

KEJADIAN PARATUBERKULOSIS (JOHNE'S DISEASE) PADA RUMINANSIA DI INDONESIA PERLU DIWASPADAI

TARMUDJI

Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. R.E. Martadinata No. 30, Bogor 16114

(Makalah diterima 11 April 2007 – Revisi 19 Juni 2007)

ABSTRAK

Paratuberkulosis atau Johne's disease merupakan penyakit infeksius pada ruminansia (sapi, kerbau, domba dan kambing), disebabkan oleh *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP), ditandai dengan manifestasi *enteritis granulomatosa* pada saluran pencernaan (usus halus). Penyakit ini telah menyebar ke seluruh dunia dan menyebabkan kerugian ekonomi yang besar pada industri peternakan. Kebanyakan infeksi terjadi sejak neonatal dengan masa inkubasi sangat panjang, beberapa bulan sampai tahunan. Gejala klinik pada stadium akhir berupa diare kronik dan kehilangan berat badan dan gejala tersebut baru muncul setelah sapi berumur 2 sampai 10 tahun. Penularan MAP pada anak sapi umumnya melalui kotoran/feses hewan sakit yang mengandung bakteri, yang menempel pada puting susu induk. Bakteri juga diekskresikan lewat kolostrum dan susu, sehingga menginfeksi anak sapi sejak periode neonatal. Pada pemeriksaan patologi anatomi (PA) terjadi kelainan berupa penebalan dinding usus, lesi *granulomatosa* pada usus dan *limfo-glandula mesenterika* merupakan ciri khas penyakit ini. Paratuberkulosis di Indonesia, pernah dilaporkan terjadi pada sapi perah di Jawa Barat dengan seroprevalensi rendah 1,67% (3/180) dan secara kultur feses 0,55% (1/180). Pada sapi dan kerbau di Sumatera Utara yang diperiksa secara serologik (*Complement Fixation Test/CFT*) mengandung antibodi paratuberkulosis 4% (2/50). Adanya reaktor positif paratuberkulosis pada sapi perah, sapi potong dan kerbau tersebut perlu diwaspadai. Sapi dan kerbau yang terinfeksi MAP bersifat karier, dapat mengeluarkan bakteri tanpa memperlihatkan tanda-tanda sakit sehingga penyakit tersebut sulit dideteksi secara dini.

Kata kunci: Paratuberkulosis (Johne's disease), ruminansia, gejala klinik, Indonesia

ABSTRACT

THE OCCURRENCE OF PARATUBERCULOSIS (JOHNE'S DISEASE) IN RUMINANTS IN INDONESIA MUST BE ANTICIPATED

Paratuberculosis or Johne's disease is an infectious disease in ruminants (cattle, buffalo, sheep and goat) caused by *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP) and characterized by granulomatous enteritis manifestation. The disease occurs worldwide and causes great economic losses on domestic livestock industries. Calves are commonly infected soon after birth, with incubation period of either some months or years. Clinical signs observed from 2 to 10 years old of infected cattle are chronic diarrhea and progressive emaciation. Transmission of MAP to calves can occur by nursing the infected dam or got contaminated by fecal material. The pathogens can also be excreted in colostrum or milk, that is why calf can be infected since neonatal period. Infection in progress leads to cause thickening of the intestinal wall, granulomatous and mesenteric lymphnode, which diffusion lesions in the intestine are characterized by the macroscopical finding. In Indonesia, paratuberculosis had been reported in dairy cattle (in West Java) with seroprevalence of 1.67% (3/180). From the serological positive reactors demonstrated MAP of 0.55% (1/180) by fecal culture examination. Some samples of cattle and buffaloes from North Sumatera were also found positive paratuberculosis antibody against MAP detected by *Complement Fixation Test* (CFT) at average of 4% (2/50). The presence of positive reactors of paratuberculosis in dairy cattle, beef cattle and buffaloes in Indonesia must be anticipated. These animals are carriers and can shed pathogens, although they do not show clinical signs. It is likely that paratuberculosis can not be detected by conventional diagnostic techniques, therefore, sensitive and early diagnosis techniques must be developed.

Key words: Paratuberculosis (Johne's disease), ruminants, clinical signs, Indonesia

PENDAHULUAN

Paratuberkulosis adalah penyakit akibat infeksi *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), umumnya menyerang hewan ruminansia besar dan kecil (sapi perah/sapi potong, kambing, domba), bison,

antelop, rusa dan elk, tetapi jarang terjadi pada babi dan kuda (SMITH, 1998). Penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini, pertama kali ditemukan pada sapi perah oleh Dr. Heinrich A. Johne pada tahun 1895, di Jerman. Selanjutnya penyakit tersebut juga dinamakan Johne's disease (JD), yang hingga saat ini

penyebarannya sudah meluas di berbagai belahan dunia (HOLSTAD *et al.*, 2005).

Di beberapa negara seperti New Zealand, Australia, Inggris dan negara-negara Mediterranean, penyakit ini dikenal sebagai salah satu penyakit menular penting pada industri peternakan sapi dan domba. Di Afrika, paratuberkulosis dilaporkan di sejumlah negara antara lain Sudan, Ethiopia, Kenya, Uganda, Tanzania, Nigeria, Zambia dan Afrika Selatan. (HUCHZERMEYER *et al.*, 1994). Sedangkan di Indonesia, paratuberkulosis termasuk dalam daftar penyakit hewan menular yang perlu diwaspadai (SUPRIATNA, 1998). Kasusnya pernah dilaporkan pada sapi dan kerbau di daerah Sumatera Utara dan Daerah Istimewa Aceh (SETYOWATI *et al.*, 1985/1986) dan pada sapi perah di daerah Jawa Barat (ADJI, 2004).

Di USA, penyakit tersebut dapat menimbulkan kerugian ekonomi pada industri peternakan sekitar 1,5 milyar dollar US per tahun (HARRIS dan BARLETTA, 2001). Survei nasional (tahun 1996), terhadap 31.745 ekor sapi perah, dari 967 kelompok ternak menunjukkan 2,6% sapi dan 21,6% kelompok ternak (dengan uji serologi) positif mengandung titer antibodi terhadap paratuberkulosis. Lebih dari 10% kelompok ternak diafkir, karena positif menunjukkan tanda-tanda klinik paratuberkulosis, sehingga menimbulkan kerugian ekonomi 227 US dollar/ekor sapi/tahun (FARIES *et al.*, 2007).

Gejala spesifik pada sapi berupa kehilangan bobot badan (meskipun nafsu makannya normal), diare, produksi susu menurun. Hewan dapat terinfeksi sebelum umur enam bulan melalui makanan atau susu yang terkontaminasi MAP. Karena perkembangan penyakitnya yang lambat, maka gejala klinik seringkali tidak teramati sampai umur hewan paling sedikit tiga tahun (HUNTLEY *et al.*, 2005). Tanda klinik ini muncul, seringkali dipicu oleh adanya stres seperti beranak atau kepadatan ternak yang tinggi, dsb.

Sapi yang sudah menunjukkan gejala klinik dapat menularkan penyakit melalui fesesnya dan sangat berbahaya bagi hewan sekelompoknya. Karena sapi tersebut dapat menghamburkan (*shedding*) MAP selama 18 bulan sesudah perkembangan gejala kliniknya. Meskipun tidak berkembang biak pada lingkungan, namun MAP dapat hidup dalam tanah dan air selama lebih dari satu tahun, dalam keadaan dingin atau kering. Pada sapi, penyakit ini dapat mengakibatkan enteritis, peradangan usus kecil yang mengakibatkan penebalan dan pelipatan usus hewan yang terinfeksi (FARIES, 2007). Diagnosis penyakit didasarkan pada sejarah penyakit, pemeriksaan klinik dan hasil nekropsis yang diperkuat dengan pemeriksaan laboratorium.

Dalam tulisan ini, dibahas tentang penyakit paratuberkulosis pada sapi yang meliputi: etiologi dan patogenesis, gejala klinik dan gambaran patologik

anatomi dan histopatologi, diagnosis, dampaknya terhadap ekonomi, kesehatan masyarakat, kontrol penyakit, serta kejadiannya di Indonesia.

ETIOLOGI DAN PATOGENESIS

Mycobacterium avium subspecies *paratuberculosis* (MAP) adalah bakteri berbentuk batang, tahan asam atau *acid fast bacilli* (AFB), berukuran kecil (0,5 – 1,5 mikron) dan membentuk kelompok (3 atau lebih bacilli) (OIE, 2004). Bakteri yang sering disingkat *M. paratuberculosis* atau disebut *M. johnei* ini, secara genetik (99%) masih satu kelompok dengan *Mycobacterium avium*, tetapi berbeda sifat filogenisitasnya (OHIO DAADDL, 2007; BAUMGARTNER dan KOHL, 2006). Antara MAP dan *Mycobacterium avium* subsp. *avium*, mempunyai kesamaan antigenik dan genetiknya, namun berbeda virulensinya pada sapi. MAP dapat menyebabkan infeksi melalui usus pada hewan neonatal atau muda dengan masa inkubasi lama (1 – 3 tahun) dan mengakibatkan gejala penyakit yang berbeda yaitu granuloma enteritis menahun, sehingga dinamakan paratuberkulosis, sedangkan *M. avium* subsp. *avium* hanya menyebabkan infeksi sementara (WEISS *et al.*, 2002). MAP sulit ditumbuhkan pada kondisi laboratorium, untuk pertumbuhannya dibutuhkan kultur yang spesifik (*mycobactin* dari *M. phlei*) dan waktu yang diperlukan sekitar 12 – 16 minggu (MAAS, 1999). Oleh karena itu, dalam diagnosis paratuberkulosis kalau menyatakan hasilnya negatif, harus ditunggu sampai 16 minggu (OLLIS, 1997).

MAP menginfeksi semua jenis sapi (potong dan perah) dan biasanya terjadinya infeksi setelah anak sapi dilahirkan. Anak sapi menelan kotoran induk yang terinfeksi MAP pada periode neonatal. Bakteri MAP dapat diekskresikan lewat air susu induknya dan infeksi dapat juga terjadi sepanjang anak sapi menyusu induk sapi yang terinfeksi MAP. MAP tahan hidup (resisten) lebih dari satu tahun dalam kotoran hewan/pupuk kandang dan air atau pada suhu yang rendah (-14°C) (SMITH, 1998). Dilaporkan oleh OLLIS (1997) bahwa, kotoran hewan terinfeksi dapat mengandung 10.000 sel/gram. Bila seekor sapi mengeluarkan 22.700 g kotoran per hari, maka satu ekor hewan bisa mendeposit 227 juta organisme per hari (SMITH, 1998). Kotoran inilah yang berpotensi sebagai sumber penularan pada anak sapi dan sapi-sapi lainnya. Bakteri MAP yang dikeluarkan oleh setiap individu hewan sangat bervariasi baik antar individu maupun antar kelompok. Hal ini telah dibuktikan dalam penelitian, bahwa pada 768 ekor sapi afkir yang terindikasi paratuberkulosis menunjukkan nilai rata-rata *colony forming unit* (CFU) dari kultur fesesnya, kebanyakan dikategorikan ringan (< 10 CFU/tube, 51,4%) dan tinggi (> 50 CFU/tube, 30,8%) dan selebihnya termasuk

kategori sedang (10 – 50 CFU/tube) (CROSSLEY *et al.*, 2005). Faktor umur anak hewan dan dosis agen infeksi ini sangat menentukan kontinuitas infeksi paratuberkulosis (MAAS, 1999). Anak sapi yang dilahirkan di lingkungan atau kelompok hewan yang nilai CFU nya tinggi, peluang terjadinya infeksi penyakit sangat besar.

Pada kejadian infeksi yang menahun (kronis), bagian distal usus kecil (ileum) merupakan tempat bersarangnya bakteri MAP, dengan demikian pada bagian usus ini terdapat bakteri yang kepadatannya paling tinggi. Lokasi sekunder bersarangnya MAP adalah *limfo-glandula* (LGL) mesenterika, sedangkan sebagai lokasi tersier adalah hati, limpa dan LGL lainnya (JOHNE'S INFORMATION CENTER, 2007). Secara persisten MAP menetap pada ileum dan LGL mesenterika hingga berbulan-bulan, meskipun belum atau sedikit mengeluarkan *mycobacteria* dalam fesesnya dan selama sembilan bulan pertama infeksi, respon antibodi humoral belum dapat dideteksi (WU *et al.*, 2007).

Ileum merupakan target utama MAP, karena pada dinding usus ileum terkandung *Peyer's patches*, yaitu sejumlah kantong-kantong jaringan limfoid, yang cocok untuk perkembangbiakannya. *Peyer's patches* ini merupakan kelompok makrofag dan limfosit yang dilapisi oleh selapis sel penutup yang disebut *M. cells*. *M. cells* berfungsi mengantarkan dan mengenalkan antigen ke makrofag dan limfosit pada tubuh hewan sapi muda dengan lingkungannya agar selanjutnya dapat terbentuk mekanisme protektif guna membantu hewan menjadi imun terhadap patogen. Akan tetapi ketika *M-cells* membawa MAP ke *Peyer's patches*, justru bakteri tersebut menemukan tempat yang ideal untuk pertumbuhannya. Makrofag dalam *Peyer's patches* menangkap MAP dengan maksud menghancurkan benda asing tersebut, namun gagal untuk menjalankan fungsinya. Bahkan sebaliknya, MAP dapat berkembang biak dalam makrofag sampai akhirnya dapat membunuh sel makrofag tersebut. Kemudian bakterinya menyebar dan menginfeksi sel-sel terdekatnya. Dengan demikian dimulai perkembangan bakteri tersebut di dalam sel-sel sekitar *Peyer's patches*, MAP memperbanyak diri selama bertahun-tahun dan menimbulkan lesi granuloma sampai terjadinya gejala klinik (JOHNE'S INFORMATION CENTER, 2007). Sedangkan peneliti lain melaporkan bahwa, MAP merupakan patogen intraseluler fakultatif yang dapat berada dalam makrofag induk semang selama terjadinya infeksi pada hewan ruminansia. Dengan elektron mikroskop telah dibuktikan bahwa, MAP dapat hidup dan berkembang biak di dalam kultur makrofag dan bila kepadatan bakterinya sangat tinggi maka makrofag akan terbunuh. Studi ini telah memberikan pemahaman tentang infeksi MAP ke makrofag dan dampaknya sebagai patogen yang dapat

terus menerus hidup di dalam tubuh sapi selama bertahun-tahun (BANNANTINE dan STABLE, 2002). Hal ini memperkuat laporan sebelumnya, bahwa pada mulanya MAP menembus tonsil dan mukosa usus, kemudian agen infeksius menyebar secara luas ke bagian tubuh lainnya. Namun pada akhirnya, infeksi cenderung menetap dan berlokasi di mukosa usus kecil, LGL terkait dan sangat sedikit yang berlokasi di tonsil atau LGL lainnya. Awalnya, terjadi lesi pada usus yang secara mikroskopik terlihat adanya *Giant cells* secara soliter dan sel-sel epiteloid dengan sedikit AFB. Selanjutnya, terjadi penggabungan sel-sel epiteloid dan berakumulasi di dalam mukosa usus kecil. Seiring dengan lamanya infeksi MAP, maka semakin lama lesi usus juga semakin bertambah luas, sehingga memunculkan gejala klinik diare akibat tidak berfungsinya organ usus secara normal untuk penyerapan nutrisi (PAYNE dan RANKIN, 1961).

GEJALA KLINIK DAN GAMBARAN PATOLOGIK

Gejala klinik

Infeksi MAP terjadi pada periode neonatal (0 – 4 bulan), gejala klinik paratuberkulosis pada sapi biasanya muncul setelah hewan berumur lebih dua tahun. Pada awal infeksi tidak menunjukkan gejala klinik sakit (subklinis). Lebih lanjut dapat terjadi diare secara *intermittent*, kondisi fisik sapi nampak gemuk dan sehat. Namun demikian pada kejadian infeksi yang ekstrim, hewan mengalami edema sub-mandibulla (*bottle jaw*), kelemahan, bulu kasar dan kulit kering. Diare *profuse*, feses cair atau seperti cairan, tidak terjadi demam dan nafsu makannya normal, merupakan ciri khas penyakit ini. Hewan nampak tidak aktif dengan status *cachexia* (Gambar 1). Mortalitas pada hewan dalam satu kelompok yang terinfeksi, biasanya kurang dari 1% per tahun (HUCHZERMEYER *et al.*, 1994).

Sebagian besar kasus klinik paratuberkulosis pada sapi terjadi antara umur 3 – 6 tahun. Sapi muda yang terinfeksi oleh MAP tidak menunjukkan gejala klinik (*silent infection*) seolah-olah seperti hewan yang tidak terinfeksi (BAUMGARTNER dan KOHL, 2006). Sedangkan HUCHZERMEYER *et al.* (1994) menyatakan bahwa, masa inkubasi MAP pada ternak bervariasi, mulai kurang dari 6 bulan sampai lebih dari 15 tahun, tetapi kebanyakan gejala klinik akan mudah terlihat pada umur 3 – 5 tahun. Hewan yang masih di bawah umur dua tahun jarang memperlihatkan gejala klinik, kecuali bila manajemen peternakannya jelek dan tingkat infeksi penyakitnya tinggi.

Kejadian subklinis pada sapi pernah dilaporkan bahwa, sebanyak 45 ekor sapi perah yang diafkir karena paratuberkulosis (infeksi alami), didiagnosis

dengan *interferon gamma immunoassay* (IFN- γ) dan secara serologi, patologi dan bakteriologi, hewan-hewan tersebut belum atau tidak menunjukkan gejala klinik. Namun setelah dilakukan *nekropsi*, empat ekor umur 4 – 9 tahun diantaranya dapat dijumpai adanya lesi enteritis granulomatosa dan ditemukan AFB. Hal ini menunjukkan bahwa, meskipun pada hewan tua dan terinfeksi MAP tidak selalu menampilkan gejala klinik (HOLSTAD *et al.*, 2005).



Gambar 1. Sapi dengan tanda klinis paratuberkulosis (*Johne's disease*): diare dan kurus

Sumber: JOHNE'S INFORMATION CENTER (2007)

Belakangan ini dilaporkan bahwa, lebih dari 90% hewan yang terinfeksi oleh MAP menampilkan diri sepertinya sehat, namun berpotensi menyebarkan MAP melalui fesesnya dan dapat menularkan MAP ke ruminansia lain dalam kelompoknya. Gejala klinik tidak akan terlihat sampai hewan berumur dua hingga beberapa tahun setelah infeksi pertama dan biasanya terjadi segera setelah melahirkan anak pertama atau kedua. Anak sapi atau sapi muda lebih peka terhadap infeksi paratuberkulosis dibandingkan dengan sapi dewasa. Pada beberapa kasus, hewan yang terinfeksi subklinik dapat dideteksi mengandung antibodi spesifik MAP atau positif MAP dari kultur fesesnya (FREDERICK ANIMAL HEALTH DIAGNOSTIC LABORATORY, 2007). Dengan demikian, dalam satu kelompok ternak yang terinfeksi MAP dapat dikategorikan menjadi hewan dengan kasus klinik, *sub-clinical shedders*, *sub-clinical carrier (non shedder)* dan hewan *non infected*. Pada kenyataannya hanya satu atau dua persen yang terungkap dan menunjukkan gejala klinik, tetapi sebenarnya sudah terjadi sekitar 40 – 100% hewan dalam kelompoknya yang terinfeksi oleh MAP. Oleh karena itu, berdasarkan tingkat gejala klinik paratuberkulosis terdiri dari empat stadia (OHIO DAADDL, 2007), yakni:

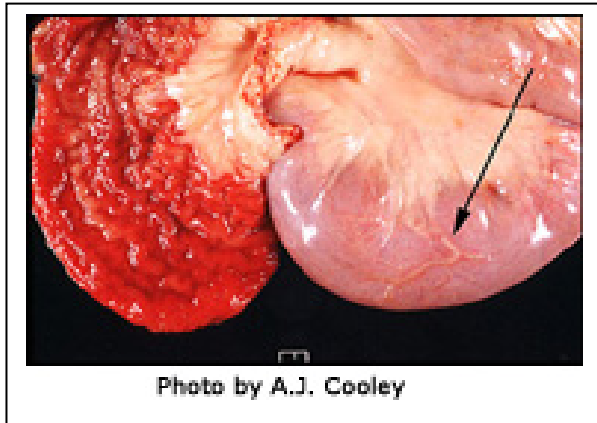
- Stadium I, tipe *silent*, subklinik. Pada tipe ini, infeksi tidak dapat terdeteksi, meskipun hewan sudah terinfeksi MAP (dalam dosis kecil) dan stadium ini terjadi pada anak sapi dan sapi dara yang berumur kurang dari dua tahun.
- Stadium II, tipe penyebaran subklinik (*sub clinical shedders*), sebagai lanjutan stadium I, terjadi pada sapi dara yang lebih tua atau sapi dewasa. Hewan tampak sehat, tetapi sebenarnya mereka adalah karier yang sewaktu-waktu dapat menularkan atau menyebarkan banyak MAP pada kotorannya yang dapat dideteksi melalui kultur dari fesesnya. Pada stadium ini mulai terjadi pencemaran lingkungan dengan bakteri MAP.
- Stadium III, sapi memperlihatkan gejala klinik berupa diare encer (seperti cairan) yang akut atau *intermittent* dan kotorannya berbau busuk, penurunan berat badan dan produksi susu. Dengan uji serologi, positif mengandung antibodi terhadap paratuberkulosis. Munculnya gejala klinik biasanya dipicu oleh adanya stres.
- Stadium IV, merupakan stadium akhir paratuberkulosis, hewan menjadi sangat kurus (*emasiasio*) dengan diare cair dan terlihat adanya edema pada rahang bawah (*bottle jaw*) dan dapat berakibat fatal.

Gambaran patologi anatomik

Enteritis granulomatosa kronik dan limfadenitis regional merupakan ciri utama kelainan patologik dari paratuberkulosis. Pada hewan percobaan anak domba dan anak sapi, yang diinfeksi secara peroral dengan MAP memberikan gambaran awal berupa lesi granuloma fokal pada interfolikuler *Payer's patches* dan LGL mesenterium setelah tiga bulan pascainfeksi (p.i.) dan lesi menyebar ke mukosa intestinal setelah 14 bulan p.i. (GILMOUR *et al.*, 1965). Kemudian dapat ditemukan adanya *giant cells* soliter pada ujung *villi intestine* dan LGL satu bulan pascainfeksi dan sekumpulan makrofag, *giant cells* dan neutrofil polimorf di jaringan limfoid intestinal, tonsil, LGL *supra-pharyngeal* setelah 2 – 4 bulan p.i. Setelah enam bulan p.i., lesi pada usus menyebar secara difus dengan membentuk masa epiteloid (PAYNE dan RANKIN, 1961).

Pada hewan yang sangat kurus (*emasiasio*), terlihat *atrofia* deposit lemak, *edema inter-mandibula* dan pengeluaran cairan *serus* ke dalam rongga tubuh. Tanda yang patognomonik dari paratuberkulosis pada sapi adalah pembengkakan limfoglandula (Gambar 2) dan penebalan pada mukosa usus (ileum) dan nampak berlekuk-lekuk secara melintang (Gambar 3) (BAUMGARTNER dan KOHL, 2006). Kelainan patologik yang sama juga dilaporkan pada kasus paratuberkulosis yang menyerang kerbau secara alami (SIVAKUMAR *et al.*, 2006). Sedangkan pada Bison (*Bison bison*), akibat infeksi MAP juga terjadi penebalan mukosa usus dan

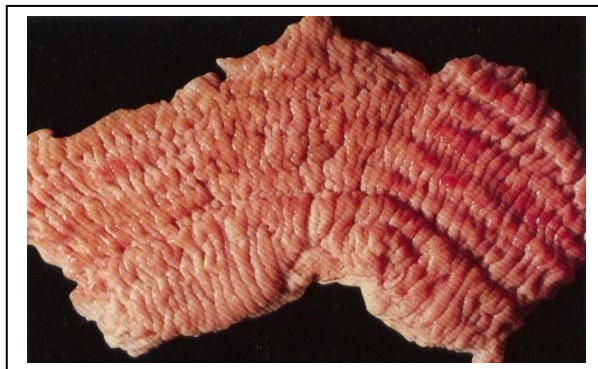
pembengkakan LGL *mesenterica*. Secara mikroskopik terlihat jaringan granulomato tanpa disertai perkejuan dan ditemukan adanya satu atau lebih bakteri tahan asam atau *acid-fast bacilli* (AFB) (BUERGELT *et al.*, 2000).



Gambar 2. Pembengkakan limfoglandula

Pada stadium akhir infeksi MAP tahunan, terjadi kerusakan usus yang cukup parah, hewan diare dan kurus. Pada stadium ini, usus biasanya menebal, limfoglandula bengkak dan berwarna pucat (⚡).

Sumber: JOHNE'S INFORMATION CENTER (2007)



Gambar 3. Penebalan mukosa usus

Mukosa usus sapi nampak menebal dan berlipat akibat terinfeksi *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP)

Sumber: MOUVEN dan GROOT (1982)

Gambaran makroskopik utama yang ditemukan pada ternak ruminansia yang terinfeksi paratuberculosis adalah: enteritis kronik, limfangitis intestinal kronis dan *limph-adenopathy* mesenterium (CLARKE, 1997) Lesi lebih menonjol terjadi di bagian distal ileum dan biasanya sampai di katup *ileo-caecal*. Hanya sedikit kasus yang menunjukkan adanya lesi pada usus besar dan tidak ada lesi pada duodenum, pembuluh limfe

menonjol dan berdilatasi. Sedangkan gambaran mikroskopik dan bakteriologi berdasarkan lesi granuloma dikelompokkan dalam tiga bentuk yaitu, infiltrasi seluler, bentuk granuloma dan adanya AFB dalam lesi (SIVAKUMAR *et al.*, 2005). Dari 20 ekor kerbau yang positif paratuberculosis dan menunjukkan lesi granuloma tersebut, 14 ekor (70%) diantaranya positif dengan uji PCR dengan spesifik primer IS900 dan 6 ekor (30%) positif dengan kultur bakteri.

Bentuk-bentuk lesi (fokal, multifokal atau difus) pada usus dan LGL mesenterika pada sapi yang terjadi akibat infeksi MAP secara alami (GONZALEZ *et al.*, 2005). Pengamatan secara histopatologi tersebut pernah dilakukan pada sapi-sapi yang telah diafkir dan sebelumnya telah didiagnosa paratuberculosis (baik yang memperlihatkan gejala klinik maupun yang tanpa gejala klinik). Sebanyak 167 ekor sapi yang umumnya berkisar 1,5 – 7 tahun, berasal dari 20 kelompok ternak yang berbeda bangsa (paling banyak bangsa Friesian) diperiksa lesi usus dan LGL mesenterikanya dan diklasifikasi secara histopatologi. Sebanyak 69,46% (116/167) dapat terdeteksi adanya lesi akibat infeksi MAP secara alami. Ini berdasarkan adanya temuan kuman tahan asam (AFB) dengan pewarnaan ZN atau imunohistokimia. Sebagian besar (40,72%) memperlihatkan lesi fokal, kemudian diikuti lesi *diffuse intermediate* (10,18%), *diffuse multibacillary* (8,98%), multifokal (7,79%) dan *diffuse lymphocytic* (1,79%). Pada semua bentuk lesi yang difus dapat dijumpai adanya bakteri tahan asam dan ini berbeda dengan lesi fokal, yang tidak semuanya ditemukan bakteri tahan asam (Tabel 1).

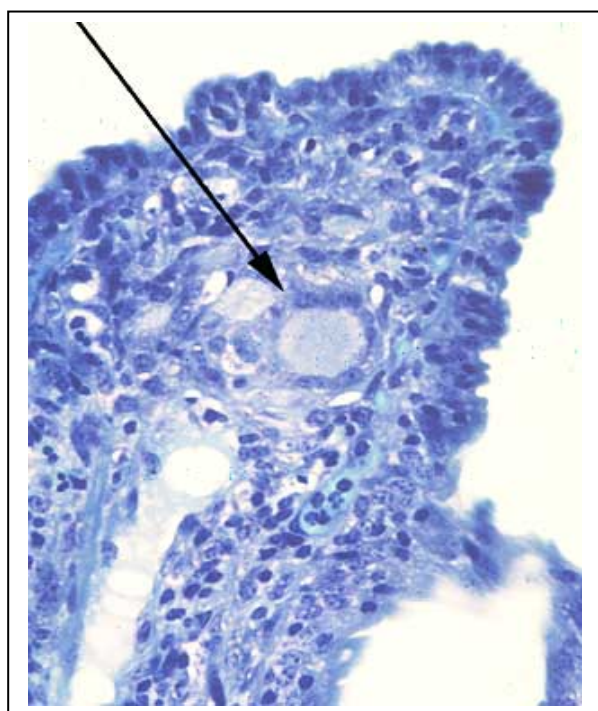
Lebih lanjut dilaporkan oleh GONZALEZ *et al.* (2005), bahwa penyebaran dan distribusi bentuk-bentuk lesi tersebut pada usus yaitu: 1). Lesi fokal (68 kasus) berupa granuloma kecil pada *limfo-glandula* ileum dan jejunum atau jaringan limfoid ileo-caecal; 2). Lesi *multi-fokal* (13 kasus) berupa granuloma kecil atau *giant cells* (Gambar 4) yang terdapat pada villi usus seperti pada *limfo-glandula*; 3). Lesi *multibacillary diffuse* (15 kasus), terkait dengan enteritis granulomatosa berat, dibentuk oleh makrofag yang mengandung sejumlah besar *bacilli* tahan asam; 4) Lesi *lymphocytic diffuse* (3 kasus), limfosit merupakan sel radang utama dengan beberapa sel makrofag dan *giant cells* yang mengandung sedikit *mycobacteria*; dan 5). Bentuk lesi *intermediate diffuse* (17 kasus), lesi dibentuk oleh banyak sekali limfosit dan makrofag dan terdapat *mycobacteria* pada sejumlah makrofag yang bervariasi. Sebagian besar bentuk lesi *diffuse* ada hubungannya dengan gejala klinik dan kelainan patologi anatomi. Demikian pula pada lesi usus tersebut juga dapat diidentifikasi MAP secara teknik kultur jaringan dan PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

Tabel 1. Distribusi 116 dari 167 ekor sapi paratuberkulosis yang menunjukkan lesi dan keberadaan *) MAP dalam jaringan usus/lymphnodes

Kategori lesi	Banyaknya sapi dengan lesi usus (%)	Banyaknya sapi dengan MAP dalam		Banyaknya sapi positif MAP (%)
		Usus halus	Limfo-glandula	
Fokal	68 (40,72)	1	5	6 (8,82)
Multi-fokal	13 (7,79)	12	11	12 (92,3)
<i>Diffuse multibacillary</i>	15 (8,98)	15	15	15 (100)
<i>Diffuse lymphocytic</i>	3 (1,79)	1	3	3 (100)
<i>Diffuse intermediate</i>	17 (10,18)	15	17	17 (100)
Total	116 (69,46)	44	51	53 (45,69)

*) Ditetapkan secara imunohistokimia atau dengan pewarnaan *Ziehl Neelsen* (ZN)

Sumber: GONZALEZ *et al.* (2005)

**Gambar 4.** Perubahan seluler pada vili usus

Perubahan seluler pada stadium awal di jaringan yang terinfeksi MA., Terjadi penambahan sel-sel fagosit mononuclear (makrofag) dan limfosit, dapat terlihat *giant cells* (↘), dijumpai sedikit bakteri berbentuk batang tahan asam (dengan pewarnaan *Ziehl-Neelsen*)

Sumber: JOHNE'S INFORMATION CENTER (2007)

Kajian data keragaman antara kelainan patologi pada usus dan stadium gejala klinik pada saat hewan masih hidup terjadi korelasi positif. Pada lesi usus fokal, termasuk stadium I (*silent infection*), subklinik, bakteri masih belum terdeteksi, hewan nampak sehat dan hewan belum menyebarkan MAP. Pada lesi multi-fokal, termasuk stadium II, hewan juga nampak masih sehat, gejala klinik masih belum nampak (subklinik)

tetapi hewan tersebut sudah mampu menyebarkan MAP melalui fesesnya. Pada lesi usus yang difus, termasuk stadium III atau IV, dalam hal ini gejala klinik sudah mulai muncul.

DIAGNOSIS

Diagnosis paratuberkulosis dapat dilakukan berdasarkan pengamatan gejala klinik di lapangan dan konfirmasi dengan pemeriksaan feses secara mikroskopik, kultur feses, uji DNA dan PCR. Pada saat nekropsis, dijumpai lesi yang patognomonik pada ususnya dan dengan pewarnaan ZN dari lesi ditemukan adanya AFB. Secara serologis dapat juga dilakukan tiga cara uji yaitu: CFT (*Complement Fixation Test*), ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) dan AGID (*Agar Gel Immuno-diffusion*) (OIE, 2004).

Meskipun pada kasus paratuberkulosis lanjut, diagnosis-nya relatif mudah, namun untuk deteksi paratuberkulosis secara subklinik masih mengalami kesulitan, karena belum ada uji yang benar-benar akurat. Hewan yang terinfeksi secara alami oleh MAP (subklinik/preklinik), fasennya sangat panjang (antara 1 – 10 tahun) dan penyakit ini dapat menyebar dalam kelompok hewan dan bukan merupakan penyakit individual (OLLIS, 1997).

Penyebaran bakteri MAP (*shedding*) lewat feses secara *intermittent* (berselang-seling) tidak diketahui waktunya sehingga merupakan kendala dalam diagnosis paratuberkulosis subklinik. Pada stadium lanjut hewan tersebut akan menjadi *fecal shedders* dan menyebabkan respon imun menjadi tidak konsisten. Menurut WU *et al.* (2007), selama sembilan bulan pertama infeksi belum dapat dideteksi respon antibodinya. Dengan demikian, konfirmasi diagnosis penyakit ini tidak cukup hanya dengan satu uji, tetapi harus dilakukan dengan beberapa uji.

Selama berlangsungnya infeksi MAP, dalam tubuh sapi akan terjadi reaksi imun *humoral* maupun *cellular* pada tubuh hewan (HARRIS dan BARLETTA,

2001). Walaupun pada awal infeksi perkembangannya relatif lambat, biasanya respon *humoral* akan meningkat menjelang stadium akhir penyakit tersebut. Oleh karena itu, sensitivitas terhadap uji serologi akan tinggi bila sudah terjadi *granuloma* difus pada usus, telah menunjukkan gejala klinik atau hewan sudah mengeluarkan bakteri dalam jumlah tinggi. Hal-hal inilah yang menyebabkan uji serologi (CFT, ELISA dan AGID) tidak mampu mendeteksi penyakit sejak awal infeksi. Sebaliknya, semua uji mempunyai spesifitas tinggi dengan *false* positif, menyebabkan frekuensi kejadian (*prevalensi*) penyakit rendah.

Dalam menentukan metode diagnosis, tergantung dari sensitivitas metode uji yang diperlukan secara individual atau kelompok, masing-masing uji ada kelebihan dan kekurangannya. Berikut ini disampaikan beberapa metode untuk diagnosis paratuberkulosis (Tabel 2), sebagai gambaran betapa sulitnya konfirmasi diagnosis infeksi MAP. Meskipun secara gejala klinik stadium akhir, diagnosis paratuberkulosis relatif mudah, pada kondisi di lapangan penyakit tersebut dapat dikelirukan dengan penyakit lain yang mempunyai gejala primer kehilangan berat badan dan diare. Sebagai diagnosa banding adalah penyakit parasiter (*nematodiasis*, *fasciolosis*, *coccidiosis*), *bovine virus diarrhea* (BVD), defisiensi tembaga (*copper*), kegagalan fungsi hati, defisiensi selenium, *salmonellosis*, dsb. (MAAS, 1999).

MASALAH DAN PENGENDALIANNYA

Paratuberkulosis dan masalahnya pada bidang produksi peternakan

Masalah dan kerugian ekonomi yang diakibatkan oleh paratuberkulosis pada ternak sulit diketahui secara

pasti, mengingat masa inkubasinya yang lama dan belum tersedianya uji diagnostik yang praktis untuk deteksi infeksi subklinik yang benar-benar akurat. Masalah pada industri peternakan meliputi: a) pengafkiran hewan secara dini (*premature culling*) sangat sulit ditentukan, karena konfirmasi diagnosis paratuberkulosis (secara klinik) atau diafkir karena berhubungan dengan penurunan produksi atau problem kesehatan, dsb., b). penurunan produksi daging dan susu dilaporkan dapat mencapai (5 – 25%), c). kehilangan nilai jual hewan dan produknya serta potensi genetiknya pada usaha pembibitan, dan d). penambahan biaya eksploitasi pemeliharaan kesehatan hewan (OLLIS, 1997), dan tidak dapat diekspor ke negara bebas paratuberkulosis.

Studi retrospektif mengenai kerugian ekonomi akibat paratuberkulosis pada sapi perah menunjukkan bahwa, pada kelompok hewan positif menyebabkan kerugian ekonomi hampir 100 US\$ bila dibandingkan dengan kelompok hewan yang negatif paratuberkulosis. Untuk kelompok yang positif paling sedikit 10% yang dilaporkan sapinya diafkir, karena menunjukkan gejala klinik paratuberkulosis dan kerugian ekonomi lebih dari 200 US\$ per ekor sapi. Pada kelompok yang prevalensinya tinggi, pengurangan produksi susu bisa lebih dari 700 kg per sapi, pengafkiran lebih banyak dan kematian lebih besar daripada kelompok yang negatif (OTT *et al.*, 1999).

Paratuberkulosis dan masalahnya pada kesehatan masyarakat veteriner

Paratuberkulosis dapat menimbulkan gangguan pada kesehatan masyarakat, yaitu penyakit Crohn (*Crohn's disease/CD*) pada manusia. Meskipun penyebab CD belum diketahui secara pasti dan masih

Tabel 2. Metode diagnosis paratuberkulosis, keuntungan dan kerugiannya

Metode diagnosis untuk paratuberkulosis	Keuntungan	Kerugian
<i>Complement Fixation Test</i> (CFT)	Dapat digunakan untuk tujuan impor/ekspor	Kurang sensitif, <i>false</i> negatif, <i>false</i> positif
AGID (spesifisitas 95%)	Berkorelasi baik pada hewan dengan tanda klinis paratuberkulosis	Kurang sensitif, beberapa hewan sebagai penghambur MAP, tetapi belum memperlihatkan diare dapat terlewatkan
ELISA (untuk <i>screening</i> kelompok ternak)	Tidak mahal, cepat dan sangat spesifik	Kurang sensitif, kira-kira 50% hewan penghambur MAP
DNA Probe (sampel feses)	Sangat spesifik, cepat (3 hari)	Biaya tinggi, tidak sensitif terhadap hewan penghambur MAP dengan jumlah organisme kecil
Kultur jaringan feses (sampel feses)	Sangat sensitif dan spesifik	Lama, hasilnya diperoleh sampai 12 – 16 minggu
Histopatologi	Dapat digunakan pada hewan mati & biopsi	Biaya tinggi – sangat lambat

Sumber: SOUTH DAKOTA ANIMAL INDUSTRY BOARD (2007)

diperdebatkan oleh para pakar, namun diduga berkaitan dengan paratuberkulosis pada ternak ruminansia (MAAS, 1999). *Crohn's disease* adalah penyakit peradangan kronik pada usus (ileum dan kolon), biasanya terjadi pada orang yang berusia 10 – 20 tahun. Penyakit ini telah dikenal sejak awal abad ke-20, kemungkinan disebabkan oleh agen infeksius, khususnya *mycobacteria*. FARIES *et al.* (2007) menyebutkan bahwa, bakteri MAP pernah diisolasi dari 7,5 – 38% pasien penderita CD, namun belum dipastikan apakah keberadaan bakteri tersebut sebagai penyebab CD atau hanya sebagai bakteri oportunistik. Mengingat selain MAP, juga ada beberapa spesies *mycobacteria* lain yang dapat ditemukan pada biopsi jaringan usus dari penderita CD, yaitu: *M. fortuitum*, *M. avium intracellulare*, *M. chelonii* dan *M. kansasii* (STABEL, 2000). Selain itu, dalam studi terakhir dilaporkan bahwa, secara kultural MAP dapat ditemukan pada 14 dari 28 (50%) darah perifer penderita CD, 2 dari 9 kontrol dengan *ulcerative colitis* dan 0 dari 15 kontrol tanpa penyakit/radang saluran pencernaan. Pada studi yang sama, DNA MAP juga ditemukan pada 13 (46%) penderita CD, 4 (45%) pasien *ulcerative colitis* dan 3 (20%) pada kontrol sebagai kontrol (SPICKLER, 2004).

Beberapa hal tersebut di atas yang menyebabkan ketidakjelasan mengenai penyebab CD dan menimbulkan berbagai pertanyaan. Apakah sapi-sapi cukup mengeluarkan MAP dalam susunya sehingga dapat menimbulkan penyakit pada konsumen, apakah bakteri MAP masih hidup bila susu dipasteurisasi dan apakah MAP termasuk zoonosis yang dapat merupakan faktor penyebab CD pada manusia? Hal-hal inilah yang masih diperdebatkan oleh para pakar (STABEL, 2000).

Pengendalian paratuberkulosis pada ternak

Kebanyakan ternak umumnya terinfeksi MAP sejak usia *neo-natal*, akan tetapi gejala penyakit baru muncul beberapa tahun kemudian. Kondisi ini yang menyebabkan paratuberkulosis sulit didiagnosis dan diobati. Oleh karena itu, aspek penelitian dan pengembangan diagnosis penyakit sangatlah penting untuk mendeteksi dan pengafkiran kelompok hewan yang positif mengandung MAP, dan pencegahan penyebaran penyakit ke kelompok hewan yang negatif MAP juga sangat penting. Hewan-hewan yang positif MAP harus diafkir sesegera mungkin dan seluruh hewan harus dilakukan pengujian kembali dengan kombinasi uji yang berbeda (BAUMGARTNER dan KOHL, 2006). Tiga hal penting yang perlu dilakukan/diperhatikan untuk kontrol penyakit (FREDERICK ANIMAL HEALTH DIAGNOSTIC LABORATORY, 2007), yaitu:

- Melakukan proteksi terhadap individu yang sangat peka (anak sapi yang baru lahir dan sapi muda) dengan vaksinasi.
- Melakukan pencegahan hewan peka lainnya dari tertelannya kotoran yang terinfeksi MAP (dengan level rendah), khususnya mencegah kontaminasi pada makanan dan minumannya. Namun ini sulit dilakukan, mengingat harus melibatkan deteksi patogen.
- Melakukan pengurangan total peternakan yang terindikasi adanya penyakit paratuberkulosis dengan mengurangi hewan-hewan terinfeksi yang dapat menghamburkan MAP. Untuk ini juga harus menyediakan dana kompensasi yang cukup mahal.

Dari ketiga langkah tersebut akan melibatkan berbagai instansi terkait, para peneliti dan pemegang kebijakan serta pendanaan yang besar untuk melaksanakan peremajaan maupun eradikasi berkesinambungan.

KEJADIAN PARATUBERKULOSIS DI INDONESIA

Paratuberkulosis termasuk salah satu dari 76 jenis penyakit hewan menular yang terdapat di Indonesia yang perlu diwaspadai, namun tidak termasuk penyakit hewan strategis (SUPRIATNA, 1998). Penyakit tersebut belum banyak dikenal oleh petugas kesehatan hewan di lapangan di daerah atau oleh para peternak sapi, karena sifat penyakitnya yang kronik, tidak nampak gejalanya pada awal infeksi dan sulit dideteksi secara dini. Sapi (berumur lebih dua tahun) yang mengalami diare kronik dan kekurusannya, seharusnya dicurigai ke arah paratuberkulosis dan seandainya didiagnosis paratuberkulosis, perlu konfirmasi di laboratorium. Namun demikian, belum semua laboratorium veteriner (Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) atau Balai Besar Veteriner (BBVET)) dapat melakukan isolasi agen penyebab paratuberkulosis tersebut.

Ditinjau dari aspek veteriner, paratuberkulosis dianggap kurang penting oleh para pemegang kebijakan, namun dari aspek kesmavet, penyakit ini sangat penting, karena hewan terinfeksi dapat menularkan patogen melalui produk ternak seperti susu.

Dari hasil surveilans paratuberkulosis pada sapi yang pernah dilakukan di Sumatera Utara, Aceh dan Jawa Barat menunjukkan bahwa, secara serologik paratuberkulosis dapat dideteksi pada sampel serum sapi (Tabel 3) (SETYOWATI *et al.*, 1985/1986; ADJI, 2004). Dengan uji CFT dari 25 sampel serum darah sapi potong di Sumatera Utara dan DI Aceh, sebanyak 4% diantaranya positif mengandung antibodi spesifik paratuberkulosis. Disamping itu, satu sampel serum

Tabel 3. Hasil pengujian serologis (CFT dan ELISA) dan secara kultural dari sampel sapi dan kerbau terhadap paratuberkulosis

Asal sampel (tahun pengujian)	Sampel yang diuji		Metode pengujian					
			CFT		ELISA		Kultur	
	Jenis hewan	Banyak sampel	Positif	Persentase (%)	Positif	Persentase (%)	Positif	Persentase (%)
Sumut & DI Aceh*) (1985)	Sapi & kerbau	50 serum	2	4	Td	Td	Td	Td
Jawa Barat**) (2004)	Sapi perah	180 serum	Td	Td	3	1,67	Td	Td
		180 feses	Td	Td	Td	Td	1	0,55

Td = tidak dilakukan

Sumber: *) SETYOWATI *et al.* (1985/1986); **) ADJI (2004)

kerbau dari 25 ekor (4%) juga menunjukkan positif mengandung antibodi spesifik paratuberkulosis. Sedangkan pada pemeriksaan patologi anatomi (PA) terhadap organ kerbau yang positif paratuberkulosis, ditemukan kelainan yang spesifik pada usus dan limfoglandula mesenterika. Usus di daerah jejunum dan ileum memperlihatkan perubahan, mukosanya berlipat-lipat dan adanya nekrose. Pada pemeriksaan histopatologik terlihat penyumbatan sel-sel epiteloid pada lapisan propia maupun submukosanya. Preparat histopatologik dengan pewarnaan *Ziehl Neelsen*, terlihat bakteri berbentuk batang yang terdapat di dalam sitoplasmanya (SETYOWATI *et al.*, 1985/1986). Hasil histopatologik menunjukkan bahwa usus bagian ileum sebagai target utama infeksi MAP pada usus halus. Dinding ileumnya mengandung sejumlah kantong-kantong jaringan limfoid yang disebut *Peyer's patches*, yang merupakan sekumpulan makrofag dan limfosit (JOHNE'S INFORMATION CENTER, 2007).

Surveilans paratuberkulosis pada sapi perah di daerah Jawa Barat pernah dilakukan pada tahun 2004 (ADJI, 2004), diketahui bahwa, tiga dari 180 sampel yang diperiksa secara ELISA antibodi, dinyatakan positif mengandung antibodi spesifik paratuberkulosis. Sedang secara kultural terdapat satu dari tiga sampel yang positif *M. paratuberculosis*. Namun demikian untuk membuktikan bahwa, paratuberkulosis ada di Indonesia, masih perlu karakterisasi isolat lebih lanjut, mengingat sapi perah di Indonesia diimpor dari negara-negara yang tidak bebas paratuberkulosis.

Restropektif studi tentang prevalensi paratuberkulosis pada sapi yang pernah dilakukan terhadap hewan-hewan yang dipotong (yang kebanyakan sapi perah) di rumah potong hewan (RPH), di negara lain dilaporkan oleh OLLIS (1997), menunjukkan prevalensinya sekitar 6 – 18% di USA, 4% di New Zealand dan 5,5% di Ontario. Namun di Indonesia studi semacam ini belum pernah dilakukan.

Dari data yang dikemukakan di atas menggambarkan bahwa penelitian atau *surveillance*

paratuberkulosis belum mendapat prioritas yang memadai dibandingkan dengan penyakit ternak lainnya yang mempunyai dampak negatif terhadap kesehatan masyarakat veteriner. Mengingat pula bahwa Indonesia juga mengimpor sapi potong dan sapi perah dari negara-negara yang tidak bebas paratuberkulosis, terbawanya penyakit tersebut ke Indonesia perlu diwaspadai.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari uraian tersebut di atas, maka dapat disimpulkan sbb.:

Paratuberkulosis (*Johne's disease*) adalah penyakit *enteritis granulomatosus*, disebabkan oleh *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). Penyakit ini dapat menyerang ternak ruminansia yang dibudidayakan (sapi, kerbau, domba, kambing) dan hewan liar (rusa, bison, dsb.). Penularan terjadi secara oral, sejak periode *neo-natal* hingga hewan muda. Hewan terserang bersifat kronis dan bakteri MAP disebarkan melalui feses dan produk susu.

Infeksi MAP terjadi pada anak sapi *neo-natal* atau sapi muda, namun gejalanya baru muncul setelah hewan berumur lebih dari 3 – 4 tahun. Pada periode subklinis, hewan dapat menyebarkan MAP (*shedding*) melalui fesesnya yang dapat menulari hewan lain dalam satu kelompoknya dan mencemari lingkungan. Gejala klinik yang *patognomonik* yaitu diare *profuse* dan kehilangan berat badan dengan cepat, meskipun nafsu makannya normal. Pada kondisi subklinis yang paling hebat dapat menimbulkan pencemaran lingkungan.

Diagnosis berdasarkan pengamatan gejala klinik dan pemeriksaan laboratoris. Deteksi paratuberkulosis subklinis secara dini sulit dilakukan, karena belum ada metode untuk deteksi MAP pada awal infeksi yang cepat, tepat dan akurat. Sedangkan, diagnosis secara patologi meragukan lesi *fokal*, *multi-fokal* atau *difus* pada usus/ileum dan pembengkakan LGL mesenterika.

Mukosa ileum menebal sebagai akibat invasi MAP dan terjadi akumulasi sel-sel makrofag. Secara mikroskopik ditemukan bakteri AFB pada dinding usus dan secara bakteriologik ditemukan MAP dari organ tersebut.

Pengobatan paratuberkulosis secara medikasi tidak efektif, hewan terinfeksi dipotong untuk memutus rantai penularan. Paratuberkulosis dapat menimbulkan kerugian ekonomi dan dapat menularkan penyakit pada manusia di lingkungan peternakan atau melalui produk ternak.

Perlu penelitian dan pengembangan metode diagnostik yang dapat diaplikasikan di lapangan mengingat adanya indikasi infeksi paratuberkulosis pada sapi perah dan sapi potong di Indonesia. Sedangkan untuk dapat mendiagnosis paratuberkulosis pada ternak ruminansia secara klinik, merupakan tantangan bagi dokter hewan di daerah.

DAFTAR PUSTAKA

- ADJI, R.S. 2004. Isolasi dan uji serologi terhadap *Mycobacterium paratuberculosis* pada sapi perah. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 4 – 5 Agustus 2004. Puslitbang Peternakan, Bogor. hlm. 281 – 284.
- BAUMGARTNER, W. and J.L. KOHL. 2006. Paratuberculosis (Johne's disease) in ruminant an ongoing story. Slov. Vet. Res. 43(1): 5 – 10.
- BUERGELT, C.D., A.W. LAYTON, P.E. GINN, M. TAYLOR, J.M. KING, P.L. HABECKER, E. MAULDIN, R. WHITLOCK, C. ROSSITER and M.T. COLLINS. 2000. The pathology of spontaneous paratuberculosis in the North American Bison (*Bison bison*). Vet. Pathol. 37: 428 – 438.
- CLARKE, C.J. 1997. The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species. J. Comp. Path. 116: 217 – 261.
- CROSSLEY, B.M., F.J.Z. VERGARA, T.L. FYOCK, R.H. WITHLOCK and I.A. GARDNER. 2005. Fecal shedding of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* by dairy cows. Vet. Microbiol. 107: 257 – 263.
- FARIES, F.C., A.J. ROUSSEL, E. JORDAN, R.S. STOKES and D.D. MAGEE. 2007. Bovine Paratuberculosis of Dairy cattle. Texas Agricultural Extension Service. The Texas A & M University System. http://animal.science.tamu.edu/ansc/publication/dairy_pubs/L5243-paradairy.pdf. (19 Juni 2007).
- FREDERICK ANIMAL HEALTH DIAGNOSTIC LABORATORY. 2007. Johne's disease/paratuberculosis in cattle. <http://www.mda.state.md.us/animalhealth/disease/johne's.php?print>. (18 April 2007).
- GILMOUR, N.J.L., D.I. NISBET and BROTHERSTON. 1965. Experimental oral infection of calves with *Mycobacterium of johnei*. J. Comp. Pathol. 75: 281 – 286.
- GONZALEZ, J., M.V. GEJO, C.G. PARIENTE, A. VERNA, J.M. CORPA, L.E. REYES, M.C. FERRERAS, R.A. JUSTE, J.F.G. MARIN and V. PEREZ. 2005. Histopathological classification of lesions associated with natural paratuberculosis infection in cattle. J. Comp. Path. 133: 184 – 196.
- HARRIS, N.B. and R.G. BARLETTA. 2001. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in veterinary medicine. Clin. Microbiol Rev. 14(3): 489 – 512. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pubmed&submedid=11432810>. (6 Februari 2007).
- HOLSTAD, G., O.G. SIGURDARDOTTIR, A.K. STORSET, J. THARALDSEN, O. NYBERG, J.S. CHONHEIT and B. DJONNE. 2005. Description of the infection status in a Norwegian cattle herd naturally infected by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. Acta Vet. Scand. 46: 45 – 56.
- HUCHZERMAYER, H.F.A.K., G.K. BRUCKNER and S.S. BASTIANELLO. 1994. Paratuberculosis. In: Infectious Diseases of Livestock. Oxford University Press, vol two. pp. 1445 – 1457.
- HUNTLEY, J.F.J., R.H. WHITLOCK, J.P. BANNANTINE and J.R. STABEL. 2005. Comparison of diagnostic detection methods for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. In North American Bison. Vet. Pathol. 42: 42 – 51.
- JOHNE'S INFORMATION CENTER. 2007. This chronic bacterial infection damages the small intestine leading to diarrhea, weight loss and death. Infection. Johne's Information Center, University of Wisconsin – School of Veterinary Medicine. <http://www.johnes.org/general/pathology.html>. (18 April 2007).
- MAAS, J. 1999. Johne's disease: What is the future? <http://www.vetmed.ucdavis.edu/vetex/INF-BE cca990708.html>. (6 Februari 2007).
- MOUVEN, J.M.V.M. and E.C.B.M. DE GROOT. 1982. A Color Atlas of Veterinary Pathology. Wolfe Medical Publication Ltd. London. p. 78.
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. 2004. Paratuberculosis. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals. 1: 347 – 359.
- OHIO DEPARTEMENT OF AGRICULTURE ANIMAL DISEASE DIAGNOSTIC LABORATORY. 2007. Health Reports: Information of Johne's Disease. <http://www.mycattle.com/health/reports/johnesohaaddl.cfm>. (31 Mei 2007).
- OLLIS, G.W. 1997. Johne's disease: A cloud on the horizon? <http://www.cds.afns.ualberta.ca/Proceedings/1997/ch11-97.htm>. (18 April 2007).
- OTT, S.L., S.J. WELLS and B.A. WAGNER. 1999. Herd-level economic losses associated with Johne's disease on US dairy operations. Prev Vet Med. 40 (3 – 4): 179 – 192. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Abstract&list_uids=10423773. (6 February 2007).

- PAYNE, J.M. and J.D. RANKIN. 1961. The pathogenesis of experimental Johne's disease in calves. *Res. vet. Sci.* 2: 167 – 179.
- SETYOWATI, R. MUDIGDO, E. SUSANTO, M.A. GANI, TRI MURTI and A. AZMI. 1985/1986. Pengkajian paratuberculosis (Johne's disease) pada sapi dan kerbau. *Bull. Veteriner. Balai Penyidikan Penyakit Hewan Wilayah I Medan.* 4: 1 – 4.
- SIVAKUMAR, P., B.N. TRIPATHI, N. SIGH and A.K. SHARMA. 2006. Pathology of naturally occurring paratuberculosis in water buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Vet. Pathol.* 43: 455 – 462. <http://www.vetpatholgy.org/cgi/content/abstract/43/4/455>. (31 Mei 2007).
- SIVAKUMAR, P., B.N. TRIPATHI and N. SIGH. 2005. Detetion of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in intestinal and lymph node tissues of water buffaloes (*Bubalus bubalis*) by PCR and bacterial culture. *Vet. Microbiol.* 108: 263 – 270.
- SMITH, R. 1998. Beef Industry Brings Johne's Disease Into Open in Calls for Prevention, Research to Diarm 'Bomb'. *FEEDSTUFFS*, June 15, 1998. <http://www.dqacenter.org/university /moreinfo/rh49.htm>. (18 April 2007).
- SOUTH DAKOTA ANIMAL INDUSTRY BOARD. 2007. National Paratuberculosis Certification Program (Johne's). <http://www.state.sd.us/aib/certification.htm#Top 20% of20%Page>. (5 April 2007).
- SPICKLER, A.R. 2004. Paratuberculosis (Johne's Disease) and Crohn's Disease. 2004. The Center for Food Security & Public Health. Iowa State University. <http://www.cfsph.iastate.edu>. (20 Mei 2005).
- STABEL. 2000. Symposium health and safety on the dairy farm. Johne's disease and milk: Do consumers need to worry? *J. Dairy Sci.* 83(7): 1659 – 1663.
- SUPRIATNA, S. 1998. Penyakit-penyakit hewan penting yang perlu diwaspadai di masa datang. *Pros. Seminar Hasil-Hasil Penelitian Veteriner.* Bogor, 18 – 19 Pebruari 1998. Balai Penelitian Veteriner, Bogor. hlm. 1 – 18.
- WEISS, D.J, O.A. EVANSEN, A. MORITZ, M.Q. DENG and M.S. ABRAHAMSEN. 2002. Differential Responses of Bovine Macrophages to *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and *Mycobacterium avium* subsp. *avium*. *Infection and Immunity.* 70(10): 5556 – 5561. <http://iai.asm.org/cgi/content/abstract/70/10/5556>. (18 April 2007).
- WU, C.W., M. LIVESEY, S.K. SCHMOLLER, E.J.B. MANNING, H. STEINBERG, W.C. DAVIS, M.J. HAMILTON and A.M. TALAAT. 2007. Invasion and persistence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* during early of Johne's disease in calves. *Infection and Immunity.* May 2007, 75(5): 2110 – 2119. <http://iaiasmorg/cgi/content/abstract/75/5/2110>. (5 Juni 2007).