejala yang sama juga dilaporkan oleh Zimmermann *et al.* (1997). Gejala klinis demam pada pejantan tidak dapat digunakan sebagai patokan babi itu terinfeksi PRRS (Reicks *et al.*, 2006). Temuan patologis adalah cairan asites, nekrotik limpa, nekrosis multifokal ginjal, dan konsolidasi paru-paru.

Perubahan histopatologi yang paling menonjol ditemukan di jaringan paru-paru yaitu penebalan septa alveoli dengan derajat keparahan bervariasi, eksudat fibrosa pada alveoli dan bronkus, dan trombus pada buluh darah paru-paru. Perubahan histopatologi seperti di atas juga dilaporkan oleh Kubo dan Ishikawa (2009). Pada kelenjar limfoid dan limpa perubahan histopatologi yang menonjol adalah lesi nekrosis dan perdarahan. Lesi nefritis interstitial, pembentukan trombus, dan perdarahan titik juga terlihat pada ginjal.

Data tersebut telah memberikan indikasi kuat adanya infeksi virus PRRS. Penyakit PRRS telah dilaporkan menyebar di seluruh dunia dan

menimbulkan kerugian ekonomi yang besar pada peternakan babi akibat kegagalan pernafasan pada neonatus dan aborsi pada induk (Blaaha 2000). Peneliti lain melaporkan pada babi penderita PRRS terjadi *postweaning syndrome wasting multisystemic*, kelemahan, dispnea, limfadenopati, diare, dan ikterus (Allan dan Ellis, 2000). Penyebaran penyakit dilaporkan melalui semen, alat angkut, muntahan, insekta, burung, aerosol, dan air liur (Christopher-hennings *et al.*, 1995; Rossow *et al.*, 1995; Torremorell *et al.*, 1997; Dee *et al.*, 1995; dan 2007). Virus PRRS dapat diisolasi dari serum 12 jam setelah infeksi (Rossow *et al.*, 1995), sedangkan pada babi pejantan dilaporkan bervariasi dari satu sampai 14 hari (Christopher-Henning *et al.*, 1995; Prieto *et al.*, 2004). Virus masih terdeteksi sampai lima bulan pada eksudat kript tonsil (Fangman *et al.*, 2007)

Keterlibatan virus PRRS telah terbukti dalam penelitian serologi dan virologi. Pada penelitian ini, hasilnya menunjukkan rata-rata antibodi anti-PRRS adalah 13,4% dengan prevalensi virus PRRS sebesar 8,9%. Hasil tersebut mengindikasikan virus PRRS telah beredar di Bali sejak lama. Hal yang sama kemungkinan besar dapat berlaku untuk daerah lain di Indonesia, karena sistem produksi industri babi intensif di Bali sangat saling terkait dengan peternakan babi di daerah lain di Indonesia terutama penyediaan bibit unggul. Sementara itu saat ini peternakan rakyat hampir semuanya memelihara ras babi luar negeri.

Upaya yang dapat dilakukan untuk menghindari kerugian ekonomi tinggi pada peternakan babi adalah para peternak dianjurkan menerapkan manajemen peternakan yang lebih baik dan melakukan vaksinasi terhadap PRRS. Penutupan kandang selama 6-9 bulan mampu menghilangkan kontaminasi virus PRRS yang telah terjadi pada kandang (Schaefer dan Morrison, 2007). Penerapan sanitasi, penyemprotan alat angkut dengan air panas mampu menekan kontaminasi virus PRRS (Dee *et al.*, 2007). Babi-babi peternakan rakyat juga direkomendasikan untuk divaksinasi untuk memutus siklus penyebaran virus, disamping peran sosio-kultural babi dalam komunitas tertentu, terutama sebagai komponen utama dari jaring pengaman sosial. Pada calon pejantan harus dilakukan penyaringan awal untuk memastikan bebas infeksi virus PRRS (Reicks *et al.*, 2006).

SIMPULAN

Virus PRRS telah endemik pada peternakan babi di Bali. RT-PCR dapat digunakan untuk diagnosis rutin pada penyakit PRRS.

SARAN

Vaksinasi, penerapan manajemen, biosafety dan karantina sebaiknya diimplementasi pada peternakan babi untuk mencegah kerugian peternak akibat PRRS.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada PT Boehringer-Ingelheim Indonesia atas dukungan dana penelitian. Dinas Peternakan Bali dan Berbagai Kabupaten telah ikut mendukung penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Blahe T. 2000. The "colorful" epidemiology of PRRS. *Vet Res.* 31:77-83.
- Broes A, Caya I, Belanger M. 2007. New blood collection technique for porcine reproductive and respiratory syndrome virus monitoring in boars. *J Swine Health and Prod*
- Christopher-Hennings J, Nelso EA, Hines RJ, Nelso JK, Swenson SI, Zimmermann JJ, Chase CCI, Yaeger MJ, Benfield DA. 1995. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in serum and semen of adult boars. *J Vet Diagn. Invest.* 7:456-464.
- Dee SA, Joo HS, Pijoan C. 1995. Controlling the spread of PRRS virus in breeding herd through management of gilt pool. *J Swine Health and Prod.* 3:64-69.
- Dee SA, Torrelmorel M, Thompson R, Cano JP, Dee J, Pijoan C. 2007. Evaluation of the thermo-assisted drying and decotamination system for sanitation of a full size transport vehicle contaminated with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Swine Health and Prod* 15(1):12-18.
- Dorr PM, Gebreyes WA, Almond GW. 2007. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: Age and management system disease modeling for pathogenic co-infection. *J Swine Health and Prod.* 15:258-263.
- Fangman TJ, Kleiboeker SB, Coleman M. 2007. Tonsillar cryt exudate to evaluate shedding and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus after inoculation with live field virus or vaccination with modified live virus vaccine. *J Swine Health and Prod.* 15:219-223.
- Feng Y, Zhao T, Nguyen T, Inui K, Nguyen TH, Nguyen VC, Liu D, Bui QA, To LT, Wang C, Tian K, and Gao GF. 2008. Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome Virus Variants, Vietnam and China, 2007. *EID*, 14(11): 1774-1776.
- Kubo M and Ishikawa H. 2009. Color Atlas of Swine Diseases Diagnosis. Venet, Japan.
- Neumann EJ, Kliebensteins JB, Johnson CD, Mabry JW, Bush EJ, Seitzinger AH, Green AL, Zimmermann JJ. 2005. Assesment of economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in United State. *JAVMA.* 227: 385-392
- Prickett J, Simer R, Christopher-Hennings J, Kyoung-Jin Y, Evans RB, Zimmermann JJ. 2008. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in porcine oral fluid sample : a longitudinal study under experimental conditions. *JVDI.* 20:156-163.
- Prieto C, Garcia C, Simatto I, Castro JM. 2004. Temporal shedding and persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome in boars. *Vet Rec.* 154:824-827.
- Rosow KD, Collins JE, Goyal SM, Nelson EA, Christopher-Hennings J, Benfield DA, 1995. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in gnotobiotic pigs. *Vet Pathol.* 32:361-373.
- Salusianto S. 2009. Case report on PRRS control in North Sumatra, Indonesia. Proc. Of the 4th Congress of Asian Pig Veterinary Society. Tsukuba, Japan.
- Schaefer N and Morrison R. 2007. Effect on total pigs weaned of herd closure for elimination porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Swine Health and Prod.* 15:152-155.

- Torremorell M, Pijoan C, Janni K, Walker R, Joo HS. 1997. Airbone transmission of *Actiobacillus pleuropneumoniae* and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in nursery pigs. *Am J. Vet. Res.* 58:828-832.
- Yaeger MJ, Prieve T, Collins J, Christopher-Hennings J, Nelson E, Benfield D, 1993. Evidence for transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in boar semen. *J. Swine Health Prod.* 1(5):7-9.
- Zimmerman JJ, Yoon KJ, Wills RW, Swenson SL. 1997. General overview of PRRSV: A perspective from the United States. *Vet Microbiol.* 55:187-196.