

Deteksi Antibodi *Non-Structural* dan *Structural Protein* pada Sapi Perah Terinfeksi Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) di Kabupaten Boyolali, Provinsi Jawa Tengah, Indonesia

Antibodies Detection of Non-Structural and Structural Protein on Dairy Cattle Infected Foot and Mouth Disease (FMD) in Boyolali Regency, Central Java Province, Indonesia

Desi Puspita Sari¹, Sri Handayani Irianingsih¹, Michael Haryadi Wibowo²

¹Medik Veteriner, Balai Besar Veteriner Wates, Yogyakarta, Indonesia

²Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

*Corresponding author; Email : mhwibowo@ugm.ac.id

Naskah diterima: 6 September 2024, direvisi: 14 Januari 2025, disetujui: 29 Juli 2025

Abstract

Foot and mouth disease (FMD) has a devastating impact on animal welfare, economic losses, and restrictions on the export of livestock and livestock products. Animal which infected FMD virus will produce non-structural protein (NSP) and structural protein (SP) antibodies. Immunity to SP antibodies provides protection to animals after FMD infection. The presence of antibodies after FMD infection is an important indicator in the implementation of vaccination programs. This study aimed to detect the presence of NSP and SP antibodies of serotype O in dairy cattle. Twenty-seven FMD-infected and unvaccinated dairy cows in Bendosari Hamlet, Karangkendal Village, Musuk District, Boyolali Regency were used in this study. Detection of FMD infected cows used oral swab, milk and serum samples one month after FMD infection. Detection of NSP and SP serotype O antibodies using ELISA technique from serum samples. Serum was collected every month until six months after FMD infection. This study showed that NSP and SP serotype O antibodies were still detected in dairy cows up to six months after FMD infection.

Keywords: antibodies; *non-structural protein* (NSP); *structural protein* (SP); foot amouth disease (FMD)

Abstrak

Penyakit mulut dan kuku (PMK) memiliki dampak yang merusak kesejahteraan hewan, kerugian ekonomi, pembatasan ekspor ternak dan produk hasil peternakan. Hewan yang terinfeksi virus PMK akan menghasilkan antibodi *non-structural protein* (NSP) dan *structural protein* (SP). Kekebalan terhadap antibodi SP memberikan perlindungan pada hewan pasca terinfeksi PMK. Keberadaan antibodi pasca terinfeksi PMK menjadi indikator penting dalam pelaksanaan program vaksinasi. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan antibodi NSP dan antibodi SP serotype O pada sapi perah. Sebanyak dua puluh tujuh ekor sapi perah yang terinfeksi PMK dan tidak divaksinasi PMK di Dusun Bendosari, Desa Karangkendal, Kecamatan Musuk, Kabupaten Boyolali digunakan dalam penelitian ini. Deteksi sapi yang terinfeksi PMK menggunakan sampel swab oral, susu dan serum pada satu bulan pasca terinfeksi PMK. Deteksi antibodi NSP dan SP serotype O menggunakan teknik ELISA dari sampel serum. Pengambilan serum dilakukan setiap bulan hingga enam bulan pasca terinfeksi PMK. Penelitian ini menunjukkan bahwa antibodi NSP dan SP serotype O masih terdeteksi pada sapi perah hingga enam bulan pasca terinfeksi PMK.

Kata kunci: antibodi; *non-structural protein* (NSP); *structural protein* (SP); penyakit mulut dan kuku (PMK)

Pendahuluan

Penyakit mulut dan kuku (PMK) adalah penyakit viral yang disebabkan oleh *foot and mouth disease virus* (FMDV) atau virus PMK dari genus *Aphtovirus* dan famili *Picornaviridae* (Grubman dan Baxt 2004). Penyakit ini bersifat akut yang mudah menular dengan menimbulkan kerugian ekonomi yang besar pada ternak yang rentan. Dampak yang ditimbulkan oleh PMK pada sapi perah meliputi penurunan performa reproduksi dan peningkatan biaya untuk pengendalian dan pencegahan penyebaran penyakit (Admassu *et al.* 2015). Penyakit mulut dan kuku menyerang hewan berkuku belah seperti sapi, kambing, domba, babi serta spesies hewan liar termasuk rusa. Tujuh serotype virus PMK yang beredar saat ini adalah serotype A, O, C, Asia 1, *South African Territories* (SAT) 1, SAT 2, dan SAT 3. Virus PMK mempunyai kapsid yang terdiri dari 4 protein struktural (VP1, VP2, VP3 dan VP4) dan 8 protein non struktural (L, 2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C, dan 3D). Protein virus mempunyai peranan penting dalam siklus hidup virus PMK pada sel yang terinfeksi (Clavijo *et al.* 2004; Gao *et al.* 2016).

Penyakit mulut dan kuku di Indonesia pertama kali dilaporkan terjadi di daerah Malang Jawa Timur pada tahun 1887. Upaya pemberantasan dan pembebasan PMK secara intensif di Indonesia dilakukan sejak tahun 1974 sampai tahun 1986. Pada tahun 1986 Indonesia dinyatakan bebas dari PMK sesuai SK Mentan No 260 tahun 1986. Status bebas ini secara resmi diakui oleh Organisasi Kesehatan Hewan Dunia (WOAH) melalui Resolusi No XI tahun 1990 (Budi *et al.*, 2019). Kasus PMK pada sapi muncul kembali di Indonesia pada tanggal 1 Mei 2022 di Propinsi Jawa Timur (Sudarsono, 2022). Penyebaran kasus PMK terus bertambah termasuk pada sapi perah di Kabupaten Boyolali. Berdasarkan data Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Boyolali, per tanggal 20 Juli 2022 jumlah ternak terserang PMK sebanyak 56 ekor, suspek PMK sebanyak 5.405 ekor, sembuh 1.497 ekor dan mati sebanyak 64 ekor (Fakhruddin, 2022).

Sapi yang terinfeksi PMK dengan atau tanpa gejala klinis akan menghasilkan antibodi spesifik NSP dan SP (Robiolo *et al.* 2006). Infeksi ini ditandai dengan demam, kepincangan, lesi

vesikular pada mulut, lidah, kaki dan puting hewan yang terinfeksi (Parida, S., 2009). Deteksi antibodi spesifik NSP pada hewan yang terinfeksi virus PMK digunakan untuk membuktikan adanya replikasi virus di dalam tubuh sapi perah. Antibodi spesifik terhadap SP pada sapi perah yang tidak divaksinasi adalah indikasi adanya infeksi PMK. Antibodi spesifik akan memberikan kekebalan pada virus PMK dengan serotype sama yang akan melawan kapsid virus dan protein non struktural. Antibodi PMK dapat dideteksi dalam serum 4-7 hari setelah terjadi paparan virus (Eschbaumer *et al.*, 2016). Deteksi antibodi *non-structural protein* (NSP) dan *structural protein* (SP) yang dihasilkan pasca terinfeksi virus PMK dilakukan menggunakan pemeriksaan serologis (WOAH 2022).

Non-Structural Protein (NSP) memiliki peran penting dalam proliferasi virus dan interaksi virus dengan hospes yang berkontribusi pada virulensi dan pathogenesis dari virus PMK. *Non-structural protein* terdiri dari L_{pro}, 2^o, 2B, 2C, 3^o, 3B₁₋₃, 3C_{pro} dan 3D_{pol} (Gao *et al.* 2016). Protein 3D merupakan protein yang paling imunogenik dan lama bertahan di dalam tubuh setelah terpapar virus PMK. Poliprotein 3ABC termasuk protein antibodi NSP yang paling antigenik yang digunakan sebagai penanda adanya replikasi virus (De Diego *et al.* 1997; Mackay *et al.*, 1998). *Structural protein* virus PMK meliputi VP1, VP2, VP3 dan VP4. Protein VP1 hingga VP3 merupakan tiga *structural protein* yang berada di kapsid bagian luar, sedangkan VP4 berada di dalam kapsid (Salem *et al.*, 2019 dan Zhang *et al.*, 2019). *Structural protein* membentuk struktur ikosahedral yang terikat secara internal oleh VP4. Diantara SP, VP1 menunjukkan variabilitas yang paling sering dan berperan penting dalam perlekatan virus, kekebalan protektif dan spesifisitas serotype (Carillo, C., *et al.* 2005).

Vaksinasi PMK berperan penting dalam pengendalian dan pemberantasan PMK. Vaksin PMK yang digunakan berasal dari virus PMK yang telah dimurnikan melalui inaktivasi secara kimia untuk menghilangkan sebagian besar *non-structural protein* sehingga antibodi yang ditimbulkan dari vaksinasi adalah antibodi SP, sedangkan infeksi menimbulkan antibodi

terhadap SP dan NSP (Tewari *et al.*, 2021). Vaksin ini mempunyai keterbatasan, seperti pengulangan vaksinasi setiap 6 hingga 12 bulan untuk mempertahankan kekebalan. Durasi antibodi setelah vaksinasi lebih pendek dibandingkan durasi antibodi pascainfeksi alami (Parida, S., 2009). Identifikasi hewan yang terinfeksi PMK pada populasi sebelum vaksinasi penting untuk menentukan tidak adanya infeksi PMK.

Deteksi antibodi spesifik NSP dan SP pada sapi perah yang tidak divaksinasi dan pasca terinfeksi PMK masih sedikit dilakukan di Indonesia. Keberadaan antibodi NSP dan SP dari 1 sampai 6 bulan pasca terinfeksi harus dibuktikan. Deteksi antibodi NSP pada saat terjadi wabah di daerah endemis dapat digunakan dalam serosurveilans untuk mengetahui prevalensi infeksi PMK pada ternak (Ur-Rehman *et al.*, 2014). Deteksi antibodi SP pada hewan yang belum mendapat vaksinasi dapat digunakan untuk mendeteksi hewan yang terinfeksi PMK. (WOAH, 2022).

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi antibodi *non-structural protein* (NSP) dan *structural protein* (SP) pada sapi perah satu sampai enam bulan pasca terinfeksi PMK sehingga rentang waktu pelaksanaan vaksinasi pada hewan pasca terinfeksi dapat dipertimbangkan oleh pengambil kebijakan.

Materi dan Metode

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus 2022 hingga Januari 2023 dengan target 27 ekor sapi perah yang tidak divaksinasi PMK dan satu bulan pasca terinfeksi PMK. Lokasi penelitian berada di Dusun Bendosari, Desa Karangendal, Kecamatan Musuk, Kabupaten Boyolali. Spesimen yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum darah dan swab oral, serta sampel air susu. Sebanyak 27 ekor sapi perah diambil sampel serum darah dan swab oral, dengan rincian untuk sampel darah dilakukan setiap bulan, dari 1 hingga 6 bulan pasca terinfeksi PMK dan untuk sampel swab oral diambil hanya sekali pada 1 bulan pasca terinfeksi. Sampel air susu diambil sekali pada 1 bulan pasca terinfeksi dan pada 5 ekor sapi perah yang sedang laktasi.

Sampel serum darah dilakukan pemeriksaan serologis dengan metode *enzym linked immunosorbent assay* (ELISA) sedangkan sampel swab oral dan sampel air susu diuji dengan metode *realtime reverse transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (rt-PCR) di Balai Besar Veteriner Wates. Sampel serum diperoleh dari darah yang diambil secara aseptis sebanyak 3 ml melalui *vena jugularis* menggunakan tabung *vakulab* ukuran 10 ml. Serum yang terbentuk dipisahkan dengan *clotted* darah dan dimasukkan ke dalam tube kemudian disimpan dalam freezer -20°C sampai waktu pengujian. Sampel swab oral diperoleh secara aseptis dengan menggunakan swab polyester dengan tangkai plastic yang steril ke dalam rongga mulut yang mengarah masuk ke *oropharyng*. Swab oral disimpan dalam tabung yang berisi 3ml media transport viral pada suhu 4-8°C. Sampel susu sebanyak 5 ml dikoleksi dengan tabung steril dan disimpan pada suhu 4-8°C.

Deteksi virus PMK dilakukan dengan teknik realtime rt-PCR menggunakan primer dan probe FM3D, kit ekstraksi PureLink Viral RNA/DNA[®] dan kit PCR dengan SensiFast ProbeLo-ROX One-Step Kit[®]. Total RNA diekstraksi dengan menambahkan 200 µl sampel swab oral dan 200 µl sampel susu masing-masing ke dalam tube yang berisi 200 µl campuran *lysis buffer* dan *carrier* RNA berdasarkan metode kit. Total RNA yang diperoleh dari larutan dari hasil sentrifugasi pada proses ekstraksi dilanjutkan dengan amplifikasi ~~pada mesin PCR dengan~~ menggunakan mesin realtime PCR Quant Studio seri 5. Urutan primer forward FM3D ACTGG-GTTTT-ACAAA-CCTGT-GA, primer *reverse* FM3D GCGAG-TCCTG-CCACG-GA dan probe FM3D TCCTT-TGCAC-GCCGT-GGGAC (WOAH, 2021). Interpretasi hasil positif dengan Ct <40 dan negatif dengan Ct = 45.

Antibodi NSP dideteksi dengan menggunakan Kit ELISA ID screen[®] *FMD NSP competition*. Prosedure yang digunakan sesuai dengan petunjuk kit komersial (ID. vet. Perancis). Sampel berupa serum sapi perah sebanyak 30 µl yang telah diinaktivasi ditambahkan dalam mikrotiter yang telah di *coating* dengan *non-structural protein* virus PMK dan telah ditambahkan 50 µl *dilution*

buffer kemudian diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37°C. Hasil ELISA dibaca menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 650 nm. Hasil kemudian dikonversi ke S/N % dengan menggunakan rumus : $S/N \% = (OD \text{ sampel} - OD \text{ kontrol negatif}) \times 100$.

Tabel 1. Interpretasi hasil ELISA NSP

Nilai S/N%	Interpretasi
≤ 50%	Positif
> 50%	Negatif

Antibodi SP serotype O dideteksi dengan menggunakan Kit ELISA ID screen® *FMD type O competition*. Prosedur yang digunakan sesuai dengan petunjuk kit komersial (ID.vet). Sampel serum sebanyak 20 µl yang telah diinaktivasi

ditambahkan dalam mikrotiter yang telah dicoating dengan antigen FMDV type O dan telah ditambahkan 50 µl *dilution buffer* yang kemudian diinkubasi selama 45 menit pada suhu 21°C. Hasil ELISA dibaca menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 650 nm. Hasil kemudian dikonversi ke S/N % dengan menggunakan rumus:

$$S/N \% = ((OD \text{ sampel} - OD \text{ kontrol positif}) : (OD \text{ kontrol negatif} - OD \text{ kontrol positif})) \times 100.$$

Tabel 2. Interpretasi hasil ELISA SP-O

Nilai S/N%	Interpretasi
≤ 35%	Positif
> 35% s/d ≤ 45%	Dubius
> 45%	Negatif

Tabel 3. Hasil rt-PCR pada swab oral, ELISA NSP dan ELISA SP-O pada 1 bulan pasca terinfeksi PMK

No	Kode Ternak	Jenis Sapi	Sex	Umur	Hasil PCR	S/N NSP	S/N SP
1	BY 01	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	9,21	5,68
2	BY 02	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	6,39	6,57
3	BY 03	Sapi FH	betina	dewasa	37,62	7,47	10,55
4	BY 04	Sapi FH	betina	dewasa	38,25	11,29	5,6
5	BY 05	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	8,05	9,74
6	BY 06	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	5,73	25,08
7	BY 07	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	15,52	12,01
8	BY 08	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	11,37	15,1
9	BY 09	Sapi FH	betina	dewasa	38,56	12,7	18,02
10	BY 10	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	5,23	16,07
11	BY 11	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	5,56	9,5
12	BY 12	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	7,05	6,74
13	BY 13	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	7,3	36,77
14	BY 14	Sapi FH	jantan	Pedet	Negatif	11,45	4,71
15	BY 15	Sapi FH	jantan	muda	Negatif	9,21	19,07
16	BY 16	Sapi FH	betina	muda	Negatif	7,05	17,29
17	BY 17	Sapi FH	betina	Pedet	Negatif	12,86	19,56
18	BY 18	Sapi FH	jantan	muda	Negatif	12,28	18,51
19	BY 19	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	5,81	7,87
20	BY 20	Sapi FH	jantan	dewasa	Negatif	17,26	8,93
21	BY 21	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	48,55	11,36
22	BY 22	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	6,72	10,96
23	BY 23	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	7,05	6,01
24	BY 24	Sapi FH	betina	dewasa	34,58	5,73	6,09
25	BY 25	Sapi FH	betina	dewasa	Negatif	16,02	4,14
26	BY 26	Sapi FH	betina	dewasa	39,71	7,55	12,26
27	BY 27	Sapi FH	betina	muda	Negatif	11,62	14,29

Hasil dan Pembahasan

Hasil pemeriksaan deteksi virus PMK dengan *realtime* rt-PCR dari 27 swab oral menunjukkan hasil positif 18% (5/27) yang ditunjukkan pada Tabel 3. dan hasil positif 20% (1/5) dari sampel susu pada 1 bulan pasca terinfeksi PMK yang ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil rt-PCR dari sampel susu pada 1 bulan pasca pasca terinfeksi PMK

No	Kode Ternak	Hasil PCR
1	BY 01	Negatif
2	BY 06	Negatif
3	BY 13	34,58
4	BY 25	Negatif
5	BY 26	Negatif

Adanya virus PMK yang terdeteksi pada swab oral dan susu membuktikan bahwa sapi perah yang digunakan dalam penelitian ini terinfeksi PMK. Definisi hewan yang terinfeksi PMK berdasarkan WOAHA (2021), adalah teridentifikasinya antigen dan/atau asam ribonukleat virus PMK. Deteksi virus PMK menggunakan swab oral dapat untuk mendeteksi RNA virus pada fase infeksi akut PMK. Sampel oral dapat digunakan untuk mendeteksi ekskresi virus PMK pada awal infeksi yaitu kurang dari 10 hari pasca infeksi (Stenfelt *et al.*, 2013). Virus PMK tidak terdeteksi dari 22 sampel swab oral pada 1 bulan setelah menunjukkan gejala klinis. Sesuai dengan penjelasan Alexandersen *et al.* (2003) bahwa virus PMK tidak terdeteksi setelah infeksi karena jumlah virus PMK pada rongga mulut cenderung berkurang pada 10 hari pasca infeksi. Namun dalam penelitiannya disebutkan bahwa RNA virus dapat terdeteksi dari sampel cairan oropharing pada 28 hari pasca infeksi.

Cairan oropharing dapat digunakan untuk mendeteksi virus PMK pada infeksi persisten dan infeksi dengan jumlah virus yang rendah (Stenfelt dan Arzt, 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Stenfelt *et al.* (2016) menyatakan bahwa cairan oropharing yang terdiri dari sekresi lendir dan epitel saluran gastrointestinal bagian atas-pharing dari sapi adalah sumber virus pada infeksi persisten. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah swab oral karena pada awal wabah PMK belum tersedia probangcup yang digunakan untuk pengambilan sampel cairan oropharing.

Air susu dapat digunakan juga sebagai sampel untuk mendeteksi virus PMK karena susu merupakan sampel yang bagus dalam deteksi virus PMK pada kejadian wabah PMK karena kelenjar susu adalah organ yang rentan terhadap replikasi virus PMK (Armson *et al.*, 2018). Pada sapi perah yang sedang laktasi sebanyak 5 ekor memberikan hasil positif 20% (1/5) dari sampel air susu yang ditunjukkan pada Tabel 4 diatas. Kecilnya persentase terdeteksi virus PMK pada sampel air susu (20%) dapat dipengaruhi oleh kualitas sampel air susu dan waktu pengambilan sampel susu setelah 1 bulan terinfeksi PMK. Hasil ini sesuai dengan penelitian Ranjan *et al.*, (2016) yang menyatakan bahwa virus PMK dalam sampel air susu dapat dideteksi hingga 37 hari pasca infeksi.

Hasil pengujian ELISA terhadap antibodi NSP dan SP serotype O pada 1 bulan setelah terinfeksi PMK menunjukkan seropositif NSP 100% (27/27) dan seropositif SP serotype O 100% (27/27). Hasil ini memperkuat definisi hewan yang terinfeksi PMK menurut WOAHA (2021) bahwa selain teridentifikasi asam ribonukleat virus PMK pada hewan yang terinfeksi juga terdeteksi antibodi NSP dan

Tabel 5. Hasil pengujian ELISA antibodi NSP dan ELISA antibodi SP serotype O

Bulan ke-	ELISA NSP		ELISA SP serotype O	
	Seropositif	Seronegatif	Seropositif	Seronegatif
1	100% (27/27)	0	100% (27/27)	0
2	100% (27/27)	0	100% (27/27)	0
3	100% (27/27)	0	100% (27/27)	0
4	100% (27/27)	0	100% (27/27)	0
5	100% (27/27)	0	100% (27/27)	0
6	100% (27/27)	0	100% (27/27)	0

SP dari sapi yang menunjukkan gejala klinis PMK. Lebih lanjut dijelaskan bahwa antibodi spesifik NSP dan SP dari hewan yang belum mendapatkan vaksin PMK menunjukkan bahwa hewan tersebut pernah terinfeksi PMK. Hasil ini menjadi dasar dalam pengambilan sampel hingga 6 bulan pasca terinfeksi pada 27 ekor sapi perah. Hasil pengujian ELISA untuk mendeteksi antibodi NSP dan SP pada 1 hingga 6 bulan pasca terinfeksi PMK ditunjukkan pada Tabel 5.

Replikasi virus PMK selama terjadi infeksi akan menghasilkan produksi antibodi NSP dan SP (Jamal & Belsham, 2013). Pemeriksaan ELISA untuk mendeteksi keberadaan antibodi spesifik NSP dan SP serotype O dilakukan secara berkala setiap bulan pada 1 hingga 6 bulan setelah terinfeksi PMK. Antibodi NSP dapat digunakan untuk membedakan hewan yang terinfeksi virus PMK dengan hewan yang divaksinasi PMK. Perkembangan deteksi antibodi NSP dengan kit ELISA berbasis pada protein NSP dari virus PMK yaitu 2C, 3A, 3B, 3AB, 3D dan 3ABC. Pada penelitian ini digunakan kit ELISA yang berasal dari IDVet dengan menggunakan protein 3ABC. Kit ELISA dengan protein 3ABC mulai dikembangkan karena mempunyai imunogenesitas yang tinggi untuk mendeteksi konsentrasi virus yang rendah dari hewan yang terinfeksi PMK (Lu *et al.*, 2007). Deteksi antibodi NSP terhadap polyprotein 3ABC dari virus PMK adalah salah satu indikator infeksi PMK yang paling bagus. Penelitian yang dilakukan Mackay *et al.* (1998) menunjukkan bahwa 90% hewan yang terinfeksi PMK menunjukkan hasil seropositif terhadap polyprotein 3ABC sampai satu tahun pasca terinfeksi.

Deteksi keberadaan antibodi NSP menunjukkan hasil konsistensi seropositif pada 27 serum yang diuji. Dua puluh tujuh sampel serum pada setiap bulan, dari 1 sampai 6 bulan pasca terinfeksi PMK memiliki cut off $S/N\% \leq 50\%$ menunjukkan seropositif 100% (27/27) antibodi NSP. Pemeriksaan ELISA untuk mendeteksi antibodi NSP banyak digunakan dalam surveillans dan penelitian untuk memperkirakan tingkat paparan infeksi virus PMK sebagai bagian dari program surveillans (Elnekave *et al.*, 2015). Malirat *et al.* (1998)

menyatakan bahwa antibodi NSP pada sapi yang terdeteksi menggunakan ELISA 3ABC pada 742 hari pasca terinfeksi PMK terjadi karena adanya reinfeksi PMK.

Antibodi NSP yang terdeteksi pada sapi post infeksi dapat berhubungan dengan status infeksi persisten atau hewan carrier (Bergmann *et al.*, 2000; Inoue *et al.*, 2003). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Brocchi dkk (2006) menerangkan bahwa hewan carrier PMK menunjukkan positif antibodi NSP dengan 6 kit ELISA yang berbeda. Deteksi antibodi NSP dapat digunakan untuk mendeteksi infeksi PMK pada hewan yang tidak menunjukkan gejala/infeksi sub klinis. Antibodi NSP akan bertahan lebih lama dalam tubuh sapi daripada antibodi SP, sehingga deteksi antibodi NSP dapat digunakan untuk membuktikan adanya infeksi virus PMK (Mohapatra *et al.*, 2011).

Antibodi spesifik *structural protein* (SP) pada hewan yang tidak divaksinasi merupakan indikasi adanya infeksi virus PMK. Antibodi SP ini berguna dalam mendeteksi kasus PMK yang ringan dengan jaringan epitel sudah tidak dapat ditemukan sebagai bukti bahwa sapi perah pernah terinfeksi PMK (WOAH, 2022). Sebanyak dua puluh tujuh sampel setiap 1 bulan pasca terinfeksi PMK memiliki cut off $S/N\% \leq 35\%$ yang menunjukkan bahwa 27 sapi perah sampai 6 bulan pasca terinfeksi terdeteksi positif antibodi SP serotype O. Antibodi SP yang terdeteksi pada hewan yang belum divaksinasi adalah akibat dari infeksi virus PMK (Hedge *et al.*, 2016). Hal ini sesuai dengan tidak adanya catatan sebagai bukti rekaman pemberian vaksin PMK pada sapi perah yang digunakan. Antibodi SP serotype O dapat digunakan untuk memantau kekebalan yang diakibatkan infeksi PMK di lapangan dan pasca vaksinasi yang diukur dengan uji netralisasi virus (VNT). (WOAH, 2022). Antibodi yang dihasilkan setelah infeksi akan mengurangi perkembangan respon antibodi spesifik yang ditimbulkan dari vaksinasi (Barrionuevo, *et al.*, 2018). Kondisi peternakan sapi perah di Dusun Bendosari, Desa Karangkendal, Kecamatan Musuk, Kabupaten Boyolali adalah peternakan rakyat dengan jumlah sapi yang tidak banyak yaitu 3-10 ekor. Manajemen pemeliharaan yang meliputi sanitasi, *biosecurity* pencegahan penyakit dan

penanganan penyakit yang perlu diperhatikan. Dengan kondisi peternakan rakyat dengan biosecurity yang rendah, naik turunnya antibodi dari 1 sampai 6 bulan pasca pasca terinfeksi PMK dapat berhubungan dengan level paparan virus dan konsentrasi virus yang ada di lapangan.

Terdeteksinya virus PMK 18% (5/27) dari sampel swab oral, 20% (1/5) dari sampel susu, dan antibodi spesifik 100% (27/27) seropositif NSP dan SP serotype O dari sampel serum menunjukkan bahwa 27 ekor sapi perah pernah terinfeksi PMK. Penelitian lain yang dilakukan Buckle *et al.* (2021) menunjukkan tidak semua sapi yang terdeteksi RNA virus PMK menunjukkan seropositif. Hal ini dimungkinkan sapi sedang pada fase inkubasi atau fase awal infeksi virus PMK yang menyebabkan belum terbentuknya antibodi. Antibodi spesifik PMK terbentuk setelah terjadi infeksi dan replikasi virus yang menunjukkan deteksi PMK dilakukan pada fase awal infeksi, sedangkan pada penelitian yang kami lakukan deteksi PMK dilakukan setelah melewati fase akut infeksi yang menyebabkan persentase deteksi virus PMK sebesar 18% dengan persentase seropositif antibodi NSP dan SP serotype O menunjukkan 100%.

Kesimpulan

Hasil kajian ini menunjukkan sapi perah terinfeksi alami oleh virus PMK yang diperkuat dengan hasil deteksi uji rRT-PCR pada satu bulan pasca terinfeksi sebesar 18% (5/27) dari sampel swab oral, 20% (1/5) dari sampel susu. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa antibodi spesifik NSP dan SP serotype O masih terdeteksi dari 1 sampai 6 bulan setelah terinfeksi PMK. Antibodi NSP dan SP serotype O menunjukkan hasil seropositif 100% (27/27) sampai 6 bulan setelah terinfeksi PMK. Waktu pelaksanaan vaksinasi PMK direkomendasikan lebih dari 6 bulan setelah sapi terinfeksi PMK.

Daftar Pustaka

- Admassu B, Getnet K, Shite A, Mohammed S. (2015). Review on Foot and Mouth Disease : Distribution and Economic Significance. *Academic Journal of Animal Disease* 4(3): 160-169.
- Alexandersen, S., Quan, M., Murphy, C., Knight, J., Zhang, Z. (2003). Studies of quantitative parameters of virus excretion and transmission in pigs and cattle experimentally infected with foot-and-mouth disease virus. *J. Comp. Pathol.* 129, 268–282.
- Armson B., Mioulet V., Doel C., Madi M., Parida S., Lemire KA., Holder DJ., Das A., McIntosh MI., King DP. (2018). Detection of Foot and Mouth Disease Virus in Milk Samples by Realtime Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction: Optimisation and Evaluation of a High Troughput Screening Method with Potential for Disease Surveillance. *J. Veterinary Microbiology* 223: 189-194.
- Barriónuevo, F., Giacoma, S.D., Bucafusco, D., Ayude, A., Schammas, J., Miraglia, M.C., Capozzo, A., Borca, M.V., Peres-Filguiera, M. (2018). Systemic antibodies administered by passive immunization prevent generalization of the infection by foot and mouth disease virus in cattle after oronasal challenge. *Virology Journal* 518: 143-151.
- Bergmann, I.E., Malirat, V., Neitzert, E., Beck, E., Panizzutti, N., Sanchez, C., Falczuk, A. (2000). Improvement of a serodiagnostic strategy for foot and mouth disease virus surveillance in cattle under systematic vaccination: a combined system of an indirect ELISA 3ABC with an enzyme linked immunoelectrotransfer blot assay. *Arch Virol* 145:473–489.
- Brocchi, E., Bergmann, I.E., Dekker, A., Paton, D.J., Sammin, D.J., Greiner, M., Grazioli, S., De Simone, F., Yadin, H., Haas, B., Bulut, N., Malirat, V., Neitzert, E., Goris, N., Parida, S., Sørensen, K., De Clercq, K. (2006). Comparative evaluation of six ELISAs for the detection of antibodies to the non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus. *Vaccine* 24:6966–6979.
- Budi, S.R., Kurnia, D., Hanifah, S., Lingga, F., Daulay, R.S.D., Suganda, A. (2019). Surveillans Penyakit Mulut dan Kuku

- Pusat Veteriner Farma (Pusvetma) Tahun 2018. Prosiding Penyedikan Penyakit Hewan Rapat Teknis dan Pertemuan Ilmiah (Ratekpi) dan Surveillans Kesehatan Hewan.
- Carillo, C., Tulman, E.R., Delhon, G., Lu, Z., Carreno, A., Vagnozzi, A., Kutish, G.F., Rock, D.L. (2005). Comparative genomics of foot and mouth disease virus. *J virol* 10 : 6487-504.
- Clavijo A, Wright P, Kitching P. (2004). Developments in diagnostic techniques for differentiating infection from vaccination in foot and mouth disease. *Journal Veterinary* 167: 9–22.
- De Diego, M., Brocchi, E., Mackay, D., Simone, F. (1997). The non-structural polyprotein 3ABC of food and mouth disease virus as a diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated cattle. *Archives of Virology*.
- Elnekave, E., Shilo, H., Gelman, B., Klement, E. (2015). The longevity of anti NSP antibodies and the sensitivity of a 3ABC ELISA- A 3 years follow up of repeatedly vaccinated dairy cattle infected by foot and mouth disease virus. *Veterinary Microbiology Journal* 178: 14-18.
- Eschbaumer, M., Stenfeldt, C., Rekant, S.I., Pacheco, J.M., Hartwig, E.J., Smoliga, G.R., Kenney, M.A., Golde, W.T., Rodriguez, L.L., Arzt, J. (2016). Systemic immune response and virus persistence after foot-and-mouth disease virus infection of naive cattle and cattle vaccinated with a homologous adenovirus-vectored vaccine. *BMC Vet. Res.* 12: 205.
- Fakhruddin, M. (2022). Ternak Suspek PMK di Boyolali Bertambah Jadi 5.405. Rebutlika.co.id.
- Gao Y, Sun SQ, and Guo HC. (2016). Biological function of Foot-and-mouth disease virus non-structural proteins and non-coding elements. *Virol. J.* 13:107.
- Grubman MJ, Baxt B. (2004). Foot-and-mouth disease. *Clin. Microbiol. Rev.* 17: 465–493.
- Hedge, R., Hosamani, M., Sreevatsavam K., Rashmi, K.M., Kowalli, S., Nagaraja, K., Dharanesha, NK., Seema, C.M., Nagaraj, G.V., Srikala, K., Sudharshana, K.J., SheshaRao, Rajashekar, B., Giridhara, P., Byregowda, S.M. (2016). Serosurveillance of Foot and Mouth Disease in Ruminant Population of Karnataka, India. *SM Virology*.
- Inoue, T., Parida, S., Paton, D.J., Linchongsubongkoch, W., Mackay, D., Oh, Y., Aunpomma, D., Gubbins, S., Saeki, T. (2006). Development and evaluation of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for detection of foot-and-mouth disease virus nonstructural protein antibody using a chemically synthesized 2B peptide as antigen. *J Vet Diagn Investig* 18:545–552.
- Jamal SM, Belsham GJ. (2013). Foot and mouth disease: past, present and future. *Veterinary Research* 44:116.
- Lu Z, Cao Y, Gui J, Qi S, Li D, Zhang Q, Ma J, Chang H, Liu Z, Liu X, Xie Q. (2007). Development and validation of a 3ABC indirect ELISA for differentiation of foot and mouth disease virus infected from vaccinated animals. *Veterinary Microbiology Journal* (125): 157-169.
- Mackay DKJ, Forsyth MA, Davies PR, Salt JS. (1998). Antibody to the Non Structural Proteins of Foot and Mouth Disease Virus in Vaccinated Animals Exposed to Infection. *Veterinary Quarterly*
- Malirat, V., Neitzert, E., Bergmann, I.E., Maradei, E., Beck, E. (1998). Detection of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus by means of an indirect ELISA test using bioengineered nonstructural polyprotein 3ABC. *Vet. Q.* 20 (Suppl 2), S24–S26.
- Mohapatra, J.K., Pandey, L.K., Sanyal, A., Pattnaik, B. (2011). Recombinant non-structural polyprotein 3AB-based serodiagnostic strategy for FMD surveillance in bovines irrespective of vaccination. *J Virol Methods* 177:184–192.

- Parida, S. (2009). Vaccination against Foot and Mouth Disease Virus : strategies and effectiveness. *Expert-Review*.
- Ranjan, R., Biswal, J.K., Sharma, G.K., Sharma, A.K., Singh, K.P., Misri, J., Pattnaik, B. (2016). Use of nucleic acid recognition methods (m-PCR and RT-LAMP) for the detection of foot-and-mouth disease virus excreted in cow milk. *Indian J. Anim. Sci.* 86 : 865–868.
- Robiolo, B., Seki, C., Fondevilla, N., Grigera, P., Scodeller, E., Periolo, O., Torre, J.L., Mattion, N. (2006). Analysis of the immune response to FMDV structural and non-structural protein in cattle in Argentina by the combined use of liquid phase and 3ABC-ELISA test. *Vaccine*. 24: 997-1008.
- Salem, R., El-Kholy, A.A., Omar, O.A., El-naga, M.N.A., Ibrahim, M., Osman, G. (2019). Construction, Expression and Evaluation of Recombinant VP2 Protein for serotype-independent Detection of FMDV Seropositive Animals in Egypt. *Nature*, 9.
- Stenfeldt, C., Lohse, L., Belsham, G.J. (2013). The Comparative utility of oral swabs and probang samples for detection of foot and mouth disease virus infection in cattle and pigs. *Veterinary Microbiology*. 162: 330-337.
- Stenfeldt, C.; Eschbaumer, M.; Rekant, S.I.; Pacheco, J.M.; Smoliga, G.R.; Hartwig, E.J.; Rodriguez, L.L.; Arzt, J.,. (2016). The foot-and-mouth disease carrier state divergence in cattle. *J. Virol.* 90: 6344–6364.
- Stendfeldt, C., Arzt, J. (2020). Review : The carrier conundrum; a review of recent advances and persistent gaps regarding the carrier state of foot and mouth disease virus. *Pathogens* 9; 167.
- Sudarsono, R.P.E. (2022). Kajian Epidemiologi Kejadian Diduga Penyakit Mulut dan Kuku di Kabupaten Lamongan. *Journal of Basic Medical Veterinary*. Vol 11 (1) : 56-63.
- Tewari, A., Ambrose, H., Parekh, K., Inoue, T., Guitian, J., Nardo, A.D., Paton., D.J., Parida, A. (2021). Development and Validation of Confirmatory Foot and Mouth Disease Virus Antibody ELISAs to Identify Infected Animals in Vaccinated Populations. *MDPI*. 13:5.
- Ur-Rehman S., Arshad M., Hussain I. & Iqbal Z. (2014). Detection and seroprevalence of foot and mouth disease in sheep and goats in Punjab, Pakistan. *Transbound Emerg Dis*. 61 Suppl 1:25-30.
- WOAH. (2021). Foot and mouth disease. *Terr Anim Heal Code* [<https://www.woah.org/app/uploads/2021/11/a-tahsc-sept-2021-part-b-1.pdf>].
- WOAH. (2022). Foot and mouth disease [https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.08_FMD.pdf] With Foot and mouth disease virus. Chapter 3.1.8.
- Zhang, W., Yang, F., Zhu, Z., Yang, Y., Wang, Z., Cao, W., Dang, W., Li, L., Mao, R., Liu, Y., Tian, H., Zhang, K., Ma, J., Zheng, H. (2019). Cellular DNAJA3, a Novel VP1-Interacting Protein, Inhibits Foot and Mouth Disease Virus Replication by Inducing Lysosomal Degradation of VP1 and Attenuating Its Antagonistic Role in the Beta Interferon Signaling Pathway. *American Society Microbiology. Journal of Virology*.13.