

Deteksi Johne's Disease pada Sapi Potong di Kabupaten Kebumen Berdasarkan Uji ELISA

Detection of Johne's Disease in Beef Cattle in Kebumen Regency Based on ELISA Test

Iip Zuliana Rachmawati¹, Widagdo Sri Nugroho^{3*}, Rahmat Setya Adji⁴

¹Stasiun Karantina Pertanian Kelas I Biak, Jl. Dr. Sam Ratulangi No 35 Biak - Papua,

²Departemen Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada, Jl. Fauna No.2, Karangmalang, Yogyakarta

³Laboratorium Bakteriologi, Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. RE. Martadinata No. 30 Bogor,

*Email: weesnugroho@ugm.ac.id

Naskah diterima : 21 November 2018, direvisi : 9 Desember 2018, disetujui : 9 Desember 2018

Abstract

Kebumen Regency have been set as the source of the beef cattle breeds by the Ministry of Agriculture of the Republic of Indonesia. As the parent stock of beef cattle, these should be free from any infectious disease. Base on Balai Besar Veterinary Wates survey at 2015, some beef cattle in some districts at Kebumen indicated Johne's Disease. This research was carried out with the epidemiologic approach to detect Johne's Disease. About 173 serum specimens were taken from 173 heads of cows who have clinical symptoms of Johne's Disease. Sera were analyzed by ELISA. Base on ELISA result, 38 from 173 serum were seropositive. These cows sample come from local ancestor and there were not Johne's disease vaccination program in Kebumen. This research proved that Johne's Disease have occurred in this populations which dedicated for parent stock of beef cattle in the District of Kebumen. Disease control program for Johne's disease should be undertaken in this area to prevent the disease transmittion.

Key words: beef cattle; ELISA; Johne's Disease; Kebumen

Abstrak

Kabupaten Kebumen telah ditetapkan sebagai wilayah sumber bibit sapi potong oleh Kementerian Pertanian Republik Indonesia. Kabupaten Kebumen sebagai wilayah sumber bibit maka harus dipastikan tidak memiliki penyakit hewan menular strategis. Salah satu penyakit hewan menular strategis yang perlu diwaspadai adalah *Johne's Disease*. Survei Balai Besar Veteriner Wates tahun 2015 mengindikasikan adanya *Johne's Disease* di Kabupaten Kebumen. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mendeteksi keberadaan *Johne's Disease* pada populasi sapi potong di Kabupaten Kebumen dengan pendekatan epidemiologi berdasarkan uji ELISA. Sebanyak 173 ekor sapi potong diambil sebagai sampel dan dipilih secara purposif berdasarkan gejala klinis *Johne's Disease*. Spesimen serum diambil dari setiap sampel hewan untuk diuji ELISA. Pengujian ELISA terhadap 173 serum menunjukkan 38 serum seropositif. Asal-usul hewan-hewan tersebut memperlihatkan bahwa ternak berasal dari keturunan induk lokal dan tidak pernah ada sejarah vaksinasi terhadap *Johne's Disease* di daerah tersebut. Penelitian ini membuktikan bahwa *Johne's Disease* telah terjadi pada populasi sapi potong sumber bibit di Kabupaten Kebumen. Pengendalian penyakit Perlu dilakukan untuk mencegah penyebaran *Johne's disease*.

Kata kunci : sapi potong; ELISA; Johne's Disease; Kebumen

Pendahuluan

Kabupaten Kebumen merupakan salah satu kabupaten di Provinsi Jawa Tengah yang dijadikan

sebagai sumber bibit sapi potong berdasarkan Keputusan Direktur Jenderal Peternakan Dan Kesehatan Hewan Nomor: 619/Kpts/-

PK.210/F/03/2016. Populasi sapi potong di Kabupaten Kebumen pada tahun 2015 sebanyak 65.256 ekor (BPS, 2016). Sapi potong sangat penting dalam pemenuhan kebutuhan daging di Indonesia sehingga perlu dipastikan terbebas dari penyakit hewan menular strategis sesuai dengan Keputusan Menteri Pertanian Nomor : 4026/kpts/OT.140/4/2013 tentang Penetapan Jenis Penyakit Hewan Strategis. Salah satu penyakit yang perlu diperhatikan adalah *Johne's Disease* (JD) atau *Paratuberculosis*. Kajian JD pernah dilakukan di Jawa Tengah pada tahun 2005 dan 2007 sedangkan pada tahun 2008 dilakukan kajian di Jawa Barat dan Jawa Tengah (Adji 2008). Nugroho (2008) juga melakukan kajian JD pada susu segar, dan susu pasturisasi, dan susu formula lanjutan yang dijual di Bogor. Penelitian Riad *et al.* (2016) memperlihatkan bahwa analisis ELISA baik dengan *Whole-antigen* ELISA (W_ELISA) maupun *Surface-antigen* ELISA (S_ELISA) memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang bagus, sehingga dapat digunakan untuk membantu diagnosis laboratorium pada kawanan hewan yang terindikasi JD.

Hasil survei Balai Besar Veteriner Wates mengindikasikan adanya seropositif *Johne's Disease* pada tahun 2015 di Kabupaten Kebumen berdasarkan hasil pengujian ELISA. Kajian *Johne's Disease* di Indonesia lebih banyak dilakukan pada sapi perah daripada sapi potong. Kajian epidemiologi JD pada sapi potong di Kebumen sebagai daerah sumber bibit ternak sapi lokal diperlukan untuk memastikan kondisi kesehatan ternak indukan. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan *Johne's Disease* pada sapi potong berdasarkan pengujian ELISA di Kabupaten Kebumen, Provinsi Jawa Tengah.

Materi dan Metode

Penelitian dilakukan pada bulan Desember

2016 hingga Maret 2017 dengan populasi target adalah sapi potong yang berada di lima kecamatan di Kabupaten Kebumen. Spesimen dalam penelitian ini adalah serum darah yang diuji dengan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) di Balai Besar Penelitian Veteriner (BBLitvet) di Bogor. Besaran sampel (*sample size*) ditentukan menggunakan rumus *detect disease* (Martin *et al.*, 1987). Jumlah populasi sapi potong di Kabupaten Kebumen pada tahun 2015 sebesar 65.256 ekor (BPS, 2016), asumsi prevalensi 2%, perhitungan dengan tingkat kepercayaan 95% sehingga setidaknya sebanyak 148 ekor sampel diperlukan dalam penelitian ini. Sampel hewan diambil pada lima kecamatan yaitu Kecamatan Ambal, Klirong, Puring, Buluspesantren, dan Petanahan. Pemilihan hewan sampel dilakukan secara purposif berdasarkan kriteria hewan diduga terinfeksi *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (MAP) yaitu memiliki seluruh atau sebagian syarat seperti umur di atas 2 tahun, kondisi badan kurus, dan atau menderita diare. Spesimen yang diuji adalah serum yang diperoleh dari darah yang diambil secara aseptis sebanyak 3 ml melalui *vena jugularis* menggunakan tabung *vakulab* ukuran 10 ml. Serum yang terbentuk dibawa ke laboratorium dalam kotak dingin (*cool box*) dan disimpan dalam *freezer* -8°C – (-20°C) sampai waktu pengujian. Analisis serologis menggunakan ELISA (ID[®]Screen *Paratuberculosis Indirect*). Prosedur pengujian mengikuti prosedur produsen kit. Hasil ELISA dibaca menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 650 nm. Hasil kemudian dikonversi ke *S/P* rasio dengan menggunakan rumus, $S/P = (OD \text{ sampel} - OD \text{ negatif}) / (OD \text{ positif} - OD \text{ negatif})$. Interpretasi hasil : *S/P* ratio kurang dari 0,60 adalah negatif, *S/P* ratio antara 0,60-0,70 adalah dubius dan *S/P* ratio sama atau lebih dari 0,70 adalah positif.

Hasil dan Pembahasan

Sebanyak 173 ekor sapi potong telah diambil sebagai sampel yang berasal dari 144 peternak yang tersebar di lima kecamatan yaitu Kecamatan Ambal, Klirong, Puring, Buluspesantren, dan Petanahan (Tabel 1). Hasil pengujian ELISA menunjukkan 38 sampel seropositif. Ketigapuluh delapan ekor sapi yang seropositif tersebut tersebar di semua kecamatan.

Secara rinci dapat diketahui, di Kecamatan Puring 8 ekor seropositif dari 37 ekor sampel (22%), Kecamatan Ambal sebanyak 6 ekor dari 36 ekor (17%), Kecamatan Petanahan sebanyak 5 ekor dari 28 ekor (18%), Kecamatan Klirong sebanyak 12 dari 28 ekor (44%), dan Kecamatan Buluspesantren sebanyak 7 ekor dari 44 ekor (16%).

Tabel Hasil pengujian serologis ELISA *Johne's disease* pada sapi potong di Kabupten Kebumen

Asal sampel	Jumal Sampel	ELISA+	ELISA -
Kec. Puring	37	8 (22%)	31(78%)
Kec. Ambal	36	6 (17%)	30 (83%)
Kec. Petanahan	28	5 (18%)	23 (82%)
Kec. Klirong	28	12 (44%)	16 (57%)
Kec. Buluspesantren	44	7 (16%)	37 (84%)
Jumlah Total	173	38 (22%)	135 (78%)

Penyebaran *Johne's disease* di Kabupaten Kebumen dapat terjadi karena perpindahan ternak yang terinfeksi *Johne's disease* dari wilayah yang terpapar *Johne's disease* ke wilayah yang belum terpapar. Ternak penderita akan menularkan *Johne's disease* ke hewan lain melalui fesesnya yang mencemari lingkungan, baik pada tanah, sumber air, maupun peralatan. Perpindahan ternak karena jual beli yang dilakukan oleh peternak secara langsung dengan peternak di lokasi tersebut ataupun di pasar hewan. Peluang penularan dapat terjadi melalui peralatan inseminasi buatan yang tercemar karena digunakan ternak penderita JD (Tagueha dan Nugroho, 2012). Seropositif meningkat seiring dengan besarnya kawanan ternak. Hal ini dapat dipahami karena semakin tinggi kepadatan ternak maka potensi terkontaminasi feses terinfeksi juga meningkat (Celik dan Turutoglu; 2017). Wolf *et. al.* (2015) menjelaskan keterkaitan kondisi infeksi lingkungan (pen) akan

terlihat pada umur ternak. Ternak muda yang telah mengeskresikan MAP pada fesesnya merupakan bukti kuat bahwa penyebab infeksi adalah peternakan yang telah terinfeksi.

Hasil uji serologis ELISA menunjukkan sapi potong di Kabupaten Kebumen telah terinfeksi *Johne's disease*, hasil ELISA lebih baik dibandingkan uji serologi yang lain, seperti pendapat Roussel *et al.* (2007) yang menyebutkan ELISA merupakan uji serologi yang sensitif dan spesifik. Uji ELISA juga lebih cepat dan lebih murah dibandingkan dengan cara isolasi dan identifikasi mikrobiologis. Sensitivitas ELISA tinggi tergantung pada tahap infeksi MAP. Sensitivitas ELISA meningkat dari 0 diawal infeksi hingga 75% ketika hewan menunjukkan gejala klinis (Nielsen dan Toft, 2008 disitasi Razeq, *et. al.*, 2014). Kejadian *Johne's disease* terbagi dalam 3 tahap, yaitu preklinis tanpa *shedding* bakteri melalui feses, preklinis dengan *shedding* dan klinis dengan *shedding*. Titer antibodi akan semakin tinggi

Iip Zuliana Rachmawati *et. al.*

seiring dengan tingkat keparahan penyakit terutama pada kasus klinis yang diikuti dengan pengeluaran bakteri melalui feses dalam jumlah yang banyak (Carpenter *et al.*, 2004). Hasil positif dari ELISA dapat terjadi karena reaksi silang dengan infeksi *M. avium* dan *M. intraseluler* sehingga menimbulkan positif palsu (Osterstock *et al.*, 2007). Respon imun humoral mulai dapat terdeteksi pada fase pre-klinis tanpa disertai pengeluaran bakteri MAP di dalam fesesnya (McKenna *et al.*, 2005; Roussel *et al.*, 2007). Fase perkembangan penyakit pada hospes berkaitan erat dengan hasil uji ELISA (McKenna *et al.*, 2005). Titer antibodi akan semakin tinggi seiring dengan tingkat keparahan penyakit terutama pada kasus klinis yang diikuti dengan pengeluaran bakteri melalui feses dalam jumlah yang banyak (Carpenter *et al.* 2004). Hubungan antara respon imun humoral dengan *shedding* bakteri juga dijelaskan oleh Kurade *et al.*(2004) yang memperlihatkan keterkaitan fase perkembangan penyakit. Fase preklinis menunjukkan sensitivitas ELISA masih sangat rendah dan akan meningkat hingga fase klinis seiring reaksi tanggap kebal hospes. Pengujian hanya dengan satu alat diagnostik sering memberikan keraguan mengingat respon tubuh terhadap perkembangan penyakit juga berbeda-beda. Carvalho *et al.* (2012) mendapatkan uji ELSIA negatif pada hewan yang diduga menderita JD sementara uji PCRnya positif. Hal ini menguatkan penjelasan Kurade *et al.* (2004) di atas.

Pada penelitian ini diketahui ternak berasal dari lokal daerah tersebut baik dari indukan sendiri atau membeli dari peternak lain di Kabupaten Kebumen sendiri. Dinas teknis kesehatan hewan setempat juga menyatakan tidak pernah ada program vaksinasi *Johne's disease* di Kabupaten Kebumen. Informasi hasil ELISA, asal-usul ternak, dan tidak adanya program vaksin JD ini membuktikan bahwa *Johne's disease* sudah menyerang sapi potong sumber bibit di

Kabupaten Kebumen.

Situasi di Kabupaten Kebumen meskipun hanya berdasarkan uji ELISA namun tetap harus segera ditindaklanjuti dengan program pengendalian penyakit. Keberadaan agen perlu dilakukan dengan metode diagnosis yang dapat memastikan mengisolasi *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* baik dengan isolasi ataupun melacak jejak gen agen.

Kesimpulan

Populasi sapi potong di daerah sentral bibit di Kabupaten Kebumen telah terinfeksi *Johne's Diseases*.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Kepala Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor dan Kepala Dinas Pertanian dan Pangan Kabupaten Kebumen Provinsi Jawa Tengah yang telah memberikan fasilitas, ijin dan bantuannya selama penelitian berlangsung.

Daftar Pustaka

- Abdellrazeq, G.G; Elnaggar, M.M.; Khaliel, S.A.; Gamal-Eldin, A.E. 2014 Detection of *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* from cattle and buffaloes in Egypt using traditional culture, serological and molecular based methods. www.veterinaryworld.org/Vol.7/August-2014/7.pdf.
- Adji, R.S. 2008. Deteksi *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* pada sapi perah di Kabupaten Bandung dan Banyumas. [tesis]. Bogor (ID): Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2016. Kebumen Dalam Angka tahun 2015.
- Carvalho, I.A.; Campos, V.E.B.; Souza, I.S.; Zanardo, L.G.; Filho, J.D.R; Gomes M.J.P.; Maria A. S. Moreira, M.A.S. 2012. Diagnosis Of Paratuberculosis In Cattle: Microbiological Culture, Serology And PCR.

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3768850/pdf/bjm-43-581.pdf>.
- Celik, A, Turutoglu, H. 2017. Seroprevalence of Paratuberculosis in Cattle, Sheep, and Goats in Burdur, Southwestern Turkey. *IJVM* 72 (1): 30-36
- Kurade, N.P.; Tripathi, B.N.; Rajukumar, K.; Parihar, N.S. 2004. Sequential Development of Histologic Lesions and Their Relationship with Bacterial Isolation, Fecal Shedding, and Immune Responses during Progressive Stages of Experimental Infection of Lambs with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *VetPathol.* 41:378-387
- Martin, S.W.; A.H. Meek and P. Willeberg. 1987. *Veterinary epidemiology principles and methods*. Univ.Press, Iowa States. p 35.
- McKenna, S.L.B.D.C.; Socket, G..P.; Keefe, J.; McClure, J.A.; Vanleeuwen and H.W. Barkema. 2005 Comparison of two enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *J. Vet.Diagn. Invest.* 17: 426-466.
- Nugroho, W.S. 2008. Deteksi *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* pada sapi perah, susu pasteurisasi, dan susu formula lanjutan di wilayah Bogor. [disertasi]. Bogor (ID): Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Osterstock, J.B.; Fosgate, G.T.; Norby, B.O.; Manning, E.J.B.; Collins M.T.; Roussel, A.J. 2007. Contribution of environmental Mycobacteria to false positive serum ELISA results for Paratuberculosis, *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 230: 896-901.
- Riad, E.M.; Amany, N D.; Mohsen, D.M. 2016. Evaluation of ELISA and The Conventional Methods Used in JOHNE' S Disease Diagnosis in Cows. *Egypt. J. Chem. Environ. Health*, 2 (2):324-334.
- Roussel, A.J.; Fosgate, G.T.; Manning, E.J.B.; Collins, M.T 2007. Association of fecal shedding of *Mycobacteria* with ELISA-determined seroprevalence for Paratuberculosis in beef herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 230: 890-895.
- Tagueha, A.D.; Nugroho, W.S. 2012. Paratuberculosis. dalam Widiasih, D.A., Budiharta S. (eds) : *Epidemiologi Zoonosis di Indonesia*. UGM Press : Yogyakarta. Halaman 164-.182.
- Wolf, R.; Orsel, K; De Buck, J.; Barkema, H.W. 2015. Calves shedding *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* are common on infected dairy farms. *Veterinary Research* (2015) 46:71.