

ISSN : 1411-9161

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

📞 Call Center 0813 7954 8117

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



EDISI
02

VOLUME 44
NOVEMBER 2020

Kata Pengantar

Puji Syukur kita panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena Berkat karunia-Nya Buletin Laboratorium Veteriner (VELABO) Velabo 44 Edisi 02 November 2020, dapat diterbitkan kembali ke hadapan pembaca sekalian

Pada Velabo ini pembaca dapat mengupas tentang Distribusi Virus African Swine Fever pada Berbagai Organ Babi dengan Imunohistokimia Berbasis Polymer, Kajian Sebaran Virus African Swine Fever pada Berbagai Organ Babi dengan Tingkat Keparahan yang Berbeda, Gambaran Patologi Suspect African Swine Fever (ASF) pada Babi Asal Kabupaten Lampung Timur, Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Salmonella sp. yang Diisolasi dari Peternakan Unggas di Pulau Belitung, Konfirmasi Laboratorium pada Kasus Kematian Ternak Babi di Kabupaten Lampung Selatan dan Lampung Timur, Investigasi Kematian Sapi Bali di Desa T2 Purwodadi, Purwodadi Kabupaten Musi Rawas, Sumatera Selatan dan Identifikasi Endoparasit (Hymenolepis nana dan Hymenolepis diminuta) yang Bersifat Zoonosis pada Tikus Rumah (Rattus rattus) di Laboratorium Parasitologi Balai Veteriner Lampung.

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

SEKERTARIAT REDAKSI

Alim Santoso
Ferro Safryl, A.Md

PENANGGUNG JAWAB

Pimpinan Redaksi:
drh Tri Guntoro, MP

SEKERTARIAT REDAKSI

Alim Santoso
Ferro Safryl, A.Md

EDITOR

Drh Eko Agus S, M.Sc
Drh Ari Khoiriah
Drh Joko Susilo, M.Sc

TELP / FAX

Telp. 0721 701851 / 772894
Fax. 0721 772894

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

Table of Contents

- 03** Distribusi Virus African Swine Fever pada Berbagai Organ Babi dengan Imunohistokimia Berbasis Polymer
- 09** Kajian Sebaran Virus African Swine Fever pada Berbagai Organ Babi dengan Tingkat Keparahan yang Berbeda
- 15** Gambaran Patologi Suspect *African Swine Fever (ASF)* pada Babi Asal Kabupaten Lampung Timur
- 21** Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap *Salmonella sp.* yang Diisolasi dari Peternakan Unggas di Pulau Belitung
- 27** Konfirmasi Laboratorium pada Kasus Kematian Ternak Babi di Kabupaten Lampung Selatan dan Lampung Timur
- 33** Investigasi Kematian Sapi Bali di Desa T2 Purwodadi, Purwodadi Kabupaten Musi Rawas, Sumatera Selatan
- 41** Identifikasi Endoparasit (*Hymenolepis Nana* dan *Hymenolepis Diminuta*) yang Bersifat Zoonosis pada Tikus Rumah (*Rattus Rattus*) di Laboratorium Parasitologi Balai Veteriner Lampung



Take us
Anywhere

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

Distribusi Virus African Swine Fever pada Berbagai Organ Babi dengan Imunohistokimia Berbasis Polymer

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

Laboratorium Epidemiologi

Email : joko_andiniloka@yahoo.com

ABSTRAK

African Swine Fever (ASF) merupakan salah satu penyakit lintas batas (transboundary swine diseases) dengan mortalitas yang tinggi pada babi, menimbulkan kerugian ekonomi, dengan laju penyebaran penyakit yang sangat cepat dan hingga saat ini belum dapat diatasi dengan vaksinasi. Kejadian ASF di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung di beberapa daerah pada tahun 2020. Tujuan dari penelitian ini Penelitian bertujuan menjelaskan gambaran patologis dan distribusi virus ASF pada masing masing organ yang mengalami perubahan patologis. Tiga ekor babi dipilih dari satu kandang di suatu peternakan babi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung yang terkonfirmasi positif ASF dibawa ke Balai veteriner lampung. Masing masing babi dilakukan bedah bangkai, dengan mengamati dan mencatat perubahan patologis di masing masing organ. Masing masing organ yang mengalami gejala klinis diambil dan dibagi menjadi tiga. Pengujian yang dilakukan masing masing organ meliputi polymerase chain reaction (gold standard pengujian ASF), organ untuk histopatologi dan imunohistokimia, serta satu bagian organ yang sama digunakan untuk proses pembuatan antigen dan antibody ASF. Organ yang digunakan untuk produksi antigen dan antibody meliputi limfa, ginjal, hati, dan paru. Antigen yang dihasilkan diinaktivasi dan disuntikkan intraperitoneal pada kelinci pada minggu I, II, III, IV. Panen antibody dilakukan minggu ke lima dan dilakukan pemurnian antibody. Antibody yang dihasilkan digunakan untuk imunohistokimia berbasis polymer untuk penyakit ASF. Perubahan patologi pada babi 1 dan 2 menunjukkan perdarahan berat pada masing masing organ, deplesi massif sel limfoid limfa dan limfoglandula gastrohepatika, oedema pulmonum berat, nephritis interstitialis, periportal hepatitis, dan enteritis berat. Hasil imunohistokimia menunjukkan distribusi antigen ASF menyeluruh ditemukan pada ketiga babi di seluruh organ meliputi limfa, paru, hati, ginjal, jantung, limfoglandula, otot dan usus.

Kata kunci: *African Swine Fever, imunohistokimia, histopatologi*

Pendahuluan

African swine fever (ASF) adalah penyakit menular babi terpenting dan telah terbukti menghancurkan industri daging babi di seluruh dunia. Penyakit ini pertama kali diamati pada awal 1900-an di Timur Afrika, ketika ras babi domestik Eropa diperkenalkan di Kenya dan pada hewan menyebabkan bentuk penyakit hemoragik dengan morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Penyakit ini menular ke negara-negara Afrika hingga 1957 ketika mencapai Portugal melalui limbah yang terkontaminasi produk daging babi yang terinfeksi yang digunakan untuk pakan babi lokal.

Penyakit ini menyebar ke Amerika, dengan wabah sporadis di Brasil, Dominika Republik, Haiti, dan Kuba. Penyakit ini menyebar dengan cepat di wilayah Kaukasia dan negara tetangga dan terus menyebar ke Barat, termasuk Negara-negara Uni Eropa dan di Timur, dengan penyakit menyebabkan wabah melimpah dan mempengaruhi secara dramatis industri daging babi di Cina, Vietnam, Kamboja, Filipina, Laos, dan Timor Leste (Le VP et al. 2019; Smith D et al. 2019). African swine fever (ASF) telah menimbulkan kerugian ekonomi yang tinggi bagi industri daging babi. African swine fever merupakan penyakit babi terpenting saat ini karena pencegahan dan pengendalian yang sulit, belum ada vaksin yang tersedia dan belum ada strategi laefektif untuk mengendalikan penyakit.

Tujuan

Penelitian bertujuan menjelaskan gambaran patologis dan distribusi virus ASF pada masing masing organ yang mengalami perubahan patologis.

Materi dan Metode

Nekropsi babi

Sebanyak tiga ekor babi dari suatu peternakan yang telah terkonfirmasi positif ASF dilakukan bedah bangkai di Laboratorium Patologi. Seluruh perubahan di organ visceral dilakukan pengamatan dan dicatat. Organ dari masing masing babi diambil dan dibagi menjadi tiga bagian untuk proses pengujian PCR, proses produksi antigen dan antibody serta pengujian immunohistokimia (IHK).

Pembuatan antigen dan poliklonal antibody IHK

Organ (hati, paru, ginjal, limfa) + PBS (50:50) digerus dan disentrifuse 6000 RPM selama 10 menit. Supernatan diambil dimasukkan ke dalam tabung konikel dan endapan dibuang. Inaktivasi antigen yang berada dalam supernatan dilakukan dengan pemberian formaldehid 0.3 – 0.5% dengan didiamkan semalam. Sentrifuse 6000 RPM selama 5 menit, supernatant dibuang, dan diisi kembali dengan PBS seperti volume semula dan homogenkan. Sentrifuse putaran ke dua dengan 6000 RPM 5 menit dan ulangi hingga 3 kali prosedur yang sama. Sisa endapan pada sentrifus terahir dicampurkan dengan adjuvant (50 : 50) dan dihomogenkan. Campuran tersebut disuntikkan ke kelinci intra peritoneal selama 4 minggu berturut turut setiap minggunya dengan dosis 0,5 ml, 1 ml, 2 ml, 4 ml. Panen anti sera dilakukan pada minggu ke lima dengan mengambil sampel darah dari vena auricularis. Antisera yang diperoleh selanjutnya dilakukan inaktivasi dengan suhu 55°C selama 30 menit. Selanjutnya antisera tersebut digunakan sebagai poliklonal antibody ASF untuk immunohistokimia.

Pembuatan Preparat Histopatologi (HE dan IHK)

Pembuatan preparat histopatologi dilakukan pada variasi sampel organ dari 3tiga ekor babi dengan hasil PCR positif ASF melalui tahap fiksasi, dehidrasi, embedding, parafin blok, pembedahan, pewarnaan dan mounting. Fiksasi dilakukan dengan menyimpan potongan jaringan ke dalam buffered neutral formalin 10% selama 24 jam. Jaringan didehidrasi menggunakan tissue processor yang di dalamnya terdapat ethanol bertingkat 70%, 80%, dan 90%, absolut I, absolut II, absolut III, masing-masing dilakukan selama 60 menit. Setelah dehidrasi selesai kemudian dilakukan penjernihan dengan menggunakan xylol I, xylol II dan xylol III. Jaringan selanjutnya diinfiltrasi parafin cair 2 kali masing-masing 1 jam, dicetak, kemudian dipotong dengan mikrotom 3-5 mikron (Suvarna et al., 2013).

Pewarnaan HE dimulai dengan deparafinisasi menggunakan xylol I, xylol II dan xylol III masing-masing dilakukan selama 5 menit. Preparat dimasukkan ke dalam ethanol absolut I, absolut II, absolut III, ethanol 90%, ethanol 80% dan ethanol 70% masing-masing selama 5 menit. Preparat selanjutnya dibilas dengan aquadest dan direndam dalam Hematoxilin selama 5 menit, kemudian dibilas kembali menggunakan air mengalir selama 5 menit, selanjutnya direndam dalam Eosin selama 3-5 menit. Preparat direndam ke dalam ethanol 70%, ethanol 80%, ethanol 90%, absolut I, absolut II dan absolut III masing-masing selama 3 menit, xylol I, xylol II dan xylol III masing-masing 5 menit. Tahap terakhir ditutup dengan entelan dan gelas penutup (Suvarna et al., 2013).

Teknik pewarnaan imunohistokimia berlabel polimer, slide jaringan dideparafinisasi pada xylene 1, 2, 3 masing masing 5 menit. Rehidrasi dilakukan pada ethanol 100% 3 kali masing masing 5 menit, ethanol 90%, 80% 70% masing masing 2 menit. Slide dicuci dengan aquadest 5 menit di lanjutkan 5 menit dalam PBS. Aktivitas endogenous peroxidase dan alkaline phosphatase dihambat dengan endogenous enzyme block yang mengandung 3% H₂O₂ selama 10 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.

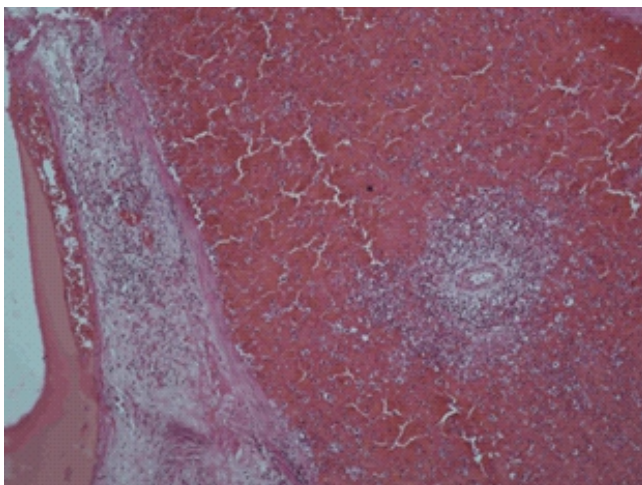
Slide digenangi dengan poliklonal antibodi terhadap ASF yang diencerkan PBS dengan pengenceran 1 : 400. selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian dicuci dengan PBST (0.05% v/v Tween20) 2 kali dan PBS 2 kali masing masing 5 menit. Slide diinkubasi dengan Labelled Polymer-HRP selama 30 menit. Cuci dengan 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

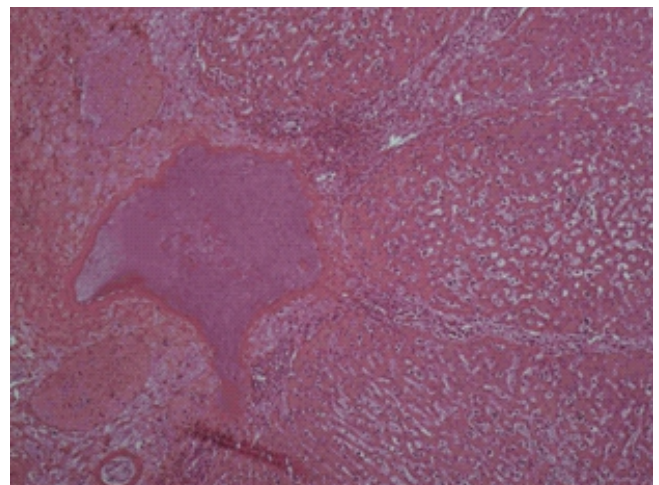
Kondisi umum babi pertama, adalah bentuk bangkai yang diambil dari kandang peternak dengan riwayat kematian 170 ekor dalam 2 minggu ditandai adanya bintik pendarahan pada kulit telinga. Tanda klinis lainnya terjadi pembengkakan limpa, perdarahan pada limfoglandula hepatica dan limfoglandula mesenterika. Peradarahan pada usus halus dan colon dan perdarahan hemoragi pada ginjal. Kondisi umum babi kedua, dipelihara dalam 1 kandang dengan babi pertama dengan gejala klinis terlihat lemah, mengalami paralisis, demam, dan mulai terjadi inkoordinasi. Kondisi umum babi ketiga dipelihara dalam kandang yang sama, belum menunjukkan gejala klinis dan masih aktif bergerak.

Perubahan patologi limfa ketiga babi yang terinfeksi ASF peningkatan sel darah merah pada pulpa merah dan terjadi deplesi sel sel limfoid secara massif sehingga limfoid folikel pulpa putih terlihat mengecil (Gambar 1A). Perubahan pada hati babi terinfeksi ASF menunjukkan kongestif, thrombus, infiltrasi sel radang periportal meliputi limfosit, makrofag dan plasma sel (Gambar 1B). Limfoglandula gastrohepatik pada kasus subakute ASF menunjukkan hemoragi pada jaringan lymphoid perifolikuler dan bagian medulla, disertai dengan deplesi lymphoid sedang. Perubahan mencari pada ginjal menunjukkan hemoragi dan infiltrasi limfosit interstitial pada bagian kortek (Gambar 1C). Gambaran paru babi yang terinfeksi ASF menunjukkan hemoragi, cairan oedema parah dan infiltrasi limfosit pada septa dan ruang alveolar (Gambar 1D).

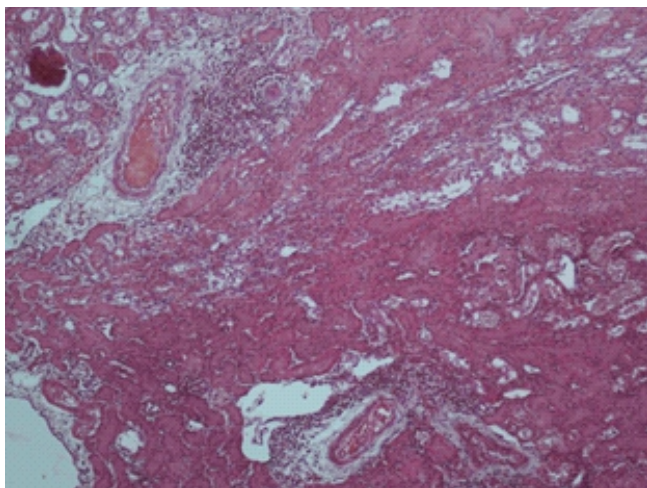
Gambar 1. Perubahan histopatologi pada limfa, hati, ginjal dan paru



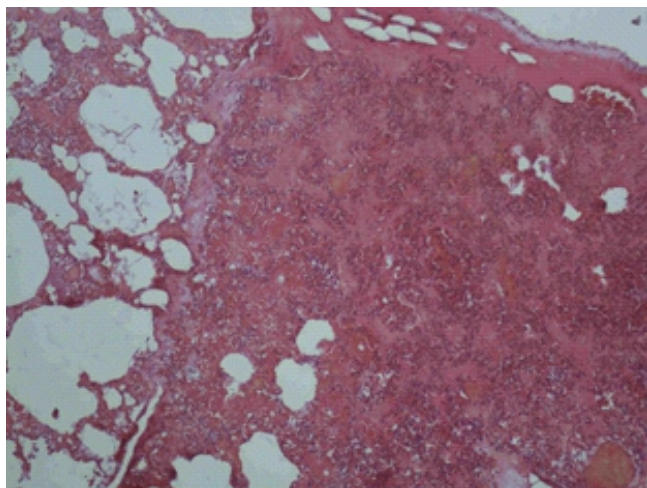
A. HE: Limfa mengalami terjadi deplesi sel sel limfoid secara massif dan hemoragi



B. HE: Menunjukkan kongestif, thrombus, infiltrasi sel radang periportal



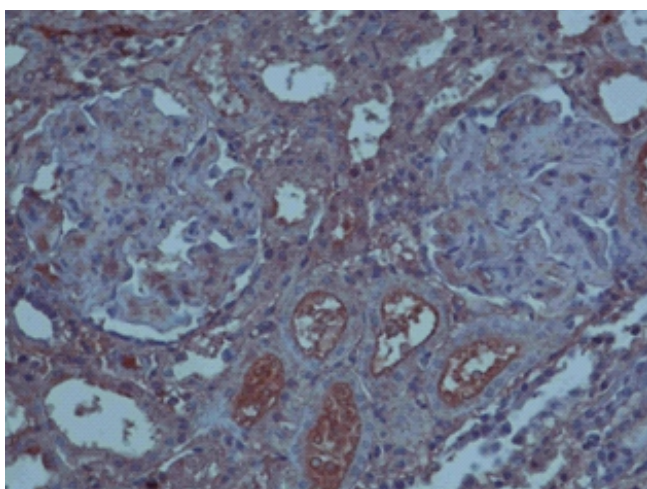
C. HE: Ginjal menunjukkan hemoragi, infiltrasi limfosit interstitial pada bagian kortek



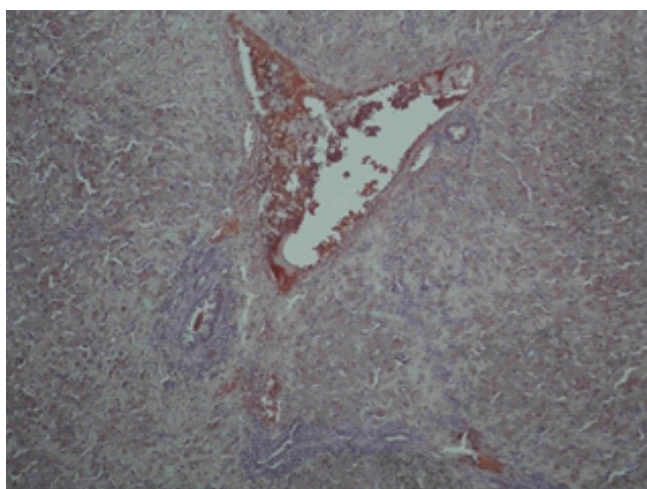
D. HE: Hemoragi paru, cairan oedema parah dan infiltrasi limfosit pada septa dan alveoler

Deteksi virus ASF dengan immunohistokimia pada masing masing babi menunjukkan distribusi virus ASF masuk secara sistemik ke seluruh organ meliputi limfa limfoglandula gastrohepatik, paru, hati, ginjal, jantung, usus dan otot.

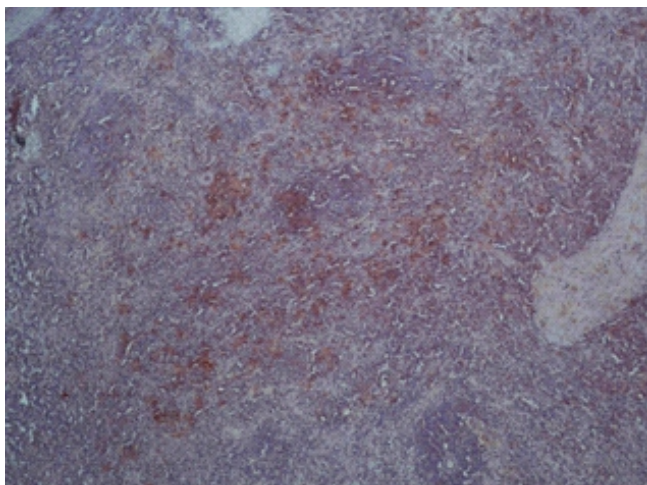
Gambar 2. Distribusi virus ASF pada ginjal, hati, limfa dan paru



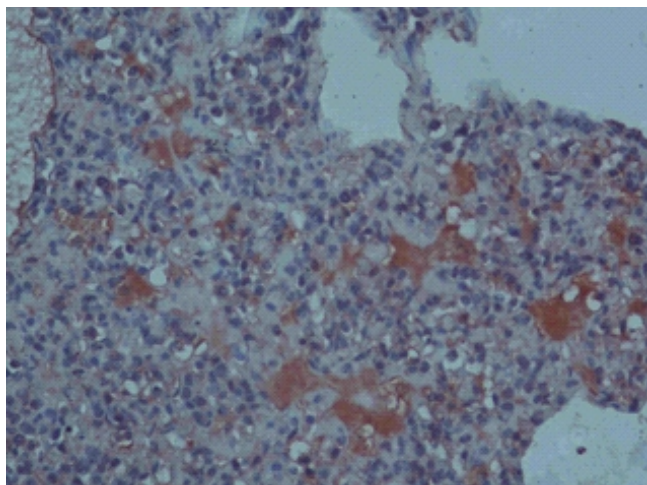
Warna coklat menunjukkan Virus ASF terdeteksi pada tubulus dan glomerulus ginjal



Warna coklat menunjukkan Virus ASF terdeteksi pada porta hepatica dan hepatosit



Warna coklat menunjukkan Virus ASF terdeteksi pada sel limfoid limfa



Warna coklat menunjukkan Virus ASF terdeteksi pada septa dan ruang alveoler

Tabel 3. Tingkat keparahan perubahan patologi jaringan masing masing babi serta distribusi virus ASF dengan pengujian imunohistokimia (IHK)

Histopal	Babi 1	Babi 2	Babi 3	IHK	Babi 1	Babi 2	Babi 3
Limfa	+++	++	++	Limfa	+++	+++	+++
Lgl	+++	++		Lgl	+++	++	
Paru	+++	+++	++	Paru	+++	+++	++
Hati	+++	++	++	Hati	+++	++	
Ginjal	+++	+++	+	Ginjal	+++	++	
Jantung	+	+	+	Jantung	++	++	++
Usus	+++	+++	++	Usus	+++	+++	++
Otot	+		+	Otot	+		±

+++ Severe ++ Moderat + Mild

Pembahasan

Secara umum menurut gejala klinis dan onset waktunya, ASF dibagi menjadi perakut, akut dan sub akut. Kasus ASF perakut memiliki ciri dan gejala klinis; disebabkan oleh strain dengan virulensi sangat ganas, gejala klinis sangat cepat, demam tinggi (lebih dari 42 C), anorexia, lethargy, dan terkadang mati mendadak. Kejadian perakut terjadi pada peternakan yang baru pertama tertular ASF atau pada populasi naïve. Kasus ASF akut ditandai dengan gejala klinis tingkat keganasan penyakit sedang hingga tinggi, terjadi pada populasi naïve setelah infeksi gelombang ASF pertama terjadi. Gejala klinis demam 40 – 42 C, lethargy, anorexia, dan babi terlihat tidak aktif, cyanosis pada telinga, hidung, kaki, perut, ekor dan sekitar perianal, gangguan pernafasan, lesi pada kulit, leleran hidung, muntah, diare, bercak darah kehitaman di sekitar perianal. Kasus ASF subacute disebabkan oleh strain dengan virulensi rendah. Gejala klinis hampir sama dengan kasus akut, angka kematian 30 - 70%, hemoragi dan oedema pada usus (Gomez et al. 2003).

African swine fever mimicking dengan leukopenia, lymphopenia, dan immunodefisiensi. Virus masuk melalui rute oral-nasal dari lingkungan terinfeksi atau dari babi lain yang terinfeksi. Replikasi virus terjadi di tonsil atau limfoglandula regional, menyebar melalui limfoglandula dan peredaran darah, menginfeksi ke seluruh organ dalam waktu 2 – 3 hari. African swine fever mimicking dengan kerusakan masif organ dan jaringan lymphoid yaitu limfa, limfoglandula, thymus, dan tonsil. Penyakit ini disebut penyebab demam berdarah, mirip dengan Ebola atau Marburg oleh infeksi filovirus (Smither SJ et al. 2013).

Perubahan histopatologi pada kasus akut ASF, meliputi perdarahan petechial dan ecchymotic pada beberapa organ, hemoragi, hiperemik splenomegali, oedema pulmonum, dan sumbatan intravascular koagulopati. Kasus subakute ASF, juga diikuti oedema, asites, dan hydroperikardium. Histopatologi yang terlihat pada limfa meliputi hiperemi pulpa merah, yang dipenuhi oleh sel darah merah, platelet trombus dan sel debris. Hemoragi parah terjadi pada ginjal dan limfoglandula gastrohepatik atau limfoglandula pada ginjal. Patogenesis terjadinya oedema pulmonum diawali dengan infeksi berat ASF pada makrofag intravaskuler pulmonum yang menjadi sel target virus ASF pada paru. Gejala anorexia pada babi terinfeksi secara signifikan menurunkan asupan nutrisi/protein menimbulkan hypooncotic oedema menimbulkan pembongkaran lemak tubuh, asites, hidrothorax, dan hydroperikardium, mimicking pada ASF subakute. Hati babi yang terinfeksi ASF, ditandai dengan kongesti serta peradangan multifocal area periporta, infeksi sel Kupffer, aktivasi sel sekretori pada akhir penyakit. Malfungsi hati juga memicu terjadinya oedema multifokal (Konno S et al. 1971; Sanchez-Cordon PJ et al. 2008)

Kesimpulan

Perubahan patologi babi ke 1 dan babi ke 2 memiliki tingkat keparahan moderat – severe, sementara babi ke 3 moderat. Virus ASF terdeteksi dengan pengujian IHK pada seluruh organ masing masing babi.

Daftar Pustaka

Gomez-Villamandos JC, Carrasco L, Bautista MJ, Sierra MA, Quezada M, Hervas J, et al. African swine fever and classical swine fever: a review of the pathogenesis. *Dtsch TierarztlWochenschr.* (2003) 110:165–9.

Gomez-Villamandos JC. Role of hepatic macrophages during the viral hemorrhagic fever induced by African Swine Fever Virus. *Histol Histopathol.* (2008) 23:683–91. doi: 10.14670/HH-23.683

Le VP, Jeong DG, Yoon SW, Kwon HM, T.Trinh BN, Nguyen TL, et al. Outbreak of African Swine Fever, Vietnam, 2019. *Emerg Infect Dis.* (2019) 25:1433–35. doi: 10.3201/eid2507.190303

Smither SJ, Nelson M, Eastaugh L, Laws TR, Taylor C, Smith SA, et al. Experimental respiratory Marburg virus hemorrhagic fever infection in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Int J Exp Pathol.* (2013) 94:156–68. doi: 10.1111/iep.12018

Konno S, Taylor WD, Hess WR, Heuschele WP. Liver pathology in African swine fever. *Cornell Vet.* (1971) 61:125–50.

Sanchez-Cordon PJ, Romero-Trevejo JL, Pedrera M, Sanchez-Vizcaino JM, Bautista MJ, Smith D, Cooper T, Pereira A, Jong J. Counting the cost: the potential impact of African swine fever on smallholders in Timor- Leste. *One Health.* (2019) 8:100109. doi: 10.1016/j.onehlt.2019. 100109

Suvarna, S.K., Layton, C., Bancroft, J.D. 2013. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*, 7th edition. Queen s Medical Centre, Nottingham, UK

Taylor, C.R., Rudbeck, L. 2013. *Immunohistochemical Staining Methods Sixth Edition*. Denmark : Dako Press

Kajian Sebaran Virus African Swine Fever pada Berbagai Organ Babi dengan Tingkat Keparahan yang Berbeda

Saswiyanti, E¹ dan Srihanto, E.A¹

¹Laboratorium Bioteknologi

Email : saswiyanti@gmail.com

ABSTRAK

African Swine Fever (ASF) adalah penyakit pada babi yang sangat menular dan dapat menyebabkan kematian pada babi hingga 100%. Kasus pertama kali terjadi di Sumatera Utara pada bulan September 2019 dan menyebar ke beberapa provinsi di Indonesia termasuk juga di Lampung. Studi ini bertujuan untuk melihat sebaran virus ASF di berbagai organ yang berbeda sehingga dapat ditentukan tindakan dan diagnosa berdasarkan status hewan terduga sakit pada tingkatan keparahan yang berbeda.

Tiga Ekor Babi dengan tingkat keparahan berbeda dari daerah kasus diambil dan dibandingkan perubahan patologi anatomi dan keberadaan virus dari berbagai organ yang berbeda. Babi 1 adalah babi mati dengan gejala klinis mengarah pada ASF, babi 2 adalah babi dengan gejala klinis ASF dan babi 3 adalah babi yang tampak sehat. Hasil nekropsi menunjukkan perubahan mengarah kepada ASF. Hasil analisis hasil Real Time Polimerase Chain Reaction (RT PCR) menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata nilai Cycle Treshold (CT) dari berbagai organ babi yang dianalisis (Pvalue 0,66). Berdasarkan hasil analisis terhadap data dapat disimpulkan bahwa infeksi ASF bersifat viremia dan sistemik, seluruh organ dapat terdeteksi virus ASF, shedding virus ditemukan juga pada feses.

Kata kunci: *African Swine Fever, Sebaran Virus, Babi*

Pendahuluan

African Swine Fever (ASF) adalah penyakit pada babi yang sangat menular dan dapat menyebabkan kematian pada babi hingga 100%. Penyakit ini mengakibatkan kerugian ekonomi yang sangat besar. Virus ASF sangat tahan hidup di lingkungan dan tahan terhadap disinfektan (FAO, 2017). ASF bersifat sistemik dengan gejala klinis yaitu demam (41°C), kemerahan di bagian perut, dada, telinga dan scrotum, diare berdarah, conjunctivitis, anoreksia, ataksia, paresis, kejang, perdarahan kulit (sianosis) dan tidak mau makan (OIE, 2020).

Kasus ASF di Indonesia pertama kali terjadi di Sumatera Utara pada bulan September 2019. Penyakit ini dinyatakan sebagai wabah sesuai Keputusan Menteri Pertanian Nomor 820/KPTS/ PK. 320/M/12/2019 tanggal 12 Desember 2019 dan diumumkan di website OIE pada tanggal 17 Desember 2019 (OIE, 2020).

Penyakit ini kemudian menyebar ke beberapa daerah di Indonesia. Di Lampung kasus pertama kali di laporkan pada bulan Juli 2020 di Kabupaten Lampung Selatan.

African Swine Fever dapat menyebar melalui kontak langsung, serangga, pakaian, peralatan, pakan dan kendaraan yang terkontaminasi. Oleh karena itu perlu langkah strategis untuk mencegah masuknya virus ASF dengan penerapan biosekuriti dan manajemen peternakan babi yang baik serta pengawasan yang ketat dan intensif, deteksi dini dan ketepatan diagnosa sehingga penyakit dapat segera dikendalikan (FAO, 2017) karena sampai dengan saat ini belum ditemukan vaksin ASF.

Studi ini merupakan studi pendahuluan yang bertujuan untuk melihat sebaran virus ASF di berbagai organ yang berbeda sehingga dapat ditentukan tindakan dan diagnosa berdasarkan status hewan terduga sakit pada tingkatan keparahan yang berbeda.

Materi dan Metode

Materi yang digunakan untuk pengujian yaitu cadaver babi dan babi hidup, organ (paru, hati, limpa, usus, jantung, ginjal, otot), feses dan darah dari babi yang hidup. Metode yang digunakan yaitu dengan real time PCR.

Desain penelitian

Tiga Ekor Babi dengan tingkat keparahan berbeda dari daerah kasus di Kecamatan Sidomulyo Kabupaten Lampung Selatan. Babi – babi tersebut dibandingkan gejala klinis, perubahan patologi anatomi dan keberadaan virus dari berbagai organ yang berbeda.

Babi	Gejala Klinis	Patologi Anatomi (PA)	Analisis RT PCR (Nilai CT)
Babi 1	Babi mati	Gejala klinis yang tampak babi yang mati	Nilai CT Organ, darah, swab kandang, feses
Babi 2	Babi sakit	Gejala klinis yang tampak babi yang sakit	Nilai CT Organ, darah, swab kandang, feses
Babi 3	Babi tampak sehat	Tanpa Gejala Klinis	Nilai CT Organ, darah, swab kandang, feses

CT: Cycle Threshold

RT PCR: Real Time Polimerase Chain Reaction

Data nilai Ct PCR dari organ babi yang dianalisis tersebut selanjut di bandingkan dan dianalisis dengan analisis ragam ANOVA untuk melihat apakah ada perbedaan nyata nilai CT antar organ dari ketiga babi tersebut.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengumpulan dan analisis data terhadap ketiga babi dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2. Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa walaupun secara fisik ketiga babi berbeda tetapi hasil nekropsi menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata. Babi pertama adalah babi mati dengan gejala klinis mengarah pada ASF, babi kedua yang masih hidup dengan gejala klinis ASF dan babi ketiga adalah babi yang tampak sehat dan aktif bergerak. Hasil nekropsi menunjukkan perubahan yang mengarah pada ASF pada semua babi.

Tabel 1. Perbandingan gejala klinis dan patologi anatomi antar babi dengan tingkat keparahan yang berbeda

Babi	Gejala Klinis	Patologi Anatomi (PA)
Babi 1 Babi mati	- Bangkai - Terlihat adanya bintik pendarahan pada kulit telinga	- Pembengkakan limpa - Perdarahan pada limfoglandula hepatica dan limfoglandula mesenterika - Peradarahan pada usus halus dan colon - Perdarahan bintik pada ginjal
Babi 2 Babi sakit	- Lemah - Paralisis - Suhu tubuh tinggi - Anoreksia	- Perdarahan pada Igl hepatica dan Igl mesenterika - Peradarahan pada usus halus dan colon - Perdarahan bintik pada ginjal
Babi 3 Babi tampak sehat	- Tanpa gejala klinis - Aktif bergerak	- Perdarahan pada limfoglandula hepatica dan limfoglandula mesenterika - Perdarahan bintik pada ginjal

African Swine Fever adalah penyakit pada babi yang sangat menular melalui kontak langsung, serangga, pakaian, peralatan, pakan dan kendaraan yang terkontaminasi (FAO, 2017). Ada kemungkinan walaupun dari kandang yang berbeda karena berada di lokasi yang sama, babi ketiga yang tidak menunjukkan gejala klinis sudah terpapar. Babi ketiga belum menampilkan gejala klinis karena dalam periode masa inkubasi yaitu 4-19 hari (Tao et al. 2020).

Hasil Nekropsi diperkuat dengan hasil uji PCR menunjukkan bahwa pada semua organ diperoleh hasil positif mengandung virus ASF dengan nilai Ct <38. Sebaran virus di berbagai organ dari ketiga babi tersebut selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan nilai Ct antar babi dengan tingkat keparahan yang berbeda

Organ	Babi 1		Babi 2		Babi 3				
	Nilai Ct	Nilai Ct	Nilai Ct	Nilai Ct	Nilai Ct	Nilai Ct			
Darah	n/a	n/a	n/a	14,87	14,59	14,73	14,13	13,89	14,01
Limpa	18,2	18,17	18,18	19,39	19,47	19,43	19,14	19,17	19,15
Hati	18,37	18,79	18,58	18,39	18,55	18,47	19,35	18,86	19,11
Paru-paru	19,16	19,06	19,11	17,33	17,27	17,3	22,8	22,52	22,66
Jantung	23,54	23,51	23,52	22,95	23,06	23	22,66	23,13	22,89
Ginjal	20,24	20,39	20,31	18,79	18,41	18,6	21,73	21,58	21,65
Usus	24,27	23,94	24,11	23,23	23,52	23,37	24,61	24,67	24,64
Otot	21,68	21,69	21,68	19,97	19,96	19,96	24,71	24,68	24,69
Feses	29,89	30,3	30,09	31,49	31,07	31,28	30,72	31,86	31,29

Hasil analisis ragam ANOVA terhadap ketiga babi menunjukkan hasil tidak berbeda nyata P-value = 0,66 (P>0,05) dapat dilihat pada Tabel 3. Hal ini sesuai dengan FAO (2017) yang menyatakan bahwa ASF bersifat sistemik dan viremia sehingga merata dapat ditemukan diseluruh organ walaupun masih dalam tahap masa inkubasi dan belum menunjukkan gejala klinis (Tao et al., 2020)

Tabel 3. Distribusi ASF pada tiga babi

Source of Variation	SS	Df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	14,28533	2	7,142663	0,418211	0,663586	3,4668
Within Groups	358,6609	21	17,07909			
Total	372,9463	23				

Selain pada organ, virus juga ditemukan pada feses yang berada pada lingkungan. Hal ini menunjukkan adanya shedding virus. Hal ini harus menjadi perhatian mengingat keberadaan virus ASF dilingkungan yang tahan lama dan tahan terhadap desinfektan (Vergne et al., 2020). Food and Agricultural Organisation (2017) menyatakan bahwa virus ASF bertahan di dalam feses pada suhu ruang selama 11 hari, daging tanpa tulang 105 hari dan kandang yang terkontaminasi selama 1 bulan.

Diharapkan dengan studi ini dapat memberikan masukan keberadaan dan sebaran virus ASF sehingga pengambilan sampel tidak hanya terfokus pada darah saja. Deteksi dini dan diagnosa penyakit dapat lebih cepat, pengendalian penyakit pun dapat segera dilakukan. Selain itu dengan mengetahui shedding virus ASF pada kandang dapat dijadikan faktor penentu untuk waktu kosong kandang sampai dengan diisi kembali.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis terhadap data dapat disimpulkan bahwa infeksi ASF bersifat viremia dan sistemik. Seluruh organ dan feses babi dengan tingkat keparahan yang berbeda dapat terdeteksi virus ASF.

Saran

1. Perlu pengembangan dan analisis lebih lanjut korelasi jumlah virus dalam organ, feses dan darah dengan Nilai Ct yang diperoleh.
2. Korelasi dan analisis lebih lanjut dengan data perubahan histopatologi dan imunohistokimia.

Daftar Pustaka

D. Tao., D. Sun., Y. Liu., S. Wei., Z. Yang, T. An., F. Shan., Z. Chen., J. Liu., 2020. One year African Swine Fever Outbreak in China. *Acta Tropica Journal*. Vol. 211 Hal. 1-8.

Food and Agricultural Organisation, 2017. African Swine Fever : Detection and Diagnosis. A Manual for Veterinarians. Rome: FAO.

Office International des Epizooties, 2020. Global Situation of ASF Report N.47:2016-2020. WAHIS Department. OIE. <http://www.tads.org>.

T. Vergne., G. Claire., D. Pfeiffer., 2020. Undetected circulation of African Swine Fever in Wild Boar Asia. *Emerging Infectious Disease Journal*. Oktober 2020 No.10 Vol.26 Hal. 2480 – 2482. DOI: 10.3201/eid2610.200608

Lampiran



Gambar 1. Perubahan Patologi Anatomi (PA) pada organ hati, limpa dan ginjal babi 1



Gambar 2. Perubahan Patologi Anatomi (PA) pada organ ginjal babi 2



Gambar 3. Perubahan Patologi Anatomi (PA) pada organ hati pada babi 3



Gambar 4. Perbandingan Patologi Anatomi (PA) pada organ limpa dari ketiga babi

Gambaran Patologi Suspect *African Swine Fever (ASF)* pada Babi Asal Kabupaten Lampung Timur

Joko Siswanto, Eva Yulianti, Bayu Triwibowo, Ahyul Heni

Email :

ABSTRAK

Pada tanggal 7 Oktober 2020, laboratorium patologi menerima sampel bangkai babi betina umur 2 bulan dari Kabupaten Lampung Timur, dengan gejala klinis demam tinggi, anoreksia, dan konstipasi serta kadang-kadang ada yang mengalami diare. Data hasil nekropsi menunjukkan pada kulit berwarna kemerahan pada bagian kulit telinga dan daerah abdomen (haemorrhagi), di bagian jantung menunjukkan hemoraghi, terdapat cairan hydropericard dan jantung berwarna merah kehitaman, paru mengalami kongesti, berwarna merah kehitaman, oedema. Limpa berwarna gelap (splenomegali). Hasil pengujian Mikroskopis organ paru mengalami kongesti, oedema di alveoli, akumulasi sel radang mononuklear dan kerusakan ephitel brounchus, jantung ditemukan kongesti, pendarahan difus, dan infiltrasi sel radang mononuklear pada lapisan epikardium. Hati kongesti, haemoragi difus, akumulasi sel radang mononuklear, pelebaran sinusoid dan multifokal nekrosa. Limpa kongesti, perdarahan diffuse, deplesi pulpa putih dan mengalami atropi secara masif, akumulasi sel radang mononuclear. Usus kongesti, perdarahan difus, nekrosa masif, akumulasi limfosit di submukosa dan mukosa. Ginjal kongesti, perdarahan diffuse, infiltrasi sel radang mononuklear, nekrosa pada glomerulus. Dari hasil pemeriksaan patologi anatomi dan pengujian histopatologi babi terinfeksi suspect *African Swine Fever*. Tujuan dari penulisan ini adalah untuk memberikan gambaran patologi penyakit *African Swine Fever (ASF)* Babi asal Kabupaten Lampung Timur secara makroskopis dan mikroskopis. Perubahan makroskopis diamati dengan metode pengamatan langsung perubahan patologis pada semua organ dan pemeriksaan mikroskopis dengan metode histopatologi. Hasil pengujian menunjukkan bahwa perubahan yang ditemukan pada babi asal Lampung Timur ini memiliki banyak kesamaan patologis baik secara makroskopis dan mikroskopis dengan beberapa kasus *ASF* tipe akut yang pernah dilaporkan dari beberapa literatur dan mendukung diagnosa *African Swine Fever (ASF)*.

Kata Kunci: *African Swine Fever, Patologi anatomi, Histopatologi*

Pendahuluan

African swine fever (ASF) pertama kali diidentifikasi pada tahun 1921 di negara Kenya (Afrika selatan). Di Asia virus ini ditemukan pada babi liar pada tahun 2010. Kemudian wabah menyebar pada bulan februari 2019 di Asia Tenggara hingga bulan desember 2019 masuk ke wilayah Indonesia dan di umumkan melalui keputusan Menteri Pertanian 820/Kpts/PK.320/M/12/2019 tentang pernyataan wabah demam babi afrika swine fever di beberapa kabupaten/ Kota di Propinsi Sumatera Utara. Pada tahun 2020, kasus *ASF* mulai teridentifikasi masuk ke wilayah kerja Balai Veteriner (BVet) Lampung. Bulan Juli 2020 dilaporkan terjadi sebanyak 878 kematian Babi di Kota Palembang dengan hasil uji laboratorium adalah positif *ASF* (Pandora, 2020).

Pada bulan Agustus 2020 juga dilaporkan kematian Babi sebanyak 400 ekor dari total populasi 535 ekor (74,8%) di Kecamatan Palas Kabupaten Lampung Selatan (Budhiana, 2020). Bulan Oktober 2020 tim investigasi Balai Veteriner Lampung juga melaporkan adanya kematian Babi di Kecamatan Braja Seleh Kabupaten Lampung Timur yang sudah dimulai sejak bulan September 2020. Kematian bahkan mencapai 90% pada salah satu desa dengan gejala klinis terlihat tidak nafsu makan, keluar bintik kemerahan sampai kebiruan di pangkal telinga dan kulit bawah tubuh serta muka. Babi yang menunjukkan gejala tersebut mengalami kematian rata-rata 2-3 ekor per hari. Diagnosa hasil investigasi tersebut adalah *African Swine Fever (ASF)*.

Masalah penyakit merupakan penyebab utama kegagalan produksi ternak babi karena dapat-

mengakibatkan kerugian ekonomis dalam hal mortalitas, morbiditas, laju pertumbuhan dan konversi pakan yang buruk serta peningkatan biaya produksi (Blakely and Bade, 1994). Salah satu penyakit penting yang tersebut adalah African Swine Fever (ASF). Menurut Sendow et al. (2020) African swine fever (ASF)

atau dikenal dengan demam babi Afrika merupakan penyakit infeksius pada babi yang bersifat hemoragik yang disebabkan oleh virus DNA beruntai ganda, dalam famili Asfarviridae dan genus Asfivirus. Virus ini menyebabkan demam berdarah dengan tingkat kematian yang tinggi pada babi domestik dan babi liar.

Tujuan

Tujuan dari penulisan artikel ini adalah untuk memberikan gambaran patologi penyakit African Swine Fever (ASF) Babi asal Kabupaten Lampung Timur secara makroskopis dan mikroskopis.

Materi Metode

Alat dan Bahan

Bahan dan alat yang digunakan untuk nekropsis kadaver babi 1 ekor antara lain pisau set untuk nekropsis hewan besar, PPE, scalpel, gunting, pot specimen, kamera. Bahan dan alat untuk pembuatan preparat histopatologi antara lain Buffer Neutral Formalin (BNF) 10%, alkohol 95%, alkohol, 80%, alkohol 70%, xylol, akuades, parafin, cassette, mikrotom, objek glass, deck glass, larutan Hematoksin Eosin (HE), dan mikroskop cahaya.

Pembuatan Preparat Histopatologi

Sampel organ jantung, limpa, hati dan usus yang diambil dan difiksasi BNF 10% proses triming dengan ketebalan 1 cm, kemudian organ dimasukkan ke dalam tissue cassette. Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi di dalam larutan etanol bertingkat 70%, 80%, 90%, dan alkohol absolut. Proses clearing dilakukan menggunakan larutan xylol. Blocking jaringan dilakukan di dalam parafin cair pada suhu kamar. Blok parafin yang berisi jaringan dicutting setebal 3 µm dengan menggunakan rotary microtome, dilanjutkan embedding pada gelas obyek. Preparat dikeringkan pada suhu kamar hingga menempel pada gelas objek. Selanjutnya, preparat tersebut diwarnai dengan pewarnaan HE.

Hasil dan Pembahasan

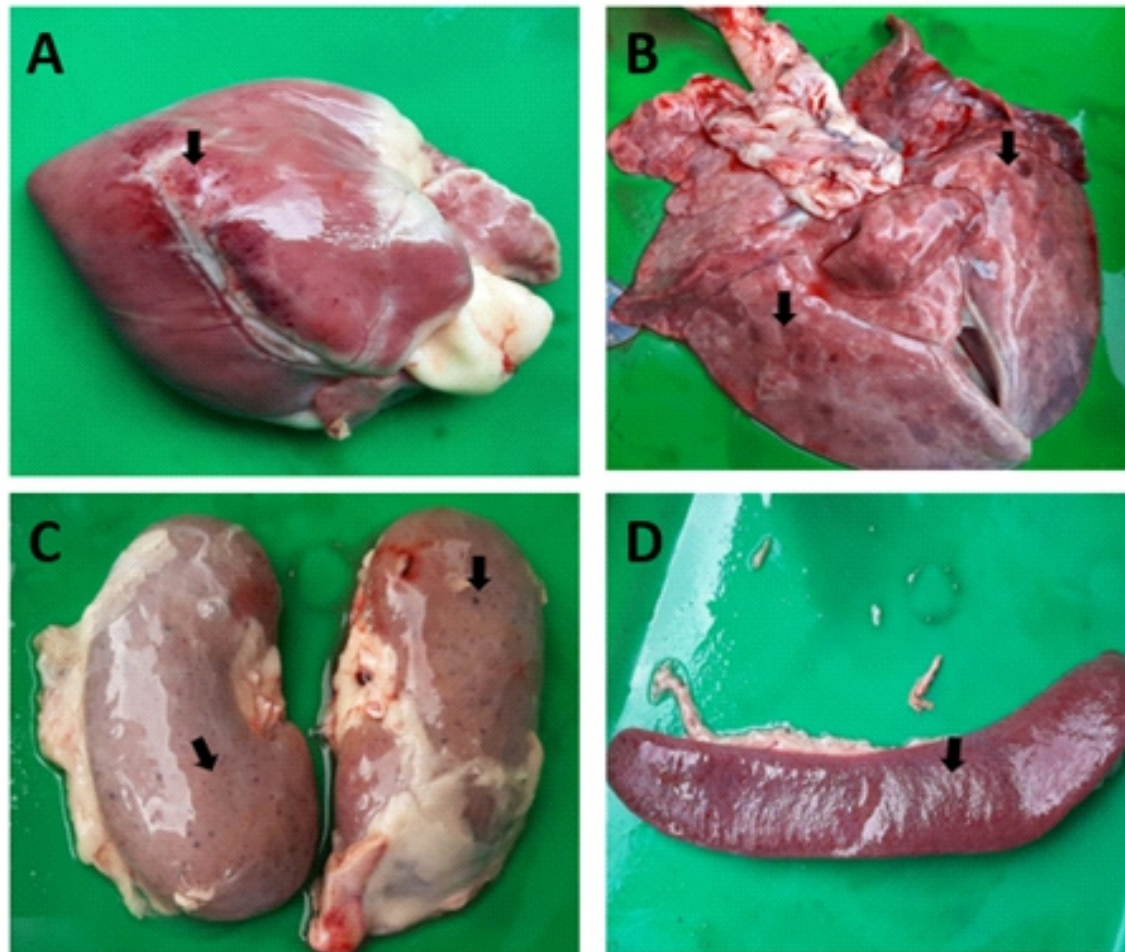
Patologi Makroskopis

Hasil nekropsis berupa perubahan makroskopis terdapat pada Tabel 1.

Organ	Perubahan Makroskopis
Kulit	Berwarna kemerahan pada bagian kulit telinga dan daerah abdomen (haemorrhagi)
Konjungtiva	Anemis
Hidung	Tidak ada perubahan yang signifikan
Mulut	Tidak ada perubahan yang signifikan
Trakea	Terdapat eksudat berbusa sereus
Esofagus	Tidak ada perubahan yang signifikan
Jantung	Hemoraghi, terdapat cairan hydropericard dan jantung berwarna kemerahan
Paru	Kongesti, berwarna merah kehitaman, oedema
Hati	Terdapat spot putih pada permukaan hati dan membesar
Limpa	Berwarna gelap dan membesar
Limfoglandula Interna hati	Terjadi pembengkakan
Usus Halus	Perdarahan pada lapisan serosa secara diffuse
Usus Besar	Perdarahan diffuse
Ginjal	Membesar, terdapat bintik-bintik merah pada permukaan ginjal (turkey egg) ringan

Sumber : Hasil Uji Laboratorium Balai Veteriner Lampung (2020)

Menurut Sanchez-Vizcano et al. (2015) infeksi ASF menghasilkan 4 bentuk gejala klinis seperti perakut, akut, subakut dan kronis, tergantung dari virulensi strain yang menginfeksi, strain babi dan status kekebalan. Hal ini menyebabkan gejala klinis cukup bervariasi, semua tipe penyakit ASF tersebut mempunyai angka morbiditas yang tinggi, tetapi mortalitasnya bervariasi tergantung tipe penyakitnya (Sendow et al., 2020). Perbedaan gejala klinis ini juga mempengaruhi perubahan makroskopis. Hasil perubahan makroskopis Babi suspect African Swine Fever (ASF) yang ditemukan disajikan pada gambar 1.

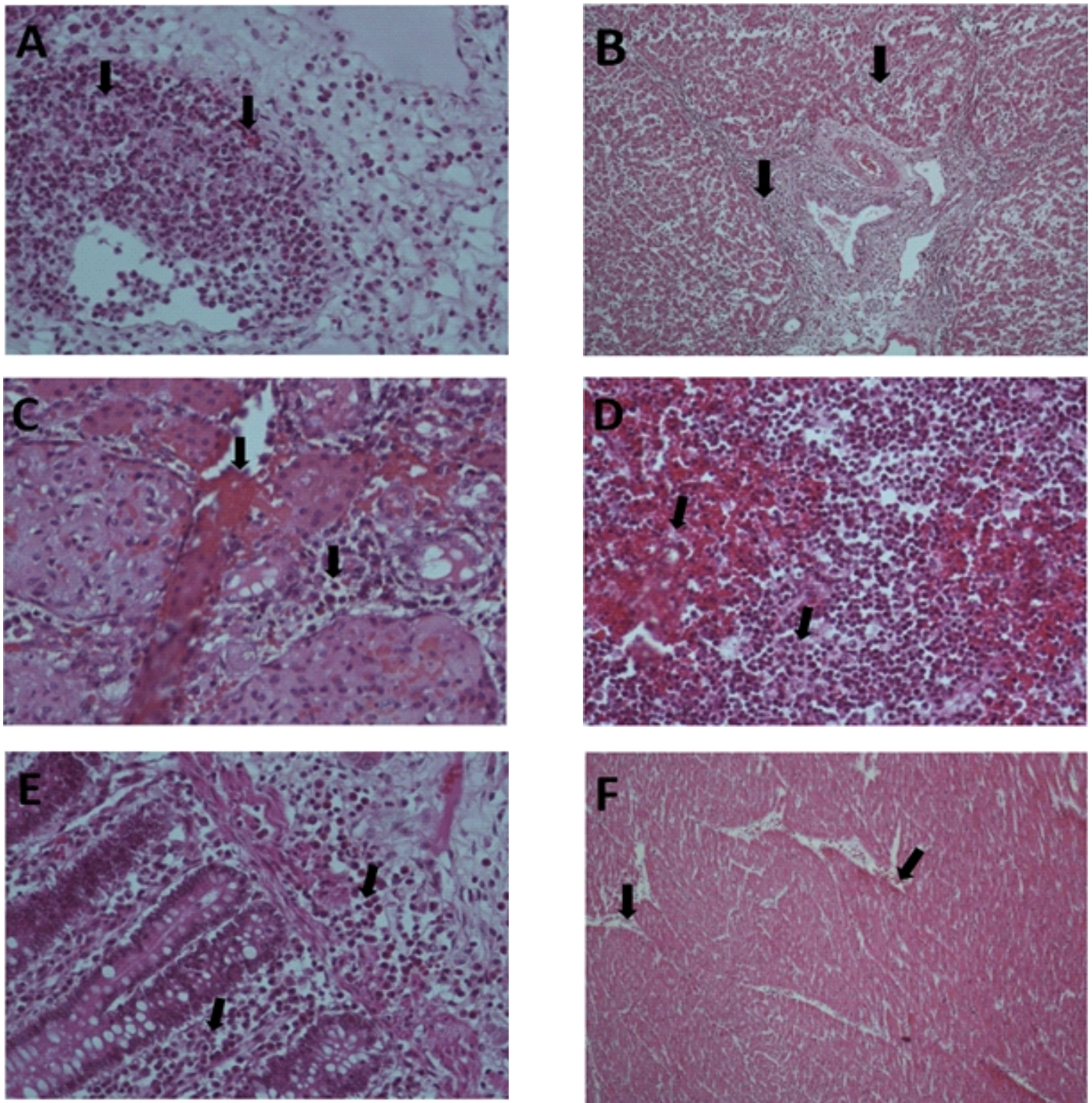


Gambar 1. Perubahan Makroskopis Babi suspect African Swine Fever (ASF)

- A. **Jantung** : Hemoraghi, terdapat cairan hydropericard dan jantung berwarna kemerahan
- B. **Paru** : Kongesti, berwarna merah kehitaman, oedema
- C. **Ginjal** : Membengkak, terdapat bintik-bintik merah pada permukaan ginjal (turkey egg) Ringan
- D. **Limpa** : Berwarna gelap dan membengkak.

Hasil nekropsi pada babi yang mati menunjukkan kelainan pada organ yang sama seperti yang dikemukakan oleh Sanchez-Vizcano et al. (2015) dan Kipanyula & Nong'ona (2017) seperti eritema pada kulit, edema paru limpa membengkak dan hiperemi sehingga warna limpa menjadi hitam, hati bengkak, terdapat cairan pada pericard dan sering ditemukan petechie atau haemorrhagi pada jantung, ginjal, dan limfonodul. Hasil perubahan makroskopis berupa oedema pada pulmo juga sama dengan yang ditemukan oleh Salguero (2020) yang bersifat parah (severe). Karakteristik utama perubahan makroskopik pada ASF menurut Salguero et al. (2002) berupa multifokal haemorrhagic splenomegaly dan hemoragi ptechie pada permukaan ginjal juga ditemukan pada hasil nekropsi.

Perubahan mikroskopis juga dilakukan secara kualitatif dengan deskripsi lesi mikroskopik pada preparat histopatologi. Perubahan-perubahan tersebut disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Perubahan Mikroskopis Babi suspect African Swine Fever (ASF) (tanda panah hitam).
A. Pulmo (40X); **B.** Hati (10X); **C.** Ginjal (40X); **D.** Limpa (40X); **E.** Usus (40X); **F.** Jantung (10X).

African Swine Fever (ASF) memiliki karakteristik gejala leukopenia berupa limfopenia dan imunodefisiensi yang berkaitan langsung dengan organ limpa. Hasil pengujian pada organ limpa 2(D) terlihat adanya kongesti, perdarahan diffuse di sekitar pulpa merah, deplesi pulpa putih dan mengalami atrofi secara masif, akumulasi sel radang mononuklear. Secara histopatologi ASF akut menurut Salguero (2020) pada limpa menunjukkan sel darah merah yang melimpah di dalam pulpa merah dan penipisan limfoid yang parah, dengan folikel limfoid kecil. Pada gambar 2(A) perubahan pada pulmo berupa kongesti, oedema di alveoli, akumulasi mononuklear, kerusakan ephitel brounchus dan infiltrasi sel radang mononuklear. Perubahan serupa juga pernah dilaporkan oleh Moulton and Coggins (1968) bahwa pada ASF tipe akut edema paru sering terjadi, dan sering disertai sel mononuklear nekrotik di septa dan lumina alveolaris. Organ Hati (2B) terlihat adanya kongesti, haemoragi difus, akumulasi sel radang mononuklear, pelebaran sinusoid dan multifokal nekrosa. Pada organ Ginjal (2C) menunjukkan kongesti, perdarahan diffuse, infiltrasi sel radang mononuklear, dan nekrosa pada glomerulus. Usus (2E) juga mengalami kongesti, perdarahan difus, nekrosa masif

pada serosa hingga mukosa, akumulasi limfosit di submukosa dan mukosa. Pada Jantung (2F) ditemukan lesi kongesti, pendarahan difus, dan infiltrasi sel radang mononuklear pada lapisan epikardium.

Hervas et al. (1996) melaporkan perubahan ASF tipe akut pada ginjal berupa glomerulonefritis proliferasif akut, edema dan infiltrasi makrofag dapat terlihat di interstitium ginjal. Pikalo et al. (2020) juga melihat perubahan histopatologi pada jantung babi liar yang terinfeksi ASF berupa kongesti, pendarahan difus, dan infiltrasi sel radang mononuklear pada lapisan epikardium. Perubahan-perubahan yang ditemukan pada Babi asal Lampung Timur ini memiliki banyak kesamaan patologi secara makroskopis dan mikroskopis dengan beberapa kasus ASF yang pernah dilaporkan dari beberapa literatur diatas. Hasil pengujian PCR laboratorium Bioteknologi juga meneguhkan hasil positif ASF.

Kesimpulan

Gambaran perubahan makroskopis dan mikroskopis yang ditemukan mendukung diagnosa suspect African Swine Fever (ASF).

Saran

Untuk melakukan peneguhan diagnose yang pasti perlu dilakukan uji Imunohistokimia (IHC) dengan monoclonal/ polyclonal antibody ASF.

Daftar Pustaka

Blakely J, and Bade DH. 1994. The Science Of Animal Husbandry, 6 th Ed. Prentice hall Carrier & Technology, Madison, NJ. Pp. 425-437

Budhiana, Ny. 2020. Ratusan Babi di Baliagung Palas Mati Mendadak. <https://www.lampost.co/berita-ratusan-babi-di-baliagung-palas-mati-mendadak.html> diunduh pada 15 November 2020

Hervas J, Gomez-Villamandos JC, Mendez A, Carrasco L, Sierra MA. The lesional changes and pathogenesis in the kidney in African swine fever. *Vet Res Commun.* (1996) 20:285–99. doi: 10.1007/BF00366926

Kipanyula MJ, Nong'ona SW. 2017. Variations in clinical presentation and anatomical distribution of gross lesions of African swine fever in domestic pigs in the southern highlands of Tanzania: a field experience. *Trop Anim Health Prod.* 49:303-310

Moulton, J. and L. Coggins. 1968. Comparison of lesions in acute and chronic African swine fever. *Cornell Vet*, 1968. 58(3): p. 364-88

OIE. African swine fever (infection with African Swine Fever Virus). Chapter 3.8.1. https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.08.01_ASF.pdf

Pandora, A. 2020. Ini Hasil Uji Sampel Ratusan Babi yang Mati Mendadak di Palembang. <https://news.sariagri.id/58218/ini-hasil-uji-sampel-ratusan-babi-yang-mati-mendadak-di-palembang> diunduh pada 15 November 2020

Pikalo, J Marie-ES, Julia S, Angele B, Marylène T, Ann BC, Anna MG, Melina F, Martin B, Sandra B. 2020. The African swine fever virus isolate Belgium 2018/1 shows high virulence in European wild boar. <https://doi.org/10.1111/tbed.13503>

Salguero FJ .2020. Comparative Pathology and Pathogenesis of African Swine Fever Infection in Swine. *Front. Vet. Sci.* 7:282. doi: 10.3389/fvets.2020.00282

Sanchez-Vizcano JM, Mur L, Gomez-Villamandos JC, Carrasco JL. 2015. An update on the epidemiology and pathology of African swine fever. *J Comp Pathol.* 15:9-21

Sendow, I, A Ratnawati, NLPI Dharmayanti, M Saepulloh. 2020. African Swine Fever: Penyakit Emerging yang Mengancam Peternakan Babi di Dunia. *WARTAZOA Vol. 30 No. 1 Th. 2020 Hlm. 15-24 DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/wartazoa.v30i1.2479>*

Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap *Salmonella sp.* yang Diisolasi dari Peternakan Unggas di Pulau Belitung

Pramesthi, A., Rosmalayanti

Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Lampung

Email : arum.pramesthi88@gmail.com

ABSTRAK

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui sensitivitas antibiotik terhadap *Salmonella sp.* yang diisolasi dari swab kloaka ayam asal peternakan unggas di pulau Belitung. Pengujian menggunakan 32 sampel swab kloaka unggas yang selanjutnya diisolasi dan diidentifikasi terhadap *Salmonella sp.* Sampel yang teridentifikasi sebagai *Salmonella sp.* selanjutnya dilakukan uji sensitivitas antibiotik, diameter zona hambat yang terbentuk dari masing-masing antibiotik diukur dengan satuan milimeter dan dibandingkan dengan standar dari National Committee for Clinical Laboratory Standards. Hasil pengujian menunjukkan bahwa *Salmonella sp.* yang diisolasi dari swab kloaka ayam asal peternakan unggas di pulau Belitung sensitif terhadap antibiotik ampicillin, cephalothin, ciprofloxacin dan gentamicin. Antibiotik oxytetracycline sensitif pada sampel *Salmonella sp.* kode AA2 dan menunjukkan zona hambat intermediet pada sampel dengan kode K. Antibiotik chloramphenicol sensitif pada sampel *Salmonella sp.* kode AA2 dan menunjukkan zona hambat resisten pada sampel dengan kode K.

Kata kunci: *Isolasi, Salmonella, Sensitivitas Antibiotik, Unggas.*

Pendahuluan

Salmonella sp. adalah agen etiologi yang dapat mengakibatkan salmonellosis pada manusia dan hewan. Salmonellosis merupakan penyakit enterik yang umum dan tersebar luas di dunia. Bakteri ini adalah penyebab diare akut dan kronis bahkan kematian yang signifikan dibanyak spesies hewan maupun manusia Salmonellosis menjadi penyakit infeksius yang paling berpengaruh terhadap produksi unggas komersial. *Salmonella pullorum*, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis* adalah agen patogen yang sering menyebabkan penyakit

salmonellosis pada unggas komersial.

Mengingat kerugian ekonomi yang tinggi dan beberapa spesies *Salmonella* unggas dapat bersifat zoonosis maka pemantauan infeksi *Salmonella* pada unggas menjadi hal yang perlu diperhatikan. Selain itu pilihan terapi antibiotik yang diberikan menjadi salah satu kunci keberhasilan dalam pengendalian salmonellosis. Penelitian ini dilakukan dengan cara deteksi keberadaan *Salmonella* pada unggas di Pulau Belitung dan memberikan rekomendasi antibiotik yang tepat sebagai terapi salmonellosis pada peternakan unggas di Pulau Belitung.

Materi dan Metode

Materi

Sampel yang diuji adalah sampel swab kloaka ayam dari peternakan unggas di pulau Belitung. Data sampel tertulis pada Table 1 dan Tabel 2. Media yang digunakan adalah NaCl, *Buffered Peptone Water* (BPW), *Rappaport-Vassiliadis* (RV) *Enrichment Broth*, *Brilliant Green* agar (BGA), *Xylose Lysine Deoxycholate* agar (XLD), *Mac Conkey* agar (MC), *Triple Sugar Iron* agar (TSIA), *nutrient* agar (NA), *Tryptone Water* (TW), *Lysine Iron* agar (LIA), *Sulfide Indole Motility* (SIM), *Simmons Citrato* agar (SCA), *Kovac's Reagent*, *Nutrient* agar (NA), *Mueller Hinton* agar (MHA) kertas oksidase, KOH 3% dan alkohol.

Tabel 1. Data sampel swab kloaka ayam layer

No Agenda	Kode Sampel	Asal Desa	Ras	Pool	Umur
A032009007	17	Bentaian	Layer	10/1	90 minggu
A032009007	L	Lalang Jaya	Layer	10/1	35 minggu
A032009008	01	Batu Itam	Layer	10/1	72 minggu
A032009008	02	Batu Itam	Layer	10/1	60 minggu
A032009008	Aa2	Terong	Layer	10/1	75 minggu
A032009008	Aa1	Terong	Layer	10/1	88 minggu
A032009008	B2	Air Jeruk	Layer	10/1	95 minggu
A032009008	B1	Air Jeruk	Layer	10/1	30 minggu
A032009008	A1	Air Jeruk	Layer	10/1	3 minggu
A032009016	AA	Air Saga	Layer	10/1	40 minggu

Tabel 2. Data sampel swab kloaka ayam broiler

No Agenda	Kode Sampel	Asal Desa	Ras	Pool	Umur
A032009007	14	Bentaian	Broiler	10/1	35 hari
A032009007	22	Kebuli	Broiler	10/1	20 hari
A032009007	10A	Kurnia Jaya	Broiler	10/1	35 hari
Po32009007	A	Lalang Jaya	Broiler	10/1	14 hari
A032009007	H	Lalang Jaya	Broiler	10/1	30 hari
A032009008	P	Batu Itam	Broiler	10/1	25 hari
A032009008	BB	Terong	Broiler	10/1	25 hari
A032009008	KK	Terong	Broiler	10/1	10 hari
A032009008	A2	Air Jeruk	Broiler	10/1	14 hari
A032009009	A1	Sijuk	Broiler	10/1	19 hari
A032009009	B1	Sijuk	Broiler	10/1	27 hari
A032009009	C1	Sijuk	Broiler	10/1	35 hari
A032009010	A	Air Batu	Broiler	10/1	19 hari
A032009010	M	Air Batu	Broiler	10/1	30 hari
A032009011	K	Buluh Tumbang	Broiler	10/1	40 hari
A032009011	12	Air Merbau	Broiler	10/1	14 hari
A032009011	13	Air Merbau	Broiler	10/1	35 hari
A032009011	14	Air Merbau	Broiler	10/1	35 hari
A032009011	AA	Perawas	Broiler	10/1	25 hari
A032009011	CC	Perawas	Broiler	10/1	25 hari
A032009011	DD	Perawas	Broiler	10/1	14 hari
A032009011	EE	Perawas	Broiler	10/1	26 hari

Metode

1. Pengambilan Sampel

Sampel diambil di peternakan ayam layer dan broiler di Pulau Belitung. Setiap farm/peternakan diambil satu hingga dua flock dengan umur ayam yang berbeda. Sampel swab kloaka ayam diambil dengan legeartis dan sesuai dengan kesrawan. Setiap flock diambil 10 sampel swab kloaka ayam yang selanjutnya di pool menjadi 1 tabung dalam media transport NaCl steril. Selama dalam perjalanan sampel dipastikan tidak terkontaminasi dan suhunya pada kisaran 0-8°C.

2. Isolasi Bakteri *Salmonella spp.*

Sampel yang tiba di laboratorium segera diinokulasikan pada media pre-enrichment menggunakan media kultur cairan yaitu buffered peptone water (BPW). Pre-enrichment pada media kultur menggunakan media BPW berfungsi untuk memperbaiki kondisi bakteri yang injured. Berikutnya adalah tahap selektif enrichment *Salmonella sp.* yaitu dengan inokulasikan sampel pada media BPW ke media Rappaport-Vassiliadis (RV) enrichment broth dan diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam. Pada tahapan selective enrichment ini terjadi optimalisasi pertumbuhan *Salmonella sp.* dan dihambatnya pertumbuhan bakteri-bakteri penyerta lainnya yang dapat mengganggu pertumbuhan *Salmonella sp.*, sehingga dapat semakin meminimalkan hasil false negatif.

Tahapan selanjutnya adalah melakukan isolasi atau plating pada media agar selektif yaitu xylose lysine deoxycholate agar (XLD) dan brilliant green agar (BGA). Isolasi dilakukan dengan mengambil 1 loop ose sampel dalam media enrichment ke media selektif yaitu XLD dan BGA kemudian diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam. Setelah 18-24 jam dilakukan pengamatan koloni yang tumbuh pada BGA dan XLD. *Salmonella sp.* yang tumbuh pada BGA akan berwarna merah muda dan dikelilingi zona merah. Pada media XLD agar, *Salmonella sp.* terlihat koloni berwarna hitam dengan perubahan warna phenol red menjadi kekuningan atau orange.

3. Identifikasi Bakteri *Salmonella spp.*

Koloni yang diduga *Salmonella sp.* kemudian diteguhkan dengan pewarnaan Gram untuk melihat bentuk dan warna koloni. Koloni bakteri diambil dengan ose kemudian diletakan diatas object glass dan ditetesi akuades selanjutnya difiksasi diatas api bunsen sampai kering. Langkah selanjutnya area apusan ditetesi gentian violet dan dibiarkan selama 1,5 menit kemudian dibilas perlahan menggunakan air mengalir. Selanjutnya ditetesi larutan iodine ke atas area apusan, dibiarkan selama 1 menit kemudian ditetesi alkohol selama 5 menit, lalu dibilas dengan air mengalir. Apusan selanjutnya ditetesi safranin dan dibiarkan selama 5 detik, lalu dibilas dengan air mengalir dan dibiarkan selama 2 detik, dikeringkan di suhu ruang dan selanjutnya diamati di bawah mikroskop. *Salmonella sp.* ditunjukkan dengan karakteristik gram negatif, berbentuk batang lurus, tidak membentuk spora, memiliki flagel, tidak memiliki kapsul, berkembang biak dengan pembelahan biner dan bersifat aerob/fakultatif aerob (Holt, et al., 1994)

Langkah selanjutnya koloni yang diduga *Salmonella sp.* dari biakan BGA diuji secara biokimia. Uji biokimia yang dilakukan antar lain inokulasi pada media water (TW), Methyl Red-Voges Proskauer (MR-VP), triple sugar iron agar (TSIA), tryptone urea, lysine iron agar (LIA), sulfide indole motility (SIM), Simon citrat agar (SCA). Uji oksidase dan katalase juga dilakukan sebagai peneguh diagnose. Uji biokimia dilakukan dengan cara mengambil satu koloni terpisah dengan menggunakan ose dan mensuspensikan satu koloni tersebut pada larutan NaCl fisiologis/PBS- steril. Suspensi koloni *Salmonella sp.* tersebut diinokulasikan pada media TW, MR-VP, urea, TSIA, LIA, SIM dan SCA selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

Menurut Holt, et al., 1994 dalam Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, anggota bakteri *Salmonella sp.* mempunyai ciri-ciri antara lain oksidase bersifat negatif, dan katalase bersifat positif. *Salmonella sp.* menunjukkan negatif pada indol, bersifat positif pada Methyl Red dan bersifat negatif pada Voges-Proskauer. *Salmonella sp.* menunjukkan uji urease negatif dan LIA positif (berubah warna menjadi ungu). Pada media Simmons' citrate agar *Salmonella sp.* dapat menunjukkan hasil positif ataupun negatif.

4. Uji Sensitivitas Antibiotik

Sensitivitas antibiotika dilakukan dengan metode Kirby-Bauer. Koloni *Salmonella sp.* diinokulasikan pada media nutrient agar (NA) dan diinkubasi 37°C selama 24 jam. Koloni *Salmonella sp.* pada media NA selanjutnya di ambil dan disuspensikan pada cairan NaCl hingga setara dengan McFarland 2. Selanjutnya suspensi tersebut di inokulasikan merata pada seluruh permukaan Mueller Hinton agar (MHA), dalam pengujian ini menggunakan 3 kali pengulangan yaitu dengan 3 plate MHA. Biakan tersebut dibiarkan selama 5 menit hingga kering selanjutnya di tempelkan disk antibiotik apa permukaan MHA tersebut. Plate MHA selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan diameter zona terang yang terbentuk diukur dalam satuan mm, dan dibandingkan dengan standar dari National Committee for Clinical Laboratory Standards (2004).

Hasil dan Pembahasan

Hasil uji isolasi dan identifikasi dari sampel swab kloaka ayam pada perternakan unggas di pulau Belitung di sajikan pada Tabel 3 dan Tabel 4 berikut ini;

Tabel 3. Hasil isolasi dan identifikasi dari swab kloaka ayam layer

Kode Sampel	Isolasi pada BGA/XLD	Identifikasi											Identifikasi Salmonella sp.	
		Pewarnaan Gram	Oksidase	Katalase	Indol	MR	VP	Urea	TSIA	LIA	SIM	SCA		
17	Kuning/Putih													
L	Kuning Mukiod/Putih													
01	Putih/Putih													
02	Kuning Mukiod/Putih													
Aa2	Merah Muda/Hitam	Gram Negatif Batang	Negatif	Positif	-	+	-	+	Red, Yellow H2S	Purple, Purple	-	-	Positif	
Aa1	Kuning/Putih													
B2	Kuning/Putih													
B1	Kuning/Putih													
A1	Kuning Mukiod/Putih													
AA	Putih/Putih													

Tabel 4. Hasil isolasi dan identifikasi dari swab kloaka ayam broiler

Kode Sampel	Isolasi pada BGA/XLD	Identifikasi											Identifikasi Salmonella sp.	
		Pewarnaan Gram	Oksidase	Katalase	Indol	MR	VP	Urea	TSIA	LIA	SIM	SCA		
14	Putih/Putih													
22	Kuning Mukiod/Putih													
10A	Kuning/Putih													
A	Kuning/Putih													
H	Kuning Mukiod/Putih													
P	Kuning Mukiod/Putih													
BB	Kuning Mukiod/Putih													
KK	Kuning/Putih													
A2	Kuning/Putih													
A1	Kuning/Putih													
B1	Kuning/Putih													
C1	Kuning/Putih													
A	Kuning/Putih													
M	Kuning/Putih													
K	Merah Muda/Hitam	Gram Negatif Batang	Negatif	Positif	-	+	-	+	Red, Yellow H2S	Purple, Purple	+	+	Positif	
12	Putih/Putih													
13	Putih/Putih													
14	Kuning Mukiod/Putih													
AA	Kuning Mukiod/Putih													
CC	Kuning Mukiod/Putih													
DD	Kuning/Putih													
EE	Kuning Mukiod/Putih													

Berdasarkan keseluruhan uji di atas dapat diartikan Salmonella sp. terdeteksi pada sampel swab kloaka ayam dengan kode AA2 pada ayam layer dan kode K pada ayam broiler. Meskipun kedua sampel teridentifikasi sebagai Salmonella sp. tetapi perlu dilakukan identifikasi lanjutan untuk membedakan kedua spesies dari Salmonella tersebut. Namun demikian identifikasi hingga tingkat genus yaitu Salmonella sudah dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan pemilihan antibiotik yang akan digunakan sebagai pengobatan salmonellosis.

Hasil pengujian sensitivitas antibiotik terhadap Salmonella sp. adalah sensitif terhadap antibiotik ampicillin, cephalothin, ciprofloxacin dan gentamicin. Antibiotik oxytetracycline sensitif pada sampel Salmonella sp. kode AA2 dan menunjukkan zona hambat intermediet pada sampel dengan kode K. Antibiotik chloramphenicol sensitif pada sampel Salmonella sp. kode AA2 dan menunjukkan zona hambat resisten pada sampel dengan kode K.. Adapun diameter yang zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji sensitivitas antibiotik antibiotik terhadap Salmonella sp. yang diisolasi dari swab kloaka ayam.

Antibiotik	Zona Hambat (mm)										Literatur		
	Salmonella sp. kode sampel AA2				Intep retasi	Salmonella sp. kode sampel K				Intep retasi	S	I	R
	I	II	III	Rata-Rata		I	II	III	Rata-Rata				
Ampicillin	26,75	27,66	27,01	27,14	S	21,19	25,86	27,64	24,90	S	≥ 17	14 - 16	≤ 13
Cephalothin	26,36	26,50	26,33	26,40	S	33,85	33,85	33,65	33,78	S	≥ 18	15 -17	≤ 14
Ciprofloxacin	35,11	36,77	36,52	36,13	S	33,89	38,91	34,57	35,79	S	≥ 21	16 - 20	≤ 15
Chloramphenicol	28,27	28,30	28,25	28,27	S	11,65	12,61	11,66	11,97	R	≥ 18	13 -17	≤ 12
Gentamicin	24,95	22,80	23,53	23,76	S	19,04	18,09	22,08	19,73	S	≥ 15	13 - 14	≤ 12
Oxytetracycline	22,98	22,90	22,44	22,77	S	11,82	12,61	11,66	12,03	1	≥ 15	12 -14	≤ 11

Hasil uji sensitifitas antibiotik menunjukkan bahwa Salmonella sp. yang diisolasi dari swab kloaka ayam pada peternakan unggas di Belitung sensitif terhadap ampicillin, cephalothin, ciprofloxacin dan gentamicin. Ampicillin memiliki aktivitas yang tinggi terhadap bakteri gram negatif, namun kelompok ini sering rentan terhadap beta- lactamase (Katzung et al., 2012). Cephalothin merupakan antibiotik β-laktam golongan sefalosprin generai I yang efektif terhadap bakteri Gram positif dan memiliki aktivitas sedang terhadap bakteri Gram negatif. Antibiotik ampicillin dan cephalothin ini memiliki mekanisme kerja mengganggu sintesis dinding sel bakteri, menghambat langkah terakhir dalam sintesis peptidoglikan. Ciprofloxacin merupakan antibiotik berspektrum luas yang menghambat bakteri Gram positif dan negatif. Ciprofloxacin termasuk dalam obat antibiotik fluorokuinolon generasi kedua yang mempengaruhi sintesis atau metabolisme asam nukleat. Krisnaningsih et al. (2005), menyatakan bahwa penggunaan antibiotik dengan interpretasi intermediet sebaiknya dihindari dan diganti dengan antibiotik lain dari golongan yang sama, tetapi memiliki potensi dan spektrum yang lebih baik. Peningkatan dosis antibiotik dengan interpretasi intermediet yang bertujuan untuk memperoleh hasil yang optimal dapat menyebabkan berkembangnya sifat resistensi bakteri terhadap antibiotik, terutama untuk kepentingan terapi atau pengobatan. Gentamicin adalah antibiotik aktif terhadap kedua bakteri gram negatif dan gram positif. Gentamicin merupakan senyawa yang terdiri dari 2 atau lebih gugus gula amino yang terikat lewat ikatan glikosidik pada inti heksosa, mekanisme kerjanya dengan cara menghambat bakteri aerob gram negatif (Hauser dalam Erlangga, 2017).

Antibiotik oxytetracycline sensitif pada sampel Salmonella sp. kode AA2 dan menunjukkan zona hambat intermediet pada sampel dengan kode K. Golongan tetrasiklin bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri pada ribosomnya. Golongan tetrasiklin termasuk antibiotik yang bersifat bakteriostatik. Hanya mikroba yang cepat membelah yang dipengaruhi oleh obat golongan tetrasiklin ini. Golongan Tetrasiklin merupakan antibiotik yang beraktivitas sebagai antibakteri spektrum luas yang meliputi kuman gram positif dan negatif, aerobik dan anaerobik. Antibiotik tetrasiklin merupakan obat yang sangat efektif untuk infeksi Mycoplasma pneumonia, Chlamydia trachomatis, dan berbagai riketsia (Setiabudy dkk dalam Erlangga, 2017). Antibiotik chloramphenicol sensitif pada sampel Salmonella sp. kode AA2 dan menunjukkan zona hambat resisten pada sampel dengan kode K. Cloramphenikol merupakan antibiotik berspektrum luas yang menghambat bakteri Gram positif dan negatif aerob dan anaerob.

Cloramphenikol mencegah sintesis protein dengan berikatan pada subunit ribosom 50S. Namun demikian karena toksisitas dan efek sampingnya berupa supresi sumsum tulang, neuritis optik pada hewan muda dan disarankan untuk hewan produksi. Baik pada antibiotik oxytetracycline dan chloramphenicol keduanya menunjukkan sensitifitas yang berbeda pada 2 sampel Salmonella yang teridentifikasi. Perbedaan sensitifitas tersebut dimungkinkan terjadi karena kedua sampel memiliki genus yang sama yaitu Salmonella tetapi memiliki spesies yang berbeda sehingga memiliki daya hambat terhadap antibiotik yang berbeda pula.

Berdasarkan hasil pengujian sensitifitas antibiotik terhadap isolate lapangan Salmonella sp pada peternakan unggas di Pulau Belitung maka ampicillin menjadi pilihan antibiotik yang disarankan sebagai terapi. Ampicillin cukup sensitif pada 2 sampel Salmonella yang diuji dan lebih spesifik pada bakteri gram negatif sehingga jika penggunaannya bijak dan sesuai ketentuan maka kemungkinan resistensinya juga lebih kecil dibandingkan antibiotik spectrum luas.

Kesimpulan

Hasil pengujian menunjukkan bahwa Salmonella sp. yang diisolasi dari swab kloaka ayam asal peternakan unggas di pulau Belitung sensitif terhadap antibiotik ampicillin, cephalothin, ciprofloxacin dan gentamicin. Antibiotik oxytetracycline sensitif pada sampel Salmonella sp. kode AA2 dan menunjukkan zona hambat intermediet pada sampel dengan kode K. Antibiotik chloramphenicol sensitif pada sampel Salmonella sp. kode AA2 dan menunjukkan zona hambat resisten pada sampel dengan kode K.

Daftar Pustaka

Centers for Disease Control and Prevention. 2014. Escherichia coli (E. coli). (Online) diakses dari <http://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html> diakses pada 6 Nopember 2014

Cowan F. M and Steel's. 1974. Manual for Identification of Medical Bacteria. Barrow GI and Feltham RKA (EDS). Cambridge University Press. Great Britain. Cambridge. Hal : 93

Deptan. 1999. Manual Standar Metoda Diagnosa Laboratorium Kesehatan Hewan. Jakarta. Hal : 172-174

Krisnaningsih MMF, Asmara W, Wibowo MH. 2005. Uji sensitivitas isolat Escherichia coli patogen pada ayam terhadap beberapa jenis antibiotik. J Sain Vet. 1:13-18.

Kusumowati ITD, Siswandono, Rudyanto M. 2011. Hubungan struktur turunan nklorobenzoilamoksilin dan aktivitas antibakterinya terhadap Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853. Jurnal Farmasi Indonesia. 5(3):142-149

Laura B , Myriam Z, Yolanda S, Fernanda RL, Carmen T. 2002. β -Lactamases in Ampicillin-Resistant Escherichia coli Isolates from Foods, Humans, and Healthy Animals. PMC. [Antimicrob Agents Chemother. 2002 Oct; 46\(10\): 3156-3163.](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12111111/)

Publichealthagencyof Canada. 2014. E. coli (online) diakses dari <http://www.phac-aspc.gc.ca/fs-sa/fs-fi/ecoli-eng.php> pada 6 Nopember 2014

Konfirmasi Laboratorium pada Kasus Kematian Ternak Babi di Kabupaten Lampung Selatan dan Lampung Timur

Anggy, F. P¹

¹ Laboratorium Bioteknologi

Email :

ABSTRAK

Pada pertengahan tahun 2020 terjadi kasus kematian ternak babi di Kabupaten Lampung Selatan dan Lampung Timur. Balai Veteriner Lampung mengambil spesimen dari kandang-kandang peternak untuk dilakukan uji laboratorium terhadap kemungkinan penyakit penyebab kematian babi. Spesimen dilakukan uji PCR terhadap kemungkinan virus Classical Swine Fever dan African Swine Fever sesuai dengan gejala klinis yang tampak. Hasil pengujian laboratorium menunjukkan bahwa penyebab kematian ternak babi di dua kabupaten tersebut adalah virus African Swine Fever. Perlu dilakukan tindakan pengendalian yang tepat untuk mencegah semakin meluasnya penyebaran penyakit African Swine Fever.

Kata kunci : *African Swine Fever*; Babi; PCR

Pendahuluan

Usaha peternakan babi tersebar hampir di seluruh kabupaten di Provinsi Lampung. Tiga kabupaten dengan populasi ternak babi yang terbesar yaitu Lampung Tengah (11.769 ekor), Lampung Timur (10.162 ekor) dan Lampung Selatan (8.441) pada tahun 2018 (Badan Pusat Statistik Lampung, 2018). Sistem pemeliharaan yang umum dilakukan oleh peternak tradisional yaitu dengan sistem intensif. Beberapa peternak melakukan breeding mandiri terhadap ternak babi di samping usaha penggemukan.

Metode pemeliharaan yang masih bersistem tradisional menyebabkan masih rendahnya kesadaran biosecurity pada area peternakan, pemberian pakan berupa sisa makanan, tidak adanya batasan area peternakan sehingga lalu lintas orang masih bebas serta sanitasi kandang yang juga rendah.

Hal-hal tersebut dapat meningkatkan resiko penularan penyakit antar peternak dalam satu daerah maupun antar daerah. Penularan penyakit antar daerah biasanya disebabkan karena adanya kegiatan jual beli bibit ternak babi dari daerah yang sudah tertular.

Pada pertengahan bulan Juni 2020, Balai Veteriner Lampung menerima laporan adanya kematian ternak babi di Kabupaten Lampung Selatan. Kemudian pada awal bulan Oktober 2020, Balai Veteriner Lampung kembali mendapatkan laporan adanya kematian ternak babi di Kabupaten Lampung Timur. Balai Veteriner Lampung menindaklanjuti laporan tersebut dengan mengirimkan tim investigasi ke Kabupaten Lampung Selatan dan Lampung Timur untuk mengambil spesimen dari peternak. Sampel yang diperoleh kemudian dilakukan uji laboratorium terhadap kemungkinan penyakit penyebab kematian untuk menegakkan diagnosa penyakit.

Metode

Spesimen yang diperoleh dilakukan pemeriksaan terhadap beberapa kemungkinan jenis penyakit yaitu Classical Swine Fever dan African Swine Fever. Keputusan untuk melakukan pemeriksaan laboratorium terhadap dua penyakit tersebut didasarkan pada anamnesa dari babi sebelum mengalami kematian dan gejala klinis yang tampak pada babi yang masih hidup.

Alat dan Bahan

1. Ekstraksi

- RNA

Carrier, buffer AVL, alkohol absolut, buffer AW I, buffer AW II, AVE, mikrotube, collection tube, spin column, micropipet dan tip 200 µl, micropipette dan tip 1000 µl, recovery tube, sentrifus, vortex.

- DNA

Proteinase K, buffer AL, alkohol absolut, buffer AW I, buffer AW II, buffer AE, mikrotube, collection tube, spin column, micropipet dan tip 200 µl, micropipette dan tip 1000 µl, recovery tube, sentrifus, waterbath.

2. Master Mix

- Classical Swine Fever (CSF)

Nuclease free water (NFW), PCR 2x Mix, SS III Platinum Taq, primer forward CSF, primer reverse CSF

- African Swine Fever (ASF)

Nuclease free water (NFW), PCR Mix, primer forward ASF, primer reverse (ASF, probe ASF)

3. Amplifikasi dan Elektroforesis

Thermal cycler konvensional, thermal cycler real time, chamber elektroforesis, optical plate, PCR tube 0.2 µl, micropipette dan tip 10 µl, agarose, buffer TAE, marker, loading dye, gel staining.

Langkah Kerja

1. Ekstraksi

- RNA

Campur carrier RNA 5,6 µl, buffer AVL 560 µl dan sampel 140 µl. Larutan di-vortex dan diinkubasi pada suhu ruang 10 menit. Larutan ditambah 560 µl alkohol absolute, di-vortex 15 detik. Larutan dipindahkan 630 µl ke viral spin column, kemudian disentrifus 8000 rpm 1 menit. Supernatan dibuang dan collection tubes diganti. Sisa larutan dipindahkan ke viral spin column, kemudian disentrifus 8000 rpm 1 menit. Supernatan dibuang dan collection tubes diganti. 500 µl buffer AW 1 dimasukkan ke dalam spin column dan disentrifuge 8000 rpm selama 1 menit. Supernatan dibuang dan collection tubes diganti. 500 µl buffer AW 2 dimasukkan ke dalam spin column dan disentrifuge 14000 rpm selama 3 menit. Supernatan dibuang dan collection tubes diganti kemudian disentrifus 14000 rpm 1 menit. Spin column dipindahkan ke recovery tubes, dan ditambahkan 60 µl buffer AVE. Spin column diinkubasi pada suhu ruang selama 1 menit. Spin column disentrifus 8000 rpm selama 1 menit. RNA disimpan pada suhu - 20.

- DNA

Campur buffer AL 200 µl, proteinase K 20 µl, spesimen 200 µl. Larutan divortex kemudian diinkubasi 56°C selama 10 menit. Larutan ditambah 200 µl alkohol absolut kemudian divortex 15 detik. Larutan dipindahkan ke spin column. Larutan disentrifus 8000 g (10000 rpm) dalam suhu 4-8°C selama 1 menit. Collection tube diganti dan ditambahkan buffer AW 1 sebanyak 500 µl. Larutan disentrifus 8000 g (10000 rpm) dalam suhu 4-8°C selama 1 menit. Collection tube diganti dan ditambahkan buffer AW 2 sebanyak 500 µl. Larutan disentrifus 14000 g dalam suhu 4-8°C selama 3 menit. Spin column dipindahkan ke recovery tube dan ditambahkan 200 µl buffer AE. Larutan diinkubasi pada suhu ruang 1 menit. Larutan disentrifus 8000 g (10000 rpm) dalam suhu 4-8°C selama 1 menit. DNA disimpan pada suhu - 20

2. Master Mix

- Classical Swine Fever

41.4 µl NFW, 90 µl PCR 2x Mix, 7.2 µl SS III Platinum Taq, 7.2 µl primer forward CSF, 7.2 µl primer reverse CSF dicampur ke dalam mikrotube. Larutan dimasukkan ke dalam PCR tube sebanyak 17 µl.

- African Swine Fever

41.4 µl NFW, 90 µl PCR mix, 7.2 µl primer forward ASF, 7.2 primer reverse ASF, 7.2 µl probe ASF dicampur ke dalam mikrotube. Larutan dimasukkan ke dalam well optical plate sebanyak 17 µl.

1. Amplifikasi dan Elektroforesis

- Classical Swine Fever

RNA hasil ekstraksi dimasukkan sebanyak 3 µl ke dalam PCR tube yang terisi larutan master mix. PCR tube dimasukkan ke dalam mesin thermal cycler konvensional dengan program amplifikasi di tabel 1. Produk amplifikasi di elektroforesis menggunakan agarose untuk mendeteksi ada atau tidaknya band DNA

Tabel 1. Program amplifikasi virus Classical Swine Fever

Siklus	Suhu	Waktu
1 (1x)	50°C	30 menit
2 (1x)	95°C	15 menit
3 (40x)	95°C	30 detik
	55°C	45 detik
	72°C	1 menit
4 (1x)	72°C	5 menit
5 (1x)	4°C	∞

- African Swine Fever

1. DNA hasil ekstraksi dimasukkan sebanyak 3 µl ke dalam well optical plate yang terisi larutan master mix. Well optical plate dimasukkan ke dalam mesin thermal cycler real time dengan program amplifikasi di tabel 2. Hasil amplifikasi dianalisa menggunakan assay threshold 0.05. Nilai cut off <37 dinyatakan positif, 37-40 dinyatakan indeterminate dan >40 dinyatakan negatif.

Tabel 2. Program amplifikasi virus African Swine Fever

Siklus	Suhu	Waktu
1 (1x)	60°C	30 menit
2 (1x)	95°C	5 menit
3 (40x)	95°C	10 detik
	60°C	50 detik

Hasil

Hasil wawancara dengan peternak diketahui gejala yang timbul dari ternak babi yaitu penurunan nafsu makan ternak babi, ternak terlihat lesu, dan terlihat adanya perdarahan di subkutan. Selain itu, hasil wawancara juga diketahui bahwa sistem pemeliharaan babi dilakukan secara insentif pada kandang permanen individu, pakan yang digunakan adalah dedak, ampas tahu, hijauan dan swill feeding rumah tangga yang diberikan secara langsung tanpa pemrosesan sedang sumber airnya berasal dari sumur. Metode pembersihan kandang berbeda-beda antar peternak seperti dilakukan setiap pagi hari dan setiap seminggu sekali dilakukan penyemprotan dengan desinfektan, pembersihan kandang dilakukan 2-3 hari sekali dan tidak dilakukan desinfeksi atau pembersihan kandang dilakukan saat terlihat kotor dan tidak dilakukan desinfeksi.

Hasil pengujian laboratorium dari sampel yang diperoleh ditunjukkan pada tabel 3

Tabel 3. Hasil pengujian laboratorium

Jenis Sampel	Asal Sampel	Hasil Pengujian	
		<i>Classical Swine Fever</i>	<i>African Swine Fever</i>
Limpa	Lampung Selatan	Negatif	Positif
Limpa	Lampung Selatan	Negatif	Positif
Limpa	Lampung Selatan	Negatif	Positif
Limpa	Lampung Selatan	Negatif	Positif
Limpa	Lampung Selatan	Negatif	Positif
Limpa	Lampung Selatan	Negatif	Positif

PEMBAHASAN

Gejala klinis yang timbul pada ternak babi sebelum mengalami kematian berupa adanya perdarahan di subkutan merupakan gejala yang mengarah pada penyakit Classical Swine Fever (CSF) dan African Swine Fever (ASF). Hal tersebut yang menjadi alasan sampel lapangan untuk dilakukan pengujian terhadap dua penyakit tersebut di Laboratorium Bioteknologi. Hasil pengujian menunjukkan bahwa wabah penyakit babi yang terjadi di Kabupaten Lampung Selatan dan Lampung Timur disebabkan oleh virus African Swine Fever.

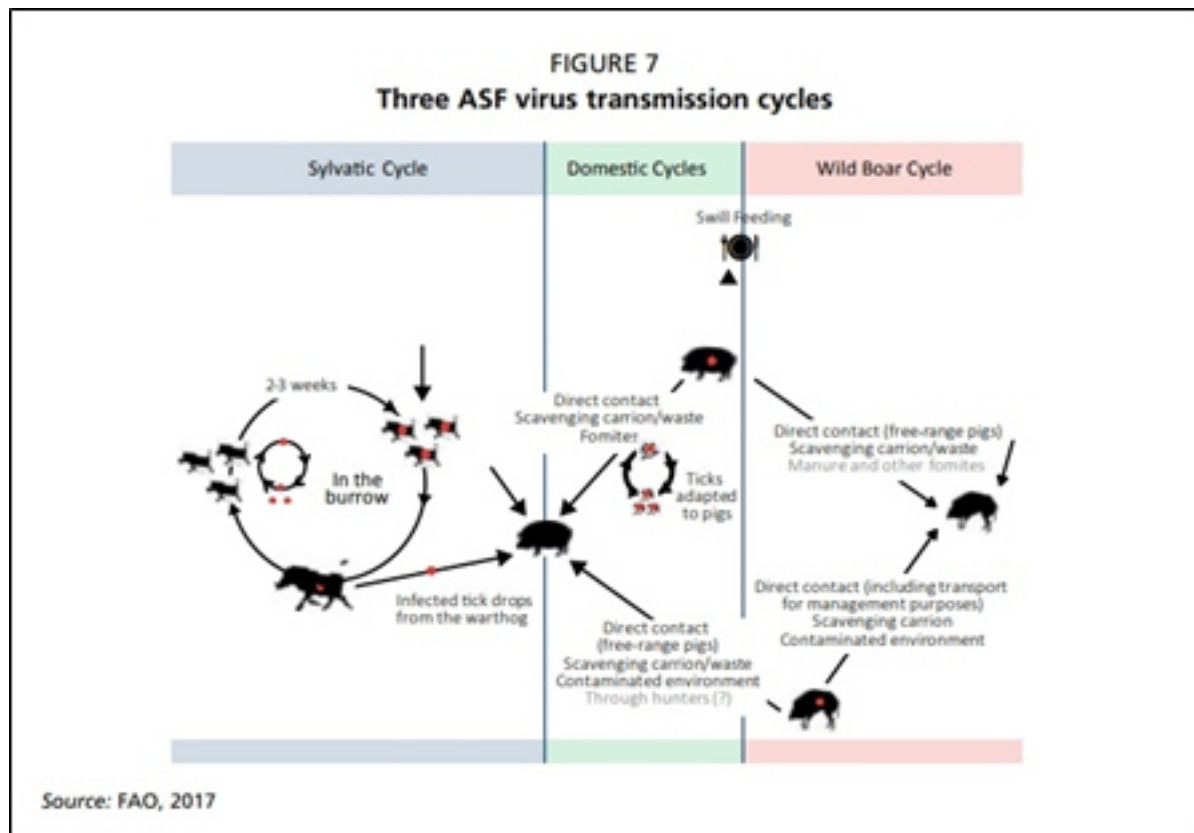
African Swine Fever adalah penyakit hemorrhagi yang disebabkan oleh virus. Penyakit ini memiliki tingkat kematian yang sangat tinggi di babi domestik dan babi liar. Menurut Penrith (2009) tingkat kematian yang disebabkan oleh penyakit ASF dapat mencapai 100%. Meskipun jumlah hospes dari penyakit ini terbatas, ASF memiliki dampak sosio-ekonomi yang tinggi. African Swine Fever pertama kali ditemukan di Kenya sebagai penyakit yang berbeda dengan Classical Swine Fever (Montgomery, 1921). Di Kenya, African Swine Fever dikaitkan dengan kontak antara babi hutan dan babi domestik sehingga tindakan pengendalian diarahkan untuk memastikan pemisahan antara spesies ini (Scott, 1965). Caplak menghisap darah dari babi hutan yang kemudian menjadi rute penyebaran virus ASF. Babi hutan bersifat tahan terhadap infeksi virus, tidak mengalami viremia serta tidak menunjukkan adanya gejala klinis, meskipun demikian virus dapat terekstraksi dari jaringan limfoid (Penrith, 2009).

Gejala klinis African Swine Fever sangat bervariasi bergantung pada virulensi strain virus dan usia serta status kekebalan hospes serta memiliki beberapa kesamaan dengan gejala yang ditimbulkan oleh penyakit Classical Swine Fever. Selain penyakit akut yang menyerupai demam hemorrhagi, penyakit kronis dan subklinis dapat terjadi. Strain yang sangat virulen menyebabkan penyakit akut hingga perakut dengan kematian hingga 100% dalam 7-10 hari. Tanda-tanda klinis seringkali tidak spesifik dan termasuk demam tinggi, anoreksia, tanda-tanda pernapasan dan gastrointestinal, sianosis, ataksia, dan kematian. Induk yang hamil dapat mengalami abortus karena penyakit parah dan demam tinggi. Gejala hemoragik juga telah diamati pada beberapa kasus. Strain virulensi sedang menyebabkan gambaran klinis akut dengan demam tinggi, anoreksia, kelelahan, dan gejala pernapasan dan gastrointestinal non-spesifik. Angka kematian dalam kasus ini adalah 30-70%. Strain virulen rendah menunjukkan perjalanan subklinis dan kronis dengan gejala tidak spesifik dan mortalitas rendah. Antibodi terbentuk setelah 7-10 hari, tetapi ini tidak dapat memprediksi hasil penyakit dan tidak dapat sepenuhnya menetralkan virus (Blome, et al., 2020).

Menurut OIE (2018), penyebaran penyakit African Swine Fever bersifat kompleks dan bervariasi tergantung pada lingkungan, jenis sistem produksi babi, ada atau tidak adanya vektor kutu yang kompeten, perilaku manusia, dan ada atau tidaknya babi liar. Rute penularan dapat meliputi:

- Kontak langsung dengan babi domestik atau liar yang terinfeksi
- Kontak tidak langsung, melalui konsumsi bahan yang terkontaminasi (misalnya sisa makanan, pakan, atau sampah)
- Peralatan yang terkontaminasi, atau vektor biologis (kutu lunak dari genus *Ornithodoros*) jika ada

Penularan penyakit ini pada babi domestik dapat terjadi melalui kontak langsung dengan ekskresi babi yang terinfeksi, ingesti daging babi atau produk olahan yang terkontaminasi, atau secara tidak langsung melalui peralatan yang terkontaminasi. Transmisi virus dari satu peternakan ke peternakan lain disebabkan karena adanya intervensi manusia seperti pergerakan hewan atau peralatan serta pemberian pakan bahan terinfeksi. Meskipun tidak ada terdapat babi hidup yang terinfeksi, virus dapat bertahan di daging yang dibekukan yang memungkinkan virus bertahan dalam jangka waktu yang lama dan muncul kembali saat daging tersebut dijadikan pakan swill feeding (Alcrudo, et al., 2017).



Gambar 1. Siklus transmisi *African Swine Fever*

Kesimpulan

Dari pengamatan gejala klinis dan pemeriksaan laboratorium yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa kematian babi di Kabupaten Lampung Selatan dan Lampung Timur disebabkan oleh penyakit African Swine Fever.

Saran

Perlu dilakukan tindakan pengendalian yang tepat untuk mencegah semakin meluasnya penyebaran penyakit African Swine Fever. Langkah pengendalian yang dapat dilakukan antara lain diagnosa penyakit dengan tepat, pembatasan wilayah dan lalu intas hewan ternak serta edukasi terhadap peternak mengenai pentingnya biosecurity.

Daftar Pustaka

Alcrudo Beltrán D., Arias, M., Gallardo, C., Kramer, S. & Penrith, M.L. 2017. African swine fever: detection and diagnosis – A manual for veterinarians. FAO Animal Production and Health Manual No. 19. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Rome

Blome, S. Kati F. & Martin B. 2020. African swine fever – A review of current knowledge. *Virus Research*. 287:1-15

Montgomery, R.E. 1921. On a form of swine fever occurring in British EastAfrica (Kenya Colony). *Journal of Comparative Pathology*. 34:159-191, 243-262

Penrith, Mary-Louise. 2009. African Swine Fever. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 76:91-95

Scott, G.R. 1965. Prevention, control and eradication of African swine fever. *Bulletin de l'Office International des Epizooties*. 63:751-764

World Organisation for Animal Health. 2019. African Swine Fever (Infection With African Swine Fever Virus). *OIE Terrestrial Manual*

Investigasi Kematian Sapi Bali di Desa T2 Purwodadi, Purwodadi Kabupaten Musi Rawas, Sumatera Selatan

Guntoro, T¹⁾, Ritonga, G²⁾, Sipayung, F¹⁾

¹ Laboratorium Epidemiologi, Balai Veteriner Lampung

² Dinas Peternakan, Kabupaten Musi Rawas

Email : guntoros2_2005@yahoo.co.id

ABSTRAK

Terjadi kematian sapi bali secara mendadak di desa T2 Purwodadi Kecamatan Purwodadi Kabupaten Musi Rawas, Sumatera Selatan. Sapi memperlihatkan gejala kejang-kejang, ada yang berbusa dan mati mendadak (tanpa disertai gejala klinis yang jelas). Investigasi ini bertujuan untuk menemukan penyebab kematian sapi bali di desa ini. Pendekatan investigasi berdasarkan gejala klinis, pemeriksaan sampel dari hewan tersisa dan lingkungan (sisa pakan serta pakan di penggembalaan) serta wawancara peternak. Wabah ini memiliki pola bersumber Point Source karena bersumber tunggal dari keracunan sebagai penyebabnya dan parameter epidemiologi yang bisa dilihat dari kasus ini tingkat serangannya Attack rate : 71,4 %, sedangkan jika melihat case fatality rate tinggi yakni 100 % mengindikasikan kejadian penyakit ini sangat dimungkinkan karena keracunan. Faktor yang berasosiasi terhadap kejadian keracunan ini adalah pemberian pakan yang berasal dari lokasi yang diberi pupuk kurang dari 1 (satu) bulan 12,38 kali lebih berisiko dibandingkan dengan lokasi yang diberi pupuk lebih dari 1 bulan. Sedangkan mengarit di lahan non sawit memiliki risiko keracunan 4,5 kali dibandingkan dengan pengambilan pakan dari kebun sawit. Keracunan nitrat pada ternak disebabkan mengkonsumsi hijauan yang mengandung nitrat tinggi (melebihi ambang batas). Kandungan nitrat yang tinggi dalam hijauan disebabkan terjadinya akumulasi nitrat sebagai efek pemupukan, terutama pupuk nitrogen. Sebaiknya pakan yang digunakan untuk ternak sebaiknya 5 – 10 minggu setelah dilakukan pemupukan.

Kata kunci: Purwodadi, Keracunan, Investigasi

Pendahuluan

Kendala utama pada peternakan ruminansia di negara negara berkembang adalah rendahnya kualitas bahan pakan yang tersedia. Peningkatan nilai nutrien dari bahan tersebut dapat dilakukan dengan berbagai macam metode pengolahan. Metode tersebut antara lain dapat dilakukan secara fisik dengan pemanasan, tekanan tinggi, penggilingan dan pencacahan. Metode kimiawi dapat dilakukan dengan asam atau alkali, secara enzimatis dengan penambahan enzim tertentu -

serta secara mikrobiologi dengan bantuan mikroorganisme atau kombinasi antar metode tersebut (Yanuartono, dkk 2018).

Telah terjadi kematian sapi bali secara mendadak di desa T2 Purwodadi Kecamatan Purwodadi Kabupaten Musi Rawas, Sumatera Selatan pada bulan Februari 2020, dengan gejala kejang-kejang, ada yang berbusa dan mati mendadak (tanpa disertai gejala klinis yang jelas). Balai Veteriner Lampung mengirim tim investigasi untuk memastikan kejadian penyakit yang terjadi di desa T2 Purwodadi.

Tujuan

Investigasi ini bertujuan untuk menemukan penyebab kematian sapi bali di desa T2 purwodadi. Investigasi dilakukan untuk konfirmasi atas informasi yang diterima, dan telah dilakukan penelusuran kasusnya serta mengukur beberapa parameter epidemiologi yang dapat memberikan rekomendasi terhadap pemegang kebijakan agar dapat menekan kasus juga mencegah penyebarluasan kasus.

Materi dan Metode

Investigasi kematian sapi bali di desa T2 Purwodadi Kecamatan Purwodadi Kabupaten Musi Rawas, Sumatera Selatan dilakukan dengan metode Cross Sectional oleh tim Bvet Lampung dan tim dari Dinas Peternakan Kabupaten Musi Rawas, Petugas Lapangan Kecamatan Purwodadi dan Puskesmas.

Pengumpulan Data dan Informasi

Mengumpulkan data lapangan dengan metode wawancara terhadap petugas setempat dan warga untuk mencari penyebab sapi bali yang diduga keracunan. Melakukan pengujian lapangan terhadap sampel rumput baik di daerah pengaritan atau sekitar kandang. Wawancara ini diharapkan mendapatkan informasi sesuai dengan fakta yang sebenarnya di lapangan. Dalam investigasi ini kami menetapkan definisi kasus terhadap keracunan.

Definisi kasus yang ditetapkan adalah

- Suspect, yaitu Sapi yang memiliki gejala kematian mendadak.
- Probable, yaitu Sapi yang mati mendadak dengan darah berwarna pekat dan didahului dengan kejang kejang;
- Confirm, yaitu Hasil pengujian keracunan dengan hasil positif dan melebihi standar.



Foto 1. Wawancara dengan warga

Materi dan Metode

1. Racun amonia

Pereaksi Nessler:

- Ditambahkan 1g sampel + 10 ml H₂O dihancurkan (digerus)
- Disaring-dengan kertas saring kasar
- Saringan /filtrat ditambahkan beberapa tetes pereaksi Nessler:
- Perubahan warna (deskripsi hasil):
 - Kuning sampai orange : ammonia rendah
 - Kemerah-merahan sampai kuning karat (yellow rusty): ammonia tinggi

2. Metode Nitrat Kit:

- Penambahan 1 gram sampel digerus + 10 ml H₂O
- Dilakukan penyaringan dengan kertas saring kasar
- Strip dari Nitrat Kit dicelupkan kedalam saringan sampel
- Hasil warna pada strip bandingkan dengan deret warna yang tertera pada kit



Foto 2. Pembacaan nitrat kit

3. Metode Sianida:

- Metode uji kertas pikrat
- Kertas pikrat: 5 g Na₂CO₃ + 0,5 g asam pikrat
- Larutkan dengan 100ml H₂O
- Kertas saring kasar ukuran 1,5x 6 cm direndam
- Keringkan dengan diangin-angin (lembab)
- Selipkan kertas pikrat dengan kapas pada mulut erlenmeyer (wadah mulut kecil) yang berisi sampel + enzim / ekstra Mete + H₂O + 3 tetes kloroform
- Biarkan di suhu kamar sampai 15 menit dan bandingkan warna kertas dengan deret warna kit sianida

4. Herbisida Paraquat:

- Metode deret warna konsentrasi paraquat;
- Tambahkan 1 g sampel + 10 ml H₂O digerus;
- Dilakukan penyaringan dan hasil saringan + 2 tetes EDTA 5%;
- Ditambahkan 2 ml NaOH 2M + 2 ml glukosa 0,5%;
- Ditambahkan sampai 10 ml dengan H₂O;
- Dipanaskan pada suhu 70°C selama 2 menit;
- Hasil reaksi warna dibandingkan dengan deret warna.

Analisis Data

Kajian ini menggunakan metode Cross sectional dan analisa data dilakukan secara deskriptif dan analitik sederhana, pembuatan kurva epidemik, dan penghitungan Attack Rate (AR), case fatality rate dan juga Odd Rasio. Attack rate adalah jumlah kasus baru dari suatu penyakit dibagi dengan jumlah populasi yang berisiko dari suatu penyakit pada periode waktu tertentu. Sedangkan Case Fatality Rate (CFR) adalah jumlah kematian dari suatu penyakit dibagi dengan jumlah kasus dari suatu penyakit).

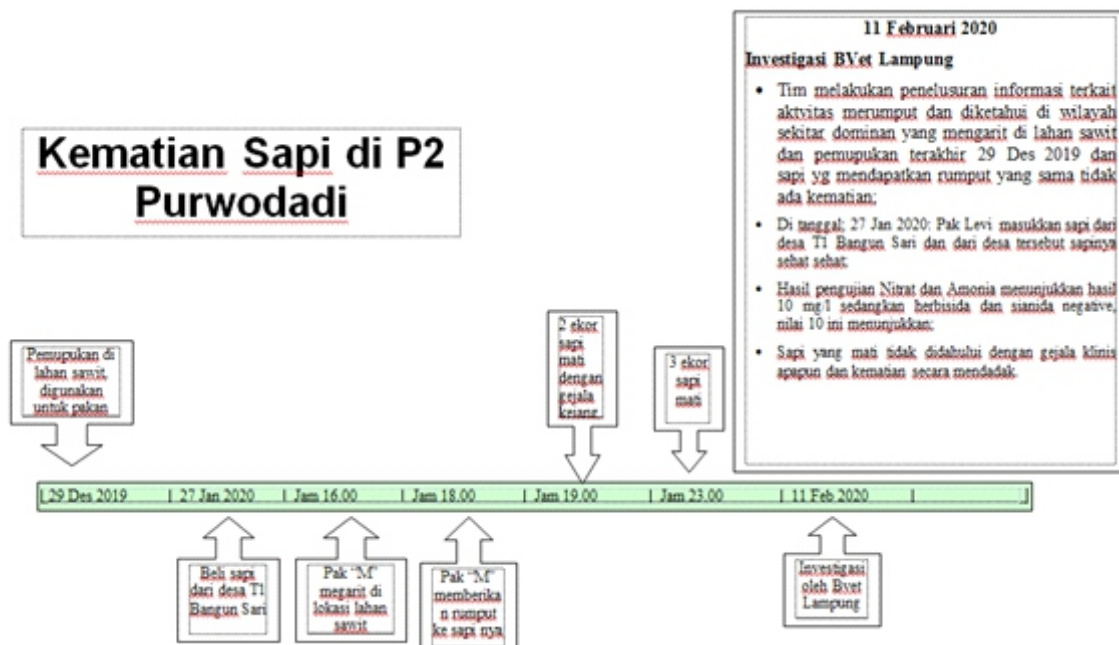
Hasil dan Pembahasan

Asal Rumput	Pengujian Keracunan			
	Uji Nitrat	Herbisida	Sianida	Amonia
Sisa Kandang	10	Negatif	Negatif	20
Lahan Kandang	10	Negatif	Negatif	10
Lahan Aritan Sawit	10	Negatif	Negatif	20

Tabel 1. Hasil pengujian (lapang) keracunan

Outbreak adalah peningkatan insidensi kasus yang melebihi ekspektasi normal secara mendadak pada suatu komunitas, di suatu tempat terbatas, misalnya desa, kecamatan, kota, atau institusi yang tertutup (misalnya sekolah, tempat kerja, atau pesantren) pada suatu periode waktu tertentu (Gerstman, 1998; Last, 2001; Barreto et al., 2006). Desa T2 Purwodadi sebelumnya tidak ada informasi terkait kematian sapi diketahui adanya kematian sapi mendadak di desa tersebut melebihi dari situasi biasanya.

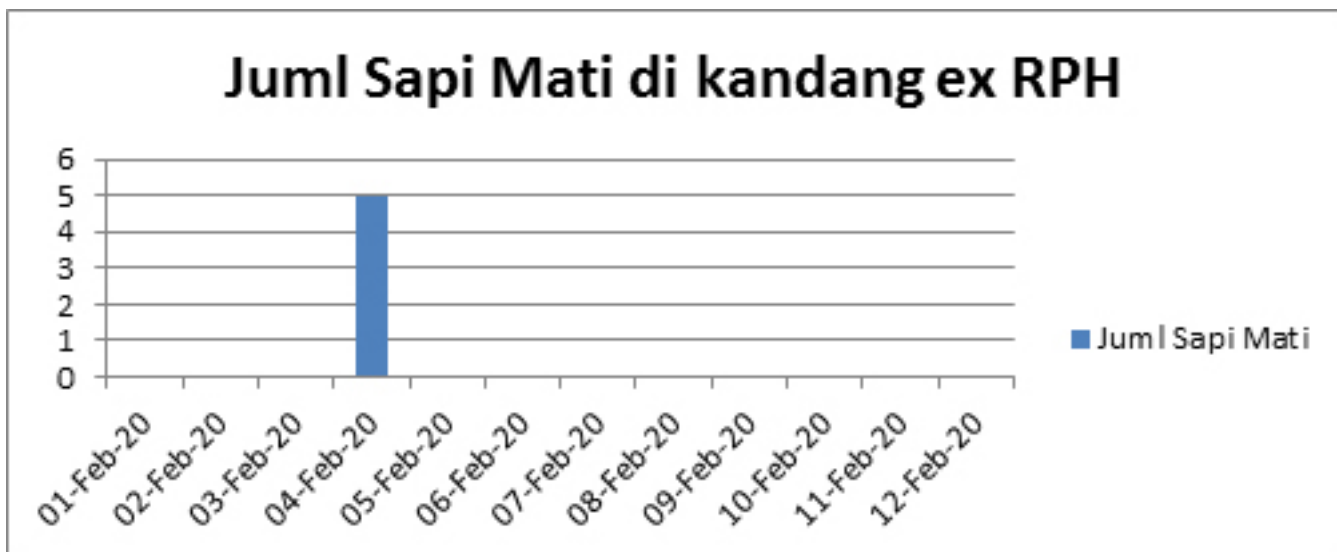
Dari hasil pengujian keracunan lapangan hanya pengujian nitrat (10 mg/ l) dan ammonia (10 – 20), berdasarkan hasil penelitian Yuniningsih (2007) batas minimal kandungan nitrat yang dibolehkan adalah 2 mg/kg. Kadar ammonia dan nitrat dari sisa rumput sedikit melebihi batas normal hal ini dikarenakan tim investigasi yang ke lapangan dengan kejadian kasus berselang 7 hari sehingga kemungkinan kadar toksiknya sudah rendah. Gejala klinis keracunan nitrat berkaitan dengan kekurangan oksigen dalam darah (hypoxia), karena darah tidak mampu berperan sebagai pembawa oksigen. Warna darah berubah dari merah normal menjadi kecoklatan (gelap), yang merupakan ciri spesifik keracunan nitrat-nitrit (Jones, 1993). Gejala keracunan nitrat akut akan terlihat dalam waktu 30 menit sampai 4 jam setelah ternak mengkonsumsi hijauan yang mengandung nitrat pada level toksik- nya dan gejala ini sangat sesuai dengan informasi yang didapat saat tim investigasi mewawancarai peternak.



Grafik 1. Time line kejadian kematian sapi di desa P2 Purwodadi

Dari timeline diatas menjelaskan proses atau kejadian kematian sapi di desa P2 Purwodadi dan terlihat kejadiannya sangat cepat dan memiliki gejala yang sama dengan keracunan.

Dari timeline tersebut dapat dibuat kurva epidemiknya sebagai berikut:



Grafik 2. Kurva epidemik kematian sapi

Dengan menggunakan kurva epidemi dapat dilihat pola penyebaran patogen, sehingga dapat dibedakan 3 jenis utama outbreak: (1) Common-source outbreak (point-source outbreak), (2) Continual-source outbreak, dan (3) Propagated (person-to-person, progressive) outbreak (Murti, 2018). Dari grafik diatas menggambarkan tipe wabahnya adalah Point Source karena bersumber tunggal dari keracunan sebagai penyebabnya. Menurut Murti, point-source outbreak, sebab paparan patogen terjadi pada waktu yang sama dan berlangsung selama periode waktu yang terbatas (singkat). Tipe wabah ini sangat mudah penanganannya dibandingkan dengan yang propagated. Menghilangkan sesuatu yang berpotensi terhadap wabah segera bisa melakukan perbaikan. Tingkat serangan dari kasus ini Attack rate : 71,4 % merupakan tingkat serangan dibagi dengan populasi terancam, sedangkan jika melihat case fatality rate nya cukup tinggi yakni 100 % yang mengalami sakit berdampak terhadap kematian.

Penghitungan Odd Rasio :

Untuk menentukan derajat asosiasi maka diperlukan penghitungan odd rasio (Thrusfield, 2008), ada dua faktor yang dicari keterhubungan antara kasus dengan faktor yang paling mungkin yakni waktu pemberian pupuk dan lokasi pengaritan (mengambil rumput). Penghitungan odd rasio dengan menggunakan table 2 x 2 kemudian dianalisa dengan memperhatikan chi square statistik.

Faktor	Mati	Tidak Mati
Pupuk < 1 bulan	9	12
Pupuk > 1 bulan	2	33

Faktor	Mati	Tidak Mati
Non Sawit	9	21
Sawit	2	21

Tabel 2. 2 x 2 faktor penggunaan pupuk < 1 bulan dan > 1 bulan

Faktor	Disease Positive	Disease Negative	Total
Factor Positive	9	12	21
Factor Negative	2	33	35
	11	45	56
	%diseased		
	43%		
	6%		
Expected	4,13	16,88	21
(O-E) ² /E	5,76	1,41	
Expected	6,88	28,13	35
(O-E) ² /E	3,46	0,85	
Column marginals	11	45	56
Expected marginals	11	45	56

Chi-square statistic	11,472		
df	1		
P-Value	0,0007	95% CI	95% CI
Odds Ratio	12,38	2,89	53,06
Relative Risk	7,50	2,34	24,07

Faktor	Disease Positive	Disease Negative	Total
Factor Positive	9	21	30
Factor Negative	2	21	23
	11	42	53
	%diseased		
	30%		
	9%		
Expected	6,23	23,77	30
(O-E) ² /E	1,24	0,32	
Expected	4,77	18,23	23
(O-E) ² /E	1,61	0,42	
Column marginals	11	42	53
Expected marginals	11	42	53

Chi-square statistic	3,593		
df	1		
P-Value	0,0580	95% CI	95% CI
Odds Ratio	4,50	0,95	21,31
Relative Risk	3,45	0,96	12,42

Dari hasil perhitungan dengan menggunakan table 2 x 2 maka diperoleh hasil:

1. Sapi yang diberikan pakan dari rumput yang diberikan pupuk kurang dari 1 bulan memiliki 12,38 (P Value: 0,0007) kali lebih berisiko daripada pemberian pakan yang diberikan pupuk lebih dari 1 bulan;
2. Sapi yang diberikan pakan dari lahan non sawit 4,5 (P Value : 0,058) kali lebih berisiko dari pakan dari lahan sawit.

Salah satu tahapan dalam investigasi outbreak adalah komunikasi hasil temuan, dari hasil investigasi diketahui bahwasanya angka kefatalan keracunan ini sangat tinggi hingga 100 % (semua yang sakit berakibat terhadap kematian, sapi yang mendapatkan rumput dari lahan non sawit dan berasal dari daerah yang dilakukan pemupukan kurang dari 1 bulan sangat berisiko. Hal ini sangat diperlukan oleh dinas terkait untuk melakukan sosialisasi segera sehingga wabah bisa segera dihilangkan.



Foto 3. Komunikasi hasil temuan

Kesimpulan

Keracunan nitrat pada ternak disebabkan mengkonsumsi hijauan yang mengandung nitrat tinggi (melebihi ambang batas). Kandungan nitrat yang tinggi dalam hijauan disebabkan terjadinya akumulasi nitrat sebagai efek pemupukan, terutama pupuk nitrogen.

Kejadian kematian sapi bali di desa T2 Purwodadi diakibatkan ternak makan rumput yang mengandung kadar urea yang tinggi dikarenakan mengarit (mengambil rumput) pada lokasi yang masih dibawah 1 bulan setelah pemberian pupuk urea.

Saran

1. Kegiatan merumput dimulai setelah 5 – 10 minggu setelah pemupukan agar tidak terpapar racun yang berpotensi kepada kematian;
2. Sosialisasi secara massif terkait penggunaan pupuk dan pentingnya deteksi dini terhadap kejadian kematian/ kesakitan di lapangan.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih diucapkan ke Dinas Peternakan Kabupaten Musi Rawas secara partisipatif memberikan pendampingan pada saat investigasi

Daftar Pustaka

Gerstman, BB (1998). *Epidemiology kept simple: An introduction to classic and modern epidemiology*. New York: Wiley-Liss, Inc

Last, JM (2001). *A dictionary of epidemiology*. New York: Oxford University Press, Inc.

Murti B (2006). *Desain dan ukuran sampel untuk penelitian kuantitatif dan kualitatif di bidang kesehatan*. Yogyakarta: UGM Press.

Murti B (2018). *Investigasi Outbreak*. <https://id.scribd.com/doc/134705644/Investigasi-Outbreak-Prof-Bhisma-Murti>. Diunduh tahun 2018.

Yuningsih (2007). *Keracunan Nitrat-Nitrit Pada Ternak Ruminansia dan Upaya pencegahannya*, Jurnal Litbang Pertanian, 26 (4)

Identifikasi Endoparasit (*Hymenolepis Nana* dan *Hymenolepis Diminuta*) yang Bersifat Zoonosis pada Tikus Rumah (*Rattus Rattus*) di Laboratorium Parasitologi Balai Veteriner Lampung

Sulinawati dan Sisca Valinata

Email :

ABSTRAK

Hymenolepiasis adalah penyakit kecacingan yang disebabkan oleh cacing pita kerdil yang berada dalam saluran pencernaan tikus dan manusia. Hymenolepiasis ini penyakit yang belum banyak mendapat perhatian dari pemerintah baik dalam kesehatan manusia maupun kesehatan hewan. Hymenolepiasis disebabkan oleh endoparasit golongan cestoda dari genus *Hymenolepis* sp. *Hymenolepis* yang menyerang tikus ada dua jenis yaitu *Hymenolepis nana* (*H. nana*) dan *Hymenolepis diminuta* (*H. diminuta*). Tujuan dari penulisan ini adalah untuk mengidentifikasi endoparasit *H. nana* dan *H. diminuta* dari organ tikus. Materi yang digunakan adalah organ tikus yang diuji di laboratorium parasite Balai Veteriner Lampung Metode pengujian yang digunakan adalah pewarnaan cacing menggunakan pewarnaan "Semichon's Acetocarmine. Hasil pengujian ditemukan cacing dari dua jenis *Hymenolepis*. Identifikasi cacing berdasarkan ukuran, memiliki skoleks dan rostelum.

Kata kunci : Hymenolepiasis, Tikus, Zoonosis, *Hymenolepis* sp

Pendahuluan

Tikus dan cucurut merupakan kelompok hewan yang tersebar luas di seluruh belahan dunia. Jumlah hewan anggota kelompok ini sangat melimpah dan kehidupan mereka sangat berasosiasi dengan manusia dalam aktivitas mencari pakan ataupun tempat bersarang. Hewan ini termasuk golongan Muridae dan mempunyai kemampuan beradaptasi yang besar pada lingkungannya sehingga mempunyai penyebaran yang sangat luas di dunia (Pisanu et al, 1955). Di negara tropis maupun subtropis, minimal ada 20 spesies tikus yang telah teridentifikasi sebagai hama yang sering menimbulkan kerusakan hasil pertanian (Claveria et al, 2005). Di lingkungan permukiman, tikus sering ditemukan merusak bahan-bahan makanan, alat-alat elektronik, dan lain-lain sehingga menimbulkan kerugian secara ekonomi (Waugh et al, 2006)

Selain menimbulkan berbagai kerusakan dan gangguan kenyamanan, tikus dan cucurut juga memiliki peran yang signifikan dalam penyebaran penyakit menular pada manusia. Tikus merupakan reservoir penyakit parasit pada manusia dan hewan yang beberapa jenisnya berpotensi zoonosis

(Seo, 1968; Faust et al, 1971; Baker, 1998; Kia et al, 2001; Cecilia et al, 2006; Anonim, 2013). Beberapa penyakit yang telah diketahui dapat ditularkan oleh tikus diantaranya cacing zoonotic, Leptospirosis, Rat bite fever, Q fever dan Haemorrhagic fever (Coomansingh et al, 2009). Cacing zoonotik utama pada tikus rumah yang berperan dalam kesehatan yaitu *Hymenolepis nana*, *Hymenolepis diminuta*, *Trichinella spiralis* dan *Capillaria hepatica* (Stojcevic et al, 2004)

Penyakit infeksi kecacingan adalah penyakit yang penularannya melalui makanan atau kulit dengan tanah sebagai media penularannya sehingga lazim juga disebut penyakit cacing yang ditularkan melalui tanah (soil transmitted helminth).

Secara garis besarnya penyakit infeksi kecacingan yang menyerang usus (saluran pencernaan) terdiri atas 3 phylum yaitu nematoda, trematoda dan cestoda. Nematoda usus yang menjadi permasalahan kesehatan adalah *Ascaris* sp, *Enterobius* sp, *Capillaria* sp, *Ancylostoma* sp, *Trichiuris* sp. Untuk trematoda usus *Fasciola* sp, *Echinostoma* sp, *Paramphistomum* sp. Sedangkan dari cestoda usus meliputi *Dipyllobothrium* sp, *Taenia* sp, *Hymenolepis* sp. (Lyne et al, 1996; Lawrence et al, 1980)

Hymenolepis nana adalah parasit yang tersebar di seluruh dunia, namun lebih banyak di daerah tropis (beriklim panas). Spesies ini ditemukan oleh Bilharz pada tahun 1851 dalam usus halus seorang anak asli Dio, Kairo. Hospesnya adalah tikus dan manusia. Cacing ini tidak mempunyai hospes perantara. (Marbawati, 2010). Cacing ini berukuran kecil dengan panjang 25-40mm dan lebar 1 mm. Skoleks berbentuk bulat kecil dan memiliki 4 buah batil isap serta rostelum yang pendek berkait-kait. (Sutanto dkk, 2008)

Hymenolepis diminuta memiliki distribusi yang luas di seluruh dunia dan hewan rodentia merupakan inang definitifnya. Hospes perantaranya adalah serangga berupa pinjal dan kumbang. (Safar, 2010). Ukuran cacing dewasa 20-60 mm dengan skoleks bulat kecil, memiliki 4 batil isap dan rostelum tanpa kait-kait. (Priyanto dkk, 2012).

Cacing parasit Hymenolepis Nana dan Hymenolepis Diminuta dapat menyebabkan penyakit dengan gejala seperti sakit perut dengan ataupun tanpa diare, muntah, sukar tidur dan pusing-pusing dengan ataupun tanpa diare, muntah, sukar tidur dan pusing-pusing (Widiastuti, 2016)

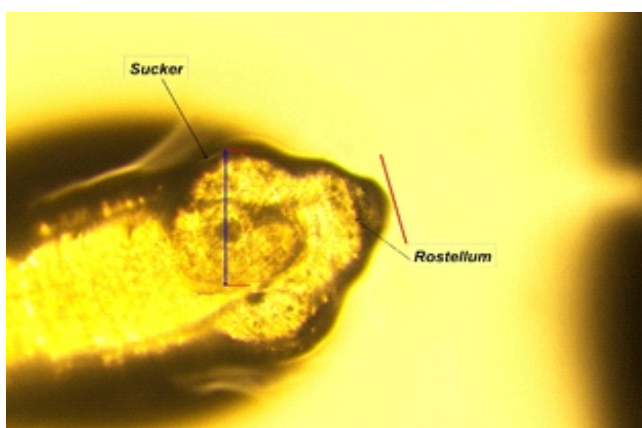
Hasil penelitian di Gedongtataan Lampung Selatan tikus yang terinfeksi H. nana memiliki prevalensi 64,71% (Dewi dan Endang, 2013) sedangkan hasil penelitian di Pelabuhan Panjang Bandar Lampung 60% (Ulfah, 2020). Tujuan dari pengamatan ini adalah untuk mengidentifikasi jenis cacing yang ditemukan pada organ tikus.

Materi dan Metode

Materi yang digunakan adalah organ dari tikus segar (tanpa pengawet). Metode yang digunakan adalah pewarnaan cacing semichon carmine. Cacing direndam dalam larutan Semichon's-Acetocarmine selama 30 menit sampai 2 jam (sampai warna terserap dan cacing berubah warna menjadi merah cerah). Rendam dalam larutan asam alcohol (99 bagian alcohol 70% dicampur dengan 1 bagian HCl). Setelah itu cacing dibilas dengan alcohol 70%. Lakukan dehidrasi bertingkat selama 20 menit pada masing-masing tingkatan (70%, 80% dan 90%). Rendam dalam larutan Lactofenol beberapa menit sampai cacing terlihat tembus pandang. Dehidrasi kembali pada alcohol absolut. Clearing dengan xylol sampai warna terlihat transparan. Cacing di mounting dengan entelan. Amati dibawah mikroskop dengan pembesaran 40-400x (Soulbsy, 1982)

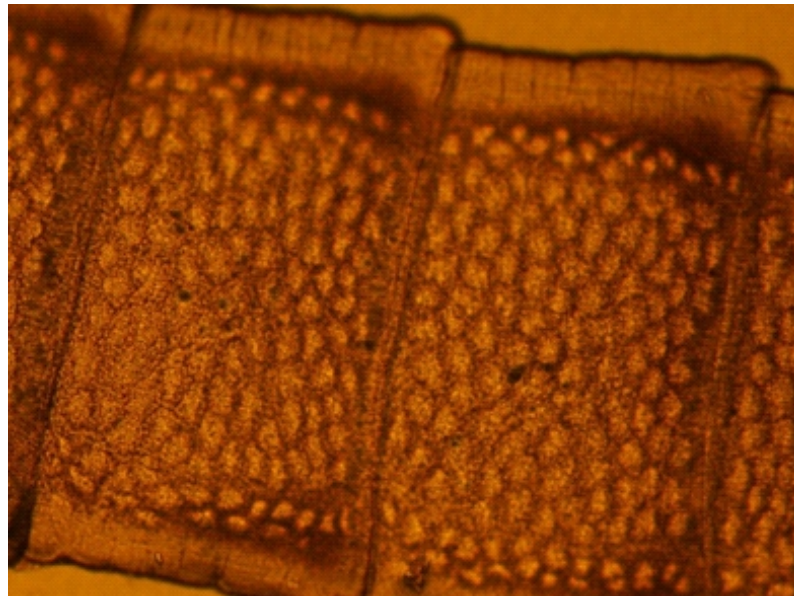
Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil pengamatan di bawah mikroskop pembesaran 10x10 terlihat kepala cacing memiliki ciri yang sama dengan morfologi dari H. diminuta dan H. nana. Ditemukan adanya Sucker, rostelum dan batil isap.



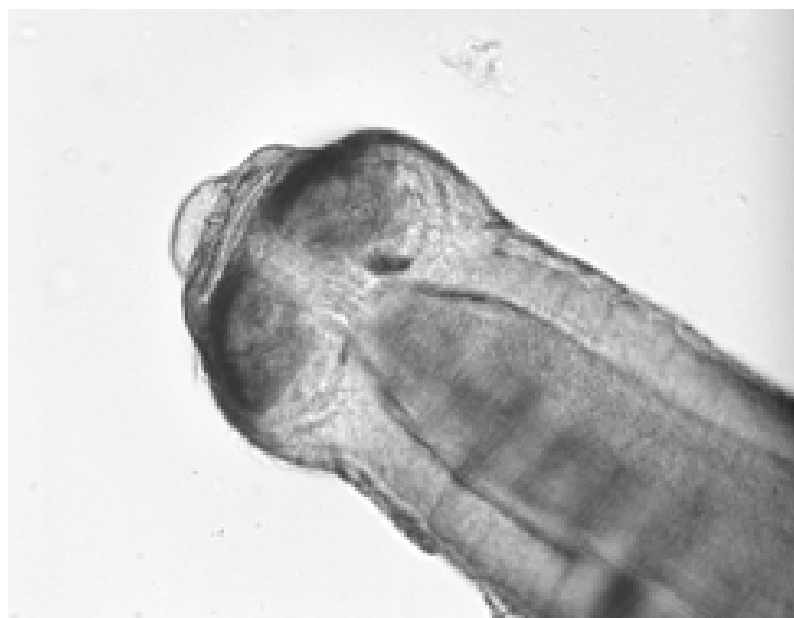
Gambar 1 dan 2. Bagian skoleks cacing Hymenolepis diminuta pada organ usus. Perbesaran 10x10 Penampakan dorsal dan ventral. (Dokumen Pribadi, 2020)

Dari hasil pengukuran didapatkan ukuran cacing sebesar 30 mm dan 27 mm. Menurut Anorital (2014) ukuran kedua jenis cacing tersebut relatif sama yaitu panjang antara 15—40 mm dengan ketebalan sebesar 1 mm. Cacing dewasa berbentuk pipih seperti benang terbagi atas kepala (skoleks) dengan alat pelek yang dilengkapi batil isap, leher dan sederet segmen (proglotid) yang membentuk rantai (strobila). Pada scolex terdapat rostellum yang bersifat refraktil (dapat ditarik/ditongkolan) dan mempunyai 20 – 30 kait-kait, serta mempunyai 4 batil isap (sucker).



Gambar 3. Bagian proglotid dengan gravid cacing *Hymenolepis diminuta* pada organ usus. Perbesaran 10 x10 (Dokumen Pribadi, 2020)

Hymenolepiphidae merupakan genus cacing pita yang biasa terdapat pada tikus. Cacing pita (cestoda) pada umumnya memiliki ciri tubuh terdiri dari rangkaian segmen-segmen yang masing-masing disebut proglotid. Proglotid gravid terdapat 80 – 100 telur tiap segmen.



Gambar 4. *Hymenolepis nana* dengan pembesaran 10x10 (dokumen pribadi, 2020)

Kesimpulan

Berdasarkan identifikasi cacing yang ditemukan pada organ tikus adalah *Hymenolepis diminuta* dan *Hymenolepis nana*. Identifikasi spesies berdasarkan ciri-ciri morfologi yang ditemukan pada pengamatan di laboratorium. *Hymenolepis diminuta* dan *Hymenolepis nana* merupakan cacing kerdil golongan cestoda yang bersifat zoonotik terhadap manusia. Ukuran cacing ini berkisar 25 – 40 mm untuk *Hymenolepis nana* dan 20 -60 mm untuk *Hymenolepis diminuta*. Perlu diwaspadai keberadaan tikus disekitar rumah dan dijaga kebersihan lingkungan untuk mencegah penularan cacing ini terhadap manusia.

Daftar Pustaka

- Anonim. 2013. *Hymenolepis nana* Infection. [Online]
<http://www.merckmanuals.com/professional/infectious_diseases/cestodes_tapeworms/hymenolepis_nana_infection.html>. [Diakses 28 Oktober 2013].
- Anorital. 2014. Kajian Penyakit Kecacingan *Hymenolepis nana*. *Biotek Medisiana Indonesia* 3.2.:37-47.
- Baker, D. G. 1998. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. *Clinical Microbiology Reviews*, 11, 231 – 266.
- Cecelia, A. W., Lindo, J. F., Foronda, P., ÁngelesSantana, M., Lorenzo-Morales, J. & Robinson, R. D. 2006. Population distribution and zoonotic potential of gastrointestinal helminths of wild rats *Rattus rattus* and *R. norvegicus* from Jamaica. *The Journal of Parasitology*, 92(5), 1014-1018.
- Claveria FG, Causapin J, Guzman MA, Toledo MG, Salibay C. 2005. Parasite biodiversity in *Rattus* spp caught in Wet Markets. *Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health*. 2005; 36: 146–48.
- Coomansingh C, Pinckney RD, Bhaiyat MI, Chikweto A, Bitner S, Baffa A, Sharma R. Prevalence of endoparasites in wild rats in Grenada. *West Indian Veterinary Journal*. 2009; 9(1): 17–21.
- Dewi, K. dan Endang Purwaningsih. 2013. Cacing Parasit Pada Tikus Di Perkebunan Karet di Desa Bogorejo, Kecamatan Gedongtataan, Kabupaten Pesawaran, Lampung Dan Tinjauan Zoonosisnya. *Zoo Indonesia*. 22(2)1-7.
- Faust, E. C., Russel, P. F. & Jung, R. C. (1971) *Clinical Parasitology*. Craig and Faust's 8th edition, New Orleans, 890 pp.
- Kia, E. B., Homayouni, M. M., Farahnak, A., Mohebbali, M. & Shojai, S. (2001) Study of endoparasites of rodents and their zoonotic importance in Ahvaz, South West Iran. *Iranian J. Publ. Health*, 30 (1-2), 49-52.
- Lawrence R. Ash and Thomas C. Orihel. "Atlas of Human Parasitology". American Society of Clinical Pathologists. Chicago. 1980.
- Lyne S. Garcia dan David A. Bruckner. "Diagnostik Parasitologi Kedokteran". Alih Bahasa: Robby Makimian. Editor: Leshmana Padmasutra. Penerbit Buku Kedokteran – EGC. Jakarta. 1996.
- Marbawati, D. 2010. *Hymenolepis* sp, Cacing Pita Parasit pada Tikus dan Manusia. *BALABA*, 6 (2) 24-25.

- Pisanu, B., Jerusalem, C., Huchery, C., Marmet, J. & Chapuis, J. L. 2007. Helminth fauna of the Siberian chipmunk, *Tamias sibiricus* Laxmann (Rodentia, Sciuridae) introduced in sub urban French forests. *Parasitol Res.*, 100,1375-1379.
- Priyanto D, Rahmawati, Ningsih DP, Setiyani E. 2012. Identifikasi Tikus pada Berbagai Habitat di Kabupaten Banjarnegara. Banjarnegara : Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Banjarnegara.
- Safar R. 2010. Parasitologi kedokteran. Bandung: Yrama Widya.
- Seo, B. S., Rim, H. J., Yoon, J. J., Koo, B. Y. & Hong, N. T. 1968. Studies on the parasitic helminths of Korea III. Nematodas and Cestodes of Rodents. *The Korean Journal of Parasitology*. 6(3), 123 – 131.
- Soulsby E.J.L. 1982. *Helminths, Anthropods, and Protozoa of Domesticated Animals*. Eds Seveb London (GB) : Bailiere-Tindall.
- Stojcevic D, Mihaljevic Z, Marinculic A. 2004. Parasitological survey of rats in rural regions of Croatia. *Vet. Med. - Czech*. 3: 70–4.
- Sutanto I, Ismid I.S., Sjarifuddin P.K., dan Sungkar S. 2008. *Parasitologi Kedokteran*. Edisi ke-4. Jakarta: Departemen Parasitologi FKUI.
- Ulfah, N. 2020. Identifikasi Dan Prevalensi Endoparasit Pada Saluran Pencernaan Tikus (Rodentia) Di Daerah Pelabuhan Panjang Kota Bandar Lampung. Skripsi. Universitas Lampung.
- Waugh CA, Lindo JF, Foronda P, Santana MA, Morales JL, Robinson RD. 2006. Population distribution and zoonotic potential of gastrointestinal helminthes of wild rats *Rattus rattus* and *R. norvegicus* from Jamaica. *Journal of Parasitology*. 92(5):1014–18.
- Widiastuti, D., Novia, T. A., Nova, P., Tika, F.S. 2016. "Infeksi Cacing *Hymenolepis Nana* dan *Hymenolepis Diminuta* Pada Tikus dan Cecurut di Area Pemukiman Kabupaten Banyumas". *Jurnal Kesehatan*, Volume 8 Nomor 2, Oktober 2016:81-90.



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



KEMENTERIAN PERTANIAN
**BALAI VETERINER
LAMPUNG**



bvetlampung
@pertanian.co.id



SMS Center
0813.7923.0195



@bvetlampung



@bvetlampung



Balai Veteriner