

Penerapan Teknik *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* untuk Peneguhan Diagnosis Penyakit Distemper pada Anjing

(THE APPLICATION OF *REVERSE TRANSCRIPTASE-POLYMERASE CHAIN REACTION* FOR THE DIAGNOSIS OF CANINE DISTEMPER)

**I Nyoman Suartha¹⁾, I Gusti Ngurah Kade Mahardika²⁾,
Ida Ayu Sri Candra Dewi³⁾, Ni Ketut Dias Nursanty³⁾, Yosaphat L.S Kote³⁾,
Anita Dwi Handayani³⁾, I Gusti Agung Ayu Suartini⁴⁾.**

¹⁾Laboratorium Penyakit Dalam dan Diagnosis Klinik Veteriner; ²⁾Laboratorium Virologi Veteriner; ³⁾Laboratorium Biomedik Veteriner; ⁴⁾Laboratorium Biokimia
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Denpasar –Bali
Jl PB Sudirman, Denpasar, Telepon 0361-701808
email : suarthafkhunud@yahoo.co.id

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui penggunaan teknik *reverse transcriptase-polymerase chain reaction* (RT-PCR) dalam peneguhan diagnosis penyakit distemper. Dalam penelitian ini dipakai dua puluh ekor anjing kampung yang menunjukkan gejala klinis penyakit distemper anjing. RNA diisolasi dari sampel ulas hidung dengan larutan Trizol® dan ditranskripsi balik menjadi cDNA menggunakan primer 5'ACAGGATTGCTGAGGACCTAT 3'. Amplifikasi cDNA dilakukan dengan sepasang primer yaitu 5'ACAGGATTGCTGAGGACCTAT 3' (depan) dan 5' CAAGATAACCATGTACGGTGC 3' (belakang). Hasil amplifikasi menunjukkan bahwa lima belas dari duapuluh sampel yang diperiksa memperlihatkan pita khas virus distemper anjing dengan panjang 300 bp. Hasil ini membuktikan bahwa peneguhan diagnosis penyakit distemper anjing dapat dilakukan dengan menggunakan teknik RT-PCR.

Kata kunci: diagnosis, distemper anjing, RT-PCR

ABSTRACT

A study was conducted to apply reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) technique for the confirmative diagnosis of canine distemper in dogs. Twenty mongrel dogs with clinical symptoms of canine distemper were used in this study. The viral RNA was isolated from nasal swab using Trizol® and transcribed into cDNA using random primers 5'ACAGGATTGCTGAGGACCTAT 3'. The cDNA was amplified in one step RT-PCR using primers 5'-ACAGGATTGCTGAGGACCTAT-3' (forward) and 5'-CAAGATAACCATGTACGGTGC-3' (backward). A single band of 300 bp which was specific for canine distemper virus CDV was detected in fifteen out of twenty samples. It is therefore evident that confirmative diagnostics of canine distemper disease can be established with RT-PCR technique.

Key words: diagnostics, canine distemper, RT-PCR

PENDAHULUAN

Anjing dipelihara untuk berbagai tujuan seperti hewan kesayangan, penjaga rumah, teman bermain, dan bisnis. Di kota besar, anjing umumnya dipelihara sebagai teman untuk berolahraga. Aktivitas fisik dilaporkan sangat bermanfaat dalam mencegah kegemukan dan penyakit kronis seperti jantung dan diabetes melitus. Berjalan-jalan bersama anjing merupakan cara untuk meningkatkan aktivitas

fisik bagi masyarakat yang berisiko tinggi untuk terserang penyakit kronis, terutama bagi mereka yang tidak suka berolahraga (Ham dan Epping 2006). Karena itu, anjing menjadi amat penting bagi sebagian orang.

Keberadaan anjing tidak lepas dari berbagai penyakit yang dapat menyerangnya setiap waktu. Diagnosis dan cepat akan sangat bermanfaat dalam upaya pencegahan, pengendalian dan pengobatan terhadap penyakit.

Distemper adalah salah satu penyakit menular yang menyerang anjing. Penyakit ini disebabkan oleh virus dari famili *Paramyxoviridae* (Dungworth, 1993; Swango, 1989), dan umumnya sangat sulit disembuhkan sehingga jika tidak ditangani secara dini, penyakit tersebut menyebabkan kematian pada anjing. Penyakit distemper ditemukan hampir di seluruh dunia (Timoney *et al.*, 1992). Selain menyerang anjing, penyakit ini juga dilaporkan menyerang musang, *raccoon*, panda (Vetinfo, 2006; Timoney *et al.*, 1992; Swango, 1989), mamalia air seperti anjing laut (Kennedy *et al.*, 2000), dan anjing liar di Afrika (Bildt *et al.*, 2002). Pencegahan penyakit distemper dapat dilakukan dengan vaksinasi (Dharmojono, 2001). Distemper merupakan penyakit virus multisistemik yang menyerang saluran respirasi, gastrointestinal, dan system saraf (AHC, 2006; Headley dan Graca, 2007).

Diagnosis tentatif untuk penyakit distemper umumnya dilakukan dengan melihat gejala klinis yang muncul pada penderita. Namun, secara klinis penyakit distemper sering dikelirukan dengan penyakit lain. Selain itu, penyakit distemper sering diikuti oleh infeksi bakteri sehingga gejala klinisnya menjadi lebih rumit. Karena itu, diagnosis peneguhan menjadi amat penting. Diagnosis dapat dilakukan dengan melacak antibodi khas virus distemper dengan melakukan: uji netralisasi (Appel dan Robson, 1973), uji presipitasi (White dan Cowan, 1962), uji fiksasi komplemen (Krakowka *et al.*, 1975), uji sitotoksik (Shek *et al.*, 1980), dan ELISA (Winter *et al.*, 1983). Diagnosis yang didasari oleh pelacakan antibodi terbukti tidak cukup untuk meneguhkan diagnosis penyakit distemper (Imagawa *et al.*, 1960). Alasannya adalah antibodi terhadap virus distemper dengan titer antibodi yang sangat tinggi umumnya terlacak pada awal infeksi, sedangkan pada kasus distemper yang berat, antibodi penetrali sulit dilacak (Blixenkrone-Moller *et al.*, 1991). Di samping itu virus distemper memiliki antigen yang bereaksi silang dengan virus campak/*measles* (Imagawa *et al.*, 1960; Sthephenson dan Meulen, 2006), sehingga akan mengurangi tingkat kekhasan hasil uji. Pertimbangan epidemiologi penyakit juga sangat perlu dalam diagnosis sehingga hasilnya menjadi lebih akurat. Iklim dan mikroiklim (kondisi kandang) dilaporkan sangat berpengaruh terhadap kejadian distemper (Uzunova dan Koleya, 2005). Kejadian penyakit distemper lebih rendah pada kelembaban rendah

dan temperatur lingkungan hangat (27 °C). Kasus distemper lebih banyak terjadi pada musim dingin, dengan puncak kejadian penyakit terjadi pada bulan September (Headley dan Graca, 2007). Belakangan ini, teknik histopatologi dan imunohistokimia dapat memberikan hasil yang sangat memuaskan untuk diagnosis distemper (Bildt *et al.*, 2002), tetapi uji ini dilakukan hanya pada hewan mati atau yang dibunuh. Untuk itu perlu dikembangkan teknik diagnosis yang lebih tepat, cepat dan dapat dipakai untuk hewan hidup. *Reverse ranscriptase-polymerase chain reaction* (RT-PCR) adalah teknik untuk melacak asam nukleat dan belakangan ini telah banyak dipakai untuk melacak infeksi virus, baik pada hewan maupun pada manusia. Sejauh ini laporan tentang penggunaan RT-PCR untuk melacak infeksi virus penyakit distemper pada anjing belum banyak dilaporkan. Karena itu, studi ini dilakukan untuk mengetahui sejauh mana uji RT-PCR dapat dipakai untuk meneguhkan diagnosis penyakit distemper anjing.

METODE PENELITIAN

Hewan Coba dan Pengambilan Sampel

Dalam penelitian ini dipakai 20 ekor anjing yang secara klinis menunjukkan gejala penyakit distemper. Anjing diperoleh dari dokter hewan praktek yang ada di Denpasar. Sampel berupa ulas/*swab* hidung diambil dari anjing yang menunjukkan gejala klinis penyakit distemper, ditampung dalam *transport media* dan dibawa ke laboratorium untuk isolasi RNA.

Isolasi RNA

RNA khas virus penyakit distemper diisolasi dari sampel dengan digesti proteinase K, yang diikuti dengan ekstraksi menggunakan Trizol (Invitrogen).

Ke dalam 0,25 ml sampel ditambahkan 0,75 ml Trizol dalam tabung *ependorf*, dan campuran kemudian divorteks selama satu menit. Setelah inkubasi pada suhu kamar selama 5 menit, ke dalam campuran ditambahkan kloroform sebanyak 0,2 ml, dikocok sampai homogen dan diinkubasikan pada suhu kamar (15-30° C) selama 15 menit. Tabung selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 RCF selama 15 menit. Bagian *aqueus* diambil dan dimasukkan ke dalam tabung steril. Ke dalamnya ditambahkan isopropil alkohol sebanyak 0,5 ml dan

diinkubasikan selama 10 menit pada suhu kamar. Setelah disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 RCF selama 10 menit, supernatan dibuang, dan ditambahkan alkohol 70 % sebanyak 1 ml. Setelah divorteks dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 7.500 RCF selama 5 menit, supernatan dibuang, sedangkan peletnya dikeringkan dan disuspensi kembali dengan aquabides bebas RNase.

RT-PCR

RNA khas virus distemper diamplifikasi dengan RT-PCR menggunakan *SuperScript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum® Taq DNA Polymerase* (Invitrogen). Dalam hal ini, RNA khas virus diubah menjadi cDNA menggunakan primer 5'ACAGGATTGCTGAGGACCTAT 3'. cDNA diamplifikasi dengan sepasang primer (Prologo) yang sensitivitas dan spesifitasnya telah diuji (Frisk *et al.* 1999) yaitu 5'ACAGGATTGCTGAGGACCTAT 3' (primer depan) dan 5' CAAGATAACCATGTAC GGTGC 3' (primer belakang).

RT-PCR dilakukan dalam kondisi 0,2 mM dNTP, 1,6 mM MgSO₄, dengan *buffer* yang disediakan oleh produsen. Ke dalam tabung PCR dengan volume 200uL dimasukkan 1-3 uL sampel RNA yang telah diisolasi dan ditambahkan dengan 10 uM dari masing-masing primer yang dipilih. Setelah penambahan enzim, tabung PCR dimasukkan ke dalam mesin penyiklus panas (*PTC-100™ Programmable Thermal Controller MJ Research Inc*). Mesin penyiklus panas diprogram dengan kondisi 50°C selama 1 jam untuk mengubah RNA menjadi cDNA, 94°C selama 4 menit dan 40 siklus dengan kondisi 94°C selama 60 detik, 50 sampai 55°C sesuai dengan primer yang digunakan, selama 30 detik, dan *elongasi* pada suhu 68 sampai 72°C selama 90 detik. Pada bagian akhir diinkubasikan pada suhu 68 sampai 72 °C untuk memperoleh fragmen DNA yang sempurna selama 5 menit. Tabung PCR dimasukkan setelah *thermo-cycler* mencapai suhu 50°C. Setelah RT-PCR, 10-20% dari produk ditambahkan dengan 1 sampai 2 uL *loading dye* (*Bromphenol-blue* dan *Cyline Cyanol*), dan selanjutnya dielektroforesis pada *gel agarose* 1% yang telah diisi *etidium bromide* dengan konsentrasi 25 uG/ml bersama dengan *marker* 100 bp DNA Ladder (Invitrogen) dengan tegangan 100V selama 30 menit. Visualisasi DNA dilakukan dengan UV dan didokumentasikan dengan kamera dan film Polaroid.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Semua anjing yang diperiksa menunjukkan gejala klinis penyakit distemper seperti peningkatan suhu tubuh, gejala syaraf (kejang-kejang, tremor dan terjatuh bila berjalan), gejala pernafasan (batuk-batuk, leleran dari hidung), pustula pada kulit daerah abdomen. Gejala seperti itu sama dengan yang dilaporkan oleh beberapa peneliti (AHC, 2006; Kennedy *et al.*, 2000). Setelah dikonfirmasi dengan teknik RT-PCR didapatkan hasil 15 ekor positif dan lima ekor negatif (Tabel 1). Hasil itu menunjukkan bahwa dari 20 anjing dengan gejala klinis distemper 75% memang benar terinfeksi virus distemper, sedangkan 25% lainnya mungkin disebabkan oleh agen lain yang juga menyebabkan gejala klinis mirip distemper. Penegakan diagnosis distemper berdasarkan gejala klinis memberikan hasil yang kurang memuaskan sehingga perlu dikonfirmasi dengan uji laboratorium lebih lanjut seperti teknik RT-PCR yang didahului oleh isolasi virus penyebab.

Gejala klinis distemper seperti gejala klinis *tracheobronchitis* ringan, sering dikelirukan dengan gejala pada penyakit karena infeksi virus adeno-2 (CAV-2), infeksi *Bordetella bronchoseptica* atau mikoplasma. Selain itu, gejala tersebut juga mirip dengan toksoplasmosis, koksidirosis, cacangan, hepatitis viral (Subronto, 2006). Umur anjing yang diduga terserang distemper dalam penelitian ini adalah kurang dari setahun dengan jenis kelamin bervariasi. Hal yang sama juga dilaporkan oleh peneliti lain bahwa distemper menyerang anjing umur di bawah satu tahun (Krakowka dan Koestner, 1976; Swango 1989; Ek-Kommonen *et al.*, 1997; Headley dan Graca, 2007). Hal ini dapat dipahami, karena pada umur tersebut terjadi penurunan antibodi maternal, tingkat stress yang tinggi pada masa pertumbuhan, dan serangan penyakit lain yang menurunkan kondisi tubuh.

Gejala klinis bervariasi akan menyulitkan untuk memutuskan diagnosis penyakit distemper. Pada stadium awal infeksi virus distemper, ditandai dengan demam *transient* yang diikuti penurunan nafsu makan atau depresi ringan. Sedangkan pada anjing yang menderita gangguan sistemik, menunjukkan gejala leleran nasal, okular, batuk, muntah dan diare. Umumnya, anjing penderita distemper tidak menunjukkan semua gejala klinis seperti peningkatan suhu tubuh, gejala syaraf (kejang-

kejang, tremor dan terjatuh bila berjalan), gejala pernafasan (batuk-batuk, leleran dari hidung), pustula pada kulit daerah abdomen (Vetinfo, 2006).

Jika tahan terhadap infeksi awal distemper, dalam satu sampai beberapa minggu setelah infeksi, anjing dapat menunjukkan gejala saraf seperti *seizure* (gangguan keseimbangan), perubahan tingkah laku, jalan melingkar, *chorea* (gerakan hebat yang terjadi secara tiba-tiba pada organ tubuh), dan gejala seperti mengunyah permen karet. Anjing yang tahan terhadap infeksi awal dan gejala saraf akan berlanjut dengan kerusakan retina, gangguan warna kornea, dan penebalan kulit di daerah

hidung dan telapak kaki. Dokter hewan akan mengalami kesulitan dalam penegakan diagnosis pada anjing yang menunjukkan gejala klinis distemper (Vetinfo, 2006).

Penegakan diagnosis dapat juga dengan uji immunoflourescent antibodi (IFAT) (Spencer dan Burroughs, 1992). Untuk pemeriksaan antibodi perlu dilakukan dua kali dengan selang antara tiga minggu (Subronto, 2006). Secara imunologi terjadi reaksi silang antara virus *measles* dan distemper, dan dilaporkan juga terhadap virus *rinderpest* (Imagawa *et al.*, 1960). Virus *measles* dan distemper memiliki grup spesifik antigen yang sama pada N polipeptida (Stephenson dan Meulen 2006).

Tabel 1. Keadaan umum, gejala klinis dan hasil RT-PCR dari anjing yang diperiksa

No	Signalemen	Gejala klinis	RT-PCR
1	Anjing tekel jantan umur 3 bulan, pernah divaksinasi parvo dan distemper, berat badan 13 kg.	Kejang-kejang, suhu 38°C (kadang-kadang suhu lebih tinggi), leleran, hidung, hipersalivasi, nafsu makan baik	+
2	Anjing lokal umur 2,5 bulan, jantan, berat 5 kg, belum pernah divaksinasi.	Mukosa hidung kering, nafsu makan turun, suhu 40°C, hipersalivasi, kejang-kejang.	+
3	Anjing lokal umur 2 bulan, betina, berat badan 4 kg.	Tinja berwarna coklat kehijauan, mukosa mata hyperemia, bulu kusam, tidak mau makan, cermin hidung kering, batuk-batuk, leleran hidung dan mata mukopurulen,	+
4	Anjing lokal umur 4 bulan, jenis kelamin jantan, berat badan 4 kg, belum pernah divaksinasi.	Muntah-muntah, diare, nafsu makan turun, kurus, bulu kusam, turgor kulit turun, leleran dari mata dan hidung, saat berjalan tiba-tiba anjing terjatuh	-
5	Anjing lokal umur 3 bulan, jenis kelamin betina berat 3 kg, belum divaksinasi	Kelemahan, anoreksia, suhu 40°C, sesak nafas, batuk, leleran mata mukopurulen, leleran hidung purulen, mukosa mata hyperemia, dehidrasi, muntah, diare.	+
6	Anjing lokal umur 6 bulan, belum pernah divaksinasi parvo dan distemper, berat badan 7 kg. Jenis kelamin jantan	Suhu 38°C, tidak mau makan, leleran dari hidung, hipersalivasi, ada pustula di daerah ventral abdomen.	+
7	Anjing lokal umur 4 bulan, jenis kelamin betina, berat 5 kg, belum pernah divaksinasi.	Mukosa hidung kering, nafsu makan turun, suhu 40°C, konjungtivitis, leleran hidung mukopurulen, kejang-kejang.	+
8	Anjing lokal umur 7 bulan, jenis kelamin betina, berat badan 8 kg. Belum divaksinasi	Diare berwarna coklat, mukosa mata hyperemia, bulu kusam, tidak mau makan, batuk-batuk, leleran hidung dan mata mukopurulen,	+
9	Anjing lokal umur 4 bulan, jenis kelamin jantan, berat badan 4 kg, belum pernah divaksinasi.	Muntah-muntah, diare, tidak mau makan, kurus, ada pustula di daerah abdomen, turgor kulit turun, leleran dari mata dan hidung.	-

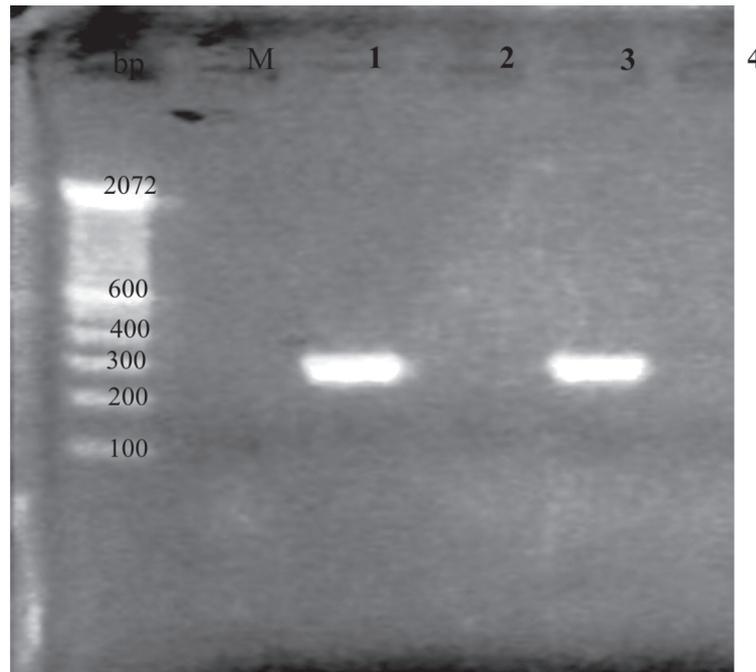
10	Anjing lokal umur 9 bulan , jenis kelamin betina berat 10 kg, belum divaksinasi	Kelemahan, anoreksia, suhu 40°C, sesak nafas, batuk, leleran mata mukopurulen, leleran hidung purulen, mukosa mata hyperemia, muntah, diare.	-
11	Anjing lokal umur 5 bulan, belum divaksinasi, berat badan 7 kg. Jenis kelamin jantan	Kejang-kejang, suhu 39°C, leleran hidung mukopurulen, tidak mau makan, konjungtivitis	+
12	Anjing lokal umur 3 bulan, jenis kelamin jantan, berat 4 kg, belum pernah divaksinasi.	Mukosa hidung kering, nafsu makan turun, suhu 40°C, hipersalivasi, kejang-kejang.	+
13	Anjing lokal umur 8 bulan, jenis kelamin betina, berat badan 7.5 kg.	Diare, mukosa mata hyperemia, tidak mau makan, cermin hidung kering, batuk-batuk, leleran hidung dan mata mukopurulen.	+
14	Anjing lokal umur 4 bulan, jenis kelamin betina, berat badan 4 kg, belum pernah divaksinasi.	Muntah-muntah, diare, nafsu makan turun, kurus, turgor kulit turun, leleran mukopurulen dari mata dan hidung, tremor.	+
15	Anjing lokal umur 4 bulan , jenis kelamin betina berat 3 kg, belum divaksinasi	Kelemahan, anoreksia, suhu 40°C, sesak nafas, batuk, leleran mata mukopurulen, leleran hidung purulen, mukosa mata hyperemia, muntah, diare.	+
16	Anjing lokal umur 6 bulan, belum divaksinasi, berat badan 7 kg. Jenis kelamin betina	Kejang-kejang, suhu 38°C, leleran mukopurulen dari hidung, konjungtivitis, batuk.	-
17	Anjing lokal umur 7 bulan, jenis kelamin jantan, berat 8 kg, belum pernah divaksinasi.	Mukosa hidung kering, nafsu makan turun, suhu 40°C, hipersalivasi, konjungtivitis, kejang-kejang.	+
18	Anjing lokal umur 5 bulan, jenis kelamin betina, berat badan 7 kg.	Diare, mukosa mata hyperemia dan leleran purulen, tidak mau makan, batuk-batuk, leleran hidung mukopurulen, pustula daerah abdomen.	-
19	Anjing lokal umur 7 bulan, jenis kelamin jantan, berat badan 8 kg, belum pernah divaksinasi.	Muntah-muntah, diare, nafsu makan turun, bulu kusam, turgor kulit turun, leleran mukopurulen dari mata dan hidung, pustula daerah abdomen	+
20	Anjing lokal umur 3 bulan , jenis kelamin betina berat 3 kg, belum divaksinasi	Suhu 40°C, sesak nafas, batuk, leleran mata mukopurulen, leleran hidung purulen, mukosa mata hyperemia, dehidrasi, muntah, diare.	+

Keterangan:

+ = positif terbentuk pita protein sesuai dengan marker - = tidak terbentuk pita protein

Pada pemeriksaan elektroforesis dengan *gel agarose* didapatkan pita dengan panjang 300 bp dan sesuai dengan yang diharapkan. Sepasang primer yang dipakai dalam penelitian ini dirancang untuk mengamplifikasi gen nukleoprotein (NP) dari virus distemper pada

posisi 769-789 ke depan dan pada posisi 1035-1055 ke belakang, sesuai dengan data *GeneBank* Acc. No. NC001921, sehingga menghasilkan produk PCR dengan panjang 300 bp (Sindhu *et al.* 1993). Mengingat produk PCR tersebut adalah khas virus distemper, berarti anjing



Keterangan: M= marker 100 bp ladder; 1=sampel negatif; 2=sampel positif; 3=kontrol negatif; 4=kontrol positif

Gambar 1. Hasil Elektroforesis produk RT-PCR pada Gel Agarose.

yang diperiksa memang benar menderita distemper (Gambar 1). Sepasang primer yang dipakai dalam penelitian ini dirancang oleh Frisk *et al.* (1999) dan telah terbukti dapat mengamplifikasi asam nukleat dari virus distemper dengan tingkat spesifisitas yang tinggi.

Sebenarnya ada beberapa jenis primer yang dapat dipakai untuk mengamplifikasi gen virus distemper. Kennedy *et al.*, (2000) menggunakan primer universal morbilivirus yang didasari atas sekuen gen fosfoprotein (P) dan primer kedua yang spesifik terhadap virus distemper anjing dari gen fusion (F) didapatkan produk dengan pita 429 bp dan 372 bp. Hasil sekuensing dan analisis filogenetik menunjukkan bahwa produk tersebut identik dengan virus distemper anjing dan terpisah dari genus virus morbili. Selain itu, deteksi virus distemper pada anjing liar dengan teknik RT-PCR primer spesifik virus morbili yaitu P1: 5'ATGTTTATGATCA-CAGCGGT 3' dan P2 : 5'ATTGGGTTGCAC-CACTTGTC 3' (Bildt *et al.*, 2002). Pada anjing laut didapatkan pita pada RT-PCR sebesar 457 bp dengan primer universal morbilivirus (Muller *et al.*, 2002), yang berbeda dengan pasangan primer yang dikembangkan oleh Kennedy *et al.* (2000). Perbedaan panjang pita

(bp) yang dilaporkan dari masing-masing ahli disebabkan oleh perbedaan pasangan primer yang digunakan, gen target, dan polimorfisme target. Penggunaan primer P1: 5' AAC TAT GTA TCC GGC TCT TGG ' dan P2 5' CGA GTC TGA AGT AAG CTG GGT 3' dengan posisi 941–9613 didapatkan produk dengan pita 260 bp. Penggunaan primer P1: 5'CAA AGA CGT GTG GTC GGA GAA 3' dan P2 : 5'CTT AGT AAG CAT CCT CAT CTT GGC 3' didapatkan produk PCR dengan pita 900bp (Frisk *et al.* 1999) Primer yang digunakan dalam penelitian ini sudah terbukti khas untuk virus distemper (Sindhu *et al.*, 1993).

SIMPULAN

Peneguhan diagnosis pada penyakit distemper anjing dapat dilakukan dengan menggunakan teknik RT-PCR.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Lab. Biomedik FKH Unud atas bantuan dana dan fasilitas, sehingga memungkinkan penelitian ini diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Vetinfo. 2006. Canine Distemper Virus. Encyclopedia of Canine Veterinary Medical Information. <http://www.vetinfo.com/dencyclopedia/distemper.html/>. diakses 30 Desember 2006.
- ACH (Animal Health Channel). 2006. Canine Distemper. <http://www.animalhealthchannel.com/distemper/> diakses tanggal 30 Desember 2006
- Appel MJG, Robson DS, 1973. A Microneutralisation test for canine distemper virus. *Am J Vet Res* 34:1459-1463. [Medline].
- Bildt MWG, Kuiken Van de T, Visee AM, Lema S, Fitzjohn TR, Osterhaus ADME. 2002. Distemper Outbreak and Its Effect on African Wild Dog Conservation. *Emerging Infect Dis* 8 (2): 211-213.
- Blixenkronne-Moller M, Pedersen IR, Appel MJ, Griot C. 1991. Detection of IgM antibodies against canine distemper virus in dog and mink sera employing enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *J Vet Diagn Invest* 3: 3-9.
- Dharmojo. 2001. *Kapita Selektta Kedokteran Veteriner 1 (Hewan kecil)*. Jakarta: Pustaka Popular Obor. pp 16 – 30.
- Dungworth DL. 1993. The respiratory system. In. Jubb KVF., Kennedy, FC., Palmer, N. *Pathology of Domestic Animal*. Ed 4. California : Academic Press. Vol 2. 617-624.
- Ek-Kommonen C, Sihvonen L, Pekkanen K, Rikula U, Nuotio L. 1997. Outbreak of canine distemper in vaccinated dogs in Finland. *Vet Rec*. 141(15): 380-383.[Medline]
- Frisk AL, Koenig M, Moritz A, Baumgärtner W.1999.** Detection of Canine Distemper Virus Nucleoprotein RNA by Reverse Transcription-PCR Using Serum, Whole Blood, and Cerebrospinal Fluid from Dogs with Distemper. *J of Clinical Microbiol* 37 (11): 3634-3643.
- Ham SA, Epping J. 2006. Dog Walking and Physical Activity In The United States. www.cdc.gov/ped/issue/2006/apr/.
- Headley SA, Graca DL. 2007. Canine distemper; Epidemiological findings of 250 cases. *Brazilian J Vet Resc and Anim*.
- Imagawa DT, Goret P, Adams JM. 1960. Immunological Relationship of Measles, Distemper, and Rinderpest Viruses. *Pathology* 46: 1119-1123. (PNAS).
- Kennedy S, Kuiken T, Jepson PD, Deaville R, Forsyth M, Barrett T, Bildt MWGV, Osterhaus ADME, Eybatov T, Duck C, Kydyrmanov A, Mitrofanov I, Willson I. 2000. Mass Die-off of Caspian Seals Caused by Canine Distemper Virus. *Emerging Infect Dis*. 6 (6): 637-639.
- Krakowka S, Koestner A. 1976. Age-related susceptibility to infection with canine distemper virus in gnotobiotics dogs. *J Infect Dis* 134 (6): 629-632. [Medline]
- Krakowka S, Olsen R, Confer A. 1975. Serological response to canine distemper virus antigen in gnotobiotic dogs infected with canine distemper virus. *J Infect Dis* 132: 384-392. [Medline]
- Muller G, Wohlsein P, Beineke A, Haas L, Wilke IG, Siebert U, Fonfara S, Harder T, Stede M, Gruber AD, Baumgartner W. 2002. Phocine Distemper in German Seals. *CDC. Emerging Infect Dis*. 10(4)
- Shek WP, Schultz RD, Appel MJG. 1980. Natural and immune cytolysis of canine distemper virus infected target cells. *Infect Immun*. 28: 724-734. [Medline]
- Sidhu MS, Husar W, Cook SD, Dowling PC, Udem SA. 1993.
- Canine distemper terminal and intergenic non-protein coding nucleotidesequences: completion of the entire CDV genome sequence. *Virology* 193:66–72.
- Spencer J, Burroughs R. 1992. Antibody response to canine distemper vaccine in African wild dogs. *J Wildlife Dis* . 28(3): 443-444.
- Stephenson JR, Meulen VT. 2006. Antigenic relationship between Measles and Canine Distemper Viruses : Comparisson of Immune Response in Animals and Humans to Individual Virus Spesific polypeptides. PNAS.
- Subronto. 2006. Penyakit Infeksi Parasit dan Mikroba pada Anjing dan Kucing. Yogyakarta: Gajah Mada University Press..
- Swango LJ. 1989. Canine viral disease. In Ettinger SJ. Textbook of Veterinary Internal Medicine. Ed.3 Philadelphia: WB. Saunders. 301-303.

- Timoney JF, Gillessipie JH, Scott FW, Barlough JE. 1992. Hagan and Bruner,s microbiology and infectious diseases of domestic animal. 8Ed. New York: Cornell 792-802.
- Uzunova KI, Koleva KA. 2005. Importance of microclimate, floor type and floor bedding for the incidence of catarrhal rhinitis and laryngitis in dogs. *Bulgarian J of Vet Med.* 8 (2): 135-139
- White G, Cowan KM. 1962. Separation of soluble antigen and infectious particles of rinderpest and canine distemper virus. *Virology.* 16. 209-211. [Medline]
- Winters KA, Mathes LE, Krakowka S, Olsen RG. 1983. Immunoglobulin class response to canine distemper virus in gnotobiotic dogs. *Vet. Immuno Immunopathol.* 5: 209-215 [Medline]