

ISSN : 1411 - 9161

EDISI
01
VOLUME 42

Velabo

Buletin Laboratorium Veteriner



Kementerian Pertanian
Balai Veteriner Lampung

Jl. Untung Suropati No. 2 Labuhan Ratu
Kedaton - Bandar Lampung 35142

☎ (0721) 701851 / 772894 ☎ (0721) 772894 ✉ bvetlampung@pertanian.go.id

FIND US ONLINE <http://bvetlampung.ditjennak.pertanian.go.id>



KATA PENGANTAR

Puji Syukur kita panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena Berkat karunia-Nya Beuletin Laboratorium Veteriner (VELABO) Volume 42 Edisi 02 November 2019, dapat diterbitkan kembali ke hadapan pembaca sekalian

Pada velabo ini pembaca dapat mengupas tentang Uji Mikrobiologis Protein Penyusun Bahan Pakan Ayam Yang Beredar Di Provinsi Lampung, Asosiasi Faktor Breed, Lokasi Kandang dan Umur terhadap Kejadian Leptospirosis Peternakan Sapi Di Wilayah Kerja Balai Veteriner Lampung Tahun 2019, Identifikasi Isospora felis dan Isospora rivolta pada kucing Maine Coon, Isolasi Bakteri Escherchia Coli Pada Sekum Ayam Di Tempat Pemotongan Unggas Pasar Tradisional Sebagai Dasar Surveilans Resistensi Antimikroba Balai Veteriner Lampung, Optimasi Pengujian African Swine Fever di Laboratorium Balai Veteriner Lampung, Peran Bovine Viral Diarrhea Virus pada Bovine Respiratory Disease Complex pada Peternakan Sapi Import Tahun 2019, Phylogenetic analysis gen hemagglutinin isolat Avian Influenza subtype H9N2 yang bersirkulasi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung, Distribusi Kejadian Keterlambatan Pubertas (DELAYED PUBERTY) pada Sapi Di Provinsi Kepulauan Bangka Belitung Tahun 2018. Harapan kami sajian Velabo ini dapat bermanfaat untuk pembaca

Selamat membaca

Redaksi



Velabo

**BULETIN
LABORATORIUM
VETERINER**

Di Terbitkan
2 kali setahun

**BALAI VETERINER LAMPUNG
DIREKTORAT JENDRAL PETERNAKAN DAN KESEHATAN HEWAN
KEMENTERIAN PERTANIAN**

PENANGGUNG JAWAB

Kepala Balai Veteriner Lampung
drh Nasirudin, M.Sc

SEKRETARIAT REDAKSI

Alim Santoso
Ferro Safryl A,Md

PENANGGUNG JAWAB

Pimpinan Redaksi:
drh Tri Guntoro, MP

TELP / FAX

Telp. 0721 701851 / 772894
Fax. 0721 772894

EDITOR

drh. Eko Agus Srihanto, M. S.c
drh. Joko Susilo, M. S.c

[HTTP:// BVETLAMPUNG.DITJENNAK.PERTANIAN.GO.ID](http://BVETLAMPUNG.DITJENNAK.PERTANIAN.GO.ID)

CONTENTS

CONTENTS

1

Uji Mikrobiologis Protein Penyusun Bahan Pakan Ayam Yang Beredar Di Provinsi Lampung

5

Asosiasi Faktor Breed, Lokasi Kandang dan Umur terhadap Kejadian Leptospirosis Peternakan Sapi Di Wilayah Kerja Balai Veteriner Lampung Tahun 2019

11

Identifikasi Isospora felis dan Isospora rivolta pada kucing Maine Coon

16

Isolasi Bakteri Escherchia Coli Pada Sekum Ayam Di Tempat Pemotongan Unggas Pasar Tradisional Sebagai Dasar Surveilans Resistensi Antimikroba Balai Veteriner Lampung

21

Optimasi Pengujian African Swine Fever di Laboratorium Balai Veteriner Lampung

25

Peran Bovine Viral Diarrhea Virus pada Bovine Respiratory Disease Complex pada Peternakan Sapi Import Tahun 2019

32

Phylogenetic analysis gen hemagglutinin isolat Avian Influenza subtype H9N2 yang bersirkulasi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung

36

Distribusi Kejadian Keterlambatan Pubertas (DELAYED PUBERTY) pada Sapi Di Provinsi Kepulauan Bangka Belitung Tahun 2018



**Take us
Anywhere**

<http://bvetlampung.ditjenak.pertanian.go.id>



bvetlampung
@pertanian.co.id



SMS Center
081379230195



@bvetlampung



@bvetlampung



Balai Veteriner

UJI MIKROBIOLOGIS PROTEIN PENYUSUN BAHAN PAKAN AYAM YANG BEREDAR DI PROVINSI LAMPUNG

Khoiriyah, Arie., Rosmalayanti, Ngatini
Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Lampung
Email : arikhoiriyah@gmail.com

Abstrak

Pakan merupakan sumber utama energi bagi ternak yang berupa energi bruto, di mana dalam tubuh ternak sebagian dari energi bruto terbuang dalam feces, urine dan sebagian lagi merupakan energi metabolis. Begitu besar peranan pakan bagi ternak terutama ternak unggas, sehingga kualitas pakan harus mendapat perhatian yang utama. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya cemaran bakteri Anthraks, bakteri Clostridium, bakteri Salmonella dan jamur pada protein penyusun bahan pakan ayam yang beredar di Provinsi Lampung. Sampel protein penyusun bahan pakan ayam dikultur pada media selektif untuk bakteri dan jamur. Dari 17 sampel menunjukkan hasil negatif bakteri dan jamur. Hal ini menunjukkan kualitas protein bahan penyusun pakan ayam yang beredar di Provinsi Lampung masih dalam kualitas yang sangat baik dan masih sesuai standar mutu pakan unggas.

Kata Kunci : Protein bahan penyusun pakan ayam, bakteri, jamur

PENDAHULUAN

Kebutuhan protein hewani di Indonesia saat ini sangat tinggi, seiring dengan meningkatnya jumlah penduduk serta kesadaran masyarakat bahwa protein hewani diperlukan dalam memenuhi kebutuhan gizi. Protein hewani menjadi sangat penting karena mengandung asam-asam amino yang mendekati susunan asam amino yang dibutuhkan manusia sehingga akan lebih mudah dicerna dan lebih efisien pemanfaatannya (Bahri et al., 2005).

Sub sektor peternakan merupakan basis ekonomi yang berpotensi tinggi dalam meningkatkan pertumbuhan ekonomi. Salah satu sub sektor peternakan yang mengalami pertumbuhan pesat adalah sektor perunggasan. Sektor perunggasan merupakan ujung tombak dalam pemenuhan kebutuhan konsumsi hewani. Produk unggas memberi kontribusi terhadap konsumsi protein hewani sebesar 60,73% (Bahri, 2008). Selain itu, sektor perunggasan telah menyerap tenaga kerja lebih dari 1000 orang per tahun.

Kunci kesuksesan dalam usaha peternakan ayam dipengaruhi oleh tiga faktor utama yaitu penyediaan bibit unggul, pemenuhan kebutuhan pakan dan manajemen pemeliharaan yang baik. Ketiga faktor produksi tersebut merupakan satu kesatuan sistem, apabila salah satu faktor terabaikan atau kurang mendapat perhatian maka penanganan terhadap faktor yang lain tidak dapat memberikan hasil yang maksimal. Pakan adalah salah satu faktor

yang sangat penting untuk mencapai suatu keberhasilan produktivitas ayam secara optimal, oleh karena itu kuantitas dan kualitas pakan hendaknya selalu diperhatikan. Biaya pakan merupakan komponen biaya terbesar yang mencapai 60-70% dari total biaya produksi ternak unggas (Anggitasari, 2016).

Pakan merupakan sumber utama energi bagi ternak yang berupa energi bruto, di mana dalam tubuh ternak sebagian dari energi bruto terbuang dalam feces, urine dan sebagian lagi merupakan energi metabolis. Energi metabolis adalah energi yang siap digunakan ternak untuk berbagai aktifitas yaitu mempertahankan suhu tubuh, aktifitas fisik, pertumbuhan, memperbaiki sel tubuh, reproduksi dan produksi (McDonald et al., 1994). Begitu besar peranan pakan bagi ternak terutama ternak unggas, sehingga kualitas pakan harus mendapat perhatian yang utama. Peternak ayam lebih sering memberikan pakan komersial dari pada mencampur bahan pakan sendiri. Perusahaan pakan komersial di Indonesia sangat beragam baik jenis produk maupun hasil dari tiap pabrik sehingga harga di pasaran pun tidak sama satu sama lain.

Pakan-pakan yang beredar di pasaran perlu dilakukan pengujian di laboratorium untuk mengetahui kualitasnya mengingat begitu panjangnya proses yang dialami oleh pakan mulai dari sumber bahan baku, proses di pabrik, penyimpanan gudang, hingga perjalanan pakan sampai ke peternak. Berbagai hal dapat terjadi yang menyebabkan terjadinya penurunan kualitas pakan, antara lain: faktor

hingga perjalanan pakan sampai ke peternak. Berbagai hal dapat terjadi yang menyebabkan terjadinya penurunan kualitas pakan, antara lain: faktor temperatur, kelembaban, kebersihan, lama penyimpanan dan kerusakan pakan dapat juga disebabkan oleh aktifitas mikroorganisme yang merusak bahan (Winarno, 1983). Berdasarkan hal tersebut, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui ada tidaknya cemaran mikrobiologis pada protein penyusun bahan pakan ayam dari perusahaan pakan ayam yang ada di Provinsi Lampung.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan adalah protein penyusun bahan pakan komersial dari beberapa pabrik pakan yang diambil secara acak kemudian diberi kode yaitu pakan PT. J, pakan PT. N dan pakan PT. C sebanyak 17 sampel. Jenis protein penyusun bahan pakan tersebut yaitu HCFM (Hidrolised Chicken Feather Meal), MBM (Meat Bone Meal), HFM (Hydrolised Feather Meal) dan PBPM (Poultry by Product Meal). Protein penyusun bahan pakan tersebut dilakukan pengujian mikrobiologis yang terdiri dari Kultur bakteri Anthraks, Kultur bakteri Clostridium, Kultur bakteri Salmonella dan Kultur jamur.

Pengujian kultur bakteri Anthraks

Sampel protein pakan ditimbang sebanyak 1 gram lalu ditambahkan larutan NaCl fisiologis sebanyak 9 ml. Sampel diinkubasi selama 30 – 60 menit pada suhu ruang. Supernatant diambil sebanyak 1,5 ml kemudian diinkubasi di waterbath pada suhu 65°C selama 15 menit. Supernatant dibuang dan disisakan sebanyak 0,5 ml lalu ditambahkan NaCl sebanyak 0,5 ml. Endapan sebanyak 0,25 ml ditanam di media Blood agar. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 16 jam. Pertumbuhan bakteri diamati dengan ciri koloni seperti kapas berwarna putih.

Pengujian kultur bakteri Clostridium

Sampel protein pakan ditimbang sebanyak 1 gram lalu ditambahkan larutan NaCl fisiologis sebanyak 9 ml. Larutan sampel diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam media kaldu tarozzi. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 16 jam. Pertumbuhan bakteri diamati ada tidaknya gelembung/ buih di dalam media kaldu tarozzi.

Pengujian kultur bakteri Salmonella

Sampel protein pakan ditimbang sebanyak 1 gram lalu dimasukkan ke dalam media TTB. Media TTB diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dari media TTB diambil satu ose dikultur media agar BGA dan MC lalu diinkubasi suhu 37°C selama 24 jam. Adanya pertumbuhan koloni yang dicurigai dilanjutkan ke uji Biokimiawi.

Pengujian kultur Jamur

Sampel protein pakan ditimbang sebanyak 1 gram lalu ditambahkan larutan NaCl fisiologis sebanyak 9 ml. Larutan sampel diambil sebanyak 1 ml lalu dikultur ke dalam media Sabouraud's dextrose Agar. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-7 hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jenis sampel yang tersaji pada Tabel 1 adalah Protein penyusun bahan pakan komersial buatan beberapa perusahaan pakan unggas besar di Provinsi Lampung. Bahan pakan penyusun pakan komplit umumnya terdiri dari dedak, jagung, tepung ikan, bungkil kedelai, bungkil kelapa, tepung daging dan tulang, pecahan gandum, bungkil kacang tanah, canola, tepung daun, vitamin, kalsium, fosfat dan trace mineral.

Tabel 1. Sampel Protein Penyusun Bahan Pakan yang diambil di pabrik Pakan yang ada di Provinsi Lampung

No	Kode pakan	kultur Salmonella	kultur Clostridium	kultur Anthraks	kultur jamur
1	HCFM JC.I.1	negatif	negatif	negatif	negatif
2	HCFM JC.I.2	negatif	negatif	negatif	negatif
3	MBM JC.I.3	negatif	negatif	negatif	negatif
4	MBM JC.I.4	negatif	negatif	negatif	negatif
5	PBPM JC.I.5	negatif	negatif	negatif	negatif
6	HCFM JC.I.6	negatif	negatif	negatif	negatif
7	PBPM JC.I.7	negatif	negatif	negatif	negatif
8	HCFM JC.I.8	negatif	negatif	negatif	negatif
9	PBPM JC.I.9	negatif	negatif	negatif	negatif
10	HCFM JC.I.10	negatif	negatif	negatif	negatif
11	MBM NH.1	negatif	negatif	negatif	negatif
12	MBM NH.2	negatif	negatif	negatif	negatif
13	HFM CP. 1	negatif	negatif	negatif	negatif
14	HFM CP.2	negatif	negatif	negatif	negatif
15	MBM CP. 3	negatif	negatif	negatif	negatif
16	MBM CP. 4	negatif	negatif	negatif	negatif
17	MBM CP. 5	negatif	negatif	negatif	negatif

Sumber Protein Hewani yang digunakan untuk bahan penyusun pakan ayam yang biasa dipakai yaitu :

i. Meat Bone Meal (MBM)

Tepung daging atau Meat Bone Meal (MBM), mengandung protein kasar yang tinggi dan sangat baik untuk ayam pedaging. Meat Bone Meal diimpor langsung dari USA dan Australia.

ii. Poultry By Product Meal (PBPM)

iii. Hidrolisa Chicken Feather Meal (HCFM)

Hidrolisa Chicken Feather Meal (HCFM) atau dikenal dengan tepung bulu. Tepung bulu memiliki kandungan protein hewani dan kaya akan amino esensial. Pemakaian Tepung bulu sekitar 5%.

Bahan pakan penyusun konsentrat umumnya adalah Soya Bean Meal (SBM), Meat Bone Meal (MBM), Corn Glutein Meal (CGM), tepung ikan, tepung tulang, Palm Oil, premix, vitamin, asam amino esensial, dan mineral esensial. Namun semua hal tersebut tidak menutup kemungkinan terjadinya penurunan kualitas pakan yang diakibatkan proses yang panjang yang dialami oleh pakan mulai dari pabrik sampai ke peternak (Purnamasari, 2016).

Dari hasil pengujian mikrobiologis untuk melihat ada tidaknya cemaran bakteri Anthraks, clostridium dan Salmonella serta cemaran jamur menunjukkan hasil negatif, yaitu dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri dan jamur pada media selektif. Hal tersebut menunjukkan bahwa kualitas protein bahan penyusun pakan ayam sangat baik, karena bebas dari cemaran bakteri dan jamur. Namun mengingat nantinya protein bahan penyusun pakan ayam ini akan dicampur dengan bahan lainnya maka perlu dipertahankannya kualitas bahan campuran tersebut agar kualitas pakan komplit yang telah jadi tetap bisa dipertahankan sampai ke peternak dan bisa meningkatkan tingkat produksi ternak yang tercapai secara maksimal.

SIMPULAN

1. Hasil uji mikrobiologis yaitu kultur bakteri Anthraks, bakteri clostridium, bakteri Salmonella dan kultur jamur terhadap 17 sampel protein penyusun bahan pakan ayam yang berasal dari 3 perusahaan pakan ayam di Provinsi Lampung menunjukkan hasil negatif.
2. Perlunya tetap mempertahankan kualitas pakan mengingat proses yang panjang yang dialami oleh pakan mulai dari pabrik sampai ke peternak, faktor temperatur, kelembaban, dan kondisi penyimpanan, agar tingkat produktivitas ayam dapat tercapai secara maksimal

DAFTAR PUSTAKA

Bahri, S., E. Masbulan, dan A. Kusumaningsih. 2005. Proses praproduksi sebagai faktor penting dalam menghasilkan produk ternak yang aman untuk manusia. <http://www.pustakadeptan.go.id/publication/p3241054.pdf>

Bahri, D.I, Z. Fanani, dan B.A. Nugroho. 2012. Analisis Struktur Biaya dan Perbedaan Pendapatan Usaha Ternak Ayam Ras Pedaging pada Pola dan Skala Usaha Ternak yang Berbeda di Kota Kendari Provinsi Sulawesi Tenggara, Jurnal Ternak Tropika Vo.13, No. 1:35-46

Anggitasari, S., Osfar Sjoifjan, dan I.H Djunaidi. 2016. Pengaruh Beberapa Jenis Pakan Komersial Terhadap Kinerja Produksi Kuantitatif dan Kualitatif Ayam Pedaging. Buletin Peternakan Vol. 40 (3): 187-196, Oktober 2016

Winarno, F.G. 1983. Kerusakan Bahan Pakan dan Cara Penanggulangannya.

Jakarta: Ghalia Indonesia.

Purnamasari, Dwi K., Erwan, Syamsuhaidi dan M. Kurniawan. 2016. Evaluasi Kualitas Pakan Komplit dan Konsentrat Unggas yang Diperdagangkan di Kota Mataram. Jurnal Peternakan Sriwijaya Vol. 5, No. 1, Juni 2016, pp. 30 - 38

**Asosiasi Faktor Breed, Lokasi Kandang dan Umur terhadap Kejadian
Leptospirosis Peternakan Sapi
Di Wilayah Kerja Balai Veteriner Lampung Tahun 2019**

Susilo, J., Efrilita, I., Sipayung, F.

Laboratorium Epidemiologi Balai Veteriner Lampung

Email : joko_andiniloka@gmail.com

Abstrak

Leptospirosis merupakan penyakit bakterial yang dapat menimbulkan dampak penyakit dan kerugian ekonomi di peternakan sapi. Penyakit ini telah menyebar ke seluruh dunia. Peternakan sapi terinfeksi leptospirosis akan memiliki prevalensi kasus yang bervariasi tergantung dari kerentanan individual sapi, paparan bakterial di lingkungan, perkandangan, dan faktor lainnya. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui ada tidaknya asosiasi faktor breed, umur dan lokasi kandang dengan kasus leptospirosis peternakan sapi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung, serta menghitung derajat asosiasi masing masing faktor. Data diperoleh dari kiriman sampel peternakan sapi sebanyak 114 sampel dan telah dilakukan pengujian laboratorium terhadap *Leptospira*. Data disajikan secara deskriptif dan analisis. Analisis data menggunakan tools Epi info untuk mengetahui asosiasi masing masing faktor dan derajat asosiasinya. Hasil analisa data menunjukan tidak ada asosiasi antara breed dengan leptospirosis (P-value= 0.7, 95% CI = 0.31 – 7.25), tidak ada asosiasi antara lokasi kandang dengan leptospirosis (P-value= 0.7, 95% CI = 0.47 – 4.22), tidak ada asosiasi antara umur dengan leptospirosis (P-value= 0.3, 95% CI = 0.61 – 5.69). Berdasarkan data data tersebut dapat disimpulkan bahwa breed, lokasi kandang dan umur tidak berasosiasi dengan kejadian leptospirosis di peternakan sapi tersebut.

Pendahuluan

Leptospira merupakan bakteri berbentuk helik, motil, berukuran (0.1 × 6 to 12 µm), memiliki dua lingkaran kromosom yang masing masing berisi dua gen esensial untuk bertahan. Bakteri ini masuk dalam ordo Spirochaetales, family Leptospiraceae dan genus *Leptospira*. *Leptospira* termasuk dalam bakteri gram negative, namun tidak terwarnai dengan pewarnaan gram konvensional dan dapat teramati menggunakan mikroskop dark - field. Beberapa pewarnaan silver dan pewarnaan immunologis dapat memperlihatkan *Leptospira* pada jaringan. Leptospirosis dapat menginfeksi hewan domestik dan manusia dengan tingkat keparahan ringan pada saluran kencing atau saluran genital hingga parah penyakit sistemik. Leptospirosis ditandai dengan demam, kerusakan ginjal, hati, paru, dan kegagalan reproduksi (Quinn, 2011).

Di seluruh dunia, prevalensi leptospirosis hewan dilaporkan antara 2% - 46% tergantung pada spesies hewan (Ricaldi et al. 2006). Lebih dari 15 serogrup *Leptospira* diamati dan diisolasi dari ternak, misalnya, *icterohaemorrhagiae*, *canicola*, *pomona* dan *grippityphosa*, dan lain lain. (Rocha). Seroprevalensi berbagai serovar berbeda di semua negara atau wilayah. *Leptospira bratislava* dan *L. grippityphosa* lebih banyak terjadi di Spanyol pada sapi dengan

gangguan reproduksi (Guitian et al. 2001). Negara-negara Amerika, seperti Venezuela, memiliki prevalensi leptospirosis yang tinggi (80,51%) bersamaan dengan dominasi serovar Sejroe, di Peru selama musim kering insiden yang lebih kecil (2,6%) ketika ada sedikit peluang untuk kelangsungan hidup dan penularan bakteri (Barbosa et al. 2009). Hasil serupa telah diamati pada Kolombia dan Meksiko dengan prevalensi masing-masing 16,4% -60,9% dan 28,4% -52% (Wolff et al. 2013; Fraga et al. 2013). Di India, leptospirosis sapi sangat lazim, yaitu hingga 87% (Adler et al. 2011), 89,9% di Polandia, dan 88,2% di Meksiko. Negara-negara yang lebih memiliki prevalensi rendah, 31,3% di Brasil, 27,4% di Australia, 30,3% di Tanzania, 20,3% di Sri Lanka, dan 19,1% di Iran (Tabel 1). Variasi ini dapat disebabkan oleh perubahan topografi tempat, manajemen peternakan, kekebalan terhadap infeksi masing masing individu, dan kuantitas paparan di lingkungan (Liao et al. 2009). Prevalensi leptospirosis pada sapi dan kerbau di beberapa Negara dijelaskan pada tabel 1.

Tabel 1. Prevalensi leptospirosis pada Tujuan

Country	Year	Diagnostic methods	Specie	Prevalence%
India	1983	—	Cattle	68
	2011	MAT	—	87
Malaysia	1987	MAT	Cattle	40.5
			Buffalo	31
Sri Lanka	2011	MAT	Cattle	20.31
	2014	Nested PCR	Cattle	12.2
Iran	2011	MAT	Cattle	19.10
Pakistan	2018	Indirect ELISA	Cattle	25.52
			Buffalo	20.72
Bangladesh	2015	ELISA	Cattle	47.27

Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui ada tidaknya asosiasi faktor breed, umur dan lokasi kandang dengan kasus leptospirosis peternakan sapi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung, serta menghitung derajat asosiasi masing masing faktor yang berasosiasi.

Materi dan Metode

Bulan agustus 2019, Balai Veteriner Lampung menerima 114 sampel darah sapi dari peternakan sapi untuk dilakukan pengujian Leptospira. pengujian tersebut dilakukan di Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor. Hasil pengujian tersebut disajikan secara deskriptif dan dianalisis menggunakan tools Epi info untuk mengetahui ada tidaknya asosiasi faktor breed, lokasi kandang dan umur terhadap kejadian leptospirosis serta menghitung derajat asosiasi masing masing faktor yang berasosiasi dengan penyakit tersebut. a sapi dan kerbau di beberapa Negara

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengujian laboratorium menunjukan 22 sampel positif leptospirosis, sehingga proporsi kasus adalah 19,2% (22 / 144). Proporsi kasus breed sapi Brahman 13.9%, sapi Brahman cross 1.4%, sapi di kandang shelter 2 11.8%, shelter 1 3.5%, umur lebih dari 4 tahun 25%, umur kurang dari 4 tahun 2.8%. Proporsi kasus berdasarkan breed; sapi Brahman memiliki proporsi lebih besar dibandingkan dengan sapi Brahman cross. Proporsi kasus berdasarkan lokasi kandang sapi; sapi di shelter 2 memiliki proporsi lebih besar dibandingkan dengan shelter 1. Proporsi kasus berdasarkan umur sapi; umur sapi lebih dari 4 tahun memiliki proporsi lebih besar dibandingkan dengan umur kurang dari 4 tahun. Proporsi kasus leptospirosis pada masing masing faktor dijelaskan dalam grafik 1.

Tabel 1. Prevalensi leptospirosis pada Tujuan

Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui ada tidaknya asosiasi faktor breed, umur dan lokasi kandang dengan kasus leptospirosis peternakan sapi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung, serta menghitung derajat asosiasi masing masing faktor yang berasosiasi.

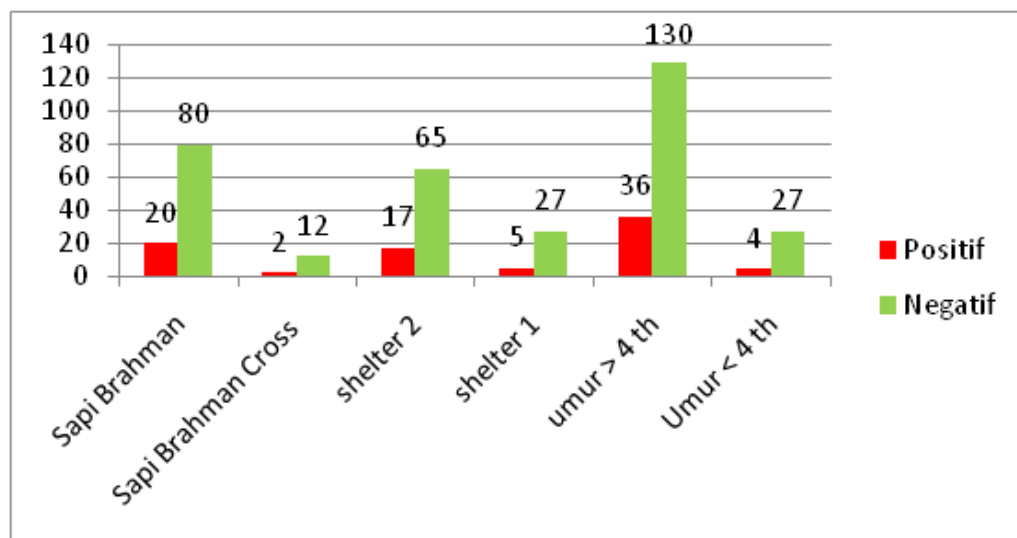
Materi dan Metode

Bulan agustus 2019, Balai Veteriner Lampung menerima 114 sampel darah sapi dari peternakan sapi untuk dilakukan pengujian *Leptospira*. pengujian tersebut dilakukan di Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor. Hasil pengujian tersebut disajikan secara deskriptif dan dianalisis menggunakan tools Epi info untuk mengetahui ada tidaknya asosiasi faktor breed, lokasi kandang dan umur terhadap kejadian leptospirosis serta menghitung derajat asosiasi masing masing faktor yang berasosiasi dengan penyakit tersebut. a sapi dan kerbau di beberapa Negara

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengujian laboratorium menunjukkan 22 sampel positif leptospirosis, sehingga proporsi kasus adalah 19,2% (22 / 144). Proporsi kasus breed sapi Brahman 13.9%, sapi Brahman cross 1.4%, sapi di kandang shelter 2 11.8%, shelter 1 3.5%, umur lebih dari 4 tahun 25%, umur kurang dari 4 tahun 2.8%. Proporsi kasus berdasarkan breed; sapi Brahman memiliki proporsi lebih besar dibandingkan dengan sapi Brahman cross. Proporsi kasus berdasarkan lokasi kandang sapi; sapi di shelter 2 memiliki proporsi lebih besar dibandingkan dengan shelter 1. Proporsi kasus berdasarkan umur sapi; umur sapi lebih dari 4 tahun memiliki proporsi lebih besar dibandingkan dengan umur kurang dari 4 tahun. Proporsi kasus leptospirosis pada masing masing faktor dijelaskan dalam grafik 1.

Grafik 1. Proporsi kasus leptospirosis pada masing masing faktor breed, lokasi kandang, umur



Leptospira dapat hidup berkembang di rawa, sungai, permukaan air, tanah lembab, becek, dan pada temperature yang sedang. *Leptospira* patogen dapat menetap pada tubulus ginjal atau pada saluran kelamin hewan carrier. Penularan tidak langsung dapat melalui kondisi lingkungan tersebut, atau organisme fragil ini sangat mudah menular melalui kontak langsung. Patogenitas *Leptospira* berhubungan dengan virulensi beberapa serovar infeksius dan tergantung dari tingkat kerentanan hospes. Beberapa kasus penyakit yang ditimbulkan bersifat parah pada hospes yang masih berusia muda, namun kejadian penyakit yang serius juga sering terjadi pada hospes incidental. Hingga saat ini masih terbatas informasi terkait faktor virulensi dan mekanisme pathogenesis penyakit. *Leptospira* masuk ke dalam jaringan yang lembab, kulit yang lembut atau melalui membrane mukosa serta dibantu oleh motilitas bakteri ini untuk masuk menginfeksi jaringan.

Hasil pengujian menunjukan 5 sampel *Leptospira gryppotyphosa* pada sapi dengan umur kurang dari empat tahun, *Leptospira tarasovi* 3 sampel dan *Leptospira hardjo* 14 sampel pada sapi umur lebih dari 9 tahun. Sapi merupakan hospes maintainans untuk *L. borgpetersenii* serovar Hardjo, dan hospes yang adaptif meliputi domba dan rusa (Cousins et al., 1989 ; Ayanegui - Alcerreca et al., 2007). *Leptospira interrogans* serovar Hardjo merupakan hospes adaptif pada sapi. *Leptospira interrogans* serovar Hardjo menyebabkan kasus penyakit yang bersifat sporadic, dan lebih virulen daripada *L. borgpetersenii* serovar Hardjo (Ellis et al., 1999). Sapi dara yang rentan, kantung pembesarannya terpisah dan dimasukkan ke dalam populasi sapi laktasi terinfeksi pertama kali pada saat beranak, berkembang menjadi penyakit akut ditandai dengan pyrexia dan agalactia pada semua quarter ambing. Infeksi juga bisa menyebabkan keguguran dan stillbirth. Jika manajemen pemeliharaan tidak memperhatikan paparan infeksi dan pentingnya kekebalan terhadap penyakit ini pada saat umur sebelum kawin, maka tidak akan menimbulkan permasalahan tidak berkembangnya reproduksi. Agalaksia yang disebabkan karena infeksi *Leptospira* dapat dikonfirmasi dengan menunjukkan peningkatan titer antibodi dari sampel serum (Quinn, 2011). Tabel 3 menunjukan Serovar *Leptospira* penyebab leptospirosis pada hewan domestik.

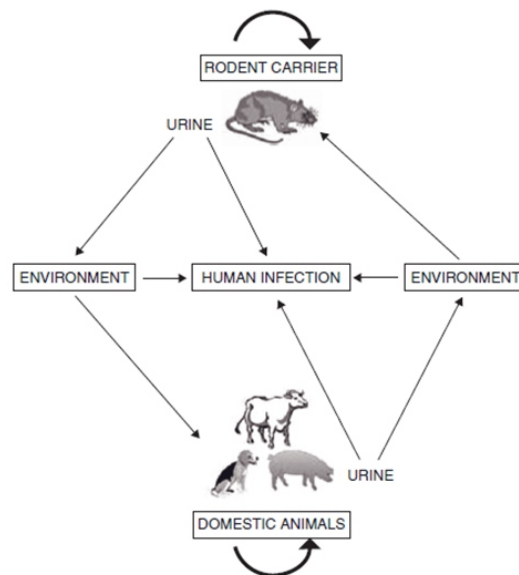
Tabel 3. Serovar *Leptospira* penyebab leptospirosis pada hewan domestik

Serovar	Hosts	Clinical conditions
<i>Leptospira borgpetersenii</i> serovar Hardjo	Cattle, sheep	Abortions, stillbirths, agalactia
<i>L. interrogans</i> serovar Hardjo	Humans	Influenza-like illness; occasionally liver or kidney disease
<i>L. borgpetersenii</i> serovar Tarassovi	Pigs	Reproductive failure, abortions, stillbirths
<i>L. interrogans</i> serovar Bratislava	Pigs, horses, dogs	Reproductive failure, abortions, stillbirths
<i>L. interrogans</i> serovar Canicola	Dogs	Acute nephritis in pups. Chronic renal disease in adult animals
	Pigs	Abortions and stillbirths. Renal disease in young pigs
<i>L. interrogans</i> serovar Grippotyphosa	Cattle, pigs, dogs	Septicaemic disease in young animals; abortion
<i>L. interrogans</i> serovar Icterohaemorrhagiae	Cattle, sheep, pigs	Acute septicaemic disease in calves, piglets and lambs; abortions
	Dogs, humans	Peracute haemorrhagic disease; acute hepatitis with jaundice
<i>L. interrogans</i> serovar Copenhageni	Domestic animals and humans	Peracute and acute disease; abortion in animals
<i>L. interrogans</i> serovar Pomona	Cattle, sheep	Acute haemolytic disease in calves and lambs; abortions
	Pigs	Reproductive failure; septicaemia in piglets
	Horses	Abortions, periodic ophthalmia

Leptospirosis pada sapi meliputi gejala klinis keguguran, stillbirth, dan lahir prematur atau pedet lahir lemah dan telah menyebar di seluruh dunia. Kemajemukan kematian embrio dini berkaitan dengan infeksi oleh serovar Hardjo (either subtype Hardjobovis atau Hardjoprajitno). Keguguran dapat terjadi setelah infeksi serovars Pomona atau Grippotyphosa, tetapi kejadian keguguran bersifat sporadis lebih menciri karena infeksi serovar Hardjo. Keguguran terjadi tanpa gejala klinis sebelumnya, satu atau beberapa minggu (Pomona, Grippotyphosa) atau beberapa bulan (Hardjo), setelah indukan terinfeksi. Keguguran karena serovar Pomona dapat menurun dengan melakukan vaksinasi. Prevalensi pasti kasus penyakit ini belum jelas, beberapa laporan menyebutkan prevalensi 10% hingga 50%, dengan proporsi terbesar adalah infeksi karena serovar Hardjo. Kebanyakan infeksi *Leptospira* bersifat subklinis, sebagian pada betina tidak bunting, dan terutama dideteksi dari titer antibodi. Patogenesis penyakit ini pada sapi tidak terlalu jelas, namun keberadaan *Leptospira* pada uterus dan oviduct oleh serovar Hardjo (Grooms, 2006).

Penanganan dengan antimikroba seperti dihydrostreptomycin atau amoxicillin dapat digunakan untuk mengurangi atau mengeliminasi eksresi *Leptospira* melalui urin. Vaksin inaktif monovalent dan multivalent yang telah tersedia di luar negeri, dianggap tidak efektif. Serovar yang terkandung di dalam vaksin harus sesuai dengan spesies menginfeksi di area tersebut. Infeksi serovar Pomona, Grippotyphosa dan Icterohaemorrhagiae menimbulkan penyakit serius pada pedet atau cempel. Infeksi tersebut menimbulkan pyrexia, haemoglobinuria, jaundice dan anorexia. Kerusakan ginjal ekstensif diikuti dengan anuraemia diakhiri kematian.

Infeksi masuk ke seluruh tubuh melalui peredaran darah, tetapi dengan munculnya antibody pada 10 hari setelah infeksi, bakteri akan hilang dari sirkulasi darah. Beberapa spesies *Leptospira* lainnya akan bertahan dengan respon antibody dan akan tetap bertahan di dalam tubuh yaitu pada tubulus ginjal, uterus, mata atau selaput otak. (Monahan et al., 2009). Siklus hidup *Leptospira* pada hewan domestik dijelaskan gambar 1.



Gambar 1. Siklus hidup *Leptospira* pada hewan domestik

Hasil analisa data menggunakan Epi info menunjukkan tidak ada asosiasi (perbedaan signifikan) antara breed sapi brahman dan sapi brahman cross dengan kasus leptospirosis (P-value 0.7, 95% confidential interval 0.31 – 7.25). Lokasi kandang sapi di shelter 2 dan shelter 1 tidak menunjukkan asosiasi dengan penyakit leptospirosis (P-value 1.41, 95% confidential interval 0.47 – 4.22). Faktor umur sapi lebih dari 4 tahun dan kurang dari 4 tahun tidak menunjukkan asosiasi dengan penyakit (P-value 0.03, 95% confidential interval 0.61 – 5.69). Hasil analisa data menggunakan Epi info asosiasi masing masing faktor dapat dilihat dalam tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisa data menggunakan Epi info asosiasi masing masing faktor

Faktor		Positif	Negatif	Grand Total	Chi Square	P-Value	Odds	95% CI	
Breed	Sapi Brahman	20	80	100	0.26	0.70	1.50	0.31	7.25
	Sapi Brahman Cross	2	12	14					
Pen	shelter 2	17	65	82	0.39	0.70	1.41	0.47	4.22
	shelter 1	5	27	32					
Umur	umur > 4 th	36	130	166	1.25	0.30	1.87	0.61	5.69
	Umur < 4 th	4	27	31					

Masuknya *Leptospira* ke dalam tubuh beberapa hewan domestik melalui membran mukosa atau kulit yang luka. Fase bakteremia bisa terjadi 7 hari setelah infeksi atau lebih. Ketika jumlah *Leptospira* pada jaringan mencapai level puncak, lesi pada jaringan terjadi karena toksin yang dihasilkan *Leptospira* atau komponen seluler toksik. Kerusakan utama yang ditimbulkan adalah lapisan endotelium pembuluh darah, pembuluh darah kecil, ischemia dan menimbulkan nekrosis tubulus ginjal, kerusakan hepatoseluler dan kerusakan paru, meningitis, miyositis, dan placentitis. Beberapa organ dapat mengalami kerusakan karena leptospirosis akut, dan kegagalan multi organ dengan perdarahan dan jaundice pada kasus parah. Pada saat antibody telah muncul pada sirkulasi darah, maka *Leptospira* akan tereliminasi dari sirkulasi darah dan di jaringan melalui proses opsonophagocytosis. Kerusakan jaringan pada kasus yang tidak parah dapat kembali normal mengalami rekondisi jaringan (seperti ginjal dan hati) walaupun pada kerusakan jangka panjang menimbulkan nodul putih "whitespots" (Gyles, 2010).

Kesimpulan

Berdasarkan data data tersebut dapat disimpulkan bahwa breed, lokasi kandang dan umur tidak berasosiasi dengan kejadian leptospirosis di peternakan sapi tersebut.

Daftar Pustaka

- Adler B, Lo M, Seemann T, Murray GL. 2011. Pathogenesis of leptospirosis: The influence of genomics. *Veterinary Microbiology*;153(1-2):73-81
- Andr é, Fontaine , G. 2006 . Canine leptospirosis , dowe have a problem? *Vet. Microbiol.*117:19–24.
- Ayanegui - Alcerreca , M.A. , Wilson , P.R. , Mackintosh , C.G. ,et al. (2007). Leptospirosis in farmed deer in New Zealand:a review .*New Zealand Veterinary Journal*,55, 102–108.
- Bernard , W. 1993 . Leptospirosis . *Vet. Clin.NorthAm. Equine Pract.*9: 435–444.
- Bolin , C. , R. Zuerner , and G. Trueba . 1989 . Effect of vaccination with a pentavalent Leptospiral vaccine containing *Leptospira interrogans* serovar hardjotype harjo - bovis on type hardjo - bovis infection of cattle . *Am.J. Vet. Res.* 50:2004–2008.
- Brown , R. , S. Blumberman , C. Gay , C. Bolin , R. Duby , and C. Baldwin . 2003 . Comparison of three different Leptospiral vaccines for induction of a type 1 immune response to *Leptospira interrogans* serovar Hardjo . *Vaccine* 21 :4448–4458.
- Cousins , D.V. , Ellis , T.M. , Parkinson , J. and McGlashen , C.H.(1989). Evidence for sheep as a maintenance host for *Leptospira interrogans* serovar hardjo . *Veterinary Record* ,124, 123–124.
- Ellis , W. A. 1999. Leptospirosis., In *Diseases of swine* . S. D ' allaire , W. L. , Mengeling , B. E. Straw , and D.J. Taylor (eds.). Ames, IA : Iowa State University Press.
- Fraga TR, Courrol DS, Castiblanco-Valencia MM, Hirata IY, Vasconcellos SA, Juliano L, et al. 2013. Immune evasion by pathogenic leptospira strains: The secretion of proteases that directly cleave complement proteins. *The Journal of Infectious Diseases*;209(6):876-886
- Guitian F, García-Peña F, Oliveira J, Sanjuan M, Yus E. 2001. Serological study of the frequency of leptospiral infections among dairy cows in farms with suboptimal reproductive efficiency in Galicia, Spain. *Veterinary Microbiology*;80(3):275-284
- Grooms , D. 2006 . Reproductive losses caused by bovine viral diarrhea virus and leptospirosis. *Theriogenol.*66: 624–628.
- Gyles, C.L., Prescott, J.F., Songer, G., Thoen, C.O. 2010. *Patogenesis of Bacterial Infection in Animals*. Fourth edition, 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014-8300, USA. Halaman: 325–337
- Liao S, Sun A, Ojcius DM, Wu S, Zhao J, Yan J. 2009. Inactivation of the *fliY* gene encoding a flagellar motor switch protein attenuates mobility and virulence of *Leptospira interrogans* strain Lai. *BMC Microbiology*;9(1):253
- Monahan , A. M. , J. J. Callanan , and J. E. Nally .2008 . Proteomic analysis of *Leptospira interrogans* shed in urine of chronically infected hosts . *Infect. Immun.* 76: 4952–4958.
- Naiman, B. M. , S. Blumberman , D. Alt , C. A. Bolin , R. Brown , R. Zuerner , et al. 2002 . Evaluation of type 1 immune response in naive and vaccinated animals following challenge with *Leptospira interrogans* serovar hardjo: Involvement of WC1+ $\gamma\delta$ and CD4 T Cells. *Infect. Immun.* 70: 6147–6157.
- Quinn, P.J., Markey, B.K., Leonard, F.C., FitzPatrick, E.S., Fanning, S. and Hartigan, P.J. 2011. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*, 2nd edition. Chichester, West Sussex, PO19 8SQ, UK. Hal: 300-308
- Ricaldi JN, Vinetz JM. 2006. Leptospirosis in the tropics and in travelers. *Current Infectious Disease Report*;8(1):51-58
- Wolff DG, Castiblanco-Valencia MM, Abe CM, Monaris D, Morais ZM, Souza GO, et al. 2013. Interaction of leptospira elongation factor Tu with plasminogen and complement factor H: A metabolic leptospiral protein with moonlighting activities. *PLoS One*;8(11):e81818

Identifikasi *Isospora felis* dan *Isospora rivolta* pada kucing Maine Coon

Valinata, S., Sulinawati

Lab. Parasitologi Balai Veteriner Lampung

e-mail : siscavalinata@gmail.com

ABSTRAK

Isosporiasis merupakan penyakit protozoa yang sering ditemukan pada kucing. Isosporiasis ini kurang diperhatikan karena jarang menimbulkan gejalaseperti diare pada kucing dewasa, tetapi pada anak kucing gejala yang sering ditimbulkan adalah diare. Isosporiasis adalah penyakit yang disebabkan oleh parasit dari genus *Isospora* sp. *Isospora* yang menyerang kucing ada dua jenis yaitu *Isospora felis* dan *Isospora rivolta*. Tujuan dari penulisan makalah ini adalah untuk mengidentifikasi *Isospora felis* dan *Isospora rivolta* pada feses kucing. Materi yang digunakan adalah feses kucing maine coon dari arsip feses tahun 2018 di laboratorium parasitologi Balai Veteriner Lampung yang telah diawetkan dengan penambahan formalin 10%. Metode pengujian yang digunakan adalah metode apung. Hasil pemeriksaan preparat ditemukan ookista dari dua jenis *Isospora*. Identifikasi spesies *Isospora* didasarkan pada ukuran dari ookista yang ditemukan. *Isospora felis* memiliki ookista berukuran kisaran $\pm 40 \mu\text{m}$ dan *Isospora rivolta* yang ookistanya berukuran lebih kecil yaitu pada kisaran ukuran $\pm 25 \mu\text{m}$.

Kata kunci : *Isospora felis*, *Isospora rivolta*, *Isosporiasis*, *Feses*, *Kucing*

PENDAHULUAN

Saluran pencernaan kucing dapat terinfeksi beberapa protozoa, pada usus halus yaitu oleh *Giardia felis*, *Cryptosporidium felis*, *Isospora felis* (*Cystoisospora felis*), *Isospora rivolta* (*Cystoisospora rivolta*), *Toxoplasma gondii*, *Hammondia hammondi* dan *Sarcocystis*. Sedangkan pada usus besar dapat terinfeksi *Pentatrichomonas hominis* (Bowman et al., 2003).

Coccidia merupakan protozoa pembentuk sporon yang termasuk ke dalam filum Apicomplexa dan kelas Conoidasida. Parasit ini hidup pada berbagai mamalia, burung, ikan, termasuk manusia. Penyakit yang disebabkan nya disebut *Coccidiosis*. Secara histopatologi, dapat dilihat vili usus mengalami penumpukan. Hal ini dapat mengakibatkan gangguan pada penyerapan, sehingga dapat mengakibatkan diare hebat (Adam et al., 1994) dalam (azmy et al 2015). *Coccidia* terdiri dari genus *Eimeria*, *Isospora*, *Toxoplasma*, *Cryptosporidium* dan *Sarcocystis*. Pada pemeriksaan tinja ditemukan bentuk kista yang dikenal sebagai ookista. Ookista berisi satu, dua, empat atau banyak sporokista (atau tanpa sporokista sama sekali) tergantung dari genusnya dan setiap sporokista berisi satu atau lebih sporozoit, juga tergantung dari genusnya (Levine, 1994).

Parasit saluran pencernaan adalah salah satu masalah umum pada kucing dengan tingkat

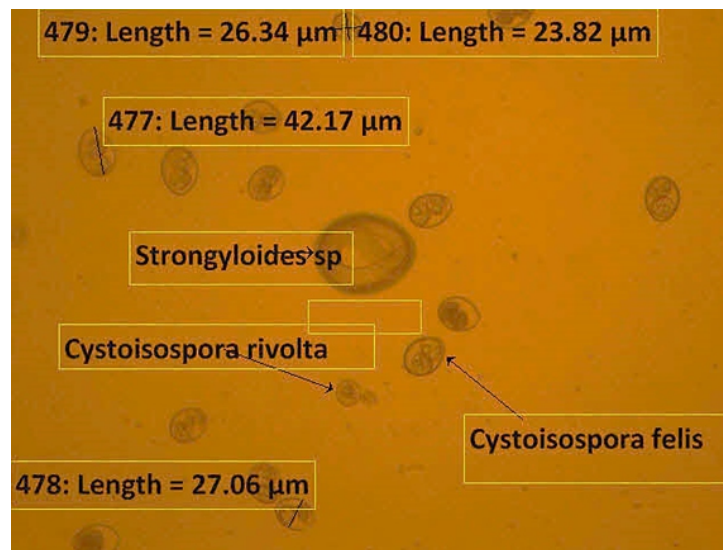
dengan tingkat prevalensi 45 %. Parasit protozoa yang paling sering ditemukan pada kucing adalah *Giardia felis*, *Cryptosporidium felis*, *Sarcocystis* spp, *Hammondia hammondi*, *Toxoplasma gondii*, dan *Isospora*. Tujuan dari pengamatan ini adalah untuk mengidentifikasi jenis protozoa yang ditemukan pada feses kucing Maine coon

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan adalah feses kucing yang telah diawetkan dengan penambahan formalin 10%. Metode yang digunakan adalah metode apung. Feses yang telah diberi pengawet diambil sebanyak 1 gram dan ditambahkan NaCl jenuh, aduk di dalam botol spesimen. Setelah itu, saring dan supernatnya ditampung dalam tabung reaksi. Supernatan yang ditampung disentrifus dengan kecepatan 1000 rpm selama 5 menit. Tabung diberdirikan tegak lurus, kemudian ditambahkan NaCl jenuh hingga permukaan cembung. Larutan didiamkan selama 10 menit hingga ookista mengapung. Kaca preparat ditempelkan pada meniskus cairan, kemudian dibalik dan ditutup dengan gelas penutup selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 100-400 x (Levine, 1973).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pemeriksaan feses ditemukan jenis protozoa. Terdapat dua jenis Isospora yang ditemui yaitu Isospora felis dan Isospora rivolta. Identifikasi spesies Isospora didasarkan pada ukuran dari ookista yang ditemukan. Berikut gambar dibawah ini contoh pengukuran dari Isospora. Berikut dibawah ini adalah gambar Isospora felis dan Isospora rivolta.



Gambar 1. Pengukuran parasit degam mikroskop perbesaran 200x

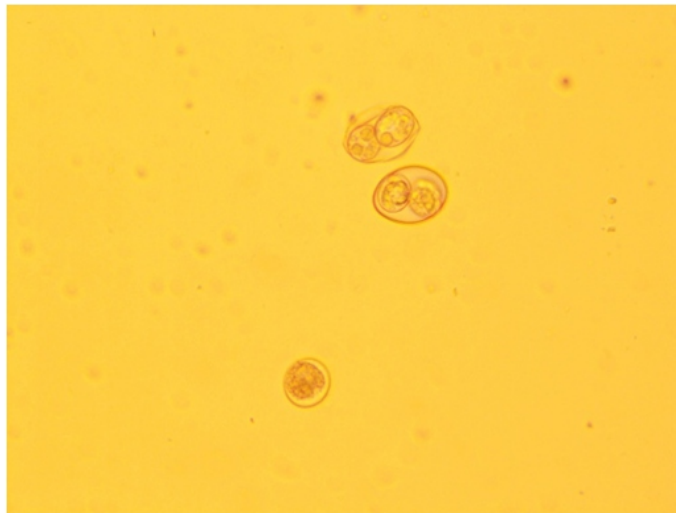
Pada gambar terdapat dua ukuran yang berkisar antara 23-27 μm dan sekitar 42 μm . Berdasarkan ukuran tersebut, protozoa yang masuk adalah jenis Isospora. Terdapat dua jenis Isospora, yaitu Isospora felis dan Isospora rivolta. Isospora felis memiliki ookista berukuran kisaran $\pm 40 \mu\text{m}$ dan Isospora rivoltayang ookistanya berukuran lebih kecil yaitu pada kisaran ukuran $\pm 25 \mu\text{m}$. Berikut di bawah ini adalah tabel yang berisi tentang perbandingan ukuran ookista protozoa berdasarkan spesiesnya.

Tabel 1. Perbandingan ukuran ookista pada saluran pencernaan kucing

Table 1. Comparison of Measurements of Coccidial Oocysts from Cats		
Species	Length (mean)	Width (mean)
<i>I. felis</i>	38 to 51	27 to 39
<i>I. rivolta</i>	18 to 28	16 to 23
<i>T. gondii</i>	11 to 13	11 to 13
<i>H. hammondi</i>	10 to 13	10 to 13
<i>B. darlingi</i>	11 to 13	11 to 13
<i>B. wallacei</i>	16 to 19 (17)	10 to 13 (11)
<i>C. parvum</i>	4 to 5	4 to 5
<i>Sarcocystis</i> ssp.	11 to 14	7 to 9

(Sumber : Bowman, 2003)

Berdasarkan hasil pengukuran dan tabel diatas diketahui bahwa jenis protozoa yang memiliki ukuran 42,17 μm adalah jenis *Isospora felis*, dan yang memiliki ukuran 23-27

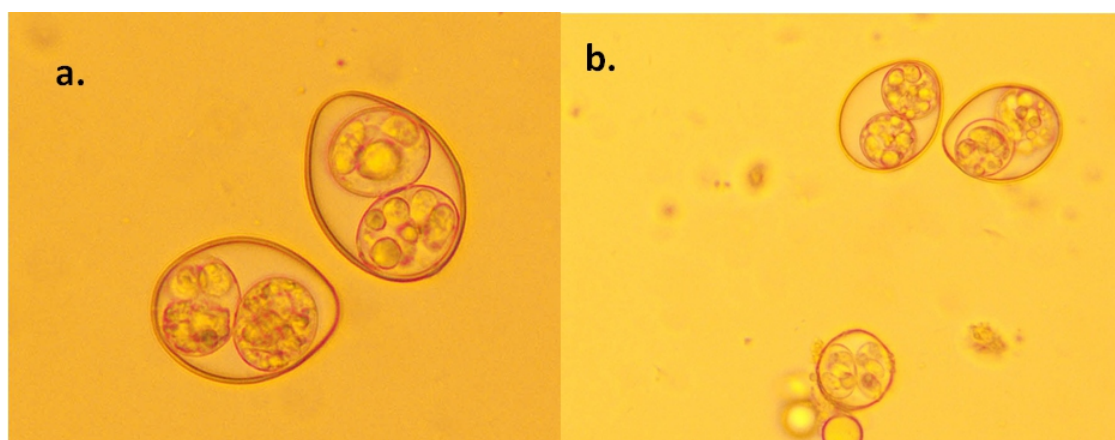


Gambar 2. Perbandingan secara langsung ukuran *Isospora felis* dan *Isospora rivolta*

Ookista *Isospora felis* berbentuk ovoid 32-53x26-43 μm dengandinding licin, kekuningan hingga coklat pucat, dan tanpa mikropil. Badan inklusi dapatdiamati antara sporokista dan dinding ookista pada ookista yang baru dikeluarkan bersamafeses. Sporokista berukuran 20-26x17-22 μm dan mengandung dua residu sporokista danempat sporozoit tetapi tidak memiliki Stieda body. Sporokista residu merupakan granulanmungkin memiliki refraksi. Sporozoit berukuran 10-15 μm panjangnya yang terletak di dalamsporokista, berisi inti tunggal dan globulrefraksi (Taylor, 2007).

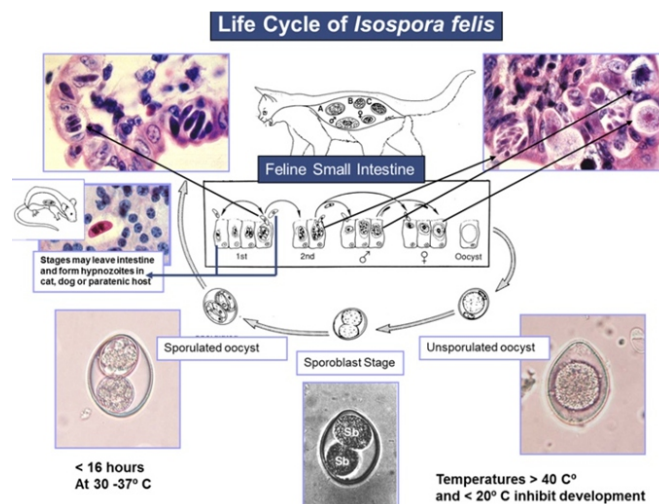
Ookista yang bersporulasi pada *Isospora rivolta* ukuran panjang 23-29 dan lebar 20-26 μm . Rasio panjang dan lebar adalah 1.08. Badan inklusi dapat diamati antara sporont dandinding ookista pada ookista baru dikeluarkan. Badan inklusi yang keluar menjadi ciri bahwaookista telah bersporulasi. Ookista yang bersporulasi mengandung dua sporokista. Sporokistamempunyai ukuran 13-21x10-15 μm dan mengandung residu sporokista dan empat sporozoit

tetapi tidak memiliki Stieda body. Sporokista residum memiliki granular dan mungkinmengandung refractile globules. Sporozoit berukuran panjang 10-14 dan lebar 2,5-3 μm (rata-rata 12,4 x 2,8 μm) dan mengandung inti tunggal terletak di sel tengah dan duarefractile globules (Bowman et al, 2002). Berikut dibawah ini adalah gambar *Isospora felis* dan *Isospora rivolta* yang bersporulasi.



Gambar 3. A). *Isospora felis* yang bersoprulasi, B). *Isospora felis* dan *Isospora rivolta* yang bersporulasi

Isospora felis dan *Isospora rivolta* memiliki kesamaan dalam hal siklus hidup. Perkembangan aseksual terjadi di usus halus dan terkadang terjadi pada caecum dan colon. Siklus hidup I. Felis, Sporozoit keluar di dalam usus halus dan berkembang di enterosit distal vili dari bagian ileum, jarang sekali di bagian duodenum dan jejunum. Meronts generasi pertama yang sudah dewasa memiliki 16 - 17 merozoit diamati pada hari ke 4 setelah infeksi. Meronts generasi kedua yang matang dengan sekitar 10 merozoit diamati sekitar hari ke 5 setelah infeksi. Dan meronts generasi ketiga dengan 36 hingga 70 merozoit pertama kali diamati pada hari ke 6 setelah infeksi. Selanjutnya berkembang menjadi ookista pada hari ke 7. Ookista akan bersporulasi dalam 40 jam pada 20 °C, 24 jam pada suhu 25 °C, 12 jam pada suhu 30 °C dan 8 jam pada 38 °C. Sporulasi tidak terjadi pada suhu di atas 45 °C. (Bowman et al., 2003).



(Sumber : <https://capcvet.org/guidelines/coccidia/>)

Isosporiasis merupakan penyakit protozoa yang sering ditemukan pada kucing. Isosporiasis ini kurang diperhatikan karena jarang menimbulkan gejala pada kucing besar, sedangkan pada anak kucing gejala yang sering ditimbulkan adalah diare (Barchas, 2010). Isosporiasis cukup patogen pada anak kucing berusia Anak kucing berumur empat minggu dapat mengalami enteritis parah, kekurusan, dan bisa mati jika diberikan 1 x 10 ookista. Sedangkan pada kucing usia 6 minggu sampai 13 minggu yang terinfeksi ookisya 1-1,5 X 10⁵ feses akan tampak berlendir. Pengobatan pada kucing diobati dengan berbagai sulfonamid dan quinacrine.

Cara penularan dari protozoa adalah melalui tercemarnya makanan dan minuman kucing oleh stadium infeksi (tropozoit, kista, atau ookista). Lama pengeluaran ookista untuk *Isospora felis* selama 4 minggu (Bowman et al., 2003). Oleh karena itu pentingnya menjaga kebersihan kandang hewan peliharaan, serta pemisahan kandang satu hewan dengan hewan lainnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan identifikasi protozoa yang ditemukan pada feses kucing Manine coon termasuk dalam golongan *Isospora*. Identifikasi spesies *Isospora* didasarkan pada ukuran dari ookista yang ditemukan. *Isospora felis* memiliki ookista berukuran kisaran ±40 µm dan *Isospora rivolta* yang ookistanya berukuran lebih kecil yaitu pada kisaran ukuran ±25 µm.

DAFTAR PUSTAKA

- Andi, A.A, Apsari, I.A.P Ardana, I.B.K.2015. Isolasi dan Identifikasi Oosista Koksidia dari Tanah Di Sekitar Tempat Pembuangan Sampah Di Kota Denpasar. Indonesia Medicus Veterinus 2015 4(2) : 163-169 ISSN : 2301-7848
- Barchas.,E.2010.Coccidia (Isospora) In Cats and dogs. <http://drbarchas.com/coccidia>. [1 Nopember 2019]
- Bowman, D.D., S.C.Bar.,C.M Hendrix dan D.S . Lindsay. 2003. Gastro-intestinal Parasites of Cat.International Veterinary Information Services, Ithaca, New York, USA.
- Companion Animal Prasite Council. 2016. C o c c i d i a f o r cat.<https://capcvet.org/guidelines/coccidia/>. [1 Nopember 2019]
- Cornell Feline Health Center. 2002. Gastrointestinal Parasites of Cat.Cornell University, Collage of Veterinary Medicine. Ithaca, New York
- Levine, N.D. 1973. Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man. Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minnesota
- Lindsay,S., J. P Dubey, dan B.L. Blagburn. 1997. Biology of Isosporaspp. from Humans, Nonhuman Primates, and Domestic Animals.Journal Clinical Microbiology Reviews. Auburn University, Alabama. Vol. 10 No. 1. P. 19-34.
- Taylor MA, Coop RL, Wall RL. 2007. Veterinary Parasitology. Third Edition, Blackwell Publishing. Oxford.

ISOLASI BAKTERI ESCHERCHIA COLI PADA SEKUM AYAM DI TEMPAT PEMOTONGAN UNGGAS PASAR TRADISIONAL SEBAGAI DASAR SURVEILAN RESISTENSI ANTIMIKROBA BALAI VETERINER LAMPUNG

drh. Evarozani, S dan Kuncahyo, WS A.Md
Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner
Email : drh.septianita@gmail.com

ABSTRAK

Escherichia Coli merupakan mikroba normal yang dapat tumbuh pada saluran pencernaan namun dapat bersifat patogen serta mampu menyerang hewan dan manusia pada keadaan tertentu seperti gangguan di dalam pencernaan serta imunosupresi pada host. Dalam kesempatan ini Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Balai Veteriner Lampung melakukan isolasi E. Coli dari sekum segar ayam broiler di TPU pasar tradisional. Sampel di tanam pada media selektif MacConkey Agar yang kemudian dilanjutkan dengan uji konfirmasi secara biokimia indole, uji Methyl Red, uji Voges Proskauer, dan uji Citrat. Dari hasil uji didapatkan sampel positif E. Coli sebanyak 91 (91%). Kegiatan ini merupakan salah satu tahap awal dari serangkaian kegiatan untuk menentukan tingkat resistensi antimikroba pada unggas.

Kata Kunci: E. Coli, Sekum, TPU pasar tradisional

PENDAHULUAN

Dewasa ini E. Coli banyak menarik perhatian para ahli di bidang veteriner, seiring makin sering ditemukannya bakteri E. Coli patogen di lapangan. Bakteri ini merupakan satu spesies bakteri yang tergolong dalam genus Escherichia dan familia Enterobacteriaceae. Bakteri ini bersifat gram negatif, tidak tahan asam dan tidak membentuk spora. Berdasarkan karakter antigenik dari protein strukturalnya dikenal sebagai jenis antigen yaitu antigen somatik (O), antigen kapsula (K), dan antigen flagela (H) (Wibowo dan Wahyuni, 2008).

E. Coli merupakan mikroba normal di dalam saluran pencernaan hewan dan manusia. E. Coli disamping sebagai flora normal juga dapat menyebabkan gangguan pada sistem pencernaan diantaranya disebabkan oleh enteropathogenic E. Coli (EPEC), diffuse adherent E. Coli (DAEC), enterotoxigenic E. Coli (ETEC), enteroaggregative E. Coli (EAEC), enteroinvasive E. Coli (EIEC) dan enterohaemorrhagic E. Coli (EHEC). Anak sapi rentan terhadap infeksi ETEC yang mempunyai antigen fimbriae K99 atau F41 (Baihaqi dkk, 2015).

Tempat Pemotongan Unggas (TPU) adalah fasilitas pemotongan unggas yang tidak memiliki bangunan khusus, dengan kondisi sub-standar (biasanya berada di rumah/tempat tinggal/ pasar), dimana bisa terdapat ayam yang disimpan di dalam

kandang sementara, yang kemudian dilakukan penyembelihan berdasarkan permintaan pembeli atau sesekali menjual unggas hidup (>70% menjual unggas potong dan <30% menjual unggas hidup). Unit sampling yang ditetapkan pada sistem monitoring resistensi antimikroba pada unggas broiler adalah Rumah Potong Unggas/Tempat Pemotongan Unggas/ Tempat Penampungan Unggas, dengan target spesimen berupa sepasang sekum segar yang dikoleksi secara acak dari satu kelompok unggas yang berasal dari satu peternakan. Unit sampling dipilih secara langsung di wilayah kota utama yang berdekatan dengan laboratorium Balai Besar Veteriner/Balai Veteriner di setiap wilayah regional. Asumsi yang digunakan adalah, bahwa tingkat konsumsi di wilayah tersebut tinggi, dengan densitas untuk keberadaan fasilitas Tempat Pemotongan Unggas /Tempat Penampungan Unggas cukup banyak. Pengambilan sampel dilakukan pada saat proses pemotongan dilakukan di setiap sampling unit. Satu ekor broiler dipilih secara acak di tempat pemotongan dengan memastikan asal sumber peternakannya, jika tidak diketahui asal sumber unggas (asal peternakan) maka diambil sepasang sekum. Jika diketahui asal sumber peternakannya, maka sampel sekum diambil dari setiap satu ekor unggas yang berasal dari setiap peternakan yang berbeda. Preparasi sekum dapat dilakukan di tempat pengambilan

contoh atau dapat juga dilakukan di laboratorium terhadap setiap 1 ekor unggas yang dikoleksi (Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner, 2019).

Jika daftar unit sampling yang menjadi target kurang dari 100 unit (kurang dari jumlah target isolat yang diharapkan), maka pengambilan sampel dilakukan berulang dengan interval waktu pengambilan lebih dari 2 minggu sejak pengambilan sampel sebelumnya. Target bakteri untuk monitoring resistensi antimikroba pada unggas broiler adalah *E. Coli* dengan sebagai dasar untuk memantau perkembangan resistensi antimikroba pada unggas broiler di setiap wilayah regional. Pada prinsipnya desain pelaksanaan monitoring ini akan memilih secara acak bakteri *E. Coli* yang ada pada sekum, sehingga peluang setiap isolat menjadi sama.

TUJUAN

Melakukan Isolasi dan identifikasi *Escherchia coli* dari sekum ayam broiler sebagai dasar surveilans resistensi mikroba pada tempat pemotongan unggas di pasar tradisional.

MATERI METODE

Setiap Balai Veteriner melakukan isolasi dan identifikasi bakteri *E. Coli* di laboratorium dengan menggunakan metode pemupukan secara langsung ke dalam media selektif (MacConkey agar), yang kemudian dilanjutkan dengan uji konfirmasi secara biokimia uji indole, uji Methyl Red, uji Voges Proskeur, dan uji Citrat (IMVIC) sesuai dengan metode yang selama ini telah dilakukan di laboratorium. Sampel sekum diinokulasi ke media MacConkey agar secara aseptis, di inkubasi pada suhu 35-37°C selama 24 jam. Koloni *E. Coli* akan berwarna pink pada media MacConkey agar, 3 koloni terpisah yang diduga *E. Coli* diinokulasi pada media MacConkey agar lagi untuk dilakukan pemurnian. Dan dilanjut ke media Eosin Methylene Blue agar. Isolat *E. Coli* yang telah murni kemudian diinokulasi pada media non selektif Nutrient agar. Uji konfirmasi menggunakan uji indole, uji Methyl Red, uji Voges Proskeur, dan uji Citrat.

Setiap isolat yang terkonfirmasi *E. Coli* kemudian disimpan di media nutrient broth yang ditambahkan gliserol 50%, untuk kemudian disimpan di suhu -80°C, atau media nutrient broth ditambahkan gliserol 20%, untuk kemudian disimpan di suhu -20°C, sebelum dikirim ke Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Produk Hewan-Bogor (BPMSPH-Bogor). Pengiriman isolat ke BPMSPH-Bogor menggunakan media Nutrient Agar miring dan dalam suhu 2-4 °C untuk dilakukan uji lanjutan Antimikrobal Resistance (AMR).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total sebanyak 100 sampel dari sekum ayam broiler yang berasal dari Tempat Pemotongan Unggas di Pasar tradisional Kota Bandar Lampung dan Kota Metro dilakukan pengujian isolasi terhadap *E. Coli*, dan diperoleh 91 isolat *E. Coli*. Sampel sekum diperoleh dari pasar-pasar tradisional di wilayah kota Bandar Lampung dan Kota Metro yang memiliki aktifitas pemotongan unggas. Sampel sekum yang diambil harus segar dan maksimal pengambilan sampel sampai dilakukan pengujian tidak lebih dari 4 jam dikarenakan untuk menjaga kesegaran dan kontaminasi. Berikut tabel yang menunjukkan hasil isolat *E. coli* di TPU pasar tradisional di Kota Bandar Lampung dan Kota Metro :

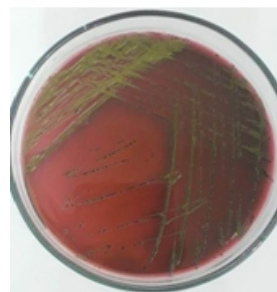
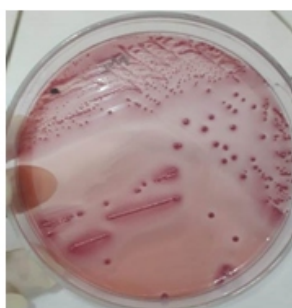
Tabel 1. Hasil isolasi dan identifikasi isolat *E. Coli* dari sekum ayam pada TPU pasar

No	Nama Pasar	Tanggal kunjungan	Jumlah	Hasil	
				Positif	Negatif
1	Pasar Tugu	25 Maret 2019	17	15	2
2	Pasar Smep	25 Maret 2019	5	5	0
3	Pasar Pasir Gintung	12 April 2019	18	13	5
4	Pasar Smep	05 September 2019	16	16	0
5	Pasar Tugu	05 September 2019	9	9	0
6	Pasar Way Kandis	17 September 2019	9	9	0
7	Pasar Panjang	17 September 2019	4	4	0
8	Pasar Way Halim	17 September 2019	2	2	0
9	Pasar Pasir Gintung	25 September 2019	6	5	1
10	Pasar Tugu	25 September 2019	8	7	1
11	Pasar Way Halim	25 September 2019	2	2	0
12	Pasar Imopuro Metro	15 Oktober 2019	8	7	1
TOTAL			100	91	9

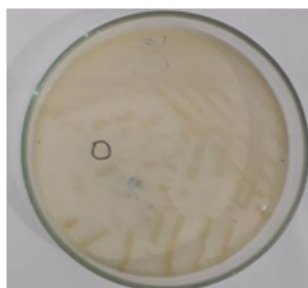
Berdasarkan tabel di atas di dapatkan hasil isolat positif E. Coli sebesar 91% sedangkan hasil negatif sebesar 9%, hal ini menunjukkan bahwa dalam kondisi normal E. Coli terdapat di dalam saluran pencernaan ayam. Menurut Citra dkk (2019), sekitar 10–15 persen dari seluruh E. Coli yang ditemukan di dalam usus ayam yang sehat tergolong serotipe patogen. Bagian usus yang paling banyak mengandung kuman tersebut adalah jejunum, ileum dan sekum. Jenis E. Coli yang terdapat di dalam usus tidak selalu sama dengan jenis yang ditemukan pada jaringan lain.

E. Coli merupakan bakteri yang bersifat komensal yang normal ditemukan pada saluran pencernaan maupun di lingkungan. Bakteri ini menjadi indikator kontaminasi pada pangan. E. Coli memiliki habitat alami di dalam saluran pencernaan manusia dan mamalia lain banyak ditemukan sebagai bakteri resisten terhadap beberapa antibiotik, oleh karenanya perlu menjadi perhatian khusus. Keberadaan E. Coli di dalam saluran pencernaan hanya sekitar 1% dari flora kolon, namun bakteri ini dapat mentransfer materi genetik resisten kepada bakteri lainnya, dan lingkungan usus merupakan lingkungan yang optimal untuk berlangsungnya mekanisme transfer gen (Niasono dkk, 2019).

Sampel sekum segar di ambil dari lapangan segera secara aseptis dibuka dan dengan menggunakan ose steril, ambil sedikit sampel dari kedua sekum kanan dan kiri dan dilakukan streak/ ulasan pada media agar Mc. Conkey, inkubasi pada inkubator suhu 37°C selama 24 jam. Koloni E. Coli akan berwarna pink pada media agar Mc. Conkey, 3 koloni terpisah yang diduga E. Coli diinokulasi pada 3 media agar Mc. Conkey lagi untuk dilakukan pemurnian. Dilanjut ke media Eosin Methylene Blue agar. Hasil positif akan menunjukkan koloni berwarna hijau metalik. Koloni hijau metalik yang tumbuh pada media Eosin Methylene Blue agar dapat diduga koloni tersebut adalah *Escherichia coli*. Bakteri tersebut membentuk koloni metalik dikarenakan adanya reaksi antara bakteri dengan Methylene Blue (Katicasari dkk, 2019). Hasil E. coli yang tumbuh pada media agar ditunjukkan pada gambar berikut:



Gambar 1. E. Coli pada agar Mc. Conkey Gambar 2. E. Coli pada agar EMB



Gambar 3. E. Coli pada agar Nutrient

Isolat E. Coli yang telah murni kemudian diinokulasi pada media non selektif Nutrient agar. Uji konfirmasi menggunakan uji IMVIC. Uji Indol yang dilakukan menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin indol berwarna merah muda setelah ditetesi reagen Kovacs dan terdapat 4 sampel yang tidak menunjukkan reaksi cincin berwarna merah muda. Hasil pengamatan untuk uji Methyl Red pada isolat bakteri E. Coli adalah positif yang ditunjukkan dengan larutan berwarna merah ataupun orange sedangkan kuning berarti negatif. Hasil yang didapatkan dari 100 sampel yang di uji menunjukkan 91 sampel positif. Uji Voges Proskauer (VP) negatif untuk E.

Colikarena bakteri ini memfermentasikan karbohidrat menjadi produk asam dan tidak menghasilkan produk netral seperti asetonin. Pada 100 sampel yang diuji didapatkan hasil negatif dimana tidak ada perubahan warna media dari kuning menjadi pink sampai merah. Hasil pengamatan untuk uji sitrat adalah positif pada E. Colikarena bakteri ini tidak memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon yang ditunjukkan tidak adanya perubahan warna pada media uji sitrat. Berikut gambar yang menunjukkan hasil pada uji IMVIC :



Gambar 4. Hasil uji IMVIC

Setiap isolat yang terkonfirmasi E. Coli disimpan di media nutrient broth ditambahkan gliserol 20%, untuk kemudian disimpan di suhu -20°C, sebelum dikirim ke BPMSPH-Bogor. Pengiriman isolat E.Coli ke BPMSPH-Bogor menggunakan media NA agar miring dan dalam suhu 2-4 °C untuk dilakukan uji lanjutan Antimikrobia Resistance (AMR). Sampel dikirim via darat dan dijaga suhunya agar isolat tetap hidup.

KESIMPULAN

Sebanyak 100 sampel sekum dari ayam broiler yang berasal dari TPU pasar tradisional dan diperoleh isolat positif E. Coli 91 (91%) sebagai dasar surveilans resistensi mikroba. Isolatan dilanjutkan dengan uji AMR yang dapat menunjukkan hasil apakah bakteri tersebut masih tahan terhadap antibiotik atau sudah resisten.

SARAN

Perlunya koordinasi dengan pihak dinaskhususnya petugas pasar pendampingan dengan pedagang unggas terutama jadwal pemotongan unggas agar sampel yang didapatkan sesuai target baik kualitas maupun kuantitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Baihaqi, dkk. 2015. Isolasi dan Identifikasi Escherchia Coli O157 : H7 pada sapi Bali di Abiansema Badung Bali. Medicus Veterinus Bali. Bali
- Citra, dkk. 2019. Organ Pencernaan dan Status E. Coli Usus Puyuh yang Diberi Tepung Deffated Maggot (Hermetia Illucens) Sebagai Pengganti Meat Bone Meal. Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI). Bogor
- Kartika dkk. 2019. Isolasi dan Identifikasi Bakteri E. Coli Kontaminan pada Daging Ayam Broiler di Rumah Potong Ayam Kabupaten Lamongan. Jurnal Medik Veteriner Surabaya
- Niasono dkk. 2016. Resistensi Antibiotik Terhadap Bakteri E. Coli yang Diisolasi dari Peternakan Ayam Pedaging di Kabupaten Subang Jawa Barat. Subang
- Pedoman Surveilans Resistensi Antimikroba Nasional Tahun 2019. Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian
- Wibowo dan Wahyuni, 2008. Study Patogenesis E. Coli Isolat Unggas Pada Ayam Pedaging Umur 15 Hari. Jurnal Veteriner. Yogyakarta

Optimasi Pengujian African Swine Fever di Laboratorium Balai Veteriner Lampung

Anggy, F. P¹ dan Srihanto, E. A¹

¹ Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung

Email : fransiskapanasea@gmail.com

ABSTRAK

African Swine Fever (ASF) merupakan penyakit viral sangat menular (high contagious) yang menyerang babi domestik maupun babi liar. Penyakit ini disebabkan oleh virus DNA yang termasuk dalam keluarga virus Asfarviridae. Penyakit ASF dapat menimbulkan kerugian yang sangat tinggi bagi peternak babi dikarenakan memiliki tingkat mortalitas hingga 100% dan penyebarannya yang sangat cepat. Salah satu strategi penanggulangan penyakit ASF yaitu dengan deteksi dini penyakit. Oleh karena itu, Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung melakukan optimasi pengujian Real-Time PCR atau Quantitatif PCR (qRT-PCR) untuk deteksi penyakit ASF. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui suhu dan waktu yang dibutuhkan dari tiap fase qRT-PCR untuk mendeteksi penyakit ASF. Materi yang digunakan yaitu sequence primer forward AGTTATGGGAAACCCGACCC, sequence primer reverse CCCTGAATCGGAGCATCCT, kontrol positif sintetik dengan konsentrasi 1:10000 (10⁻⁴), 1:100000 (10⁻⁵), 1:1000000 (10⁻⁶) dan 1:10000000 (10⁻⁷) dan PCR kit dari DyNAmo ColorFlash Probe qPCR Kit (Thermo Scientific). Metode pengujian mengacu pada DyNAmo ColorFlash Probe qPCR Kit (Thermo Scientific). Hasil yang diperoleh suhu dan waktu yang sesuai untuk siklus amplifikasi DNA virus ASF dengan metode real time yaitu initial denaturation (95°C selama 7 menit) sebanyak 1 kali siklus, denaturation (95°C selama 5 detik) dan annealing/extension (60°C selama 30 detik) sebanyak 45 kali siklus. Hasil optimasi yang diperoleh dapat digunakan sebagai prosedur pengujian ASF di Balai Veteriner Lampung. Optimasi menggunakan kit atau pereaksi qRT-PCR lain perlu dilakukan sehingga dapat dibandingkan untuk mengetahui kit yang lebih sensitif dalam mendeteksi virus ASF.

Kata kunci: African Swine Fever, Real-Time PCR

PENDAHULUAN

African Swine Fever (ASF) merupakan penyakit infeksius yang menyerang babi domestik maupun babi liar di segala usia yang disebabkan oleh African Swine Fever Virus (ASFV). Penyakit ini memiliki gejala klinis yang sangat mirip dengan penyakit Chronic Swine Fever (CSF) namun tidak memiliki hubungan dengan virus CSF. Hingga saat ini belum ada vaksin untuk mencegah penularan penyakit ASF. Penyakit ASF merupakan penyakit yang sangat menular serta memiliki angka morbiditas dan mortalitas hingga 100% (Costard et al., 2013).

Penyakit ini terdapat di Afrika, Eropa dan Asia. Penyakit ASF pertama kali terjadi di Eropa pada September 2016 yaitu di Moldova, kemudian pada Juni 2017 terjadi di Republik Czech, diikuti di Romania pada Juli 2017 dan menyebar ke Hungaria dan Bulgaria pada Agustus 2018. Penyakit ini pertama kali dilaporkan di Benua Asia pada Agustus 2018 tepatnya di China, di Mongolia pada Januari 2019, di Vietnam pada Februari 2019, di Kamboja pada Maret 2019 dan di Hong Kong pada Mei 2019 (OIE, 2019).

Tingkat mortalitas yang tinggi menjadi salah satu hal penting yang membuat penyakit ASF harus diperhatikan di Indonesia. Mortalitas yang tinggi dapat menimbulkan dampak kerugian ekonomi yang besar bagi peternak babi di Indonesia. Selain itu, belum adanya vaksin yang efektif untuk mencegah penyakit ASF juga membuat harus dilakukannya deteksi dini terhadap penyakit ASF yang selama ini belum ada di Indonesia untuk mencegah penyebaran penyakit ke berbagai daerah lainnya. Metode yang direkomendasikan oleh OIE (2019) untuk deteksi dini virus ASF pada populasi yang bebas penyakit ASF yaitu dengan Real-Time PCR (qRT-PCR). Oleh karena itu, Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung melakukan optimasi pengujian Real-Time PCR. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui suhu dan waktu yang dibutuhkan dari tiap fase qRT-PCR untuk mendeteksi penyakit ASF sebagai persiapan untuk pengujian deteksi adanya virus ASF dari sampel yang diperoleh di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung.

MATERI DAN METODE

Sequence Primer

Sequence primer yang digunakan dalam optimasi pengujian ini mengikuti primer dari penelitian King et al. (2003). Sequence primer dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Sequence primer

Primer	Sequence Primer
Forward	AGTTATGGGAAACCCGACCC
Reverse	CCCTGAATCGGAGCATCCT

Kontrol Positif

Kontrol positif yang digunakan yaitu kontrol positif sintetis. Kontrol positif sintetis ini merupakan double-stranded DNA yang didesain dengan gBlocks Gene Fragments. Kontrol positif didilusi dengan konsentrasi 1:10000 (10⁻⁴), 1:100000 (10⁻⁵), 1:1000000 (10⁻⁶) dan 1:10000000 (10⁻⁷).

Real-Time Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR)

Uji qRT-PCR dilakukan sesuai dengan prosedur dari DyNAmo ColorFlash Probe qPCR Kit (Thermo Scientific). Secara garis besar, 5 µl sampel berupa kontrol positif sintetis virus ASF digunakan sebagai template dalam 20 µl pereaksi yang mengandung 10 µl 2X master mix with blue dye, 0.8 µl primer forward, 0.8 µl primer reverse, 0.8 µl probe, 0.25 µl 50X ROX passive reference dye dan 4.35 µl nuclease free water.

Uji qRT-PCR dilakukan dengan tiga step yaitu initial denaturation (95°C selama 7 menit) sebanyak 1 kali siklus, denaturation (95°C selama 5 detik) dan annealing/extension (60°C selama 30 detik) sebanyak 45 kali siklus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva yang diperoleh dari proses uji qRT-PCR dianalisis menggunakan nilai threshold sebesar 0.05. Hasil yang diperoleh berupa nilai CT (cycle threshold) dari tiap konsentrasi kontrol positif. Hasil dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji RT-PCR

Kontrol Positif	Hasil Nilai CT
10 ⁻⁴	33.563
10 ⁻⁵	39.046
10 ⁻⁶	Undetermined
10 ⁻⁷	Undetermined

Hasil optimasi pengujian qRT-PCR menggunakan metode berdasarkan DyNAmo ColorFlash Probe qPCR Kit (Thermo Scientific) menunjukkan hasil dapat mendeteksi adanya DNA dari virus ASF hingga pengenceran 10⁻⁵. Nilai CT 33.563 dan 39.046 diartikan bahwa sampel yang diuji positif virus ASF sedangkan nilai CT undetermined diartikan bahwa di sampel yang digunakan tidak ada atau tidak terdeteksi adanya virus ASF.

Siklus qRT-PCR yang digunakan yaitu initial denaturation (95oC selama 7 menit) sebanyak 1 kali siklus, denaturation (95oC selama 5 detik) dan annealing/extension (60oC selama 30 detik) sebanyak 45 kali siklus. Menurut OIE (2019), teknik PCR saat ini sudah dikembangkan, dengan menggunakan primer dari area genome yang dikonservasi, untuk mendeteksi dan mengidentifikasi berbagai isolat milik semua genotip virus yang dikenal. Teknik PCR telah terbukti berguna untuk mengidentifikasi DNA virus dari jaringan babi yang tidak dapat digunakan untuk isolasi virus atau deteksi antigen karena jaringan tersebut mengalami pembusukan. Sensitivitas dan spesifisitas teknik PCR membuat teknik PCR menjadi metode yang direkomendasikan untuk screening atau konfirmasi dari kasus yang diduga penyakit ASF.

Umumnya, metode qRT-PCR didasarkan pada deteksi fluoresens yang dihasilkan oleh molekul reporter yang mengikat double-stranded DNA yang meningkat sebagai hasil reaksi. Sinyal fluoresens akan meningkat seiring dengan bertambahnya jumlah rantai DNA dalam reaksi. Reaksi selama fase eksponensial dapat dipantau dengan mencatat jumlah emisi fluoresens pada setiap siklus. Peningkatan hasil amplifikasi PCR pada fase eksponensial berhubungan dengan jumlah inisiasi target gen. Makin tinggi ekspresi target gen maka deteksi emisi fluoresens makin cepat terjadi (Pardal, 2010). Jumlah siklus amplifikasi yang diperlukan untuk mencapai ambang batas disebut CT atau cycle threshold. Nilai CT merupakan titik di mana terjadi perpotongan antara kurva amplifikasi dan garis ambang batas. Nilai CT qRT-PCR sangat berkorelasi dengan kuantitas urutan DNA target (Giglio et al., 2003). Beberapa faktor yang mempengaruhi nilai CT yaitu volume reaksi real time PCR, kesalahan dalam pipetting larutan pereaksi maupun sampel (template), dan konsentrasi DNA / RNA target (Curry et al., 2002).

Agen penyebab penyakit ASF yaitu African Swine Fever Virus yang termasuk dalam keluarga virus Asfarviridae, genus Asfivirus (Dixon et al., 2005). Virus ASF merupakan virus DNA (double-stranded). Gejala klinis yang timbul sangat bervariasi dari perakut, akut, subakut hingga kronis, tergantung dari tingkat virulensi virus. Gejala akut berupa demam tinggi, haemorrhagi di sistem reticuloendotelial dan tingkat kematian yang tinggi. Masa inkubasi virus ASF berkisar antara 4-19 hari. Penyakit akut dikarakterisasikan dengan demam tinggi, kehilangan nafsu makan, haemorrhagi di kulit dan organ dalam serta kematian dalam kurun waktu 4-10 hari. Strain virus dengan virulensi lebih rendah menunjukkan gejala klinis yang ringan seperti demam, nafsu makan berkurang dan depresi yang bersifat umum. Virus dengan virulensi rendah menunjukkan gejala subklinis berupa infeksi non-haemorrhagi tapi pada beberapa hewan dapat menyebabkan lesi di paru-paru atau di kulit di atas tonjolan tulang dan area lain yang mengalami trauma (OIE, 2019).

Penularan ASF dibedakan menjadi tiga siklus utama yaitu siklus sylvatic, siklus tick-pig dan siklus domestik. Siklus sylvatic mengacu pada sirkulasi antara populasi babi liar/babi hutan Afrika dan caplak lunak. Siklus ini dapat dilihat negara Afrika di mana terdapat endemik penyakit ASF dan caplak *Ornithodoros* sp. Siklus tick-pig terjadi di Afrika di mana caplak menginfeksi babi di kandang/peternakan. Siklus domestik merupakan transmisi langsung atau tidak langsung yang terjadi antar babi domestik (Costard et al., 2013).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil optimasi pengujian yang telah dilakukan, suhu dan waktu yang sesuai untuk siklus RT-PCR penyakit ASF yaitu initial denaturation (95oC selama 7 menit) sebanyak 1 kali siklus, denaturation (95oC selama 5 detik) dan annealing/extension (60oC selama 30 detik) sebanyak 45 kali siklus.

SARAN

Perlu dilakukan optimasi menggunakan kit atau pereaksi qRT-PCR lain sehingga dapat dilakukan perbandingan antar kit untuk mengetahui kit yang lebih sensitif dalam mendeteksi virus ASF.

DAFTAR PUSTAKA

Costard S., Mur L., Lubroth J., Sanchez-Viscaino J.M., dan Pfeffer D.U. 2013. Epidemiology Of African Swine Fever Virus. *Virus Res.* 173:191–197

Curry J.D., Cliona McHale, and Martyn T. S. 2002. Factors Influencing Real-Time RT-PCR Results: Application of Real-Time RT-PCR for the Detection of Leukemia Translocations. *Molecular Biology Today*. 3: 79-84

Dixon L.K., Escribano J.M., Martins C., Rock D.L., Salas M.L. & Wilkinson P.J. 2005. In: *Virus Taxonomy, Viiiith Report Of The Ictv*, Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U. & Ball L.A., Eds. Elsevier/Academic Press, London, Uk, 135–143.

Giglio, S., Monis, P.T., dan Saint, C.P. 2003. Demonstration Of Preferential Binding Of SYBR Green I To Specific DNA Fragments In Real Time Multiplex PCR. *Nucleic Acids Res.* 31:136

King D.P., Reid S.M., Hutchings G.H., Grierson S.S., Wilkinson P.J., Dixon L.K., Bastos A.D.S. dan Drew T.W. 2003. Development of ATaqMan® PCR Assay With Internal Amplification Control For The Detection Of African Swine Fever Virus. *J. Virol. Methods* 107:53–61

OIE. 2019. *OIE Terrestrial Manual : African Swine Fever (Infection With African Swine Fever Virus)*

Pardal, S.J. 2010. Menguji Ekspresi Gen Menggunakan Real-Time PCR. *Warta Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*. 32:13-14

Peran Bovine Viral Diarrhea Virus pada Bovine Respiratory Disease Complex pada Peternakan Sapi Import Tahun 2019

Susilo, J., Siswanto, J., Wibowo, B.T., Heni, A.
Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung
Email : joko_sis@yahoo.com

Abstrak

Bovine viral diarrhea virus (BVDV) merupakan salah satu penyakit menular yang paling penting pada peternakan sapi. Bovine respiratory disease complex (BRDC) merupakan penyakit pernafasan pada sapi dewasa dan pedet yang merupakan superinfeksi virus dan bakterial termasuk BVDV. Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan kajian tentang peranan BVDV pada kasus Bovine respiratory disease complex (BRDC) terutama dengan lesi mencari pneumonia granulomatosa. Materi dalam penelitian ini berupa sampel paru pedet yang telah difiksasi dengan buffer neutral formalin 10% pada bulan oktober dan november 2019. Sampel tersebut diproses di laboratorium patologi untuk pewarnaan hematoxyline eosin (HE) dan dilanjutkan dengan pewarnaan immunohistokimia (IHK). Sebanyak 11 sampel paru kiriman dari peternakan sapi potong dan sapi perah import dengan diagnosa morfologi pneumonia complex dilanjutkan pengujian IHK dengan monoclonal antibody terhadap bovine viral diarrhea virus. Sembilan sampel menunjukkan hasil positif IHK terhadap BVDV dan dua sampel lainnya negative. Bovine viral diarrhea virus terdeteksi pada semua pneumonia granulomatosa, sehingga memiliki peranan penting dalam BRDC. Deteksi dini, penanganan dan pencegahan BRDC yang dipengaruhi atau diikuti oleh BVDV harus dilakukan secara terprogram.

Kata kunci: Bovine viral diarrhea virus, Bovine respiratory disease, pneumonia granulomatosa, immunohistokimia

Pendahuluan

Penyakit pernafasan kompleks pada sapi telah diidentifikasi sebagai penyakit menular paling signifikan pada penggemukan dan budidaya sapi di Australia Timur dan di seluruh dunia. Penyakit ini disebabkan oleh beberapa agen penyebab meliputi virus dan bakteri serta kondisi lingkungan yang menjadi faktor predisposisi berkembangnya penyakit pada ternak (Mahony and Horwood, 2007). Agen viral yang menjadipenyakit ini adalah Bovine herpesvirus 1 (Infectious Bovine Rhinotracheitis), bovine viral diare (bovine pestivirus), virus Bovine parainfluenza 3 dan bovine respiratory syncytial virus. Agen bakteri penyebab penyakit ini meliputi Mannheimia haemolytica, Pasteurella multocida, Mycoplasma bovis dan Haemophilus somnus (Ellis, 2001; Booker et al., 2008).

Bovine respiratory diseases menimbulkan kematian yang sangat signifikan dan menyebabkan tingginya eliminasi pedet di feedlot, serta menimbulkan dampak kerugian ekonomi yang sangat besar pada industri peternakan (Griffin, 1997). Penelitian lain menyebutkan bahwa terjadi peningkatan resistensi antibiotik untuk kasus pneumonia sapi feedlot di Canada Barat dan polyarthritis fibrinosa disebabkan oleh Mycoplasma

bovis dan bovine viral diarrhea virus (BVDV) (Nicholas, 2002). Sapi dengan infeksi M. bovis menunjukkan bronchopneumonia chronic dengan nekrosa dan bronchiectasis, yang terkadang diikuti pleuritis fibrinosa (Adegboye, 1996).

Keuntungan teknik IHK dengan metode ini; ikatan antigen-antibodi terwarnai lebih terang, hasil pewarnaan lebih sensitif, lebih sederhana, tidak menghasilkan warna background non spesifik, dan tidak diperlukan blocking terhadap biotin (Meuten, 2017; Taylor, C.R. and Rudbeck, L., 2013). Keuntungan lainnya metode ini mudah, cepat hasilnya, menghemat biaya dan waktu tenaga laboran / teknisi, hasil memuaskan dan uji yang sangat meyakinkan. Pengujian dengan teknik ini membutuhkan standarisasi internasional agar dapat digunakan di seluruh dunia secara seragam. Kelemahan teknik ini adalah biaya reagen yang cukup mahal (Kennedy, 2010). Teknik diagnosa lain yang dikembangkan, meliputi imunohistokimia (IHK), ke depan diharapkan menjadi pengujian standar dan menjadi perangkat diagnostik yang lebih sensitif (Radostits et al., 2007). Penelitian sebelumnya telah menggunakan teknik IHK untuk menentukan agen penyakit penyebab kematian pada sapi penggemukan (Adegboye et al., 1995; Haines et al., 2001; Haines et al., 2004; Shahriar et al., 2002)

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan melakukan kajian tentang peranan BVDV pada kasus Bovine respiratory disease complex (BRDC) terutama dengan lesi mencari pneumonia granulomatosa.

Materi dan Metode

Alat yang digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi yaitu pisau skalpel, inkubator, slide glass, tissue cassette, tissue processor, tissue embedding, mikrotom, waterbath, hot plate, rak pewarnaan, mikroskop binocular (Olympus, Japan). Alat yang digunakan untuk pembuatan preparat imunohistokimia meliputi beaker glass 500 ml, microwave, hot plate 70°C. Peralatan lain yang digunakan kandang kelinci, spuit ukuran 1 ml dan 10 ml, sentrifus, inkubator, magnetic stirrer, gelas beker, laminary airflow, lampu bunzen, ose, tabung reaksi, slide glass dan mikro pipet.

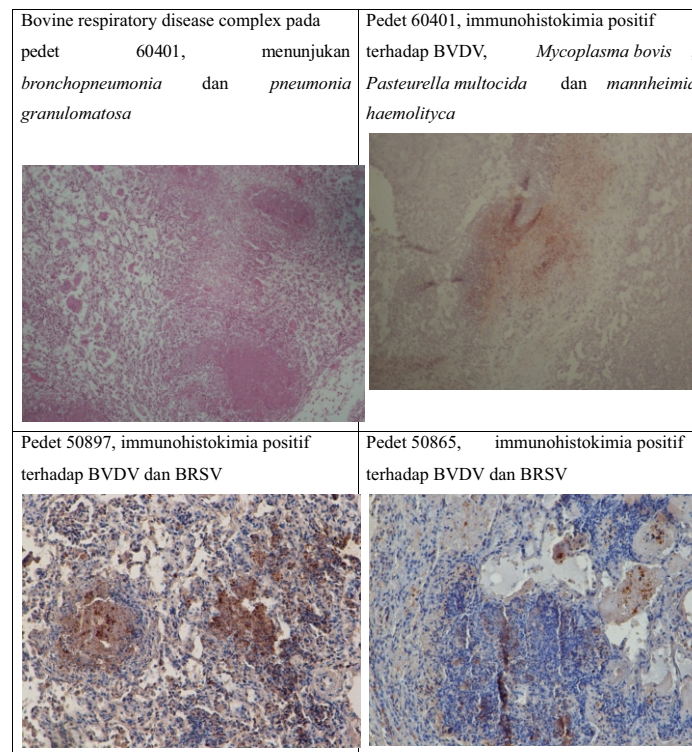
Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah 11 sampel paru pedet dari peternakan sapi potong dan sapi perah import yang diuji di Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung. Bahan untuk membuat preparat histopatologi yaitu buffered neutral formalin 10%, xylol, ethanol bertingkat (70%, 80%, 90% dan absolut), akuades, paraffin cair, pewarna Hematoxilin dan Eosin, entelan, gelas obyek dan gelas penutup. Bahan untuk imunohistokimia yaitu glass slide coated polylisine, antigen retrieval solution (Citrate buffer, pH 6,0), monoclonal antibody terhadap Bovine viral diarrhea. Seperangkat kit IHC Dako Envision®+ Dual Link System-HRP (DAB+) yang terdiri dari dual endogenous enzyme block (0,3% H₂O₂, levamisole dan sodium azide), label polimer-HRP (goat anti mouse dan goat anti rabbit), subtrat buffer (DAB+ subtrat buffer) serta DAB+chromogen.

Pembuatan preparat histopatologi dan imunohistokimia dilakukan sesuai dengan yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya (Susilo, 2017). Teknik pewarnaan imunohistokimia berlabel polimer, slide jaringan dideparafinisasi pada xylene 1, 2, 3 masing masing 5 menit. Rehidrasi dilakukan pada ethanol 100% sebanyak 3 kali masing masing 5 menit. Slide dicuci dengan aquadest 5 menit dilanjutkan 5 menit dalam PBS. Aktivitas endogenous peroxidase dan alkaline phosphatase dihambat dengan endogenous enzyme block yang mengandung 3% H₂O₂ selama 30 menit. Slide dicuci dengan PBS 3 kali masing masing 5 menit. Pembukaan epitope (retrieval antigen) dengan citrat buffer pada microwave sebanyak 2 kali masing masing selama 5 menit. Slide dalam larutan citrat buffer ditunggu sampai dingin, dikeringkan dan jaringan pada slide dilingkari dengan Dako pen. Slide dicuci dengan PBS 3 kali masing masing 5 menit. Slide digenangi dengan monoklonal antibodi terhadap BVDV yang diencerkan dengan dako diluent dengan pengenceran 1: 400 selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian dicuci dengan PBST (0.05% v/v Tween20) 2 kali dan PBS 2 kali masing masing 5 menit. Slide diinkubasi dengan Labelled Polymer-HRP selama 30 menit. Cuci dengan PBST (0.05% v/v Tween20) 2 kali dan PBS 2 kali masing masing 5 menit. Slide diinkubasi pada Subtrat buffer + DAB+ chromogen dengan perbandingan 1ml Subtrat buffer : 20 µl DAB+ chromogen selama 10 menit. Slide dicuci dengan air mengalir 5 menit dan dilakukan counter stain pada hematoxylin selama 2 menit. Slide dicuci dengan air mengalir 5 menit, slide ditetaskan dengan lem DAKO ultramount, ditempatkan pada hot plate suhu 70°C selama 20 menit. Slide dilakukan clearing pada xylene 3 kali masing masing 5 menit diikuti coverslip dan dilakukan pengamatan dengan mikroskop (Taylor, C.R. and Rudbeck, L., 2013).

Hasil dan Pembahasan

Pemeriksaan histopatologi terhadap 11 sampel paru tersebut secara umum menunjukkan perubahan histopatologi pada paru ditemukan granulomatosa dengan sentra granuloma berwarna eosinofilik berbatas jelas oleh jaringan ikat. Septa interlobularis menebal terisi oleh infiltrasi dan/atau

akumulasi netrofil, makrofag, fibrin, dan cairan edema. Perubahan histopatologi dan hasil immunohistokimia sampel paru tersebut ditunjukkan oleh gambar 1.



Pneumonia granulomatosa merupakan indikator terjadi penyakit pernafasan kompleks. Pengujian immunohistokimia terhadap sembilan sampel *Pneumonia granulomatosa*, seluruhnya menunjukkan reaksi positif terhadap BVDV. Dua sampel *Pneumonia granulomatosa* bereaksi positif terhadap BVDV, *Mycoplasma bovis*, *Pasteurella multocida* dan *mannheimia haemolytica*. *Pasteurella multocida* dan *mannheimia haemolytica* merupakan bakteri oportunistik yang ada di saluran pernafasan atas, dan akan bereplikasi ke paru paru jika ada infeksi primer di paru. Tujuh sampel lainnya bereaksi positif terhadap BVDV dan Bovine Respiratory Syncytial Virus, virus yang sering mengikuti kasus BRDC. Hasil pengujian immunohistokimia dijelaskan dalam tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan histopatologi dan immunohistokimia kasus Bovine respiratory disease complex

No	Kode sample	Hewan	Breed	umur	Diagnosa Morfologi	Immunohistokimia
1	60401	Sapi	FH	< 3 bulan	Severe pneumonia granulomatosa	BVD (+), M. b (+), P. m (+), M. h (+)
2	60413	Sapi	FH	< 3 bulan	Severe pneumonia granulomatosa	BVD (+), M. b (+), P. m (+), M. h (+)
3	229	Sapi	fh	3 tahun	severe pneumonia interstitialis	BVD (-), BRSV (-)
4	4589	Sapi	bx	< 3 bulan	severe pneumonia haemoragica	BVD (-), BRSV (-)
5	6264	Sapi	bx	< 3 bulan	Severe pneumonia granulomatosa	BVD (+), BRSV (+)
6	6602	Sapi	bx	< 3 bulan	Severe pneumonia granulomatosa	BVD (+), BRSV (+)
7	7521	Sapi	bx	< 3 bulan	Severe pneumonia granulomatosa	BVD (+), BRSV (+)
8	7748	Sapi	bx	< 3 bulan	Severe pneumonia granulomatosa	BVD (+), BRSV (+)
9	50908	Sapi	FH	2 bulan	Severe pneumonia granulomatosa	BVD (+), BRSV (+)
10	50897	Sapi	FH	2 bulan	Severe pneumonia granulomatosa	BVD (+), BRSV (+)
11	50865	Sapi	FH	2 bulan	Severe pneumonia granulomatosa	BVD (+), BRSV (+)

BRSV = Bovine Respiratory Syncytial Virus
BVD = Bovine viral diarrhoea

P. m = *Pasteurella multocida*
M. h = *Mannheimia haemolytica*

M. b = *Mycoplasma bovis*

Peran BVDV pada bovine respiratory disease telah dijelaskan oleh Olafson, MacCallum dan Fox pada 1946. Di Swedia, outbreak respiratory disease berat melibatkan peran BVDV dan Parainfluenza-3. Laporan dari Amerika Serikat, menyebutkan BVDV merupakan virus yang paling banyak diisolasi dari kasus pneumonia dan pada outbreak BRDC. Penelitian oleh Potgeiter *et al.*, pedet yang diinfeksi BVDV tunggal tidak disertai dengan gejala klinis dan perubahan patologi yang berat, dibandingkan dengan pedet yang diinfeksi dengan BVDV dan *P. haemolytica*. Efek sinergis antara BVDV dan *P. haemolytica*, Bovine Herpes Virus-1 dan Bovine Respiratory Syncytial Virus juga sudah banyak diteliti. Hasil penelitian menunjukkan peran BVDV pada BRDC karena faktor immunosupresive (Farshid, 2002). Pedet yang diinfeksi BVDV dan BHV-1 secara bersamaan menimbulkan penyebaran virus secara sistemik, dibandingkan dengan infeksi tanpa BVDV hanya bersifat lokal di paru. Infeksi BVDV juga berkaitan dengan infeksi *Salmonella*, *E. coli*, bovine eucope stomatitis, rotavirus serta coronavirus.

Penelitian yang dilakukan Shahriar (2002), hubungan antara infeksi virus bovine viral diarrhea dan *M. bovis* telah dijelaskan. Selain itu, koinfeksi *M. bovis* dan *Mannheimia haemolytica* pada kasus pneumonia pedet di feedlot menciri dengan lesi pneumonia fibrinosuppurative. Penelitian lain menyebutkan ada koinfeksi *M. bovis* dengan *Histophilus somni* dan *Pasteurella multocida* pada pedet feedlot (Fulton, 2009).

Peran dari infeksi BVDV akut pada bovine respiratory disease complex tidak terlalu jelas; hasil penelitian yang bervariasi dapat diamati melalui beberapa percobaan penelitian melalui saluran reproduksi dengan menggunakan beberapa strains BVDV yang berbeda terhadap penyakit pernafasan pedet (Baker, 1995). Beberapa strain dapat menyebabkan penyebab primer penyakit pernafasan dan menimbulkan gejala pernafasan ringan pada pedet (Archambault, 2000). Beberapa penelitian menunjukkan adanya peran sinergi BVDV pada bovine respiratory disease complex dengan meningkatnya pathogenesis infeksi viral dan eucopeni; hal ini disebabkan karena efek immunosuppressive BVDV pada hospes (Potgieter, 1997; Richer, 1998; Stott, 1980). Kejadian persistent infeksi dan immunosuppressi pada sapi, meningkatkan kerentanan hospes terhadap infeksi sekunder (Potgieter, 1995).

Infeksi BVDV akan menimbulkan efek langsung pada fungsi sistem kekebalan lokal pada paru. Virus akan memperbanyak diri pada makrofag alveolar sapi. Di dalam makrofag alveolar sapi akan ditemukan BVDV pada kasus infeksi akut pedet, menyebabkan kemampuan fagositosis terhadap eucopen dan ekspresi perangkat pertahanan lain seperti complement receptors (C3R) dan eucopen Fc receptors (FcR) akan menurun secara signifikan jika dibandingkan dengan pedet yang sehat. Infeksi makrofag alveolar menimbulkan BVDV menginfeksi makrofag sehingga memproduksi procoagulant dan terbentuk fibrin (Olchoway *et al.*). meningkatnya pembentukan fibrin pada alveoli menjadikan replikasi infeksi sekunder eucopen menjadi sangat leluasa. Peran terpenting BVDV pada BRDC dengan menekan fungsi sistem kekebalan lokal di paru, sehingga diikuti dengan infeksi sekunder bakteri pathogen.

Mekanisme immunosuppresif melibatkan beberapa aspek sistem kekebalan tubuh. Limfosit dan makrofag menjadi target khusus BVDV. Secara sistematis, infeksi akut oleh BVDV menyebabkan eucopenia dengan deplesi sel lymphoid. Penurunan level CD4⁺ dan CD8⁺ T-lymphocytes, B-lymphocytes dan netrofil juga terjadi. Penelitian secara *in vitro* menyebabkan immunosupresif diikuti penurunan respon infeksi limfosit dalam menstimulasi mitogen, menurunkan produksi interferon, menurunkan interleukin-1, interleukin-2 dan produksi tumor nekrosis factor-alpha dan penurunan respon chemotaksik oleh monosit. Respon

netrofil dari infeksi BVDV dengan melemahnya myeloperoxidase, halide, dan sistem hydrogen peroxide yang bersifat bakterisidal.

Kesimpulan

Bovine viral diarrhea virus memiliki peran utama dalam BRDC. Immunosupresif yang ditimbulkan oleh BVDV memicu infeksi sekunder patogen virus lainnya (BRSV, PI3, Corona virus, Adeno virus) dan agen bacterial lain (*Mycoplasma bovis*, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somnii*, *Archanobacterium pyogenes*)

Saran

Pentingnya dilakukan deteksi reactor BVDV dengan status persistent infection, dilakukan culling, melakukan biosecurity ketat, dan vaksinasi pada sapi breeding. Pengadaan sapi import harus dipersyaratkan bebas penyakit BVDV.

Daftar Pustaka

- Adegboye DS, Halbur PG, Cavanaugh DL, *et al.* 1995. Immunohistochemical and pathological study of *Mycoplasma bovis* associated lung abscesses in calves. *J Vet Diagn Invest* 1995;7:333–337.
- Adegboye DS, Halbur PG, Nutsch RG, Kadlec RG, Rosenbusch RF. 1996. *Mycoplasma bovis*-associated pneumonia and arthritis complicated with pyogranulomatous tenosynovitis in calves. *J Am Vet Med Assoc*;209:647–649.
- Archambault D, Beliveau C, Couture Y, Carman S. 2000. *Clinical response and immunomodulation following experimental challenge of calves with type 2 noncytopathogenic bovine viral diarrhea virus*. *Vet Res*;31:215–27.
- Baker J.C. 1995. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*;11:425–445.
- Baule C, Kulcsar G, Belak K, *et al.* 2001. Pathogenesis of primary respiratory disease induced by isolates from a new genetic cluster of bovine viral diarrhea virus type I. *J Clin Microbiol*;39:146–53.
- Booker, C.W., Abutarbush, S.M., Morely, P.S., Jim, G.K. 2008. Microbiological and histopathological findings in cases of fatal bovine respiratory disease of feedlot cattle in western Canada. *Can. Vet. J.* 49:473–481.
- Ellis, J. A. 2001. The immunology of the bovine respiratory disease complex. *Vet. Clin. Food Anim.* 17:535–549.
- Farshid, M., Shahriar, Edward, G., Clark, Eugene, J., Keith, W., Gary, W. 2002. Coinfection with bovine viral diarrhea virus and *Mycoplasma bovis* in feedlot cattle with chronic pneumonia. *Can Vet J* Volume 43.
- Griffin, D. 1997. Economic impact associated with respiratory disease in beef cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*;13:367–377.
- Gourlay RN, Thomas LH, Wyld SG. 1989. Increased severity of calf pneumonia associated with the appearance of *Mycoplasma bovis* in a rearing herd. *Vet Rec*;124:420–422.
- Haines DM, Martin MK, Clark EG, Kee Jim G. 2001. The immunohistochemical detection of *Mycoplasma bovis* and bovine virus diarrhea virus in tissues of feedlot cattle with chronic unresponsive respiratory disease and/or arthritis. *Can Vet J*;42:857–860.
- Mahony, T.J. and Horwood, P.F. 2007. *Rapid detection of Bovine Respiratory Disease*

- Pathogens*. Meat & Livestock Australia Limited. North Sydney
- Potgieter LND, McCracken MD, Hopkins FM, Walker RD, Guy JS. 1984. Experimental production of bovine respiratory tract disease with bovine viral diarrhea virus. *Am J Vet Res*;45: 1582–1585.
- Potgieter LND. 1997. Bovine respiratory tract disease caused by bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*; 13:471–481.
- Potgieter LND. 1995. Immunology of bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*;11:501–520.
- Richer L, Marios P, Lamontagne L. 1988. Association of bovine viral diarrhea virus with multiple viral infections in bovine respiratory disease outbreaks. *Can Vet J*;29:713–717.
- Stott EJ, Thomas LH, Collins AP, *et al*. 1980. A survey of virus infections of the respiratory tract of cattle and their association with disease. *J Hyg*;85:257–270.
- Rodriguez F, Bryson DG, Ball HJ, Forster F. 1996. Pathological and immunohistochemical studies of natural and experimental *Mycoplasma bovis* pneumonia in calves. *J Comp Pathol*; 115:151–162.
- Susilo, J., Kurniasih, Amanu, S. 2017. *Pengembangan Immunohistokimia untuk Deteksi Pasteurella multocida pada Kasus Pneumonia Enzootika Pedet di Balai Veteriner Lampung*. Thesis, Magister Sain Veteriner UGM Yogyakarta
- Taylor, C.R., Rudbeck, L. 2013. *Immunohistochemical Staining Methods Sixth Edition*. Denmark : Dako Press
- Thomas LH, Howard CJ, Stott EJ, Parsons KR. 1986. *Mycoplasma bovis* infection in gnotobiotic calves and combined infection with respiratory syncytial virus. *Vet Pathol*;23:571–578.
- Haines DM, Martin MK, Clark EG, Kee Jim G. 2001. The immunohistochemical detection of *Mycoplasma bovis* and bovine virus diarrhea virus in tissues of feedlot cattle with chronic unresponsive respiratory disease and/or arthritis. *Can Vet J*;42:857–860.
- Mahony, T.J. and Horwood, P.F. 2007. *Rapid detection of Bovine Respiratory Disease Pathogens*. Meat & Livestock Australia Limited. North Sydney
- Potgieter LND, McCracken MD, Hopkins FM, Walker RD, Guy JS. 1984. Experimental production of bovine respiratory tract disease with bovine viral diarrhea virus. *Am J Vet Res*;45: 1582–1585.
- Potgieter LND. 1997. Bovine respiratory tract disease caused by bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*; 13:471–481.
- Potgieter LND. 1995. Immunology of bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*;11:501–520.
- Richer L, Marios P, Lamontagne L. 1988. Association of bovine viral diarrhea virus with multiple viral infections in bovine respiratory disease outbreaks. *Can Vet J*;29:713–717.
- Stott EJ, Thomas LH, Collins AP, *et al*. 1980. A survey of virus infections of the respiratory tract of cattle and their association with disease. *J Hyg*;85:257–270.
- Rodriguez F, Bryson DG, Ball HJ, Forster F. 1996. Pathological and immunohistochemical studies of natural and experimental *Mycoplasma bovis* pneumonia in calves. *J Comp Pathol*; 115:151–162.

- Susilo, J., Kurniasih, Amanu, S. 2017.
*Pengembangan Immunohistokimia
untuk Deteksi Pasteurella multocida
pada Kasus Pneumonia Enzootika
Pedet di Balai Veteriner Lampung.*
Thesis, Magister Sain Veteriner UGM
Yogyakarta
- Taylor, C.R., Rudbeck, L. 2013.
*Immunohistochemical Staining
Methods Sixth Edition.* Denmark :
Dako Press
- Thomas LH, Howard CJ, Stott EJ, Parsons KR.
1986. *Mycoplasma bovis* infection in
gnotobiotic calves and combined
infection with respiratory syncytial
virus. *Vet Pathol*;23:571–578.

Phylogenetic analysis gen hemagglutinin isolat Avian Influenza subtype H9N2 yang bersirkulasi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung

Srihanto, E.A, Evarosani, S dan Anggy, F.P
Laboratorium Bioteknologi
Email :eko.dvm@yahoo.com

Abstrak

Sejak ditemukan dan diidentifikasi kasus Avian Influenza pertama kali tahun 2004, hingga saat ini virus masih ditemukan dan bersirkulasi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung. Setelah adanya virus Avian Influenza subtype H5N1, tahun 2018 mulai masuk Avian Influenza subtype H9N2 Virus ini digolongkan low pathogenic Avian Influenza (LPAI). Kajian ini bertujuan untuk melihat hubungan kekerabatan virus avian influenza subtype H9N2 yang ada di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung. Materi yang digunakan berupa isolat virus hasil isolasi pada telur ayam bertunas umur 10 hari. Asal sampel diperoleh dari kegiatan survailans yang berasal dari sampel lingkungan dan sampel unggas. Metoda analisis dilakukan dengan melihat jarak genetik, homologi dan hubungan kekerabatan virus Avian Influenza. Analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak MEGA 6.06 yang meliputi prediksi asam amino, homologi, jarak genetik dan pohon kekerabatan. Hasil analisis menunjukkan bahwa isolat virus Avian Influenza subtype H9N2 teridentifikasi termasuk *Y280-like*. Jarak genetik dengan *Y280* sekitar 9,9-10,2% dengan homologi berkisar 89,8-90,1%. *Cleavage site* isolat disusun oleh asam amino RSSR.

Kata kunci : Avian Influenza, low pathogenic,

Pendahuluan

Sejak ditemukan dan diidentifikasi kasus Avian Influenza pertama kali tahun 2004, hingga saat ini virus masih ditemukan dan bersirkulasi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung (Srihanto, 2013). Setelah adanya virus Avian Influenza subtype H5N1, tahun 2018 mulai masuk Avian Influenza subtype H9N2 (Anonymous, 2018). AIV subtype H9N2 di Asia dibagi ke dalam 3 kelompok berdasarkan antigenik dan pohon kekerabatan berdasarkan gen hemagglutinin yaitu A/Chicken/Beijing/1/94 (BJ94) atau the A/Duck/Hong Kong/Y280/97 (Y280), A/Quail/Hong Kong/G1/97 (G1) dan A/Duck/Hong Kong/Y439/97 (Y439) atau A/Chicken/Korea/96323/96 (Guo, et al., 2000). Virus ini digolongkan low pathogenic Avian Influenza (LPAI). Virus kebanyakan ditemukan dan menginfeksi ayam petelur. Virus ini menyebabkan kerugian ekonomis sangat tinggi yang ditandai dengan penurunan produksi telur mencapai 40-60%. Angka kematian yang ditimbulkan lebih rendah dibandingkan dengan infeksi AI subtype H5N1 yang hanya dibawah 10%.

Kegiatan survailans terus dilakukan untuk mendeteksi sirkulasi sebaran virus AI baik yang subtype H5N1 dan subtype lainnya.

Kegiatan ini dilakukan sebagai rangkaian kegiatan menuju bebas AI. Analisis data molekuler dilakukan untuk melihat perkembangan dan jenis virus yang masih bersirkulasi di wilayah kerja Balai Veteriner. Dari hasil kajian yang dilakukan dapat sebagai sumber informasi untuk melakukan program pengendalian dan pencegahan penyebaran penyakit AI terutama subtype H9N2 di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung.

Materi

Penelitian ini menggunakan data hasil sekuensing isolat Avian Influenza. Isolat merupakan hasil isolasi pada telur ayam bertunas (TAB) yang berasal dari sampel lingkungan dan sampel unggas. Isolat yang digunakan sudah dideteksi sebagai Avian Influenza subtype H9N2. Data yang digunakan adalah data sekuens gen hemagglutinin. Proses sekuensing dilakukan di Balai Besar Veteriner Wates.

Metode

Analisis data menggunakan perangkat lunak *molecular evolution genetics analysis* (MEGA) versi 6.06. Analisis sekuens digunakan data fragmen gen HA sebagai materi analisis. Data yang diperoleh berupa nilai jarak genetik (*distance*), nilai homologi dan gambaran pohon kekerabatan virus Avian Influenza. Kalkulasi *distance matrix* digunakan model *p-distance* untuk mendapatkan nilai jarak genetik, homologi, dan asam amino yang mengalami mutasi. Konstruksi pohon kekerabatan dianalisis dengan metode *Neighbord Joining* (Tamura *et al.*, 2011).

Hasil dan Pembahasan

Perbandingan homologi hasil analisis data pada gen HA dari masing-masing isolat terhadap A/Quail/Hong Kong/G1/97 dan A/Duck/Hong Kong/Y280/97 adalah 89,8-90,1% dan 85,4-85,6% (Tabel 1). Hasil analisis nilai homologi ini menunjukkan bahwa isolat yang ada di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung memiliki kedekatan dengan A/Duck/Hong Kong/Y280/97 (Y280-like).

Tabel 1. Nilai jarak genetik dan homologi isolat

Isolat		A/Quail/Hong Kong/G1/97		A/Duck/Hong Kong/Y280/97	
		Jarak genetik	Homologi	Jarak genetik	Homologi
A/env/Ogan Komering Ulu/A031802071	-11/2018	14,4	85,6	10,2	89,8
A/chicken/Lampung Tengah/A031807022	-3/2018	14,6	85,4	9,9	90,1

Analisis asam amino isolat AIV tersebut tergolong ke dalam *low pathogenic avian influenza* (LPAI). Asam amino pada cleavage site disusun oleh *monobasic amino acid* (Suarez, 2008). Pola susunan asam amino dibentuk oleh pola RSSR (Tabel 2). Pola ini sama dengan pola asam amino pada AIV H9N2 A/Quail/Hong Kong/G1/97 (G1-like) atau A/Duck/Hong Kong/Y280/97 (Y280-like) (Huang, *et al.*, 2015).

Tabel 2. Asam amino penyusun *cleavage site*

Isolat	Asam amino cleavage site
A/Quail/Hong Kong/G1/97	RSSR
A/Duck/Hong Kong/Y280/97	RSSR
A/env/Ogan Komering Ulu/A031802071	RSSR
A/chicken/Lampung Tengah/A031807022	RSSR

Keterangan : R (arginine), S (serin)

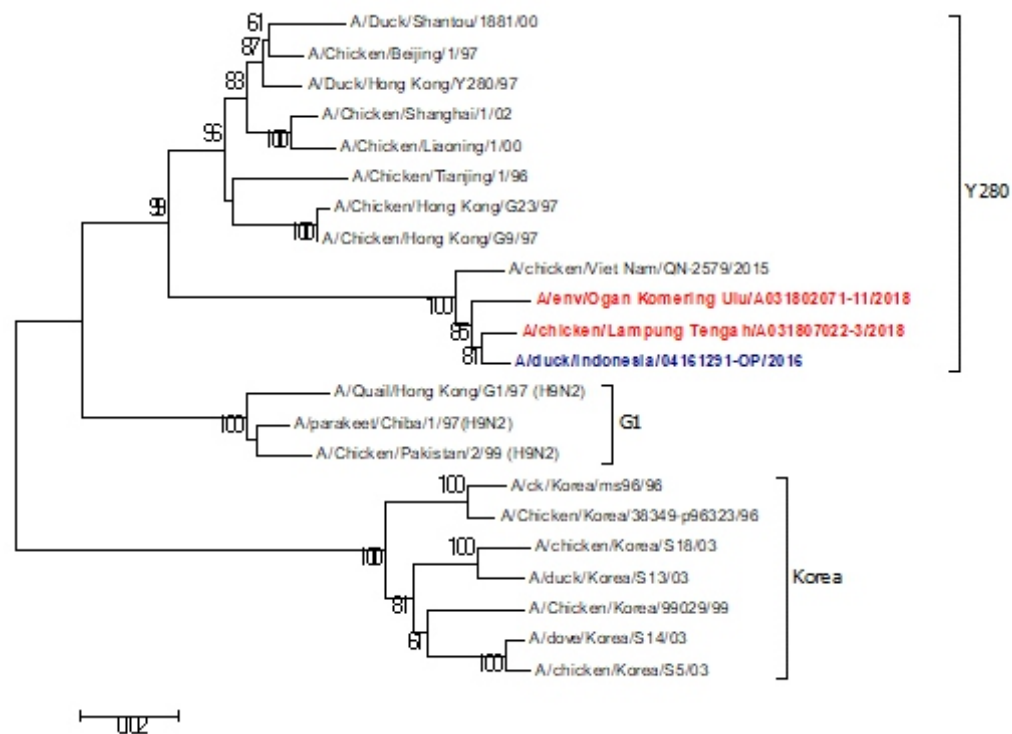
Pada semua isolat yang ditemukan asam amino penyusun N-linked glycosylation (N-X-S/T, dimana X=asam amino lain) di posisi 11-13, 123-125, 280-282, 287-289 dan 295-297 relatif *conserve* (Tabel 3). Pada posisi 200-202 terdapat penambahan glikosilasi. Data tersebut sama seperti penelitian Thui *et al.* (2016), yang menemukan adanya penambahan glikosilasi pada isolat AIV subtype H9N2 di Vietnam. Pola asam amino glikosilasi pada posisi 200-202 disusun oleh NRT.

Tabel 3. Asam amino penyusun *glycosylation site*

Isolat		Asam amino daerah glikosilasi				
		11-13	123-125	280-282	287-289	295-297
A/Quail/Hong Kong/G1/97		NST	NVT	NST	NS	-
A/Duck/Hong Kong/Y280/97		NST	NVS	NTT	NVS	NCS
A/env/Ogan Komering Ulu/A031802071	-11/2018	NST	NVS	NTT	NVS	NCS
A/chicken/Lampung Tengah/A031807022	-3/2018	NST	NVS	NTT	NVS	NCS

Keterangan : N (asparagine), S (serin), T (treonin), V (valin), I (Isoleusin), C (sistein)

Analisis kekerabatan isolat AIV H9N2 yang ditemukan menunjukkan isolat tersebut lebih dekat ke golongan Y280-like (Gambar 1). Penyebaran virus golongan ini banyak di China, Hongkong dan Vietnam. Golongan ini banyak menyebabkan outbreak di peternakan ayam layer pada tahun 2017-2018 di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung. Virus AIV H9N2 sangat berperan penting terhadap reassortmen dengan subtype lainnya seperti H6N1, H6N2 dan H5N1 (Shi et al., 2014; Sun et al., 2010). Seperti di China, virus ini menyumbangkan internal gen ke virus AI lainnya yang mempunyai potensi dapat menular ke manusia (Sun and Liu, 2015). Oleh sebab itu survailan dan laporan cepat adanya kasus harus dilakukan untuk mempercepat identifikasi dan deteksi virus yang ada di lapang.



Gambar 1. Phylogenetic analysis gen HA dari AIV subtype H9N2 yang ditemukan di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung (merah). Nilai bootstrap diatas 60% ditunjukkan pada titik percabangan

Kesimpulan

Isolat AIV subtype H9N2 yang bersirkulasi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung digolongkan ke dalam golongan Y280-like. Nilai jarak genetik berkisar 9,8-10,2% dan homologi berkisar antara 89,8-90,2%. Virus digolongkan sebagai *low pathogenic avian influenza* (LPAI) dengan susunan asam amino RSSR pada *cleavage site*.

Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih kepada Balai Besar Veteriner Wates selaku focal point penyakit Avian Influenza nasional yang telah melakukan proses sekuensing isolat dari Balai Veteriner Lampung

Daftar Pustaka

Anonimus. 2018. Laporan Tahunan Balai Veteriner Lampung, Balai Veteriner Lampung

Guo, Y.J, Krauss, S., Senne, D.A, Mo, I.P, Lo, K.S, and Xiong, X.P. 2000. Characterization of the pathogenicity of members of the newly established H9N2 influenza virus lineages in Asia. *Virology*. 267(2) : 279–88. doi: 10.1006/viro.1999.0115 PMID: 10662623.

Huang Y, Zhang H, Li X, Hu S, Cai L, Sun Q, Li, W., Deng, Z., Xiang, X., Zhang, H. , Li, F. and Gao, L. 2015. Detection and Genetic Characteristics of H9N2 Avian Influenza Viruses from Live Poultry Markets in Hunan Province, China. *PLoS ONE* 10(11): e0142584. doi:10.1371/journal.pone.014258

Shi, W., Li, W., Li, X., Haywood, J., Ma, J., Gao. G.F and Liu, D. 2014. Phylogenetics of varied subtypes of avian influenza viruses in China: potential threat to humans. *Protein Cell* 5:253–257

Sun, Y., Pu, J., Jiang, Z., Guan, T., Xia, Y., Xu, Q., Liu, L., Ma, B., Tian, F. and Brown, E.G. 2010. Genotypic evolution and antigenic drift of H9N2 influenza viruses in China from 1994 to 2008. *Vet Microbiol* 146:215–225

Sun, Y. and Liu, J. 2015. H9N2 influenza virus in China: a cause of concern (review). *Protein Cell* 6(1):18–25

Srihanto, E.A. (2013). ANALISIS GENETIK GEN HEMAGLUTININ VIRUS AVIAN INFLUENZA SUBTIPE H5N1 ISOLAT LAMPUNG TAHUN 2008-2013, **Tesis**, FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS GADJAH MADA, YOGYAKARTA

Suarez, D.L. 2008. Avian Influenza dalam Avian Influenza, Blackwell Publishing Blackwell Publishing Professional 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014, USA: 3-22

Thuy, D.M, Peacock, T.P,Bich, V.T.Ng,, Fabrizio, T., Hoang, D.Ng., Tho, Ng.D.,

Nguyen, M., Hoa, L.Ng.M., Trang, H.T.T., Iqbal, M., Inui, K., Newman, S., vu Trung, Ng., van Doorn, R., To, T.L. and Bryant, J.E. 2016. Prevalence and diversity of H9N2 avian influenza in chickens of Northern Vietnam, 2014. *Infection, Genetics and Evolution*. 44 : 530-540

DISTRIBUSI KEJADIAN KETERLAMBATAN PUBERTAS (DELAYED PUBERTY) PADA SAPI DI PROVINSI KEPULAUAN BANGKA BELITUNG TAHUN 2018

Sunaryanto¹⁾, Guntoro, T²⁾, Farlindungan²⁾

1) Praktisi
2) Laboratorium Epidemiologi

Email: guntoros2_2005@yahoo.co.id

Abstrak

Kerusakan lahan akibat penambangan timah menyebabkan penurunan vegetasi. Terbatasnya vegetasi yang bisa tumbuh pada lahan marjinal khususnya jenis rumput-rumputan menyebabkan terbatasnya pakan ternak yang menyebabkan lambatnya perkembangan dan pertumbuhan badan juga reproduksi sapi. Penelitian ini bertujuan mengetahui distribusi kejadian keterlambatan pubertas (delayed pubertas) di Provinsi Kepulauan Bangka Belitung. Sapi yang masuk kategori keterlambatan pubertas berumur 2 tahun atau lebih belum birahi dan dilakukan pemeriksaan per rektal untuk ketahui ada tidaknya CL (Corpus Luteum). Hasil penelitian ini, 132 ekor sapi dari 462 sapi gangguan reproduksi atau 28,57% mengalami keterlambatan pubertas. Distribusi kejadian keterlambatan pubertas (delayed puberty) tertinggi di kabupaten Belitung timur (31,82%) sistem semi intensive dan terendah di Kota Pangkal Pinang (1,52%) sistem intensive.

Kata kunci: pakan, persilangan, delayed puberty.

Pendahuluan

Provinsi kepulauan bangka belitung merupaka provinsi baru yang terpisah dari provinsi induknya Provinsi Sumatera Selatan pada tahun 2001. Dari segi topografi, kepulauan Bangka belitung sebagian besar berupa dataran rendah, lembah, dan sebagian kecil berupa perbukitan. Secara umum tanah di daerah ini bersifat masam dengan pH di bawah 5. Kandungan mineral yang terbanyak berupa biji timah, kemudian terdapat pasir kuarsa, batu granit, kaolin, dan lain-lain. Dengan makin meluasnya penambangan timah yang kini sebagian besar dilakukan oleh rakyat, maka terjadilah kerusakan lahan. Banyak lahan bekas galian timah yang menjadi cekungan-cekungan berisi air yang tidak beraturan dan tidak dapat dimanfaatkan lagi untuk tanaman. Semakin meningkatnya kerusakan tanah akibat aktivitas penambangan timah membuat vegetasi di sekitarnya perlahan berkurang (Sudjarmiko, 2004).

Pada lahan bekas penambangan timah dilakukan penanaman tanaman penutup tanah berupa kacang-kacangan, legum maupun hijauan pakan yang dapat beradaptasi dengan baik pada

pada kondisi lahan bekas tambang timah, yang nantinya dapat berfungsi untuk mempercepat program penghijauan dan memiliki nilai nutrisi yang baik untuk dijadikan pakan. Setelah rumput tumbuh dengan baik dilakukan pemeliharaan ternak sapi (Hasnelly, et al., 2007).

Dibidang peternakan, populasi ternak ruminansia terutama sapi belum mencukupi untuk keperluan daerah ini. Sepanjang waktu sapi didatangkan dari luar daerah untuk mencukupi kebutuhan daging penduduk. Seperti halnya budidaya tanaman pangan dan sayuran. Penduduk asli Kepulauan Bangka Belitung tidak terbiasa memelihara sapi. Oleh karena itu pekerjaan ini juga hanya dikerjakan oleh para pendatang.

Pubertas adalah periode ketika organ seksual secara fungsional dikembangkan. Pubertas di sapi ditandai dengan ovulasi dan progesteron plasma pertama konsentrasi di atas 1 ng / ml (Evans et al., 1995). Kematangan seksual adalah tahap ketika hewan tersebut mampu mengekspresikan potensi reproduksi yang penuh. Kematangan seksual pada jantan ditandai dengan ejakulasi sperma yang mengandung minimal 50 juta spermatozoa dengan minimal 10% sperma motil

(Wolf et al., 1965). Masa pubertas merupakan hasil dari serangkaian peristiwa kompleks yang terjadi dalam sistem endokrin reproduksi (Foster et al. 1994). Rauwet al. (1998) melaporkan bahwa reproduksi modern dan DNA-teknik dalam program pemuliaan hewan dapat mengakibatkan masalah fisiologis, perilaku, dan imunologi pada hewan. Banyak faktor seperti spesies, potensi genetik, bidang nutrisi, pertumbuhan, berat badan, peran hormon yang berbeda, kesehatan dan kondisi manajemen lainnya memiliki efek langsung atau tidak langsung pada pertumbuhan, pubertas dan kedewasaan seksual pada hewan. Di antara semua faktor, berat badan pada usia dini memiliki peran penting pada kehidupan kinerja saat hewan termasuk produksi dan reproduksi.

Kematangan sapi itu tergantung pada berat badan bukan usia. Tingkat pertumbuhan yang lebih rendah terjadi karena underfeeding atau komposisi pakan tidak seimbang. Berat badan lahir juga mempengaruhi tingkat pertumbuhan dan usia saat pubertas. Banyak faktor genetik dan non-genetik bertanggung jawab untuk pertumbuhan tubuh pada hewan. Faktor genetik bersama dengan nutrisi, hormon, individualitas hewan dan banyak faktor lain menentukan pertumbuhan hewan. Makanan energi tinggi atau diet konsentrat tinggi tidak hanya mengurangi usia kematangan seksual tetapi juga menurunkan jangka waktu untuk mencapai usia calving pertama. Sapi dipelihara pada hijauan musiman dan sisa tanaman yang menghasilkan tingkat pertumbuhan yang buruk dan onset tertunda pubertas (Bhatti et al., 2007). Bobot badan mungkin memiliki pengaruh lebih besar pada masa pubertas (Wiltbank et al., 1966). Sekitar 60 sampai 65% dari berat badan dewasa mungkin standar selama musim kawin dimulai pada sapi (Endecott et al., 2013). Berat badan tertentu memiliki peran dalam pencapaian pubertas (LeMond, 1970) dan berat badan rendah menyebabkan keterlambatan dalam masa pubertas (Maquivar et al., 2006).

Penurunan kesuburan dan sperma, kelangsungan hidup, peningkatan risiko kelainan genetik. keragaman genetik yang berkurang bahwa keturunannya tidak akan mampu beradaptasi dengan perubahan kondisi lingkungan karena kekebalan yang lemah. Provinsi Bangka Belitung merupakan salah satu daerah yang banyak kegiatan penambang timah yang berdampak terhadap ketidaksuburan tanah. Sehingga diperlukan kajian atau penelitian untuk mengidentifikasi dampak yang diakibatkan oleh lingkungan dan juga pola pemeliharaan ternak terhadap kejadian keterlambatan pubertas (delayed puberty).

Tulisan ini bertujuan untuk mengetahui distribusi kejadian keterlambatan pubertas (delayed puberty) serta mengidentifikasi faktor penyebabnya.

Materi dan Metode

Materi

Penelitian ini bersamaan dengan program penanganan gangguan reproduksi UPSUS SIWAB 2018 di Provinsi Kepulauan Bangka Belitung telah dilaksanakan mengikuti Petunjuk Teknis Penanganan Gangguan Reproduksi Kementerian Pertanian. Salah satu kegiatan tersebut adalah pemeriksaan semua sapi dara yang belum birahi/estrus meskipun sudah berumur minimal 2 tahun. Kegiatan tersebut dilaksanakan seluruh kabupaten/kota, yaitu Kabupaten Bangka, Kabupaten Bangka Tengah, Kabupaten Bangka Barat, Kabupaten Bangka Selatan, Kabupaten Belitung Timur, Kabupaten Belitung, Dan Kota Pangkalpinang.

Metode

Penentuan umur sapi dara

Penentuan umur sapi dara dilakukan dengan cara wawancara dengan peternak dan pemeriksaan gigi. Umur 2 tahun ditandai tanggalnya 2 gigi seri susu (sepasang). Pertukaran gigi seri susu dengan gigi seri permanen dimulai dari depan artinya mulai dari S1 sampai dengan S4. Cara pertukaran gigi tersebut adalah sebagai berikut:

1. S1 susu bertukar dengan S1 permanen, umur sapi 1,5-2 tahun.
2. S2 susu bertukar dengan S2 permanen, umur sapi 2,5-3 tahun.
3. S3 susu bertukar dengan S3 permanen, umur sapi 3,5-4 tahun.
4. S4 susu bertukar dengan S4 permanen, umur sapi 4,5-5 tahun.
5. Dasar gigi sama tinggi, umur sapi 5-6 tahun.

Pemeriksaan Eksplorasi Per Rektal

Penentuan sapi sudah pubertas atau belum dilakukan dengan pemeriksaan eksplorasi per rektal. Pubertas sapi ditandai dengan adanya ovulasi dan ditemukan CL (Corpus Luteum) pada pemeriksaan per rektal pada salah satu ovarium. Sapi dengan umur minimal 2 tahun dan belum birahi yang ditandai belum ditemukan CL (Corpus Luteum) pada pemeriksaan per rektal mengalami keterlambatan pubertas (delayed puberty).

Hasil dan Pembahasan

Pelaksanaan pemeriksaan dan penanganan Gangguan Reproduksi SIWAB 2018 mendapatkan hasil gangguan reproduksi sebanyak 132 ekor sapi yang mengalami keterlambatan pubertas (*delayed puberty*) dari total 462 ekor sapi yang terdiagnosa mengalami gangguan reproduksi seperti terlihat pada Tabel 1.

No	Jenis Gangrep	Kabupaten							Jumlah/Kasus
		Bangka	Bangka Barat	Bangka Selatan	Bangka Tengah	Belitung	Belitung Timur	Pangkal Pinang	
1	Anectrus	6						1	7
2	Atrof Ovarium		1	1					2
3	Cervicitis			1					1
4	Corpus Luteum Persisten				2				2
5	Delayed Pubertas	14	7	14	37	16	42	2	132
6	Distokia		1						1
7	Endometritis	7	4	6	26	3		21	67
8	Hipofungsi ovari	27	74	8	75	14	1	18	217
9	Hipoplasia ovari				1				1
10	Metritis		1			1			2
11	Mumifikasi	1	1						2
12	Prolap uteri	1	1						2
13	Prolap Vagina	1							1
14	Retensio Secundinarum	4	2	2		1		1	10
15	Retensio Secundinarum, keguguran	1							1
16	Retensio Secundinarum, Malnutrisi	2							2
17	Silent Heat	2			2				4
18	Sistik Folikuler		1		3			1	5
19	Sistik Luteal	1							1
20	Sistik ovari							2	2
	Jumlah/Kabupaten	67	93	32	146	35	43	46	462

Tabel 1. Jenis gangguan reproduksi, jumlah per kasus gangguan reproduksi, dan jumlah gangguan reproduksi sapi tiap Kabupaten/Kota di Provinsi Kepulauan Bangka Belitung (ISIKHNAS,2018).

Berikut rincian kasus keterlambatan pubertas (*delayed puberty*) di setiap Kabupaten/Kota di provinsi Kepulauan Bangka Belitung disajikan pada Tabel 2.

Kabupaten	Jumlah	Persentase
Bangka	14	10,61%
Bangka Barat	7	530,00%
Bangka Selatan	14	10,61%
Bangka Tengah	37	28,03%
Belitung	16	12,12%
Belitung Timur	42	31,82%
Pangkal Pinang	2	1,52%
Total	132	100%
delayed puberty/	132/	
Total gangrep	462	28,57%

Tabel 2. Rincian jumlah kasus, persentase, dan persentase kasus keterlambatan pubertas dibandingkan dengan total kasus gangguan reproduksi sapi (ISIKHNAS, 2018).

Berdasarkan bangsa sapi yang mengalami keterlambatan pubertas disajikan pada Tabel 3.

No	Bangsa Sapi	Kabupaten							Jumlah
		Bangka	Bangka Barat	Bangka Tengah	Bangka Selatan	Belitung	Belitung Timur	Pangkal Pinang	
	Sapi Bali	14	6	13	32	6	41	2	114
	Sapi PD		1	1		2			4
	Sapi Madura					4			4
	Sapi Semental					4	1		5
	Sapi				5				5
		14	7	14	37	16	42	2	

Tabel 3. Bangsa sapi yang mengalami keterlambatan pubertas (ISIKHNAS, 2018).

Provinsi Kepulauan Bangka Belitung merupakan daerah pertambangan timah. Lahan-lahan bekas pertambangan timah merupakan lahan marjinal yang miskin unsur hara dan susah ditumbuhi tanaman/vegetasi. Lahan marjinal bekas pertambangan timah ini membutuhkan rehabilitasi lahan guna perbaikan struktur tanah agar bisa ditanami kembali. Menurut Hasnelly, *et.al.* (2007), pada lahan bekas penambangan timah dilakukan penanaman tanaman penutup tanah berupa, kacang-kacangan, legum maupun hijauan pakan yang dapat beradaptasi dengan baik pada kondisi lahan bekas tambang timah, yang nantinya dapat berfungsi untuk mempercepat program penghijauan dan memiliki nilai nutrisi yang baik untuk dijadikan pakan. Setelah rumput tumbuh dengan baik dilakukan pemeliharaan ternak sapi. Begitu luasnya lahan marjinal di Provinsi Kepulauan Bangka Belitung tentunya akan bermasalah pada penyediaan hijauan pakan ternak. Tentunya ini akan menyebabkan kekurangan jumlah pakan terutama pada lahan marjinal yang belum dimanfaatkan sebagai lahan pertanian dan perkebunan. Keadaan ini yang menyebabkan ternak yang dipelihara secara semi intensif dan intensif yang dikembangkan petani peternak timbul permasalahan pada pemenuhan pakan ternak dan gangguan reproduksi serta kecepatan pertambahan berat badan. Gangguan reproduksi akibat kurangnya pakan dan nutrisi ternak didominasi kasus hipofungsi ovaria dan keterlambatan pubertas (*delayed pubertas*).

Penentuan sapi pubertas dilakukan dengan pemeriksaan per rektal dengan menemukan adanya CL (*corpus luteum*) yang menandakan sapi yang diperiksa telah birahi dan ovulasi. Umur sapi dikatakan terlambat pubertas menurut Petunjuk Teknis Penanganan Gangguan Reproduksi Kementerian Pertanian Republik Indonesia adalah 2 tahun atau lebih. Penentuan umur sapi dilakukan dengan wawancara riwayat pemeliharaan sapi pada peternak dan pemeriksaan gigi seri susu yang tanggal. Umur 2 tahun atau lebih ditandai dengan gigi seri susu tanggal 2 (sepasang). Berdasarkan data penanganan gangguan reproduksi Provinsi Kepulauan Bangka Belitung kasus keterlambatan pubertas menduduki peringkat kedua dengan jumlah kasus 132 ekor (28,57%) dari jumlah seluruh gangguan reproduksi sebanyak 462 ekor sapi seperti terlihat pada Tabel 1. dan Tabel 2. Angka gangguan reproduksi *delayed puberty* tertinggi di kabupaten Belitung timur (42 ekor) dan terendah di Kota Pangkal Pinang (2 ekor) seperti tersaji pada Tabel 3. Pola pemeliharaan secara intensif dan semi intensif di Provinsi Kepulauan Bangka Belitung yang didominasi oleh tanah marginal dan sistem pertanian dengan tanaman semusim akan berpengaruh pada kasus keterlambatan pubertas sapi yang dipelihara oleh petani peternak. Ketersediaan pakan sepanjang tahun tergantung pada musim dan pola tanam pada lahan pertanian.

Menurut Evans, *et.al.* (1995), Pubertas di sapi ditandai dengan ovulasi dan progesteron plasma pertama konsentrasi di atas 1 ng / ml. Kematangan seksual adalah tahap ketika hewan tersebut mampu mengekspresikan potensi reproduksi yang penuh. Kematangan seksual pada jantan ditandai dengan ejakulasi sperma yang mengandung minimal 50 juta spermatozoa dengan minimal 10% sperma motil (Wolf *et al.*, 1965). Menurut Rauwet, *et.al.* (1998), banyak faktor seperti spesies, potensi genetik, bidang nutrisi, pertumbuhan, berat badan, peran hormon yang berbeda, kesehatan dan kondisi manajemen lainnya memiliki efek langsung atau tidak langsung pada pertumbuhan, pubertas dan kedewasaan seksual pada hewan. Di antara semua faktor, berat badan pada usia dini memiliki peran penting pada kehidupan kinerja saat hewan termasuk produksi dan reproduksi. Kematangan sapi itu tergantung pada berat badan bukan usia. Tingkat pertumbuhan yang lebih rendah terjadi karena *underfeeding* atau komposisi pakan tidak seimbang. Berat badan lahir juga mempengaruhi tingkat pertumbuhan dan usia saat pubertas. Makan energi tinggi atau diet konsentrat tinggi tidak hanya mengurangi usia kematangan seksual tetapi juga menurunkan jangka waktu untuk mencapai usia *calving* pertama. Sapi yang dipelihara pada hijauan musiman dan sisa tanaman yang menghasilkan tingkat pertumbuhan yang buruk dan onset tertunda pubertas (Bhatti *et al.*, 2007).

Ditinjau dari data bangsa sapi yang mengalami keterlambatan pubertas didominasi oleh sapi Bali dengan jumlah 114 sapi dari total 132 sapi yang mengalami keterlambatan pubertas. Sapi Bali yang mengalami keterlambatan pubertas ini pada umumnya sapi Bali yang baru didatangkan dari wilayah Lampung dan Nusa Tenggara, selain sapi Bali yang sudah lama ditenakkan oleh petani peternak dan 14 ekor yang lain merupakan bangsa sapi yang lain baik *purebreed* dan mulai berkembangnya pemeliharaan sapi *crossbreed* hasil inseminasi buatan juga didatangkan dari Lampung. Hasil persilangan tersebut merupakan "terminal cross" (anak hasil persilangan tersebut terutama yang betina tidak digunakan sebagai induk). Karena program IB sudah beberapa tahun dilaksanakan, hampir seluruh betina (belum ada data) yang ada di peternak merupakan sapi persilangan. Karena metode persilangan yang dapat berakibat pada keragaman produktivitas keturunannya, belum dipahami dengan baik oleh peternak dan inseminator. Dampaknya adalah adanya kecenderungan penurunan efisiensi reproduksi dan respon produksi. Sapi silangan hasil IB harus memperoleh cukup pakan dan benar-benar dijaga kesehatannya, sehingga dapat birahi tepat waktu, tidak terjadi birahi tenang (*silent heat*), mudah terjadi konsepsi ketika di-IB, dan kebuntingannya terjaga sampai melahirkan (Anonim, 2014).

Selain faktor ketersediaan pakan, ada faktor lain yang berpengaruh pada keterlambatan pubertas, yaitu faktor perkawinan sedarah atau *inbreeding*. Pola pemeliharaan secara semi intensif memungkinkan terjadinya perkawinan sedarah antara pejantan dan keturunannya, induk dan keturunannya, juga sesama saudara dari perkawinan dari tetua yang sama. Secara umum, perkawinan sedarah hasil dalam keseluruhan menurunkan kinerja seperti efisiensi reproduksi rendah, termasuk tingkat kematian yang lebih tinggi, penurunan tingkat pertumbuhan dimana beberapa hewan dalam ukuran kecil dan lain-lain cenderung pendek dan membuat keuntungan peternak kurang, karena ukuran kecil atau tertunda pertumbuhan hewan.

Keterbatasan

Tulisan ini sangat terbatas datanya sehingga tidak dapat menjelaskan seberapa besar hubungan antara penyebab dan kejadian, hanya identifikasi faktor penyebab berdasarkan teori dan pengalaman.

Kesimpulan

Distribusi kejadian keterlambatan pubertas (*delayed puberty*) tertinggi di kabupaten Belitong timur (31,82%) sistem semi intensive dan terendah di Kota Pangkal Pinang (1,52%) sistem intensive.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2014. Budidaya Sapi Potong Berbasis Agro Ekosistem Perkebunan Kelapa Sawit. Balitbangtan.
- Bhatti, S. A., Sarwar, M., Khan, M. S. and Hussain, S. M. I., (2007). Reducing the age at first calving through nutritional manipulations in dairy buffaloes and cows: A Review. *Pakistan Vet. J.*, **27**: 42-47
- Bichard, Maurice. 2002. Genetic improvement in dairy cattle B an outsiders perspective. *Livestock Production Science*, 75: 1-10.
- Crabtree, J.R. (1967). The effect of age and previous nutrition on voluntary feed intake of roughage-concentrate diets by sheep. *Anim. Prod.*, **9**: 275.
- Da Luz, P. A.C., Andrighetto, C., Santos, P. R.S., Jorge, A., Constantino, M. V. P., Flavia, P., T.V., Mess, A. and Neto, A. C. A. (2012). Daily sperm production and evaluation of morphological reproductive parameters of Murrah buffaloes in an extensive breeding system. *Spermatogenesis* **2**:88-93.
- Das, A., Das, D., Goswami, R.N. and Bhuyan, D. (2004). Growth performance of swamp buffaloes of Assam from birth to 12 months of age. *Buffalo Bull*, 23: 4
- Endecott, R.L., R.N. Funston, J.T. Mulliniks, and A.J. Roberts. (2013). Implications of beef heifer development systems and lifetime productivity. *J. Anim. Sci*, **91**:1329-1335.
- Evans, A.O., Davis, F.J., Nasser, L.F., Bowman, P., Rawlings, N.C. (1995). Differences in early patterns of gonadotrophin secretion between Early and Late Maturing bulls, and changes in semen characteristics at puberty. *Theriogenology*, **43**:569-78.
- Fioretti, M., Rossti, A., Pieramati, C., and Van Vleck Lloyd, D. 2002. Effect of inbreeding coefficients for animal and dam on estimates of genetic parameters and prediction of breeding values for reproductive and growth traits of Piedmontese cattle. *Livestock Production Science*, 74: 137-145.
- Gupta, Shailesh Kumar., Singh, Pawan., Shinde, Kuladip Prakash., Lone, Shabir Ahmad, 2016, Strategies For Attaining Early Puberty in Cattle and Buffalo : A Riview, 37(2)2016 : 160-167.
- Hays, Frank. 1919. Inbreeding Animals. Delaware Agricultural Experiment Station Bulletin No. 123.
- Pariacote, F., L.D. Van Vleck, and M. D. MacNeil. 1998. Effects of Inbreeding and Heterozygosity on Preweaning Traits in a Closed Population of Herefords Under Selection. *Journal of Animal Science*, 76: 1303-1310.
- Smith, L.A, Cassell, B.G. and Pearson, R.E. 1998. The effects of inbreeding on the lifetime performance of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 81, 2729-2737.
- Sudjatmiko, D.P. 2004. Prospek Pengembangan Sapi Potong di Kepulauan Bangka Belitung Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Kep Babel.
- Wakchaure, R., Ganguly, S., 2015, Inbreeding, its Effects and Applications in Animal Genetic and Breeding : A Riview, vol 5.
- Hasnelly., dkk, 20 , Pemanfaatan Lahan Bekas Tambang Timah Melalui Integrasi Tanaman Ternak, Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Kepulauan Bangka Belitung.



Kementerian Pertanian
Balai Veteriner Lampung

Velabo
Buletin Laboratorium Veteriner



FIND US ONLINE

<http://bvetlampung.ditjennak.pertanian.go.id>

