

MP-01

KEMAMPUAN PROTEKSI SILANG YANG BERBEDA ANTARA DUA VAKSIN INAKTIF AI H5N1 TERHADAP TANTANGAN VIRUS AI H5N1 HETEROLOG

Okti Nadia Poetri^{1*}, Michiel Van Boven³, Guus Koch⁴, Arjan Stegeman², Ivo Claassen⁴,
I Wayan Wisaksana⁵, Retno Damajanti Soejoedono¹, Annemarie Bouma²

¹Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Dramaga, Bogor 16680; ²Faculty of Veterinary Medicine, Department of Farm Animal Health, Yalelaan 7, 3584 CL Utrecht, The Netherlands; ³Centre for Infectious Disease Control, National Institute for Public Health and the Environment, Antonie van Leeuwenhoeklaan 9, 3721 MA Bilthoven, The Netherlands; ⁴Central Veterinary Institute, Wageningen University and Research Centre, Part of Wageningen UR, Houtribweg 39, 8221 RA Lelystad, The Netherlands; ⁵PT. Vaksindo Satwa Nusantara, Cicadas, Gunung Putri, Bogor 16962,

*Korespondensi: diapoetri@gmail.com

Kata kunci: H5N1, vaksin inaktif, virus AI

PENDAHULUAN

Virus avian influenza (AI) masih menjadi masalah penting dalam industri perunggasan di Indonesia. Wabah AI masih terjadi pada flock unggas yang telah divaksinasi, hal ini mungkin terjadi karena ketidakcocokan antara virus vaksin dengan virus yang beredar dilapangan. Protektivitas vaksin dapat dipengaruhi oleh kesamaan antigenik antara virus vaksin dan virus lapang (Beato *et al.*, 2010). Kesamaan antigenik antar strain virus AI dapat dinilai dengan mengukur reaksi silang pada uji hambat aglutinasi (HI), namun informasi tentang keterkaitan antara kesamaan antigenik yang dinilai secara *in vitro* dan protektivitas vaksin yang dilakukan secara *in vivo* masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh kesamaan antigenik dengan protektivitas vaksin AI di lapang apabila di tantang menggunakan virus AI homolog dan heterolog.

METODE

Kesamaan antigenik antara isolat virus AI di nyatakan sebagai relasi antigenik (R) dan di tentukan dengan dengan formula Archetti & Horsfall (1950) menggunakan data hasil reaksi panel HI. Relasi antigenik antara virus x dan y di tentukan sebagai berikut : ratio titer virus x (rx) adalah titer heterolog virus x menggunakan antigen y di bagi dengan titer homolog virus x , dan ratio titer y (ry) adalah titer heterolog virus y menggunakan antigen x di bagi dengan titer homolog virus y . Nilai R merupakan akar dari perkalian antara rx dan ry ($R = \sqrt{rx * ry}$). Nilai R antara 0,5-1 menandakan bahwa antara dua isolat virus memiliki relasi antigenik yang berdekatan secara serologis, apabila nilai $R = 1$ menandakan bahwa tidak ada perbedaan antigenik antara dua isolat virus (Archetti & Horsfall 1950, Beato *et al.*, 2010).

Dalam penelitian ini kami melakukan percobaan untuk mengukur protektivitas dua vaksin inaktif AI H5N1 yaitu vaksin berisi virus AI H5N1 strain A / Ck / WJava / Sukabumi / 006/2008 (strain Sukabumi) dan vaksin yang berisi virus AI H5N1 strain A / Ck / CJava / Karanganyar / 051/2009 (strain Karanganyar) terhadap tantangan menggunakan strain virus AI homolog atau heterolog. Vaksin yang digunakan merupakan vaksin non komersil. Penelitian ini dilakukan pada fasilitas *Biosafety Level 3* (BSL3) milik PT. Vaksindo Satwa Nusantara. Kami menggunakan 96 ekor ayam layer *specified pathogen free* (SPF) yang dibagi menjadi 6 kelompok (A, B, C, D, E, F) dan tiap kelompok terdiri dari 16 ekor ayam layer. Ayam layer dalam kelompok A dan B divaksinasi dengan vaksin AI strain Sukabumi, kelompok C dan D di vaksinasi dengan vaksin AI strain Karanganyar, sedangkan kelompok E dan F tidak divaksinasi. Vaksinasi dilakukan pada saat ayam berumur empat minggu. Empat minggu setelah vaksinasi, setengah dari kelompok A, C, dan E di tantang dengan virus AI strain Sukabumi dan setengah dari kelompok B, D, dan F di tantang dengan virus AI strain Karanganyar. Ayam yang ditantang langsung di sebut sebagai *inoculated* (I) dan ayam yang tidak ditantang disebut sebagai *contact-exposed* (S). Sampel serum di koleksi pada saat uji tantang dilakukan dan saat akhir

penelitian yaitu dua minggu setelah ujiantang. Sampel serum akan di periksa titer antibodi terhadap virus AI menggunakan metode HI (OIE 2009). Gejala klinis diamati setiap hari setelah tantang selama 14 hari. Sampel swab orofaring dan kloaka di koleksi setiap hari setelah tantang selama 14 hari. Sampel swab akan di periksa terhadap keberadaan virus AI dengan metode isolasi dan identifikasi virus AI (OIE 2009), hasil positif dari pemeriksaan ini menandakan ayam terinfeksi virus tantang sedangkan hasil negatif dari pemeriksaan ini menandakan ayam tidak terinfeksi virus tantang. Selain itu, hasil positif pada ayam I menunjukkan terjadinya *shedding* virus tantang dan hasil positif ayam S menunjukkan terjadinya transmisi virus tantang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Relasi antigenik antara virus AI strain Sukabumi dan strain Karanganyar menunjukkan nilai $R= 0,37$, yang berarti kesamaan antigenik antara dua strain virus ini secara serologis rendah, atau memiliki perbedaan antigenik.

Hasil penelitian kami (Tabel 1) menunjukkan bahwa tidak ada *shedding* dan transmisi virus terjadi pada kelompok yang ditantang menggunakan virus AI homolog (A dan D). Kelompok C yang di vaksin menggunakan vaksin strain Karanganyar terlindungi total terhadap tantangan dan transmisi virus AI strain Sukabumi, sedangkan kelompok B yang di vaksin menggunakan vaksin strain Sukabumi hanya terlindungi sebagian dari tantangan virus AI strain Karanganyar dan transmisi virus tantang masih terjadi.

Tabel 1 Ringkasan desain penelitian, titer antibodi dan hasil uji tantang

Kelompok	Strain virus		Rataan titer antibodi ($2^x \pm SD$) ^a		Shedding virus tantang	Transmisi virus tantang
	Vaksinasi	Tantang	SMI ^b	KRA ^c		
A	SMI	SMI			Tidak	Tidak
B	SMI	KRA	3.75±1.2	1.4±1.2	Ya	Ya
C	KRA	SMI	4.6±0.9	5.7±0.9	Tidak	Tidak
D	KRA	KRA			Tidak	Tidak
E	Tidak divaksin	SMI	0	0	Ya	Ya
F	Tidak divaksin	KRA	0	0	Ya	Ya

^a Data merupakan titer HI dalam $\log_2 \pm$ standar deviasi, yang berasal dari sampel serum yang dikoleksi pada hari tantang.

^b SMI = virus AI strain Sukabumi (A/Ck/WJava/Sukabumi/006/2008 (H5N1))

^c KRA = virus AI strain Karanganyar (A/Ck/CJava/Karanganyar/051/2009 (H5N1))

Berdasarkan nilai relasi antigenik antar virus AI strain Sukabumi dan Karanganyar, kami mengharapkan bahwa protektivitas dua vaksin ini menghadapi tantangan virus AI heterolog adalah rendah, namun hasil penelitian kami menunjukkan bahwa vaksin AI strain Karanganyar memiliki protektivitas yang baik menghadapi tantangan virus AI strain Sukabumi (heterolog). Hal ini bisa dijelaskan karena respon serologis vaksin Karanganyar terhadap antigen heterolog lebih baik daripada vaksin Sukabumi (Tabel 1). Rataan titer antibodi terhadap antigen heterolog pada kelompok yang divaksin strain Karanganyar adalah $2^{4,6}$, sedangkan pada kelompok yang divaksin strain Sukabumi adalah $2^{1,4}$. Titer antibodi yang dianggap protektif melawan tantangan virus AI adalah 2^4 (Ellis *et al.*, 2004). Boon & Webby (2009) menyebutkan bahwa strain virus AI dari clade tertentu memiliki kemampuan reaksi silang yang lebih luas dibandingkan dengan strain virus AI lainnya.

SIMPULAN

Hasil penelitian kami menunjukkan bahwa kesamaan antigenik yang ditentukan secara *in vitro* tidak dapat secara langsung diterapkan pada kondisi lapang, sehingga uji tantang secara *in vivo* tetap diperlukan untuk menentukan protektivitas vaksin.

DAFTAR PUSTAKA

Archetti I, Horsfall FL. 1950. Persistent antigenic variation of influenza A viruses after incomplete neutralization in ovo with heterologous immune serum. *J Exp Med* 92: 441-462.

- Beato MS, Monne I, Mancin M, Bertoli E, Capua I. 2010. A proof of principle study to identify suitable vaccine seed candidates to combat introductions of Eurasian lineage H5 and H7 subtype avian influenza virus. *Avian Pathol* 39: 375-382.
- Boon AC, Webby RJ. 2009. Antigenic cross reactivity among H5N1 viruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 333: 25-40.
- Ellis TM, Leung CYHC, Chow MKW, Bisset LA, Wong W, Guan Y, Peiris JSM. 2004. Vaccination of chickens against H5N1 avian influenza in the face of an outbreak interrupts virus transmission. *Avian Pathol* 33 : 405-412.

MP-02

PETA ANTIGENIK PADA KASUS AVIAN INFLUENZA PADA UNGGAS AIR

Rama Dharmawan*, Tri Bhakti Usman

Medik Veteriner Laboratorium Virologi-Serologi Balai Besar Veteriner Wates Yogyakarta
Jl Jogja – Wates Km 27 , Gunung Gempal, Giripeni, Kulonprogo, Yogyakarta
*Korespondensi: sangpencerah5@gmail.com

Kata kunci: *antigen reference* , *antigenic cartography* , *evolusi* , *hyperimmune antisera* , *prime sera*

PENDAHULUAN

Penyakit Avian Influenza saat ini merupakan salah satu penyakit yang mudah sekali menyerang terhadap setiap species, baik manusia maupun hewan, Beberapa penelitian menunjukkan bahwa infeksi virus-virus Avian Influenza H5N1 pada golongan ayam (*gallinaceous*) seperti ayam layer, ayam broiler, ayam kampung bersifat sangat pathogen, menyebabkan sakit perakut dan kematian dalam jumlah tinggi, sedangkan itik dan unggas air lainnya relatif lebih tahan terhadap infeksi virus-virus ini (Wibawa *et al.*, 2012).

Hasil-hasil studi dan investigasi BBVet/BPPV dan beberapa survei epidemiologi dan epidemiologi molekuler yang menunjukkan bahwa tingkat prevalensi virus H5N1 pada itik dan unggas air lainnya di Indonesia sangat rendah dibandingkan prevalensi virus pada ayam (Wibawa *et al.*, 2012).

Pada akhir tahun 2012 telah terjadi outbreak AI pada unggas air yang menyebabkan kerugian yang luas kepada sentra ternak itik di berbagai daerah di Indonesia terutama di pulau Jawa dan saat ini telah menular ke unggas-unggas komersial, oleh sebab itu di butuhkan Metode pemetaan antigenik untuk memonitoring perubahan karakteri virus AI secara berkala, sehingga dapat mengantisipasi kejadian AI yang lebih besar lagi.

MATERI DAN METODE

Antigen Reference, hyperimmune antisera dan Antigenic cartography antisera (prime sera)

Tahapan awal (pre screen) dalam penentuan seleksi virus yang bersirkulasi adalah menggunakan Reference antisera (hyperimmune antisera) dan Tiga jenis cartography antisera tersebut adalah : a) *A/chicken/West-Java/SMI-HMD/2006 (Prime sera)*; b) *A/chicken/Konawe selatan/BBVM2040/2007 (Prime sera)*; c) *A/chicken/West-Java/TASIKSOL/2006 (Prime sera)*. Sebagai antigen kontrol maka digunakan antigen H5 *A/chicken/Indonesia/Wates 1/2005*.

Tahapan untuk pengujian sebagai bahan peta Antigenik Cartography menggunakan 11 (sebelas) jenis antigen referent yaitu : a) *A/Hongkong/156x PR8/1997 clade 0*; b) *A/chicken/Nyanmar/295/2010*; c) *A/Mallard/Netherlands/3/1999 H5N2*; d) *A/Vietnam/1194xPR8/2004 clade 1*; e) *A/chicken/Konawe Selatan/BBVM204(0)/2006*; f) *A/chicken/West Java/TASIKSOL/2006*; *A/chicken/West Java/SMI-CSLK-EB/2006*; g) *A/chicken/West Java/SMI-HAMD/2006*; h) *A/chicken/Indonesia/Wates-1/2005*; i) *A/chicken/West Java/Tangerang/6/2008*; j) *A/chicken/West Java/SMI-ENDRI2/2006* ; k) *A/Anhui/01/05xPR8-Bcd/* , Di tantang dengan 9 (sembilan) jenis antisera yang dipakai adalah *prime sera* yang diperoleh dari AAHL 9 jenis *cartography prime antisera* tersebut adalah: *A/chicken/Indonesia/Wates-1/2005*; b) *A/chicken/West Java/SMI-HAMD/2006*; c) *A/chicken/Konawe Selatan/BBVM204O/2007*; d) *A/chicken/West Java/TASIKSOL/2006*; e) *A/chicken/West Java/CSLK-EB/2006*; f) *A/chicken/West Java/SMI-ENDRI2/2006*; g) *A/chicken/West-Java/PWT-WIJ/2006*; h) *A/chicken/West Java/Tangerang/6/2008*; i) *A/Vietnam/1203/2004*. semua antigen dan antisera telah dikarakterisasi secara lengkap oleh AAHL (Kim, M. and Selleck, P., 2009)

Antigen yang diuji

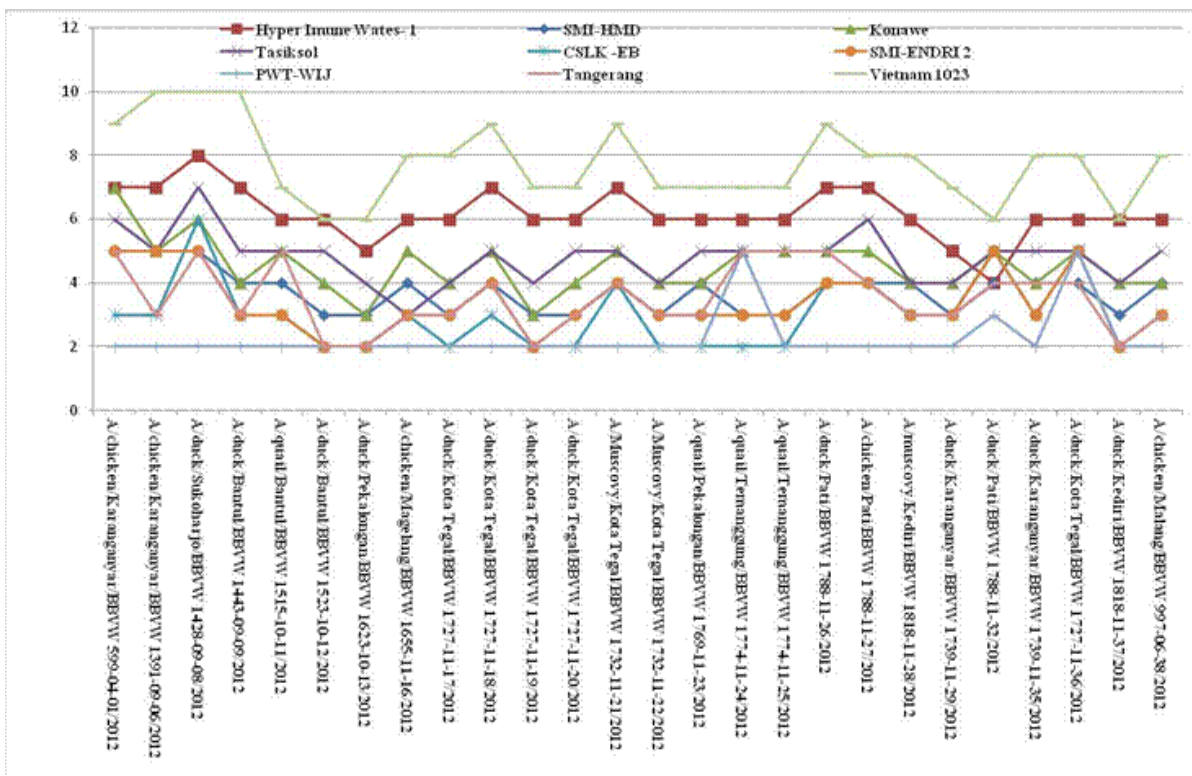
Antigen yang diuji pada studi ini adalah antigen dari 27 isolat yang berasal dari perwakilan seluruh wilayah kerja BBVet Wates dari berbagai jenis unggas, diantaranya isolat Ayam, Entok,

Itik, dan burung Puyuh, yang diisolasi dan dikumpulkan oleh Balai Besar Veteriner Wates Yogyakarta dari kiriman dinas maupun pelayanan tindak lanjut kasus.

Tahapan selanjutnya BBVET Wates melakukan pengujian HA dan HI test secara lengkap dari hasil seleksi isolat virus yang terpilih menggunakan 11 Antigen referent dan 9 prime antisera referent yang khusus di produksi oleh AAHL sebagai bahan pembuatan Map/ Peta Antigenik Cartography yang dapat dikirimkan secara on line ke alamat web: <https://acmacs-web.antigenic-cartography.org/acmacs-web>. Hasil pemetaan ini selanjutnya akan dibandingkan dan di analisa secara genetik untuk mengetahui derajat atau kuantitas evolusi isolat virus yang sekarang masih beredar di Indonesia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian dari 27 isolat yang digunakan dengan 9 antisera referent di peroleh reaksi kuat pada panel sera A/Vietnam/1203/2004 seperti tampak pada grafik *Levy Jennings*, dari 27 isolat tampak jelas seluruhnya di posisi atas, sedangkan pada panel sera A/chicken/Indonesia/Wates-1/2005 yang digunakan sebagai titik pusat awal penentuan posisi antigen yang beredar berada masih posisi dibawahnya, hal ini mengindikasikan bahwa ada kesamaan kekerabatan antara antigen uji dengan panel sera A/Vietnam/1203/2004; tingkat homogenitas sebuah isolat akan mencerminkan tingkat kuat tidaknya sebuah *avinitas* dan *aviditas* sebuah ikatan antara antigen dan antisera (Fenner, 2011). Sehingga ada hubungan kekerabatan yang dekat antara virus-virus yang sedang menyerang pada unggas air di Indonesia sekarang dengan virus Avian Influenza dari Vietnam.

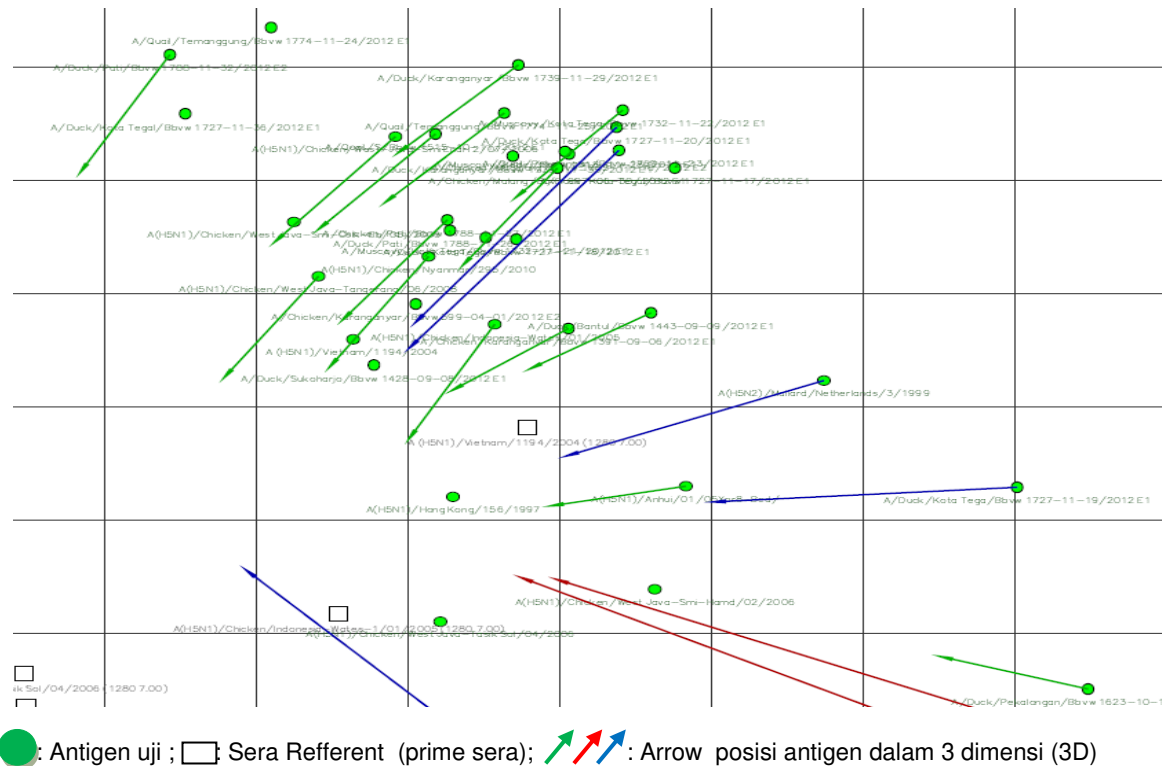


— : Prime Sera Vietnam 1023 bereaksi sangat kuat dibanding dengan
— : Hyperimmune Antisera A/chicken/Indonesia/Wates-1/2005

Gambar 1. Grafik Levy Jennings

Pada gambaran visualisasi pada peta antigenik (*Antigenic Cartography Map*) antara 27 antigen uji terhadap 11 antigen referent yang digunakan; terlihat bahwa semua isolat uji menunjukkan arah terhadap panel sera A/Vietnam/1203/2004, tidak mengarah ke panel sera yang lain sehingga antara gambaran grafik *Levy Jennings* dan *Antigenic Cartography Map* sangat sinergi dengan kenyataan yang ada sekarang, artinya bahwa virus-virus di Indonesia sekarang telah mengalami evolusi atau perubahan secara antigenik. Pengujian *Antigenic*

Cartography pada saat ini, memang sangat dibutuhkan, untuk memonitoring perkembangan isolat virus baru yang sekarang tengah bersirkulasi sehingga pemerintah dapat cepat menentukan kebijakan selanjutnya.



Gambar 1. Peta Antigenic Cartography

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil pemetaan virus dengan metode *Antigenic cartography* menunjukkan bahwa adanya *evolusi antigenic* pada virus Indonesia sekarang dan adanya hubungan kekerabatan yang kuat antara virus-virus AI yang menyerang pada unggas air di Indonesia yang sekarang dengan virus AI yang berasal dari Vietnam. sehingga di perlukan analisa lebih lanjut terhadap pentingnya pembuatan vaksin baru atau pengujian efikasi sebuah vaksin terhadap isolat baru sekarang yang tengah mewabah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala BBVet Wates. Ucapan terima kasih kepada Dr .Eugene Skepner Programmer Antigenic artography, Center for Pathogen Evolution, University of Cambridge, yang telah mengizinkan kami mengolah data antigenic secara online, kami juga sampaikan ucapan terimakasih kepada Australian Animal Health Laboratory (AAHL), Geelong, Australia dan FAO-OIE OFFLU Project yang telah membantu peningkatan kapasitas pengujian dan pengembangan diagnosis AI.

DAFTAR PUSTAKA

Wibawa H, Bingham J, Nuradji H, Lowther S, Payne J, Harper J, Wong F, Lunt R, Junaidi A, Middleton D, Meers J. 2012. The pathobiology of two Indonesian H5N1 avian influenza viruses representing different clade 2.1 sublineages in chickens and ducks *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. In Press.

Smith DJ. *et al*. 2004. Mapping the Antigenic and Genetic Evolution of Avian Influenza *Science* 305, 371 DOI: 0.1126/science.1097211

Fenner *et al*. 2011. *Veterinary Virology*, 4th ed, 39-41,

Kim M, Selleck P. (2009). Analysis of Antigenic Cartography Data, Makalah Workshop OFFLU/AAHL 2-4 September 2009: 1-9.

MP-03

PENEGAKAN DIAGNOSIS AVIAN INFLUENZA PADA ITIK BERDASARKAN PEMERIKSAAN PATOLOGI, VIROLOGI DAN MOLEKULER

Didik Yulianto, Kurniasih*

Laboratorium Patologi FKH UGM. Jl. Fauna, Karangmalang, Yogyakarta

*Korespondensi: kurniasih_1951@yahoo.co.id

Kata kunci: *avian influenza*, itik, tortikolis, ensefalitis nonsupuratif, miokarditis

PENDAHULUAN

Virus AI pertama diisolasi dan teridentifikasi sebagai H4N6 dan H4N2 di Indonesia sejak tahun 1983 (Ronohardjo *et al.*, 1985), dalam kurun waktu lima tahun telah menyebar ke 291 kabupaten di Indonesia (Wibawa *et al.*, 2012). Diagnosa penyakit berdasarkan pada uji serologi, virologi dan PCR, dan histopatologi (Henning *et al.*, 2010). Pada itik yang secara uji RT-PCR positif terinfeksi AI, gejala klinis tampak tortikolis, kehilangan keseimbangan dan mata berwarna putih (Wibawa *et al.*, 2012).

MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan di laboratorium Patologi, Virologi, dan Biologi molekuler, Balai Besar Veteriner Wates, Yogyakarta. Sebanyak 13 nomer sampel yang terdiri dari 47 ekor itik yang diduga terinfeksi virus AI, 2 nomer sampel itik kontrol negatif, 11 nomer sampel yang positif AI secara patologis yang didukung dengan pemeriksaan virologis (inokulasi telur bertunas dan uji HA) dan uji *real time* RT-PCR sebagai kontrol positif. Organ itik diwarnai *haematoksin eosin* (HE), uji virologi dan uji biologi molekuler diuji *agreement test* (uji kesesuaian *Kappa*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala klinis yang nampak tortikolis, inkoordinasi, dehidrasi serta kornea mata putih dengan perubahan histopatologik pada otak dan paru. Hasil uji *Kappa* tampak pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Kesesuaian (*Agreement Test*)

Perubahan Patologis	Hasil Kappa
Perubahan TORTICOLIS dibanding PCR	27 %
Perubahan TORTICOLIS dibanding VIROLOGI	40 %
Perubahan INKOORDINASI dibanding PCR	10 %
Perubahan INKOORDINASI dibanding VIROLOGI	4 %
Perubahan MATA PUTIH dibanding PCR	15 %
Perubahan MATA PUTIH dibanding VIROLOGI	-13 %
Perubahan JANTUNG dibanding PCR	35 %
Perubahan JANTUNG dibanding VIROLOGI	53 %
Perubahan OTAK dibanding PCR	75 %
Perubahan di OTAK dibanding VIROLOGI	29 %
Perubahan di PARU dibanding PCR	15 %
Perubahan di PARU dibanding VIROLOGI	-5 %
Uji PCR dengan Uji VIROLOGI	45 %

Prosentase itik dengan gejala tortikolis dari 13 sampel terduga AI mencapai 46,15% dan gejala klinis inkoordinasi mencapai 23,07%. Tortikolis dapat terjadi karena adanya replikasi virus di dalam sel otak yang akan mengakibatkan nekrosis sel otak yang diikuti *perivascular cuffing* (PVC) ringan sampai berat (Wibawa *et al.*, 2012)

Pada penelitian ini perubahan pada otak dibanding hasil uji RT-PCR (75%) atau virologi positif (29%) akibat adanya antigen virus pada sel-sel neuron otak selain itu juga ditemukan adanya infiltrasi limfosit dalam jumlah tinggi pada otot jantung. Brown *et al.*, (2006), menyatakan bahwa ensefalitis pada itik berasosiasi dengan tingginya level virus AI yang

terdeteksi pada pemeriksaan menggunakan metode IHC. Jantung itik yang positif terdiagnosa AI pada pemeriksaan isolasi virus (53%) dan *real time PCR* (35%) Miocarditis akut merupakan komplikasi yang mengikuti semua perubahan patologis pada kasus *avian influenza* (Ukimura *et al.*, 2012).

SIMPULAN

Ensefalitis dan miokarditis dapat digunakan sebagai peneguhan diagnosa AI pada itik. Perubahan patologis pada otak berkesesuaian baik sekali dengan uji PCR, sedangkan jantung berkesesuaian baik dengan uji virologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Brown JD, Stallknecht D, Swayne D. 2006. Susceptibility of North American Ducks and Gulls to H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses. *Emerg Infect Dis* 12:1663-1670.
- Henning J, Wibawa H, Morton J, Usman TB, Junaidi A, Meers J. 2010. Scavenging Ducks and Transmission of Highly Pathogenic Avian Influenza, Java, Indonesia. *Emerg Infect Dis* 16 (8): 1244-1249.
- Ronohardjo P, Hardjosworo S, Partoatmojo S, Partadireja M. 1985. The identification and distribution of influenza a virus in Indonesia. *Penyakit Hewan* 27(1): 249-257
- Ukimura A, Satomi H, Ooi Y, Kanzaki Y. 2012. Myocarditis Association with Influenza A H1N1pdm-2009. *Hindawi Publishing Corporation* 15:1-8
- Wibawa H, Prijono WB, Dharmayanti NLPI, Irianingsih SH, Miswati Y, Rohmah A, Andesyha E, Romlah, Daulay RSD, Safitria K. 2012. Investigasi Wabah Penyakit pada Itik di Jawa Tengah, Yogyakarta dan Jawa Timur: Identifikasi Sebuah Clade Baru Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 di Indonesia. *Buletin Laboratorium BBVET Wates* 12(4): 8-14

MP-04

ANALISIS MOLEKULER GEN HEMAGLUTININ VIRUS AVIAN INFLUENZA H5N1 ISOLAT AYAM BURAS DI JAWA TIMUR

Maulana Hanief Rachman*, Emmy Krismarwati, Inayatin Indah Sofiana, Nur Agustin
Purnamasari

Balai Besar Karantina Pertanian Surabaya
Jl. Raya Bandara Ir. H. Juanda, Sidoarjo 61253, Indonesia
*Korespondensi: maulana_vet@yahoo.com

Kata kunci: *Avian Influenza*, ayam buras, gen, hemagglutinin

PENDAHULUAN

Virus *Avian Influenza* H5N1 (HPAI) telah menjelma menjadi tantangan yang sangat besar dalam bidang kesehatan dan sosial ekonomi Indonesia dan evolusi virus telah mencakup variasi genetik yang mempengaruhi tingkat virulensi, resistensi terhadap obat, dan adaptasi terhadap spesies inang yang baru.

Berdasarkan patogenitasnya, virus *Avian Influenza* diklasifikasikan ke dalam dua kelompok yaitu *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) dan *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) (Werner and Harder, 2006). Pada virus influenza tipe A terdapat tiga jenis protein pada selubung yang terkait dengan patogenitas, yaitu hemagglutinin (HA), neuraminidase (NA), dan protein matriks (M) terutama M2 (Horimoto & Kawaoka, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui patogenitas virus *Avian Influenza* melalui kajian nukleotida pada area *cleavage site*, untuk menalisa tingkat homologi nukleotida virus AI dan mengidentifikasi kelompok subclade dari virus *Avian Influenza* yang diisolasi dari ayam buras di Jawa Timur terhadap virus-virus *Avian Influenza* lainnya di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Sampel virus diisolasi dari ayam buras yang terdapat di pasar tradisional di Surabaya, Jombang, Pare dan Kediri. Hasil swab kloaka atau organ yang diambil dari ayam buras dengan menggunakan media transport yang mengandung antibiotik diinokulasikan ke dalam cairan alantois dari telur ayam berembrio berumur 9 sampai 11 hari. Telur tersebut diinkubasikan pada suhu 37°C (rentang suhu 35°–39°C) selama 4-7 hari. Cairan alantois dari telur yang embrionya mati selama masa inkubasi dan semua telur yang bertahan sampai masa akhir inkubasi di tes HA dan HI untuk mengetahui keberadaan aktivitas hemagglutinasi.

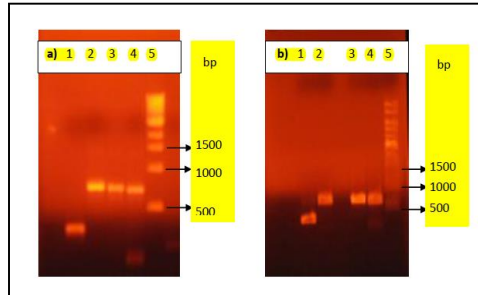
Ekstraksi RNA total dilakukan dengan menggunakan QIAamp Viral Mini Kit untuk menjaga kualitas RNA yang di dapat. Keberadaan gen hemagglutinin (HA) yang mana umum terdapat pada semua virus influenza A dikonfirmasi dan diampifikasi dengan menggunakan *SuperScriptTM III One-Step RT-PCR system with Platinum[®] Taq High Fidelity DNA Polimerase* dari Invitrogen dengan menggunakan 4 pasang primer yang telah didesain secara spesifik. Kemudian produk tersebut di purifikasi dan disekuensing dengan menggunakan AB 3130 *Genetic Analyser* untuk mendapatkan data urutan nukleotida.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menghasilkan dua isolat, isolat AJP 2 dan Isolat AJP 3. Hasil PCR gen HA terlihat melalui proses elektroforesis (gambar 1). Sedangkan urutan asam amino dan penelusuran filogenetik yang diperoleh dari susunan nukleotida dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil dari pengolahan data menunjukkan bahwa kedua isolat memiliki tingkat homologi yang tinggi terhadap (A/chicken/Legok/2003(H5N1), A/Chicken/West Java/ PWT-WIJ/ 2006 and A/Chicken/West Java/Tasiksol/2006) dengan tingkat homologi untuk AJP 2 adalah 95 % , 95 % and 96 % dan untuk AJP 3 adalah 96 % , 96 % and 98 %. Semua isolat tersebut memiliki urutan asam amino *polybasic* pada bagian *cleavage site* dengan pola PQRESRRRKKR//G dan mengindikasikan bahwa virus tersebut termasuk dalam strain HPAI (High Pathogenic Avian Influenza). Kajian filogenetik terhadap kedua isolat menunjukkan bahwa AJP 2 dan AJP 3 dekat

kekerabatannya dengan virus-virus lain di Indonesia dan termasuk dalam sub clade 2.1.3.



Gambar 1. Hasil PCR gen HA. a) Isolat AJP 2. b) Isolat AJP 3. Kolom 1: Primer P1_F dan P1_R. Kolom 2: Primer P2_F dan P2_R. Kolom 3: Primer P3_F dan P3_R. Kolom 4: Primer P4_F dan P4_R. Kolom 5: Marker *DNA ladder* 500 bp.

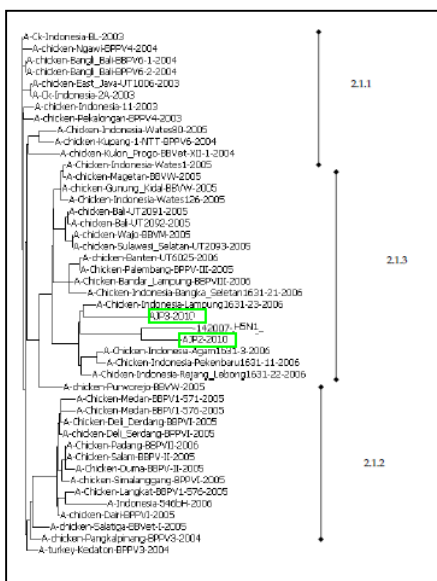
a. Asam Amino AJP 2

```
VSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILERTHNGKLCDLDGVKPLILKDCSVAGWLLGNPMCDEFIN  
VPEWSYIVEKANPTNDLCYPGSFNDYEELKHLLSRINHFEKIQIIHKSSWSDHEASSGVSSACPYLGSPSFFRNVVWLI  
KKNSTYPTIKKTYNNTNQEXLLILWGIHHPNNEAEQTMLYQNPTTYISIGTSTLNQRLVPKIATRSKVNGQSGRMEFFW  
TILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKIVKKGDSAIMKSELEYGNCNTKCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKS  
LVLATGLRNSPQRESRRKKRGLFGAIAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQGSYAADKESTQKAIDGVTNKVNSII  
DKMNTQFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFLDVWYTNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDN  
AKELGNGCFEFYHKCDNECMESIRNGTYNYPQYSEEARLKREEISGVKLES
```

b. Asam Amino AJP 3

```
VSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILEKTHNGKLCDLDGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDEFIN  
PEWSYIVEKANPTNDLCYPGSFNDYEELKHLLSRINHFEKIQIIPKNSWSDHEASSGVSAACPYLGSHSFFRNVVWLI  
KNSTYPTIKKSYNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTRLYQNPTTYISIGTSTLNQRLVPKIATRSKVNGQSGXMEFFW  
TILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKIVKKGDSAIMKSELEYGNCNTKCQSPMGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKS  
NRLVLATGLRNSPQRESRRKKRGLFGAIAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQGSYAADKESTQKAVDGV  
TNKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFLDVWYTNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDN  
AKELGNGCFEFYHKCDNGCMESIRNGTYNYPQYSEEARLKREEINGVKLES
```

Gambar 2. Urutan asam amino dan penelusuran filogenetik dengan area *cleavage site* ditandai dengan warna merah



Gambar. 3. Pohon filogenetik isolat AJP 2 dan AJP 3 dipadankan dengan isolat AI asal Indonesia lainnya yang termasuk pada subclades 2.1.1, 2.1.2 dan 2.1.3.

SIMPULAN

Dapat ditemukan virus Avian Influenza pada ayam buras yang ada di area Jawa Timur dengan karakteristik tergolong *High Pathogenic Avian Influenza*, masih memiliki tingkat homologi yang tinggi terhadap beberapa isolat *seed* vaksin yang ada dan erat secara filogenetik dengan subclade 2.1.3.

DAFTAR PUSTAKA

- Horimoto T, Kawaoka, Y. 2005. Influenza: Lessons from Past Pandemics, Warnings from Current Incidents. *Nature Rev* 3: 591-598.
- Werner O, Harder TC. 2006. Avian Influenza. *Influenza Report 2006*. www.InfluenzaReport.com. B. S. Kamps, C. Hoffmann dan W. Preiser. Paris, Flying Publisher. pp. 50:73.

MP-05

**KAJIAN PENDAHULUAN INFEKSI PERSISTEN BOVINE VIRAL DIARRHEA
(IP-BVD) PADA SAPI PERAH**

**Sri Handayani Irianingsih*, Dessie Eri Waluyati, Herdiyanto Mulyawan, Fadjar Sumping
Tjatur Rasa**

Balai Besar Veteriner Wates Yogyakarta
*Korespondensi: yanibiotech@gmail.com

Kata kunci: IP-BVD, sapi perah

PENDAHULUAN

Penyakit *Bovine Viral Diarrhea* (BVD) adalah penyakit menular pada sapi yang disebabkan oleh agen pathogen virus BVD dan telah menyebar luas di penjuru dunia. Infeksi BVDV pada ternak sapi dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang besar baik dari kinerja reproduksi yang buruk (nilai *service per conception* yang tinggi, peningkatan aborsi dan kelahiran mati) atau kualitas pedhet yang sangat buruk (peningkatan penyakit dan kematian pedhet). Infeksi akut dimungkinkan karena transient diare atau pneumonia, biasanya terjadi dalam kelompok. Penyebaran virus utamanya melalui kontak antara ternak. Penularan secara vertical memegang peranan penting dalam epidemiologi dan pathogenesis (OIE, 2008).

Agen infeksi penyebab penyakit BVD adalah pestivirus tergolong dalam famili Flaviviridae dan terkait erat dengan *Classical Swine Fever* dan *ovine Border disease virus*. Terdapat dua genotipe antigenik yaitu tipe 1 dan tipe 2 (OIE, 2008). Secara khas hewan yang terinfeksi mengalami kenaikan temperatur, diare dan penurunan produk susu. Jika hewan yang terinfeksi adalah sapi bunting, selain dampak infeksi terhadap induknya, dampak infeksi terhadap fetus juga harus dipertimbangkan. Jika infeksi fetus terjadi pada trimester I kebuntingan, sebelum pembentukan sistem imun fetus, kemungkinan lebih lanjutnya adalah anak sapi yang terinfeksi secara persisten (*Persistently Infected / PI*). Hewan PI, seperti namanya, tetap terinfeksi dan infeksius dengan BVD untuk seumur hidup mereka sehingga merupakan reservoir utama untuk infeksi BVDV pada peternakan sapi dan dengan demikian merupakan fokus utama program pengendalian (Fray *et al*, 2000).

PELAKSANAAN PENGUJIAN

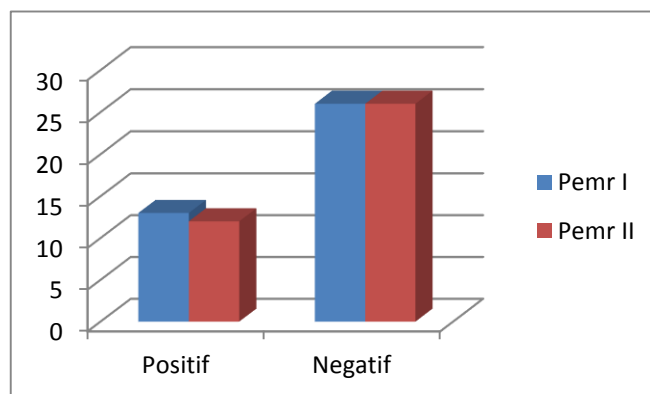
Laboratorium Serologi Balai Besar Veteriner (BBVet) Wates Yogyakarta telah rutin melakukan metoda pengujian untuk mendeteksi antibodi terhadap virus *Bovine Viral Diarrhea* (BVD) pada serum sapi menggunakan uji *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Nilai positif antibodi BVDV menunjukkan bahwa kelompok ternak telah terpapar virus BVD pada waktu sebelumnya. Menurut OIE (2008) bahwa adanya antigen virus dalam dalam susu dapat mengganggu uji antibodi itu sendiri.

Pada tahun 2013 BBVet Wates melaksanakan kegiatan pengembangan metoda pengujian serologi dan molekular untuk mendeteksi antigen virus BVD. Pengujian serologi, *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* untuk mendeteksi antigen telah dipublikasikan dan sejumlah kit komersial telah tersedia. Uji ini sangat sesuai untuk mendeteksi hewan yang terinfeksi persisten (PI) dan biasanya mengukur antigen BVD (NS2-3 atau E^{ms}) dalam *lysate* atau *peripheral blood leukocytes* menggunakan sampel plasma atau serum. Sedangkan pengujian biomolekular untuk tujuan diagnostik adalah uji RT-PCR yang bertujuan untuk mendeteksi antigen viral atau RNA viral BVD dalam leukosit dapat menggunakan sampel serum/plasma atau darah.

HASIL PENGUJIAN

Pengujian serologi deteksi antigen BVDV menggunakan kit *ELISA BVDV Antigen Test Kit/Serum Plus (Idexx)* serta Uji real time RT-PCR BVD terhadap 39 serum sapi perah yang negatif antibodi BVD. Pengujian dilaksanakan di Laboratorium Serologi dan Bioteknologi BBVet Wates Yogyakarta. Pengujian terhadap sampel serum dilakukan sebanyak dua kali dengan interval pengambilan darah minimal tiga minggu.

Kit yang digunakan untuk pengujian adalah VetMAX Gold BVDV Detection Kit PCR (Applied Biosystem®) dengan prosedur dan analisis/interpretasi hasil uji sesuai protokol dan petunjuk di dalam kit. Selain untuk deteksi ada tidaknya infeksi virus BVD pada sampel-sampel hewan, VetMAX Gold BVDV Detection Kit PCR juga dapat digunakan untuk deteksi dugaan infeksi persisten (*persisten infection*) BVDV pada hewan. Hasil pengujian seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Perbandingan persentase kasus positif IP-BVD

Hasil pengujian ELISA untuk mendeteksi antigen terhadap ketiga sampel menunjukkan hasil positif antigen BVDV. Uji ini bertujuan untuk mengukur antigen BVD (NS2-3 atau E^{ms}) dalam *lysate* atau *peripheral blood leukocytes*. Sedangkan uji molecular menggunakan metoda *real time* RT-PCR untuk mendeteksi BVDV. Hasil uji RT-PCR terhadap 39 sampel serum terdapat 12 yang mempunyai nilai Ct < 31. Nilai yang demikian menunjukkan kemungkinan infeksi persisten virus BVD pada sapi atau disebut *presumptive BVD viral persistent infection* (BVDV-PI).

Pada sapi infeksi persisten menunjukkan level antibodi yang rendah sehingga perlu diuji dengan antigen yang heterolog (berbeda secara antigenic) terhadap virus yang persisten. Uji konfirmasi terhadap infeksi persisten, sebaiknya dilakukan uji ulang RT-PCR dan atau ELISA antigen pada sampel serum sapi yang sama minimal 3 minggu setelah pengambilan sampel pertama. Jika hasil uji dari pengambilan sampel kedua menunjukkan hasil positif, maka dapat dikonfirmasi adanya BVDV-PI pada sapi yang bersangkutan.

Sekitar 1-2% dari populasi sapi menderita infeksi persisten, dengan banyak sapi viremia hidup hingga dewasa dan dipertahankan untuk berkembang biak. Anak sapi yang lahir dari indukan infeksi persisten selalu terus menerus viremik, dan seringkali lemah saat lahir dan gagal berkembang. Infeksi persisten ini menjadi sumber penularan sehingga harus segera diidentifikasi dan di-culling. Oleh karena itu ternak yang diperdagangkan harus diperiksa juga terhadap adanya viremia infeksi BVD persisten.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil pengujian terhadap 39 sampel serum sapi perah secara serial menggunakan *real time* RT-PCR virus BVD menunjukkan hasil positif sebanyak 12 baik pada pengambilan pertama dan kedua. Hal ini menunjukkan hasil *presumptive*, yaitu adanya kemungkinan infeksi persisten virus BVD (IP-BVD). Sapi positif BVD ini ada yang menunjukkan gejala klinis penyakit BVD seperti diare dan pertumbuhan lambat/kerdil. Sapi demikian diduga kuat bertindak sebagai sapi IP-BVD sehingga sapi disarankan untuk di-*slaughter*. Pada sapi IP yang bunting dan sapi indukan bunting yang terinfeksi virus BVD berpotensi melahirkan anak sapi yang *persisten infection*. Oleh karena itu sebaiknya dilakukan pengawasan secara ketat dan diisolasi. Namun demikian masih perlu dikaji lebih lanjut dampak negatif penyakit BVD pada sapi di daerah tropis dan isolasi virus BVD serta karakterisasi virus.

Saran / rekomendasi teknis yang disampaikan adalah sebagai berikut:

- Sapi yang diseleksi dan akan dijadikan sebagai ternak bibit dilakukan uji deteksi antigen BVD.
- Sapi yang seronegatif BVD diuji juga dengan deteksi antigen BVD, jika hasilnya positif maka minimal 3 minggu kemudian diambil sampel darahnya lagi untuk diuji deteksi antigen. Sapi

demikian diduga kuat bertindak sebagai sapi *Persisten Infection* BVD sehingga sapi disarankan untuk di-*slaughter*

- c. Sapi-sapi yang seropositif BVD tanpa sejarah vaksinasi mohon tidak dijadikan sebagai sapi bibit pada unit perbibitan.
- d. Sapi indukan yang sedang bunting dikhawatirkan jika terinfeksi virus BVD dan sapi PI yang bunting maka berpotensi untuk beranak sapi yang *persisten infection*. Sebaiknya dilakukan pengawasan secara ketat dan diisolasi. Namun demikian masih perlu dikaji lebih lanjut dampak negatif penyakit BVD pada sapi di daerah tropis.
- e. Pelaksanaan program vaksinasi pada peternakan bibit (*breeding farm*) yaitu sapi muda umur 4 – 6 bulan

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2008. *Bovine Viral Diarrhoea*, Chapter 2.4.8. OIE Terrestrial Manual. Pp. 698-711
- Blood DC, Radostits OM. 1989. *Veterinary Medicine A Textbook of The Disease of Cattle, Sheep, Pigs, Goats, and Horses*. Bailliere Tindall, England. Pp 845 - 857
- Fray MD, Paton DJ, Alenius S. 2000. The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. *Anim Reprod Sci* 60–61: 615–627

MP-06

DETEKSI *BOVINE VIRAL DIARRHEA* PADA SAPI PERAH DENGAN ELISA ANTIGEN DI KEC. PANGALENGAN, KERTASARI, PASIR JAMBU, CILENGKRANG KAB BANDUNG

Agus Karyono*, Jekti Mulyaningsih, Asyari, Novi Ardianasari

Medik Veteriner, Balai Besar Karantina Pertanian Tanjung Priok,
Jl. Enggano No. 17 Tanjung Priok Jakarta Utara, 14310, INDONESIA
*Korespondensi: agus.karyono_77@yahoo.co.id

Kata kunci: *Bovine Viral Diarrhea*, deteksi, ELISA antigen

PENDAHULUAN

Dalam rangka mensukseskan Program Swasembada Daging Sapi 2014 maka Badan Karantina Pertanian dituntut berperan aktif dalam mensukseskan program-program Kementerian Pertanian. Dukungan tersebut dilakukan melalui serangkaian kegiatan pencegahan masuk, tersebar, dan keluarnya Hama Penyakit Hewan Karantina (HPHK).. Penyakit BVD pada sapi menyebabkan kerugian yang sangat besar, diantaranya keguguran, kematian pedet, penurunan produksi susu dan kehilangan bibit sapi yang mempunyai genetik unggul (Herd Management, 2013). Bila menyerang pada sapi bunting maka pedet tersebut berperan sebagai Persisten Infeksi (PI) maka selama hidupnya akan menyebarkan virus terus-menerus (OIE, 2008).

Adanya importasi 663 ekor sapi bibit perah dari Australia ke Kec Pangalengan mendorong Badan Karantina Pertanian untuk melakukan penelitian terkait penyakit tersebut. Tujuan penelitian adalah untuk memperkirakan tingkat kejadian penyakit BVD (prevalensi) di kec Pangalengan, Kec kertasari, kec Pasir Jambu dan Kec Cilengkrang.

METODE

Penentuan jumlah besaran sampel dilakukan dengan menggunakan Kajian Lintas Seksional dengan rumus $n = 4PQ/L^2$ dengan prevalensi 57 % sehingga diperoleh $n = 392$ sampel.. Penentuan besaran sampel secara acak bertingkat (multistage random sampling), dengan table random terpilih 4 (empat) kecamatan yang di ambil sampelnya meliputi kec Pangalengan 212 sampel, kec Kertasari 81 sampel, kec Pasir Jambu 66 sampel dan kec Cilengkrang 33 sampel. Pengambilan sampling darah (serum) dilakukan di vena caudalis.

Metode pengujian menggunakan Elisa Antigen dengan alur pengujian sebagai berikut: Jika hasil Elisa Ag negatif berarti hewan tidak terinfeksi BVD. Jika hasil Elisa Ag positif maka hewan diisolasi selama 21 hari kemudian dari hewan yang sama diambil kembali dan di uji denga Elisa Ag. Terhadap hasil Elisa Ag negatif berarti hewan tidak terinfeksi BVD sedangkan terhadap hasil Elisa Ag positif berarti hewan mengalami infeksi PI. Interpretasi hasil menggunakan nilai S-N. Jika sampel dengan nilai $S-N \leq 0.300$ dikategorikan negatif, bila nilai $S-N > 0.300$ positif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian sesuai alur pengujian adalah semua sampel serum nilai $S-N \leq 0.300$. Ini berarti bahwa semua sapi yang diambil sampel tidak terinfeksi virus BVD, sapi tidak ada yang bertindak sebagai PI. Menurut OIE Chapter 2.4.8 (2008) uji Elisa Antigen merupakan salah satu rujukan uji diagnostik BVD selain PCR. Uji Elisa Ag digunakan untuk mengetahui apakah sapi tersebut sebagai Persisten Infection ataupun Non PI. Ada beberapa pilihan dalam pengujian terhadap BVD variasi itu meliputi biaya, waktu penyelesaian dan tingkat keakurasian. Elisa Antigen IDEXX merupakan tes terbaru untuk BVD dan telah terbukti akurat. Membutuhkan sedikit waktu dan personel (Thomas 2009) dan mampu mengatasi masalah maternal antibodi sehingga dapat digunakan untuk sapi semua umur (Kirkland dan Mac Kintosh 2006). Uji elisa BVD merupakan tes diagnostik proaktif pertama di industri peternakan sedangkan pengujian yang lainnya merupakan pengujian reaktif (Thomas 2009). Ini menunjukkan bahwa tindak karantina yang telah dilakukan pada saat itu telah sesuai dengan perundangan yang berlaku.

SIMPULAN

Tingkat kejadian BVD pada sapi perah di kec Pangalengan, kec Kertasari, kec Pasir jambu, kec Cilengkrang kabupaten Bandung adalah 0 per 392 sampel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Balai Besar Karantina Pertanian Tanjung Priok Nomor: 018-12.2.412126/2013 tanggal 5 Desember 2012.

DAFTAR PUSTAKA

- Herd Management. 2013. Bovine Viral Diarrhea: Is your herd protected?. [Internet]. [diunduh 2013 Mei 17]. Jakarta (ID). Tersedia pada: http://www.usjersey.com/references/bvd_P1.pdf
- Kirkland PD, MacKintosh SG. 2006. *Ruminant Pestivirus Infections*. Australia an New Zealand Standard Diagnostics Procedurs. [Internet]. P4 of 30; [diunduh Sept 25]. Tersedia pada: http://www.scahls.org.au/_data/.../pestiviruses.pdf
- OIE Terrestrial Manual. 2008. Bovine Viral Diarrhea. [Internet]. chapter 2.4.8, p 703; [diunduh 2013 Juni 9]. Tersedia pada: http://www.oie.int/fileadmin/.../2.04.08_BVD.pdf
- Thomas HS. 2009. Elisa testing for BVD. [Internet]. [diunduh 2013 Mei 17]. Jakarta (ID). Tersedia pada: <http://www.tlsn.com>

MP-07

EVOLUSI VIRUS HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA H5N1 DI INDONESIA, 2008-2014

Hendra Wibawa^{1*}, Fadjar Sumping Tjatur Rasa¹, Rama Dharmawan¹, Sri Handayani Irianingsih¹, Sri Wahyuningsih¹, Yuli Miswati², Ernes Andesfha³, Anieka Rochmah⁴, Frank Wong⁵, Nining Hartaningsih⁶, James McGrane⁶

¹Balai Besar Veteriner Wates, Yogyakarta; ²Balai Veteriner Bukittinggi; ³Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan, Bogor; ⁴Pusat Veterinaria Farma, Surabaya; ⁵Australian Animal Health Laboratory, Geelong, Australia; ⁶FAO Indonesia, Jakarta.

*Korespondensi: hi.wibawa@gmail.com

Kata kunci: avian influenza, H5N1, Indonesia

PENDAHULUAN

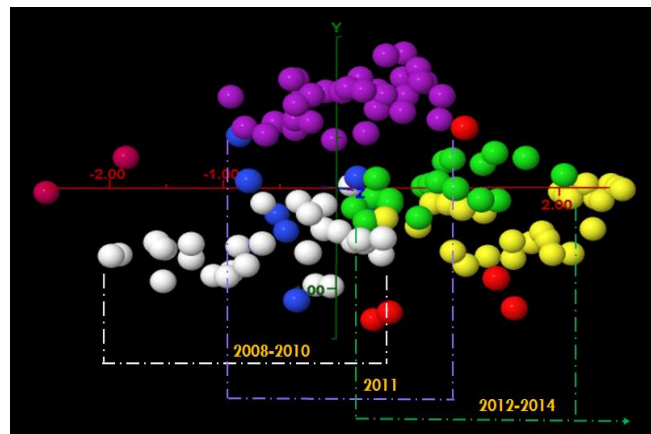
Wabah penyakit highly pathogenic avian influenza (HPAI) subtipe H5N1 pertama kali dilaporkan menyerang unggas di Indonesia pada tahun 2003. Pada gelombang pertama wabah penyakit antara periode 2003-2004, virus-virus H5N1 di Indonesia masih menjadi satu kelompok Clade 2.1. Namun dalam kurun waktu 2 tahun setelah gelombang wabah pertama, Clade 2.1 berkembang menjadi tiga sublineage virus, yaitu Clade 2.1.1, 2.1.2 dan 2.1.3, dan sebuah strain virus dari Clade 2.1.3 berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari kasus fatal pertama H5N1 di manusia di Indonesia pada tahun 2005. Sejak tahun 2008, virus-virus Clade 2.1.1 dan 2.1.2 tidak lagi dijumpai baik pada unggas dan manusia, sedangkan virus-virus dari Clade 2.1.3 terus berkembang menjadi tiga kelompok virus baru, Clade 2.1.3.1, 2.1.3.2 dan 2.1.3.3 [1]. Virus Avian Influenza (AI) adalah virus dengan material genetik RNA yang memiliki potensi mutasi yang cukup tinggi dibandingkan virus-virus RNA lainnya. Tetapi, belum banyak studi mempelajari bagaimana evolusi virus HPAI H5N1 di Indonesia dari tahun 2008 sampai saat ini. Penelitian dalam artikel ini bertujuan untuk mengetahui dinamika virus HPAI H5N1, terutama perubahan antigenic dan genetik, yang diisolasi dari unggas dan lingkungan di Indonesia antara tahun 2008 sampai 2014.

BAHAN DAN METODE

Sebanyak 138 virus H5N1 (isolate 2008-2014) telah dipilih dari pre-skreening isolat yang dilakukan oleh delapan laboratorium uji dan diagnostik veteriner dibawah Kementerian Pertanian (Balai Besar Veteriner dan Balai Veteriner) untuk selanjutnya dilakukan 3X full-panel karakterisasi antigen (tahun 2011, 2012, 2014) dengan metode uji hambatan aglutinasi (*hemagglutination inhibition*/HI) dengan panel antisera ayam sesuai standar prosedur OIE [2]. Antigen (N=8) dan antisera (N=7) rujukan diperoleh dari Australian Animal Health Laboratory (AAHL) Geelong, Australia. Mapping antigenik terhadap hasil full-panel HI dilakukan dalam Program AntigenMap 3D menggunakan median antigen-antigen rujukan dari ketiga uji full-panel. Sebanyak 108 dari 138 yang dilanjutkan dengan sekuensing gen hemagglutinin (HA) virus AI, dimana 48 isolat dilakukan di AAHL, sedangkan sisanya (N=60) dilakukan oleh laboratorium partner sekuensing, yaitu Balai Veteriner Bukittinggi, Balai Besar Pengujian Mutu dan Standarisasi Obat Hewan, Bogor dan Pusat Veterinaria Farma, Surabaya. Selanjutnya hubungan kekerabatan genetik (filogetik) virus H5N1 dianalisis dalam Program MEGA v 6.0.6 menggunakan metode Neighbor Joining (NJ) dengan model substitusi nukleotida Kimura-2 Parameter dan nilai bootsrap statistik 1000 replikasi. Mutasi asam-asam amino pada tapak antigenik (*antigenic site*) virus diidentifikasi dalam Program BioEdit v.7.0.5 dan visualisasi dengan Program Cn3D v. 4.3.1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

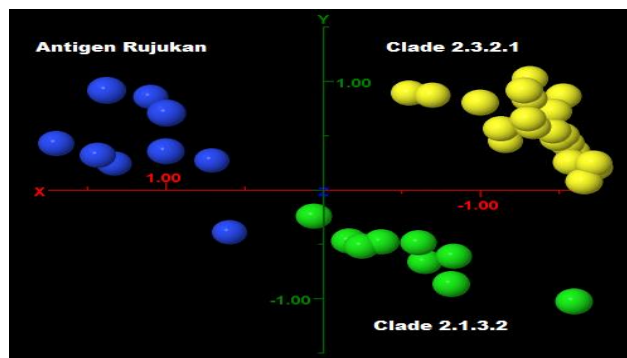
Hasil karakterisasi antigenik integrasi tiga full-panel HI menunjukkan perubahan secara bertahap dan berkelanjutan profil antigenik virus-virus HPAI H5N1 yang diisolasi dari unggas dan lingkungan dari tahun 2008-2014 (Gambar 1).



● **Antigen rujukan yang konsisten digunakan dalam full-panel HI (2011-2014):**
(Wates-1/05, Konawe/06, TASIKSOL/06, SMI-CSLK-EB/06, SMI-HAMD/06, SMI-ENDRI2/06, Tangerang/6/08, Subang-29/07/AAHL)
○ 2009-10 ● 2011 ● 2012-14 (2.1.3.2) ● 2012-14 (2.3.2.1) ● Suspect Variant

Gambar 1. Maping antigenik virus-virus H5N1, 2008-2014

Hasil maping antigenik mengindikasikan adanya mutasi titik (*point mutation*) yang kemungkinan terjadi di daerah perlekatan antibodi pada permukaan glikoprotein virus A1 sehingga memicu perubahan antigenik secara gradual dari tahun ke tahun (*antigenic drift*). Perbedaan profil antigenik nampak jelas pada virus-virus HPAI H5N1 yang diisolasi pada akhir tahun 2012 sampai awal tahun 2014, dimana dua kelompok virus terpetakan berlainan dalam maping antigenik 3D (Gambar 2). Hasil analisis filogenetik mendukung temuan antigenik ini, dimana sejak akhir tahun 2012 muncul virus-virus yang baru (Clade 2.3.2.1) yang memiliki karakteristik genetik yang sangat berbeda dengan virus-virus yang sebelumnya diisolasi dari unggas dan manusia di Indonesia, yaitu Clade 2.1.3 (Gambar 4a).

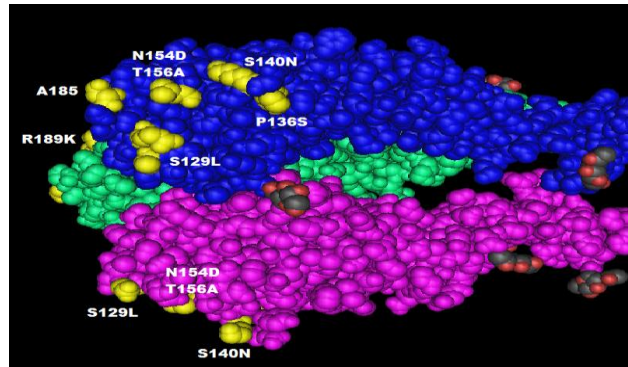


Gambar 2. Maping antigenik virus-virus H5N1, 2012-2014

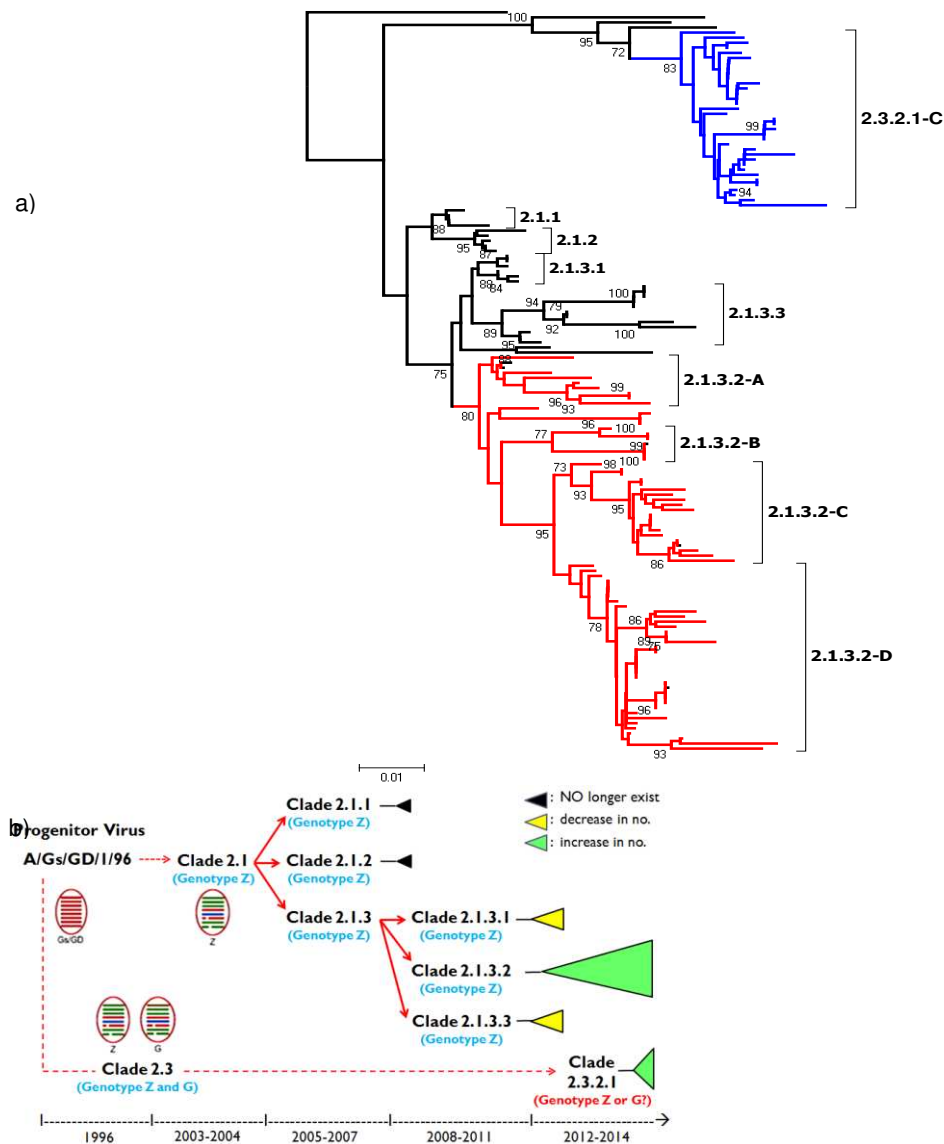
Hasil analisis struktur 3D protein HA menunjukkan adanya substitusi asam-asam amino pada tapak antigenik (*antigenic sites*) yang dikenali oleh antibodi (Gambar 3). Perubahan yang mempunyai potensi mempengaruhi profil antigenik virus Clade 2.3.2.1 adalah substitusi asam-asam amino pada posisi HA 129, 136, 140, 154, dan 189 dimana daerah ini dikenal sebagai tapak antigenik HA. Penambahan oligosakarida terjadi pada posisi 140 (S menjadi N) dan penghilangan gugus glikosilasi terjadi pada asam amino posisi 154-156 (NST/NNT menjadi DNA/NNA). Penambahan maupun pengurangan oligosakarida pada tapak-tapak antigenik HA telah diketahui dapat mengganggu pengenalan antibodi terhadap virus A1.

Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa virus-virus H5N1 Clade 2.1.1 dan Clade 2.1.2 tidak lagi ditemukan dalam surveilan dan investigasi kasus HPAI sejak tahun 2008. Kelompok virus lama yang persisten, terus berkembang dan masih dijumpai di unggas di Indonesia adalah Clade 2.1.3, dimana sejak tahun 2008 kelompok ini berkembang menjadi Clade 2.1.3.1, 2.1.3.3, dan 2.1.3.2 (Gambar 4b). Clade 2.1.3.2 terus berkembang menjadi 4 cluster, yaitu 2.1.3.2 A - 2.1.3.2 D. Di akhir 2012, muncul kelompok virus baru, Clade 2.3.2.1, yang merupakan

introduksi virus HPAI H5N1 asing ke Indonesia dan menyebabkan wabah penyakit disertai kematian tinggi pada unggas air, terutama itik dan entok [3].



Gambar 3. Substitusi asam-asam amino (residu berwarna kuning) yang dijumpai pada bagian ujung kepala (tip) protein HA dari isolate-isolat virus HPAI H5N1 Clade 2.3.2.1 (Rotasi -90°).



Gambar 4. a) Analisis filogenetik gen HA virus-virus H5N1 yang diisolasi dari unggas dan lingkungan di Indonesia, 2008-2004. b) Gambaran skematik evolusi H5N1 di Indonesia, 2003-2014.

SIMPULAN

Virus H5N1 Clade 2.1 terus berevolusi sejak pertama kali ditemukan di Indonesia pada tahun 2003. Jika dua clade 2.1.1 dan 2.1.2 telah punah, Clade 2.1.3 terus berkembang menjadi order ketiga dan keempat clades. Selain itu, dijumpai introduksi virus Clade 2.3.2.1 pada tahun 2012, sehingga pada periode 2012-2014 virus yang dominan ditemukan di unggas di Indonesia adalah Clade 2.1.3.2 dan Clade 2.3.2.1

DAFTAR PUSTAKA

- [WHO/OIE/FAO]. 2012. Continued evolution of highly pathogenic avian influenza A (H5N1): updated nomenclature. *Influenza Other Respir Viruses* 6: 1-5.
- [OIE]. 2011. Chapter 2.3.4. Avian Influenza (Version adopted in May 2009). In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals.
- Wibawa H, Prijono W, Dharmayanti NL, Irianingsih SH, Y. M, *et al.* 2012. Disease outbreak investigation in ducks in Central Java, Yogyakarta and East Java: an identification of a new clade of avian influenza A (H5N1) in Indonesia. *Buletin Laboratorium Veteriner* 12: 1-9.

MP-08

DIAGNOSIS VIRUS PENYAKIT JEMBRANA BERBASIS ASAM NUKLEAT

Asmarani Kusumawati^{1,2*}, Atik Ratnawati¹, Ida Arlita Wulandari¹, Tenri Ashari Mappakaya³, Sri Hartati⁴, Tri Untari⁵, Yuli Purwandari Kristianingrum⁶

¹Program Studi Bioteknologi, Sekolah Pascasarjana, UGM, Yogyakarta

²Departemen Reproduksi dan Kebidanan, Fakultas Kedokteran Hewan, UGM, Yogyakarta

³Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret

⁴Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, UGM, Yogyakarta

⁵Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, UGM, Yogyakarta

⁶Departemen Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, UGM, Yogyakarta

*Korespondensi: kartapati_2008@yahoo.com

Kata kunci: Asam Nukleat, Diagnosis, Penyakit Jembrana

PENDAHULUAN

Virus Penyakit Jembrana (VPJ) merupakan kelompok Lentivirus famili Retroviridae. Diagnosis VPJ dapat dilakukan dengan mendeteksi virus atau respon serologis terhadap virus. Deteksi dini penyakit Jembrana berdasarkan asam nukleat sangat bermanfaat untuk mengetahui status kesehatan hewan sehingga dapat digunakan sebagai pedoman untuk pengendalian Penyakit Jembrana. Teknik diagnosis berdasarkan asam nukleat banyak dikembangkan untuk deteksi VPJ di Indonesia, metode amplifikasi isothermal seperti LAMP (*Loop mediated Isothermal Amplification*) dan NASBA (*Nucleic Acid Sequence Based Amplification*) merupakan alternatif pengganti PCR.

METODE

LAMP (*Loop mediated Isothermal Amplification*)

Untuk virus Jembrana, LAMP dikombinasikan dengan proses *reverse transcriptase* (RT) untuk menghasilkan cDNA sehingga disebut RT-LAMP. Reaksi LAMP berlangsung dalam dua tahap yaitu tahap non siklis dan siklis. Pada tahap pertama, primer luar (F3 dan B3) dan primer dalam (FIP dan BIP) mengawali proses amplifikasi dengan membentuk struktur *dumbbell*. Primer luar hanya diperlukan pada tahap non siklik ini. Setelah struktur *dumbbell* terbentuk, proses amplifikasi memasuki tahap non siklik. Primer dalam dan primer loop akan menghasilkan bentuk amplifikasi berupa struktur bunga kol (*cauli flower*) dan *inverted repeat* (Ushikubo *et al.*, 2004).

NASBA (*Nucleic Acid Sequence Based Amplification*)

Amplifikasi RNA dengan metode NASBA menggunakan RNA sebagai *template*. Komponen reaksi terdiri dari tiga jenis enzim, dua primer spesifik, NTP, dan buffer. Primer akan mengikat sekuen yang diamplifikasi, primer pertama (P1) terdiri dari sekuen target yang akan diamplifikasi dan sekuen tambahan yang merupakan sekuen pengikatan T7 RNA polimerase (*T7 RNA polymerase-binding site*), sedangkan primer kedua (P2) adalah oligonukleotida yang akan mengenali sekuen cDNA. Produk akhir NASBA berupa RNA antisense untai tunggal (Deiman *et al.*, 2002).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi LAMP selain dikerjakan dengan dua primer luar (F3 dan B3) dan dua primer internal (FIP dan BIP), juga dengan menggunakan tambahan dua primer loop (FLP dan BLP), reaksi dapat dicapai dalam waktu kurang dari 30 menit (Nagamine *et al.*, 2001). Pengembangan RT-LAMP oleh Tampubolon 2012 berhasil mendeteksi VPJ gen env-TM pada sampel lapangan. Amplikon LAMP dapat dideteksi menggunakan teknik elektroforesis.

Amplifikasi NASBA berlangsung dalam dua tahap yaitu non siklik/inisiasi dan tahap siklik. Temperatur melting pada NASBA adalah 65°C sehingga primer P1 yang berisi sekuen promoter T7 RNA polimerase akan berhibridisasi dengan RNA target mampu mendeteksi VPJ baik pada gen env-TM maupun gag-CA berukuran 211 bp dan 208 bp.

SIMPULAN

Diagnosis berbasis asam nukleat seperti LAMP (*Loop mediated Isothermal Amplification*) dan NASBA (*Nucleic Acid Sequence Based Amplification*) yang telah dilakukan dapat mendeteksi VPJ pada sampel lapangan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Hibah Perguruan Tinggi Negeri Universitas Gadjah Mada yang didanai oleh Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia Tahun 2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Deiman B, van Aarle P, Sillekens P. 2002. "Characteristics and Applications of Nucleic Acid Sequence-based Amplification (NASBA)." *Molecular biotechnology* 20(2): 163–79.
- Nagamine K, Watanabe K, Ohtsuka K, Hase T, Notomi T. 2001. Loop mediated Isothermal Amplification Reaction Using a Non-denaturated Template. *Clin. Chem. J.* 47: 1742-1743
- Tampubolon ID. 2012. Pengembangan Kombinasi Metode One Step Reverse Transcriptase-Loop-mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) dan Lateral Flow Dipstick (LFD) untuk Deteksi Virus Penyakit Jembrana. Tesis Program Studi Bioteknologi Sekolah Pascasarjana Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Ushikubo H. 2004. Principle of LAMP method, a simple and rapid gene amplification method. *Virus*: 54(1): 107-112

MP-09

KARAKTERISTIK MORFOLOGI PLAQUE BOVINE HERPES VIRUS-1 ISOLAT INDONESIA

Tri Untari^{1*}, Yuli Purwandari Kristianingrum², Asmarani Kusumawati³,
Bambang Sutrisno²

¹Bagian Mikrobiologi-, ²Bagian Patologi-, ³Bagian Reproduksi-, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas
Gadjah Mada, Yogyakarta

*Korespondensi: t_untari@yahoo.com

Kata kunci: Plaque, Bovine Herpes Virus 1, in vitro

PENDAHULUAN

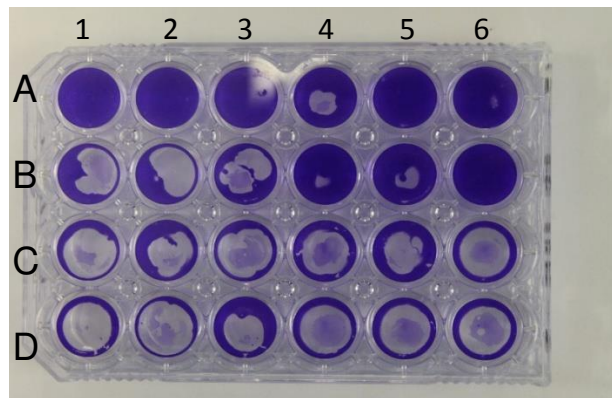
Infectious bovine rhinotracheitis (IBR) merupakan penyakit yang menyebabkan kerugian ekonomi, karena dapat menyebabkan gangguan respirasi, gangguan reproduksi dan infeksi laten. Penyakit tersebut disebabkan oleh Bovine herpes virus -1. Efek sitopatik infeksi Bovine Herpes Virus 1 adalah adanya bentukan benda inklusi intranukleus dan adanya polikariositosis (Mohanty and Dutta, 1981). Untuk melakukan diagnosa *in vitro* sampel yang diambil dapat berupa serum, buffy coat (Bolin *et al.*, 1991). Ada beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam isolasi virus secara *in vitro*, antara lain: sampel dikoleksi dan ditransportasikan dalam kondisi yang baik, harus mempunyai sel yang cocok untuk pertumbuhan virus dan mempunyai anti sera yang spesifik terhadap IBR. Uji *in vitro* konvensional telah dilakukan untuk mendeteksi adanya virus CP-Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) dengan cara virus dibiakkan dalam sel yang peka terhadap BVDV dengan melihat efek sitopatiknya (Dubovi, 1990). Efeksitopatik BVDV berupa vakuolisasi pada sitoplasma, degenerasi dan kematian sel (Fenner *et al.*, 1993). Metode plaque assay dapat untuk memvisualisasi adanya sitopatik. Masing-masing virus mempunyai plaque yang karakteristik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk karakterisasi morfologi plaque bovine herpes virus -1 (BHV-1) isolat Indonesia sebagai dasar penanggulangan penyebab penyakit tersebut.

MATERI DAN METODE

Masing-masing lokasi diambil 10 sampel nasal swab dari sapi-sapi yang diduga positif terhadap IBR berdasarkan uji serologis yang telah dilakukan Balai penyidik penyakit veteriner (BPPV) Regional II Bukittinggi, Sumatera Barat. Metode yang dipakai untuk plaque assay menurut Burleson *et al.* (1992). Sel yang telah diinfeksi, media diambil dan sel dicuci dengan Hanks kemudian ditambah 1,5 ml medium agar penutup 1. Sel yang telah diberi *agar overlay* dibiarkan pada suhu kamar 15 menit supaya agar mengeras. Sel diinkubasi dalam inkubator suhu 37°C selama 3 hari. Sel setelah diinkubasi ditambahkan medium penutup 2. Plaque timbul setelah 18 jam inkubasi. Sel yang sehat akan berwarna merah sedangkan sel yang terinfeksi tidak menyerap warna merah netral. Karakter biologi virus diamati berdasarkan makroskopis meliputi morfologi plaque, diameter, warna dan tepi plaque dan diperiksa dibawah mikroskop inverted. Masing-masing plaque diambil dan disimpan sebagai stok virus BHV-1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Plaque assay yang terbentuk bervariasi dengan ukuran dan bentuk yang tidak teratur. Ukuran plaque antara 3 mm sampai 1,8 cm. Plaque terbentuk akibat sel terinfeksi virus BHV-1. Tampaknya penyebaran infeksi dari sel-ke sel tidak beraturan walaupun dilakukan plaque dengan agar overlay. Dengan pengecatan kristal violet tampak sel-sel yang masih hidup berwarna ungu sedangkan sel yang mati tidak berwarna karena sel tidak mampu menyerap warna kristal violet. Gambaran plaque dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Plaque dengan ukuran bervariasi, dan bentuk yang tidak teratur pada sel MDBK setelah 3 hari infeksi BHV-1 isolat 19 (A1-6), L4org (B1-6), L4Tc (C1-6) dan K (D1-6). Pengecatan dengan kristal violet.

SIMPULAN

Bovine herpes virus -1 isolat Indonesia mempunyai karakteristik morfologi plaque setelah 3 hari infeksi, dengan bentuk yang tidak teratur dan ukuran bervariasi 3 mm sampai 1,8 cm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih yang sebesar-besarnya kami ucapkan kepada Lembaga penelitian dan pengabdian kepada masyarakat yang telah memberi dana penelitian. Institusi BPP-V Lampung, Bukit-tinggi yang telah bekerjasama untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bolin SR, Littledike ET, Ridpath JF. 1991. Serologic detection and practical consequences of antigenic diversity among bovine viral diarrhea viruses in a vaccinated herd. *Am J Vet Res* 52:1033-1037
- Fenner EJ, Gibbs EPJ, Murphy FA, Rott R, Studdert MJ, White DO. 1993. *Veterinary Virology*. 2nd ed. Academic Press Inc. USA.
- Mohanty SB, Dutta SK. 1981. *Veterinary Virology*. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Dubovi EJ. 1990. The diagnosis of bovine viral diarrhea infections: A Laboratory review. *Vet Med* 85: 1133-1139

MP-10

UJI MIKROBIOLOGI TERHADAP KUALITAS DAGING, JEROAN DAN TULANG YANG DISIMPAN DALAM KONTENER *REEFER* DI PELABUHAN TANJUNG PRIOK

Difa Widyasari*, Radix Anggin Nursinta, Nikmatu Rofiah, Srilestari Widyorini

Karantina Hewan Balai Besar Karantina Pertanian Tanjung Priok
Jl. Enggano No. 17 Tanjung Priok, Jakarta Utara, Indonesia

*Korespondensi: difawidyasari@gmail.com

Kata kunci: Eber, *E. coli*, *Salmonella*, TPC

PENDAHULUAN

Sebanyak 50 kontener *reefer* yang berisi daging, jeroan dan tulang dilakukan pemeriksaan uji mikrobiologi untuk mengetahui kualitas daging, jeroan dan tulang. Hal ini bermula dari datangnya kontainer ke pelabuhan Tanjung Priok tanpa disertai dengan dokumen. Kontainer tersebut dilakukan penahanan di pelabuhan Tanjung Priok sementara pemilik melakukan proses penyelesaian dokumen yang dipersyaratkan. Tetapi selama 2 tahun, belum juga ada penyelesaian dokumen dari pihak importir. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mengetahui kualitas daging, jeroan dan tulang yang disimpan dalam kontener *reefer* selama 2 tahun, dimana hasil studi ini dapat digunakan sebagai bahan masukan bagi pihak atau institusi lain untuk pengambilan kebijakan lebih lanjut.

METODE

Sebanyak 50 buah kontainer *reefer* telah dilakukan pengambilan sampel secara acak mengacu kepada standar pengambilan sampel. Metode uji yang digunakan, yaitu pemeriksaan organoleptik, pengujian eber, pengujian *Total Plate Count* (TPC) dan Rapid *Salmonella* dan *E. coli*.

Pengujian eber adalah pengujian kualitas produk daging dan merupakan pengujian awal kebusukan. Cara kerja uji eber adalah mengambil sedikit daging yang akan diuji, dicincang, dan dilarutkan dengan menggunakan larutan eber yang terbuat dari dietil eter, HCl pekat dan alcohol 96% dengan perbandingan 1:1:3 Tujuan dari uji eber adalah untuk mengetahui kualitas produk daging. Potongan daging ditusukkan pada kawat dalam tabung reaksi yang diisi oleh larutan eber (Aritonang *et al.*, 2008). Daging dinyatakan busuk jika pada uji ini ditandai dengan terjadinya pengeluaran asap di dinding tabung. Semakin banyak asap pada dinding tabung, maka semakin jelek kualitas dari daging tersebut atau daging tersebut semakin busuk (Antika *et al.*, 2013).

Pengujian TPC merupakan pengujian yang sesuai dengan SNI (Standar Nasional Indonesia) untuk mengetahui jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu produk dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar. Pengujian TPC menggunakan metode SNI 2897:2008.

Pengujian *Salmonella* dan *E. coli* menggunakan rapid Test Rida@Count dengan Art. No.: R1006 untuk *E. coli* dan R1010 untuk *Salmonella*. Rida@Count. Reagen yang dibutuhkan adalah cairan steril NaCl (0,9%). Untuk membuat 1 liter cairan kerja tambahkan 9 g NaCl dengan air sampai 1 liter. Autoclave selama 15 menit pada 121°C. Preparasi sampel dapat dengan menempelkan sampel uji pada lembar Rida@Count kemudian tetesi 1 ml cairan NaCl steril 0,9%. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 35°C. Hasil positif pada *Salmonella* jika terdapat koloni berwarna biru, biru kehijauan, magenta ungu atau indigo. Sedangkan hasil positif pada *E. coli* jika terdapat koloni berwarna magenta sampai ungu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seluruh sampel menunjukkan hasil yang positif ada pengujian eber. Hal ini ditandai dengan adanya keluarnya asap di dinding tabung reaksi. Semakin banyak asap pada dinding tabung, maka akan semakin jelek kualitas dari daging tersebut (Antika *et al.*, 2013).

Dari pengujian TPC, pengujian rapid *Salmonella* dan *E. coli* didapatkan bahwa untuk sampel yang positif pada pengujian rapid *Salmonella* dan *E. coli* hanya dimiliki oleh 4 (empat)

sampel dengan 3 (tiga) sampel kisaran TPC dibawah 1×10^6 cfu/g dan 1 (satu) sampel diatas 1×10^6 cfu/g. Pengujian rapid *Salmonella* positif dan pengujian rapid *E. coli* negatif terdapat 15 (lima belas) sampel dengan hasil TPC 10 (sepuluh) sampel dibawah 1×10^6 cfu/g dan 5 (lima) sampel diatas 1×10^6 cfu/g. Sedangkan pengujian rapid *Salmonella* dan *E. coli* negatif terdapat 31 (tiga puluh) sampel dengan hasil TPC 25 (dua puluh lima) sampel dibawah 1×10^6 cfu/g dan 6 (enam) sampel diatas 1×10^6 cfu/g.

Salmonella dapat tumbuh dengan temperatur 2°C - 54°C dan dengan batasan pH 3,99-4,05 sampai 9,5. Sedangkan *E. coli* hanya dapat tumbuh pada suhu 10°C - 45°C dan dengan batasan pH 4 – 9. Hal inilah yang menyebabkan tidak adanya hasil pengujian rapid *Salmonella* negatif dan *E. coli* positif. *Salmonella* memiliki toleransi kemampuan hidup yang lebih tinggi daripada *E. coli*. *Salmonella* dapat beradaptasi pada lingkungan yang ekstrem (pengeringan, pH dan suhu) (Bauchat, 2009).

Dari hasil pengamatan organoleptik didapatkan bahwa semua sampel yang diterima dalam kondisi berbau busuk dan konsistensi dagingnya sudah lembek. Tetapi pada pengujian TPC terdapat hasil dibawah dari batas yang diperbolehkan (1×10^6 CFU/g). Hal ini karena jumlah nutrisi untuk tumbuhnya mikroba dalam daging tersebut sudah berkurang atau tersisa sedikit sehingga mikroba yang tumbuh dalam sampel tersebut juga berada dibawah batas yang diperbolehkan. Menurut Lukman (2010), pembusukan pada kelembaban sedang penyebabnya adalah *Micrococcus* dan kamir dan pada kelembaban kecil penyebabnya adalah kapang. Pada pengujian rapid *Salmonella* dan *E. coli* positif terdapat hasil TPC di atas dari batas yang diperbolehkan (1×10^6 CFU/g). Hal ini karena nutrisi untuk pertumbuhan mikroba pada sampel tersebut tinggi sehingga mikroba mampu untuk berkembang biak.

SIMPULAN

Dari hasil pemeriksaan organoleptik terhadap 50 (lima puluh) sampel daging, jeroan dan tulang tersebut tidak layak dikonsumsi karena sudah berbau dan memiliki konsistensi yang lembek serta telah mengalami pembusukan. Hal ini diperkuat dengan pengujian eber yang memperoleh hasil positif. Pada pengujian *Total Plate Count* didapatkan hasil dibawah batas yang diperbolehkan dan pada pengujian rapid *Salmonella* dan *E. coli* diperoleh hasil yang bervariasi. Kedua hal ini dapat terjadi karena kondisi sampel yang berbeda-beda tetapi sebagian besar kondisi sampel sudah tidak memiliki nutrisi yang cukup sehingga mikroba tidak dapat berkembang biak.

DAFTAR PUSTAKA

- Antika DW *et al.* 2013. Pengaruh Cara Pengemasan dan Suhu Penyimpanan Terhadap Awal Pembusukan Daging Sapi. *Veretinaría medika* Vol. 6 No. 1
- Aritonang SN *et al.* 2008. Pengaruh Pencucian dengan Larutan Asam Asetat Terhadap Nilai pH, Kadar Protein, Jumlah Koloni Bakteri dan Daya Simpan Daging Ayam Kampung pada Penyimpanan Suhu Ruang. *Jurnal Agrisistem* Vol 4 No. 1
- Beuchat LR. 2008. *Behaviour of Salmonella in Foods With Low Water Activity*. Georgia. University of Georgia
- Lukman DW. 2010. Pembusukan daging. Hygiene-pangan.blogspot.com/2010/02/pembusukan-daging.html.

MP-11

EFEKTIFITAS DESINFEKTAN PADA PERMUKAAN MEDIA PEMBAWA (MP) TERCEMAR VIRUS AVIAN INFLUENZA (AI) DENGAN PENYEMPROTAN

Ika Suharti*, Uti Ratnasari Herdiana, Winda Rahmawati, Julia Rosmaya Riasari, Surati

Balai Uji Terap Teknik dan Metode Karantina Pertanian,
Jl. Raya Kampung Utan – Setu Cikarang Barat Bekasi 17520
*Korespondensi: ika@buttmkp.org

Kata kunci: *avian Influenza*, permukaan media pembawa, desinfektan

PENDAHULUAN

Flu burung atau *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) saat ini telah menyebar hampir ke seluruh Wilayah Negara Republik Indonesia yang berdampak sangat merugikan bagi peternakan unggas dan juga telah menyebabkan kematian pada manusia di beberapa daerah. Penanganan yang serius perlu segera dilaksanakan agar wabah flu burung tidak bermutasi menjadi flu yang menular dari manusia ke manusia dan menjadi wabah pandemi influenza. Adanya kasus HPAI pada itik yang disebabkan oleh virus HPAI clade 2.3 (clade baru) pada akhir tahun 2012 dan telah menyebar pada 11 Propinsi di Indonesia menjadi salah satu dasar alasan pelaksanaan uji terap mengenai HPAI ini dilaksanakan. Diharapkan melalui uji terap ini maka performa tindakan karantina hewan terhadap media pembawa HPAI dapat dievaluasi dan ditingkatkan guna mencegah penyebaran HPAI secara optimal. Tujuan uji terap ini menentukan metode perlakuan desinfeksi tertentu pada media pembawa sehingga dapat diaplikasikan sebagai tindakan perlakuan karantina.

METODE

Uji Pendahuluan. Isolat virus yang dengan titer antibodi sebesar 10^8EID_{50} selanjutnya dicampur dengan feces unggas (1:1) untuk dikontaminasikan pada permukaan TET dan permukaan telur konsumsi dan pada PBS (1:1) untuk dikontaminasikan pada permukaan DOD dan permukaan DOC yang selanjutnya dikeringkan dalam suhu ruang dan dilakukan pengambilan sampel swab.

Perlakuan media pembawa. Setiap media pembawa AI yang telah dikontaminasi dengan virus AI diberi perlakuan desinfeksi dengan menggunakan Ammonium quartener (Alkyldimethyl Benzyl Amonium Chlorida 10%) dengan dosis 0,5% dan 1%; Peroksigen (*Dipotassium Peroxodisulphate*) dengan dosis 0,8% dan 1%; Golongan halogen (Klorin) dengan dosis 0.02% dan 0.03%. Selanjutnya media pembawa dikeringkan selama 30 menit dalam suhu ruang diambil sampel swab permukaan.

Pengujian Konfirmasi. Metode pengujian konfirmasi yang di gunakan sama dengan pengujian pendahuluan antara lain: a) Inokulasi pada telur embrio tertunas (TET), yaitu sampel uji diinokulasikan pada telur embrio tertunas berumur 9-11 hari dan dilakukan pengamatan terhadap TET tersebut pada 24 jam setelah inokulasi, kemudian pada cairan alantois telur embrio tertunas yang sudah diinokulasikan sampel uji dilakukan uji Haemaglutinasi cepat untuk mengetahui keberadaan dari virus AI yang telah dikontaminasi; b) Real Time RT-PCR, yaitu pada sampel uji diidentifikasi keberadaan bahan genetik (RNA) dari virus dengan menggunakan primer Flu A1 H5.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Virus AI hasil titrasi EID_{50} sebesar 10^8EID_{50} ini digunakan sebagai virus untuk dikontaminasikan pada permukaan media pembawa yaitu TET, telur konsumsi, DOD dan DOC. Permukaan media pembawa tersebut diswab permukaan dan diinokulasi pada TET. Pada pengamatan telur embrio tertunas pada 24 jam pertama setelah inokulasi menunjukkan terdapat sejumlah telur yang mati. Kematian telur embrio tertunas pada pengamatan 24 jam setelah inokulasi kemungkinan disebabkan masih terdapatnya virus AI dalam sampel dan virus memiliki virulensi tinggi yang mampu menginfeksi embrio melalui cairan alantois, pembuluh

darah serta organ dari embrio. Hal ini dipertegas melalui pengumpulan cairan alantois dari TET yang mati pada pengamatan 24 jam pertama setelah inokulasi serta hasil uji HA positif membuktikan bahwa embrio mati karena adanya infeksi virus pada telur.

Penggunaan desinfeksi amonium quartener cukup efektif untuk menginaktivasi virus AI pada permukaan media pembawa hal ini sejalan dengan Weber *et al.* (1999) yang menyatakan bahwa desinfektan ammonium quartener memiliki potensi digunakan untuk mensucihamakan dari virus AI. Sedangkan untuk penggunaan desinfektan peroksigen menunjukkan bahwa peroksigen efektif dalam menginaktivasi virus AI pada permukaan telur konsumsi, permukaan DOD dan permukaan DOC serta pada permukaan TET untuk dosis 1%. Desinfektan peroksigen dapat mengoksidasi sel hidup dengan daya kerja sangat cepat untuk membunuh mikroorganisme termasuk virus (Omidbakhsh *et al.*, 2006).

Desinfektan klorin merupakan desinfeksi golongan halogen yang berdaya aksi dengan cara oksidasi dalam rentang waktu sekitar 10-30 menit dan umum digunakan dalam larutan air dengan konsentrasi 1-5% dan golongan jenis ini digunakan sebagai desinfeksi dengan daya kerja mereduksi virus (Rismana, 2002). Pada perlakuan dengan menggunakan klorin menunjukkan dosis 0,02% efektif menginaktivasi virus AI pada semua permukaan media pembawa yang menjadi objek uji terap.

Metode pengujian konfirmasi yang digunakan pada pelaksanaan uji terap kali ini adalah dengan metode real time RT-PCR, dimana metode ini merupakan metode yang sesuai sebagai metode yang cepat dan sensitive dalam mengidentifikasi keberadaan virus Avian Influenza yang menginfeksi unggas dan lingkungan sekitarnya (Suarez *et al.* 2002). Pada pengujian konfirmasi dengan menggunakan metode RRT-PCR menggunakan primer Flu A dan primer H5, dimana hasil pengujian menunjukkan bahwa pada sebagian besar sampel swab permukaan media pembawa terdapat bahan genetik dari isolat virus yang dikontaminasikan baik yang aktif dan atau yang tidak aktif.

SIMPULAN

Desinfektan Amonium Quartener (alkyldimethyl benzyl amonium chlorida 10%) dosis 0,5% dan 1% tidak efektif untuk menginaktivasi virus AI pada permukaan DOC. Desinfektan peroksigen (dipotassium peroxodisulphate) dosis 1% dan halogen (klorin) 0,02% efektif menginaktivasi virus AI pada semua permukaan media pembawa AI. Residu desinfektan organoklorin pada telur konsumsi setelah desinfeksi dengan desinfektan klorin adalah <1.0 mg/kg dan masih dalam kisaran kandungan yang diperbolehkan dalam makanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Omidbakhsh N, Sattar SA 2006. Broad-spectrum microbicidal activity, toxicologic assessment and materials compatibility of a new generation of accelerated hydrogenperoxide-based environmental surface disinfectant. *Am J Infection Control* 34(5): P. 251-257.
- Rismana E. 2002. Mengenal bahan kimia desinfeksi. <http://www.pikiran-rakyat.com/cetak/1004/07/cakrawala/index.htm> (Diunduh pada 4 April 2012).
- Webster RG, Kawaoka Y. 1988. Avian influenza critical reviews of poultry Biology.1: P. 211-246.

MP-12

EFEKTIFITAS TEKNIK PERLAKUAN SARANG BURUNG WALET TERHADAP CEMARAN MIKROBA

Winda Rahmawati*, Uti Ratnasari Herdiana, Ika Suharti, Surati

Balai Uji Terap Teknik dan Metode Karantina Pertanian, Jl. Raya Kampung Utan – Setu, Desa Mekar
Wangi Kec. Cikarang Barat, Kab. Bekasi 17520, Jawa Barat, Indonesia

*Korespondensi: w17da@yahoo.co.id

Kata kunci: Sarang burung walet, mikroba, perlakuan.

PENDAHULUAN

Sarang burung walet merupakan bahan pangan yang mempunyai kandungan protein dan kalsium yang tinggi, serta kandungan asam amino yang lengkap (Mende, 2000). Selain untuk hidangan lezat, secara tradisional bahan sarang burung walet dikonsumsi untuk memulihkan kondisi tubuh. Sarang burung walet dalam pengobatan China tidak hanya dikonsumsi sebagai makanan kesehatan, namun memberikan rasa kelezatan bagi yang mengkonsumsinya (Kong *et al.*, 1987; Craig, 1997; O'Hara *et al.*, 1998).

Produk pangan jarang sekali yang steril dan pada umumnya tercemar oleh berbagai jenis mikroorganisme yang tersebar luas di alam (Buckle *et al.*, 1987; Schmidt, 2005). Sebagai salah satu bahan pangan yang bermanfaat bagi kesehatan manusia, sarang burung walet dapat mengalami kerusakan yang disebabkan oleh perkembangbiakan bakteri, virus, ragi, dan kapang, serta residu pestisida, obat hewan dan logam berat (Buckle *et al.*, 1987). Untuk menjamin keamanan pangan sarang burung walet yang diperdagangkan, maka dipandang perlu untuk melakukan perlakuan terhadap media pembawa sarang burung walet tersebut, diantaranya dengan menggunakan iradiasi sinar gamma dan sinar ultraviolet untuk dekontaminasi kemungkinan adanya cemaran mikroba.

METODE

Pengujian Total Plate Count (TPC). Sampel sarang burung walet ditimbang sebanyak 1 gram dan masukkan ke dalam larutan pengencer ke dalam medium transport dan dibuat pengenceran pengenceran 10^{-1} - 10^{-4} . Pipet 0,1ml cairan dari setiap pengenceran dan masukkan ke dalam media nutrisi agar dan diinkubasi (35°C) selama 24–48 jam dan di hitung koloni bakteri yang tumbuh.

Perlakuan menggunakan sinar UV-C. Sampel sarang burung walet diletakkan pada cawan petri, kemudian diberikan paparan sinar ultraviolet (UV-C) dengan panjang gelombang 253,7 nm pada chamber perlakuan yang telah disiapkan dengan waktu masing-masing perlakuan adalah 30 menit, 45 menit dan 60 menit.

Perlakuan iradiasi sinar gamma cobalt-60. Sampel sarang burung walet dimasukkan dalam plastik sampel dan diberi label sesuai dengan dosis iradiasi yang akan diberikan, yaitu, 3kGy, 5kGy, 7kGy, 8kGy dan 10kGy. Kemudian dilakukan penyinaran sesuai dengan dosis yang ditentukan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada pengujian Total Plate Count (TPC) pada sampel sarang burung walet sebelum perlakuan, diketahui bahwa pada masing-masing sampel sarang burung walet mengandung jumlah cemaran mikroba yang berbeda-beda (Tabel 1).

Perlakuan dengan sinar UV-C dilakukan terhadap sampel yang mempunyai jumlah cemaran mikroba terbanyak sebelum perlakuan, yaitu pada sampel S3 dan S4. Hasil perlakuan sinar UV-C pada sampel S3 dan S4 dengan waktu penyinaran 30, 45, dan 60 menit menunjukkan adanya penurunan jumlah cemaran mikroba yang tidak terlalu banyak.

Teknik perlakuan yang dilakukan terhadap cemaran mikroba pada sampel sarang burung walet adalah dengan penyinaran sinar UV-C dan iradiasi sinar Gamma (Cobalt-60). Hasil perlakuan dengan sinar UV-C menunjukkan bahwa terjadi tingkat penurunan yang rendah atau

tidak signifikan terhadap jumlah cemaran mikroba yang terdapat pada sampel sarang burung walet yang diperiksa. Hal ini dikarenakan daya tembus sinar UV hanya sampai ke area permukaan, sehingga hanya bakteri yang hidup di permukaan sampel saja yang dapat mati oleh sinar UV.

Tabel 1. Jumlah cemaran mikroba pada sampel sarang burung walet sebelum perlakuan

Kode sampel	Jumlah cemaran mikroba (cfu/gr)
S1	$3,5 \times 10^4$
S2	$3,3 \times 10^4$
S3	$5,2 \times 10^6$
S4	$15,9 \times 10^6$
AAP	4×10^3
AAS	$2,5 \times 10^6$

Perlakuan iradiasi terhadap sampel sarang burung walet dapat membunuh total mikroba pada dosis 7 kGy, kecuali pada sampel AAS yang pada dosis 7 dan 8 kGy mikroba masih dapat hidup meskipun mengalami penurunan. Sedangkan pada dosis 10 kGy, iradiasi ini dapat membunuh total jumlah mikroba pada semua sampel. Menurut Codex, dosis 10 kGy ini merupakan batas maksimal dosis yang aman dan diperbolehkan untuk bahan pangan. Adanya tingkat penurunan dan terdekontaminasinya secara total jumlah cemaran mikroba pada sarang burung walet yang diberikan perlakuan iradiasi, dikarenakan iradiasi dapat menghancurkan atau merusak asam nukleat atau DNA dari bakteri dan menghasilkan peroksida yang bertindak sebagai oksidator kuat dalam sel (Hussain, 2009).

Adanya penurunan yang tidak signifikan jumlah cemaran mikroba pada dosis 3 dan 5 kGy pada sampel S1, S2, S3, dan S4 menunjukkan bahwa dosis tersebut belum mampu membunuh mikroba secara total dan bukan merupakan dosis yang efektif. Peningkatan jumlah cemaran mikroba pada sampel AAP di dosis 3 dan 5 kGy serta masih adanya cemaran mikroba dosis 7 dan 8 kGy pada sampel AAS setelah diiradiasi, dapat disebabkan karena mikroba sudah mengalami masa pemulihan atau perbaikan DNA, yang semula pada saat diiradiasi DNA mengalami kerusakan. Kondisi seperti ini bisa terjadi karena beberapa faktor antara lain : ada mikroorganisme yang lebih resisten terhadap radiasi, adanya paparan oksigen, adanya paparan air; yaitu adanya interaksi antara oksigen dan radikal bebas dalam kondisi basah akan menyebabkan kerusakan radiasi, temperatur atau suhu, dan kondisi lingkungan (Yusof, 2007).

Mikroba yang terdapat pada seluruh sampel dapat disebabkan oleh kontaminasi dari burung walet itu sendiri, misalnya dari badan, bulu, dan alat pencernaannya. Kontaminasi dapat pula dari hewan atau serangga lain sekitar sarang, misalnya kecoa, kelelawar, tikus, cecak, dan kutu busuk. Kontaminasi dapat berasal pada saat penanganan manusia yaitu saat dipanen, dibersihkan, dicuci, ditimbang, dikemas, dipasarkan atau proses penanganan lain (Anonim, 2000). Jadi secara umum kontaminasi mikroba dapat terjadi pada saat sarang masih menempel di habitatnya sampai sarang burung walet siap ekspor.

SIMPULAN

Mikroba-mikroba yang diisolasi dari sampel sarang burung walet diketahui adalah *Staphylococcus aureus*. Perlakuan dengan menggunakan Iradiasi dosis 7 kGy efektif mendekontaminasi total jumlah cemaran mikroba pada sampel sarang burung walet.

DAFTAR PUSTAKA

- Buckle KA, Edwards RA, Fleet GH, Wootton M. 1987. Food Science. 2nd Ed. Department of education and culture, Directorate general of higher education and International development program of Australian Universities and Colleges.
- Schmidt RH. 2005. Food science and human nutrition Department Florida Cooperative Extension Service, Institute Of Food And Agricultural Science. University of Florida.
- Yusof N. 2007. Radiation Killing Effect on Bacteria and Fungi. Radiation in Tissue Banking P 121-132. World Scientific Publishing Co.Pte.Ltd, Singapore.

MP-13

GANGGUAN FUNGSI DAN PEMBESARAN HATI AKIBAT INFEKSI PARASIT DARAH (EHRlichiosis) PADA ANJING LOKAL

Anak Agung Ngurah Oka Pujawan*, Made Restiati, I Nyoman Suartha, Anak Agung Ngurah Gede Dwina Wisesa, I Bagus Made Bhaskara, I Wayan Yustisia Semarariana

Bali Veterinary Clinics*, Jalan Bantas Kangin No 11 Kedonganan, Badung, BALI
Departemen Penyakit Dalam Veteriner, Fakultas Kedokteran hewan Universitas Udayana

*Korespondensi: pujawanvet@balivetclinic.com

Kata Kunci: parasit darah, gangguan hati, *Ehrlichia* spp.

PENDAHULUAN

Infeksi *E. Canis* merupakan salah satu penyebab dari penyakit *Canine Ehrlichiosis* yang menyerang anjing pada semua umur dan ras anjing. Penularan penyakit ini umumnya melalui gigitan caplak dari *Rhipicephalus*. *E. canis* merupakan salah satu parasit obligat intraseluler yang ditularkan dari jenis caplak tersebut. *Ehrlichia canis* lebih sering menyerang monosit, granulosit dan platelet. Manifestasi klinis *E. Canis* yang pernah dilaporkan bervariasi seperti demam, anoreksia, anemia, jaundice, muntah, penurunan berat badan yang signifikan, mimisan, sempoyongan, batuk, lethargi, dispneu (Ettinger & Feldman, 2005). Gejala klinis yang umum dilaporkan seperti splenomegaly, gagal ginjal, interstitial pneumonia, meningitis (Porter & Kaplam, 2011). Gejala klinis pembesaran hati dan gangguan fungsi hati belum pernah dilaporkan pada kasus infeksi *Ehrlichia Canis*. Tulisan ini bertujuan untuk membahas kasus gangguan fungsi hati dan pembesaran hati akibat dari infeksi dari *Ehrlichia canis* pada anjing lokal.

METODE

Metode yang diambil dalam penulisan ini meliputi wawancara, pemeriksaan klinis dan laboratorium. Pemeriksaan klinis meliputi dari pemeriksaan respirasi, *heart rate*, palpasi daerah abdomen, suhu dan kontraksi pupil mata. Pemeriksaan laboratorium meliputi pemeriksaan hematologi rutin dengan alat RAYTO RT7600, pemeriksaan kimia darah dengan alat RAYTO-1904CV dan Ultrasonografi menggunakan USG Portable S880Vet.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan dari anamnesa dan tanda klinis, pemeriksaan laboratorium perlu dilakukan. Pemeriksaan tersebut untuk mengetahui lebih lanjut kondisi yang dialami Nahla. Pemeriksaan tersebut meliputi pemeriksaan darah rutin, pemeriksaan kimia darah (ALT, AST, DBili, TBili, TP, Creatinin), ulas darah, USG dan test kit *Ehrlichia Canis* antibody test. Diagnosa terhadap *Ehrlichiosis* mulai terlihat berdasarkan hasil pemeriksaan darah rutin dan ulas darah. Nilai Platelet yang sangat rendah dan ditemukannya morula (bentukan *ehrlichia*) di sel darah putih pada pemeriksaan ulas darah. Diagnosa dikonfirmasi dengan uji tes kit *Ehrlichia canis* antibody dan menunjukkan hasil positif (+). Antibodi *ehrlichia* muncul 7-14 hari infeksi pertama dan akan menjadi dorman dalam tubuh (Mark *et al.*, 2002). Pada pemeriksaan darah rutin, kontrol utama dalam penyakit *Ehrlichiosis* selain sel darah merah adalah nilai darah dari monosit, granulosit dan platelet. Nilai monosit dan granulosit dari hari ke-0 hingga ke-45 masih dalam rentang normal namun nilai platelet sangat rendah dari rentang normal (Tabel 1). Platelet merupakan bagian padatan darah yang berfungsi dalam pembekuan darah dan diproduksi di hati (Ettinger & Feldman, 2005). Hasil tersebut telah dikonfirmasi dengan hasil pemeriksaan kimia darah dari ALT, AST, DBILI dan TBILI (Tabel 1). Tingginya nilai ALT dan AST merupakan indikasi terjadinya kerusakan pada sel hati. Gangguan fungsi hati yang terjadi dapat menimbulkan muntah dikarenakan produksi enzim dari hati yang berlebihan dapat membuat ulcer pada mukosa lambung (Porter & Kaplam, 2011).

Hasil uji menggunakan ultrasonografi dan x-ray ditemukan pembesaran organ hati. Kelainan lain dari organ hati seperti obstruksi saluran empedu dan *fatty liver* tidak ditemukan. Gejala

klinis muncul setelah infeksi yang cukup lama dari Ehrlichia canis hingga menimbulkan masalah sekunder dalam tubuh pasien. Kejadian ini jarang terjadi di daerah tropis yang merupakan kejadian endemis dari Ehrlichiosis (Porter & Kaplam, 2011). Kejadian ikutan yang muncul akibat infeksi Ehrlichia canis yang pernah dilaporkan gagal ginjal, meningoencephalitis, interstitial pneumonia, gangguan fungsi otak, arthritis, pendarahan pada retina (Ettinger & Feldman, 2005).

Tabel 1. Hasil hematologi rutin dan kimia darah Nahla

WBC	12,24	WBC	12,6	7	10,1	6-17 x 10 ³ /ul
LIMFOSIT	0,63	LIMFOSIT	5,3	2,7	2,6	0,8-5,1 x 10 ³ /ul
MONOSIT	0,71	MONOSIT	0,5	0,1	0,4	0-1,8 10 ³ /ul
NEUTROFIL	10,87					
EOSINOFIL	0,04	GRANULOSIT	6,8	4,2	7,1	4-12,6 x 10 ³ /ul
BASOFIL	0,00					
RBC	5,75	RBC	4,44	5,46	7,29	5,5-8,5 x 10 ⁶ /u/l
HGB	10,4	HGB	8,3	10	14,1	12-18 g/dl
HCT	31,76	HCT	23,8	30,2	41	37-55 %
MCV	55	MCV	53,6	55,4	56,3	62-72 fl
MCH	18,1	MCH	18,7	18,3	19,3	20-25 pg
MCHC	32,8	MCHC	34,8	33,1	34,4	30-38 g/dl
RDW	18,1	RDW-CV	16,5	15,9	14,7	11-15,5 %
PLT	4	PLT	163	212	346	200-500 x 10 ³ /ul
PCT	0	PCT	0,128	0,176	0,259	0,1-0,5%
MPV	7,5	MPV	7,8	8,3	7,5	7-12,9 fl
	JENIS	Hari 0	Hari 15	Hari 45		RANGE
	ALT	246	118	53,2		5-60 IU/L
	AST	135	59,1	42,1		5-55 IU/L
	TP	3,982	N	N		5,1-7,8 IU/L
	DBILI	0,252	N	N		0,0-0,1 mg/dl
	TBILI	0,209	N	N		0,0-0,4 mg/dl
	CREATININ	0,977	N	N		0,4-1,6 mg/dl

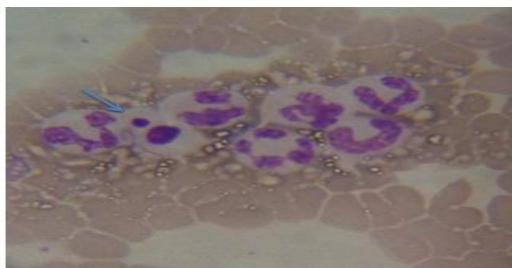
Pengobatan yang dilakukan pada kasus ehrlichiosis adalah dengan pemberian pengobatan causatif, simtomatif dan suportif. Pengobatan causative pada kasus ini adalah pemberian doxycycline 5-10 mg/kg BB selama 14 hari. Antibiotik ini bekerja sangat baik dalam penetrasi intraceluler dan bacteriostatic (Porter & Kaplam, 2011). Pengobatan simtomatif yang diberikan adalah pemberian anti emetic Metoclopramide Hcl. Pengobatan suportif yang dilakukan seperti pemberian terapi cairan dengan *lactat ringer*, pemberian protein asam amino lengkap selama rawat inap, vitamin b12, vitamin E 400 IU dan vitamin K1. Makanan diet khusus milik *Science diet L/D* untuk kelainan organ hati juga diberikan selama masa pengobatan diklinik maupun dirumah.

Pengobatan secara simtomatif dilakukan apabila gejala masih muncul. Pemberian metoclopramide Hcl sebagai anti muntah diberikan secara intravena sebesar 1-2 mg/kg/hari (Donald, 1999). Pengobatan suportif seperti terapi cairan diberikan dalam waktu 12 jam sebanyak 40-60ml/kg (Donald, 1999). Terjadinya gangguan fungsi hati sama artinya dengan kurangnya produksi protein darah sehingga tingkat permeabilitas dari pembuluh darah akan menurun. Pemberian protein asam amino penting untuk mendukung dan meringankan kerja dari hati. Asam amino diberikan bersamaan dengan terapi cairan dengan tujuan menjaga tingkat dari permeabilitas pembuluh darah (Porter & Kaplam, 2011). Vitamin K1 diberikan sebanyak 2,5mg/kg BB secara subcutan selama 5 hari. Dasar pemberian ini dikarenakan nilai platelet sangat rendah dan hati tidak dapat memproduksi platelet dengan baik. Vitamin E

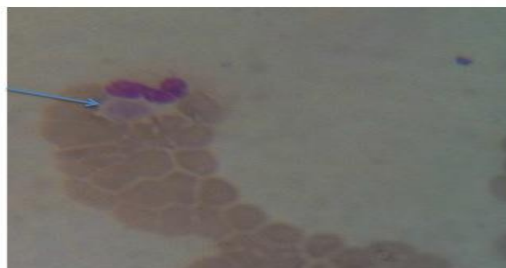
merupakan antioksidan alami juga sebagai anti radang alami yang dibutuhkan pada gangguan fungsi hati (Donald, 1999). Pemberian vitamin E sebanyak 200 IU per harinya. Vitamin B12 (*riboflavin*) diberikan sebagai modulator penambah darah merah dan juga untuk metabolisme tubuh.

Pengobatan dilakukan selama 10 hari di *Bali Veterinary Clinics* dan dilanjutkan dengan obat pulang dan *prescription diet L/d* untuk organ hati. Pemeriksaan darah dan kimia darah ALT dan AST dilakukan ulang setelah 14 hari pengobatan dengan doxycycline. Hasil menunjukkan perubahan yang baik terutama pada angka platelet dan penurunan nilai ALT dan AST dari pasien (Tabel 1). Pemeriksaan terakhir dilakukan pasien setelah menggunakan doxycycline, konsumsi vitamin E dan *prescription diet L/d* untuk hati hingga hari ke 45. Secara klinis, pasien sangat baik. Pembesaran abdomen, berat badan makin bertambah. Nafsu makan dari pasien sangat baik. Pemeriksaan darah baik rutin dan fungsi hati menunjukkan angka yang normal.

Gambar Ehrlichia spp



Gambar lisis Platelet



Gambar 1.

SIMPULAN

Penyakit *E.canis* menimbulkan gejala klinis yang bervariasi. Kondisi ikutan yang seperti pembesaran organ hati dan gangguan fungsi hati dapat terjadi namun belum pernah dilaporkan. Penyebab kerusakan organ hati tersebut masih belum dapat diketahui secara nyata. Hati mengalami kerusakan karena hati bekerja yang berlebihan sehingga mengalami kerusakan atau *E.canis* sudah dapat membuat kerusakan pada hati. Studi kasus ini dapat sebagai acuan dan dikembangkan sebagai penelitian yang lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Donald CP. 1999. *Veterinary Drug Handbook*. 3rd ed. Veterinary Teaching Hospitals, College of Veterinary Medicine University of Minnesota. Iowa State University Press.
- Ettinger SJ, Feldman EC. 2005. *Textbook of Veterinary Internal Medicine Sixth Edition*. ISBN-13: 978-0-7216-0117-5. Elsevier/Saunders: St. Louis, Missouri.
- Porter RS, Kaplan JL. 2011. *The Merck Manual Nineteenth edition of Diagnosis and Therapy*. Merck Sharp & Dohme Corp., A Subsidiary of Merck & Co., INC. Whitehouse Station, NJ.
- Mark TN, Edward B, Breitschwerdt R, Greene T, Lappin MR. 2002. Consensus Statement on Ehrlichial Disease of Small Animals From The Infectious Disease Study Group of ACVIM. *J Vet Intern Med* 16:309-315.

MP-14

**SKRINING EFEKTIVITAS EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN SEMBUNG RAMBAT
(*Mikania micrantha* H.B.K.) TERHADAP BAKTERI DAN DERMATOFITA**

Asfi Royhani Latifah^{1*}, Siti Sa'diah^{1,3}, Usamah Afiff²

¹Departemen Anatomi Fisiologi dan Farmakologi FKH IPB

²Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner FKH IPB

³Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB

*Korespondensi: asfi.latifa@gmail.com

Kata kunci: antimikroba, bakteri, dermatofita, *Mikania micrantha* (H.B.K.)

PENDAHULUAN

Sembung rambat (*Mikania micrantha* H.B.K.) termasuk dalam famili Asteraceae dan merupakan tanaman asli daerah Amerika Tengah dan Amerika Selatan. Tanaman ini secara tradisional digunakan sebagai obat luka pada kulit (Sankaran 2013). Sembung rambat diketahui memiliki aktivitas antibakteri (Hajra *et al.* 2010), khasiat antifungi, antispasmodik, dan antiparasit (Colares *et al.* 2009). Suatu tanaman memiliki banyak komponen senyawa kimia, demikian pula dengan ekstrak yang dihasilkan dari tanaman tersebut. Senyawa-senyawa kimia tersebut dapat dipisahkan salah satunya dengan metode fraksinasi. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas ekstrak etanol dan fraksi daun sembung rambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif, serta dermatofita sehingga diketahui golongan senyawa kimia yang memiliki pengaruh besar terhadap aktivitas antimikroba dari tanaman sembung rambat.

METODE PENELITIAN

Sebanyak 4 kg daun sembung rambat segar dikeringkan dan dimaserasi menggunakan etanol 70% dengan perbandingan 1:10, kemudian dievaporasi. Setelah itu dilakukan fraksinasi terhadap ekstrak kasar dengan pelarut n-heksan, kloroform, etil asetat, dan akuades. Hasil fraksinasi lalu dievaporasi kembali. Metode yang digunakan dalam pengujian *in vitro* terhadap bakteri dan dermatofita adalah metode sumuran dengan media *Muller-Hinton Agar* (MHA) untuk bakteri dan *Dermatophyte Selective Agar* (DSA) untuk dermatofita.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 Rata-rata diameter hambat (mm) terhadap bakteri Gram positif dan negatif

	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Bacillus</i> sp.	<i>E. coli</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. multocida</i>
F1	7.0 ± 1.7 ^a	13.7 ± 1.2 ^b	14.0 ± 0.0 ^c	15.7 ± 2.1 ^c	10.0 ± 2.0 ^c	6.0 ± 0.0 ^a	7.0 ± 1.7 ^a	6.7 ± 1.6 ^a
F2	18.7 ± 1.2 ^d	22.3 ± 1.5 ^d	20.7 ± 0.6 ^f	22.0 ± 1.0 ^e	16.7 ± 0.6 ^e	15.0 ± 0.0 ^b	8.0 ± 3.5 ^a	9.7 ± 2.5 ^a
F3	12.0 ± 1.0 ^{bc}	17.7 ± 1.5 ^c	17.3 ± 1.6 ^e	18.0 ± 1.0 ^{cd}	14.0 ± 2.7 ^d	9.7 ± 3.2 ^a	9.0 ± 3.5 ^a	8.7 ± 2.5 ^a
F4	8.7 ± 2.3 ^{ab}	7.0 ± 1.7 ^a	10.7 ± 1.5 ^b	12.0 ± 1.0 ^b	6.7 ± 0.6 ^b	9.0 ± 2.7 ^a	8.3 ± 4.0 ^a	8.0 ± 3.5 ^a
C	14.7 ± 3.8 ^c	17.0 ± 3.0 ^c	15.7 ± 0.6 ^d	19.0 ± 2.7 ^d	13.0 ± 1.0 ^d	9.7 ± 3.2 ^a	7.3 ± 2.3 ^a	7.7 ± 2.1 ^a
P	31.0 ± 1.0 ^e	15.7 ± 0.6 ^{bc}	6.0 ± 0.0 ^a	6.0 ± 0.0 ^a	-	-	-	-
S	-	-	-	-	8.0 ± 0.0 ^a	6.0 ± 0.0 ^a	11.0 ± 0.0 ^a	20.0 ± 0.0 ^p

F1=Fraksi n-heksan; F2=Fraksi kloroform; F3=Fraksi etil asetat; F4=Fraksi akuades; C=ekstrak kasar; P=Penisilin, S=Streptomisin. Huruf superskrip yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Fraksi kloroform memberikan daya hambat paling besar terhadap bakteri Gram positif dibandingkan dengan ekstrak kasar dan ketiga fraksi lainnya. Diameter hambat yang ditimbulkan oleh fraksi kloroform terhadap *Staphylococcus aureus* (18.7 ± 1.2 mm) masih lebih kecil daripada daya hambat Penisilin (31 ± 1 mm). Sementara pada pengujian yang dilakukan terhadap *Bacillus cereus* dan *Bacillus* sp., diameter hambat ekstrak kasar dan keempat fraksi lebih besar dari pada Penisilin. Menurut Luna *et al.* (2007), bakteri genus *Bacillus* terutama *Bacillus cereus* memiliki sifat resisten terhadap antibiotik Penisilin.

Selain itu fraksi kloroform juga memberikan hambatan pertumbuhan yang paling baik terhadap *Escherichia coli* (16.67 ± 0.58 mm) dan *Salmonella* Enteritidis (15 mm). Nilai tersebut

menunjukkan bahwa fraksi kloroform lebih efektif daripada kontrol positif Streptomisin terhadap kedua bakteri tersebut. Sementara itu, ekstrak dan keempat fraksi daun sembung rambat tidak menunjukkan perbedaan efektivitas yang nyata terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Pasteurella multocida*. Hasil yang berbeda nyata ditunjukkan oleh Streptomisin terhadap *Pasteurella multocida*.

Menurut Simanjuntak (2008), kloroform mampu menarik senyawa yang bersifat semipolar seperti golongan fenol (seperti flavonoid), alkaloid, dan terpenoid. Senyawa golongan fenol dalam konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma dan menyebabkan kebocoran sel bakteri, sedangkan dalam konsentrasi tinggi akan menyebabkan koagulasi protein dan lisis membran sel (Rahminiwati *et al.* 2011). Terpenoid sebagai antimikroba bekerja dengan cara bereaksi dengan protein transmembran di luar dinding sel bakteri (Cowan 1999). Menurut Tripathi *et al.* (2012), mikanolide dan dihidromikanolide yang merupakan senyawa aktif khas tanaman sembung rambat termasuk ke dalam kelompok terpenoid (sesquiterpene).

Tabel 2 Rata-rata diameter hambat (mm) terhadap dermatofita

	<i>Microsporium canis</i>	<i>Microsporium gypseum</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
F1	17.33 ± 1.15 ^c	14.67 ± 0.58 ^c	6.00 ± 0.00 ^a
F2	21.67 ± 1.15 ^d	23.33 ± 0.58 ^d	6.00 ± 0.00 ^a
F3	16.67 ± 1.53 ^{bc}	15.33 ± 3.51 ^c	11.67 ± 2.08 ^b
F4	6.00 ± 0.00 ^a	6.00 ± 0.00 ^a	6.00 ± 0.00 ^a
C	15.33 ± 0.58 ^b	11.67 ± 0.58 ^b	6.00 ± 0.00 ^a
M	17.67 ± 0.58 ^c	15.67 ± 0.58 ^c	6.00 ± 0.00 ^a

F1=Fraksi n-heksan; F2=Fraksi kloroform; F3=Fraksi etil asetat; F4=Fraksi akuades; C=ekstrak kasar; M=Miconazole. Huruf superskrip yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Hasil uji terhadap dermatofita *M. canis* (Tabel 2) menunjukkan bahwa *M. canis* dan *M. gypseum* memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap fraksi kloroform. Diameter hambat fraksi kloroform pada kedua dermatofita tersebut lebih besar dibandingkan kontrol positif Miconazole. Sementara *T. mentagrophytes* cenderung lebih sensitif terhadap senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat. Pelarut etil asetat menarik senyawa yang bersifat lebih polar daripada senyawa yang ditarik oleh pelarut kloroform seperti saponin, tanin, dan glikosida (Simanjuntak 2008). Tanin merupakan salah satu metabolit alami yang terdapat pada banyak jenis tanaman dan dapat digunakan untuk pengobatan diare serta luka kulit karena memiliki sifat astringensia. Selain itu tanin diketahui memiliki potensi untuk mencegah infeksi mikroorganisme (Sandberg dan Corrigan 2001).

SIMPULAN

Fraksi kloroform daun sembung rambat memberikan efektivitas hambatan pertumbuhan paling baik dibandingkan dengan ekstrak kasar dan ketiga fraksi lainnya terhadap bakteri Gram positif dan hampir semua bakteri Gram negatif yang diuji, serta terhadap *M. canis* dan *M. gypseum*. Sementara fraksi etil asetat daun sembung rambat memberikan efektivitas hambatan pertumbuhan paling baik terhadap *T. mentagrophytes*.

DAFTAR PUSTAKA

- Colares M, Muguerza A, Debenedetti S, Spegazzini E, Rosella M, Consolini AE. 2009. Gastrointestinal Effects of *Mikania micrantha* Kunth and *Mikania cordifolia* (L. F.) Wild (*Asteraceae*) on Isolated Rat Ileum.
- Cowan M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agent. *Clin. Microbiol. Rev.* 12 (4): 564-582.
- Hajra S, Mehta A, Pandey P, John J, Mehta P. 2010. Antibacterial property of crude ethanolic extract of *Mikania micrantha*. *Asian J. Exp. Biol. Sci. Spl.* 2010: 158-160.
- Luna VA, King DS, Gulleddge J, Cannons AC, Amuso PT, Cattani J. 2007. Susceptibility of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycooides* and *Bacillus thuringiensis* to 24 antimicrobials using Sensititre® automated microbroth dilution and Etest® agar gradient diffusion methods. *J. Antimicrob. Chemother.* 60 (3): 555-567.
- Rahminiwati M, Mustika AA, Sa'diah S, Andriyanto, Soeripto, Unang. 2010. Bioprospeksi ekstrak jahe gajah sebagai anti-CRD: kajian aktivitas antibakteri terhadap *Mycoplasma gallisepticum* dan *E. coli* in vitro. *J. Pertanian Indonesia.* 15 (1): 7-13.

- Sandberg F, Corrigan D. 2001. *Natural Remedies: Their Origins and Uses*. New York (US): Taylor & Francis.
- Sankaran KV. 2013. *Mikania micrantha: Mile A Minute Weed*. Asia-Pacific Forest Invasive Species Network, Invasive Pest Fact Sheet.
- Simanjuntak MR. 2008. Ekstraksi dan Fraksinasi Komponen Ekstrak Daun Tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum* L) serta Pengujian Efek Sediaan Krim terhadap Penyembuhan Luka Bakar. *Skripsi*. Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Tripathi RS, Khan ML, Yadav AS. 2012. *Biology of Mikania micrantha H.B.K.:A Review*. Invasive Alien Plants: An Ecological Appraisal for The Indian Subcontinent.

MP-15

KOMPONEN PENYUSUN DERMATOFITA

Putu Ayu Sisyawati Putriningsih^{1*}, Soedarmanto Indarjulianto²

¹Laboratorium Penyakit Dalam Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jalan P. B. Sudirman, Denpasar-Bali

²Bagian Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Jalan Fauna 2, Karangmalang, Yogyakarta

*Korespondensi: ay4kato_84@yahoo.com

Kata kunci: komponen, penyusun, dermatofita

PENDAHULUAN

Dermatofita adalah fungi penyebab infeksi kutaneus superfisial yang disebut dengan dermatofitosis. Penyakit ini merupakan mikosis yang paling umum yang tersebar di seluruh dunia, yang dapat menyerang manusia maupun hewan. Tiga genera penyebabnya yaitu *Microsporum*, *Trichophyton*, dan *E. pidermophyton*. Jamur ini hidup pada rambut, kuku, dan kulit yang memiliki lapisan tanduk atau keratin karena mereka membutuhkan keratin untuk sumber nutrisinya (Outerbridge. 2006). Dinding sel dermatofita tersusun atas berbagai komposisi kimia. Dermatofita juga mensekresikan produk untuk kelangsungan hidupnya. Informasi mengenai komposisi unsur penyusun dermatofita dapat digunakan untuk identifikasi spesies dermatofita, memberi pemahaman yang lebih baik tentang fisiologis dinding sel dermatofita, dan mekanisme kerja beberapa jenis anti fungal terhadap dermatofita. Hal tersebut dapat dijadikan sebagai dasar untuk penemuan strategi baru dalam diagnosis, terapi, dan pencegahan dermatofitosis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi. Dalam kondisi nonparasitik, termasuk dalam kultur, dermatofita memproduksi septat, percabangan hifa secara bersama-sama disebut dengan miselium. Unit reproduksi aseksualnya yang disebut konidia. Makrokonidia, berbentuk seperti kacang polong dengan panjang mencapai 100µm bersifat pluri seluler, sedangkan mikrokonidia berbentuk bulat atau batang dengan panjang kurang dari 10µm bersifat uniseluler. Dalam kondisi parasitik, yang terlihat hanya hifa dan unit reproduksi aseksual yang disebut arthrokonidia (Biberstein, 1999). Sampai saat ini cara paling sederhana untuk mengidentifikasi dermatofita yaitu berdasarkan ada tidaknya makrokonidia dan mikro konidia, bentuk makrokonidia, ketebalan dinding selnya, serta jenis hifanya.

Komposisi Penyusun. Komposisi penyusun dinding sel dermatofita yang pernah diteliti, yaitu *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, dan *Epydermophyton floccosum*. Unsur penyusun dermatofita antara lain glukosa, mannose, N-acetyl hexosamin, hexosamin, protein, abu, lipid, nitrogen, asam nukleat, dan karbohidrat. Dinding selnya juga tersusun atas berbagai asam amino diantaranya asam aspartate, treoni, serin, asam glutamat, prolin, gysin, alanine, sistin dan asam sisteat, valin, isoleusin, leusin, tirosin, fenilalani. methionine, ornithine, lysin, histidin, arginin, glukosamin, dan galaktosamin. Selain itu dinding sel dermatofita juga mengandung beberapa jenis mineral diantaranya kalsium, fosfor, potasium, sodium, magnesium, aluminium, barium, besi, strontium, boron, tembaga, seng, mangan, dan kromium (Shah dan Knight, 1968). Berbagai unsur di atas memiliki kuantitas yang berbeda pada tiap spesies dermatofita, misalnya *M. Canis* dan *M. Gypseum* memiliki kandungan glukosa yang lebih sedikit dibandingkan *T. Mentagrophytes* dan *E. floccosum*. Berkebalikan dengan kandungan mannose-nya, dimana kandungan mannose *M. canis* dan *M. Gypseum* lebih banyak. Perbedaan kuantitas masing-masing unsur di atas dapat digunakan untuk identifikasi spesies lebih lanjut. Berbagai unsur yang dimiliki dermatofita tentunya memiliki berbagai peran dalam berbagai proses di dalam tubuh dermatofita. Penelitian lebih lanjut mengenai peran masing-masing unsur tersebut bagi kelangsungan hidup dermatofita sangat diperlukan dalam tujuan penentuan dan penemuan jenis terapi baru

dermatofitosis.

Antigen Dermatofit. Dua kelas utama antigen dermatofita adalah glikopeptida dan keratinase. Bagian protein dari glikopeptida menstimulasi *cell-mediated immunity* (CMI), bagian polisakarida dari glikopeptida menstimulasi imunitas humoral, dan keratinase menstimulasi *Delayed TipeHipersensitivity* (DTH) (Vermout *et al.*, 2008). Antigen dermatofita terkait dengan pembuatan vaksin yang efektif baik sebagai pencegahan maupun terapi dermatofitosis.

Faktor Virulensi. Untuk kelangsungan hidupnya, dermatofita mensekresikan suatu produk berupa enzim protease yang sangat penting sebagai faktor virulensi karena dermatofita hanya dapat hidup dan tumbuh pada stratum korneum, kuku, atau rambut. Keratin merupakan satu-satunya sumber nitrogen dan karbon baginya. Melalui protease yang disekresikannya, dermatofita memiliki kemampuan untuk memperoleh nutrisi dari protein yang kompleks dan tidak larut menjadi nutrisi yang dapat diserap olehnya. Protease dikelompokkan menjadi dua yaitu endoprotease dan eksoprotease. Endoprotease dibedakan menjadi tiga, yaitu aspartic protease, metalloprotease, dan serine protease. Eksoprotease dibedakan menjadi tiga yaitu amino peptidase, karboksipeptidase, dan dipeptidyl-peptidase (Monod *et al.*, 2002). Pada dermatofita, aktivitas subtilase/subtilisin (SUB) yang merupakan serine protease dan metalloprotease (MEP) atau dapat juga disebut fungalisin, tampaknya paling menonjol dalam pemanfaatan substrat berkeratin. *Microsporum canis* mensekresikan SUB3 dan MEP3 yang bersifat keratinolitik kuat serta dipeptidyl-peptidase (Dpp) (Vermout *et al.*, 2008). *Trichophyton rubrum* mensekresikan subtilisin (serine protease) dan dipeptidyl-peptidase V (DppV) sedangkan *Trichophyton tonsurans* mensekresikan DppV (Vermout *et al.*, 2008).

SIMPULAN

Jamur dermatofita tersusun atas glukosa, mannose, N-acetyl hexosamin, hexosamin, protein, abu, lipid, nitrogen, asam nukleat, karbohidrat, berbagai jenis asam amino, dan berbagai jenis mineral. Antigen utama dermatofita yaitu glikopeptida dan keratinase sedangkan factor virulensinya berupa protease.

DAFTAR PUSTAKA

- Biberstein EL. 1999. Dermatophytes. In Hirsh, D. C. dan Zee, Y. C. (Ed) *Textbook of Veterinari Microbiology*. Massachusetts, USA : Blackwell Science. Pp 214-219
- Outerbridge. C. A. 2006. Mycologic Disorders of the Skin. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 21: 128-134.
- Shah VK, Knight SG. 1968. Chemical Composition of Hyphal Walls of Dermatophytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 127:229-234
- Vermout S, Tabart J, Baldo A, Mathy A, Losson B, Mignon B. 2008. Pathogenesis of Dermatophytosis. *Mycopathologia* 166: 267-275.

MP-16

GAMBARAN KANDUNGAN AFLATOXIN PADA BAHAN BAKU PAKAN TERNAK

Siti Khadijah*, Dwi Widyanto, Dwi Haryani

Laboratorium Karantina Hewan Balai Besar Karantina Pertanian Tanjung Priok
Jl. Padamarang, Pos 3, Pelabuhan Tanjung Priok
*Korespondensi: pika12543@yahoo.com

Kata kunci: aflatoxin, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, bahan baku pakan ternak.

PENDAHULUAN

Bahan baku pakan ternak yang sering masuk ke pasaran Indonesia adalah *poultry by product meal* (PPM). Penanganan bahan baku ternak yang masuk ke Indonesia sangat mempengaruhi pertumbuhan jamur. Keberadaan jamur ini akan menimbulkan toxin sehingga akan membahayakan kesehatan hewan dan manusia (Younis & Malik 2003).

Aflatoxin merupakan produk metabolisme dari berbagai varietas jamur, seperti *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus*. Empat aflatoxin (B1, B2, G1, G2) telah terdeteksi pada makanan dan pakan ternak dan bersifat karsinogen terhadap manusia dan hewan (Bennett & Klich 2003)

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan aflatoxin dari bahan baku pakan ternak impor yang secara organoleptik dicurigai mengandung aflatoxin, sehingga dapat diketahui ada tidaknya kandungan aflatoxin yang terdapat dalam bahan baku pakan ternak impor yang secara organoleptik dicurigai mengandung aflatoxin. Hipotesis yang diajukan adalah adanya kandungan aflatoxin dari bahan baku pakan ternak impor yang secara organoleptik dicurigai.

MATERI DAN METODA

Sampel yang diuji merupakan sampel yang masuk ke laboratorium karantina hewan Balai Besar Karantina Pertanian Tanjung Priok. Sampel bahan baku pakan ternak yang diuji merupakan sampel yang dicurigai secara organoleptik mengandung aflatoxin tinggi. Sampel diuji dengan metode *Tetrachlorethylen* (TCE, Merck, 1.00964.2500) untuk mengetahui kandungan pakan ternak sesuai dengan standar *Biotechnol. Agron. Soc. Environment 2004*. Sampel bahan baku ternak tersebut juga diuji dengan metode *plate agar* dengan menggunakan media *Potatoes Dextrosa Agar* (PDA) untuk menumbuhkan jamur. Untuk pengujian kandungan aflatoxin, sampel dikirim ke Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Pakan, Bekasi dan diuji dengan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan adanya kontaminasi jamur dan kandungan aflatoxin pada sampel yang diuji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari uji organoleptik sampel bahan baku ternak sampel 1 dan 2 berwarna coklat kehitaman dengan konsistensi agak lembab, sedangkan sampel 3, 4, dan 5 berwarna hitam kehijauan dengan konsistensi agak lembab dan menggumpal. Pada pengujian sampel dengan metode TCE didapatkan hasil yang berkisar antara 22,66-44,05%. Hasil yang didapat dengan metode TCE menunjukkan bahwa sampel tersebut tergolong sampel *poultry by product meal* (PPM), sesuai yang tertera pada standar *Biotechnol. Agron. Soc. Environment 2004*. Penanaman sampel pada media PDA menunjukkan adanya perkembangan berbagai jenis jamur. Pertumbuhan jamur *Aspergillus* mendominasi perkembangan jamur pada sampel. *Aspergillus niger* merupakan koloni terbanyak disamping *Aspergillus flavus*. Hasil pengujian dengan metode HPLC menunjukkan sampel 4 mengandung aflatoxin B2 dengan kandungan 0,11 *part per billion* (ppb), sedangkan sampel-sampel lainnya tidak mengandung aflatoxin atau *non detected* (ND). *Limit detection* untuk pengujian HPLC aflatoxin B2 adalah 0,05 ppb. Hal ini menunjukkan bahwa sampel 4 positif mengandung aflatoxin B2. Namun angka ini masih

dibawah kadar maksimum aflatoxin pada produk olahan jagung dan kacang-kacangan yang ditetapkan Badan Pengawas Obat dan Makanan Indonesia yaitu 20 ppb.

Keberadaan aflatoxin dalam bahan baku pakan sangat dipengaruhi oleh produksi, manufaktur, dan penanganan produksi makanan dan pakan. Aflatoxin merupakan toxin yang mempunyai struktur dan bentuk yang mirip satu dengan lainnya, utamanya membentuk komposisi *heterocyclic* yang diketahui sebagai B1, B2, G1, G2 dimana M1 dan M2 merupakan metabolisme dari B1 dan B2, yang dikenal sebagai *Milk toxin* (Younis dan Malik 2003). Aflatoxin kebanyakan diproduksi oleh *A. flavus* dan *A. parasiticus*. Namun tidak semua *A. flavus* dan *A. parasiticus* memproduksi aflatoxin. Dari perspektif mikologi, ada perbedaan besaran kualitatif dan kuantitatif dalam kemampuan toksigenik yang ditampilkan oleh strain yang berbeda, sebagai contoh hanya beberapa strain dari *A. flavus* yang dapat memproduksi aflatoxin (Bennett & Klich 2003).

Aflatoxin diyakini berbahaya bagi manusia dan hewan. Toxin B1 merupakan toxin yang sangat berbahaya dibandingkan jenis aflatoxin lainnya. Aflatoxin B2 dan G2 mempunyai potensial karinogenik yang sedikit lebih rendah dibawah toxin B1 dan G1 (Dharma *et al.*, 2007).

Menurut Chehri (2013), beberapa strain dari *A. niger* telah dilaporkan memproduksi mikotoksin yang potensial dan disebut sebagai ochratoxin. Pernyataan ini didukung oleh Bennett dan Klich (2003), dimana anggota dari keluarga *Aspergillus* penghasil ochratoxin salah satunya adalah *A. niger*. Ochratoxin merupakan toxin yang potensial seperti halnya aflatoxin. Ochratoxin mempunyai target organ di ginjal. Ochratoxin A merupakan nephotoxin pada semua hewan dan juga toksik pada manusia yang akan menularkan toxin ini melalui ekskreta ginjal.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah adanya kandungan aflatoxin pada bahan baku ternak impor yang secara organoleptik dicurigai mengandung aflatoxin. Saran yang dapat diajukan adalah penelitian lebih lanjut kandungan mikotoksin lainnya dari bahan baku ternak impor yang secara organoleptik dicurigai, diadakannya monitoring secara berkelanjutan dan teratur pada bahan baku pakan impor yang masuk ke Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Bennett JW, Klich M. 2003. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev* 6: 497-516..
Chehri J. 2013. Factors affecting the growth of biomass of *Aspergillus niger*. *J Medic Sci Pub Health* Vol 1: 1-5.
Dharma K, Chauhan RS, Mahendran M, Singh KP, Telang AG, Singhal L, Tomar S. 2007. Aflatoxins-hazard to livestock and poultry production: a review. *J Immunol* 9: 1-15.
Younis YMH, Malik KM. 2003. TLC and HPLC assay of aflatoxin contamination in Sudanese peanuts and peanut product. *Kuwait J Sci* 30: 79-94.

MP-17

DETEKSI DAN PREVALENSI EHRLICHIOSIS DI DITPOLSATWA K LAPADUA

Chaindraprasto Saleh*, tim Vet Ditpol Satwa

Direktorat Polisi Satwa (Ditpol Satwa) Klapadua, Depok

*Korespondensi: indroprasto@yahoo.com

Kata kunci: Ehrlichiosis, anjing (K9)

PENDAHULUAN

Direktorat Polisi Satwa (Ditpol Satwa) merupakan suatu kesatuan tingkat Mabes Polri dengan menggunakan anjing sebagai alat utama (K9). Prevalensi ehrlichiosis dijumpai di Kennel Ditpol Satwa Klapadua, dan sangat berpengaruh terhadap performa kinerja anjing sebagai working dog (K9). Deteksi terhadap *Ehrlichia* dilakukan mulai tahun 2014.

Canine ehrlichiosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh rickettsia yaitu *Ehrlichia canis*. Penyakit ini ditransmisikan oleh vektor caplak (*Rhipicephalus sanguineus*). Nama lain dari penyakit ini adalah *Canine Rickettsiosis*, *canine hemorrhagic fever*, *canine typhus*, *tracer dog disease*, dan *tropical canine pancytopenia* (Shukla *et al.*, 2011).

Anjing yang terinfeksi oleh *E. canis* dapat menunjukkan gejala akut kurang lebih 10 hari pasca-infeksi. Gejala klinis dari penyakit ini adalah demam, anemia, trombositopenia, anoreksia dan depresi. Hal ini dapat diikuti dengan fase subklinis yang panjang. Fase kronis ringan-berat terjadi ketika gejala pancytopenia, hemorhagi, monositosis, dan berat badan turun kembali terjadi (Lanza-Perea *et al.*, 2009).

Kasus ehrlichiosis dijumpai di kawasan Asia Tenggara (Thailand dan Malaysia) serta Asia Timur (Taiwan). Prevalensi penyakit ini di Malaysia sekitar 1,2-3,4% dan Taiwan sekitar 7,5% (Suphapipat *et al.*, 2011). Indonesia merupakan negara yang berada di kawasan asia tenggara dan beriklim tropis, sehingga vektor penyakit ini dapat hidup dan berkembang biak dengan baik.

METODE

Pemeriksaan fisik dilakukan terhadap anjing yang datang ke Klinik Veteriner Ditpol Satwa. Dugaan positif terhadap ehrlichiosis ditunjukkan oleh anjing yang memiliki gejala klinis berupa menolak exercise, lethargi, anoreksia, demam, dan kadang epistaksis. Peneguhan diagnosa terhadap ehrlichiosis dilakukan menggunakan SNAP test (IDEXX SNAP 4Dx). Alat tersebut secara *in vitro* dapat mendeteksi keberadaan antigen *Dirofilaria immitis*, antibodi terhadap *Anaplasma phagocytophilum*, antibodi terhadap *Anaplasma platys*, antibodi terhadap *Borrelia burgdorferi*, antibodi terhadap *Ehrlichia canis*, dan antibodi terhadap *Ehrlichia ewingii* dalam serum, plasma, atau darah anjing. SNAP test sebagai alat uji memiliki spesifisitas (100%) dan sensitivitas (96.2%) (Lanza-perea *et al.*, 2009). Pemeriksaan penyakit ini ditunjang dengan CBC (*Complete Blood Count*) menggunakan Abaxis Vet Scan HM5.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan pemeriksaan klinis, sebanyak 36 ekor dari 80 ekor anjing operasional dengan gejala menolak exercise, lethargi, anoreksia, dan demam. Anjing kemudian diambil sampel darah dan diperiksa menggunakan IDEXX SNAP 4Dx. Sejumlah 19 dari 36 sampel positif terdeteksi keberadaan antibodi terhadap *E. canis* atau *E. ewingii*. Pemeriksaan CBC dilakukan terhadap 19 ekor anjing yang positif Snap test. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada Tabel 1.

Pemeriksaan CBC terhadap 19 ekor positif ehrlichiosis menunjukkan 69% (16 ekor) mengalami trombositopenia, 43% (8 ekor) anemia ringan, 16% (3 ekor) mengalami leukopenia, 37% (7 ekor) mengalami anemia hipokromik, dan 16% (3 ekor) mengalami pancytopenia. Infeksi *E. canis* menyebabkan perubahan CBC secara signifikan dikarenakan sifat parasit yang menginfeksi sel darah. Perubahan gambaran darah tergantung pada derajat infeksi yang bersifat akut, subklinis, hingga kronis dengan perubahan yang umum terjadi yaitu trombositopenia, leukopenia, anemia, hingga pansitopenia. Trombositopenia merupakan temuan abnormalitas darah paling banyak pada kasus erlichiosis di Ditpolsatwa, diikuti anemia,

leukopenia, dan pancytopenia. Lappin (2005) menyebutkan bahwa trombositopenia menunjukkan kejadian ehrlichiosis pada semua fase ehrlichiosis (akut, subklinis, dan kronis), sedangkan pancytopenia menunjukkan fase penyakit yang kronis. Berdasarkan hasil pemeriksaan CBC, kejadian ehrlichiosis yang berifat kronis di Ditpolsatwa sebesar 16%.

Tabel 1. Data hematologi (CBC) satwa anjing yang menunjukkan hasil positif Erlichia

No.	Nama	Hasil Pemeriksaan darah (CBC)			
		Plt 200-500 (10 ⁹ /l)	RBC 5.5-8.5 (10 ¹² /l)	WBC 6-17 (10 ⁹ /l)	Hb 12-18 (g/dl)
1	Cora	355	6.73	25.21 (+)	16.0
2	Sofi	297	5.83	13.59	13.3
3	Puma	304	6.09	16.31	15.0
4	Ariel	865 (+)	6.93	28.92 (+)	16.4
5	Max	358	6.65	10.70	14.6
6	Eger	269	5.01 (-)	13.01	11.00 (-)
7	Vincy	70 (-)	5.11(-)	6.38	11.50 (-)
8	Jack	48 (-)	5.29 (-)	11.12	12.10
9	Carto	22 (-)	4.19 (-)	5.89 (-)	9.10 (-)
10	Dochi	167 (-)	6.75	11.27	15.10
11	Nina	57 (-)	6.53	16.72	14.60
12	Spike-2	142 (-)	6.63	11.01	15.30
13	Indie	18 (-)	4.84 (-)	0.58 (-)	10.20 (-)
14	Sweety	139 (-)	4.20 (-)	10.33	9.80 (-)
15	Emma	6 (-)	4.94 (-)	5.98 (-)	10.70 (-)
16	Rex	95 (-)	5.98	8.79	13.40
17	Adair	47 (-)	5.90	10.92	13.30
18	Patina	32 (-)	6.24	10.84	14.50
19	Abby	16 (-)	5.34 (-)	8.89	11.40 (-)

Tanda (+) menunjukkan nilai di atas kisaran nilai normal CBC; Tanda (-) menunjukkan nilai di bawah kisaran nilai normal CBC

Prevalensi ehrlichiosis pada anjing di Ditpolsatwa sebesar 24%. Tingginya prevalensi ehrlichiosis diduga karena tingginya kasus infestasi caplak pada anjing yang merupakan vector *E. canis*. Oleh karena itu, pengendalian caplak merupakan upaya yang dapat dilakukan untuk menurunkan prevalensi penyakit ini.

SIMPULAN

Kejadian ehrlichiosis di Ditpolsatwa sebesar 24% menggunakan test IDEXX SNAP 4DX Kit dengan perubahan gambaran darah tertinggi berturut-turut yaitu trombositopenia, anemia, leukopenia, dan pancytopenia.

DAFTAR PUSTAKA

- Syukla S, Parihar S, Bariya S, Chaturvedi A. 2011. *A Clinico-Pathological Report of Canine Ehrlichiosis in a Doberman Pinscher*.
- Lanza-perea M, Kumthekar SM, Sabarinath A, Karpathy SE, Sharma RN, Stone DM. 2009. *Doxycycline treatment of asymptomatic dogs seropositive for Erlichia canis*. *West Indian Vet J* 9 (2) 11-13
- Lappin MR. 2005. Infectious Disease. Di dalam *Manual of Small Animal Internal Medicine*. Nelson RW, Couto CG (Ed). Missouri (US): Elsevier Mousby.

MP-18

KARAKTERISASI MOLEKULER GEN PENYANDI OMP 2a *BRUCELLA ABORTUS* ISOLAT LOKAL

Fitria Ardhiani*, Erni Puspawati, Fifi Kurniasari, Tri Budi Sulistiani

Laboratorium Karantina Hewan Balai Besar Karantina Pertanian Surabaya

*Korespondensi: khotrexs_imoe2@yahoo.com

Kata kunci: *Brucella abortus*, outer membrane protein, omp 2a, molecular characterization

PENDAHULUAN

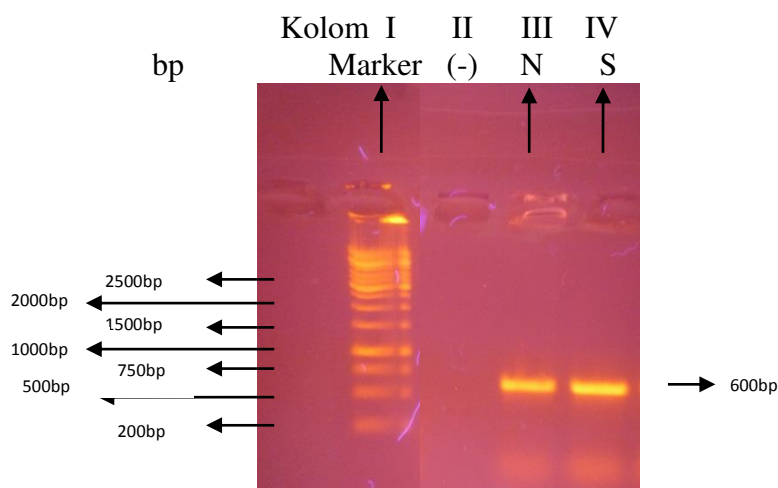
Brucellosis merupakan penyakit yang dianggap serius yang menyerang ternak karena menyebabkan penurunan ekonomi di industri peternakan dengan penurunan produksi susu, infertilitas, aborsi, penurunan berat badan, biaya pengobatan yang dianggap sangat merugikan.

Pencegahan dengan vaksinasi adalah salah satu cara yang digunakan untuk mengurangi dan membebaskan tingkat kejadian Brucellosis di Indonesia. Perkembangan vaksin yang efektif menjadi prioritas untuk pencegahan penyakit ini. Perkembangan vaksin sub unit sedang banyak berkembang di masa sekarang. Identifikasi membran protein sebagai protein antigenik sangat penting untuk perkembangan vaksin dimana protein ini merupakan antigen permukaan yang pertamakali menstimulasi antibodi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi gen penyandi OMP 2a *Brucella abortus* isolat lokal dengan uji PCR dan sekuensing dan untuk menganalisis homologi *B. abortus* isolat lokal dengan isolat lainnya dari beberapa negara termasuk isolat vaksin S19.

METODE

Bakteri sampel diisolasi dari sapi yang terinfeksi *Brucella abortus* dari Sulawesi dan NTT. *B. abortus* yang berhasil di kultur pada media BAM kemudian dilanjutkan dengan isolasi DNA. Ekstraksi DNA menggunakan reagen DNAzol. Gen penyandi OMP2a yang terdapat pada sampel dapat dikonfirmasi dan diamplifikasi menggunakan *Illustra™ PureTaq Ready-To-Go-PCR Beads* dari Invitrogen dengan menggunakan satu pasang primer. Hasil amplifikasi DNA *B. abortus* menggunakan primer 2ab5 sebagai *forward* dan 2ab600 sebagai *reverse* menghasilkan susunan nukleotida dengan panjang 600 bp. Hasil dari PCR kemudian dilanjutkan purifikasi menggunakan *QIAquick spin column* dari Qiagen dan disekuensing menggunakan *Abi Prism 310 Genetic Analyser– Applied Biosystems* untuk mendapatkan data nukleotida gen penyandi omp2a.



Gambar 1. Hasil PCR sampel *Outer Membran Protein B. abortus* isolat Nusa Tenggara Timur (N) dan Sulawesi (S).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan homologi yang cukup tinggi dari gen penyandi omp2a dari isolat lokal dengan isolat dari beberapa isolat negara lain dan isolat vaksin S19. Tingkat homologi dengan Norwegia 96%, Jepang 80%, Jerman 80%, New Zealand 80%, USA 99%, Korea Selatan 99% dan vaksin S19 99%.

NTT

```

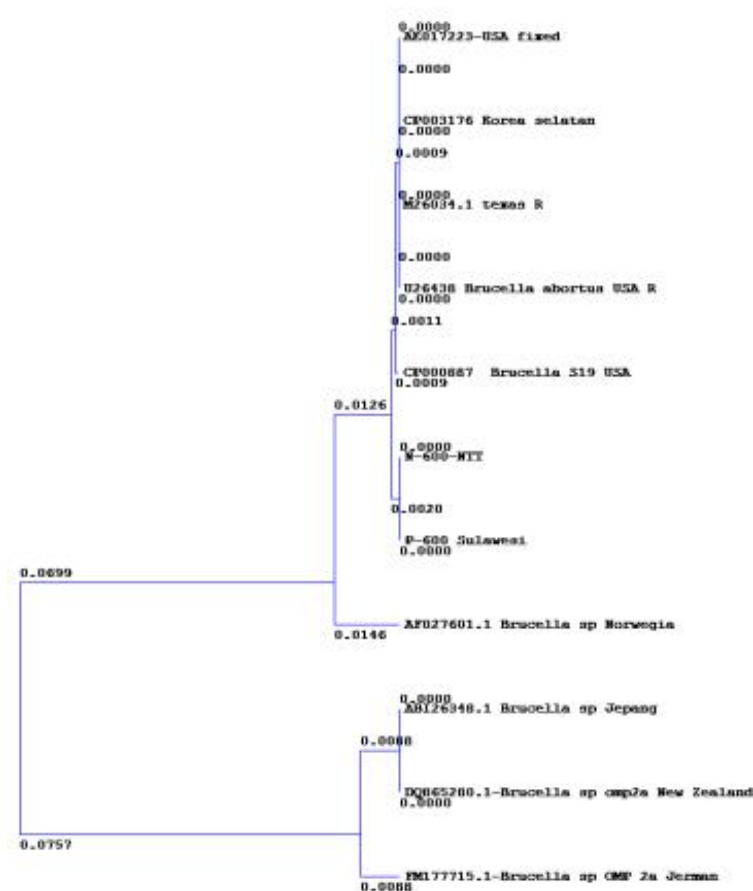
1   CGCGCTCAGG CGGCCGACGC AATCGTCGCG CCAGAGCCCG AAGCCGTTGA ATATGTCCGC
61  GTTGCAGCGC TTACGGCGCT GGCTACTTCT ACATTCCGGG CACCGAAACC TGCCTGCGCG
121 TCCATGGTTA CGTCCGTTAC GACGTAAAGG GCGGGCATGA CGTTTACTCC GGTACCGACC
181 GCAATGGCTG GGACAAGAGC GCTCGTTTCG CACTCCGCGT TTCCACCGGT TCGGAAACCG
241 AACTCGGCAC CCTCAAGACC TTCACCGAAC TGCCTTCAA CTATGCTGCG AACAAATTCGG
301 GCGTAGATGG TAAATATGGT AATGAAACCA GCAGCGGCAC CGTCATGGAG TTCGCGTATA
361 TCCAGCTCGG TGGTCTGCGC GTTGGTATCG ATGAATCGGA ATTCCATACC TTCACCGGTT
421 ACCTCGGCGA TGTCATCAAC GATGACGTGA TCTCGGCTGG CTCTACCAGC ACCGGCAAGA
481 TCTCGTACAC CTTCCTGCGC GGAAACGGCT TCTCGGCTGT GATCGCTCTC GAACAGGGTG
541 GCGACAACGA CCGTGGTTAC ACGGCAAAG
    
```

Sulawesi

```

1   CGCGCTCAGG CGGCCGACGC CAATCGTCGC GCCAGAGCCC GAAGCCGTTG AATATGTCCG
61  CGTTCGACAG CTTACGGCGC TGGCTACTTC TACATTCCGG GCACCGAAAC CTGCCTGCGC
121 GTCCATGGTT ACGTCCGTTA CGACGTAAAG GCGGGCATGA ACGTTTACTC CCGTACCGAC
181 CGCAATGGCT GGACAAGAGC CGCTCGTTTC GCACTCCGCG TTCCACCGGT TCGGAAACCG
241 GAACTCGGCA CCTCAAGAC CTTCACCGAA CTGCGCTTCA ACTATGCTGC GAACAATTCG
301 GCGTAGATGG GTAATATGG TAATGAAACC AGCAGCGGCA CCGTCATGGA GTTCGCGTAT
361 ATCCAGCTCG GTGGTCTGCG CGTTGGTATC GATGAATCGG AATTCCATAC CTTCACCGGT
421 TACCTCGGCG ATGTCATCAA CGATGACGTG ATCTCGGCTG GCTCTACCAG CACCGCAAG
481 ATCTCGTACA CCTTCCTGCG CCGAAACGGC TTCTCGGCTG TGATCGCTCT CGAACAGGGT
541 GCGACAACG ACGTGGTTA GACGGCAGG
    
```

Gambar 2. Susunan nukleotida hasil sekuensing gen penyandi OMP 2a *Brucella abortus* isolat lokal dari sampel NTT dan Sulawesi



Gambar 3. Filogenik isolat *B. abortus* lokal dengan beberapa isolat *B. abortus* dari negara lain

SIMPULAN

Hasil Sekuensing nukleotida gen penyandi protein membrane luar (OMP 2a) *Brucella abortus* isolat lokalmempunyai panjang 600bp, tingkat homologi dengan isolat Norwegia 96%, isolat Jepang 80%, isolat Jerman 80%, isolat New Zealand 80%, isolat USA 99%, isolat Korea Selatan 99% dan isolat Vaksin S19 99%.

DAFTAR PUSTAKA

- Cloeckaert A, Kerkhofs P, Limet JN. 1992. Antibody Response to Brucella Outer Membrane Proteins in Bovine Brucellosis: Immunoblot Analysis and Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using Monoclonal Antibodies. *J Clin Microbiol.* 30 (abstr.): 3168–3174.
- Fatchiyah. 2006. Polymerase Chain Reaction : Dasar Teknik Amplifikasi DNA dan Aplikasinya. Laboratorium Sentral Biologi Molekuler & Seluler. Universitas Brawijaya. Malang.
- Munir R. 2010. Outer Membrane Proteins of Brucella abortus Vaccinal and Field Strain and Their immune Response in Buffaloes. *Pak Vet J*, 2010, 30(2): 110-114.
- Salhi,I., R.A. Boigegrain J., Machold., C. Weise A., Cloeckaert B and Rout. 2003.Characterization of new members of the group 3 outer membrane protein family of Brucella spp.*Infect. Immun.* J. 71(8): 4326-4332.
- Suwarno. 2010. Polymerase Chain Reaction dan Aplikasi. Workshop Departemen Mikrobiologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.

MP-19

**RESISTENSI *Escherichia coli* O157: H7 YANG DIISOLASI DARI SAPI POTONG
IMPOR MELALUI PELABUHAN TANJUNG PRIOK TERHADAP ANTIBIOTIK**

Gigih Ikhtiari Erfianto^{1*}, Sriyanto², Trioso Purnawarman³, Hadri Latif³

¹Balai Besar Karantina Pertanian Soekarno-Hatta; ²Balai Besar Karantina Pertanian Tanjung Priok;
³Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, FKH IPB Jl. Agatis, Kampus
IPB Dramaga Bogor 16680

*Korespondensi: idhkipusat@yahoo.co.id

Kata kunci: *E. coli* O157:H7, resistensi antibiotik, sapi potong

PENDAHULUAN

Escherichiacoli (*E. coli*) secara alami merupakan bakteri komensal pada saluran pencernaan hewan maupun manusia. Bakteri ini juga berperan untuk mencegah organisme patogen di dalam saluran pencernaan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *E. coli* sebagai flora normal saluran pencernaan dapat menghambat pertumbuhan strain toksigenik *E. coli* lain yang berkaitan dengan penyakit *food-borne* pada manusia. Beberapa strain *E. coli* biasanya menjadi patogen karena adanya kemampuan patogenik dan virulen gen yang berada pada *transmissible genetic element*. Keadaan ini tidak bisa dibedakan dengan strain *E. coli* yang komensal (Ajayi *etal.* 2011). *E. coli* umumnya dipilih sebagai indikator bakteri Gram negatif yang mudah ditemukan dalam feses hewan dan sering diperoleh plasmid yang secara konjugasi dapat berpindah antar bakteri enterik lainnya. Keberadaan *E. coli* yang memiliki gen resisten terhadap antibiotik dapat menyebarkan gen tersebut secara horisontal ke bakteri zoonotik dan bakteri lain (EFSA dan ECDC 2013).

Shiga toxin-producing E. coli (STEC)O157 telah muncul sebagai tantangan baru di bidang kesehatan masyarakat semenjak munculnya outbreak pada tahun 1982 akibat mengkonsumsi daging sapi yang belum matang. *E. coli* O157:H7 dan O157:NM (*nonmotile*) dikenali sebagai agen utama penyebab *hemorrhagic colitis*(HC) dan *hemolytic-uremic syndrome* (HUS) pada manusia. Setiap tahun tidak kurang 73 400 orang mengalami sakit dan 60 orang meninggal dunia disebabkan oleh *E. coli* O157:H7 hanya di Amerika Serikat saja. Beberapa laporan terakhir juga menunjukkan bahwa telah terjadi peningkatan resistensi *E. Coli*O157 terhadap antibiotik (Schroeder *et al.* 2013).

Hewan ruminansia yang sehat terutama sapi diketahui dalam saluran pencernaannya merupakan reservoir bagi *E. coli* O157. Bentuk mutan dari *E. coli* yaitu *E. coli* O157: H7 biasanya ditemukan di saluran pencernaan ternak sapi, domba, kambing, babi, bahkan ayam. *E. coli* O157: H7 dalam saluran pencernaan hewan tidak menyebabkan hewan tersebut menderita sakit. Hewan yang dalam saluran pencernaannya terdapat *E. coli* O157: H7 maka hewan tersebut berperan sebagai carrier, yang dapat menyebarkan bakteri ini baik ke hewan lain maupun ke manusia (Andriani 2004).

Pemasukkan sapi potong melalui pelabuhan Tanjung Priok dapat berpeluang membawa *E. coli* O157: H7 yang resisten terhadap antibiotik tertentu. Keberadaan *E. coli* yang resisten terhadap antibiotik dapat berpotensi mentransferkan gen resisten tersebut ke bakteri lain terutama yang tergolong dalam *foodborne* bakteri dan apabila menginfeksi ke manusia dapat menyebabkan kerugian bagi kesehatan manusia, diantaranya adalah kegagalan pengobatan dengan antibiotik terhadap agen penyakit yang telah resisten. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan menguji tingkat resistensi *E. coli* O157: H7 yang berasal dari feses sapi potong yang diimpor melalui pelabuhan Tanjung Priok terhadap berbagai antibiotik.

MATERI DAN METODE

Isolasi dan identifikasi *E. Coli*. Pengujian yang dilakukan untuk isolasi *E. coli* adalah dengan menggunakan media pengencer *buffered phosphate water* (BPW) 0.1%, Mac Conkey agar, *eosin methylen blue* agar dan untuk konfirmasi biokimianya mengacu pada Standar Nasional Indonesia 2897 Tahun 2008 tentang Metode Pengujian Cemar Mikroba dalam

Daging, Telur dan Susu serta Hasil Olahannya (BSN 2008). Isolasi *E. coli* dilakukan dengan cara sampel sebanyak 25 gram dan diencerkan dengan larutan BPW 0.1% sebanyak 225 ml (1:9), selanjutnya dilakukan pengenceran secara berseri. Hasil pengenceran kemudian diambil sebanyak 1 ml untuk ditumbuhkan dalam 15-18 ml media Mac Conkey agar (MCA) dengan metode tuang. Biakan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Koloni dengan bentuk bulat, halus, berwarna merah, dan dikelilingi zona keruh diduga sebagai *E. Coli*. Isolat diduga *E. coli* dari media MCA kemudian ditumbuhkan pada media Agar Levine eosin methylene blue (L-EMBA) dengan metode gores. Biakan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Koloni dengan warna hijau metalik dengan titik hitam pada bagian tengah diidentifikasi sebagai *E. Coli*. *E. coli* positif pada media L-EMB kemudian dilakukan uji biokimia *sulfide indol motility* (SIM), *methyl red-Voges Proskauer* dan *citrate* (IMViC). Masing-masing tabung uji tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dengan hasil +++ atau ---. Isolat tersebut kemudian disimpan pada media *nutrient* agar (NA) miring sebagai bahan pengujian patogenitas dan kepekaan terhadap antibiotik.

Uji Patogenitas *E. Coli*. Pengujian yang dilakukan untuk mendeteksi *E. coli* yang patogen dilakukan dengan menumbuhkan isolat *E. coli* pada media agar darah untuk melihat hemolisis yang terjadi. Isolat *E. coli* ditumbuhkan dalam media agar darah dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 °C. Koloni yang melisis darah menunjukkan adanya zona bening diduga adalah *E. coli* yang patogen. Zona bening yang terlihat di sekitar koloni setelah 18 jam inkubasi pada suhu 37 °C dianggap sebagai hasil positif produksi hemolisin tipe β . Isolat yang menunjukkan hemolisis tipe β kemudian dilakukan pengujian terhadap serotipe isolat tersebut. Uji serotyping dilakukan di Balai Besar Penelitian Veteriner (BBalitvet). Pengujian ini dilakukan untuk konfirmasi lebih lanjut bahwa *E. Coli* yang menunjukkan hemolisis tipe β tersebut adalah *E. coli* O157: H7

Uji resistensi bakteri. Pengujian kepekaan bakteri *E. coli* terhadap antibiotik dilakukan dengan metode difusi cakram (*disc diffusion method*) dan interpretasi hasil mengacu pada *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI 2012). Agen antibiotik yang digunakan dalam pengujian ini adalah ampicillin, sefalotin, eritromisin, tetrasiklin, streptomisin, gentamisin, kloramfenikol, trimetoprim-sulfametoksazol, asam nalidiksida, dan enrofloksasin. Isolat bakteri ditentukan kepekaannya terhadap antimikrobia dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk. Penentuan sensitif (S), intermediet (I), dan resisten (R) ditentukan melalui ukuran zona hambat yang terbentuk berdasarkan rekomendasi standar CLSI. Kontrol positif yang dipergunakan dalam pengujian resistensi ini menggunakan isolat *E. coli* dari *American Type Culture Collection* (ATCC) tipe 25922. Isolat *E. coli* dari NA miring dipindahkan ke media NA dalam cawan petri dan diinkubasi dengan temperatur 35 °C selama 24 jam. Koloni diambil dengan menggunakan ose dan dipindahkan ke tabung yang berisi 5 ml NaCl fisiologis, kemudian dilihat kekeruhan yang terjadi hingga sama dengan kekeruhan pada larutan 0.5 McFarland. Larutan diambil 0.5 ml dan dimasukkan dalam cawan petri yang berisi media agar Muller Hinton dan diratakan. *Paper disk* yang mengandung antibiotik dimasukkan dalam agar Muller Hinton dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk.

Analisis Data. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan menyajikan hasil uji keberadaan *E.coli* O157: H7 pada feses sapi potong impor dan resistensinya terhadap antibiotik dalam bentuk tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi dan identifikasi bakteri diperoleh sebanyak 60 isolat *E. coli*. Keseluruhan isolat tersebut kemudian dilakukan uji patogenitas pada agar darah, dan diperoleh hanya 1 isolat yang menunjukkan hemolisis tipe β . Hasil pengujian serotyping terhadap 1 isolat menunjukkan bahwa *E. coli* tersebut tergolong dalam serotipe *E. coli* O157: H7. Hasil selengkapnya disajikan pada Tabel 1.

Hasil pengujian resistensi terhadap 10 jenis antibiotik menunjukkan hasil bahwa isolat *E. coli* O157: H7 telah resisten terhadap antibiotik eritromisin dan sefalotin, sedangkan terhadap antibiotik lainnya masih dinyatakan sensitif. Tidak ditemukan adanya interpretasi intermediet dari hasil pengujian. Hasil pengujian selengkapnya disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1 Hasil isolasi dan identifikasi *E. coli* O157: H7

Jumlah isolat	Isolat menunjukkan hemolisis tipe β	Hasil uji serotiping O157: H7	Keterangan
60	1	1	O157 (+2), H7 (+1)

Tabel 2 Hasil uji kepekaan antibiotik terhadap isolat O157: H7

Grup Antibiotik	Antibiotik	Standar interpretasi zona diameter zona hambat (mm)			Diameter hambat	interpretasi
		S	I	R ^a		
β -Laktam	Ampisilin	≥ 17	14-16	≤ 13	20.73	S
	Sefalotin	≥ 18	15-17	≤ 14	13.43	R
Aminoglikosida	Gentamisin	≥ 15	13-14	≤ 12	25.06	S
	Streptomisin	≥ 15	12-14	≤ 11	19,94	S
Fluorokuinolon	Enrofloksasin	≥ 23	17-22	≤ 16	35.36	S
	Asam Nalidiksida	≥ 19	14-18	≤ 13	24.88	S
Makrolida	Eritromisin	≥ 23	14-22	≤ 13	12.24	R
Fenicol	Kloramfenikol	≥ 18	13-17	≤ 12	25.56	S
Potentiated Sulfonamides	Trimethoprim-Sulfametoksasol	≥ 16	11-15	≤ 10	27.83	S
Tetrasiklin	Tetrasiklin	≥ 19	15-18	≤ 14	24.9	S

^a S : Sensitif I :Intermediet R : Resisten

Pengujian pembentukan hemolisin terhadap isolat *E. coli* yang diperoleh dimaksudkan untuk mengkonfirmasi patogenitas dari bakteri ini. Menurut Nugraha *et al* (2013), patogenitas *E. coli* dapat dikonfirmasi dengan sifatnya yang menghemolisis darah. Umumnya *strain E. coli* O157:H7 memiliki sebuah gen pengkode hemolisin yang terdapat pada plasmid dengan berat molekul 60-MDa yang lebih dikenal dengan istilah enterohemolisin. Gen ini hampir dijumpai pada semua *strain E. coli* O157:H7 (Suardana *et al* 2014). Pernyataan ini yang mendasari dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap isolat *E. Coli* yang menunjukkan hemolisis tipe β untuk melihat serotipe dari *E. coli* tersebut. Hasil yang diperoleh dari uji serotiping menunjukkan bahwa isolat *E. coli* tersebut termasuk dalam serotipe O157: H7. Hewan ruminansia dalam hal ini adalah sapi potong merupakan reservoir utama dari *E. coli* O157:H7. Prevalensi sheeding dari *E. coli* O157:H7 di Australia dilaporkan pernah mencapai 15% (Heller *et al.* 2013).

E. coli O157:H7 yang diuji telah resisten terhadap antibiotik dari jenis eritromisin dan sefalotin. Keadaan resisten terhadap eritromisin sering dijumpai pada bakteri *E. coli*. Resistensi ini dapat terjadi melalui beberapa mekanisme yang diperantarai oleh plasmid antara lain modifikasi reseptor atau target obat yang melibatkan gen *erythromycin resistance methylase* dan inaktivasi antibiotik (hidrolisis obat) oleh enzim esterase yang dihasilkan oleh *Enterobacteriaceae* termasuk *E. coli* (Krisnaningsih *et al.* 2005), selain itu eritromisin adalah agen antibiotik yang termasuk dalam golongan makrolida yang diperbolehkan untuk dicampur pada pakan sebagai *growth promotor* di Australia (Schipf 2012).

Isolat juga mengalami resistensi terhadap sefalotin. Sefalotin adalah antibiotik dari golongan β -laktam. Kemampuan bakteri menghasilkan enzim β -laktamase yang disandi oleh gen dalam plasmid faktor R dapat menyebabkan munculnya sifat resisten terhadap antibiotik dari golongan β -laktam (Krisnaningsih *et al.* 2005).

Pemakaian antibiotik sebagai *growth promotor* yang dicampur pada pakan atau air minum diduga berperan dalam munculnya kejadian resistensi ini. Konsentrasi antibiotika yang ditambahkan dalam pakan ternak merupakan dosis rendah yaitu berkisar 2.5-12.5mg/kg (ppm) terbukti dapat memacu terjadinya resistensi bakteri patogen dan bakteri komensal dalam saluran pencernaan (Noor dan Poeloengan 2005).

Sensitifitas *E. coli* O157:H7 masih ditemukan terhadap jenis antibiotik ampisillin, tetrasiklin, streptomisin, gentamisin, kloramfenikol, trimetoprim-sulfametoksasol, asam nalidiksida, dan

enrofloxacin termasuk cukup tinggi. Keadaan ini ditunjang dengan kebijakan pemerintah Australia yang melarang antibiotik dari jenis gentamisin, klorampenikol, dan golongan florokuinolon dipergunakan untuk campuran pakan (Schipp 2012). Masih sensitifnya *E. coli* O157:H7 terhadap sebagian besar jenis antibiotik dapat membuat pilihan pengobatan terhadap infeksi karena agen penyakit yang sama masih cukup banyak.

Keberadaan *E. coli* O157:H7 yang telah resisten terhadap antibiotik pada sapi potong yang masuk ke Indonesia perlu mendapat pengawasan tersendiri. *E. coli* O157:H7 yang berada pada saluran pencernaan apabila kurang tepat dalam penanganannya dapat mencemari lingkungan akibat kontaminasi feces atau mengkontaminasi daging pada saat proses pemotongan (Schroeder *et al* 2002). Kemampuan *E. coli* mentransfer gen resisten ke bakteri lain dapat menyebabkan meningkatnya kejadian resistensi antibiotik menjadi tanpa melalui penggunaan antibiotik (Maal-Bared *et al* 2013).

SIMPULAN

Hasil isolasi dan identifikasi bakteri dari feces sapi potong impor berhasil diisolasi bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) O157: H7, sehingga sapi potong yang masuk melalui pelabuhan Tanjung Priok dapat bertindak sebagai *carier E. coli* O157: H7. Pengujian resistensi yang dilakukan menunjukkan bahwa isolat *E. coli* O157: H7 telah mengalami resistensi terhadap agen antibiotik eritromisin dan sefalotin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepala BBKP Soekarno Hatta dan kepala BBKP Tanjung Priok atas dukungan moral dan material serta kesempatan yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajayi AO, Oluyeye AO, Olowe OA, Famurewa O. 2011. Antibiotik resistance among commensal *Escherichia coli* isolated from faeces of cattle in Ado-Ekiti, Nigeria. *J Anim Vet Adv*. 10(2):174-175.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2008. SNI 2897:2008 Tentang Metode Pengujian Cemar Mikrobial dalam Daging, Telur, dan Susu Serta Hasil Olahannya. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement*. West Valley (US): Clinical and Laboratory Standards Institute.
- [EFSA and ECDC] European Food Safety Authority dan European Centre for Disease Prevention and Control. 2013. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2011. *JEFS* 11(5):3196-3359
- Heller J, Lammers G, McConnel C. 2013. *E. coli* O157:H7 shedding in beef cattle. Beef forum presentation (AU). [Internet]. [diunduh 2013 September 13]. Tersedia pada: http://www.csu.edu.au/research/grahamcentre/downloads/Beef_Sheep_Presentations/2013/Beef-forum-presentation-JH-2013.pdf.
- Krisnaningsih MMF, Asmara W, Wibowo MH. 2005. Uji sensitivitas isolate *Escherichia coli* pathogen pada ayam terhadap beberapa jenis antibiotik. *J Sain Vet* 1: 13-18.
- Noor SM, Poeloengan M. 2005. Pemakaian antibiotik padat ernak dan dampaknya pada kesehatan manusia. *Prosiding lokakarya nasional keamanan pangan produk peternakan*. Bogor (ID): Puslitbang Peternakan. 18-22.
- Nugraha A, Besung NK, Mahatmi H. 2013. Kepekaan *Escherichia coli* patogen yang diisolasi dari babi penderita kolibasilosis terhadap antibiotik di Kecamatan Kerambitan dan Tebanan Kabupaten Tabanan, Bali. *JIKH* 1(2): 34-39.
- Rasha Maal-Bared R, Bartlett KH, Bowie WR, Hall ER. 2013. Phenotypic antibiotic resistance of *Escherichia coli* and *E. coli* O157 isolated from water, sediment and biofilms in an agricultural watershed in British Columbia. *Sci Tot Environ* 44: 315-323.
- Schroeder CM, Zhao C, DebRoy C, Torcolini J, Zhao S, White DG, Wagner DD, McDermott PF, Walker RD, Meng J. 2002. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from humans, cattle, swine, and food. *Appl Environ Microbiol* 68(2): 576-581

- Schipp M. 2012. Country report: Australia. Proceedings of the international workshop on the use of antimicrobials in livestock production and antimicrobial resistance in the Asia-Pacific region. Bangkok (TH). Animal Production and Health Commission for Asia and the Pacific (APHCA).6-17.
- Snell L. 2008. Isolation and identification of antibiotic-resistant bacteria from the intestinal flora of feedlot cattle and a measure of their efficacy for lateral Gene transfer. *Cantaurus*. 16:18-20.
- Suardana IW, Utama IH, Wibowo MH. 2014. Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 dari feses ayam dan uji profil hemolisisnya pada media agar darah. *J Kedok Hewan* 4(1): 1-5.

MP-20

VIRUS RABIES ISOLAT LOKAL STRAIN F-63 SEBAGAI BAHAN VAKSIN CAPRIVAC RBS DI INDONESIA

Suwarno^{1*}, Jola Rahmahani¹, Nugroho Sampurno², Dewi Nawang Palupi,
²Rosalia Ariyani², Djoko Mursinto²

¹Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga,

²PT. Caprifarmindo Laboratories Bandung

*Korespondensi: snow_arno@yahoo.co.id

Kata kunci: rabies, vaksin caprivac, isolat lokal

PENDAHULUAN

Rabies termasuk penyakit strategis, karena merugikan dari segi ekonomi dan kesehatan masyarakat. Di dunia diperkirakan terdapat 55.000 kasus kematian karena rabies pada manusia setiap tahunnya dan hampir 95% terjadi di kawasan Asia dan Afrika. Kematian akibat rabies hampir sekitar 60% terjadi di kawasan Asia Timur Selatan dan dari persentase tersebut diperkirakan terdapat 25.000 kasus kematian karena rabies. Kasus kematian tertinggi terjadi di India yaitu sekitar 19.000 kasus, Bangladesh 2.000 kasus, sedangkan di Myanmar, Nepal, Indonesia, Sri Lanka dan Thailand kurang dari 100 kasus setiap tahunnya.

Data Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, Kementerian Kesehatan, menyebutkan bahwa Indonesia merupakan negara kelima di Asia dengan jumlah korban rabies terbesar setelah India, China, Filipina dan Vietnam. Sampai saat ini tercatat sekitar 24 provinsi di Indonesia yang merupakan daerah endemis rabies. Sementara itu 9 provinsi yang masih bebas dari rabies adalah Bangka Belitung, Kepulauan Riau, DKI Jakarta, Jawa Tengah, Jawa Timur, DI Yogyakarta, Nusa Tenggara Barat, Papua Barat dan Papua.

Program vaksinasi dan atau eliminasi yang dilakukan oleh Pemerintah belum mampu mengatasi masalah. Beberapa faktor kendala, seperti topografi daerah, kultur masyarakat, dan cakupan vaksinasi yang terbatas, serta kemungkinan keterlibatan karnivora liar (rubah, serigala, musang, anjing hutan dan sebagainya) sebagai reservoir, menyebabkan sulitnya pengendalian. Evolusi virus yang mengarah pada terjadinya mutasi telah mengakibatkan perubahan nukleotida, sehingga strain virus rabies (Pasteur) dalam vaksin tidak lagi dapat melindungi terhadap tantangan strain alam. Penggunaan vaksin rabies isolat lokal akan lebih cocok dengan kondisi di Indonesia (Suwarno, 2005). Beberapa negara telah mengembangkan vaksin rabies dengan menggunakan isolat lokal (Chunha *et al.*, 2010). Penelitian ini menguji dan menganalisis virus rabies isolat lokal strain F-63 sebagai bahan vaksin CAPRIVAC RBS.

METODE

Metode penelitian yang dilakukan meliputi isolasi virus, kultivasi, karakterisasi protein, uji antigenitas, uji imunogenitas, karakterisasi genetik gen-N dan gen-G, homologi, identifikasi epitop, imunisasi pada anjing, pengujian antibodi dan protektivitas vaksin. Virus rabies strain F-63 diisolasi dari Tana Toraja pada tahun 2003.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan virus rabies strain F-63 tumbuh baik pada kultur sel neuroblastoma (NA) dan *baby hamster kidney* (BHK-21) yang dapat diidentifikasi dengan uji *fluorescence antibody technique* (FAT). Pada pasase ke-18 sampai ke-20 pada sel BHK-21 menunjukkan adanya kestabilan pertumbuhan virus. Hasil karakterisasi protein memperlihatkan protein-G dengan berat molekul (BM) 66,7 kDa, sedangkan protein-N dengan BM 56,2 kDa. Kedua protein secara antigenik mampu bereaksi secara spesifik terhadap antibodi anti-rabies dan secara imunogenik mampu menimbulkan antibodi pada hewan coba. Gambaran genetik menunjukkan gen-N dan gen-G dapat diamplifikasi dengan PCR, masing-masing dengan panjang 1047 dan 1053 bp. Berdasarkan susunan nukleotida, strain F-63 memiliki homologi terhadap strain virus rabies yang ada di Indonesia sekitar 99% (gen-N) dan 93% (gen-G).

Sementara itu jika dibandingkan dengan strain Pasteur tingkat homologi sebesar 84-85% pada gen N dan sebesar 82-83% pada gen-G. Berdasar analisis epitop T *helper* (Th) pada gen-N terdapat sedikit variasi genetik pada posisi nukleotida 404 – 418. Pada *antigenic site* I (posisi asam amino 231), II (asam amino 198-200) dan VI (asam amino 264) susunan nukleotida gen-G tidak banyak mengalami perubahan, baik pada strain F-63 maupun strain Pasteur. Variasi substitusi tunggal asam amino dapat memberikan perbedaan yang tajam terhadap patogenitas virus dan pola penyakit (Sato *et al.*, 2004).

Hasil imunisasi pada anjing menunjukkan terbentuknya respons imun humoral berupa antibodi netralisasi dan respons imun seluler dengan dihasilkannya IL-2 akan sangat membantu dalam mengeliminasi virus rabies. Interleukin-2 dapat menyebabkan proliferasi sel T dan B teraktivasi dan memperbanyak aktivitas sel NK. Interleukin-2 juga terbukti berperan penting dalam perlindungan terhadap infeksi virus rabies, jika diberikan sebagai adjuvan bersama dengan vaksin rabies. Injeksi IL-2 secara tersendiri dapat melindungi hewan dari infeksi virus rabies strain alam (Horowitz *et al.*, 2010). Titer antibodi yang dihasilkan lebih dari 0,5 IU/ml yang bertahan lebih dari 6 bulan. Anjing yang divaksin dengan Caprivac RBS dan dichallenge dengan virus ganas isolat VC menunjukkan protektivitas sebesar 100%, sedangkan yang tidak divaksinasi nilai protektivitasnya nol.

SIMPULAN

Vaksin CAPRIVAC RBS berisi virus rabies strain F-63 mampu menimbulkan antibodi rabies dengan titer antibodi tinggi yang bersifat protektif. Vaksin CAPRIVAC RBS mampu menimbulkan protektivitas terhadap *challenge* virus rabies ganas dengan nilai 100%.

DAFTAR PUSTAKA

- Chunha EMS, Nassar AFC, Lara MCCSH, Villalobos ECM, Sato G, Kobayashi Y, Shoji Y, Itou T, Sakai T, Ito FH. 2010. Pathogenicity of different rabies virus isolates and protection test in vaccinated mice. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 52 (5) : 231-235.
- Horowitz, A., RH Behrens, L Okell, AR Fooks, and EM Riley. 2010. NK Cells as effectors of acquired immune responses: effector CD4+ T cell-dependent activation of NK cells following vaccination. *J Immunol* 185 : 2808-2818.
- Sato G, Itou T, Shoji Y, Miura Y, Mikami T, Ito M, Kurane I, Samara SI, Carvalho AA, Naciti DP, Ito FH, Sakai T. 2004. Genetic and phylogenetic analysis of glycoprotein of rabies virus isolated from several species in Brazil. *J Vet Med Sci* 66(7): 747-753.
- Suwarno 2005. Karakterisasi Molekuler Protein Serta Gen Penyandi Nukleoprotein Dan Glikoprotein Virus Rabies Dari Beberapa Daerah Geografik Di Indonesia. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

MP-21

REALISASI SWASEMBADA DAGING SAPI: PEMEBABASAN BRUCELLOSIS PADA SAPI POTONG DI JAWA TENGAH TAHUN PERTAMA

Bambang Sumiarto¹, Widagdo Sri Nugroho¹, Guntari Titik Mulyani²

¹Bagian Kesmavet, ²Bagian Ilmu Penyakit Dalam FKH UGM,
Jl. Fauna 2 Karangmalang Yogyakarta 55281

*Korespondensi: untari@ugm.ac.id

Kata kunci: pembebasan, *Brucellosis*, sapi, Jawa Tengah

PENDAHULUAN

Program swasembada daging sapi telah dicanangkan selama dua periode 5 tahunan, dan terakhir ditargetkan tercapai tahun 2010, namun belum berhasil. Selanjutnya dicanangkan program swasembada daging sapi dan kerbau yang diharapkan dicapai pada tahun 2014. Dalam kebijakan bidang kesehatan hewan, Pemerintah melalui bantuan Direktorat Jenderal Peternakan No. 59 tahun 2007 telah menetapkan brucellosis sebagai salah satu penyakit strategis yang harus ditangani. Pertimbangan eksternalitas penyakit ini menyangkut dampak kerugian ekonomi yang dapat ditimbulkan, perdagangan yang terhambat, dan kemungkinan meluasnya dari daerah tertular ke daerah bebas. Kerugian ekonomi di Indonesia akibat Brucellosis menurut Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan hewan mencapai 476,5 milyar rupiah setiap tahun akibat tingginya angka keguguran, infertilitas, sterilitas, kematian dini pedet yang lahir lemah, dan penurunan produksi susu. Brucellosis adalah penyakit hewan menular yang secara primer menyerang sapi, kambing, babi, dan secara sekunder menyerang berbagai jenis hewan lainnya serta manusia. Penyakit ini pada sapi dikenal sebagai penyakit *keluron menular* atau penyakit *Bang* disebabkan oleh bakteri *Brucella abortus* (Riechey dan Harell 1997). Provinsi Jawa Tengah sebagai daerah endemik, dapat menularkan brucellosis ke daerah lain. Pada tahun 2012 kejadian brucellosis masih tinggi yakni mencapai 43,4%. Dari data tersebut mengindikasikan bahwa brucellosis masih merupakan penyakit yang secara serius harus ditangani. Surveilans aktif dan pasif yang dilakukan secara rutin merupakan syarat dasar dalam pembebasan suatu penyakit hewan menular (Sumiarto, 2010).

METODE

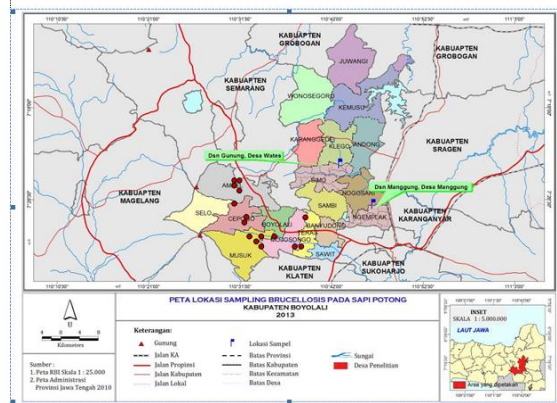
Unit sampling penyidikan adalah sapi potong dan peternak sapi potong yang diambil secara rambang dari 9 kabupaten, yaitu kabupaten Temanggung, Magelang, Purworejo, Karanganyar, Wonogiri, Grobogan, Klaten, Boyolali, dan Purbalingga. Dengan asumsi prevalensi 22,4% (DKI, 2012), konfidensi 95%, dan *allowable error* 5%, diambil 1112 sampel sapi potong. Disamping 1112 sampel, diambil juga 381 sampel sapi di kabupaten Boyolali oleh Tim Dinas Peternakan Jawa Tengah, sehingga total mencapai 1497 sampel. Diagnosa brucellosis menggunakan *Rose Bengal Test* (RBT), reaktor positif RBT diuji secara seri dengan *Complement Fixation Test* (CFT) Reaktor positif CFT dianggap sebagai penderita Brucellosis. Variabel penyidikan mencakup diri peternak, informasi individu ternak, cara beternak, asal sapi, cara perkawinan, performa reproduksi sapi betina, dan status vaksinasi. Data yang diperoleh kemudian ditabulasikan ke dalam *data base* dan dianalisis dengan program *statistix for windows*. Data dianalisis secara diskriptif, prevalensi brucellosis tingkat ternak dan peternakan, asosiasi variabel faktor risiko terhadap brucellosis, dan peta kasus dan sampel brucellosis di provinsi Jawa Tengah untuk diambil kesimpulannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang diperoleh dari penelitian adalah 1497 ekor yang berasal 9 kabupaten di provinsi Jawa Tengah. Dari 1497 sampel, 1 sampel dari kabupaten Grobogan dan 46 sampel dari kabupaten Boyolali memberikan hasil positif pada pemeriksaan RBT (3,1%). Dari 47 sampel yang positif RBT, 1 sampel memberikan hasil positif pada pemeriksaan CFT (2,1%). Karena CFT dan RBT sangat parallel, maka Karena CFT dan RBT sangat parallel, maka sebaiknya semua reaktor RBT dianggap sebagai pengidap brucellosis aktif untuk kepentingan

pengendalian. semua reaktor RBT dianggap sebagai pengidap brucellosis aktif untuk kepentingan pengendalian.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa prevalensi reaktor brucellosis pada sapi di provinsi Jawa Tengah adalah 3,1%. Faktor risiko penular brucellosis pada sapi potong di provinsi Jawa Tengah adalah peternakan sapi perah, cara perkawinan dengan inseminasi buatan, asal ternak, dan gangguan reproduksi. Frekuensi distribusi jenis sapi yang dipelihara di provinsi Jawa Tengah menunjukkan bahwa jenis sapi yang dipelihara 96,3% sapi potong saja dan 3,7% campuran sapi potong dan perah. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sapi perah merupakan reservoir Brucellosis (Anonim, 2008), dengan terambilnya sampel pemeliharaan sapi yang dicampur sapi potong dan sapi perah merupakan risiko tertular brucellosis pada sapi potong dari sapi perah. Menurut Sentra sapi perah di provinsi Jawa Tengah merupakan penular Brucellosis pada sapi potong. Sebanyak 74,8% sapi diperoleh dari beli di pasar dan atau tetangga. Dan terbukti di kabupaten Purwodadi bahwa 1 ekor positif adalah sapi yang berasal beli di pasar yang tidak diketahui asalnya. Sapi baru yang berasal dari daerah endemik brucellosis merupakan *entry point* masuknya penyakit pada peternakan. Tingkat keluron pada sapi di Jawa Tengah, yakni sering keluron sebanyak 3,4% dan pernah keluron 7,4%. Hasil penelitian Laboratorium Kesehatan Hewan DKI Jakarta menyatakan bahwa brucellosis berasosiasi dengan keluron lebih dari 4,5 x dibandingkan dengan sapi yang tidak menderita brucellosis. Data tahun 2007 menunjukkan angka ini 2,3 kali (Anonim, 2008). Peta reaktor brucellosis pada sapi di Boyolali kab. Jawa Tengah di disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Peta reaktor brucellosis pada sapi di kabupaten Boyolali, 2013

KESIMPULAN

Prevalensi reaktor brucellosis pada sapi di provinsi Jawa Tengah adalah 3,1%. Faktor risiko penular Brucellosis pada sapi potong di provinsi Jawa Tengah adalah peternakan sapi perah, kawin IB, asal ternak, dan gangguan reproduksi. Sentra peternakan sapi perah di provinsi Jawa Tengah sebagai penular Brucellosis pada sapi potong.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan Penelitian Prioritas Nasional Masterplan Percepatan dan Perluasan Pembangunan Ekonomi Indonesia 2011-2025 (PENPRINAS MP3EI 2011-2025) yang didanai oleh Dirjen Pendidikan Tinggi pada tahun 2013. Penelitian juga didukung oleh Dinas Peternakan Provinsi Jawa Tengah.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim 2008. Surveilans Brucellosis pada Sapi Perah di provinsi DKI Jakarta. UPT Laboratorium Kesehatan Hewan. Dinas Peternakan, Perikanan, dan Kelautan DKI Jakarta.
- Nicoletti P. 1980. The Epidemiology of Bovine Brucellosis. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine*, 24: 69-55
- Riechey JE, Harell CD. 1997. *Brucella abortus Disease (brucellosis) in Beef cattle*. <http://hammock.ifas.ufl.edu>. (02/13/2009 8:18 pm).
- Rompis ALT. 2002. Epidemiologi *Bovine brucellosis* dengan Penekanan pada Kejadian di Indonesia. *J Vet* 3 (4): 155-163.
- Sumiarto B. 2010. Risiko Impor Hewan dan Produk Hewan dari Zona Bebas-Negara Endemik Penyakit Hewan Menular. Pertemuan Nasional Karantina

MP-22

EFEKTIVITAS IVERMECTIN DENGAN KOMBINASI AMITRAZ UNTUK PENGobatan INFESTASI DEMODEKOSIS ALAMI PADA ANJING

I Ketut Puja*

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Denpasar-Bali

*Korespondensi: asubali@hotmail.com

Kata kunci: demodekosis, anjing, ivermectin, amitraz

PENDAHULUAN

Demodekosis adalah penyakit inflamasi parasitik yang umum pada anjing yang ditandai dengan terdapatnya dalam jumlah banyak tungau demodex pada folikel bulu dan kelenjar sebaceus. Demodekosis merupakan salah satu penyakit parasitik penting pada kulit. Ada tiga tipe demodek yakni demodex canis, demodex injai, dan demodex cornei. Demodex canis, adalah tipe klasik yang diperkirakan merupakan flora normal pada folikel bulu dan kelenjar sebaceus. Demodex injai adalah tipe demodek yang ukurannya panjang dan hidup pada folikel bulu. Demodex cornei adalah tipe yang ukurannya paling pendek dan hidupnya pada permukaan kulit. Gejala demodekosis adalah kemerahan, alopecia, dan berkerak.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengevaluasi patogenesis dan terapi untuk demodekosis namun sampai saat ini masih menjadi masalah. Berdasarkan luasan lesinya, demodekosis dibedakan menjadi lokal dan menyeluruh. Pengertian lokal dan menyeluruh masih menjadi perdebatan. Beberapa laporan menyebutkan bahwa demodekosis menyeluruh ditandai dengan jumlah lesi berkisar dari empat sampai 50% dari tubuh anjing. Bila lesi tidak melebihi empat lesi maka disebut dengan demodekosis lokal. Ada beberapa obat yang dapat direkomendasikan untuk pengobatan demodekosis. Ivermectin direkomendasikan untuk injeksi secara subkutan sekali seminggu, amitraz digunakan untuk dimandikan. Demodekosis mudah didiagnosis, namun sulit untuk mengobati. Karena itu dirancang sebuah studi untuk mengetahui efikasi ivermectin yang dikombinasi dengan amitraz.

METODE

Penelitian ini dirancang untuk mengevaluasi efikasi ivermectin dikombinasikan dengan amitraz untuk pengobatan infestasi demodekosis alami. Sebanyak 61 ekor anjing dari berbagai ras (Pittbul = 28 ekor, Golden retriever = 8 ekor, German Shepherd = 3 ekor, Rotweiler = 7 ekor, Doberman = 1 ekor, Pomeranian = 6 ekor, ras campuran = 8 ekor dengan umur berkisar dari 5 sampai 15 bulan. Anjing yang digunakan telah dinyatakan positif melalui pemeriksaan kerokan kulit. Anjing yang positif demodek diobati dengan ivermectin (IVOMEC SUPER^R) yang disuntikan secara subkutan setiap minggu sekali dengan dosis 300 ug/kg BB dan pada lesi digosok dengan larutan Amitraz 12,5% (4 ml/1liter air) setiap hari. Pada minggu kelima, anjing penderita diperiksa kembali tungaunya, bila pada kerokan kulit masih ditemukan maka pengobatan dilanjutkan sampai minggu ke enam. Setelah tidak diketemukan tungau, pengobatan dianggap berhasil bila setelah dua bulan tidak lagi ditemukan lesi dan tungau

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kesembuhan anjing penderita terjadi pada pengobatan minggu keempat sampai keenam. Sebanyak 57 ekor anjing penderita yang dapat diamati sampai minggu keenam, sedangkan 4 ekor anjing penderita tidak melanjutkan pengobatan. Dari 57 ekor yang dapat dipantau, hanya 51 ekor anjing yang dapat diperiksa sampai 2 bulan berikutnya. Sebanyak 6 ekor anjing penderita telah dijual. Lesi tampak mengering dan pada pemeriksaan kerokan kulit sudah tidak ditemukan lagi tungau Demodex canis. Dari 51 ekor anjing penderita tersebut, 42 ekor kategori demodekosis lokal dan 9 ekor kategori berkembang ke arah general. Pada penderita demodekosis lokal tersebut kesembuhan telah terjadi pada minggu keempat dan penderita yang berkembang ke arah general terjadi pada minggu ke enam. Jadi terjadinya kesembuhan tergantung pada bentuk demodekosisnya.

Kesembuhan anjing penderita demodekosis dengan pengobatan ivermectin dikombinasikan dengan amitraz terjadi pada minggu keempat pada kejadian kategori demodekosis lokal, sedangkan pada penderita kategori berkembang ke arah general terjadi pada minggu keenam. Indikator yang digunakan menilai kesembuhan ini adalah tidak ditemukannya parasit demodek pada kerokan kulit. Adanya perbedaan waktu kesembuhan disebabkan karena tingkat infeksi pada kulit. Pada penelitian ini dapat dilihat bahwa kemampuan Ivermectin yang diperkuat dengan amitraz telah mampu membunuh parasit demodek pada anjing tersebut.

Ivermectin (IVOMEK SUPER²) digunakan dalam pengobatan demodekosis ini karena Ivermectin merupakan obat anti parasit berspektrum luas. Ivermectin bekerja melepas GABA (Gamma Amino Butyric Acid) yang mencegah neurotransmitter, sehingga menyebabkan paralisa. Pada pengobatan tungau, ivermectin tidak dapat membunuh telur, sehingga harus dilakukan berulang sesuai dengan interval dan dosis. Pengulangan dengan interval waktu 7 hari selama 4 minggu telah mampu membunuh parasit.

Amitraz merupakan insektisida yang kerjanya menghambat monoamine oxidase (monoamine oxidase inhibitor, MAO). Penggunaan amitraz pada kasus demodekosis merupakan salah satu bentuk terapi yang banyak dianjurkan. Karena telah terbukti efektif. Rekomendasi konsentrasi amitraz adalah 0,025 sampai 0,06%. Umumnya pengobatan sekali seminggu atau 2 kali seminggu. Namun pada beberapa kasus terutama pada anjing tua, pengobatan dengan amitraz perlu dilakukan setiap hari. Berdasarkan pengetahuan ini penggunaan amitraz pada penelitian ini dilakukan setiap hari dengan dosis 0,03%. Obat ini merupakan satu-satunya obat yang disetujui oleh FDA (Food and Drug Administration) untuk menangani demodekosis.

Kejadian infeksi demodikosis dapat terjadi pada anjing semua umur, khususnya pada anjing muda dan anakan sangat sering terjadi. Infeksi dapat menyerang semua ras. Pada penelitian ini kebanyakan diderita oleh anjing Pitbull. Terjadi penyebaran yang lebih cepat pada anjing jenis anjing ini. Kemungkinan penyebabnya adalah bulu anjing yang pendek dan seringnya anjing Pitbul kontak dengan anjing Pitbul penderita lainnya.

SIMPULAN

Infeksi demodekosis pada anjing dapat disembuhkan dengan penyuntikan Ivermectin dengan dosis 300 ug/kg BB dikombinasi dengan pemberian Amitraz 12,5%.

DAFTAR PUSTAKA

- Mueller RS, Emmanuel BE, Ferrer L., Holm B, Lemarie S,Paradis M, Shipstone MA, 2012. Treatment of demodicosis in dogs: 2011 clinical practice Guidelines. *Vet Dermatol*, 23:86–98.
- Nwoha RIO. 2011. Demodecosis In A Dog. *Afr J Clin Exper Microbiol* 12(3): 133-135
- Singh SK, Kumar M, Jadhav RK, Saxena SK. 2011. An update on therapeutic management of canine demodicosis. *Vet World*, 4 (1):41-44.
- Sivajothi S, Sudhakara RB, Nalini KK, Rayulu VC. 2013. Morphometry of demodex canis and demodex cornei in dogs with demodicosis in India. *Int J Vet Health Sci Res*. 1(3).

MP-23

POTENSI LOGAM NANO-KOBALT SEBAGAI OBAT ANTI SURRA PADA TERNAK

Umi Cahyaningsih^{1*}, April Hari Wardhana², Nurul Taufiqu Rochman³, Deni Noviana⁴,
Arifin Budiman Nugraha¹, Mokhamad Fakhru Ulum⁵

¹Bagian Parasitologi dan Entomologi Kesehatan; Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor INDONESIA,

²Balai Besar Penelitian Veteriner (BBalitvet) Bogor INDONESIA,

³Bagian Metallurgi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Puspiptek Serpong INDONESIA,

⁴Bagian Bedah dan Radiologi; Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor INDONESIA

⁵Bagian Reproduksi dan Kebidanan; Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor INDONESIA

*Korespondensi: umicahyaningsih@yahoo.co.id

Kata kunci: *Trypanosoma evansi*, nano cobalt, anti Surra, *in vitro*

PENDAHULUAN

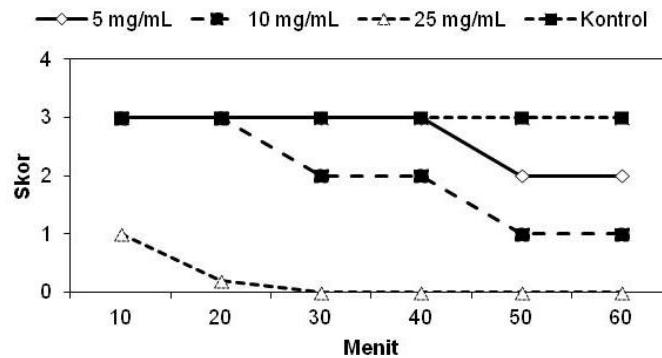
Wabah Surra (*Trypanosoma evansi*) telah melumpuhkan perekonomian dunia peternakan nasional sehingga swasembada daging nasional tidak mampu tercapai. Surra merupakan penyakit yang disebabkan oleh parasit protozoa dalam pembuluh darah dan menyebabkan kematian pada ternak (Taylor *et al.*, 2007). Ketersediaan obat anti-Surra dipasaran sangat sulit didapat dan efektifitas yang dimilikinya masih belum optimal. Obat tersebut selain sudah tidak tersedia dipasar, ternyata tidak efektif, hanya memberikan kesembuhan sementara dan Surra muncul kembali setelah pengobatan dihentikan. Pengembangan material baru sebagai bahan baku obat sangat perlu dilakukan untuk menghasilkan obat yang efektif dan efisien untuk penanganan wabah Surra dilapang. Penelitian ini ditujukan untuk mengembangkan dan mengetahui efek trypanosidal dari potensi logam kobalt berukuran nano (nano-Co) terhadap *Trypanosoma evansi* (*T. evansi*) secara *in-vitro*.

METODE

Perbanyakkan *T. evansi* isolat Madura (sangat patogen) pada mencit. Hasil perbanyakkan digunakan untuk uji efek trypanosidal dari logam kobalt berukuran nano (nano-Co) yang dibuat secara zero valen menggunakan etanol dan sodium borohidrat (Deneva, 2010). Sebanyak 80 mL larutan darah yang ditambahkan buffer glukosa (PBSG) yang mengandung sekitar 20 - 25 *T. evansi* dimasukkan ke dalam sumur kultur sel dan ditambahkan 20 mL larutan nano-Co dengan konsentrasi masing-masing 5, 10, dan 25 ug/mL (n=5). Inkubasi dilakukan pada suhu 36 °C selama 10 menit dengan homogenisasi otomatis. Pengamatan dilakukan setiap 10 menit selama 60 menit dengan sistem skoring. Skor yang digunakan adalah +3 (*T. evansi* bergerak aktif yang ditandai dengan gerakan flagela yang sangat cepat), +2 (*T. evansi* lemas yang ditandai dengan gerakan flagela yang cenderung lambat), +1 (sebagian besar *T. evansi* lemas dan beberapa diantaranya mati (flagela tidak bergerak)) dan 0 (seluruh *T. evansi* mati yang ditandai dengan tidak adanya gerakan flagela).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 1 menunjukkan efek trypanosidal logam nano-Co pada *T. evansi* (isolat Madura) secara *in-vitro*. Hasil uji menunjukkan dosis efektif logam nano-Co adalah 25ug/mL yang mampu mematikan *T. evansi* pada menit ke-10 sebanyak 50%. Sedangkan dosis 10 ug/mL baru tercapai IC₅₀ pada menit ke-50 dan dosis 5 ug/mL belum menunjukkan efektifitas hingga menit ke-60.



Gambar 1. Uji efek trypanosidal logam nano-Co pada *T. evansi* isolat Madura

Kobalt merupakan logam inorganik yang memiliki potensi sebagai obat anti penyakit Chagas (Demoraa *et al.*, 2010). Chagas merupakan penyakit tidur pada manusia yang disebabkan oleh parasit *T. cruzi* yang dapat terapi melalui sediaan ikatan kompleks antibiotika dengan logam kobalt (Chohan *et al.*, 2014). Hasil penelitian ini terlihat bahwa potensi kobalt dapat dimanfaatkan sebagai material bahan baku obat anti-Surra yang disebabkan oleh *T. evansi* dan banyak menyerang pada ternak.

SIMPULAN

Logam kobalt berukuran nano (nano-Co) mampu membunuh *T. evansi* secara *in-vitro* sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan aktif obat anti-Surra.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh program KKP3N dari Litbang Deptan Republik Indonesia dengan nomor kontrak 704/LB.620/I.1/2/2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Taylor MA, Coop RL, Wall RL. 2007. Veterinary parasitology. 3rd edition. Blackwell: USA.
- Deneva M. 2010. Infrared spectroscopy investigation of metallic Nanoparticles based on copper, cobalt, and nickel Synthesized through borohydride reduction method (review), Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy, 45(4): 351-378.
- Demoraa B, Carusob F, Rossic M, Benítezd D, Gonzalezd M, *et al.*, 2010. Risedronate metal complexes potentially active against Chagas disease. Journal of Inorganic Biochemistry, 104(12): 1252–1258
- Chohan ZH, Hernandez MZ, Sensato FR, Moreira DRM, Pereira VRA, *et al.*, 2014. Sulfonamide–metal complexes endowed with potent anti-Trypanosoma cruzi activity. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 29(2): 230-236.

MP-24

STUDI INFESTASI EKTOPARASIT PADA ANJING DI PONDOK PENGAYOM SATWA JAKARTA

Grady Priasdhika, Upik Kesumawati Hadi*

Bagian Parasitologi dan Entomologi Kesehatan, Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan
Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor

*Korespondensi: upikke@gmail.com

Kata kunci: ektoparasit, anjing, pondok pengayom satwa

PENDAHULUAN

Dalam memelihara hewan kesayangan, seringkali timbul masalah yang berkaitan dengan penyakit hewan. Masalah yang sering muncul adalah adanya gangguan ektoparasit. Ektoparasit yang sering ditemukan pada anjing adalah caplak (*Rhipicephalus sanguineus*), kutu (*Trichodectes canis*), tungau (*Sarcoptes scabiei*), dan pinjal (*Ctenocephalides felis*). Tempat penitipan anjing menjadi alternatif pemilik jika mereka terlalu sibuk sehingga takut tidak dapat mengurus peliharannya. Tempat penitipan maupun penampungan menjadi tempat yang cocok untuk populasi ektoparasit menyebar antar anjing. Populasi ektoparasit yang sedikit tidak terlalu mengganggu hewan. Namun, bila terus berkembangbiak dan jumlahnya bertambah banyak, maka hewan akan terlihat terganggu. Upaya penanggulangan ektoparasit yang sering dan mudah dilakukan adalah sanitasi lingkungan dan penggunaan bahan kimawi (insektisida).

Penelitian ini bertujuan mengetahui besarnya kasus infestasi ektoparasit pada pasien anjing di Pondok Pengayom Satwa Jakarta (PPSJ). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang kasus infestasi ektoparasit pada anjing dan dapat dijadikan sumber acuan dalam penanganan kasus yang berkaitan dengan ektoparasit.

METODE

Penelitian dilaksanakan di Pondok Pengayom Satwa, Ragunan, Jakarta Selatan dari bulan Juli sampai Agustus 2014 dengan mengumpulkan data sekunder yang berasal dari rekam medik pasien anjing yang terinfestasi ektoparasit di PPSJ dari 2009 sampai 2013. Ektoparasit yang tercatat pada rekam medik tidak spesifik terhadap jenis ektoparasit tertentu. Beberapa catatan rekam medik menunjukkan adanya infestasi caplak, tungau, pinjal, dan kutu. Data kasus ektoparasit diidentifikasi dari seluruh pasien anjing yang datang dan dihitung prevalensinya, lalu kasus infestasi ektoparasit dianalisis berdasarkan jenis/ras, umur, dan jenis kelamin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data rekam medik yang ada di PPSJ tertulis tidak spesifik di mana ektoparasit yang dicatat beberapa ditulis sebagai ektoparasit tanpa menuliskan spesies ektoparasit seperti caplak, pinjal, kutu, dan tungau. Beberapa catatan rekam medik terlihat infestasi caplak sering terjadi dibandingkan dengan ektoparasit lain. Rata-rata dari tahun 2012–2013, kasus infestasi oleh caplak sebesar 41.96%, kutu 23.94%, pinjal 21.48%, dan tungau 12.63%.

Data rekam medik pasien yang diperoleh dari PPSJ pada bulan Januari 2009 sampai Desember 2013 menunjukkan prevalensi infestasi ektoparasit sebesar 15.47% (538/3478). Hal ini menunjukkan bahwa infestasi ektoparasit sering terjadi pada anjing. Infestasi ektoparasit pada pasien anjing di PPSJ pada tahun 2009 sampai 2013 berdasarkan jenis kelamin didominasi oleh anjing jantan dengan jumlah 307 ekor (8.83%) dan anjing betina 231 ekor (6.64%). Faktor yang menyebabkan anjing jantan banyak terinfestasi caplak mungkin karena tingkah laku anjing jantan yang lebih aktif dan agresif. Anjing jantan lebih sering dijadikan sebagai anjing penjaga dan sebagai pemacak sehingga kontak dengan anjing lain sering terjadi. Menurut Broom dan Fraser (2007) hewan jantan memiliki sifat yang lebih dominan dibandingkan hewan betina, hal ini ditunjukkan dalam perilaku seperti *mounting*, mengendus-endus, dan berkelahi untuk memperebutkan wilayah.

Data rekam medik menunjukkan anjing ras merupakan pasien yang paling banyak terinfestasi ektoparasit dengan jumlah sebanyak 325 ekor (9.34%), diikuti anjing *mix* sebanyak 108 ekor (3.10%), dan anjing lokal 105 ekor (3.02%). Tingginya prevalensi pada anjing ras mungkin disebabkan banyaknya pemilik anjing yang memilih anjing ras sebagai peliharaan. Menurut James-Rugu (2000) perbedaan derajat infestasi ektoparasit diantara jenis anjing berkaitan dengan sistem imun dan gen anjing. Infestasi ektoparasit yang dapat menyebabkan penyakit kulit pada umumnya disebabkan karena kurangnya pemilik memperhatikan perawatan dan kesehatan hewan peliharaannya, sehingga ektoparasit dapat berkembang dengan baik (Muller dan Kirk 1976).

Data rekam medik di PPSJ tahun 2009 sampai 2013 menunjukkan jumlah pasien anjing yang terinfestasi ektoparasit paling tinggi pada anjing berumur >1 tahun sebanyak 311 ekor (8.94%) dan ≤1 tahun sebanyak 227 ekor (6.53%). Anjing berumur tua banyak terinfestasi ektoparasit kemungkinan berkaitan dengan sistem kekebalan tubuh anjing. Anjing yang sudah tua akan mengalami penurunan sistem kekebalan dibandingkan dengan anjing yang masih muda karena adanya antibodi maternal. Menurut Radji (2010) faktor yang mempengaruhi sistem imun adalah usia, semakin tua usia, maka akan semakin berkurang kemampuan sistem imun untuk memproduksi antibodi.

SIMPULAN

Dari data keseluruhan sejak Januari 2009 sampai Desember 2013 terdapat 538 kasus ektoparasit dari 3478 pasien anjing di PPSJ. Prevalensi infestasi ektoparasit rata-rata 15.43% per-tahun. Jenis ektoparasit yang menyerang anjing berdasarkan rekam medik tahun 2012 sampai 2013 adalah caplak (41.96%), kutu (23.94%), pinjal (21.48%), dan tungau (12.63%). Berdasarkan jenis kelamin, anjing jantan lebih banyak (8.83%) terinfestasi ektoparasit daripada yang betina (6.64%). Berdasarkan ras, anjing dengan ras murni paling banyak (9.34%) terinfestasi ektoparasit, diikuti oleh ras campuran (*mix*) (3.10%), dan lokal (3.02%). Sementara itu berdasarkan umur, anjing berumur >1 tahun paling banyak (8.94%) terinfestasi ektoparasit daripada umur ≤1 tahun (6.53%).

DAFTAR PUSTAKA

- Broom DM, Fraser AF. 2007. *Domestic Animal Behaviour and Welfare*. Cambridge (UK): CAB International.
- James-Rugu NN. 2000. A survey of ticks and tick borne parasites of sheep and goats from Bassa Local Government Area of Plateau State, Nigeria. *J Pure Appl Sci*. 1:35–43.
- Muller GH, Kirk RW. 1976. *Small Animal Dermatology*. Philadelphia (US): WB Saunders.
- Radji M. 2010. *Immunologi dan Virologi*. Jakarta (ID): ISFI Pr.

MP-25

EFEKTIFITAS PENYEMPROTAN BEBERAPA BAHAN AKTIF PESTISIDA TERHADAP *Boophilus microplus*, VEKTOR PENYAKIT BABESIOSIS DAN ANAPLASMOSIS PADA SAPI

Uti Ratnasari Herdiana*, Winda Rahmawati, Ika Suharti, Julia Rosmaya Riasari, ⁵Surati

Balai Uji Terap Teknik dan Metode Karantina Pertanian Jl. Raya Kampung Utan – Setu Cikarang Barat
Bekasi 17520

*Korespondensi: uti_rsh@yahoo.co.id

Kata kunci: pestisida, *Boophilus microplus*, sapi

PENDAHULUAN

Babesiosis dan Anaplasmosis sangat merugikan peternakan sapi perah dan sapi pedaging karena menyebabkan demam, anemia akibat kerusakan eritrosit, penurunan produksi susu dan kematian. Babesiosis dan Anaplasmosis adalah penyakit yang disebabkan oleh protozoa yang merupakan parasit darah yang dapat ditularkan oleh caplak sapi *Boophilus microplus* (Astyawati, 1987).

Boophilus microplus adalah jenis ektoparasit caplak tergolong akari yang merupakan masalah penting karena dapat menyebarkan penyakit, menimbulkan gangguan kesehatan dan kerugian ekonomi pada ternak. Caplak tersebut dapat merusak kulit, dan khususnya dapat berperan sebagai vektor penyebab penyakit Babesiosis dan Anaplasmosis (Seddon, 1976).

METODE

Untuk aplikasi insektisida secara *Invitro* (skala laboratorium), menggunakan larva caplak dibagi menjadi 16 kelompok. Setiap kelompok terdiri 20 ekor larva yang berusia \pm 1-5 hari. Konsentrasi larutan insektisida yang digunakan masing-masing adalah 2 gr/l, 1,5 gr/l, 1 gr/l, dan 0,5 gr/l. Satu kelompok lain merupakan kontrol. Untuk aplikasi insektisida pada sapi sebagai host spesifik (aplikasi lapang), Sebanyak 24 ekor sapi dibagi dalam 8 kelompok. Konsentrasi larutan insektisida yang digunakan masing-masing adalah menggunakan dua konsentrasi yang efektif diuji di laboratorium, dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Satu ekor sapi digunakan sebagai kontrol. Aplikasi penghitungan caplak pada sapi dilakukan terhadap empat (4) regio, yaitu: daerah leher, punggung, abdomen (perut), dan kaki, dimana pada masing-masing regio penghitungan dibatasi dengan waktu maksimal 2 menit, dengan tujuan untuk keseragaman penghitungan (Hadi dan Rusli, 2006).

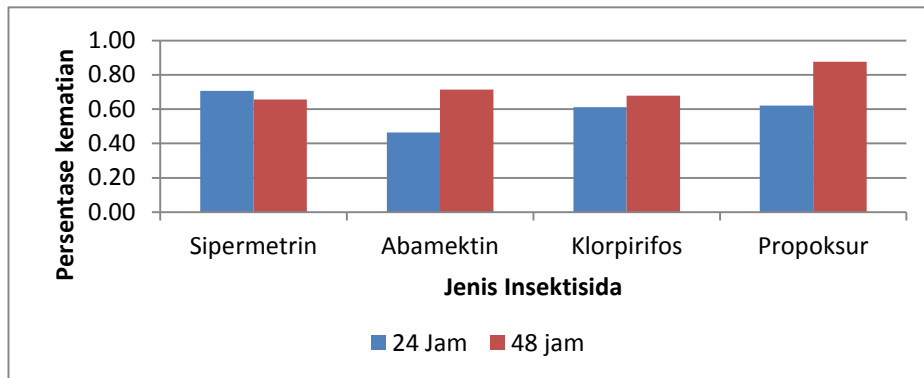
HASIL DAN PEMBAHASAN

Perlakuan penyemprotan insektisida secara invitro (skala laboratorium). Mortalitas caplak 100% dengan penyemprotan bahan aktif insektisida Abamektin, Sipermetrin, dan Propoksur pada larva caplak menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,5 g/l, 1 g/l, 1,5 g/l, dan 2 g/l, ketiga bahan aktif tersebut efektif menyebabkan kematian 100% pada larva pada menit ke 10 pasca penyemprotan. Sedangkan bahan aktif Klorpirifos 1 g/l, 1,5 g/l, dan 2 g/l efektif menyebabkan kematian larva pada menit ke 50 pasca penyemprotan. Pada bahan aktif Klorpirifos sudah didapatkan konsentrasi efektif untuk membunuh caplak yaitu pada konsentrasi 1,5 dan 2 g/l. Sedangkan untuk bahan aktif Sipermetrin, Abamektin, dan Propoksur perlu diturunkan lagi konsentrasinya karena masih belum didapatkan konsentrasi yang efektif dan efisien membunuh caplak. Sehingga didapatkan konsentrasi 0,125 dan 0,25 g/l pada ketiga bahan aktif tersebut menyebabkan kematian larva pada menit ke 30 pasca penyemprotan, yang selanjutnya konsentrasi itu diaplikasikan pada aplikasi lapang pada sapi. Pada kelompok larva yang merupakan kontrol, semua larva dalam keadaan hidup karena tidak diperlakukan dengan bahan aktif insektisida apapun.

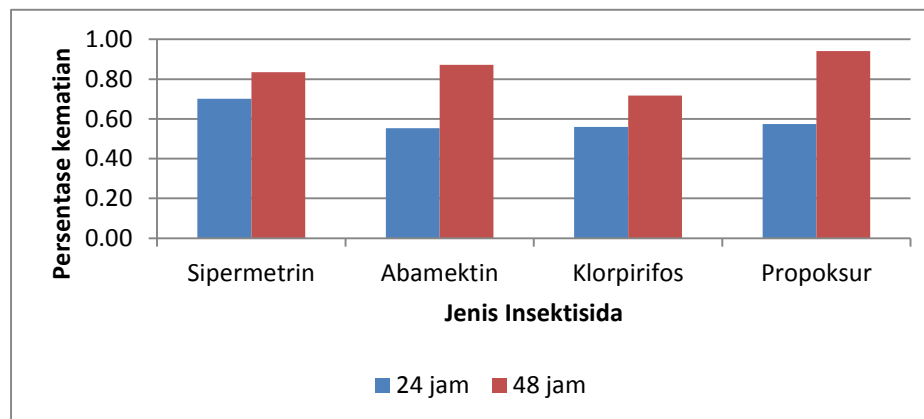
Perlakuan penyemprotan insektisida secara aplikasi lapang pada sapi. Secara umum pada semua bahan aktif insektisida mengalami tingkat mortalitas yang meningkat dari 24 jam pengamatan sampai 48 jam pengamatan. Pada konsentrasi 0,125 g/l terjadi peningkatan

mortalitas dari 24 jam pengamatan sampai 48 jam pengamatan. Pada Abamektin peningkatannya terjadi cukup tinggi dari 46% ke 71%. Sedangkan pada Klorpirifos dan Propoksur terjadi peningkatan mortalitas yang tidak terlalu pesat. Pada konsentrasi 0,125 g/l ini belum bisa dikatakan efektif karena hasil dari persentase pada pengamatan 48 jam pasca penyemprotan tidak terpenuhi yaitu $\geq 80\%$. Yang memenuhi kriteria efektif pada konsentrasi 0,125 g/l hanya bahan aktif Propoksur yaitu mortalitas 88% (Gambar 1).

Pada konsentrasi 0,25 g/l ketiga bahan aktif yaitu Sipermetrin, Abamektin, dan Propoksur telah memenuhi kriteria efikasi. Sedangkan pada Klorpirifos meskipun konsentrasi memakai konsentrasi lebih tinggi yaitu 2 g/l, tetapi belum mencapai kriteria efikasi. Pada sapi yang digunakan sebagai kontrol, tidak dilakukan perlakuan penyemprotan bahan aktif insektisida, tetapi tetap dilakukan pengamatan jumlah caplak sesuai dengan waktu pengamatan pada sapi yang dilakukan penyemprotan. Dan pada sapi kontrol ini tidak ditemui pengurangan jumlah caplak (Gambar 2).



Gambar 1. Persentase kematian caplak sapi setelah perlakuan dengan bahan aktif Sipermetrin, Abamektin, dan Propoksur 0.125 g/l, bahan aktif Klorpirifos 1.5 g/l, pada 24 dan 48 jam pasca penyemprotan



Gambar 2. Persentase kematian caplak sapi setelah perlakuan dengan bahan aktif Sipermetrin, Abamektin, dan Propoksur 0.25 g/l, bahan aktif Klorpirifos 2 g/l, pada 24 dan 48 jam pasca penyemprotan

Jika dibandingkan antara bahan aktif satu dengan bahan aktif yang lain, tidak ada yang bisa dikatakan lebih efektif daripada yang lain, tetapi mana yang lebih cocok untuk diterapkan di lapangan. Bahan aktif Sipermetrin, Propoksur, dan Abamektin mempunyai daya kerja yang cepat dan luas, sedangkan klorpirifos juga mempunyai daya knockdown cepat tetapi relatif kurang stabil. Untuk memilih bahan aktif yang lebih cocok untuk diterapkan, terdapat beberapa faktor yang perlu dipertimbangkan. Propoksur dan Abamektin sama-sama mempunyai spektrum yang luas dan toksisitasnya serta daya kerjanya tinggi, tetapi kedua bahan aktif ini mempunyai harga yang mahal. Untuk bahan aktif Sipermetrin, disamping bekerja cepat, aplikasi dosisnya juga rendah sehingga efisien untuk perlakuan di lapangan, kemudian Sipermetrin ini residunya

baik dan mempunyai harga yang relatif murah. Dengan adanya beberapa sifat bahan aktif yang spesifik, dapat dipilih bahan aktif mana yang lebih cocok untuk diterapkan di aplikasi lapang, khususnya untuk kepentingan karantina.

SIMPULAN

Keempat bahan aktif insektisida mempunyai daya kerja yang baik dalam meningkatkan mortalitas larva caplak di laboratorium maupun pada stadium caplak yang lain secara aplikasi lapang pada sapi. Pada aplikasi lapang, konsentrasi 0,25 g/l bahan aktif Sipermetrin, Abamektin, dan Propoksur efektif menyebabkan kematian caplak $\geq 80\%$.

DAFTAR PUSTAKA

- Astyawati T. 1987. Diagnosis piroplasmosis pada sapi perah dengan metode Fluoresein Antibodi Tidak Langsung dibandingkan dengan Giemsa-May-Grunwald. Tesis Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Hadi UK, Rusli VL. 2006. Infestasi Caplak Anjing *Rhipicephalus sanguineus* (*Parasitiformes: Ixodidae*) di Daerah Kota Bogor. *J Med Vet Indonesia* 10(2): 55-60.
- Pegramm RG, Lemche J, Chizyuka HGB, Sutherst RW, Flyod RB, Kerr JD, McCooker PJ. 1989. Effect of Tick Control on Liveweight Gain of Cattle in Central Zambia. *Med Vet Ent* 3: 313-320.
- Seddon HR. 1976. Diseases of domestic animals in Australia parts 3. Arthropod Infestations (Ticks and mites) . Service publications (Veterinary Hygiene) No. 7: 170.

MP-26

**CACING PARASITIK DAN DIFFERENSIASI SEL LEUKOSIT PADA IKAN MASKOKI
(*Crassius auratus*) DAN IKAN KOI (*Cyprinus carpio*)**

Risa Tiuria^{1*}, Banjar Arsi Purbo Sejati¹, Amalia Mukhlis Rahman¹, Damiana Rita Ekastuti²

¹Bagian Parasitologi dan Entomologi Kesehatan, Departemen Ilmu Penyakit Hewan Dan Kesehatan Masyarakat Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.

²Bagian Fisiologi, Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor, Jl. Agatis, Dramaga. Bogor. 16680. Indonesia.

*Korespondensi: rtiuria@yahoo.com.

Kata kunci: *Dactylogyrus* sp., *Bothriocephalus* sp, leukosit, ikan Koi, Maskoki.

PENDAHULUAN

Ikan hias merupakan salah satu komoditas perikanan yang potensial untuk dikembangkan, selain memiliki sumber daya berlimpah dengan peluang pasar yang besar, baik di dalam negeri maupun di luar negeri. Ikan mas (*Common Carp*), Koi dan Maskoki (*Goldfish*) termasuk dalam family Cyprinidae. Selain dipelihara sebagai hobi, ikan hias juga merupakan lahan bisnis yang menjanjikan. Infeksi parasitosis pada ikan hias sangat berpengaruh dalam nilai ekonomi perdagangan ikan hias. Akibat infeksi parasitik pada ikan hias yang diimport dapat menyebabkan kematian ikan hias pada saat tiba di tempat tujuan atau selama transportasi. Infeksi cacing parasitik di mamalia ditandai dengan gambaran yang umum yaitu; peningkatan nilai Ig E, sel eosinophil dan sel mast. Dengan demikian infeksi cacing dapat merubah sirkulasi sel darah putih ikan sehingga pada penelitian ini diamati pula differensiasi sel leukosit ikan koi dan maskoki.

METODE

Sebanyak 30 ekor sampel ikan yang berumur \pm 4 bulan diambil acak di tiga daerah Kota Bogor yaitu Kecamatan Bogor Tengah, Bogor Timur dan Bogor Selatan. Metoda pembuatan preparat ulas darah pada ikan memiliki prosedur yang sama dengan mammalia. Organ insang dan saluran pencernaan dipisahkan dari organ tubuh lainnya dan di relaksasikan dalam cawan petri yang berisi NaCL fisiologis di refrigerator 4°C. Selanjutnya, cacing parasitik dikoleksi dan diawetkan dalam botol yang berisi gliserin -ethanol 70%. Cacing parasitik diberi pewarnaan Acetocarmine untuk dilakukan identifikasi cacing.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Prevalensi kecacingan pada insang sebesar 100% dari sampel ikan Koi maupun ikan Maskoki yang diambil dari ketiga daerah di kota Bogor. Cacing parasitik yang diidentifikasi dari insang ikan Koi dan Maskoki memiliki panjang tubuh 0.897 mm dan lebar 0.367 mm dan masih termasuk dalam kisaran normal panjang tubuh cacing Dactylogyridae (0.3-2 mm). Bagian anterior cacing parasitik ini dilengkapi dengan lekukan-lekukan serta memiliki kelenjar kepala dan 4 spot mata. Lekukan-lekukan di bagian anterior cacing parasitik tersebut yang disertai dengan kelenjar kepala disebut sebagai lobe yang berfungsi sebagai perekat pada cacing monogenea. Bagian posteriornya dilengkapi dengan 16 kait yang terdiri dari 14 kait marginal yang terletak agak ke dalam dari *opisthaptor* dan 2 kait utama di ventral *opisthaptor*. Cacing parasitik tersebut didefinisikan sebagai *Dactylogyrus* sp. yang termasuk ke dalam klasifikasi filum Platyhelminthes, kelas Trematoda, sub kelas Monogenea, dan famili Dactylogyridae serta genus *Dactylogyrus* sp.

Pada saluran pencernaan, hanya sebesar 0% - 30% sampel ikan koi yang terinfeksi cacing parasitik alamiah, sedangkan pada ikan maskoki tidak ditemukan adanya infeksi cacing. Cacing parasitik pada saluran pencernaan ikan koi yang diidentifikasi memiliki skolex (kepala), leher, dan strobila. Bentuk skolex cacing parasitik ini seperti hati dan panjang skolex cacing parasitik 0.831 mm. Cacing parasitik ini termasuk ke dalam klasifikasi filum Platyhelminthes,

kelas Cestoda, ordo Pseudophyllidea, dan famili Bothriocephalidae serta termasuk ke dalam genus *Bothriocephalus* sp.

Jumlah sel limfosit ikan koi yang masih terdapat dalam kisaran normal, walaupun jumlah sel limfosit ikan maskoki lebih rendah dari normal. Sel limfosit merupakan sel darah putih yang berperan dalam penghasil antibodi untuk sistem kekebalan tubuh terhadap penyakit. Peningkatan jumlah eosinofil juga sangat tinggi pada ikan koi dan maskoki dibandingkan dengan eosinofil normal. Infeksi parasit yang cukup banyak mengakibatkan meningkatnya sekresi sel eosinofil. Persentase monosit ikan koi dan maskoki juga mengalami peningkatan dibanding kisaran normal. Hal ini diduga karena sel monosit berperan dalam proses fagositosis benda asing dalam tubuh. Jumlah sel neutrofil juga mengalami peningkatan dibanding dengan normal pada ikan koi dan maskoki. Neutrofil berfungsi sebagai respon kekebalan terhadap serangan organisme patogen dan berperan sebagai pertahanan pertama dalam tubuh ikan. Akan tetapi respon sel basofil pada ikan koi lebih tinggi dibandingkan ikan Maskoki. Sel basofil berfungsi merangsang reaksi hipersensitivitas akibat infeksi parasit.

Dactylogyrus sp adalah genus cacing yang paling banyak ditemukan (60% - 95%) pada insang ikan dari family Cyprinidae. Cacing *Dactylogyrus* sp merupakan monogenea dengan tingkat spesifisitas inang yang sangat tinggi. Cacing *Dactylogyrus* sp juga merupakan jenis cacing parasitik yang paling dominan ditemukan pada ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*) di kolam Kecamatan Dramaga dan Kecamatan Ciomas, Bogor. Selain pada ikan air tawar, cacing *Dactylogyrus* sp juga ditemukan menginfeksi ikan hias koi dan maskoki dalam penelitian ini.

Cacing *Dactylogyrus* sp. yang teridentifikasi dalam penelitian ini memiliki kemampuan mengeluarkan lendir yang berfungsi untuk penempelan maupun pergerakan cacing parasitik pada filament insang. Produk lendir yang berlebihan merupakan gejala klinis pada ikan yang terinfeksi cacing parasitik ini. Derajat infeksi yang tinggi dari cacing *Dactylogyrus* sp.; selain mengakibatkan hipersekresi lendir juga hiperplasia epitel yang menyebabkan terganggunya pertukaran oksigen. Tanda-tanda klinisnya berupa gerakan pernapasan yang cepat, lesu, berenang di dekat permukaan, dan menolak makanan. Kesehatan ikan akan menjadi terganggu yang dapat menyebabkan kematian. Cacing *Bothriocephalus* sp. sering disebut "cacing cestoda Asia" yang terdapat pada ikan air tawar dan berhabitat di saluran pencernaan ikan. Cacing ini merupakan cestoda patogen yang dapat menimbulkan kematian.

SIMPULAN

Pada penelitian ini, Ikan koi dan maskoki masih bisa mengontrol pertahanan tubuhnya terhadap infeksi cacing *Dactylogyrus* sp. dan *Bothriocephalus* sp yang terlihat dari tidak begitu tingginya peningkatan jumlah sel limfosit. Akan tetapi terjadi peningkatan yang sangat tinggi pada jumlah sel eosinofil dan sel neutrofil ikan koi maupun maskoki seiring dengan banyaknya jumlah cacing insang yang menginfeksi ikan koi dan ikan maskoki. Hal ini diduga karena ikan mengalami peradangan yang merupakan respon terhadap infeksi parasit khususnya cacing parasitik *Dactylogyrus* sp dan cestoda patogen *Bothriocephalus* sp. Reaksi peradangan tersebut dimulai dengan respon dari sel neutrofil yang akan diikuti dengan respon sel monosit. Jumlah sel monosit yang meningkat dengan jumlah yang tidak begitu tinggi pada ikan koi dan maskoki menandakan bahwa infeksi cacing sudah kronis. Sedangkan sel basofil menandakan telah terjadi reaksi hipersensitivitas akibat infeksi cacing yang dapat dilihat pada ikan koi namun tidak pada ikan maskoki.

DAFTAR PUSTAKA

- Kim JH, Craig JH, Gang JH. 2001. Nematode worm infections (*Camallanus cotti*, Camallanidae) in guppies (*Poecilia reticulata*) imported to Korea. *Aquaculture* 205: 231-235
- Kent ML, Fournie JW. 2007. Parasites of fishes. Di dalam Baker ED, editor: *Flynn's Parasites Of Laboratory Animals*. Ed ke-2. State avenue: Blackwell publishing.
- Rahayu FD, Damiana RE, Risa T. 2013. Infestasi cacing parasitik pada insang ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*). *Acta Vet Indones* 1 (1): 8-14
- Shamsi S, Jalali B, Aghazadeh MM. 2009. Infection with *Dactylogyrus* spp. Among introduced cyprinid fishes and their geographical distribution in Iran. *Iran J Vet Med* 10 (1) : 70-74

MP-27

KEANEKARAGAMAN JENIS DAN KEPADATAN NYAMUK PADA APLIKASI ZOOFILAKSIS DALAM PENGENDALIAN PENYAKIT TULAR VEKTOR

Imam Hanafy*, Fahmi Khairi, Susi Soviana, Upik Kesumawati Hadi

Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor

*Korespondensi: imamhanafy46@yahoo.com

Kata kunci: nyamuk, zoofilaksis, penyakit tular vector, MHD, CHD

PENDAHULUAN

Pemanfaatan ternak merupakan salah satu cara hayati yang bertujuan untuk mencegah dan menghindarkan kejadian kontak antara nyamuk dengan manusia. Pengendalian nyamuk sebagai vektor penyakit dengan memanfaatkan hewan ternak disebut *Zoofilaksis*. Aplikasi *Zoofilaksis* didefinisikan sebagai penggunaan hewan domestik ataupun liar yang bukan inang *reservoir* dari suatu penyakit tertentu untuk mengalihkan gigitan nyamuk vektor dari manusia sebagai inang penyakit tersebut. Tindakan *zoofilaksis* lebih khusus dilakukan terhadap nyamuk dengan cara menempatkan kelompok ternak di dekat sumber tempat perindukan nyamuk dalam garis arah terbang nyamuk yang baru muncul menuju pemukiman penduduk yang terjangkau oleh nyamuk-nyamuk tersebut.

Penelitian tentang *zoofilaksis* juga dilaporkan Hewitt *et al.* (1994) pada kamp pengungsi Afganistan di Pakistan dengan menggunakan seekor sapi dan dua ekor kerbau sebagai *zoofilaksis*, diperoleh hasil adanya peningkatan angka gigitan nyamuk oleh *An. staphensi* masing-masing 38% dan 50% untuk penggunaan sapi dan kerbau sebagai *zoobarier*. Melihat kenyataan tersebut, pemanfaatan ternak sebagai tameng terhadap gigitan vektor mempunyai potensi dan prospek yang baik dimasa depan untuk mengurangi transmisi penyakit tular vektor. Ada dua syarat untuk keberhasilan program *zoofilaksis* yaitu: pertama spesies nyamuk harus bersifat *zoofilik* atau *zoantropofilik*. kedua ternak tersebut harus disebar dalam bentuk tameng antara nyamuk vektor dan manusia. Lokasi penempatan ternak harus sejauh mungkin dari manusia.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keanekaragaman, kepadatan dan perilaku (aktivitas dan kecenderungan memilih inang) serta mengamati preferensi nyamuk apakah lebih menyukai manusia atau hewan pada aplikasi zoofilaksis di Desa Hanura Kecamatan Padang Cermin Kabupaten Pesawaran yang termasuk daerah endemis malaria.

METODE

Pemasangan Sapi sebagai *Barier* pada Aplikasi Zoofilaksis. Pada penelitian ini hewan ternak yang dipakai sebagai *barier* pada metode *zoofilaksis* adalah sapi, yang ditempatkan dalam magoon trap berupa kurungan berdinding kain kelambu berukuran 6X6X2 m³. Pada keempat dinding magoon trap dilengkapi jendela-jendela untuk masuknya nyamuk, juga pintu masuk untuk sapi dan kolektor nyamuk. *Magoon trap* yang berisi sapi ini ditempatkan diantara tempat perindukan nyamuk dengan rumah, dengan jarak 10-20 meter didepan rumah. Pada penelitian ini dilakukan pada empat rumah dengan dua sapi pada masing-masing rumah.

Pengukuran Kepadatan Nyamuk pada Orang/ *Man Hour Density* (MHD). Pengukuran kepadatan nyamuk yang kontak dengan manusia, dilakukan dengan penangkapan nyamuk berumpun orang. Metode ini dilakukan pada 2 rumah yang diberi tameng sapi, masing-masing rumah pada seorang di luar dan seorang di dalam rumah. Penangkapan nyamuk dilakukan selama semalam dimulai pukul 18.00-06.00. Setiap jam terdiri atas 45 menit penangkapan.

Pengukuran Kepadatan Nyamuk Pada Sapi/ *Cattle Hour Density* (CHD). Kepadatan nyamuk pada sapi diperoleh dari penangkapan nyamuk yang hinggap pada kelambu atau sapi dalam kedua *magoon trap* selama 45 menit. Selanjutnya jendela-jendela magoon trap dibuka untuk membiarkan nyamuk masuk dan hinggap pada sapi dan 15 menit berikutnya dilakukan penangkapan nyamuk dalam *magoon trap* menggunakan aspirator.

Identifikasi Jenis Nyamuk. Nyamuk yang tertangkap dengan umpan orang dan sapi diidentifikasi dibawah mikroskop stereo menggunakan kunci identifikasi bergambar O'Connor dan Soepanto (1979 & 1999).

Analisis Data. Kepadatan nyamuk pada orang (MHD) ditentukan melalui rumus berikut:

$$= \frac{\text{Jumlah Nyamuk Spesies tertentu yang tertangkap}}{\text{Jumlah jam penangkapan} \times \frac{45}{60} \times \text{Jumlah Kolektor}}$$

Sementara itu kepadatan nyamuk pada sapi (CHD) dapat ditentukan melalui rumus berikut:

$$= \frac{\text{Jumlah Nyamuk Spesies tertentu yang tertangkap}}{\text{Jumlah jam penangkapan} \times \frac{45}{60} \times \text{Jumlah Sapi}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perbandingan dari kedua umpan (orang dan sapi) menunjukkan bahwa preferensi nyamuk lebih cenderung memilih sapi sebagai inangnya. Hal ini dimungkinkan karena permukaan tubuh sapi lebih luas jika dibandingkan dengan manusia serta kadar CO₂ yang lebih banyak dikeluarkan oleh sapi sehingga sangat mengundang kehadiran dari nyamuk untuk mengisap darahnya (Smallegange *et al* 2010). Keanekaragaman jenis nyamuk pada sapi juga lebih tinggi yaitu dengan perbandingan 8:10 (Tabel 1). Hal ini mengindikasikan bahwa umpan sapi memiliki daya tarik yang tinggi terhadap gigitan nyamuk.

Tabel 1. Keanekaragaman Jenis Nyamuk pada Orang dan Sapi

No	Orang	Sapi
1	<i>Ae. aegypti</i>	<i>An. sudaicus</i>
2	<i>Ae. albopictus</i>	<i>An. vagus</i>
3	<i>An. sudaicus</i>	<i>An. barbirostris</i>
4	<i>An. vagus</i>	<i>An. aconitus</i>
5	<i>An. aconitus</i>	<i>An. subpictus</i>
6	<i>Ar. subalbatus</i>	<i>Ar. subalbatus</i>
7	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	<i>Cx. quinquefasciatus</i>
8	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>
9		<i>Cx. sitiens</i>
10		<i>Cx. hutchinsoni</i>

Nilai perbandingan jumlah nyamuk pada umpan manusia dan sapi bisa menggambarkan sangat besar peranan dari sapi sebagai barier dari gigitan nyamuk terhadap manusia (Tabel 2). Semakin sedikit gigitan nyamuk pada manusia, maka risiko penularan penyakit tular vektor juga akan semakin kecil. Oleh sebab itu metode zooprofilaksis ini sangat efektif dalam mengendalikan transmisi penyakit tular vektor oleh nyamuk. Selain itu dengan meningkatkan pengelolaan peternakan sapi sebagai *barier* maka secara tidak langsung akan meningkatkan ekonomi dari warga setempat.

Tabel 2. Keanekaragaman dan Kepadatan Nyamuk pada Orang dan Sapi

No	Genus Nyamuk	MHD (nyamuk/orang/jam)	CHD (nyamuk/sapi/jam)
1	<i>Aedes</i>	0,04	
2	<i>Anopheles</i>	0,01	1,99
3	<i>Armigeres</i>	1,31	0,34
4	<i>Culex</i>	28,82	101,35
Total		30,18	103,68

SIMPULAN

Aplikasi zooprofilaksis menggunakan hewan ternak sangat efektif untuk digunakan sebagai

pengalihan gigitan nyamuk dari manusia ke sapi yang berguna sebagai *barier* dan akan menurunkan angka gigitan pada manusia sehingga akan mengurangi risiko transmisi penyakit tular vektor dari nyamuk ke manusia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ungkapan terima kasih kepada LPPM IPB pada program BOPTN “Desentralisasi Baru” sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Hewitt S, Rowland M. 1999. Control of zoophilic malaria vectors by applying pyrethroid insecticides to cattle. *Trop Med Int Hlth* 4: 481-486.
- O'Connor CT, Supanto A. 1979. *Kunci Bergambar Nyamuk Aopheles Betina di Indonesia*. Depkes RI. Dit.Jen P2M & PLP. Jakarta. 40
- Smallegange R, Schmied WH, Roey KJV, 2010. Sugar fermenting yeast as an organic source of carbon dioxide to attract the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Malar J* 9:292

MP-28

INVESTIGASI CACING *DIROFILARIA IMMITIS* PADA ANJING YANG DINEKROPSI DI KOTA GORONTALO DAN PROFIL DARAH ANJING PENDERITA CANINE HEARTWORM DISEASE (CHD)

Tri Ananda Erwin Nugroho*

Jurusan Peternakan, Fakultas Ilmu-ilmu Pertanian, Universitas Negeri Gorontalo
Jln. Jendral Sudirman No. 6, Gorontalo, 96128, INDONESIA

*Korespondensi: erwin.veteriner.msc@gmail.com

Kata kunci: *Dirofilaria immitis*, nekropsi, anjing, profil darah, Gorontalo.

PENDAHULUAN

Dirofilaria immitis adalah cacing nematoda pada jantung anjing yang merupakan parasit filaria paling penting pada anjing. Cacing jantung ini dapat ditularkan menginfeksi manusia dalam bentuk mikrofilaria melalui perantara vektor gigitan nyamuk (Genchi *et al.*, 2007). Berbagai jenis nyamuk dapat menularkan bentuk mikrofilaria cacing dari anjing ke manusia. Infeksi cacing *D. immitis* ke manusia akan mengakibatkan *Human Pulmonary Dirofilariosis* (HPD) dan kasus kejadiannya telah dilaporkan di berbagai negara (Tada *et al.*, 1979; Hirano *et al.*, 2002).

Investigasi terhadap cacing *D. immitis* penting dilakukan sebagai antisipasi adanya penyakit zoonosis *Dirofilariosis* dari anjing di Gorontalo selain rabies. Keberadaan anjing di Gorontalo berpotensi dapat menyebabkan munculnya penyakit zoonosis ini karena ada kalangan masyarakat di Gorontalo yang mengumpulkan anjing untuk diproduksi daging dan selanjutnya dipasarkan ke Provinsi Sulawesi Utara. Berbagai jenis anjing bertuan maupun liar dikumpulkan tanpa memperhatikan kondisi kesehatan anjing serta faktor-faktor resiko penyakit zoonosis yang dapat muncul dari anjing. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu adanya deteksi awal keberadaan cacing *D. immitis* pada anjing di kota Gorontalo melalui metode nekropsi.

METODE

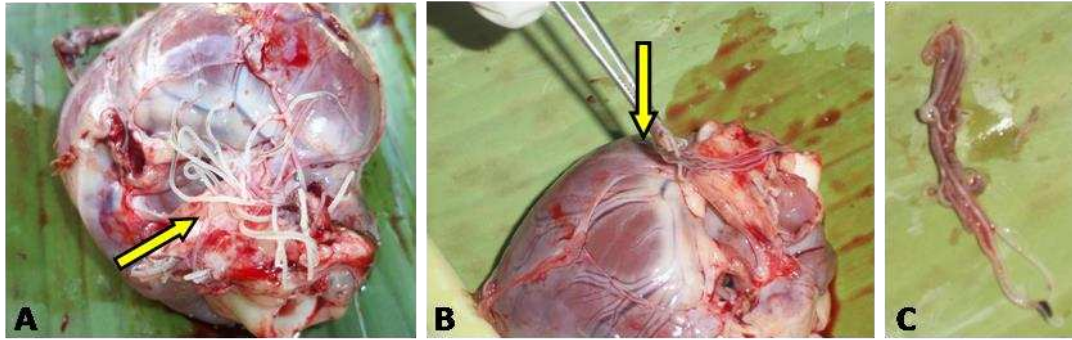
Investigasi cacing *D. immitis* dilakukan pada anjing yang dikumpulkan pada tempat pemotongan hewan (anjing) di kota Gorontalo. Darah diambil dari vena cephalica anjing. Setelah darah diambil, darah dicampur dengan antikoagulan EDTA untuk selanjutnya dilakukan pemeriksaan darah yang meliputi Packed cell volume (PCV), deferensial eritrosit (DE), Deferensial Leukosit (DL), dan preparat apus darah (Dharmawan *et al.*, 2003).

Pemeriksaan organ jantung dilakukan setelah anjing di mati. Anjing yang telah mati kemudian dibuka bagian dadanya untuk melihat keberadaan organ jantung anjing. Jantung kemudian dipisahkan dari tubuh anjing untuk lebih memudahkan dilakukan pembedahan pada organ jantung untuk memeriksa adanya infestasi cacing *D.immitis* (Atwell, 1988).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nekropsi atau makropatologi atau sering dikenal dengan bedah bangkai adalah suatu teknik atau metode yang digunakan untuk mendiagnosa penyakit dan atau sebagai penegakan diagnosa suatu kasus penyakit melengkapi pengujian laboratorium yang lain (Ressang, 1984). Dari hasil nekropsi pada 35 ekor anjing, 1 ekor anjing ditemukan adanya infestasi cacing *D. Immitis* (Gambar 1).

Berdasarkan hasil pengamatan pada jantung anjing, infestasi cacing *D. immitis* ditemukan di arteri pulmonalis anjing. Hasil pemeriksaan morfologi, cacing *D. immitis* yang ditemukan berjumlah 15 ekor yang terdiri dari 9 ekor betina dan 6 ekor jantan. Cacing yang ditemukan memiliki ukuran panjang berkisar antara 12-15 cm untuk cacing jantan dan cacing betina memiliki panjang antara 25-26 cm



Gambar 1. Cacing *Dirofilaria immitis* pada anjing yang ditemukan di tempat pemotongan anjing di kota Gorontalo (A, B dan C).

Hasil pemeriksaan darah yang dilakukan diketahui anjing yang terinfeksi cacing *D. immitis* mengalami anemia dan mengalami leukositosis. Anemia adalah kekurangan sel darah merah (eritrosit) karena jumlah eritrosit yang sedikit atau eritrosit mengalami abnormalitas lebih kecil ukurannya dari ukuran normalnya (Dharmawan, 2002)). Menurut Atwell (1988), Anemia yang terjadi akibat adanya mikrofilaria yang menjadikan plasma darah sebagai sumber makanannya. Plasma darah merupakan bagian penting dalam kehidupan eritrosit dalam tubuh host. Adanya gangguan pada plasma darah akan berakibat terganggunya pula kehidupan (jumlah) eritrosit dalam tubuh host.

Tabel 1. Perbandingan profil darah anjing normal dan penderita CHD di Gorontalo

Pemeriksaan	Tilley dan Smith, (2000)	Anjing pembeding	Anjing penderita CHD
Packed cell volume	37,0-55,0	41	32
Deferensial eritrosit (RBC 10 x 6 mm ³)	5,5-8,5	7	3,9
Deferensial Leukosit (WBC 10 x 3 mm ³)	6,0-17	12	19,6
Eosinofil (%)	2-10	5	15
Diagnosa	1.Normal 2.Normal	1.Normal 2.Normal	1. Anemia 2. Leukositosis
Keterangan	Kondisi hewan sehat	Tidak ada infestasi parasit	Ada infestasi cacing <i>D. immitis</i>

Anjing penderita CHD dari hasil pemeriksaan deferensial leukosit (DL) dan pengamatan preparat apus darah tampak mengalami leukositosis dan eosinofilia. Leukositosis adalah fenomena terjadinya peningkatan jumlah leukosit (sel darah putih) melebihi normalnya (Guyton dan Hall, 1997). Eosinofilia adalah peningkatan jumlah eosinofil melebihi dari jumlah normalnya dalam darah (Sodikoff, 1995). Leukositosis yang terjadi akibat adanya peningkatan jumlah eosinofil yang merupakan bagian dari leukosit. Pada pemeriksaan preparat apus darah menggunakan mikroskop terlihat eosinofil lebih dominan dibandingkan dengan monosit, limfosit, netrofil atau sel darah yang lain. Leukositosis dan eosinofilia diketahui merupakan sebuah respon imun host terhadap adanya infeksi parasit. Dalam hal ini adanya peningkatan leukosit (eosinofil) terjadi akibat adanya respon perlawanan tubuh anjing penderita CHD terhadap adanya mikrofilaria dan cacing *D. immitis* dewasa di dalam tubuhnya. Infeksi cacing dalam tubuh akan merangsang tubuh untuk memproduksi antibodi IgM, IgG, IgA sebagai respon tanggap kebal. Makrofag berikatan dengan larva cacing melalui jalur yang diperantarai oleh IgE untuk dapat menghancurkannya. IgE juga memperantarai sel mast dan menginduksi pelepasan faktor anafilaksis kemotaksis eosinofil untuk memobilisasi cadangan eosinofil dalam jumlah besar dalam sirkulasi darah (Tizard 1982).

Apabila ditinjau dari lingkungan kota Gorontalo sangat mendukung adanya berbagai vektor penular penyakit seperti nyamuk untuk berkembang biak. Daerah yang cenderung adanya genangan air, sawah, kebun, rumput, pekarangan, dan vegetasi tersebut menyebabkan nyamuk mudah untuk melakukan siklus hidupnya secara terus-menerus. Keadaan tersebut diatas akan

menunjang siklus hidup dari cacing *D. immitis* dan semakin menunjang apabila terdapat populasi anjing liar atau kumpulan anjing yang ditampung di kawasan tersebut. Cacing *D. immitis* yang ditemukan pada satu ekor anjing cukup memberikan data fundamental bahwa telah ada cacing *D. immitis* ini di kota Gorontalo.

SIMPULAN

Investigasi yang dilakukan pada anjing yang di nekropsi di tempat pemotongan hewan (anjing) di kota Gorontalo ditemukan adanya cacing *Dirofilaria immitis*. Anjing penderita CHD mengalami anemia, leukositosis, eosinofilia.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada Lembaga Penelitian Universitas Negeri Gorontalo atas dukungan dana melalui skim penelitian Dosen Pemula dengan kontrak nomor : 217/UN47/2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Atwell RB. 1988. Clinical Signs and Diagnosis of Canine Dirofilariasis. Dalam: *Dirofilariasis*. Boreham PFL dan Atwell RB, editor. Florida: CRC Press.
- Bielawski BC, Harrington D, Joseph E., 2001. A Solitary Pulmonary Nodule With Zoonotic Implications. *Chest* 119: 1250 – 1252.
- Dharmawan NS. 2002. Pengantar Patologi Klinik Veteriner. Penerbit Universitas Udayana Bali.
- Dharmawan NS, Ardana IBK, Damriyasa IM, Kendran AAS, Anggreni LD. 2003. Hematologi Veteriner. Laboratorium Patologi Klinik Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Udayana,
- Genchi C, Rinaldi L, Mortarino M, Genchi M, Cringoli G. 2007. Climate and *Dirofilaria* Infection in Europe. *Vet Parasitol* 163: 286 – 292.
- Guyton AC, Hall JE. 1997. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 9. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Hirano H, Kizaki T, Sashikata T, Matsumura T. 2002. Pulmonary Dirofilariasis–Clinicopathological Study. *Kobe J. Med. Sci.* 48: 79 - 86.
- Ressang A. 1984. Patologi Khusus Veteriner. Team Leader IFAD Project : Bali.
- Sodikoff CH. (1995). *Laboratory Profiles of Small Animal Disease*. Mosby. Amerika.
- Tada I, Sakaguchi Y, Eto K. 1979. Dirofilaria in the abdominal cavity of a man in Japan. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 28: 988-990.
- Tilley, Smith. (2000). *The 5 Minut Veterinary Consult* Ver 2.
- Tizard I. 1982. Pengantar Imunologi Veteriner. Philadelphia: WB Saunder Company.