

Histopatologi dan Evaluasi Imunohistokimia *African Swine Fever* pada Babi di Provinsi Bali

Histopathological and Immunohistochemical Evaluation of African Swine Fever Pigs in Bali Province

Monica Septiani^{1*}, Vetrizah Juniantito², Bambang Pontjo Priosoeryanto²

¹Mahasiswa Pascasarjana Program Studi Ilmu Biomedis Hewan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Jalan Agatis Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680

²Divisi Patologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University Jalan Agatis Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680

*Email: septianimonica@apps.ipb.ac.id

Naskah diterima: 7 Agustus 2024, direvisi: 14 Oktober 2024, disetujui: 5 November 2024

Abstract

African Swine Fever (ASF) is a disease affecting pigs, caused by a double-stranded DNA virus that is not transmissible to humans or other animals. It leads to significant economic losses due to high morbidity and mortality rates, particularly in densely populated pig regions like Bali Province. During the ASF outbreak from June to December 2023, this study conducted histopathological research on clinical samples. Biological materials from twelve pigs confirmed positive for ASF via qPCR examination were histopathologically analyzed. Tissue samples from various organs underwent processing and examination using hematoxylin and eosin staining. Immunohistochemistry (IHC) was employed to detect the ASF virus's p54 protein. Clinical symptoms, anatomical pathology, and histological examination revealed characteristic acute ASF lesions. Immunohistochemistry consistently showed p54 viral antigen distribution in mononuclear cells/macrophages across various organs, with the spleen and lymph nodes being dominant sites in 12 pigs (100%). This comprehensive study demonstrates the effectiveness of IHC in detecting the ASF virus and characterizing its histopathology.

Keywords: ASF; histopathology; immunohistochemistry

Abstrak

African Swine Fever (ASF) adalah penyakit babi yang disebabkan oleh virus DNA beruntai ganda yang tidak menular pada manusia atau hewan lainnya dan menyebabkan kerugian ekonomi tinggi karena tingkat morbiditas dan mortalitas tinggi, terutama di wilayah populasi babi yang padat seperti Provinsi Bali. Penelitian ini merupakan studi histopatologis pada sampel klinis yang dikumpulkan selama kasus ASF berlangsung dari Juni sampai Desember 2023. Bahan biologis dari dua belas babi yang terkonfirmasi positif ASF melalui pemeriksaan qPCR, diperiksa secara histopatologis. Sampel jaringan dari berbagai organ diproses dan dianalisis menggunakan pewarnaan hematoksilin dan eosin. Imunohistokimia (IHK) digunakan untuk mendeteksi protein p54 dari virus ASF. Pemeriksaan gejala klinis, patologi anatomi dan histologis mengungkapkan lesi karakteristik ASF akut. Hasil IHK menunjukkan protein p54 virus ASF terdistribusi pada sel mononuklear/makrofag di berbagai organ babi, secara dominan dan konsisten berada di limpa dan limfonodus 12 babi (100%) Studi ini membuktikan efektivitas IHK dalam mendeteksi virus ASF dan karakteristik histopatologisnya.

Kata kunci: ASF; histopatologi; imunohistokimia

Pendahuluan

African Swine Fever (ASF) merupakan penyakit mematikan pada babi yang disebabkan oleh virus DNA beruntai ganda, tidak menular pada manusia atau hewan lainnya (WOAH, 2019). Penularan dapat terjadi melalui vektor dan kontak langsung dengan lingkungan yang terkontaminasi virus (Oula dan Arias 2008; WOA 2019; Penrith 2020). Virus ASF memiliki sifat tahan terhadap lingkungan yang membuatnya sulit dikendalikan (Sanchez-Vizcaino and Arias 2012). Menurut Izzati *et al.* (2020), Gejala pada babi yang terinfeksi termasuk anoreksia, demam, sianosis, dan pendarahan, dengan tingkat kematian mencapai 90-100%. Penyakit ASF tidak menular pada manusia tetapi memiliki dampak ekonomi yang signifikan pada industri babi (Sendow *et al.* 2020). Di Indonesia, ASF telah menyebabkan kematian massal pada babi, termasuk di Provinsi Bali. Babi memiliki peran penting dalam budaya dan ekonomi Bali, dengan sebagian besar penduduknya memeluk agama Hindu dan mengonsumsi daging babi secara luas. Populasi babi di Provinsi Bali pada tahun 2018 mencapai 700.000 ekor, kemudian mengalami penurunan berturut-turut selama 3 tahun terakhir (rerata populasi 450.000 ekor) (BPS 2023). Hal tersebut terjadi karena ASF mewabah di Bali pada akhir tahun 2019. Analisis filogenetik menunjukkan bahwa virus ASF dari Sumatera Utara, Jawa Barat, Vietnam, China, dan Rusia identik, menunjukkan adanya sumber infeksi yang sama (Dharmayanti *et al.* 2021). Kemungkinan virus ASF yang ditemukan di Bali dan Nusa Tenggara Timur juga genetik identik (Tenaya *et al.* 2023). Metode uji yang digunakan untuk diagnosa penyakit ASF saat ini adalah secara patologis dan molekuler. Penelitian ini berfokus pada deskripsi lesi histopatologis dan distribusi antigen virus pada babi yang terinfeksi secara alami untuk menemukan organ predileksi virus ASF, serta meningkatkan pemahaman kita tentang gambaran patologis dan patogenesis virus ASF selama wabah yang sedang berlangsung. Untuk memberikan gambaran yang lebih baik tentang penyakit dan meningkatkan upaya pengendaliannya.

Materi dan Metode

Penelitian dilakukan pada bulan Juli 2023-Februari 2024 dengan pengambilan sampel di peternakan babi dengan gejala ASF seperti demam, anoreksia, kesulitan bernafas, tampak lemas, dan atau adanya pendarahan/sianosis di beberapa bagian tubuh. Provinsi Bali dan pengujian dilakukan di Laboratorium Patologi dan Laboratorium Bioteknologi, Balai Besar Veteriner Denpasar. Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik dari Komisi Etik Hewan Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University dengan Nomor: 118/KEH/SKE/IX/2023. Sampel yang diperoleh dalam penelitian ini adalah 12 ekor babi yang sudah mati kemudian dinekropsi dan organ dalam yang diambil yaitu limpa, limfonodus gastrohepatika, paru-paru, hati, ginjal, dan jantung. Konfirmasi diagnosis berupa deteksi antigen virus ASF adalah dengan qPCR. Sampel yang terkonfirmasi positif dilanjutkan dengan uji histopatologi dan imunohistokimia. Kontrol positif dan kontrol negatif menggunakan sampel arsip BBVet Denpasar.

Real-time Polymerase Chain Reaction (qPCR)

Organ dihomogenisasi dalam PBS 1:10, lalu disentrifus dan supernatan diambil sebagai spesimen yang siap diekstraksi dengan menggunakan kit ekstraksi asam nukleat (DNeasy Blood & Tissue Kit, Qiagen, Hilden, Jerman) mengikuti prosedur produsen. Probe TaqMan® dan primer yang digunakan untuk deteksi gen p72 untuk diagnosis awal. dengan struktur Forward: 5'--CTGCTCATGGTATCAATCTTATCGA--3'; Reverse: 5'---GATACCACAAGATCRGCCGT---3'; Probe: ([6-carboxy-fluorescein(FAM)]5'--3'[6-carboxytetramethyl-rhodamine (TAMRA)]) (King *et al.* 2003). Hasil positif ditunjukkan dengan kurva karakteristik amplifikasi dengan nilai ambang batas (*cycle threshold*)/nilai Ct < 40 (nilai Ct < 30 = positif kuat) (WOAH 2019).

Pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE) dan Imunohistokimia (IHK)

Bagian tipis lima mikrometer dari sampel jaringan yang tertanam dalam parafin

dan difiksasi formalin, diwarnai dengan hematosilin dan eosin rutin (HE) untuk evaluasi histopatologis. Semua lesi yang diamati dalam spesimen jaringan pewarnaan HE diperiksa. Semua jaringan diuji untuk antigen virus ASF menggunakan metode IHK. Metode IHK mengacu pada prosedur IHK untuk patologi oleh Kim *et al.* (2016) dan prosedur dari kit *IHC Paramount Detection* (Cat. No. BGPD-0100, Biogear). Antibodi primer monoklonal ASF p54 (GT1075 Cat. No. GTX635691, GeneTex Inc. North America) 1:1000 diinkubasikan selama satu malam pada suhu 4°C. Secondary Link dan Horseradish peroxidase/HRP (*Paramount Detection Kit*, Biogear) digunakan sebagai antibodi sekunder yang akan mengikat antibodi primer. (*Paramount Detection Kit*, Biogear). Chromogen 3,3'-diaminobenzidine/DAB (*Paramount Detection Kit*, Biogear) diteteskan sebelum pemberian counterstain menggunakan Mayer's hematoksin (PATH-MY0005 PATH CHEM.). Sel positif/sel hospes yang berikatan dengan antigen virus ASF akan berwarna merah coklat (Zehntner *et al.* 2008). Evaluasi hasil pewarnaan IHK dengan mengambil gambar di bawah mikroskop, perbesaran 400x di 5 lapangan pandang, kemudian dianalisis dengan aplikasi *ImageJ*. Data yang diperoleh disajikan, diolah dan dianalisis secara deskriptif menggunakan Microsoft Excel™ dan secara statistik dengan IBM SPSS Statistics 26.0.

Hasil Dan Pembahasan

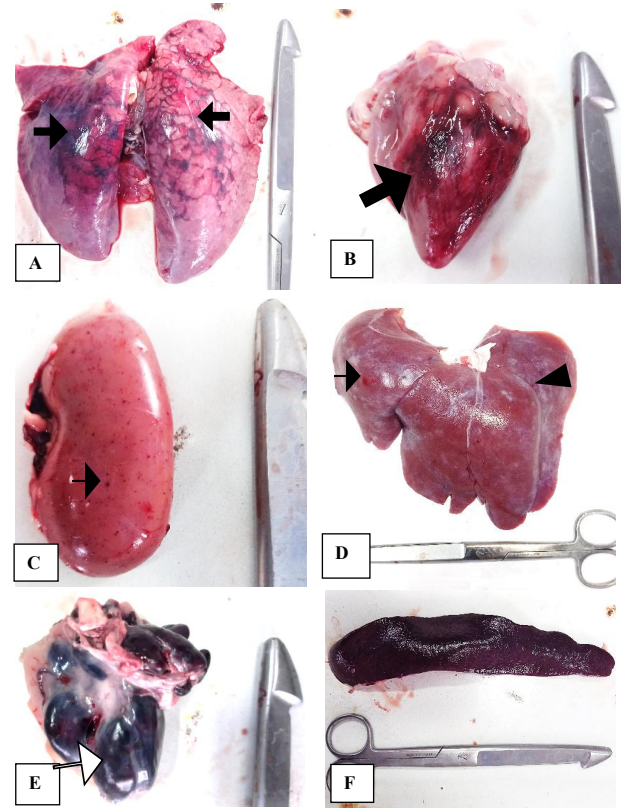
Gejala klinis, patologi anatomi, dan uji qPCR

Data kasus dan gejala klinis yang diperoleh ditampilkan pada tabel 1. Gejala klinis yang tidak spesifik seperti anoreksia, demam, muntah, diare dan lesi kulit seperti sianosis terutama pada anak babi dengan infeksi perakut dan kematian tinggi. Babi dengan infeksi akut, ditandai dengan demam tinggi (40–42°C), kelesuan, anoreksia, tidak aktif, hewan terinfeksi cenderung berkerumun, sianosis sentripetal di telinga, moncong, perut, ekor, dan area peri anal, serta lesi kulit dengan perdarahan petekial atau ekimosis. Tingkat kematian dapat mencapai hingga 100% pada peternakan yang terkena dalam waktu 7 hari setelah onset penyakit (Nga *et al.* 2020; Salguero 2020).

Tabel 1. Data kasus dan frekuensi gejala klinis.

Kriteria	Frekuensi (N=12)
Babi muda (umur 1-3 bulan)	100%
Babi campuran lokal-Landrace	100%
Pemeliharaan secara tradisional	100%
Rentang populasi 2-10 ekor	100%
Tingkat kesakitan 90%	100%
Tingkat kematian 100%	100%
Gejala klinis	
- nafsu makan turun	100%
- diare	83%
- gangguan nafas	83%
- sianosis hidung, telinga, mulut, perut dan kaki	41,60%
- mati dalam 24-48 jam setelah timbul gejala	100%

Pemeriksaan *post mortem* (Gambar 1) menunjukkan adanya hidroperikardium, perdarahan dan pembengkakan jantung 50% (6/12); perdarahan titik/ptekial pada korteks



Gambar 1. Perdarahan terjadi di berbagai organ babi yang terinfeksi virus ASF. Perdarahan multifokal paru-paru (panah) babi B1 (A); perdarahan masif dan multifokal jantung (panah) babi B2 (B); perdarahan titik/ petechiae (panah) korteks ginjal babi B11 (C); bercak putih (kepala panah) dan perdarahan (panah) hati babi B5 (D); perdarahan (panah) limfonodus gastrohepatika babi B12 (E); dan splenomegali, perdarahan, kerapuhan limpa babi B1 (F).

dan perdarahan masif di medula ginjal 58,33% (8/12); bercak putih masif, perdarahan, dan kerapuhan hati 50% (11/12); splenomegali, perdarahan dan kerapuhan limpa 66,67% (12/12); perdarahan masif limfonodus gastrohepatika dan mesenterika 66,67% (12/12); perdarahan multifokal di paru-paru 50% (12/12); dan perdarahan masif di usus besar 33,33% (4/12).

Perubahan pada jantung dalam penelitian ini sejalan dengan penelitian patologi jantung pada ASF akut oleh Semerjyan *et al.* (2018), yang menemukan adanya pembesaran jantung dan hiperemia miokardium pada tiga dari sepuluh babi dengan lebih dari 30% jaringan miokardium terpengaruh, dan enam dari sepuluh babi menunjukkan hidroperikardium dan perdarahan intramural. Rongga perikardium sering kali mengandung cairan kekuningan, merah, atau merah tua, dengan volume melebihi 50–100 ml. Menurut Sánchez-Vizcaíno and Arias (2012), lesi lain yang biasanya ditunjukkan oleh babi dengan bentuk akut penyakit ini adalah perdarahan petechiae di epikardium, endokardium, dan pleura. Sánchez-Cordón *et al.* (2021) juga menemukan adanya perdarahan petechiae dan ekimosis di epikardium dan endokardium jantung, dan hal tersebut sering terjadi. Hasil penelitian oleh Sánchez-Vizcaíno *et al.* (2015) menemukan perdarahan petechiae di korteks ginjal dan pelvis ginjal yang sejalan dengan penelitian ini. Sánchez-Cordón *et al.* (2021) menambahkan bahwa pada kasus ASF

akut, umumnya ginjal secara khas menunjukkan petechiae subkapsular di korteks ginjal serta petechiae di medula dan pelvis ginjal, edema perirenal mungkin ada dalam beberapa kasus. Perubahan pada hati yang sering terjadi adalah hepatomegali dan kongesti (Sánchez-Cordón *et al.* 2021), juga ditemukan dalam penelitian ini.

Perubahan post mortem berupa splenomegali maupun perdarahan pada bagian limpa secara konsisten juga ditemukan pada wabah ASF di Vietnam pada tahun 2019 oleh Nga *et al.* (2020), eksperimen pada babi yang diinfeksi dengan virus ASF strain Armenia (genotipe II) oleh Yamada *et al.* (2020). Salguero (2020) dan Izzati *et al.* (2020) lebih lanjut menyatakan lesi yang paling khas pada ASF akut adalah splenomegali hemoragik dengan limpa yang sangat membesar, berwarna gelap, dan mudah hancur saat dipotong. Lesi khas lain yang ditemukan dalam penelitian ini terkait dengan ASF akut adalah limfadenitis hemoragik yang sebagian besar mempengaruhi limfonodus ginjal, gastrohepatik, dan mesenterik yang sebelumnya dilaporkan Salguero *et al.* (2002). Sánchez-Cordón *et al.* (2021) menambahkan limfonodus sering membengkak, edematous, dan perdarahan dapat terjadi di korteks dan medula, kadang-kadang seperti gumpalan darah. Limfonodus mesenterika, biasanya, satu-satunya yang memiliki lesi hemoragik yang terlihat pada bentuk akut awal ASF. Lebih lanjut, limfonodus inguinal superfisial, parotid,

Tabel 2. Hasil uji qPCR.

Kode Hewan	Nilai <i>CT</i> tiap organ					
	Ginjal	Hati	Jantung	Limfonodus	Limpa	Paru-paru
B1	19,54	15,97	20,86	17,68	16,18	18,16
B2	25,63	15,95	26,56	19,27	16,11	18,72
B3	22,93	21,36	22,36	26,31	15,22	18,78
B4	20,21	16,77	20,95	18,68	16,21	21,16
B5	25,63	17,95	26,95	19,56	16,71	18,72
B6	20,52	21,88	21,93	22,83	21,92	17,96
B7	19,08	14,21	19,73	17,88	17,39	25,65
B8	27,27	16,69	26,54	24,7	16,08	20,26
B9	21,45	18,78	24,1	21,41	16,2	23,43
B10	22,72	19	23,64	22,56	17,97	21,71
B11	20,82	18,99	23,7	17,65	16,46	19,93
B12	21,46	18,04	23,11	21,68	17,46	20,2

Nilai Ambang Batas/*Cycle Threshold* (CT) <38=Positif virus ASF (WOAH, 2019)

preskapular, submandibular, retropharyngeal, servikal, trakeobronkial, dan mediastinal, juga dapat menunjukkan limfadenopati bersama dengan lesi hemoragik yang kurang parah (petechiae dan ekimosis) di medula dan korteks.

Perdarahan multifokal paru juga ditemukan pada satu dari empat babi ASF di Vietnam oleh Pornthummawat *et al.* (2021). Lebih lanjut, pada babi dengan ASF akut, paru-paru biasanya menunjukkan adanya bekas tekanan dari tulang rusuk, kongesti difus, distensi minimal septa interlobular (edema interstisial) dengan adanya infiltrat kuning seperti gelatin, edema alveolar ringan hingga sedang dengan adanya eksudasi cairan dan busa pada permukaan potongan, perdarahan petechiae subpleural juga sering ditemukan (Sánchez-Cordón *et al.* 2021). Perdarahan masif pada usus yang ditemukan dalam penelitian ini, hanya terjadi pada beberapa babi, terutama dengan infeksi paling parah. Mengenai saluran pencernaan, segmen-segmen berbeda dari usus kecil dan besar mungkin tampak normal hingga sedikit kongesti

dengan perdarahan petechiae di serosa. Selain itu, permukaan mukosa mungkin mengalami kongesti dan perdarahan yang mengandung cairan feses berdarah atau feses keras yang berwarna darah (Sánchez-Cordón *et al.* 2021).

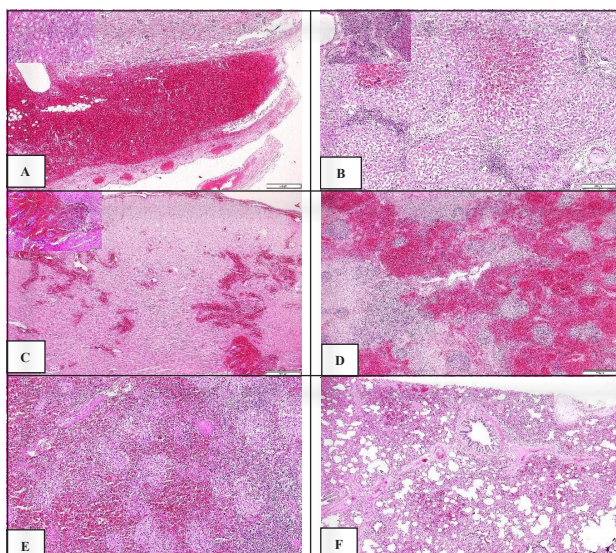
Hasil *real-time PCR* menunjukkan bahwa protein kapsid p72 virus ASF terdeteksi pada seluruh organ babi, sebagai kesimpulan, 100% (12/12) babi positif virus ASF (Tabel 2). Protein kapsid virus ASF p72 berperan penting dalam penempelan, masuk dan replikasi virus (Jia *et al.* 2017). Protein ini diekspresikan selama tahap awal infeksi virus ASF (Oh *et al.* 2022).

Histopatologi (Pewarnaan Hematoxyllin-Eosin/HE dan Immunohistokimia/ IHK)

Hasil uji histopatologi dengan pewarnaan HE (Tabel 3, Gambar 2) menunjukkan bahwa babi terinfeksi virus ASF akut karena temuan patologis yang diamati menguatkan gejala immunosupresi yang terkait dengan infeksi ASF akut (Salguero 2020).

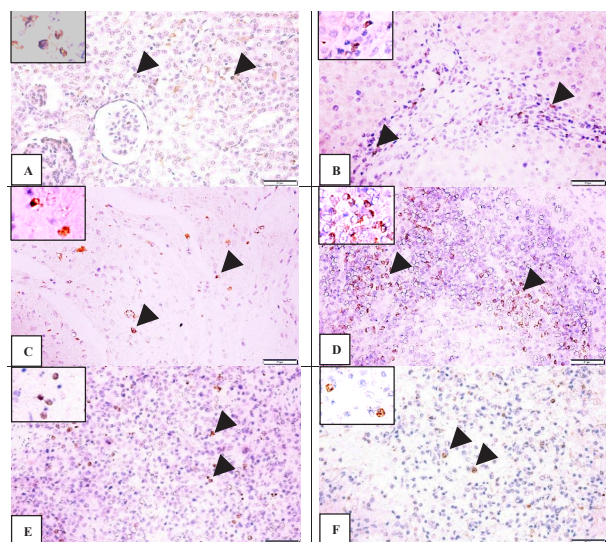
Tabel 3. Hasil pewarnaan HE pada babi positif ASF.

Jenis Organ	Kode Hewan	Histopatologi
Paru-paru	B1-B12	Edema di interstisial disertai distensi septa interalveolaris; perdarahan di alveolus; edema vaskular dan perivaskular; infiltrasi sel-sel radang seperti limfosit, monosit dan makrofag di interstisial
Jantung	B1, B2, B4, B7, B11	Perdarahan di epikardium dan miokardium; infiltrasi sel-sel radang seperti limfosit, monosit dan makrofag
	B1, B7	Hilangnya striasi sel-sel otot jantung akibat terjadi nekrosis
Ginjal	B1, B2, B4, B5, B8, B9, B11	Kongesti dan perdarahan di interstisial renalis dan glomerulus; infiltrasi sel radang non-suppuratif seperti monosit, limfosit dan makrofag di interstisial
	B7, B9	Nekrosis akut pada korteks dan medula renalis
Hati	B1, B2, B6, B7, B9, B11	Peningkatan infiltrasi sel Kupffer, monosit dan limfosit di sekitar segitiga Kiernan dan sinusoid
	B2, B10	Nekrosis di beberapa lobulus hati
	B2, B4, B5, B8, B11, B12	Kongesti dan perdarahan di sinusoid
	B5, B12	Edema di sinusoid
Limfonodus	B1-B12	Deplesi limfosit alibat perdarahan di bagian korteks dan medula; nekrosis di beberapa folikel limfoid; Perdarahan di korda medularis dan folikel limfoid
Limpa	B1-B12	Atrofi folikel limfoid; multifokal nekrosis pada pulpa merah; deplesi limfositik akibat perdarahan di folikel limfoid dan infiltrasi makrofag



Gambar 2. Pewarnaan HE. Ginjal (A): nekrosis akut pada korteks dan medula renalis babi B9, skala=500 μm kongesti dan perdarahan di interstisial renalis dan glomerulus; infiltrasi sel radang non-suppuratif seperti monosit, limfosit dan makrofag di interstisial (inset). Hati (B): nekrosis di beberapa lobulus hati babi B1, skala=200 μm ; peningkatan infiltrasi sel Kupffer, monosit dan limfosit di sekitar segitiga Kiernan dan sinusoid hati babi B1 (inset). Jantung (C): perdarahan di epikardium dan miokardium; infiltrasi sel-sel radang seperti limfosit, monosit dan makrofag babi B1, skala=500 μm ; hilangnya striasi sel-sel otot jantung akibat terjadi nekrosis babi B1 (inset). Limfonodus (D): deplesi limfosit akibat perdarahan di bagian korteks dan medula; nekrosis di beberapa folikel limfoid; perdarahan di korda medularis dan folikel limfoid babi B5, skala=500 μm . Limpa (E): atrofi folikel limfoid; multifokal nekrosis pada pulpa merah; deplesi limfositik akibat perdarahan di folikel limfoid dan infiltrasi makrofag babi B11, skala=200 μm . Paru-paru (F): edema di interstisial disertai distensi septa interalveolaris; perdarahan di alveolus; edema vaskular dan perivaskular; infiltrasi sel-sel radang seperti limfosit, monosit dan makrofag di interstisial babi B11, skala=500 μm

Deplesi limfoid secara khusus, merupakan konsekuensi dari apoptosis limfosit (Salguero 2020), terutama di organ limfoid seperti limpa dan limfonodus, menjadi pengamatan histopatologis yang konsisten dalam penelitian ini. Anomali vaskular tersebar luas di hampir semua organ yang diperiksa, termasuk limpa (Jambalang *et al.* 2016; Linden *et al.* 2019), ginjal, dan limfonodus (Pikalo *et al.* 2019; Nga *et al.* 2020; Tizhe *et al.* 2021). Selain itu, lesi nekrotik menjadi ciri histopatologis yang khas, meskipun insidensinya bervariasi di seluruh organ yang dievaluasi. Secara khusus, prevalensi lesi nekrotik yang mencolok terlihat



Gambar 3. Pewarnaan IHC, skala=50 μm . Sel positif virus ASF p54 (kepala panah) terdeteksi di glomerulus dan sekitar pelvis ginjal (A); sel positif di sinusoid hati dan hepatosit (B); sel positif di miokardium jantung (C); sel positif yang mengelilingi folikel limfoglandula (D); sel positif di sekitar area perdarahan limpa (E); sel positif di alveolus paru-paru (F).

pada sampel yang berasal dari jaringan limfoid (limpa dan limfonodus), hati, ginjal, dan jantung (Sánchez-Cordón *et al.* 2021). Secara bersamaan, penelitian ini menyoroti dimensi patologi lainnya, yaitu lesi inflamasi pada hati, ginjal, paru-paru dan jantung.

Pewarnaan IHC dengan protein p54 virus ASF dalam penelitian ini menunjukkan sel positif (sel yang bereaksi dengan protein virus ASF) konsisten terdeteksi di organ limfoid (limfonodus dan limpa). Sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Salguero (2020) menunjukkan reaksi sel positif kuat dengan protein virus ASF p72 di makrofag di pulpa merah dan sel debris di sekitar area nekrosis limpa. Selain itu, reaksi sel positif kuat juga ditemukan di makrofag sekitar area perifolikuler dan medula limfonodus gastrohepatik. Protein p54 virus ASF yang berperan dalam penempelan dan masuknya virus ke dalam sel (Jia *et al.* 2017), terdeteksi juga pada organ jantung, paru-paru, dan ginjal dalam penelitian ini. Hal tersebut senada dengan penelitian sebelumnya oleh Izzati *et al.* (2020), menemukan sel positif di sinusoid hati (sebagian besar adalah sel Kupffer yang membesar dan berisi) dan sel hepatosit. Selain itu, sel positif juga ditemukan di makrofag intravaskular paru-paru.

Jumlah rerata sel positif virus ASF (Tabel 2) tertinggi adalah di organ limfonodus diikuti limpa, hati, paru-paru, ginjal dan jantung (perbesaran 40x; luas bidang pandang 7,392mm²). Uji non-parametrik Kruskal-Wallis menyatakan bahwa rerata sel positif berbeda secara signifikan ($\alpha < 0,05$) dan jika dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney dengan membandingkan rerata sel positif tiap organ dengan organ dengan rerata terkecil, terdapat perbedaan signifikan antara organ ginjal, hati, limfonodus, limpa dan paru-paru dengan organ jantung sebagai organ dengan rerata terkecil (Asymp. Sig < 0,05). Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena organ jantung tidak memiliki jumlah makrofag atau monosit yang tetap seperti organ limfoid (Gomez-Villamandos *et al.* 2013).

Tabel 4. Rerata jumlah sel positif organ babi yang terinfeksi virus ASF dengan metode IHK.

Jenis Organ	Rerata jumlah sel positif
Jantung	2,5 \pm 2,12
Ginjal	6,5 \pm 5,39*
Paru-paru	12,7 \pm 10,44*
Hati	13,42 \pm 11,55*
Limpa	52,09 \pm 44,44*
Limfonodus	54,85 \pm 29,96*

Angka pada kolom yang sama yang diikuti tanda bintang berarti berbeda nyata hasil uji Mann-Whitney ($\alpha < 0,05$).

Kesimpulan

Gejala klinis, perubahan post mortem, lesi histopatologis, dan imunohistokimia menunjukkan bahwa babi dalam penelitian ini terinfeksi virus ASF akut. Distribusi antigen virus ASF rerata terbesar ditemukan di organ limfoid yaitu limpa dan limfonodus dengan uji imunohistokimia sebagai uji diagnostik ASF. Limpa dan limfonodus menjadi organ target utama virus ASF sehingga baik digunakan sebagai sampel diagnostik ASF.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian, Kementerian Pertanian; Balai Besar Veteriner Denpasar; Dinas Penanaman Modal dan Pelayanan Terpadu Satu Pintu Provinsi Bali dan Dinas Pertanian yang membidangi Kesehatan Hewan di Provinsi Bali.

Daftar Pustaka

- [BPS] Badan Pusat Statistik. (2023). Populasi Babi menurut Provinsi (Ekor). 2020-2022. [diakses 15 Mei 2023]. <https://www.bps.go.id/indicator/24/474/1/populasi-babi-menurut-provinsi.html>.
- [WOAH] World Organization of Animal Health. (2019). OIE Terrestrial Manual Chapter 3.9.1: African Swine Fever (Infection with African Swine Fever Virus). [diakses 15 Mei 2023]. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.09.01_ASF.pdf
- Dharmayanti NLPI, Sendow I, Ratnawati A, *et al.* (2021). African swine fever in North Sumatra and West Java provinces in 2019 and 2020, Indonesia. *Transbound Emerg Dis.* 00:1-7. DOI:10.1111/tbed.14070.
- Gomez-Villamandos JC, Bautista MJ, Sanchez-Cordon PJ, Carrasco L. (2013). Pathology of African swine fever: the role of monocyte-macrophage. *Virus Res.* 173:140-9. DOI:10.1016/j.virusres.2013.01.017.
- Izzati UZ, Inanaga M, Hoa NT, Nueangphuet P, Myint O, Truong QL, Lan NT, Norimine J, Hirai T, Yamaguchi R. (2020). Pathological investigation and viral antigen distribution of emerging African swine fever in Vietnam. *Transbound Emerg Dis.* 68:2039–2050. DOI:10.1111/tbed.13851.
- Jambalang AR, Ogo NI, Agada G, Owolodun O, Kumbish P. (2016). Detection of African Swine Fever Virus by Histopathology and Transmission Electron Microscopy. *Nigerian Med J.* 35(4):1078-1083.
- Jia N, Ou Y, Pejsak Z, Zhang Y, Zhang J. (2017). Roles of African swine fever virus structural proteins in viral infection. *J Vet Res.* 61(2): 135-143.
- Kim SW, Roh J, Park CS. (2016). Immunohistochemistry for Pathologists: Protocols, Pitfalls, and Tips. *J Pathol Transl Med.* 50:411-418. DOI:10.4132/jptm.2016.08.08.
- King DP, Reid SM, Hutchings GH, Grierson SS, Wilkinson PJ, Dixon LK, Bastos

- AD, Drew TW. (2003). Development of a TaqMan PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus. *J Virol Methods*. 107(1):53-61. DOI:10.1016/s0166-0934(02)00189-1.
- Linden A, Licoppe A, Volpe R, Paternostre J, Lesenfant SC, Cassart D, Garigliany M, Tignon M, Van Den Berg T, Desmecht D, et al. (2019). African swine fever virus hits north-western Europe. *Transbound Emerg Dis*. 66:54-55.
- Nga BTT, Tran Anh Dao B, Nguyen Thi L, Osaki M, Kawashima K, Song D, Salguero FJ, Le VP. (2020). Clinical and Pathological Study of the First Outbreak Cases of African Swine Fever in Vietnam, 2019. *Front Vet Sci*. 7:392. DOI: 10.3389/fvets.2020.00392.
- Oh T, Do DT, Lai DC, Nguye LT, Lee JY, Van Le P, Chae C. (2022). Chronological expression and distribution of African swine fever virus p30 and p72 proteins in experimentally infected pigs. *Sci Rep*. 12(1): 4151.
- Oula CAL, Arias M. (2008). *African Swine Fever. In: Manual Of Diagnostic Tests And Vaccines For Terrestrial Animals (OIE)*. World Organization For Animal Health. pp1069-82.
- Penrith ML. (2020). Current status of African swine fever. *CABI Agric Biosci*. 1:11. DOI:10.1186/s43170-020-00011-w.
- Pikalo J, Zani L, Hühr J, Beer M, Blome S. (2019). Pathogenesis of African swine fever in domestic pigs and European wild boar – Lessons learned from recent animal trials. *Virus Res*. 271:197-614.
- Pornthummawat A, Truong QL, Hoa NT, Lan NT, Izzati UZ, Suwanruengsri M, Nueangphuet P, Hirai T, Yamaguchi R. (2021). Pathological Lesions And Presence Of Viral Antigens In Four Surviving Pigs In African Swine Fever Outbreak Farms In Vietnam. *J Vet Med Sci*. 83(11): 1653–1660. DOI: 10.1292/jvms.21-0409.
- Salguero FJ. (2020). Comparative Pathology and Pathogenesis of African Swine Fever Infection in Swine. *Front Vet Sci*. 7:282. DOI:10.3389/fvets.2020.00282.
- Salguero FJ, Ruiz-Villamor E, Bautista MJ, Sanchez-Cordon PJ, Carrasco L, Gomez-Villamandos JC. (2002). Changes in macrophages in spleen and lymph nodes during acute African swine fever: expression of cytokines. *Vet Immunol Immunopathol*. 90:11–22. DOI: 10.1016/S0165-2427(02)00225-8.
- Sánchez-Cordón PJ, Floyd T, Hicks D, Crooke HR, Mccleary S, Mccarthy RR, Strong R, Dixon LK, Neimanis A, Wikström-Lassa E, Gavier-Widén D. 2021. Evaluation of lesions and viral antigen distribution in domestic pigs inoculated intranasally with African swine fever virus Ken05/Tk1 (genotype X). *Pathogens*. 10(6):768.
- Sanchez-Vizcaino JM, Arias M. (2012). *African Swine Fever Virus. In: Diseases Of Swine* (J.J. Zimmerman, L.A. Karriker, A. Ramirez, K.J. Schwartz, G.W. Stevenson, Eds.). Iowa State Press, Ames, Iowa. pp.501–24;396-404.
- Sanchez-Vizcaino JM, Mur L, Gomez-Villamandos JC, Carrasco L. (2015). An Update on the Epidemiology and Pathology of African Swine Fever. *J Comp Path*. 152: 9-21. DOI:10.1016/j.jcpa.2014.09.003.
- Semerjyan AB, Tatoyan MR, Karalyan NY, Nersisyan NH, Hakobyan LH, Arzumanyan HH, Karalyan ZA. (2018). Cardiopathology in acute African Swine Fever. *Ann Parasitol*. 64(3): 253–258. DOI:10.17420/ap6403.161.
- Sendow I, Ratnawati A, Dharmayanti NLPI, Saepu M. (2020). African Swine Fever: Penyakit Emerging yang Mengancam Peternakan Babi di Dunia. *Wartazoa*. 30(1):15-24. DOI:10.14334/wartazoa.v30i1.2479.
- Tenaya WM, Swacita IBN, Wirata K, Damriyasa M, Besung NK, Suarsana N, Sari TK, Agustina KK. (2023). A study

- of African swine fever virus in Regional VI of the Disease Investigation Center of Denpasar Bali in Indonesia. *Vet World*. 16(4):844-850. DOI:10.14202/vetworld.2023.844-850.
- Tizhe EV, Luka PD Adedeji AJ, Tanko P, Gurumyen GY, Buba DM, Tizhe UD, Bitrus AA, Oragwa AO, Shaibu SJ, Unanam ES. (2021). Laboratory diagnosis of a new outbreak of acute African swine fever in smallholder pig farms in Jos, Nigeria. *J Vet Med Sci*. 7(3):705-13.
- Yamada M, Masujin K, Kameyama K, Yamazoe R, Kubo T, Iwata K, Tamura A, Hibi H, Shiratori T, Koizumi S, Ohashi K, Ikezawa M, Kokuho T, Yamakawa M. (2020). Experimental infection of pigs with different doses of the African swine fever virus Armenia 07 strain by intramuscular injection and direct contact. *J Vet Med Sci*. 82(12): 1835-1845. DOI: 10.1292/jvms.20-0378.
- Zehntner SP, Chakravarty MM, Bolovan RJ, Chan C, Bedell BJ. (2008). Synergistic Tissue Counterstaining and Image Segmentation Techniques for Accurate, Quantitative Immunohistochemistry. *J Histo Cyto*. 56(10): 873-880. DOI: 10.1369/jhc.2008.950345.