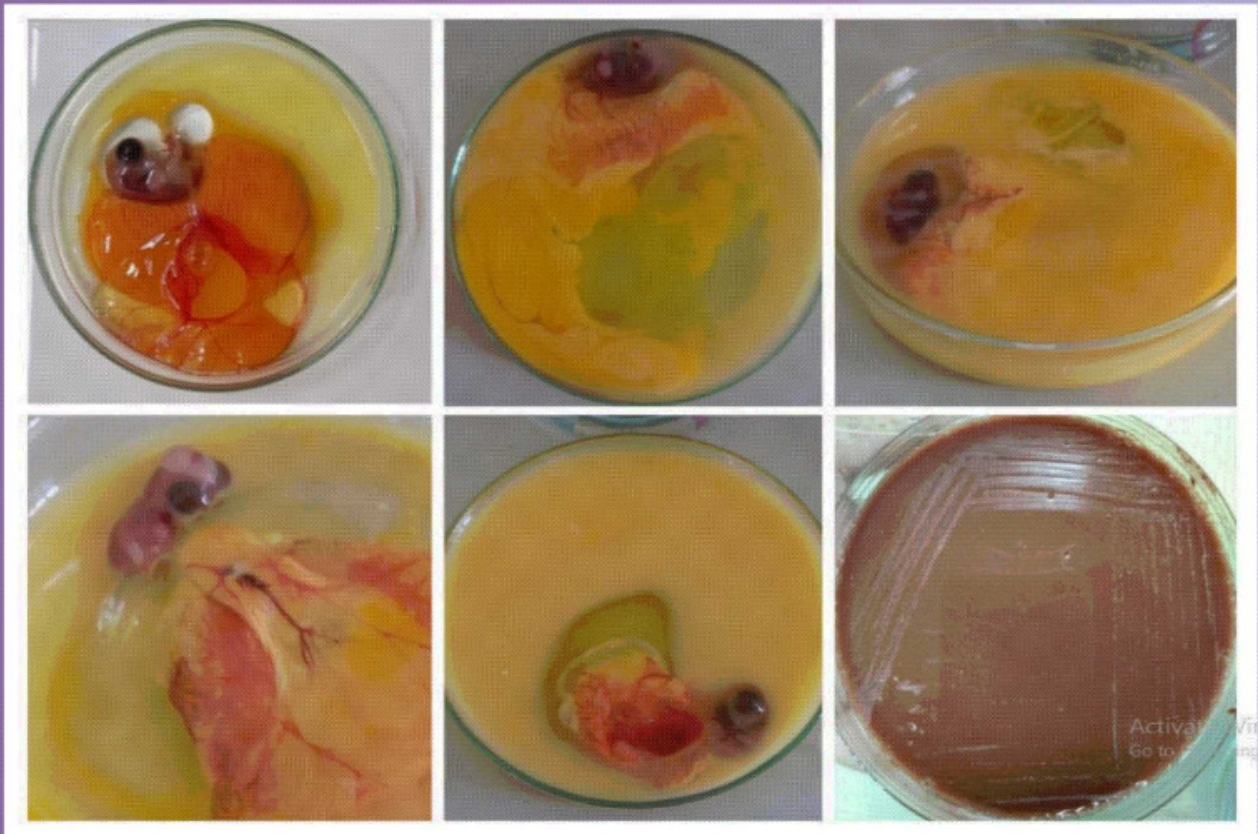


Online
<https://jurnal.ugm.ac.id/jsv>

JSV 38 (3), Desember 2020

ISSN : 0126 - 0421 (print)
ISSN : 2407 - 3733 (online)

Jurnal Sain Veteriner



Terakreditasi Peringkat 2 oleh Kementerian Riset dan Teknologi/
Kepala Badan Riset Inovasi Nasional SK No. 85/M/KPT, tanggal 1 April 2020



FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN, UNIVERSITAS GADJAH MADA
BEKERJA SAMA DENGAN PERHIMPUNAN DOKTER HEWAN INDONESIA



Ketua Dewan Penyunting

Aris Haryanto

Wakil Ketua Dewan Penyunting

Agustina Dwi Wijayanti

Penyunting Pelaksana

Devita Anggraeni

Khrisdiana Putri

Hevi Wihadmadyatami

Dito Anggoro

Konsultan Penyunting

Sentot Santoso (Justus-Liebig-University, Giessen, Jerman)

Hans-Dieter Gersner (Jerman)

Pelaksana Teknik

Endah Choiriyah

Surohmiatun

Mitra Bebestari

A.A. Ayu Mirah Adi (Universitas Udayana)

Ali Agus (Universitas Gadjah Mada)

Amrozi (Institut Pertanian Bogor)

Anang Setiawan Achmadi (Pusat Penelitian Biologi LIPI)

Annytha IR Detha (Universitas Nusa Cendana)

Anwar Rosyidi (Universitas Mataram)

Budi Purwo Widiarso ((Politeknik Pembangunan Pertanian Yogyakarta Magelang)

Chaerul Basri (Institut Pertanian Bogor)

Etih Sudarnika (Institut Pertanian Bogor)

Fatkhanudin Aziz (Universitas Gadjah Mada)

Galuh Tresnani (Universitas Mataram)

Heru Nurcahyo (Universitas Negeri Yogyakarta)

Huda Salahudin Darusman (Institut Pertanian Bogor)

I Gusti Komang Oka Wirawan (Politeknik Pertanian Negeri Kupang)

I Gusti Made Krisna Erawan (Universitas Udayana)

I Gusti Ngurah Bagus Trilaksana (Universitas Udayana)

I Nengah Kerta Besung (Universitas Udayana)

I Wayan Masa Tenaya (Balai Besar Veteriner Denpasar)

I Wayan Suardana (Universitas Udayana)

Ismartoyo (Universitas Hasanuddin)

Joko Daryatmo (Politeknik Pembangunan Pertanian Yogyakarta Magelang)

Khusnan (Akademi Peternakan Brahmputra Yogyakarta)

Luthfirda Sjahfirdi (Universitas Indonesia)

Muhammad Samsi (Universitas Jenderal Soedirman)

Nastiti Wijayanti (Universitas Gadjah Mada)

Priyo Sambodo (Universitas Negeri Papua)

Rini Madyastuti Purwono (Institut Pertanian Bogor)

Sapto Yuliani (Universitas Ahmad Dahlan)

Susan Maphilindawati (Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor)

Tjokorda Gde Oka Pemayun (Universitas Udayana)

Widodo Suwito (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementan RI)

Wiwik Misaco Yuniarti (Universitas Airlangga)

JSV terindeks oleh :



Dicetak oleh:

Seri Offset

Kalangan Jl. Wonosari Km 6,5

Telp. 0858 6905 4302 email : syarif.sdms@gmail.com

PENGANTAR REDAKSI

Para pembaca JSV yang budiman dimanapun berada,

Masih dalam suasana pandemi COVID-19 di tanah air Indonesia, JSV Vol. 38 No. 3 edisi Desember 2020 akhirnya dapat terbit menjelang perayaan Natal 2020 dan Tahun baru 2021. Pada JSV edisi ini adalah edisi ketiga yang terbit pada penghujung tahun 2020 yang mempublikasi sebanyak 12 artikel ilmiah di bidang Veteriner, sehingga secara total sampai akhir tahun 2020 ini, JSV telah mempublikasi sebanyak 36 artikel ilmiah dalam satu tahun.

Setelah JSV terakreditasi kembali sebagai jurnal ilmiah kategori Sinta-2 berdasarkan surat keputusan dari Deputi Bidang Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset dan Teknologi/Badan Riset dan Inovasi Nasional, Republik Indonesia bernomor B/804/E5.2.1/2020 tertanggal 3 April 2020, untuk periode 5 tahun ke depan (2019-2024). Oleh karena itu, kami mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada seluruh Mitra Penulis, kontributor, Pengurus dan sivitas akademika di FKH UGM dan seluruh Stakeholder dimanapun berada atas pencapaian tersebut.

Pada JSV Vol. 38, No. 3 edisi Desember 2020 ini, memuat sebanyak 12 artikel ilmiah dari berbagai bidang ilmu veteriner, yaitu bidang Farmakologi, Reproduksi, Laboratorium Klinis, Mikrobiologi, Fisiologi, Ilmu Penyakit Dalam, Kesehatan Masyarakat Veteriner dan Virologi. Kami dengan senang hati mengundang bapak/ibu/saudara penulis dan kontributor artikel ilmiah untuk mengirimkan manuskript atau draft artikel ilmiah agar dapat dipublikasikan di JSV pada edisi mendatang. Proses submisi artikel harus dilakukan secara *online* melalui *Open Journal System* (OJS) pada situs JSV. Pada situs tersebut, sudah tersedia *Template* untuk artikel ilmiah yang akan disubmisikan, sehingga prosesnya menjadi lebih mudah, fleksibel dan dapat menyeragamkan format penulisan artikel ilmiah pada JSV. Kami juga dengan senang hati menerima kritik, saran dan masukan yang bersifat membangun untuk perbaikan JSV pada masa yang akan datang. Kami selalu berharap bahwa JSV semakin berkembang dalam mempublikasi artikel-artikel ilmiah yang berkualitas di bidang veteriner.

Terimakasih atas perhatian dan kerjasamanya.

Ketua Dewan Penyunting JSV

Aris Haryanto

DAFTAR ISI

Glycerol Reduces Cross Hybridization on Nitrocellulose Membrane <i>Narendra Yoga Hendarta, Abu Tholib Aman, Asmarani Kusumawati, Tri Wibawa</i>	199-205
Faktor-Faktor Risiko <i>Feline Panleukopenia</i> pada Kucing di Daerah Istimewa Yogyakarta <i>Riyandini Putri, Bambang Sumiarto, Guntari Titik Mulyani</i>	206-213
Electrical Stunning sebelum Penyembelihan dapat Menurunkan Serum Superoxide Dismutase Babi <i>Landrace Crossbred</i> <i>Shabrina Fauzia Prayoga, Faisal Fikri, Muhammad Thohawi Elziyad Purnama</i>	214-221
Deteksi <i>Brucella abortus</i> dari Sampel Darah-Utuh dengan Uji <i>Polymerase Chain Reaction</i> Tanpa Ekstraksi DNA <i>David Ardiyanto, Hastari Wuryastuty, Raden Wasito</i>	222-230
Karakteristik Patogenitas <i>Avibacterium paragallinarum</i> Isolat Lapang pada Telur Ayam Berembrio umur 7 hari <i>Lynda Nugrahaning I., Sruti Listra A., Ima Fauziah, Vinsa Cantya P., Sitarina Widyarini, A.E.T.H. Wahyuni</i>	231-236
Faktor Risiko Cemaran <i>Escherichia coli</i> pada Daging Kambing dan Domba Kurban di Provinsi DKI Jakarta <i>Wahyu Septiani, Herwin Pisestyani, Renova Ida Siahaan, Chaerul Basri</i>	237-244
Observation of Uterine Involution In Etawa Crossbreed Goats (<i>Capra hircus</i>) Using Transcutaneous Ultrasonography <i>Juli Melia, Ayu Wannisa, Tongku Nizwan Siregar, Hafizuddin, Budianto Panjaitan, Arman Sayuti, and Syafruddin</i>	245-251
Frekuensi Pulsus dan Nafas Sapi Peranakan Ongole Pasca Beranak yang Diinfeksi Povidone Iodine 1% <i>Junaryoto, Agung Budiyo, Soedarmanto Indarjulianto</i>	252-259
Hematologi dan Mineral Saat Bunting dan Periode Laktasi Kambing Peranakan Ettawa di Kulonprogo, Yogyakarta <i>Sarmin, Amelia Hana, Pudji Astuti, Claude Mona Airin</i>	260-271
Kajian Sinkronisasi Birahi Menggunakan PGF2α pada Kambing Lokal terhadap Kualitas Estrus, Konsentrasi Progesterone, dan Tingkat Kebuntingan <i>Agung Budiyo, Faradina Kusuma Savitri, Yuda Heru Fibrianto</i>	272-279
Seroprevalensi Penyakit Avian Influenza Subtipe H5N1 pada Ayam Buras di Pasar Beringkit dan Galiran, Bali <i>Baiq Indah Pratiwi, Gusti Ayu Yuniati Kencana, I., Nyoman Suartha</i>	280-288
Aktivitas Antimikroorganisme Ekstrak Etanol 70 % Biji Bengkuang terhadap <i>Staphylococcus epidermidis</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Candida albicans</i> <i>Min Rahminiwati, Joshie Ramadhan, Oom Komala</i>	289-298
INDEK PENULIS	299-300
INDEK SUBYEK	301-303

Glycerol Reduces Cross Hybridization on Nitrocellulose Membrane

Gliserol Mengurangi Hibridisasi Silang pada Membran Nitrocellulose

Narendra Yoga Hendarta¹, Abu Tholib Aman², Asmarani Kusumawati³, Tri Wibawa^{2*}

¹ Department of Medical Laboratory Technology, Politeknik Kesehatan
Kementerian Kesehatan Yogyakarta, Yogyakarta

² Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Public Health and Nursing,
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

³ Department of Reproduction & Obstetrics, Faculty of Veterinary Medicine,
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

*Corresponding Author, Email: twibawa@ugm.ac.id

Naskah diterima: 10 April 2019, direvisi: 5 Mei 2019, disetujui: 20 Oktober 2020

Abstrak

Lateral flow assay (LFD) berdasarkan *nucleic acid lateral flow* (NALF) adalah metode yang dikembangkan akhir-akhir ini. Metode ini sesuai dengan tuntutan *point of care testing* (POCT) yaitu mudah dan cepat dalam prosedur kerja, selain itu menggunakan peralatan yang sedikit dan dapat dilakukan oleh petugas yang tidak terlatih khusus. NALF berdasarkan hibridisasi asam nukleat lebih ekonomis daripada uji berdasarkan imunokromatografi yang menggunakan pengenalan antibodi-antigen. Hibridisasi silang menjadi masalah utama terutama digunakan untuk membedakan 2 organisme dengan kandungan GC tinggi dan homologi yang tinggi karena adanya kesamaan genom yang tinggi. Beberapa teknik telah digunakan untuk memberikan kondisi *stringency* tinggi yang dapat menghindari hibridisasi silang. Teknik ini memerlukan tambahan prosedur jika digunakan. Studi ini menemukan bahwa senyawa gliserol dapat digunakan dalam dapar untuk mengurangi kejadian hibridisasi silang pada membran nitroselulose. Studi menggunakan 2 jenis larutan adasar dapar yaitu PBS dan SSC *stringency* tinggi dan konsentrasi tinggi ssDNA sebagai sampel. Tanpa gliserol memberikan hibridisasi silang pada *test line* sedangkan menggunakan gliserol dapat mengurangi bahkan menghilangkan hibridisasi silang pada penggunaan dapar dengan larutan dasar PBS. Selain itu penggunaan gliserol dapat meningkatkan sinyal hibridisasi pada dapar adengan larutan dasar SSC secara nyata ($p>0.05$)

Kata kunci: hibridisasi silang; membran nitroselulose; *nucleic acid lateral flow*

Abstract

Lateral flow assay (LFD) based nucleic acid lateral flow (NALF) method has been developed recently. The method met point of care testing (POCT) as a simple and rapid procedures, less equipment, and it can be performed by less skilled technician. NALF based on nucleic acid hybridization is known more economical than immunochromatography assay which use antibody-antigen recognition. Cross-hybridization has issued while used to differentiate organism with high GC content and high homology as high similarity genome. Some techniques has applied some methods to give high stringency condition avoid cross hybridization reaction but need more procedure to apply. We found glycerol applied to buffer assay could reduce cross hybridization on nitrocellulose membrane. The study used 2 kinds of high stringency buffer there are PBS and SSC bases, , and high concentration of ssDNA amplicon as sample. Without glycerol ingredient gave cross hybridization signal on test line. But used glycerol could reduce those even omitted with PBS based buffer assay. Beside those, glycerol could significantly increased hybridization signal in SSC based buffer assay ($p<0.05$).

Key words: buffer; cross-hybridization; nucleic acid lateral flow; nitrocellulose membrane;

Introduction

Nucleic acid lateral flow has widely used for confirming result of nucleic acid amplification (amplicon). This method relies on hybridization of two complementary nucleic acid sequence, target amplicon and capture probe. The capture probe as recognition sequence immobilized on nitrocellulose membrane and the amplicon as target which bind reporter flow toward immobilized capture probe. Positive result is showed by the signal of reporter, usually color, so it can be detected visually by eye. Due to simplification, rapidness, and uninstrumentation, so that it meet POCT requirement as well as sensitivity and specificity.

Hybridization is a process for binding of two complementary nucleic acid sequence thorough interactions between distinct nucleobases. This method has been used as a tool in recognition technique. It is applied widely while combining with other process such as nanoparticles technology as a simple and rapid procedure (Kusumawati *et al.*, 2015; Lyberopoulou *et al.*, 2016).. Antibody-antigen recognition method as a similar technique was developed, but it is so complicated procedures and high difficulty as well as high cost. So, the hybridization method is more economic (Jauset-Rubio *et al.*, 2016).

Cross hybridization occurs when non specific target DNA bind to capture probe, and it give false positive signal. It occur if the capture probe has high similarity or homology to non target (>70%), long of 100% homology continue sequence, and high GC content (>55%) (Kucho *et. al.*, 2004). Base on this fact, the sequence of capture probe must be designed to avoid them. On the other hand, good capture probe is not qguaranty for the excess of cross hybridization as a result of environment condition also has important role for the success of hybridization. Buffer is known known give suitable environment for required hybridization that is categorized as low, medium, and high stringency as well as temperature of hybridization (Sambrook and Russel, 2001).

It is more difficult to differentiate two or more organism which has high similarity genome related to isolate or serotype and high GC content. Specific sequences have to chosen with compromising of homology to non target, long of 100% homology continue sequence, and high GC content to

avoid cross hybridization (Kucho *et. al.*, 2004). Beside those, it needs a environment to give high stringency using low monovalent cation buffer and higher temperature but it will decrease rate of hybridization (Farrell-Jr, 2010). Low monovalent cation buffer is not always works to omit cross hybridization especially at high concentration of DNA target and low temperature (Sambrook and Russel, 2001). Some chemical reagents such as formamide and DMSO are usually used to increase the specificity that is known by decreasing melting temperature (T_m) mechanism. Formamide also still uses in buffer hybridization until now (Wang *et al.*, 2014).

Hybridization influenced by macroscopic and microscopic viscosity environment that changed of time assay. Microscopic viscosity decreasing renaturation rate of duplex DNA (Anderson and Young, 1985). On the other hand, mmicroscopic viscosity will increase the renaturation rate by increasing micro concentration of DNA sample as a result of exclusion out from water solution (Chang *et al.*, 1974). Glycerol is a organic compound with low molecular weight which change viscosity of buffer assay. The increasing of viscosity lead to the decreasing of velocity which gave adequate time to the two complementary nucleic acid sequence to hybridize.

Materials and Method

Capture probe and ssDNA target

The study used 4 sequences of oligonucleotide (27-28 base lenght) that is showed in Tabel. 1). Those sequences derived from each serotype (1-4) of dengue virus. Those sequences originated from the same region of dengue genome with high similarity (55,5-100%) to ssDNA sample. Thee regions have high GC content (51-71%) and length of continue 100% homology to non target (9-13 nt).

Samples that used in the study was ssDNA with 97 nt in lenght and labeled with biotin at 5' end. Sample ssDNA was anti sense orientation of serotype 1 dengue virus genome that 100% complementary to the capture probe D1 and 55.5 to 64% to the others (D2-D4). All capture probes and ssDNA were supplied by Integrated DNA Technology (USA).

Table 1. Oligonucleotide sequence used in this study

Sequence	Sequence 5'– 3'
D1	CACCAGGGGAAGCTGTACCCTGGTGGT
D2	GGTGAGATGAAGCTGTAGTCTCACTGG
D3	GCACTGAGGGGAAGCTGTACCTCCTTGCA
D4	AGCCAGGAGGAAGCTGTACTTCTGGTGG
ssDNA	Biotin-GGTCTCCTCTAACCTCTAGTCCTT <i>ACCACCAGGGTACAGCTTCCCCTGGTGTGGGCCCCGCTGCT</i> GCGTTATGTTTCGGGAGGGGTCTCCTC TAACC

Note: Specific bases for serotype printed in bold; sequence complementary to D1 in italic

Table 2. Oligonucleotide characteristics

Capture Probe	Length (nt)	GC content (%)	Tm (°C)	Homology to ssDNA (%)	Length of 100% continue sequence complementary to ssDNA
D1	28	61.7	48.5	100.0	28
D2	27	51.8	43.9	55.5	9
D3	28	57.1	47.1	64.3	13
D4	28	57.1	47.1	57.1	11

Notes: Tm: melting temperature calculated using Sambrook and Russel (2001) with Na⁺ 0,068 mM (PBS 0,5x), 1 base mismatch 1 base and 15% formamide 15%

DNA dipstick assembly

One hundred micro liter of each capture probes were immobilized into test pad (nitrocellulose membrane, Merck-Millipore, India) at speed of 0,06 µL/mm dispense rate using Isoflow dispenser (Imagine Technology, USA) in order to gave 0.6 mm wide on nitrocellulose membrane. Gold nano particles conjugated streptavidin (AuPNs-SA) (15 nm, OD 20) was spread on nylon membrane at 2x0,25 µL/mm dispense rate. Then, they were dried in an hour in dehumidifier. Stripped capture probes were immobilized on membrane by cross linking using UV lamp (30 W, 256 nm) (G30T8 Phillip, USA) for 120 seconds. Nylon membrane, nitrocellulose membrane and absorbent paper were assembled on backing plastic sheet. Then, it cut into 4 mm wide (Kinematic Automation, USA) and stored in closed packing at dry condition.

Hybridization assay

Assay was conducted with both sample ssDNA (100, 50, 25, 12.5 pmol) and 100 µL buffer assay at room temperature (25-30°C). A quantity of sample was dropped into nylon membrane followed by 100 µL buffer assay. Buffer components were BSA (Sigma, USA), Tween20 (Sigma, USA), sucrose (Nacalai Tesque,

Japan), glycerol (Merck, German), SDS (Sigma, USA), TritonX100 (Sigma, USA), PBS (Nacalai Tesque, Japan). Buffer PBS 0.5x ingredients were 0,5% BSA, 0,125% Tween-20, 5% sucrose, 15% formamide in 0.5x PBS solution. Buffer 0,5x SSC solution were SDS 0,1%, tritonX-100 1,4%, formamide 15% in 0.5x SSC solution. Both sample and buffer flowed laterally with AuPNs-SA to upper section of dipstick DNA, test pad and absorbent pad. Hybridization of ssDNA target with capture probe occurred and color signal on test line of nitrocellulose membrane rose in minutes. It waited until 90 minutes until the reaction finished. All assay tests waswere conducted triple. Color signal was scanned by commercial scanner (Hp Deskjet 2600) and the quantification of color intensity was conducted using ImageJ software (NIH, USA). The difference effect of color signal with different buffer solution was analyzed using Anova one way with SPSS 16 software. Cross hybridization occurrence on each test line was confirmed visually by naked-eye.

Results and Discussions

Result of study showed cross hybridization was occurred on D3 and D4 test line using PBS 0,5X and D4 using SSC 0.5X buffer assay.

This phenomenon was predicted as a result of some mismatches between two complementary nucleotide sequences. A small part of nucleobase cannot generate hydrogen bonding to a target, but, the others the adjacent nucleobases still bind to form base-pairing to complementary bases as target. Distribution of mismatch position in probe or target gives effect on hybridization. Possibility of cross hybridization is less if bases mismatch was distributed along or in central sequence (Letowski *et al.* 2004). Mismatch bases at position 5' and/or 3' end of sequence will give more possibility to occur of cross hybridization. Capture probes (D1, D2, D3, and D4) had specific bases to serotype or mismatch bases to non-target serotype where were distributed at 5' and/or 3' end of sequence (Letowski *et al.* 2004). On the other side, each probe sequences shared 9-13 bases in central sequence that contain 100% homology continue as conserved region. Sequence with less than 14 bases length did not showed cross hybridization while having less 51% GC contain and 75% homology (Kane *et al.*, 2000). Another study claimed 18-23 bases did not show cross hybridization which sequence that had less than

51% homology and 55% GC contain (Kucho *et al.*, 2004).

Low stringency condition led to mismatch base pairing. If the hybridization temperature is so below than melting temperature, it will caused nucleobases making the formation of unspecific base-pairing. It is known easier to form nucleobase binding at low temperature spontaneously, although there some uncomplimentary bases are distributed along sequence, and two of less complementary sequences can be hybridized untightly. In contrary, at higher temperature, the ability of nucleobase to bind will decrease, so that only nucleobase with higher binding energy can be forming base pairing. The binding strength can be showed by Gibbs free energy (ΔG) which calculated from the number of base-pairing along sequence (Gao *et al.* 2006). If the value of ΔG is minus, it showed the energy is spontaneously to form duplex at certain temperature. In oppositely, while Gibbs free energy (ΔG) has positive value, that means is a energy to release the formation of duplex at certain temperature. This energy also depends on temperature. In the higher temperature, is known will decrease of energy. Sometimes, at

Table. 3. Color signal visual inspection of buffer solution test using ssDNA DENV1 in triple repeating

Buffer	Sample Concentration (pmol)	Color Signal											
		Test Line D1			Test Line D2			Test Line D3			Test Line D4		
		Repeating			Repeating			Repeating			Repeating		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
PBS 0.5X	100	+	+	+	-	-	-	+	+/-	+	+	+/-	+
	50	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+/-	-	+
	25	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+/-	+
	12.5	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+/-	+/-
	6.25	+/-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PBS 0.5X + 15% Glycerol	100	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	50	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	25	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12.5	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6.25	+/-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SSC 0.5X	100	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-
	50	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-
	25	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-
	12.5	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-
	6.25	+	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SSC 0.5X + 15% Glycerol	100	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-
	50	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-
	25	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12.5	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6.25	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

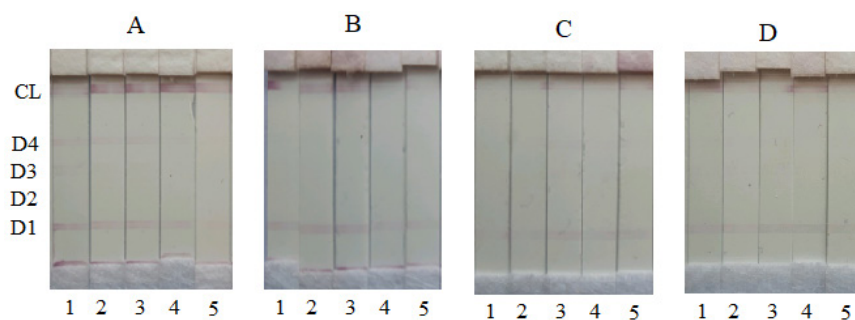


Figure 1. Color signal on NALF. A: PBS buffer; B: PBS+Glycerol buffer; C: SSC buffer; D: SSC+Glycerol buffer; 1, 2, 3, 4, 5 were 100, 50, 25, 12.5, 6.25 pmol of DENV1 ssDNA.

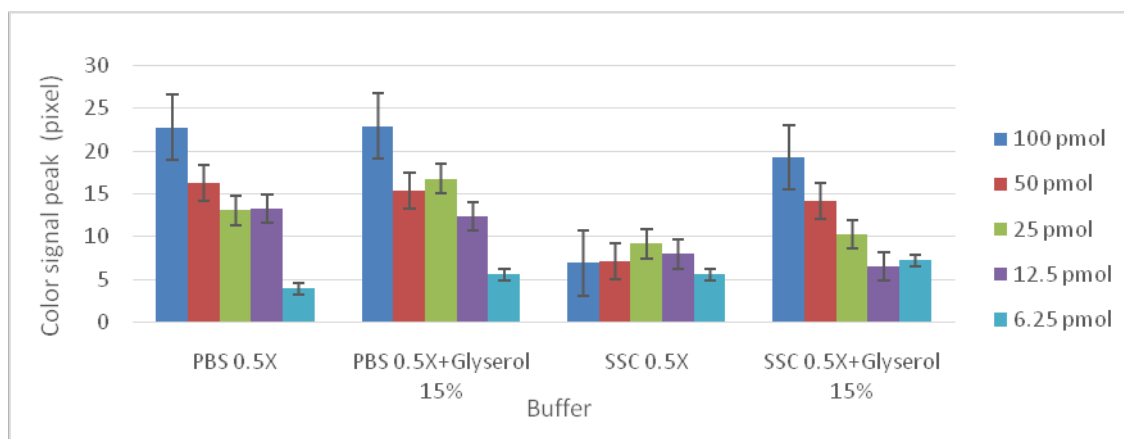


Figure 2. Color signal intensity in variation type of buffer solution using ssDNA DENV1 sample

higher temperature, the binding of complementary sequence still exist as a result of its high binding energy so that it give more matched base-pairing (Weckx *et al.*, 2007). NALF method that is preferred to use at room temperature hybridization in order to pullful of POCT requiring, so that it was needed the strategy to compromise all condition that effected NALF performance (specificity and sensitivity). Several strategy such as probe design, buffer, and temperature. In this study, probe and temperature was fixed caused of the nature of genome and its goal of application. These facts drove buffer as a strategy that was predicted becoming factor influencing performance.

The result show, very low monovalent cation (0.068 mM Na⁺) and high concentration of formamide (15%) in PBS and SSC based buffer assay was still giving cross hybridization on D3 and D4 test line. Those reagent composition keep highly stringency as a result of decreasing T_m which is showed in T_m calculation (Sambrook and Russel, 2001). Hybridization reaction at room temperature gave cross hybridization. But, addition of 15% glycerol to PBS and SSC based buffer

assay showed reducing of cross hybridization on D3 and D4. Cross hybridization did not occur at the treatment with PBS + glycerol all for all sample concentration. The use of SSC + glycerol, showed cross hybridization did not occur at a lower sample concentration (<50 pmol) (Table. 3). Glycerol could increase color signal significantly (p<0.05) at SSC based buffer assay. The result was in line with previous study, Reinhartz *et al.* (1993) and Dave, N. and Liu (2010), showed glycerol increased efficiency hybridization by controlling velocity of flowing buffer assay and volume of target sample moved to immobilized probe (test line). Addition of glycerol would increase viscosity and reduced the flowing speed of buffer assay and also the volume migration of target sample. These phenomena might reduce the formation of cross hybridization. The result can be seen on the the consistency of color signal for concentration level at SSC+glycerol buffer (Fig.2) compared with SSC bases buffer without glycerol.. This phenomena might be as the other effect of glycerol addition to buffer hybridization.

Conclusions

Glycerol in hybridization assay buffer could reduce cross hybridization on membrane nitrocellulose. This reagent could be applied to avoid cross hybridization issue that led to false positive interpretation especially for hybridization method to NALF assay that is usually applied at room temperature..

Acknowledgment

This research was funded by INSINAs from Ministry of Research, Technology, and Higher Education of Indonesia. We thank to Prof. Dr. dr. Mulyanto and Prof. Ir. Sulaiman N. Depamede, M.Biotech, Ph.D from Hepatika Mataram and Universitas Mataram, West Nusa Tenggara Province for generously helping to produce fabricated-NALF

References

- Anderson, M.L.M. and Young. B.D. (1985) Quantitative filter hybridization. In: *Nucleic Acid Hybridization, a Practical Approach*. Hames, B.D. and Higgins, S.J. (Eds.), IRL Press, Oxford, pp. 73-111.
- Chang, C.T., Hain, T.C., Hutton, J.R. and Wetmur, J.G. (1974) Effect of microscopic and macroscopic viscosity on the rate of renaturation of DNA. *Biopolymers* 13 (1974) 1847-1858.
- Dave, N. and Liu., J. (2010) Fast Molecular Beacon Hybridization in Organic Solvents with Improved Target Specificity, *J. Phys. Chem. B* 2010, 114, 15694–15699
- Farrell-Jr, R.E. 2010. A Laboratory Guide for Isolation and Characterization *In Practical Nucleic Acid Hybridization in RNA Methodologies (4th Edition)*, Academic Press, New York. p. 287
- Gao, Y., Wolf, L.K. and Georgiadis, R. M. (2006). Secondary structure effects on DNA hybridization kinetics: a solution versus surface comparison. *Nucleic Acids Research*, 34 (11), doi:10.1093/nar/gkl422, pp. 3370–3377.
- Haslam, N.J., Whiteford, N.E., Weber, G., Prugel-Bennett, A., Essex, J.W., and Neylon, C. (2008). Optimal probe length varies for targets with high sequence variation: implications for probe library design for resequencing highly variable genes. *PLoS One*. 3(6):e2500
- Jauset-Rubio, M, Svobodová, M., Mairal, M., Mc-Neil, C., Keegan, N., Saeed, A., Abbas, MN., El-Shahawi, MS., Bashammakh, AS, Alyoubi, AO., and O’Sullivan, CK., 2016, Ultrasensitive, rapid and inexpensive detection of DNA using paper based lateral flow assay. *Sci. Rep.* 6, 37732; doi: 10.1038/srep37732
- Kucho, K., Yoneda, H., Harada, M. and Ishiura, M. 2004. Determinants of sensitivity and specificity in spotted DNA microarrays with unmodified oligonucleotides. *Genes Genet Syst.*, 79:189-197.
- Kusumawati,A., Tampubolon,I.D.,Hendarta,N.Y., Salasia, S.I., Wanahari, T.A., Mappakaya, B.A. and Hartati, S. (2015). Use of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification combined with lateral flow dipstick for an easy and rapid detection of Jembrana disease virus. *Virusdisease.*, 26(3):189-95. doi: 10.1007/s13337-015-0277-5
- Letowski, J., Brousseau,R., and Masson, L., 2004, Designing better probes: effect of probe size, mismatch position and number on hybridization in DNA oligonucleotide microarrays, *Journal of Microbiological Methods*, 57, pp. 269– 278
- Lyberopoulou, A., Efstathopoulos, E. P. and Gazouli.M. 2016. Chap. 6. Nanotechnology-Based Rapid Diagnostic Tests, in Proof and Concepts, in *Rapid Diagnostic Tests and Technologies*. Shailendra K. Saxena ed., InTechOpen, pp. 89-105
- Reinhartz,A.,Alajem,S.,Samson,A.andHerzberg, M., (1993) A novel rapid hybridization technique: paper chromatography hybridization assay (PACHA), *Gene*, 136, 221-226

- Sambrook, J. and Russel, D.W. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual vol.1*. 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, p. 10.2
- Wang, X., Lim, HJ, and Son, A., 2014 , Characterization of denaturation and renaturation of DNA for DNA hybridization, *Environ Health Toxicol.* , 29: e2014007
- Weckx, S., Carlon, E., Vuyst, L.D. Hummelen, P. V. (2007) Thermodynamic behavior of short oligonucleotides in microarray hybridizations can be described using Gibbs free energy in a nearest-neighbor model. *J. Phys. Chem. B*, 111 (48), pp 13583–13590

Faktor-Faktor Risiko *Feline Panleukopenia* pada Kucing di Daerah Istimewa Yogyakarta

Risk Factors of Feline Panleukopenia in Cats in Special Region of Yogyakarta

Riyandini Putri^{1*}, Bambang Sumiarto², Guntari Titik Mulyani³

¹Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

²Departemen Kesehatan Masyarakat Veteriner

³Departemen Ilmu Penyakit Dalam

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Jalan Fauna No. 2, Karangmalang, Yogyakarta 55281

*Email: riyandini.putri@mail.ugm.ac.id

Naskah diterima: 21 Agustus 2019, direvisi: 19 Nopember 2019, disetujui: 3 Desember 2019

Abstract

Feline panleukopenia virus (FPV) infection in cats caused a disease called feline panleukopenia with high morbidity and mortality worldwide. This study was designed to investigate the risk factors of feline panleukopenia in Special Region of Yogyakarta. A retrospective case-control study used 35 cats in each of the case and control group. Case group is defined as cat tested positive with Anigen FPV Ag Test Kit (Bionote, South Korea). Control group is defined as healthy owned cat within the same neighbourhood of case group cat which matched by age and sex. The data assessment was included owner characteristics i.e. formal education, occupation, duration of having cat(s), monthly maintenance cost, and interaction time per day, also cat characteristics i.e. breed, neuter status, origin, husbandry, and vaccination status. Data was analysed using EpiInfo (chi-square and odds ratio) and manually calculated (estimated attributable fraction). Associated risk factors to feline panleukopenia incidents were unvaccinated cat, introduction of new cat(s), cat origins i.e pet shop or pet market, being a stray cat, domestic breed, and novice cat(s) owner (less than a year). It can be advised that owner's knowledge about vaccination and quarantine of new cat are the most important measures to prevent feline panleukopenia.

Key words: case-control study; cats; feline panleukopenia

Abstrak

Feline panleukopenia virus (FPV) pada kucing menyebabkan *feline panleukopenia*. Penyakit ini memiliki morbiditas dan mortalitas tinggi dengan penyebaran di seluruh dunia. Penelitian ini bertujuan untuk menidentifikasi faktor-faktor risiko *feline panleukopenia* pada kucing di Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY). Kajian kasus kontrol retrospektif digunakan dengan 35 kasus dan 35 kontrol. Kelompok kasus meliputi semua kucing penderita *feline panleukopenia* yang dinyatakan positif pada pengujian *Anigen FPV Ag Test Kit* (Bionote, Korea Selatan). Kelompok kontrol adalah kucing yang dipelihara oleh tetangga pemilik kucing kelompok kasus dengan umur dan jenis kelamin sebagai variabel *matching*. Faktor risiko yang diteliti meliputi karakteristik pemilik (pendidikan, pekerjaan, lama memelihara kucing, biaya pemeliharaan per bulan, dan waktu interaksi per hari) serta karakteristik kucing meliputi jenis kucing, status kebiri, asal kucing, manajemen pemeliharaan, serta status vaksinasi. Analisis data dilakukan dengan EpiInfo (*chi-square* dan *odds ratio*) dan perhitungan manual (*estimated attributable fraction*). Hasil penyidikan menunjukkan bahwa faktor risiko *feline panleukopenia* adalah kucing yang tidak divaksin, keberadaan kucing baru, asal kucing dari pasar hewan dan kucing liar, kucing lokal, dan memelihara kucing kurang dari satu tahun. Dari hasil penelitian dapat disarankan bahwa vaksinasi dan karantina kucing baru merupakan tindakan paling penting dalam pencegahan *feline panleukopenia*.

Kata kunci: studi kasus-kontrol; kucing; *feline panleukopenia*

Pendahuluan

Kepemilikan kucing di Indonesia meningkat setiap tahunnya. Pemeliharaan kucing sebelumnya ditujukan untuk mengurangi populasi tikus, tetapi saat ini masyarakat memelihara kucing sebagai kegemaran atau hewan kesayangan. Oleh karena itu, masyarakat akan lebih memperhatikan kesehatan dari kucing peliharaannya dan memeriksakan ke klinik atau rumah sakit hewan jika kucing terserang suatu penyakit. *Feline panleukopenia* adalah salah satu penyakit yang sering menginfeksi kucing.

Feline panleukopenia disebabkan oleh *feline panleukopenia virus* (FPV) yang merupakan anggota famili *Parvoviridae*. Gejala klinis bervariasi mulai dari infeksi subklinis hingga perakut yang ditandai dengan kematian secara tiba-tiba. Kucing yang terinfeksi mengalami kematian akibat komplikasi dari infeksi sekunder dari bakteri, sepsis, dehidrasi, dan *disseminated intravasal coagulopathy* (DIC). Tingkat morbiditas dan mortalitas cukup tinggi terutama pada kucing muda di bawah 12 minggu. *Feline panleukopenia* akut memiliki tingkat mortalitas 25-90% dan mencapai 100% pada infeksi perakut (Hartmann, 2017). Prevalensi FPV pada masing-masing daerah berbeda. Beberapa klinik hewan melaporkan banyak kasus *feline panleukopenia*, tetapi juga ada yang tidak melaporkan kasus meskipun metode diagnosa yang digunakan sama (Decaro *et al.*, 2010; Truyen dan Parrish, 2013; Hartmann, 2017).

Kasus *feline panleukopenia* pertama kali dilaporkan pada tahun 1920-an oleh Verge dan Christoforoni (1928). Saat ini antibodi terhadap *feline panleukopenia* telah dilaporkan di beberapa negara, seperti Vietnam (Miyazawa *et al.*, 1999), Thailand (Pirarat *et al.*, 2002), Amerika Serikat (Lappin *et al.*, 2002; DiGangi *et al.*, 2011; Litster and Benjanirut, 2014), Korea Selatan (Kang *et al.*, 2007; Shin *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2013), Jerman (Neurer *et al.*, 2008; Mende *et al.*, 2014), Iran (Mosallanejad *et al.*, 2009), Italia (Decaro *et al.*, 2010), Hungaria (Demeter *et al.*, 2010), Portugal (Duarte *et al.*, 2012; Miranda *et al.*, 2017), India (Parthiban *et al.*, 2014; Mukhopadhyay *et al.*, 2017; Raheena *et al.*, 2017), Turki (Gur dan Avdatek, 2016), dan Mesir (Awad *et al.*,

2018). Infeksi *feline panleukopenia* pada kucing di Indonesia telah dibuktikan secara serologik dengan uji hemagglutinasi (HI) dan uji serum netralisasi (SN) oleh Syafriati dan Sendow (2003). Titer antibodi positif berdasarkan uji HI yaitu sebanyak 79,17% dan SN 76,54% untuk wilayah DKI Jakarta dan Bogor.

Terapi kausatif untuk *feline panleukopenia* saat ini belum ada, sehingga pencegahan penyakit diutamakan untuk pengendalian penyakit. Program pencegahan penyakit yang baik memerlukan pengetahuan mengenai faktor risiko terjadinya penyakit. Penelitian mengenai faktor risiko kejadian *feline panleukopenia* di Indonesia belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui faktor-faktor risiko yang mempengaruhi kejadian *feline panleukopenia* serta asosiasi, kekuatan, dan efek antara faktor penyebab dengan kejadian *feline panleukopenia* pada kucing di Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY) sehingga pencegahan penyakit dapat dilakukan sedini mungkin. Faktor-faktor yang akan dikaji pada kajian kasus-kontrol ini meliputi jenis kucing, status kebiri, asal kucing, manajemen pemeliharaan, serta status vaksinasi dengan variabel *matching* berupa jenis kelamin dan umur. Karakteristik responden meliputi pendidikan formal, pekerjaan, lama memelihara kucing, biaya pemeliharaan per bulan, dan waktu interaksi dengan kucing per hari.

Materi dan Metode

Populasi Studi

Besaran sampel pada kelompok kasus dan kelompok kontrol dengan rasio 1:1 dihitung menggunakan rumus Schlesselman (1982). Hasil sampel dalam setiap kelompok sebesar 16 diperoleh dari nilai $\psi = 15,575$ (Bergmann *et al.*, 2018) dan $p_0 = 0,05$. Penelitian ini menggunakan 35 ekor kucing pada kelompok kasus dan 35 ekor kucing pada kelompok kontrol.

Kelompok kasus meliputi kucing penderita *feline panleukopenia* yang didiagnosis secara klinis dan dinyatakan positif dengan uji *Anigen FPV Ag Test Kit* (Bionote, Korea Selatan). Kasus yang digunakan adalah kasus yang tercatat dalam rekam medis pada bulan Oktober – Desember 2018 pada klinik hewan Kayu Manis dan Naroopet

di DIY. Kucing pada kelompok kasus meliputi semua golongan umur dan jenis kelamin, berada di wilayah DIY, serta memiliki pemilik. Kelompok kontrol adalah kucing yang dipelihara oleh tetangga dari pemilik kucing pada kelompok kasus dalam satu RT dengan umur dan jenis kelamin disesuaikan dengan kelompok kasus. Kucing dikeluarkan dari kelompok kasus dan kontrol apabila kucing tidak memiliki pemilik dan tidak memiliki data historis seperti halnya pada kucing liar. Selain itu, apabila kucing pernah tidak pulang selama lebih dari satu minggu maka kucing tidak dipilih sebagai sampel. Penentuan faktor risiko dilakukan dengan wawancara pemilik kucing menggunakan kuisioner terstruktur. Observasi lingkungan sekitar rumah responden dilakukan untuk mencocokkan jawaban wawancara.

Analisis Data

Tabel 3x2 dan 4x2 ditransformasi untuk memperoleh variabel *dummy* dalam tabel 2x2 sehingga pengaruh dari setiap variabel *dummy* terhadap kejadian penyakit dapat diketahui. Analisis data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak EpiInfo untuk mengetahui nilai *McNemar's test*, *Fisher's exact test*, nilai probabilitas (p), *odds ratio* (OR), dan *95% confidence interval* (CI). Estimasi *attributable fraction* (AF) dihitung menggunakan rumus $\frac{OR-1}{OR}$ (Martin et al., 1987).

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik demografi pemilik diteliti untuk memahami potensi hubungan antara faktor pemilik

Tabel 1. Analisis bivariat faktor pemilik kucing terhadap kejadian *feline panleukopenia*.

No.	Variabel	Kontrol		Estimasi OR	95% CI	Estimasi AF	Nilai p
1.	Pendidikan terakhir	Sekolah Menengah Atas (SMA)	Perguruan Tinggi (PT)				
		Kasus Sekolah Menengah Atas (SMA)	0	7	1,40	0,44-4,41	0,29
		Kasus Perguruan Tinggi (PT)	5	23	Ref.		
2.	Pekerjaan Pegawai Negeri Sipil (PNS)	Ya	Tidak				
		Kasus Ya	1	6	3,00	0,60-14,86	0,67
		Tidak	2	26	Ref.		
	Swasta	Tidak	Ya				
	Kasus Tidak	2	10	3,33	0,92-12,11	0,70	0,057
		Ya	3	20	Ref.		
3.	Lama memelihara kucing	Ya	Tidak				
		Kasus Ya	0	5	5,00	0,58-42,80	0,80
		Tidak	1	29	Ref.		
4.	Biaya setiap bulan	≤ Rp 500.000	> Rp 500.000				
		Kasus ≤ Rp 500.000	22	7	1,75	0,51-5,98	0,43
		> Rp 500.000	4	2	Ref.		
5.	Waktu interaksi harian	> 30 menit	≤ 30 menit				
		Kasus > 30 menit	24	6	2,00	0,50-12,36	0,50
		≤ 30 menit	3	2	Ref.		

Keterangan : p : Probabilitas; * p < 0,05; OR : Odds ratio; CI : Confidence interval; AF : Attributable fraction; Ref. : Nilai referensi atau pembandingan.

dan manajemen pemeliharaan kucing terhadap kejadian penyakit. Faktor pemeliharaan kucing dan gaya hidup mungkin mempengaruhi risiko paparan agen infeksius, risiko trauma fisik, atau kecenderungan adanya masalah perilaku tertentu (Johnston *et al.*, 2017).

Analisis faktor responden atau pemilik terhadap kejadian *feline panleukopenia* dapat dilihat

pada Tabel 1. Lama pemeliharaan dihubungkan dengan pengalaman memelihara kucing. Waktu pemeliharaan kucing semakin lama maka pemilik memiliki pengetahuan lebih banyak mengenai perilaku kucing dan melakukan manajemen pemeliharaan yang baik. Kucing dengan pemilik yang memelihara kucing kurang dari satu tahun memiliki kemungkinan 3,50 kali lebih besar

Tabel 2. Analisis bivariat faktor risiko karakteristik kucing terhadap kejadian *feline panleukopenia*.

No.	Variabel	Kontrol		Estimasi OR	95% CI	Estimasi AF	Nilai p		
1.	Jenis Kucing	Kucing Ras		Tidak	Ya	1,86 Ref.	0,74-4,65	0,46	0,180
		Kasus	Tidak	7	13				
			Ya	7	8				
	Kucing Lokal			Ya	Tidak	4,00 Ref.	1,13-14,18	0,75	0,021*
		Kasus	Ya	2	12				
			Tidak	3	18				
Kucing Campuran			Tidak	Ya	1,67 Ref.	0,61-4,59	0,40	0,332	
	Kasus	Tidak	19	10					
		Ya	6	0					
2.	Kebiri			Tidak	Ya	9,00 Ref.	1,14-71,04	0,89	0,125
		Kasus	Tidak	25	9				
		Ya	1	0					
3.	Asal Kucing	Pasar Hewan		Ya	Tidak	10,00 Ref.	1,28-78,12	0,90	0,006*
		Kasus	Ya	1	10				
			Tidak	1	23				
	Adopsi Kucing Liar			Ya	Tidak	9,00 Ref.	1,14-71,04	0,89	0,012*
		Kasus	Ya	1	9				
			Tidak	1	24				
Pemberian			Tidak	Ya	3,00 Ref.	0,97-9,30	0,67	0,049*	
	Kasus	Tidak	17	12					
		Ya	4	2					
Dipelihara Sejak Kecil			Tidak	Ya	3,25 Ref.	1,06-9,97	0,70	0,031*	
	Kasus	Tidak	14	13					
		Ya	4	4					
4.	Keberadaan Kucing Baru			Ya	Tidak	13,00 Ref.	3,09-54,78	0,92	0,000*
		Kasus	Ya	5	26				
		Tidak	2	2					
5.	Jumlah Kucing	Satu kucing		> satu kucing		1,50 Ref.	0,61-3,67	0,33	0,371
		Kasus	Satu kucing	3	12				
		> satu kucing	8	12					
6.	Sistem Pemeliharaan	Indoor		Tidak	Ya	2,00 Ref.	0,75-5,33	0,50	0,167
		Kasus	Tidak	3	12				
			Ya	6	14				
	Outdoor			Ya	Tidak	9,00 Ref.	0,48-167,17	0,89	0,074
		Kasus	Ya	0,5 ^a	4,5 ^a				
			Tidak	0,5 ^a	31,5 ^a				
Indoor dan Outdoor			Tidak	Ya	3,50 Ref.	0,06-1,37	0,71	0,109	
	Kasus	Tidak	9	2					
		Ya	7	17					
7.	Vaksinasi			Tidak	Ya	29,00 Ref.	3,95-212,90	0,96	0,000*
		Kasus	Tidak	4	29				
		Ya	1	1					

Keterangan: p : Probabilitas; * p < 0,05; OR : Odds ratio; CI : Confidence interval; AF : Attributable fraction; ^a : koreksi Haldane-Anscombe, Ref. : Nilai referensi atau pembandingan.

terjangkit *feline panleukopenia* dibandingkan kucing dengan pemilik yang telah memelihara kucing lebih dari satu tahun.

Faktor pemilik meliputi pendidikan, pekerjaan Pegawai Negeri Sipil (PNS), pegawai swasta, pelajar, biaya yang dikeluarkan dalam satu bulan untuk setiap kucing, dan waktu harian interaksi dengan kucing tidak memiliki asosiasi terhadap kejadian penyakit *feline panleukopenia* ($p > 0,05$). Hasil penelitian Brady et al. (2012) menunjukkan bahwa pengaruh faktor sosio-ekonomi terhadap penyakit *canine parvovirus* di Australia berbeda dengan penelitian ini. Hasil penelitian tersebut menyebutkan bahwa kejadian penyakit lebih tinggi pada klaster dengan sosio-ekonomi tingkat bawah serta tingkat pekerjaan, penghasilan, dan pendidikan rendah. Pemilik hewan kesayangan yang berpendidikan lebih rendah berpeluang lebih tinggi untuk membuang atau mengeliminasi hewan mereka ke *shelter*. Hal ini berpengaruh besar pada overpopulasi hewan kesayangan (Ramon et al., 2010) yang berperan dalam penyebaran penyakit. Kucing dengan biaya perawatan lebih besar mengindikasikan bahwa manajemen pemeliharaan kucing tersebut lebih baik karena pemilik mengeluarkan uang lebih banyak untuk pakan, pasir, dan perawatan kesehatan meliputi sterilisasi atau kebiri, obat cacing untuk parasit intestinal profilaksis, dan vaksinasi (Ramon et al., 2010; Brady et al., 2012).

Analisis karakteristik kucing terhadap kejadian *feline panleukopenia* dapat dilihat pada Tabel 2. Kucing lokal memiliki asosiasi terhadap kejadian penyakit *feline panleukopenia* ($p = 0,021$) dan mempunyai kemungkinan 4,00 kali lebih besar terjangkit *feline panleukopenia* dibandingkan kucing ras dan kucing campuran. Kasus *feline panleukopenia* dapat dieliminasi sekitar 75% pada kucing ras dan campuran. Manajemen pemeliharaan termasuk tindakan preventif pada kucing lokal biasanya tidak sebaik kucing ras atau kucing campuran sehingga kucing lokal lebih rentan terhadap penyakit.

Faktor kucing ras, kucing campuran, dan status kebiri ($p > 0,05$) tidak memiliki asosiasi terhadap kejadian penyakit *feline panleukopenia*. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mende et al. (2014) bahwa jenis kucing atau *breed* yang terbatas pada jenis *maine coon* dan *domestic*

short hair ($\chi^2 = 1,75$) serta status kebiri ($\chi^2 = 0,05$) tidak memiliki asosiasi dengan kurangnya antibodi terhadap *feline panleukopenia virus* (FPV).

Asal kucing memiliki asosiasi dengan kejadian *feline panleukopenia*. Kucing yang berasal dari pasar hewan (OR = 10,00) dan adopsi kucing liar (OR = 9,00) memiliki kemungkinan lebih besar terjangkit *feline panleukopenia*. Kucing di pasar hewan dapat mengalami stres lingkungan akibat *overcrowding*, umur muda, dan belum divaksin sehingga kucing rentan terhadap infeksi FPV. Kim et al. (2013) mengungkapkan bahwa kucing liar menunjukkan tingkat positif FPV lebih tinggi dibandingkan kucing yang dipelihara dalam rumah karena kucing liar terpapar stres lingkungan lebih tinggi dan biasanya tidak divaksin.

Kucing yang dipelihara sejak kecil memiliki kemungkinan lebih kecil terjangkit *feline panleukopenia*. Kucing yang dipelihara sejak kecil bersama dengan induknya biasanya memiliki antibodi maternal yang cukup. Bila induk kucing sudah divaksin, maka kucing tersebut akan memiliki kekebalan terhadap infeksi FPV.

Penelitian ini menunjukkan bahwa keberadaan kucing baru memiliki asosiasi terhadap kejadian penyakit *feline panleukopenia* ($p = 0,000$). Populasi dengan kucing baru mempunyai kemungkinan 13,00 kali lebih besar terjangkit *feline panleukopenia* dibandingkan populasi tanpa keberadaan kucing baru. Kasus *feline panleukopenia* dapat dieliminasi sekitar 92% pada populasi tanpa kucing baru. Menurut Möstl et al. (2013), karantina pada kucing yang masuk ke dalam *cat shelters* memerlukan waktu minimal selama 3 minggu hingga vaksin mulai bekerja. Kucing yang baru masuk dalam *cat shelter* harus diperiksa oleh dokter hewan kemudian diberi obat cacing dan vaksinasi secepatnya. Hal-hal tersebut di atas dapat dilakukan oleh pemilik untuk mencegah penularan *feline panleukopenia* atau penyakit infeksius lainnya pada kucing baru.

Kolom tabel sistem pemeliharaan kucing *outdoor* pada Tabel 2 bernilai 0 sehingga *Haldane-Anscombe correction* diterapkan (Ruxton and Neuha, 2013). Jumlah kucing yang dipelihara dan sistem pemeliharaan *indoor*, *outdoor*, maupun campuran tidak memiliki asosiasi dengan kejadian *feline panleukopenia* ($p > 0,05$). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Blanco et al. (2009).

Vaksinasi memiliki asosiasi terhadap kejadian penyakit *feline panleukopenia* ($P = 0,000$). Kucing yang belum divaksin mempunyai kemungkinan 29,00 kali lebih besar terjangkit *feline panleukopenia* dibandingkan kucing yang telah divaksin. Kasus *feline panleukopenia* dapat dieliminasi sekitar 96% pada kucing yang telah divaksin. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mende *et al.* (2014) bahwa kucing tanpa vaksinasi ($\chi^2 = 23,51$) memiliki asosiasi dengan kurangnya antibodi terhadap FPV sehingga kucing berisiko terinfeksi *feline panleukopenia*.

Kesimpulan dan Saran

Kucing yang tidak divaksin (OR= 29,00; 95% CI= 3,95-212,90), keberadaan kucing baru (OR= 13,00; 95% CI= 3,09-54,78), asal kucing dari pasar hewan (OR= 10,00; 95% CI= 1,28-78,12) dan adopsi kucing liar (OR= 9,00; 95% CI= 1,14-71,04), jenis kucing lokal (OR= 4,00; 95% CI= 1,13-14,18), dan lama memelihara kucing kurang dari satu tahun (OR= 3,50; 95% CI= 1,15-10,63) merupakan faktor risiko kejadian *feline panleukopenia* pada kucing.

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, vaksinasi dan karantina bagi hewan baru merupakan tindakan yang paling disarankan guna mencegah *feline panleukopenia* pada kucing. Kasus *feline panleukopenia* dapat dieliminasi sekitar 92% pada populasi tanpa kucing baru dan sekitar 96% pada kucing yang telah divaksin.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada segenap staf dan pegawai Klinik Hewan Kayu Manis dan Naroopet yang telah membantu dalam pengumpulan data pada kelompok kasus.

Daftar Pustaka

- Awad, R. A., Khalil, W. K. B., & Attallah, A. G. (2018). Epidemiology and diagnosis of feline panleukopenia virus in Egypt: Clinical and molecular diagnosis in cats. *Veterinary World*, 11(5), 578–584.
- Bergmann, M., Schwertler, S., Reese, S., Speck, S., Truyen, U., & Hartmann, K. (2018). Antibody response to feline panleukopenia virus vaccination in healthy adult cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 20(12), 1087–1093.
- Blanco, K., Prendas, J., Cortes, R., Jimenez, C., & Dolz, G. (2009). Seroprevalence of Viral Infections in Domestic Cats in Costa Rica. *Journal of Veterinary Medical Science*, 71(5), 661–663.
- Brady, S., Norris, J. M., Kelman, M., & Ward, M. P. (2012). Canine parvovirus in Australia: The role of socio-economic factors in disease clusters. *The Veterinary Journal*, 193(2), 522–528.
- Csiza, C. K., Scott, F. W., De Lahunta, A., & Gillespie, J. H. (1971). Pathogenesis of feline panleukopenia virus in susceptible newborn kittens I. Clinical signs, hematology, serology, and virology. *Infection and Immunity*, 3(6), 833–7.
- Decaro, N., Buonavoglia, D., Desario, C., Amorisco, F., Colaianni, M. L., Parisi, A., Terio, V., Elia, G., Lucente, M. S., Cavalli, A., Martella, V., & Buonavoglia, C. (2010). Characterisation of canine parvovirus strains isolated from cats with feline panleukopenia. *Research in Veterinary Science*, 89(2), 275–278.
- Demeter, Z., Palade, E. A., & Rusvai, M. (2010). Feline Panleukopenia Virus Infection in Various Species From Hungary. *Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara*, 43(1), 73–81.
- DiGangi, B. A., Gray, L. K., Levy, J. K., Dubovi, E. J., & Tucker, S. J. (2011). Detection of protective antibody titers against feline panleukopenia virus, feline herpesvirus-1, and feline calicivirus in shelter cats using a point-of-care ELISA. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13(12), 912–918.
- Duarte, A., Fernandes, M., Santos, N., & Tavares, L. (2012). Virological Survey in free-ranging wildcats (*Felis silvestris*) and feral domestic cats in Portugal. *Veterinary Microbiology*, 158(3–4), 400–404.
- Gur, S., & Avdatek, K. (2016). A serological investigation for feline panleukopenia

- virus in Cats in Afyonkarahisar. *Kocatepe Veterinary Journal*, 9(3), 165–170.
- Hartmann, K. (2017). Feline Panleukopenia Update on Prevention. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 47, S101–S104.
- Johnston, L., Szczepanski, J., & Mcdonagh, P. (2017). Demographics, lifestyle and veterinary care of cats in Australia and New Zealand. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19(12), 1–7.
- Kang, S. C., Kang, K. Il, Jean, Y. H., & Kim, J. H. (2007). Feline Panleukopenia Virus Infection in Imported Cats. *Korean Journal of Veterinary Research*, 47(4), 437–441.
- Kim, S. G., Lee, K. I., Kim, H. J., & Park, H. M. (2013). Prevalence of feline panleukopenia virus in stray and household cats in Seoul, Korea. *Journal of Veterinary Clinics*, 30(5), 333–338.
- Lappin, M. R., Andrews, J., Simpson, D., & Jensen, W. A. (2002). Use of serologic tests to predict resistance to feline herpesvirus 1, feline calicivirus, and feline parvovirus infection in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220(1), 38–42.
- Litster, A., & Benjanirut, C. (2014). Case series of feline panleukopenia virus in an animal shelter. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 16(4), 346–353.
- Martin, S. W., Meek, A. H., & Willeberg, P. (1987). *Veterinary Epidemiology; Principles and Methods* (First ed). Ames: Iowa State University Press.
- Mende, K., Stuetzer, B., Sauter-Louis, C., Homeier, T., Truyen, U., & Hartmann, K. (2014). Prevalence of antibodies against feline panleukopenia virus in client-owned cats in Southern Germany. *Veterinary Journal*, 199(3), 419–423.
- Miranda, C., Vieira, M. J., Silva, E., Carvalheira, J., Parrish, C. R., & Thompson, G. (2017). Genetic Analysis of Feline Panleukopenia Virus Full-length VP2 Gene in Domestic Cats Between 2006–2008 and 2012–2014, Portugal. *Transboundary and Emerging Diseases*, 64(4), 1178–1183.
- Miyazawa, T., Ikeda, Y., Nakamura, K., Naito, R., Mochizuki, M., Tohya, Y., Vu, D., Mikami, T., & Takahashi, E. (1999). Isolation of Feline Parvovirus from Peripheral Blood Mononuclear Cells of Cats in Northern Vietnam. *Microbiology and Immunology*, 43(6), 609–612.
- Mosallanejad, B., Avizeh, R., & Ghorbanpoor Najafabadi, M. (2009). Antigenic detection of feline panleukopenia virus (FPV) in diarrhoeic companion cats in Ahvaz area. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 10(3), 289–293.
- Möstl, K., Egberink, H., Addie, D., Frymus, T., Boucraut-Baralon, C., Truyen, U., Hartmann, K., Lutz, H., Gruffydd-Jones, T., Radford, A. D., Lloret, A., Pennisi, M. G., Hosie, M. J., Marsilio, F., Thiry, E., Belák, S., & Horzinek, M. C. (2013). Prevention of infectious diseases in cat shelters: ABCD guidelines. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15(7), 546–554.
- Mukhopadhyay, H. K., Nookala, M., Thangamani, N. R. K., Sivaprakasam, A., Antony, P. X., Thanislass, J., Srinivas, M. V., & Pillai, R. M. (2017). Molecular characterisation of parvoviruses from domestic cats reveals emergence of newer variants in India. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19(8), 846–852.
- Neuerer, F. F., Horlacher, K., Truyen, U., & Hartmann, K. (2008). Comparison of different in-house test systems to detect parvovirus in faeces of cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10(3), 247–251.
- Parthiban, M., Aarthi, K. S., Balagangatharathilagar, M., & Kumanan, K. (2014). Evidence of feline panleukopenia infection in cats in India. *Virus Disease*, 25(4), 497–499.
- Pirarat, N., Kaewamatawong, T., & Techangamsuwan, S. (2002). A retrospective immunohistochemistry study on feline panleukopenia virus, induced enteritis, in cats. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 32(4), 71–78.

- Raheena, K. P., Priya, P. M., Mani, B. K., Mini, M., & Pillai, U. N. (2017). Comparison of different diagnostic test to detect feline panleukopenia virus among cats in Kerala, India. *Indian Journal of Animal Research*, *51*(2), 347–349.
- Ramon, M. E., Slater, M. R., & Ward, M. P. (2010). Companion animal knowledge, attachment and pet cat care and their associations with household demographics for residents of a rural Texas town. *Preventive Veterinary Medicine*, *94*, 251–263.
- Ruxton, G. D., & Neuha, M. (2013). Review of alternative approaches to calculation of a confidence interval for the odds ratio of a 2 x 2 contingency table. *Methods in Ecology and Evolution*, *4*, 9–13.
- Schlesselman, J. J. (1982). *Case Control Study: Design, Conduct, Analysis*. New York: Oxford University.
- Shin, A., Lee, M., Kim, S., & Kang, S. H. (2012). On-line capillary electrophoresis for enhanced detection sensitivity of feline panleukopenia virus. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, *909*, 22–25.
- Syafriati, T., & Sendow, I. (2003). Keberadaan Penyakit Feline Panleukopenia pada Kucing di Indonesia. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*, Bogor: 29-30 September 2003. Hal. 477–480.
- Truyen, U., & Parrish, C. R. (2013). Feline panleukopenia virus: Its interesting evolution and current problems in immunoprophylaxis against a serious pathogen. *Veterinary Microbiology*, *165*, 29–32.

Electrical Stunning* sebelum Penyembelihan dapat Menurunkan Serum *Superoxide Dismutase* Babi *Landrace Crossbred

Electrical Stunning before Slaughter Alleviate Superoxide Dismutase Serum in Landrace Crossbred Pigs

Shabrina Fauzia Prayoga¹, Faisal Fikri², Muhammad Thohawi Elziyad Purnama^{1*}

¹Departemen Anatomi Veteriner, ²Departemen Ilmu Kedokteran Dasar Veteriner,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga
*Corresponding Author, Email: thohawi@fkh.unair.ac.id

Naskah diterima: 16 Januari 2020, direvisi: 16 Juli 2020 , disetujui: 30 Juli 2020

Abstract

This study aimed to evaluate the Superoxide Dismutase (SOD) in Landrace Crossbred pigs were stunned using electrical stunning and without stunning before slaughter. A total of 18 castrated adult male Landrace Crossbred pigs, weighty 115 ± 20 kg divided into two treatments, i.e. electrical stunning and without stunning with serum determination at pre and post treatment. 3 ml blood sample were taken, then SOD activity was performed using StressXpress[®] kit. The SOD level was tested for normality using Shapiro-Wilk Test, followed by the Univariate Linear Model test to compare serum SOD between electrical stunning and without stunning at the pre and post treatment phases. The results of the Shapiro-Wilk Test supported the Q-Q plot diagram showed a normal distribution in all treatments. The electrical stunning showed a significantly alleviated of SOD level. In addition, SOD level was also significant alleviate in pre-treatment compared to post-treatment. In conclusion, there was a significantly decreased in the SOD activity of Landrace Crossbred pig serum stunned with electrical stunning before slaughter.

Key words: electrical stunning; Landrace Crossbred pig; Superoxide dismutase;

Abstrak

Penelitian bertujuan untuk mengevaluasi enzim *Superoxide Dismutase* (SOD) pada serum babi *Landrace Crossbred* yang mendapat *electrical stunning* dan tanpa *electrical stunning* sebelum penyembelihan. Sebanyak 18 ekor babi *Landrace Crossbred* jantan dewasa kebiri dan bobot 115 ± 20 kg dibagi menjadi dua perlakuan, yakni *electrical stunning* dan tanpa *electrical stunning* dengan pengujian serum pada pre dan post perlakuan. Sebanyak 3 ml sampel darah diambil dan diuji kadar SOD dengan StressXpress[®] kit. Pembacaan kadar SOD diuji normalitas dengan *Shapiro-Wilk Test*, dilanjutkan uji *Univariate Linear Model* untuk membandingkan kadar SOD antara *electrical stunning* dan tanpa *electrical stunning* pada fase pre dan post perlakuan. Hasil *Shapiro-Wilk Test* dengan diagram Q-Q plot menunjukkan pola distribusi normal pada semua perlakuan. Kelompok *electrical stunning* menunjukkan penurunan signifikan SOD. Kadar SOD yang rendah tampak signifikan juga pada pre perlakuan dibandingkan dengan post perlakuan. Dapat disimpulkan terdapat penurunan signifikan SOD pada serum babi *Landrace Crossbred* yang mendapat *electrical stunning* sebelum penyembelihan.

Kata kunci: babi *Landrace Crossbred*; *electrical stunning*; *Superoxide dismutase*

Pendahuluan

Penyembelihan secara umum merupakan tindakan untuk menghilangkan nyawa hewan menggunakan benda tajam dengan syarat terpotong *trachea*, *esophagus*, *vena jugularis* dan *arteri carotis communis*, sedangkan pada babi dilakukan dengan cara menusuk bagian leher ke arah *anterior sternum* yakni area pembuluh darah besar dan jantung (Dannar, 2015; Goba, 2013). Penyembelihan harus dilakukan dengan cepat untuk meminimalkan rasa sakit dan stres pada hewan yang dapat mempengaruhi kualitas daging (Chulayo dkk., 2012). Metode penyembelihan dapat dilakukan dengan cara pemingsanan (*stunning*) dan tanpa pemingsanan.

Menurut Zivotofsky dan Strous (2012), *stunning* adalah perlakuan yang bertujuan untuk memingsankan hewan sebelum penyembelihan. *Stunning* dilakukan untuk memudahkan imobilisasi hewan yang akan disembelih dan menjamin keamanan petugas pemotongan hewan (Bergeaud-Blackler, 2007). Tujuan *stunning* adalah untuk meminimalkan rasa sakit, takut dan stres pada hewan selama proses penyembelihan yang dapat mempengaruhi kualitas daging (Gregory, 2007; Hindle dkk., 2010).

Stunning dilakukan dengan metode elektrik, mekanis maupun menggunakan gas (OIE, 2011). *Electrical stunning* dilakukan dengan alat penjepit yang dialirkan listrik di kepala atau tubuh hewan, secara mekanis dilakukan dengan menggunakan *captive bolt stun gun* sedangkan *stunning* dengan gas dilakukan menggunakan paparan gas dengan kadar 80-90% selama 3 menit (EFSA, 2006; OIE, 2011). Hewan yang biasa disembelih dengan metode *stunning* salah satunya adalah babi. *Stunning* secara mekanis pada babi, selain menggunakan *captive bolt stun gun* juga dilakukan dengan memukul daerah dahi menggunakan balok kayu (Goba, 2013).

Penyembelihan dengan *stunning* dan tanpa *stunning* merupakan isu *animal welfare* yang sering diperdebatkan. Hewan yang disembelih tanpa *stunning* dapat merasakan sakit dan menderita selama hewan tersebut belum benar-benar hilang kesadaran, sehingga *stunning* dianggap sebagai metode penyembelihan yang lebih sesuai dengan *animal welfare* (Kim dkk., 2013; Farouk dkk., 2014). Menurut Adzitey (2011), *stunning* juga

dapat mengakibatkan stres apabila dilakukan secara tidak tepat, seperti akibat operator (*stunner*) yang kurang terlatih atau alat *stunning* yang berfungsi kurang baik.

Metode penyembelihan memegang peran penting dalam menentukan kualitas daging dan dapat mempengaruhi metabolisme otot *post mortem* (Sabow dkk., 2015; Bourguet dkk., 2011). Metode penyembelihan yang kurang baik dapat menyebabkan stres sebelum pemotongan (*pre-slaughter stress*). *Pre-slaughter stress* merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kualitas daging karena dapat mengakibatkan daging *Dark Firm Dry* (DFD) maupun *Pale Soft Oxydative* (PSE) (Rosenvolt dan Andersen, 2003). Studi lebih lanjut perlu dilakukan untuk dapat memberikan gambaran mengenai perbandingan tingkat stres yang dialami hewan yang disembelih dengan metode *stunning* dan tanpa *stunning*, sehingga dapat diketahui metode penyembelihan yang efektif dan dapat menghasilkan daging dengan kualitas yang baik.

Superoxide dismutase (SOD) merupakan salah satu biomarker yang dapat digunakan untuk mengetahui stres hewan. Aktivitas SOD memiliki peran penting dalam adaptasi tubuh terhadap stres yakni melalui proses degradasi *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) (Surai, 2016). Mekanisme stres dapat ditandai dengan peningkatan produksi ROS dan aktivitas antioksidan eksogen seperti SOD (Del Rio, 2005). Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh *electrical stunning* terhadap aktivitas SOD serum sebagai indikator *pre-slaughter stress* pada babi *Landrace Crossbred*.

Materi dan Metode

Uji Etik Penelitian

Penelitian dilakukan di peternakan dan rumah pemotongan babi Pegirian, Surabaya. Prosedur *handling* dan *restraint* untuk babi yang disembelih dengan *stunning* dan tanpa *stunning* selama penelitian sesuai dengan diagram alir Standard Operasional Prosedur (SOP) No.313/SOP/UDRPH/V/2017 yang diterbitkan oleh Kepala Bagian Pemotongan Rumah Potong Hewan Surya Pegirian Surabaya. Ijin penelitian didapat dari Badan Kesatuan Bangsa dan Politik Kota Surabaya. Uji etik penelitian didapatkan dari

Komite Etik dan Penggunaan Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga dengan nomor registrasi 686-KE.

Perlakuan Babi

Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *pre-post test group design*. Babi dipilih secara random sesuai dengan kriteria, yakni babi jantan dewasa yang telah dikebiri, *breed Landrace Crossbred*, dan bobot badan 115 ± 20 kg.

Babi sejumlah 18 ekor dibagi menjadi dua kelompok, yakni 9 ekor kelompok dengan *stunning* dan 9 ekor kelompok tanpa *stunning*. Masing-masing kelompok perlakuan diambil serum darah pre dan post perlakuan. Metode penyembelihan yang dilakukan adalah penyembelihan dengan *electrical stunning* dan tanpa *stunning*. *Electrical stunning* merupakan metode *stunning* yang dilakukan dengan mengaliri listrik pada dua elektroda yang dipasang di kepala hewan. Standard umum yang digunakan untuk *electrical stunning* pada babi berusia lebih dari enam minggu adalah 220 Volt dan 1.3 Ampere (Pleiter, 2010). Penyembelihan tanpa *stunning* merupakan penyembelihan yang tidak didahului dengan pemingsanan, pada babi yang dilakukan dengan cara menusuk bagian leher ke arah *anterior sternum* yakni area pembuluh darah besar dan jantung (Goba, 2013).

Pengambilan Serum dan Pengujian SOD

Sampel darah pre perlakuan diambil pada bagian *Vena auricular* sedangkan post perlakuan diambil pada bagian *Vena jugularis* atau pancaran pertama setelah ditusuk. Sampel darah diambil minimal sebanyak 3 ml, kemudian dimasukkan ke dalam *vacutainer plain* 5 ml dan diberi label. Label berisi keterangan, yakni perlakuan dan kode pemotongan babi. Pengambilan darah dilakukan secara aseptis dengan peralatan steril untuk menghindari pencemaran bakteri dan hemolisis.

Sampel darah didiamkan pada suhu ruang selama 1-2 jam hingga serumnya terpisah kemudian disentrifus dengan kecepatan 6.000 rpm selama 15 menit menggunakan sentrifuge (Hettich® EBA 20). Serum adalah lapisan jernih berwarna kuning muda yang berada di bagian atas tabung (Putra dkk., 2012). Serum yang didapat kemudian

dipindahkan ke dalam *microtube* menggunakan *micropipette* dan *yellow tip*, kemudian disimpan pada suhu 4°C di dalam *cool box* yang berisi *ice gel*.

Pengukuran aktivitas SOD dilakukan dengan menggunakan StressXpress® SOD Activity Kit. Menurut StressMarq Bioscience Inc. (2019), langkah pengujian aktivitas SOD diawali dengan membuat larutan standard terlebih dahulu sebanyak enam tabung. Enzim SOD sebanyak 250 µL digunakan sebagai larutan *stock* dengan aktivitas SOD 4 U/mL. Pengenceran larutan standard selanjutnya adalah dilakukan dengan menambahkan *Buffer Assay* sebanyak 75 µL hingga didapat larutan standard dengan aktivitas SOD 2 U/mL, 1 U/mL, 0.5 U/mL, 0.25 U/mL, 0.125 U/mL dan 0.0625 U/mL. Persiapan reagen meliputi pembuatan *Xanthine Oxidase* dan Substrat.

Serum hasil koleksi sampel dan setiap konsentrasi larutan standard SOD dipindahkan sebanyak 10 µL ke dalam *microplate 96 well*. Pindahkan pula 10 µL *Buffer Assay* sebagai *Zero Standard*. Setiap sumuran ditambahkan 50 µL substrat dan 25 µL *Xanthine Oxidase*, lalu diinkubasi di suhu ruang selama 20 menit. *Microplate* tersebut kemudian dibaca nilai *optical density* (OD) dengan $\lambda = 430$ nm menggunakan *spectrophotometer*. Nilai penghambatan didapatkan dari persentase absorbance OD sampel dibandingkan dengan absorbance OD standard (*blanks*). Selanjutnya aktivitas SOD dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Nilai Penghambatan} = \frac{\text{OD Sampel}}{\text{OD Zero Standar}} \times 100$$

Aktivitas SOD = Nilai Penghambatan x Faktor pengenceran

Analisis Data

Hasil aktivitas SOD diuji normalitas dengan *Shapiro-Wilk Test* untuk melihat homogenitas data. Dilanjutkan uji *Univariate Linear Model* untuk membandingkan aktivitas SOD serum antara *stunning* dan tanpa *stunning* pada fase pre dan post perlakuan. Selisih kadar SOD (Δ SOD) antara *stunning* dan tanpa *stunning* pada fase pre dan post perlakuan diuji dengan *T independent sample test*. Analisis data dilakukan dengan program SPSS v23 for Windows (IBM, USA).

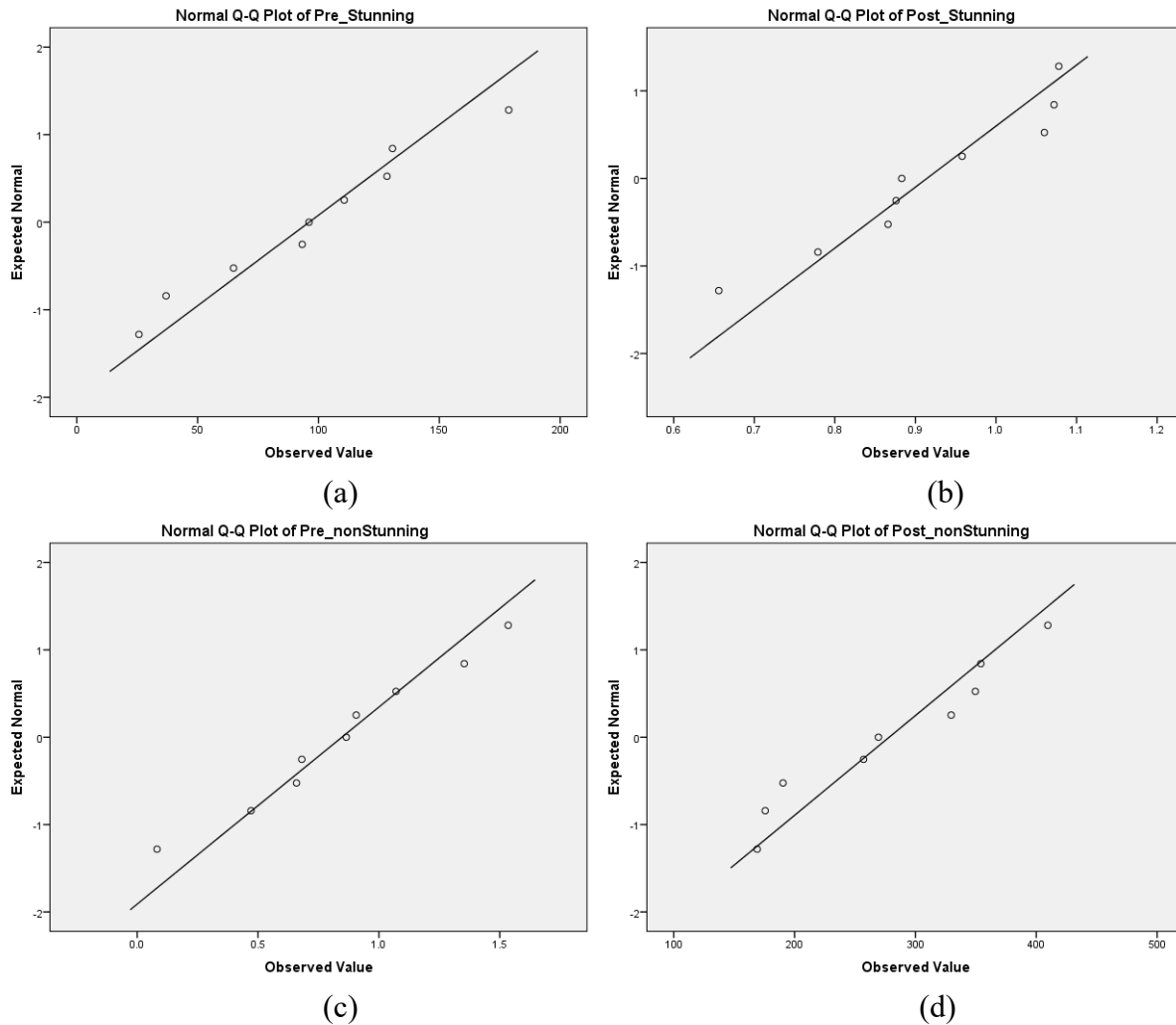
Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil *Shapiro-Wilk Test* diperkuat diagram Q-Q plot distribusi normal ($p > 0.05$) pada

Tabel 1. Rata-rata dan standard deviasi aktivitas SOD babi pada setiap fase perlakuan

	Pre perlakuan	Post perlakuan	Δ SOD	<i>p</i> -value
<i>Stunning</i>	96.13 ^a ±48.35	152.25 ^c ±25.17	56.12±54.47	0.012
Tanpa <i>stunning</i>	140.45 ^b ±77.79	278.29 ^d ±87.61	137.84±66.63	

^{a,b,c,d} Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0.05$)

**Gambar 1.** Pola distribusi aktivitas SOD babi pada setiap fase perlakuan

semua perlakuan (Gambar 1). Hasil *stunning* menunjukkan rendahnya aktivitas SOD berbeda signifikan ($p < 0.05$) dengan tanpa *stunning*. Aktivitas SOD yang rendah tampak berbeda signifikan ($p < 0.05$) juga pada pre perlakuan dibandingkan dengan post perlakuan (Tabel 1).

Stunning merupakan salah satu titik kritis dalam proses penyembelihan. *Stunning* tidak hanya berpengaruh terhadap aspek *animal welfare*, tetapi juga dapat mempengaruhi kualitas daging (Warner dkk., 2010). Tujuan *stunning* adalah meminimalkan rasa sakit selama proses penyembelihan dan memudahkan imobilisasi hewan, sehingga proses penyembelihan menjadi

lebih mudah dan aman (Gregory, 2007; Sabow dkk., 2018).

Stres akibat rasa sakit selama proses penyembelihan merupakan paparan stres yang dapat diklasifikasikan sebagai paparan stres akut. Menurut Hu dkk. (2019), stres akut dapat ditandai dengan peningkatan produksi ROS yang diikuti dengan peningkatan aktivitas SOD. Tingkat stres yang dialami babi *Landrace Crossbred* yang disembelih dengan metode *electrical stunning* dan tanpa *stunning* pada penelitian ini dapat diketahui dengan membandingkan aktivitas SOD serum. Peningkatan stress oksidatif berdasarkan variabel kadar kortisol, SOD, MDA dan GPx juga tampak

pada serum babi yang disembelih tanpa *electrical stunning* (Purnama, 2020).

Perlakuan *electrical stunning* dilakukan oleh *stunner* dengan memasang dua elektroda di bagian kepala tepatnya di antara mata dan pangkal telinga, dilakukan ketika posisi babi berdiri di atas palungan tanpa menggunakan alat *handling* maupun *restrain* dengan interval waktu stunning 3-5 detik sesuai SOP Penyembelihan. Penyembelihan dilakukan ketika hewan telah memasuki fase kedua yakni fase kronik. Perlakuan tanpa *stunning* dilakukan oleh petugas penyembelihan dengan memasukkan babi ke kandang besi kemudian diikat bagian rahangnya dan ditarik ke arah belakang hingga tubuh babi berhimpitan dengan bagian belakang kandang besi sesuai dengan SOP Penyembelihan. Metode penyembelihan pada kedua kelompok perlakuan dilakukan dengan cara yang sama yakni dengan menusuk area leher menuju ke arah jantung.

Berdasarkan hasil analisis data, terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok yang diberi perlakuan *electrical stunning* dengan tanpa *stunning*. Kelompok yang diberi perlakuan *electrical stunning* memiliki *mean* aktivitas SOD 152.249 ng/mL, sedangkan kelompok yang diberi perlakuan tanpa *stunning* memiliki *mean* aktivitas SOD 278.292 ng/mL. Aktivitas SOD serum babi *Landrace Crossbred* yang diberi perlakuan *electrical stunning* lebih rendah dibanding yang disembelih dengan tanpa *stunning* dengan selisih *mean* aktivitas SOD sebesar 126.043 ng/mL, sehingga dapat disimpulkan bahwa tingkat stres yang dialami babi *Landrace Crossbred* yang disembelih dengan *electrical stunning* lebih rendah dibanding yang disembelih dengan tanpa *stunning*.

Menurut HSA (2016), sakit tidak dirasakan pada penyembelihan *electrical stunning* karena arus listrik yang melalui otak dan menyebabkan gangguan aktivitas otak, sehingga hewan kehilangan kesadaran dan tidak peka terhadap rasa sakit. *Electrical stunning* menyebabkan hewan mengalami *grand mal epileptic* atau kejang tonik-kronik yang terjadi dalam tiga fase yakni tonik, kronik dan *recovery*. Fase tonik terjadi ketika aliran listrik melalui otak sehingga menyebabkan hewan kehilangan kesadaran, napas tidak teratur dan kaku otot. Otot yang awalnya kaku, pada fase kronik akan mengalami relaksasi secara bertahap,

hewan akan mengalami kejang, urinasi atau defekasi. Dua fase pertama merupakan fase yang terbaik untuk dilakukan penyembelihan, karena pada fase ini hewan kehilangan kesadaran dan tidak peka terhadap rasa sakit. Fase ketiga yakni fase *recovery* yang ditandai dengan irama napas kembali normal, hewan mulai sadar dan berusaha untuk berdiri.

Babi *Landrace Crossbred* yang disembelih dengan metode tanpa *stunning*, akan merasakan sakit selama proses penyembelihan hingga benar-benar hilang kesadaran. Menurut Ulrich-Lai dkk. (2006), rasa sakit merupakan salah satu jenis rangsangan yang dapat menyebabkan hewan mengalami stres. Stres yang dialami hewan akibat rasa sakit mengakibatkan munculnya respon HPA Axis yang akan merangsang sekresi hormon kortisol. Hormon kortisol bekerja menstimulasi terjadinya glukoneogenesis pada hepar, meningkatkan mobilisasi asam amino dari jaringan ekstrahepatik (terutama otot) dan lipolisis pada jaringan adiposa yang menghasilkan gliserol dan asam lemak. Asam amino dan gliserol akan dibawa ke hepar untuk proses glukoneogenesis, sedangkan asam lemak akan dioksidasi menjadi energi melalui jalur oksidasi β asam lemak.

Stres juga menstimulasi kerja saraf simpatis sehingga menyebabkan medulla adrenal mensekresikan hormon adrenalin dan noradrenalin (Carrol dkk., 2017). Hormon adrenalin akan bekerja meningkatkan terjadinya glikogenolisis di hati dan otot, serta meningkatkan pelepasan glukosa ke dalam darah (Guyton dan Hall, 2016). Proses glukoneogenesis dan glikogenolisis menyebabkan hiperglikemia sehingga terjadi mekanisme autooksidasi glukosa, glikasi dan pembentukan dikarbonil yang berakibat pada peningkatan produksi ROS (Fakhrudin dkk., 2017).

Tubuh memiliki sistem pertahanan terhadap ROS berupa enzim antioksidan endogen yakni SOD. Enzim SOD merupakan pertahanan terdepan dalam menghadapi kerusakan sel akibat ROS dengan mengkatalis perubahan radikal O_2^- menjadi molekul O_2 dan H_2O_2 (Vaziri dkk., 2003). Enzim SOD pada mamalia dapat dibedakan menjadi SOD1 (*cytoplasmic* Cu/ZnSOD), SOD2 (*mitochondrial* MnSOD) dan SOD3 (*extracellular* Cu/ZnSOD) dengan lokasi yang berbeda. Enzim SOD1 dan SOD2 terdapat di dalam sel, sedangkan

SOD3 terdapat pada *extracellular matrix*, permukaan sel, cairan ekstraseluler dan plasma darah (Fukai dan Ushio-Fukai, 2011).

Penelitian ini menggunakan sampel berupa serum darah untuk uji aktivitas SOD menggunakan metode *calorimetric assay*. Aktivitas SOD yang tinggi di dalam sampel serum pada penelitian ini ditandai dengan terbentuknya warna kuning pucat sehingga menghasilkan nilai absorbansi yang lebih tinggi, sedangkan aktivitas SOD yang rendah di dalam sampel serum akan ditandai dengan terbentuknya warna kuning pekat sehingga akan menghasilkan nilai absorbansi yang lebih rendah. Menurut Yu dkk. (2011), serum mengandung zat metabolit dan memberikan nilai sensitivitas yang lebih tinggi dibanding plasma, sehingga serum dianggap lebih potensial digunakan sebagai sampel pengujian dibanding plasma. Pengujian aktivitas SOD dilakukan dengan mereaksikan *xanthine* dengan *xanthine oxidase* sehingga terbentuk radikal $O_2^-O_2^-$ dan mengubah substrat menjadi berwarna kuning. Enzim SOD dalam sampel akan mendegradasi radikal $O_2^-O_2^-$ dan mempengaruhi kepekatan warna kuning yang terbentuk (StressMarq Bioscience Inc., 2019).

Berdasarkan pengamatan data hasil penelitian, diketahui bahwa persebaran data hasil uji aktivitas SOD serum dalam satu kelompok perlakuan cukup beragam, baik pada perlakuan *electrical stunning* maupun tanpa *stunning*. Diduga hal ini disebabkan oleh perbedaan respon individu terhadap paparan stres. Perbedaan respon individu terhadap paparan stres disebabkan oleh faktor genetik dan perbedaan kemampuan adaptasi sehingga menyebabkan perbedaan respon sekresi hormon kortisol (Purnama dkk., 2019).

Electrical stunning dapat menurunkan tingkat stres hewan akibat proses penyembelihan, namun memiliki dampak negatif terhadap kualitas daging (Velarde dkk., 2001). Menurut Velarde dkk. (2000), terjadi peningkatan kejadian *hemorrhage* karkas babi yang disembelih dengan *electrical stunning*. Aliran listrik akibat *electrical stunning* dapat menstimulasi pemecahan glikogen otot menjadi asam laktat dan mempercepat proses rigor mortis. Proses tersebut mempercepat penurunan pH otot saat suhu otot masih tinggi sehingga berdampak pada peningkatan kejadian daging PSE (Fikri dkk., 2017). *Electrical stunning* yang dilakukan

terlalu lama juga dapat menyebabkan denaturasi protein otot sehingga menyebabkan terjadinya *drip loss* (Channon dkk., 2000).

Kesimpulan

Dapat disimpulkan bahwa metode *electrical stunning* dapat menurunkan secara signifikan aktivitas SOD serum babi *Landrace Crossbred* sebelum disembelih. Metode *electrical stunning* dilakukan sesuai dengan aspek *animal welfare* standard pada babi.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Inovasi Universitas Airlangga dan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuan hibah penelitian dengan No.1408/UN3/2019.

Daftar Pustaka

- Adzitey, F. (2011). Mini Review: Effect of Pre-Slaughter Animal Handling on Carcass and Meat Quality. *International Food Research Journal*. 18(2): 485-491.
- Bergeaud-Blackler, F. (2007). New Challenges for Islamic Ritual Slaughtering: A European Perspective (Forthcoming). *Journal Ethnic Migration Study*. 33(6): 965-980.
- Bourguet, C., Deiss, V., Tannugi, C.C. and Terlouw, E.M.C. (2011). Behavioural and Physiological Reactions of Cattle in A Commercial Abattoir: Relationships With Organisational Aspects Of The Abattoir And Animal Characteristics. *Meat Science*. 88(1): 158-168.
- Carrol. T.B., Aron. D.C., Findling. J.W. and Tyrell, J.B. (2017). Glucocorticoids and Adrenal Androgens. In: Greenspan, F.S and D.G. Gardner. Basic and Clinical Endocrinology 10th ed. Lange Medical Book. USA. pp. 299-308.
- Channon, H.A., Payne, A.M. and Warner, R.D. (2000). Halothane Genotype, Pre-Slaughter Handling and Stunning Methods All Influence Pork Quality. *Meat Science*. 56: 291-299.

- Chulayo, A.Y., Tada, O. and Muchenje, V. (2012). Research on Preslaughter Stress and Meat Quality: A Review of Challenges Faced Under Practical Conditions. *Applied Animal Husbandry Rural Development*. 5: 1-6.
- Dannar, N.N. (2015). Waktu Henti Darah Memancar pada Penyembelihan Sapi dengan Pemingsanan dan Tanpa Pemingsanan [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Hal.3.
- Del Rio, D., Steward, A.J. and Pellegrini, N. (2005). A Review of Recent Studies on Malondialdehyde as Toxic Molecule and Biological Marker of Oxidative Stress. *Journal Nutrition Metabolism Cardiograph Disease*. 15(4): 316-328.
- [EFSA] European Food Safety Authority. (2006). The Welfare Aspects Of The Main Systems Of Stunning And Killing Applied To Commercially Farmed Deer, Goats, Rabbits, Ostriches, Ducks, Geese, And Quail. *EFSA Journal*. 326:1-18.
- Fakhrudin, S., Alanazi, W. and Jackson, K.E. (2017). Diabetes-Induced Reactive Oxygen Species: Mechanism of Their Generation and Role in Renal Injury. *Journal Diabetes Research*. 2017: 1-31.
- Farouk, M., Al-Mazeedi, H., Sabow, A., Bekhit, A., Adeyemi, K., Sazili, A. and Ghani, A. (2014). Halal and Kosher Slaughter Methods and Meat Quality: A Review. *Meat Science*. 98(3): 505–519.
- Fikri, F., Hamid, I.S. and Purnama, M.T.E. (2017). Uji organoleptis, pH, uji eber dan cemaran bakteri pada karkas yang diisolasi dari kios di Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*. 1(1): 23-27.
- Fukai, T. and Ushio-Fukai, M. (2011). Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. *Antioxidants Redox Signal*. 15(6): 1583-1606.
- Goba, M.A. (2013). Penanganan dan Distribusi Karkas dan Non Karkas dari Tempat Pemotongan Babi Jeletreng Gunung Sindur Bogor [Skripsi]. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Hal.10-11.
- Gregory, N.G. (2007). Chapter 12: Meat Quality. In: *Animal Welfare And Meat Production*. 2nd edn. CABI Publishing. Wallingford. United Kingdom. pp. 213–226.
- Guyton. A.C. and Hall, J.E. (2016). Textbook of Medical Physiology. Ed. 13. Elsevier. pp. 780-862.
- Hindle, V.A., Lamboij, E., Reimert, G.M., Workel, R.D. and Gerritzen, M.A. (2010). Animal Welfare Concerns During The Use Of The Water Bath For Stunning Broiler, Hens, Ducks. *Poultry Science Journal*. 89(3): 401-412.
- [HSA] Humane Slaughter Association. (2016). Electrical Stunning of Red Meat Animal. <https://www.hsa.org.uk>. [13 April 2019]
- Hu, R., He, Y., Arowolo, M.A., Wu, S. and He, J. (2019). Polyphenols as Potential Attenuator of Heat Stress in Poultry Production. *Journal Antioxidants*. 8(67): 3-11.
- Kim, G.D., Lee, H.S., Jung, E.Y., Lim, H.J., Seo, H.W., Lee, Y.H., Jang, S.H., Baek, S.B., Joo, S.T. and Yang, H.S. (2013). The Effects of CO₂ Gas Stunning on Meat Quality of Cattle Compared with Captive Bolt Stunning. *Livestock Science*. 157(1): 312–316.
- [OIE] Office International des Epizooties. (2011). Slaughter of Animals Chapter 7.5. Paris (FR): Terrestrial Animal Health Code World Organisation for Animal Health. pp. 332-355.
- Pleiter, H. (2010). Review of Stunning and Halal Slaughter. Meat and Livestock Australia (MLA). Sydney. Australia. pp. 12-20.
- Purnama, M.T.E., Dewi, W.K., Prayoga, S.F., Triana, N.M., Aji, B.S.P., Fikri, F. and Hamid, I.S. (2019). Preslaughter Stress in Banyuwangi Cattle During Transport. *Indian Veterinary Journal*. 96(12): 50-52.
- Purnama, M.T.E., Prayoga, S.F., Triana, N.M., Dewi, W.K., Purnomoaji, B.S., Wardhana, D.K. and Fikri, F. (2020). Oxidative stress parameters in landrace pigs slaughtered by the stunning method. *E&ES*. 441(1): 012140.

- Putra, G.A., Hidayat, E.M. and Thadeus, M.S. (2012). Dampak Penundaan Pemisahan Serum dari Sel Darah Terhadap Hasil Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah dengan Metode Heksokinase. *Bina Widya*. 23(5): 264-270.
- Rosenvolt, K. and Andersen, H.J. (2003). Factors Of Significance For Pork Quality-A Review. *Meat Science*. 64: 219-237.
- Sabow, A.B., Sazili, A.Q., Zulkifli, I., Goh, Y.M., Ab Kadir, M.Z.A., Abdulla, N.R., Nakyinsige, K., Kaka, U. and Adeyemi, K.D. (2015). A Comparison of Bleeding Efficiency, Microbiological Quality and Lipid Oxidation in Goats Subjected to Conscious Halal Slaughter and Slaughter Following Minimal Anaesthesia. *Meat Science*. 104: 78-84.
- Sabow, A.B., Goh, Y.M., Zulkifli, I., Ab Kadir, M.Z., Kaka, U., Adeyemi, K.D., Abubakar, A.A., Imlan, J.C., Ebrahimi, M. and Sazili, A.Q. (2018). Electroencephalographic and Blood Parameters Changes in Anaesthetised Goats Subjected To Slaughter Without Stunning And Slaughter Following Different Electrical Stunning Methods. *Animal Product Science*. 59(5): 849-860.
- StressMarq Bioscience Inc. (2019). StressXpress® SOD Activity Kit Quantitative Colorimetric Measurement of Superoxide Dismutase Activity Catalog SKT-214. <https://www.stressmarq.com/products/assay-kits/sod-activity-kit-skt-214/>. pp. 1-20
- Surai, P.F. (2016). Antioxidant Systems in Poultry Biology: Superoxide Dismutase. *Journal Animal Research Nutrition*. 1(8): 1-17.
- Ulrich-Lai, Y.M., Xie, W., Meij, J.T., Dolgas, C.M., Yu, L. and Herman, J.P. (2006). Limbic and HPA axis function in an animal model of chronic neuropathic pain. *Physiology Behaviour*. 88(1-2): 67-76.
- Vaziri, N.D., Michael, D., Nathan, D.H., Boroujerdi-rad, L. and Sindhu, R.K. (2003). Oxidative Stress and Dysregulation of Superoxide Dismutase and NADPH Oxidase in Renal Insufficiency. *Kidney International*. 63: 179-185.
- Velarde, A., Gisperta, M., Faucitano, L., Mantecab, X. and Diestre, A. (2000). The Effect of Stunning Method on The Incidence of PSE Meat And Haemorrhages in Pork Carcasses. *Meat Science*. 55: 309-314.
- Velarde, A., Gispert, M., Faucitano, L., Alonso, P., Manteca, X. and Diestre, A. (2001). Effects of The Stunning Procedure and The Halothane Genotype on Meat Quality and Incidence of Haemorrhages in Pigs. *Meat Science*. 58(3): 313-319.
- Warner, R.D., Greenwood, P.L., Pethick, D.W. and Ferguson, D.M. (2010). Genetic and Environmental Effects on Meat Quality. *Meat Science*. 86(1): 171-183.
- Yu, Z., Kastenmuller, G., He, Y., Belcredi, P., Moller, G., Prehn, C., Mendes, J., Wahi, S., Roemisch-Margi, W., Ceglerek, U., Polonikov, A., Dahmen, N., Prokisch, H., Xie, L., Li, Y., Wichmann, H.E., Peters, A., Kronenberg, F., Suhre, K., Adamski, J., Illig, T. and Wang-Sattler, R. (2011). Differences between Human Plasma and Serum Metabolite Profiles. *Ploss One*. 6(7): 1-6.
- Zivotofsky, A.Z. and Strous, R.D. (2012). A Perspective On The Electrical Stunning Of Animals: Are There Lessons to be Learned From Human Electro Convulsive Therapy (ECT). *Meat Science*. 90(4): 956-961.

Deteksi *Brucella abortus* dari Sampel Darah-Utuh dengan Uji *Polymerase Chain Reaction* Tanpa Ekstraksi DNA

Detection of *Brucella abortus* from Whole Blood Samples by *Polymerase Chain Reaction* Without DNA Extraction

David Ardiyanto¹, Hastari Wuryastuty^{2*}, RadenWasito³

¹Program Studi Sain Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

²Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

³Departemen Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

*Corresponding Author; Email: hastari_ugm@yahoo.com

Naskah diterima: 17 Januari 2020, direvisi: 29 Januari 2020, disetujui: 20 Nopember 2020

Abstract

Brucellosis is a zoonotic disease that cause a significant economic losses for cattle industries worldwide. A rapid, precise and accurate diagnosis technique for diagnosis of brucellosis in all stages of the infection is definitely required. Blood-samples are widely used for PCR-based DNA analysis because they are easily collected, handled, and processed. Direct PCR analysis without DNA extraction has been attempted to reduce time and costs for routine analysis. This approach is promising but is still limited by the presence of PCR inhibitors that is naturally found in the blood samples. The objective of this study was to compare the effectivity of direct PCR technique with or without DNA extraction for detection of *Brucella abortus* in the blood samples. Three whole-blood samples from brucella infected dairy cattle and five whole-blood samples from beef cattle that having abortion were used as samples in this study. A pair of *bcs*p31 primers and IS711 primers were used for amplification of genus-specific and species-specific of *Brucella*. The results showed that amplicon in the position of 223 bp and 498 bp that are specific for *B. abortus* were detected from all of the samples that were analyzed on 1.5% agarose gels. Based on the result it could be concluded that direct PCR analyses without DNA extraction is a sensitive, specific, simple, rapid and inexpensive assay for detecting *B. abortus* in the whole blood samples for either dairy or beef cattle and therefore it could improve the existing surveillance and control programs for brucellosis.

Key words: brucellosis; direct PCR; PCR inhibitor; whole-blood sample; without DNA extraction

Abstrak

Brucellosis adalah penyakit zoonosis yang menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan bagi industri ternak di seluruh dunia. Teknik diagnosis yang cepat, tepat dan akurat yang dapat digunakan untuk diagnosis brucellosis pada semua tahap infeksi sangat diperlukan. Sampel darah banyak digunakan untuk analisis PCR berbasis DNA karena mudah untuk dikoleksi, ditangani, dan diproses. Metoda PCR langsung tanpa didahului dengan ekstraksi DNA dikembangkan dengan tujuan penghematan waktu dan biaya untuk analisa secara rutin. Tehnik ini sangat menjanjikan tetapi memiliki keterbatasan karena adanya senyawa penghambat PCR yang secara alami terkandung di dalam sampel darah . Tujuan dari penelitian ini adalah membandingkan efektifitas antara uji PCR secara langsung dengan ekstraksi dan tanpa ekstraksi DNA untuk deteksi *Brucella abortus* di dalam darah. Tiga (3) sampel darah-EDTA yang berasal dari sapi penderita brucellosis dan 5 sampel darah-EDTA dari sapi potong yang mengalami abortus digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini. Pasangan primer *bcs*p31 dan primer IS711 untuk amplifikasi gen dan species specific digunakan dalam penelitian. Hasil menunjukkan bahwa amplicon/pita pada posisi 223 bp dan 498 bp yang spesifik untuk *Brucella abortus* terdeteksi dari semua sampel

yang dianalisa dengan gel agarosa 1,5%. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa uji PCR secara langsung tanpa didahului dengan ekstraksi DNA merupakan tehnik yang sensitif, spesifik, sederhana, cepat dan murah untuk deteksi *B. abortus* di dalam sampel darah baik sapi perah maupun sapi potong dan oleh karena itu diharapkan dapat digunakan untuk memperbaiki program kontrol dan surveillance yang telah ada untuk brucellosis.

Kata kunci : brucellosis; PCR langsung; penghambat PCR; sampel darah-utuh; tanpa ekstraksi DNA

Pendahuluan

Brucella adalah bakteri Gram negatif intraseluler fakultatif yang menyebabkan brucellosis pada berbagai spesies hewan domestik dan liar di seluruh dunia. Konsekuensi klinis yang disebabkan oleh *Brucella spp.* secara umum berhubungan dengan masalah reproduksi seperti abortus, retensi plasenta, kawin berulang, kelahiran mati atau kelahiran anak sapi lemah yang mengakibatkan kerugian ekonomi yang tinggi untuk industri sapi baik potong maupun perah (Poester *et al.*, 2013). Kerugian ekonomi lainnya terjadi karena penurunan produksi susu. Pentingnya penyakit menular ini tidak hanya terletak pada kerugian ekonomi bagi ternak tetapi juga risiko terhadap kesehatan manusia karena sifatnya yang zoonosis (Ocholi *et al.*, 2005). Deteksi dini dengan metode analisis yang cepat dan akurat sangat bermanfaat untuk keberhasilan pengendalian penyakit (Mahajan *et al.*, 2017).

Deteksi hewan yang terinfeksi *Brucella* di dalam sekelompok ternak, secara umum dilakukan secara serologis, khususnya uji Rose Bengal (RBT). Uji RBT untuk brucellosis kurang sensitif karena rendahnya titer antibodi yang dihasilkan terutama di stadium awal dari infeksi (Al-Gharadi *et al.*, 2011; Priyadarshini *et al.*, 2013). Selain itu, uji RBT juga sering menghasilkan reaksi positif palsu, terutama pada sapi yang telah divaksinasi menggunakan vaksin *B. abortus* galur 19 dan terjadinya reaksi silang dengan mikro-organisme lain seperti *Yersinia enterocolitica* O:9. atau dapat menyebabkan reaksi negatif palsu pada sapi tanpa antibodi terhadap *B. abortus*. Sapi dengan hasil uji negatif palsu berisiko menjadi sumber penularan penyakit sehingga mengganggu program pengendalian brucellosis. Hal ini disebabkan karena untuk memperoleh hasil diagnosa yang tepat diperlukan uji ulang setiap 10 hingga 14 hari selama periode minimal 3 bulan setelah uji yang pertama (Karthik *et al.*, 2014; DaSilva Moi *et al.*, 2012; El-Diasty *et*

al., 2018). Hingga saat ini, metode isolasi masih merupakan *gold standard* untuk deteksi mikro-organisme yang hidup di dalam darah seperti brucella karena spesifisitas nya yang tinggi. Meskipun demikian, untuk mikro-organisme intraseluler yang pertumbuhannya lambat seperti *Brucella* metode isolasi memiliki sensitivitas yang rendah dan memiliki risiko terjadinya penularan penyakit kepada laboran karena bersifat zoonotik sehingga diperlukan fasilitas *biosafety level 3* dan ketrampilan teknis yang tinggi untuk penanganan sampel (Solmaz *et al.*, 2014; DaSilva Moi *et al.*, 2012). Karena permasalahan tersebut maka tehnik pengujian berbasis asam nukleat tanpa isolasi bakteri telah dikembangkan untuk identifikasi brucella selama 20 tahun terakhir (Afshari *et al.*, 2012).

Hingga saat ini *Polymerase Chain Reaction* (PCR) telah berhasil digunakan untuk deteksi brucella dari berbagai jenis sampel seperti serum (Thorat *et al.*, 2017; Parthiban *et al.*, 2019), susu (Noor *et al.*, 2015), *buffy coat*, semen dan darah-utuh (Khamesipour *et al.*, 2013; Wuryastuty *et al.*, 2019). Menurut Zerva *et al.* (2001), darah-utuh atau serum merupakan sampel terbaik untuk deteksi dan diagnosis berbagai penyakit infeksius termasuk brucella. Hal ini disebabkan karena darah-utuh dan serum merupakan sampel yang relatif mudah untuk dikoleksi, ditangani dan diproses serta memiliki risiko yang lebih rendah sehingga direkomendasikan untuk digunakan dalam diagnosis brucellosis. Selain itu, proses ekstraksi DNA dari sampel darah-utuh maupun serum juga lebih mudah dibandingkan dengan ekstraksi DNA dari jaringan (Thorat *et al.*, 2017; Wuryastuty *et al.*, 2019). Meskipun tehnik ekstraksi DNA yang telah dikembangkan oleh para ahli dan tersedia secara komersial adalah efektif, tetapi secara umum dapat mengakibatkan berkurangnya jumlah atau bahkan hilangnya sampel DNA yang penting dan memiliki potensi timbulnya kesalahan pengujian dalam pencampuran

sampel atau terjadinya kontaminasi silang antar sampel.

Saat ini metode amplifikasi tanpa ekstraksi (pemurnian) DNA dari berbagai jenis sampel seperti darah-utuh, tanaman, jaringan hewan atau manusia telah dikembangkan dan berbagai perangkatnya telah tersedia secara komersial (Biswas *et al.*, 2013). Metode ini menawarkan cara yang lebih baik untuk mengurangi waktu penanganan sampel, dana yang diperlukan untuk pemurnian *template* (cetakan) dan risiko penyebaran mikroorganisme infeksius seperti *Brucella spp.* Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari efektifitas amplifikasi DNA dengan atau tanpa ekstraksi dalam mendeteksi *Brucella abortus* dari sampel darah-utuh. Hal ini penting karena tehnik baru ini diharapkan memperpendek waktu pemrosesan sampel, risiko kontaminasi silang antar sampel, mengurangi risiko pengujian terinfeksi bakteri yang zoonotik dengan harga yang relatif lebih murah dibandingkan dengan tehnik yang memerlukan ekstraksi DNA.

Materi dan Metode

Pada penelitian ini, sekitar 3 ml sampel darah utuh diambil melalui vena coccygeal menggunakan tabung vakum berlapis *Ethylene diamine tetra acetic acid* (EDTA, BecktonDickensen) dari 3 sapi perah penderita brucellosis dari daerah Jawa Tengah. Setiap sampel darah utuh kemudian dibagi menjadi dua bagian: 1. DNA dari sampel darah utuh diekstraksi sebelum dilakukan uji PCR dan 2. DNA dalam sampel darah utuh diamplifikasi secara langsung dengan uji PCR tanpa dilakukan ekstraksi DNA.

Pada penelitian ini, untuk konfirmasi reproduktifitas dan penerapan dari uji PCR langsung yang dikembangkan, 5 sampel darah-EDTA dari sapi potong penderita abortus diikuti sertakan dalam analisis dengan cara yang sama (tanpa ekstraksi DNA). Semua sapi berasal dari daerah Jawa Tengah. (Keterangan Kelaikan Etik: 0104/EC-FKH/Int/2019).

Ekstraksi DNA. Semua sampel darah utuh diekstraksi menggunakan perangkat untuk pemurnian DNA *Genomik GeneJet* yang tersedia secara komersial (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, Amerika). Empat ratus mikroliter bufer pelisis dan 20 μ l larutan

Proteinase K ditambahkan ke dalam setiap tabung eppendorf yang berisi 200 μ l sampel darah utuh. Semua larutan dalam tabung dicampur secara merata dengan cara di vorteks dan diinkubasi pada suhu 56°C selama 10 menit. Setelah inkubasi, 200 μ l larutan etanol absolut ditambahkan ke dalam setiap tabung. Campuran larutan kemudian dipindahkan kedalam kolom *GeneJET Genomic DNA Purification* yang telah disiapkan dengan cara dipasangkan ke dalam tabung pengumpul dan disentrifugasi selama 1 menit pada kecepatan 6000xg. Setelah sentrifugasi, filtrate dibuang dan kolom pemurnian ditempatkan ke dalam tabung pengumpul baru. Lima ratus mikroliter bufer pencuci I ditambahkan kedalam kolom diikuti dengan sentrifugasi selama 1 menit pada kecepatan 8000xg. Setelah sentrifugasi, filtrat dibuang dan kolom pemurnian ditempatkan kembali ke dalam tabung pengumpul. Lima ratus mikroliter bufer pencuci II ditambahkan kedalam kolom diikuti dengan sentrifugasi selama 3 menit pada kecepatan maksimum (≥ 12000 xg). Setelah sentrifugasi, filtrat dan tabung pengumpul dibuang dan kolom pemurnian dipindahkan ke tabung eppendorf 1,5 ml steril. Dua ratus mikroliter bufer elusi ditambahkan ke bagian tengah membran kolom *GeneJET Genomic DNA Purification*, diinkubasi selama 2 menit pada suhu kamar dilanjutkan dengan sentrifugasi pada 8000xg selama 1 menit untuk mengelusi genom DNA.

Polymerase Chain Reaction. Deteksi molekuler *B. abortus* dengan atau tanpa ekstraksi DNA brucella dilakukan dengan menggunakan pasangan primer spesifik untuk amplifikasi gen *bcspp31* (Bailey *et al.*, 1992) dan primer spesifik untuk amplifikasi gen *IS711* (Doust *et al.*, 2007).

Amplifikasi ekstrak DNA brucella dikerjakan dalam volume total 50 μ l. Ke dalam setiap tabung PCR 200 μ l, campuran reaksi yang mengandung 25 μ l GoTaq® Green Master Mix 2x (Promega, Madison, WI 53711-5399 USA), 2.5 μ l 10 pMol primer *forward* dan 2.5 μ l 10 pMol primer *reverse* (Tabel 1.), 5 μ l sampel DNA dan H₂O bebas nuklease ditambahkan sampai volume total menjadi 50 μ l. Tabung PCR kemudian ditempatkan ke dalam mesin *Personal Combi Thermocycler* Biometra (37079 Goettingen Jerman) untuk diamplifikasi dengan kondisi siklik seperti dijelaskan dalam Tabel 2. Produk

amplifikasi PCR dianalisis dengan elektroforesis pada *ultrapure agarose gel*TM (Invitrogen) 1,5% dengan kecepatan 120 V 400 A selama 45 menit. Gel agarosa kemudian direndam di dalam larutan Tris-borate-EDTATM (Sigma-Aldrich) bufer 1x ditambah dengan 0,5 µg/ml larutan ethidium bromidaTM (Sigma-Aldrich) selama 15 menit. Produk elektroforesis yang telah diwarnai kemudian divisualisasi menggunakan UV transiluminator dan direkam menggunakan Gel Logic 100 Imaging System (Kodak, Carestream Health Inc. Rochester, NY 14608).

Amplifikasi DNA tanpa ekstraksi dilakukan menggunakan Thermo ScientificTM PhusionTM Blood Direct PCR Master Mix (ThermoFisher Scientific Inc., Austria / UK). Total volume setiap campuran yang ditambahkan ke setiap tabung PCR adalah 50 µl. Bahan-bahan yang digunakan dalam campuran terdiri dari: 25 µl 2x Phusion *Blood Direct* campuran utama PCR, 1,5 µl 20 pMol primer *forward* dan 1,5 µl 20 pMol primer *reverse*

husus untuk gen brucella atau *B. spesies abortus* dalam urutan basa seperti pada Tabel 1., 1,5 µl 50 mM MgCl₂, 2,5 µl 50 mM EDTA, 2,5 µl DMSO, 10 µl darah utuh dan H₂O bebas nuklease hingga total volume menjadi 50 µl. Kondisi siklus untuk amplifikasi dilakukan sebagaimana tercantum dalam Tabel 3.

Hasil dan Pembahasan

Gambar 1 dan 2 menunjukkan produk PCR hasil amplifikasi DNA brucella dari darah-utuh sapi perah penderita Brucellosis menggunakan pasangan primer yang spesifik untuk amplifikasi gen *Brucella spp.* atau primer yang spesifik untuk amplifikasi spesies *Brucella abortus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa DNA *Brucella abortus* dari sampel darah yang sama berhasil diamplifikasi baik dengan atau tanpa dilakukan ekstraksi DNA sebelum dianalisa dengan tehnik PCR. Hasil konfirmasi tehnik PCR secara langsung tanpa ekstraksi DNA dari sampel darah

Tabel 1. Untaian basa primer untuk *Brucella abortus* dalam penelitian ini.

Primer	Forward (5' → 3')	Reverse (5' → 3')	PCR Product	Ref.
<i>Brucella spp. (bcsp31)</i>	TGGCTCGGTTGCCAATATCAA	CGCGCTTGCCCTTCAGGTCTG	223 bp	Baily <i>et al.</i> 1992
<i>Brucella abortus (IS711)</i>	TGCCGATCACTTAAGGGCCTTCAT	GACGAACGGAATTTTCCAATCCC	498 bp	Doust <i>et al.</i> 2007

Tabel 2. Protokol siklus PCR untuk amplifikasi *Brucella abortus* dengan ekstraksi DNA

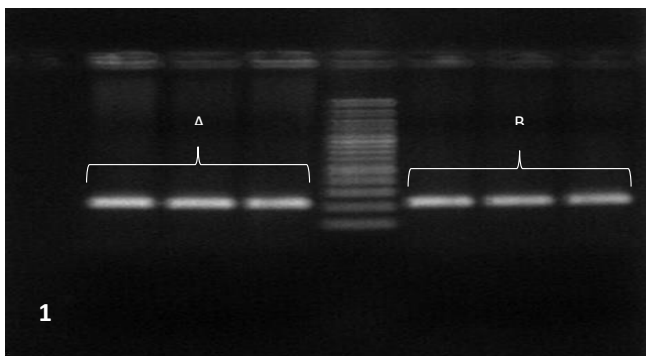
Target Gen	Produk PCR	Kondisi Siklus			Jumlah Siklus
		Langkah	Suhu	Waktu	
<i>BCSP31</i>	223 bp	<i>Initial Denaturation</i>	95°C	5 min.	1
		<i>Denaturation</i>	94°C	1 min.	
		<i>Annealing</i>	55°C	1 min.	
		<i>Extension</i>	72°C	1 min.	
		<i>Final Extension</i>	72°C	5 min.	
<i>IS711</i>	498bp	<i>Initial Denaturation</i>	95°C	5 min.	1
		<i>Denaturation</i>	95°C	30 sec.	
		<i>Annealing</i>	58°C	30 sec.	
		<i>Extension</i>	72°C	30 sec.	
		<i>Final Extension</i>	72°C	5 min.	

Tabel 3. Protokol siklus PCR untuk amplifikasi *Brucella abortus* tanpa ekstraksi DNA

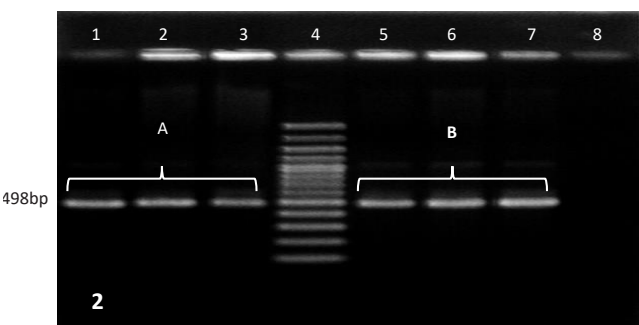
Target Gen	Produk PCR	Kondisi Siklus			Jumlah Siklus
		Langkah	Suhu	Waktu	
<i>BCSP31</i> atau <i>B. abortus (IS711)</i>	223bp atau 498bp	<i>Lysis of cells</i>	98°C	5 min.	1
		<i>Denaturation</i>	98°C	1 sec	
		<i>Annealing</i>	60°C	5sec	
		<i>Extension</i>	72°C	15sec	
		<i>Final Extension</i>	72°C	1 min	

utuh yang dikoleksi dari sapi potong penderita abortus memberikan hasil yang sama.

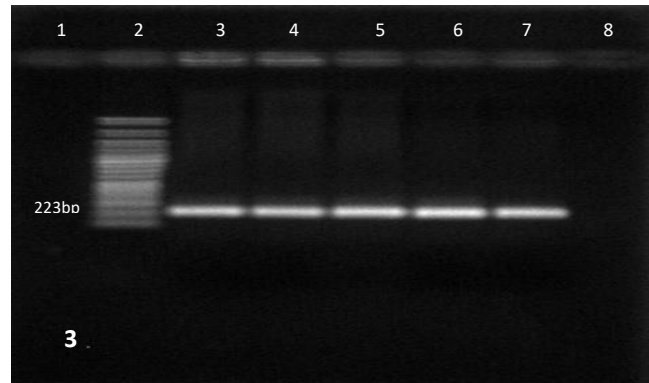
Brucellosis merupakan penyakit yang rumit dalam hal diagnosis. Hingga saat ini uji serologis terutama *Rose bengal test* (RBT) merupakan metode pilihan di seluruh laboratorium di Indonesia karena sensitivitas dan spesifisitasnya yang relative tinggi sehingga digunakan sebagai skrining awal adanya brucellosis pada ternak. *Complement Fixation Test* (CFT) merupakan uji serologis yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas lebih baik dibandingkan dengan uji RBT sehingga umum digunakan sebagai uji konfirmasi. Namun demikian, dalam kondisi lapangan, CFT mungkin menunjukkan sensitivitas yang lebih rendah dibandingkan dengan RBT, yang membuatnya handal di tingkat kelompok tetapi bersifat terbatas pada tingkat individual. Sensitivitas CFT secara langsung juga berkaitan dengan tahapan infeksi dari hewan yang diuji, dengan nilai yang lebih



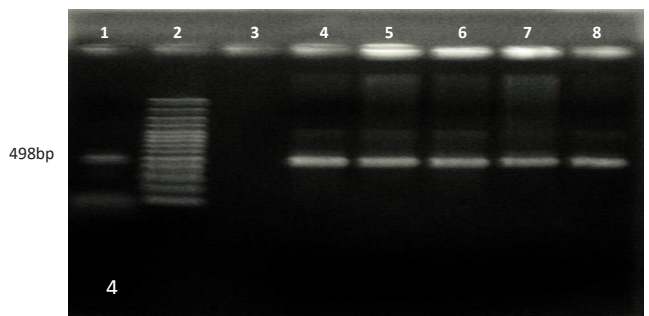
Gambar 1. Produk PCR dari *Brucella spp.* positif sampel (223 bp) dengan ekstraksi DNA (Pita 2, 2, 4) dan tanpa ekstraksi DNA (Pita 6, 7, 8); Penanda DNA SMOBIO 100bp (Pita 5) dan kontrol negatif (Pita 1). Sampel berasal dari sapi perah positif terinfeksi *B. abortus* secara serologis dan molekuler.



Gambar 2. Produk amplifikasi PCR dari *Brucella abortus* positif sampel (498 bp) dengan ekstraksi DNA (Pita 1, 2, 3) dan tanpa ekstraksi DNA (Pita 5, 6, 7); Penanda DNA SMOBIO 100bp (Pita 4) dan kontrol negatif (Pita 8). Sampel berasal dari sapi perah positif terinfeksi *B. abortus* secara serologis dan molekuler.



Gambar 3. Hasil amplifikasi PCR secara langsung tanpa ekstraksi DNA dari sampel darah-utuh yang dikoleksi dari sapi potong penderita abortus menggunakan primer spesifik untuk gen *Brucella spp.* (223bp). Pita 2: Penanda DNA SMOBIO 100bp; Pita 3 - 7: Sampel Lapangan positif *Brucella spp.*; Pita 8: Kontrol negatif.



Gambar 4. Hasil amplifikasi PCR secara langsung tanpa ekstraksi DNA dari sampel darah-utuh yang dikoleksi dari sapi potong penderita abortus menggunakan primer spesifik untuk *B. abortus* (498bp). Pita 1: Kontrol positif; Pita 2: Penanda DNA SMOBIO 100bp; Pita 3: Kontrol negatif; Pita 4 - 8: Sampel lapangan positif *B. abortus*.

tinggi untuk hewan dalam fase infeksi akut dibandingkan dengan hewan yang terinfeksi secara kronis. Berdasarkan hal tersebut, tidak ada uji serologis tunggal yang dapat digunakan untuk menetapkan diagnosa brucellosis di semua tahapan infeksi. Di beberapa situasi, hasil uji RBT mungkin positif tetapi uji CFT memberikan hasil yang negatif (Fensterbank, 1986).

Kondisi tersebut dapat terjadi setelah hewan divaksinasi dengan vaksin brucella galur 19 atau adanya reaksi silang setelah hewan terinfeksi dengan mikro-organisme lain seperti *Francisella tularensis*, *Escherichia coli* O:157, *E. Coli* O:116 dan *Yersinia enterocolitica* O:9. Serum dari hewan yang divaksinasi dengan vaksin brucella galur RB51 tidak memberikan reaksi dengan uji RBT atau CFT, tetapi, dengan uji ELISA, antibodi dari sapi yang divaksinasi dengan vaksin brucella

galur RB51 tidak selalu dapat dibedakan dengan antibodi akibat infeksi secara alami (OIE, 2018).

Beberapa peneliti telah memanfaatkan uji PCR dalam deteksi brucellosis dalam serum dan sampel darah utuh dan berhasil mengamplifikasi patogen yang ada di dalam sirkulasi darah. Uji PCR konvensional memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi dan dapat mendeteksi terjadinya infeksi pada tahap yang lebih awal bila dibandingkan dengan uji serologis, serta memiliki hubungan yang erat (> 90%) dengan hasil uji *real-time* PCR untuk deteksi antigen *Brucella abortus* (Wuryastuty *et al.*, 2019) maupun *Brucella mellitensis* (Al-Gharadi *et al.*, 2011).

Masalah dalam penggunaan darah sebagai sampel untuk uji PCR terletak pada berbagai senyawa penghambat yang secara alami terkandung di dalam sampel darah maupun senyawa penghambat lain yang diperoleh selama proses pengambilan sampel, pemrosesan sampel maupun selama ekstraksi asam nukleat (Schrader *et al.*, 2012). Secara umum, sampel darah disimpan di dalam tabung yang berlapis antikoagulan. Antikoagulan yang umum digunakan antara lain sodium heparin, lithium heparin, sodium citrate dan EDTA. Untuk sampel darah utuh, pilihan jenis antikoagulan sangat penting karena masing-masing memiliki dampak negatif terhadap amplifikasi PCR secara langsung. Menurut Konet *et al.* (2000) dan Costafreda *et al.* (2006), hambatan oleh heparin terjadi secara langsung terhadap RNA atau DNA yang berasal dari plasma dan bukan RNA atau DNA yang berasal dari sel darah putih serta bukan hambatan terhadap enzim dari reaksi.

Pada penelitian ini, antikoagulan yang digunakan adalah EDTA. Pemilihan jenis antikoagulan dalam penelitian ini didasarkan pada hasil penelitian yang dilakukan oleh Sidstedt *et al.* (2018). Menurut Li *et al.* (2011), penghambatan aktivitas DNA polimerase oleh EDTA berhubungan dengan kemampuannya mengkelat Mg^{2+} , sementara kelarutan DNA bervariasi tergantung konsentrasi EDTA dan NaCl. Lebih lanjut dikatakan bahwa untuk amplifikasi PCR secara langsung tanpa ekstraksi DNA, diperlukan konsentrasi EDTA dan NaCl hingga 2,0 mM untuk hasil yang optimal. Setiap tabung berlapis EDTA mengandung 1,2-2,0 mM EDTA/ml darah.

Volume darah yang digunakan pada penelitian ini adalah 10 μ l (20%) untuk setiap 50 μ l reaksi PCR, sehingga untuk setiap siklus reaksi mengandung sekitar 0,4 mM EDTA. Sidstedt *et al.* (2015) membuktikan bahwa efek penghambatan EDTA baru terjadi jika konsentrasi EDTA mencapai 6-18 mM/reaksi. Hasil pada Gambar 1, 2, 3 dan 4 menunjukkan bahwa amplicon PCR terdeteksi secara jelas pada 1,5% gel agarosa membuktikan tidak adanya hambatan oleh EDTA.

Menurut Opel *et al.* (2010) ada tiga mekanisme dasar penghambatan PCR yaitu: 1. Pengikatan DNA, 2. Pengikatan enzim polimerase dan 3. Mode campuran yaitu inhibitor yang berpengaruh terhadap kerja enzim polimerase maupun DNA. Menurut Vilahur *et al.* (2013), pada prinsipnya, semakin segar sampel semakin baik kualitas RNA dan DNA yang akan diperoleh. Ketika berhadapan dengan sampel klinis, perlu diperhatikan waktu dan suhu penyimpanan sampel sejak dikumpulkan hingga dilakukan pemurnian baik RNA maupun DNA. Hasil penelitian Huang *et al.* (2017) memberi petunjuk tentang waktu dan suhu penyimpanan darah utuh untuk diperoleh DNA atau RNA yang berkualitas tinggi sesuai dengan uji yang akan dikerjakan. Untuk uji sekuensing, waktu penyimpanan maksimum dari sampel darah utuh adalah 24 jam sedangkan untuk uji *microarray* lama penyimpanan sampel bias sampai 32 jam. Meskipun demikian, penyimpanan pada suhu rendah tidak selalu menjamin sampel dari kerusakan. Penyimpanan sampel darah utuh di dalam *freezer* secara signifikan akan merusak RNA. Secara umum, sampel DNA dapat bertahan di dalam sel darah utuh hingga 15 hari tetapi metilasi DNA secara signifikan mulai mengalami perubahan sesudah sampel disimpan di dalam almari pendingin lebih dari 3 hari. Selain itu jumlah DNA juga akan mengalami penurunan seiring dengan peningkatan terjadinya lisis dari sel darah putih. Berdasarkan hal yang dijelaskan sebelumnya, sampel yang digunakan pada penelitian ini semuanya disimpan di dalam almari pendingin dengan waktu penyimpanan tidak lebih dari 3 hari sejak sampel dikoleksi hingga pelaksanaan uji.

Hemoglobin dan imunoglobulin G adalah dua inhibitor PCR utama dalam darah, di mana hemoglobin berpengaruh terhadap proses amplifikasi

melalui efek langsung pada aktivitas DNA polimerase sedangkan immunoglobulin G akan mengikat DNA genom rantai tunggal sehingga proses polimerisasi DNA dalam beberapa siklus awal PCR akan terhambat (Sidstedt *et al.*, 2018). Untuk teknik qPCR, penggunaan darah utuh berpengaruh terhadap amplifikasi dan deteksi fluoresensi (Sidstedt *et al.*, 2015). Tahapan pencucian secara berulang pada metode ekstraksi juga dilaporkan dapat mengurangi jumlah faktor penghambat seperti hemoglobin. Namun demikian proses pencucian dapat secara signifikan menurunkan jumlah DNA yang dimurnikan sehingga beresiko menimbulkan terjadinya hasil negatif palsu. Konsentrasi DNA ($\mu\text{g/ml}$) dapat diukur menggunakan spektrofotometer Qubit sesudah dilakukan ekstraksi, seperti yang dilakukan pada penelitian ini.

Dari beberapa hasil penelitian sebelumnya, mekanisme kerja dari senyawa-senyawa aktif yang terkandung di dalam perangkat yang tersedia secara komersial dipercaya mengakibatkan netralisasi zat penghambat yang bertanggung jawab terjadinya pengikatan terhadap enzim DNA polimerase dan/atau cetakan DNA. Terikatnya faktor penghambat oleh senyawa di dalam perangkat akan membebaskan enzim DNA polimerase dan/atau cetakan DNA untuk digunakan dalam proses amplifikasi (Biswas *et al.*, 2013). Pada prinsipnya efektifitas uji PCR secara langsung terletak pada penggunaan sampel DNA yang berkualitas tinggi dan enzim DNA polimerase yang resisten terhadap faktor penghambat yang terkandung di dalam sampel darah merupakan solusinya (Miura *et al.*, 2013; Werblow *et al.*, 2016).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa uji amplifikasi PCR menggunakan sampel darah utuh tanpa didahului ekstraksi DNA merupakan uji yang sensitif, spesifik, sederhana, cepat dan hemat biaya untuk diagnosa brucellosis pada sapi perah maupun sapi potong dan oleh karena itu diharapkan dapat digunakan untuk memperbaiki program kontrol dan surveillance yang telah ada.

Ucapan Terima Kasih

Penulis berterimakasih kepada: 1. Direktorat Riset Dan Pengabdian Masyarakat Direktorat

Jenderal Penguatan Riset Dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, Dan Pendidikan Tinggi dan Universitas Gadjah Mada atas dukungan dana melalui Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi, sesuai dengan Perjanjian Pendanaan Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat Tahun Anggaran 2018 (Nomor 199/UN1/DITLIT/DIT-LIT/LT/2018). 2. Drh. Aldi Salman yang telah berbaik hati untuk berbagi sampel darah dari sapi perah penderita brucellosis sebelum dilakukan tindak pemotongan bersyarat.

Daftar Pustaka

- Afshari, A., Schrenzel, J., Ieven, M. and Harbath, S. (2012). Bench-to bedside review: Rapid molecular diagnostics for bloodstream infection a new frontier? *Critical Care* : 1-12.
- Al-Garadi, M.A., Khairani-Bejo, S,m Zunita, Z. and Omar, A.R. (2011). Detection of *Brucella mellitensis* in blood samples collected from goats. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 10(11): 1437-1444.
- Bailey, G.G., Krahn, J.B. and Drasar, B.S. (1992). Detection of *Brucella mellitensis* and *Brucella abortus* by DNA amplification. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 95: 271-275.
- Biswas, C., Dey, P. and Satpathy, S. (2013). A method of direct PCR without DNA extraction for rapid detection of begomoviruses infecting jute and mesta. *Letters in Applied Microbiology*. 58: 350-355.
- Costafreda, M.I., Bosch, A. and Pinto, R.M. (2006). Development, evaluation and standardization of a real-time TaqMan reverse transcription PCR assay for quantification of hepatitis A virus in clinical and shellfish samples. *Applied and Environmental Microbiology* 6: 3846-3855.
- Da Silva Moi, J.P., Araujo, F.S. and Paixao, T.A. (2012). Laboratorial diagnosis of animal brucellosis. *Revista Brasileira Ciencia Veterinaria*. 19: 117-126.
- Doust, S.R.H., Ahmadi, Z. and Ahmadi, A. (2007). Detection of *Brucella abortus* by alkB and

- IS711 based primers. *Journal of Research in Medical Science*. 12: 62-67.
- El-Diasty, M., Wareth, G., Melzer, F., Mustafa, S., Sprague, L.D. and Neubauer, H. (2018). Isolation of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* from seronegative Cows is a serious impediment in Brucellosis control. *Veterinary Science*. 5(28):1-4.
- Fensterbank, R. 1986. Brucellosis in cattle, sheep and goats: diagnosis, control and vaccination. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*.5(3): 605-618.
- Huang, L-H., Lin, P-H., Tsai, K-W., Wang, L-J., Huang, Y-H., Kuo, H-C. and Li, S-C. (2017). The effects of storage temperature and duration of blood samples on DNA and RNA qualities. *Plos One*: 1-13.
- Karthik, K., Rathore, R., Thomas, P., Elamurugan, A., Arun, T.R. and Dhama, K. (2014). Serological and molecular detection of *Brucella abortus* from cattle by RBPT, STAT and PCR and sample suitability of whole blood for PCR. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 9(4): 262-269.
- Khamesipour, F., Doosti, A. and Taheri, H. (2013). Molecular detection of brucella spp. In the semen, testis and blood samples of cattle and sheep. *Journal of Pure Applied Microbiology*. 7: 495-500.
- Konet, D.S., Mezencio, J.M., Babcock, G. and Brown, F. (2000). Inhibitors of RT-PCR in serum. *Journal of Virological Methods*. 84: 95-98.
- Li, H., Xu, H., Zhao, C., Sulaiman, Y. and Wu, C. (2011). A PCR amplification method without DNA extraction. *Electrophoresis*. 32: 394-397.
- Mahajan, V., Banga, H.S. and Vilia, G. (2017). Comparison of diagnostic tests for the detection of bovine brucellosis in the natural cases of abortion. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 18: 183-189.
- Miura, M., Tanigawa, C., Fujii, Y. and Kaneko, S. (2013). Comparison of six commercially-available DNA Polymerase for direct PCR. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 55(6): 401-406.
- Noor, S.M., Sudarmono, P.P., Kusumawati, A. and Karuniawati, A. (2015). Deteksi Brucellosis pada susu sapi dengan uji *Polymerase Chain Reaction*. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 9 (1): 64-66.
- Ocholi, R.A., Kwaga, J.K.P., Ayogi, I. and Bale, J.O.O. (2005). Abortion due to *Brucella abortus* in sheep in Nigeria. *Revue Scientifique et Technique International Office of Epizootics*.24: 973-979.
- Office International des Epizooties. (2018). Bovine Brucellosis In *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 8th Edition. OIE. World Organization for Animal Health
- Opel, K.L., Chung, D. and McCord, B.R. (2010). A study of PCR inhibition mechanisms using real time PCR. *Journal of Forensic Science*. 55: 25-33.
- Parthiban, S., Prabhu, M., Anne, N.S., Malmarugan, S. and Rajeswar, J.J. (2019). Serum based screening and molecular detection of brucellosis in ruminants. *Indian Journal of Biotechnology*. 18: 22-25.
- Poester, F.P., Samartino, L.E. and Santos, R.L. (2013). Pathogenesis and pathobiology of brucellosis in livestock. *Revue Scientifique et Technique International Office of Epizootics*. 32(1): 105-115.
- Priyadarshini, A., Sarangi, L.N. and Palai, T.K. (2013). Brucellosis in cattle and occupationally exposed human beings: A serosurveys in Odisha, India. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 7: 3255-3260.
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L. and Johne, R. (2012). PCR inhibitors-occurrence, properties and removal. *Journal of Applied Microbiology*. 113: 1014-1026.
- Sidstedt, M., Jansson, L., Nilsson, E., Noppa, L., Forsman, M., and Radstrom, P. (2015). Humic substances cause fluorescence inhibition in real-time polymerase chain reaction. *Analytical Biochemistry*. 487: 30-37.

- Sidstedt, M., Hedman, J., Romsos, E.L., Waitara, L., Wadso, L., Steffen, C.R., Vallone, P.M. and Radstrom, P. (2018). Inhibition mechanism of hemoglobin, immunoglobulin G, and whole blood in digital and real-time PCR. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 410: 2569-2583.
- Solmaz, H., Cantekin, Z., Altug, N., Ilhan, Z., Aslan, S. and Ergun, Y. (2014). A PCR method with internal control for detection of *Brucella* spp. from bovine abortion samples. *Revue de Medecine Veterinaire* 165, 9-10: 253-257.
- Thorat, V.D., Bannalikal, A.S., Doiphode, A., Majee, S.B., Gandge, R.S. and Ingle, S.A. (2017). Isolation, identification and molecular detection of *Brucella abortus* from cattle and buffalo. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 6(10): 2853-2864.
- Vilahur, N., Baccarelli, A.A., Bustamante, M., Agramunt, S., Byun, H.M. and Fernandez, M.F. (2013). Storage conditions and stability of global DNA methylation in placental tissue. *Epigenomics* 5(3): 341-348.
- Werblow, A., Flechl, E., Klimpel, S., Zित्रा, C., Lebl, K., Kieser, K., Laciny, A., Silbermayr, K., Melaun, C. and Fuehrer, H.P. (2016). Direct PCR of indigenous and invasive mosquito species: a time- and cost-effective technique of mosquito barcoding. *Medical and Veterinary Entomology*. 30: 8-13.
- Wuryastuty, H., Wasito, R. and Sugiyono. (2019). Molecular identification of *Brucella abortus* collected from whole blood samples of seronegative dairy cattle with reproductive disorders in Central Java, Indonesia. *Pakistan Veterinary Journal*. 39(3): 455-458.
- Zerva, L., Bourantas, K., Mitka, S., Kansouzidou, A. and Legakis, N.J. (2001). Serum is the preferred clinical specimen for diagnosis of human brucellosis by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 39(4): 1661-1664.

Karakteristik Patogenitas *Avibacterium paragallinarum* Isolat Lapang pada Telur Ayam Berembrio umur 7 hari

Characteristics Pathogenicity of Avibacterium paragallinarum Field Isolate in Embryonic Chicken Eggs Aged 7 Days

Lynda Nugrahaning I.¹, Sruti Listra A.², Ima Fauziah³, Vinsa Cantya P.⁴, Sitarina Widayari⁵, A.E.T.H. Wahyuni^{6*}

^{1,2,3}Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

⁴Asisten Riset Profesor, Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

⁵Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

⁶Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

*Corresponding Author; Email: wahyuni_aeth@ugm.ac.id

Naskah diterima: 31 Mei 2019, direvisi: 16 Agustus 2020, disetujui: 20 Oktober 2020

Abstract

Infectious coryza (IC) is a bacterial disease that attacks the chicken's respiratory tract, which can be acute to chronic. IC caused by *Avibacterium paragallinarum*. IC damage the upper respiratory tract, especially the nasal cavity. Observation of macroscopic changes in embryos that have died after inoculation in specific pathogen free (SPF) embryonic chicken eggs (ECE) as one of the characteristics of *A. paragallinarum* isolates has not been widely performed. This study aims to determine the characteristics of *A. paragallinarum* isolates through inoculation on embryonic chicken eggs aged 7 days. The 50 SPF ECE 7-day divided into 5 groups, each consisting of 10 eggs, namely the negative control group, inoculated *A. paragallinarum* serotype A/221; B/Spross; B/2448; and C/2447. The bacteria are first cultured in broth media and incubated for 24 hours at 37°C. Volume of bacteria suspense 0,2 ml (6×10^8 cfu/ml) was injected into the SPF ECE, incubated at 37°C and observed 2 times a day. The dead embryo was scoring macroscopic changes. Embryo from SPF ECE in the inoculated group *A. paragallinarum* serotype A/221, B/Spross, B/2448, and C/2447 100% showed hemorrhage on head and body All *A. paragallinarum* isolates were pathogenic in embryonic chicken eggs.

Key words : *Avibacterium paragallinarum*; embryonic chicken eggs; inoculation

Abstrak

Infectious coryza (IC) adalah penyakit bakterial yang menyerang saluran pernapasan ayam, yang dapat bersifat akut sampai kronis disebabkan oleh *Avibacterium paragallinarum*. IC merusak saluran pernapasan bagian atas, terutama rongga hidung. Pengamatan perubahan makroskopik pada embrio yang mengalami kematian setelah inokulasi pada telur ayam berembrio (TAB) *specific pathogen free* (SPF) sebagai salah satu karakteristik isolat *A. paragallinarum* belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik isolat *A. paragallinarum* melalui inokulasi pada telur ayam berembrio TAB SPF umur 7 hari. TAB SPF umur 7 hari berjumlah 50 butir dibagi menjadi 5 kelompok masing-masing terdiri dari 10 butir yaitu kelompok kontrol negatif, *A. paragallinarum* serotipe A/221; serotipe B/Spross; serotipe B/2448; dan serotipe C/2447. Bakteri terlebih dahulu dikultur pada media cair dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri dengan volume 0,2 ml (6×10^8 cfu/ml) diinjeksikan pada TAB SPF, diinkubasi pada suhu 37°C dan diamati adanya kematian sebanyak 2 kali sehari. Embrio yang mati dilakukan skoring perubahan makroskopik. Embrio yang berasal dari TAB SPF pada kelompok yang diinokulasi *A. paragallinarum* serotipe A/ 221, B/Spross, B/2448, and C/2447 mengalami hemoragi pada bagian kepala dan tubuh. Keseluruhan isolat *A. paragallinarum* bersifat patogen pada telur ayam berembrio.

Kata kunci: *Avibacterium paragallinarum*; inokulasi; telur ayam berembrio; inokulasi

Pendahuluan

Snot atau *infectious coryza* (IC) adalah penyakit bakterial yang disebabkan oleh *Avibacterium paragallinarum*, menyerang saluran pernapasan ayam, dan dapat bersifat akut sampai kronis. *Snot* merusak saluran pernapasan bagian atas, terutama rongga hidung (Blackall dan Soriano-Vargas, 2013; Patil et al., 2016). Penyakit ini memiliki tingkat mortalitas yang rendah. IC pada ayam petelur menyerang semua umur. Jika terinfeksi pada masa menjelang bertelur, kelompok ayam ini akan sangat terlambat produksinya serta penurunan produksi telur mulai dari 10% sampai dengan 40% (Akter et al., 2014; Ali et al., 2013) serta menyebabkan terjadinya peningkatan angka afkir pada ayam petelur betina (Gong et al., 2014).

Isolat *A. paragallinarum* dilakukan peningkatan patogenesitas dengan cara menginokulasikan pada *yolk sac* telur ayam berembrio (TAB) umur 7 hari pernah dilakukan oleh Blackall (1995) dan Takagi et al. (1991). TAB yang telah diinokulasi dengan *A. paragallinarum* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adanya kematian embrio dalam waktu 24 jam setelah inokulasi serta hemoragi menunjukkan bahwa *A. paragallinarum* tumbuh, memperbanyak diri, dan bersifat patogen (Blackall, 1995 dan Takagi et al., 1991). Pengamatan perubahan makroskopik pada embrio yang mengalami kematian setelah inokulasi sebagai salah satu karakteristik patogenesitas isolat *A. paragallinarum* belum banyak dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik isolat *A. paragallinarum* melalui inokulasi pada telur ayam berembrio (TAB) umur 7 hari.

Materi dan Metode

Isolat *A. paragallinarum* yang akan diuji patogenesitasnya adalah serotipe A strain 221 dan B strain Spross yang didapatkan dari Aburahi Laboratories, Jepang serta serotipe B strain 2448 dan C strain 2447 yang didapatkan dari Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor. Isolat *Avibacterium paragallinarum* (*A. paragallinarum*) dikultur ke dalam media kaldu *brain heart infusion* (BHI) pada suhu 37°C selama 24 jam secara mikroaerofilik. Pertumbuhan *A. paragallinarum* ditandai dengan perubahan media kaldu BHI yang

menjadi keruh dan terdapat endapan. Kaldu BHI tersebut kemudian disentrifus dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan endapan ditambahkan dengan PBS steril sesuai dengan standar McFarland No. 2 (6×10^8 CFU/ml) (Morales-Erasto et al., 2015; Zhao et al., 2010). Telur ayam berembrio *specific pathogenic free* umur 7 hari berjumlah 40 butir dibagi menjadi 5 kelompok TAB SPF yang diinokulasi *A. paragallinarum*, kelompok yang diinokulasi *A. paragallinarum* serotipe A strain 221, kelompok yang diinokulasi *A. paragallinarum* serotipe B strain Spross, kelompok yang diinokulasi *A. paragallinarum* serotipe B strain 2448, dan kelompok yang diinokulasi *A. paragallinarum* serotipe C strain 2447 yang masing-masing terdiri dari 10 butir TAB SPF. Telur ayam berembrio *specific pathogenic free* kemudian diinokulasikan 0,2 ml suspensi bakteri dengan konsentrasi 6×10^8 cfu/ml (Blackall, 1995 dan Takagi et al., 1991) dengan kedalaman inokulasi $\frac{3}{4}$ panjang telur ke bagian kuning telur (Takagi et al., 1991). Telur ayam berembrio *specific pathogenic free* yang telah diinokulasi menggunakan suspensi bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dan diamati adanya kematian sebanyak 2 kali sehari. Embrio yang mengalami kematian kemudian diamati adanya perubahan makroskopiknya. Kuning telur dari masing-masing telur ayam berembrio *specific pathogenic free* kemudian dilakukan penanaman pada media plat agar coklat (PAC) untuk mengetahui adanya kontaminasi bakteri lain. Sebagai pembandingan hasil perubahan makroskopik dengan kelompok TAB SPF yang diinokulasikan *A. paragallinarum*, sebanyak 10 butir TAB SPF tidak dilakukan inokulasi menggunakan *A. paragallinarum*. Hasil perubahan makroskopik pada telur ayam berembrio dilakukan penilaian yang terbagi menjadi 4 kategori yaitu, skor 0: tidak terdapat perubahan makroskopik pada embrio; skor 1: embrio mengalami hemoragi pada bagian kepala dan tubuh. . Pengamatan adanya kekerdilan tidak dapat dilakukan setelah 24 jam *pasca* inokulasi, karena pada hari kedelapan pertumbuhan embrio tidak berbeda secara signifikan dengan hari ketujuh. Hasil penilaian perubahan makroskopik masing-masing kelompok TAB SPF dilakukan penghitungan rata-rata. Analisis statistika menggunakan program

Statistical Product and Service Solutions (SPSS) versi 16.0. Metode yang digunakan adalah *Kruskal Wallis* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rata-rata skor perubahan makroskopik dalam setiap antara kelompok yang diinokulasi *A. paragallinarum* serotipe A strain 221, kelompok yang diinokulasi *A. paragallinarum* serotipe B strain Spross, kelompok yang diinokulasi *A. paragallinarum* serotipe B strain 2448, dan kelompok yang diinokulasi *A. paragallinarum* serotipe C strain 2447.

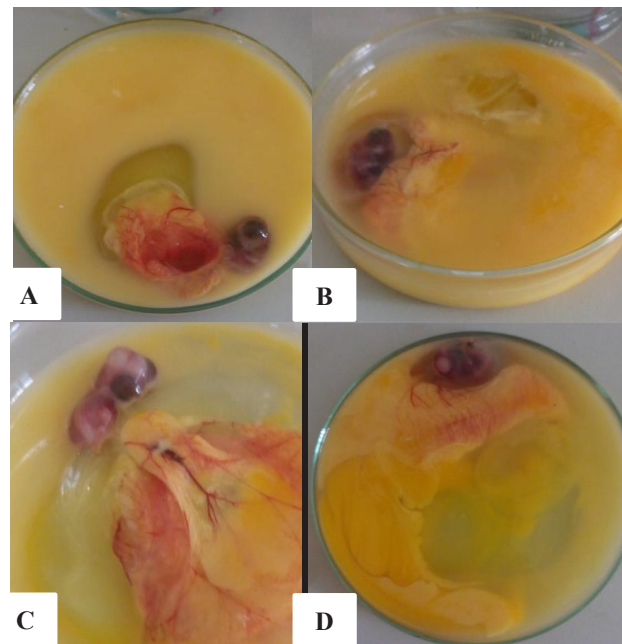
Hasil dan Pembahasan

Kematian embrio terjadi dalam kurun waktu 24 jam setelah inokulasi kuman, yang ditandai dengan hemoragi. Adanya hemoragi menandakan *A. paragallinarum* tumbuh, memperbanyak diri, dan bersifat patogen (Blackall, 1995 dan Takagi *et al.*, 1991). Gambar 1 disajikan kontrol TAB SPF yang tidak diinokulasi dengan *A. paragallinarum*, sedangkan Gambar 2 disajikan TAB SPF yang diinokulasi dengan isolat *A. paragallinarum* yang digunakan untuk ujiantang. Hasil panen kuning telur kemudian dikultur pada media pelat agar coklat (PAC) untuk mengetahui ada tidaknya kontaminasi bakteri lain. Sedangkan, pada TAB SPF yang tidak diinokulasikan dengan kuman menunjukkan tidak ada pertumbuhan bakteri pada PAC. Pada Gambar 3 ditampilkan salah satu hasil kultur kuning telur pada PAC dengan hasil morfologi koloni kecil, bulat, transparan seperti tetes embun, tercat Gram negatif kokobasil yang merupakan karakter morfologi koloni dan sel dari *A. paragallinarum* (Akter *et al.*, 2016 dan Blackall dan Soriano-Vargas, 2013).

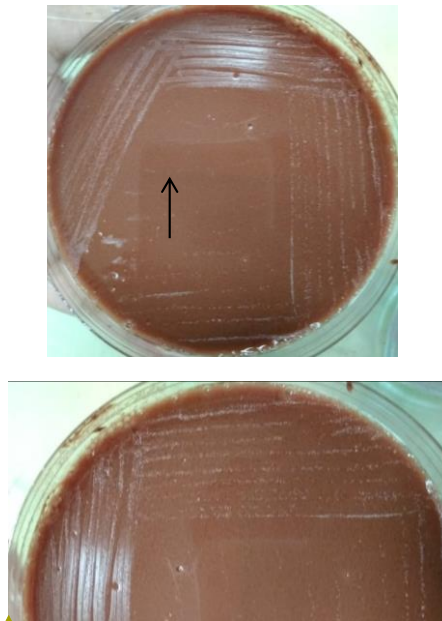
Gambar 4 disajikan jenis perubahan makroskopik pada embrio dari telur ayam berembrio SPF yang tidak diinokulasi dan diinokulasi *Avibacterium paragallinarum* (*A. paragallinarum*) berbagai serotipe. Masing-masing TAB SPF umur 7 hari yang diinokulasikan *A. paragallinarum* serotipe A strain 221, B strain Spross, B strain 2448, dan C strain 2447 menunjukkan perubahan makroskopik berupa embrio mengalami hemoragi pada bagian kepala dan tubuh sebanyak 10 butir (100%).



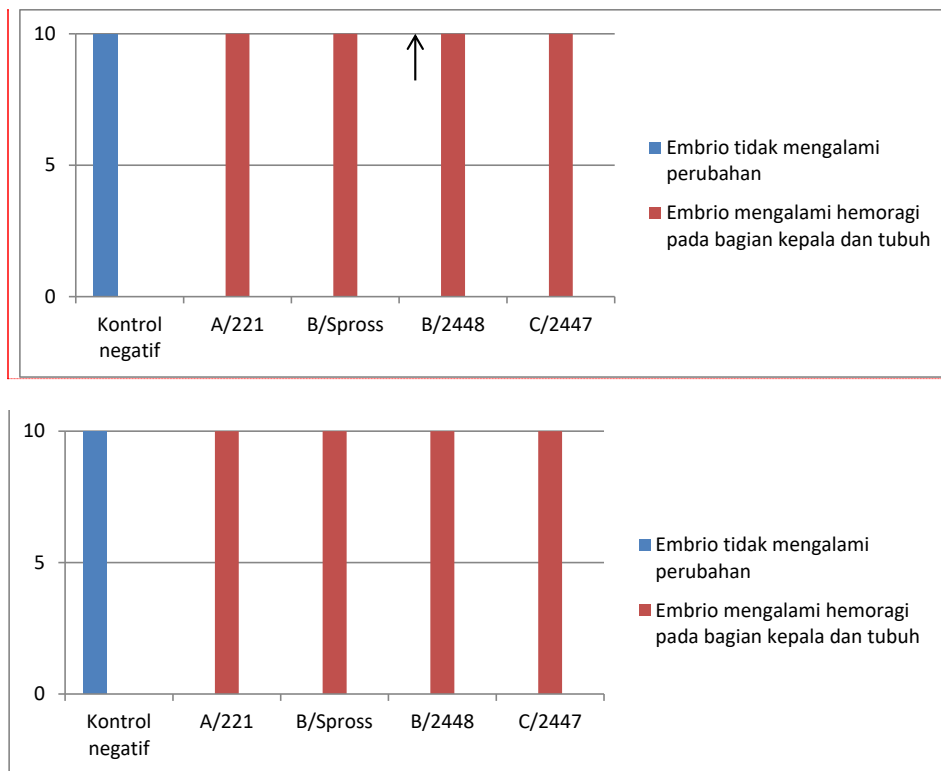
Gambar 1. Kontrol negatif telur ayam berembrio (TAB) *specific pathogen free* (SPF), terlihat bahwa embrio tidak mengalami lesi.



Gambar 2. Perubahan pada embrio yang diinokulasi. (A) Embrio mengalami hemoragi pada bagian kepala dan tubuh pada kelompok TAB SPF yang diinokulasi *A. paragallinarum* serotipe A strain 221; (B) embrio mengalami hemoragi pada bagian kepala dan tubuh pada kelompok telur ayam berembrio yang diinokulasi *A. paragallinarum* serotipe B strain Spross; (C) embrio mengalami hemoragi pada bagian kepala dan badan pada kelompok telur ayam berembrio yang diinokulasi *A. paragallinarum* serotipe B strain 2448; dan (D) embrio mengalami hemoragi pada bagian kepala dan badan pada kelompok telur ayam berembrio yang diinokulasi *A. paragallinarum* serotipe B strain 2448 dan serotipe C strain 2447.



Gambar 3. Hasil kultur kuning telur pada PAC. Hasil kultur kuning telur yang sebelumnya telah diinokulasi isolat *A. paragallinarum* untuk uji tantang. Koloni bakteri bersifat seragam yaitu kecil, bulat dan transparan.



Gambar 4. Jenis perubahan makroskopik pada embrio dari telur ayam berembrio (TAB) *specific pathogen free* (SPF) masing-masing sebanyak 10 butir dengan umur 7 hari antara kelompok kontrol negatif (TAB SPF yang tidak diinokulasi *A. paragallinarum*) dengan kelompok yang diinokulasi dengan *A. paragallinarum* berbagai serotipe. Selanjutnya, dilakukan penghitungan rata-rata skor perubahan makroskopik dari masing-masing kelompok TAB SPF yang diinokulasi *A. paragallinarum* berbagai serotipe. Hasil penghitungan rata-rata skor perubahan makroskopik tersebut disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Penghitungan rata-rata skor perubahan makroskopik dari masing-masing kelompok TAB SPF yang diinokulasi *A. paragallinarum* berbagai serotype

Kelompok Perlakuan	Rata-rata
Kontrol negatif	0,00±0,00 ^a
Inokulasi <i>A. paragallinarum</i> serotype A/221	2,00±0,00 ^{ab}
Inokulasi <i>A. paragallinarum</i> serotype B/Spross	2,00±0,00 ^{ab}
Inokulasi <i>A. paragallinarum</i> serotype B/2448	2,00±0,00 ^{ab}
Inokulasi <i>A. paragallinarum</i> serotype C/2447	2,00±0,00 ^{ab}

Keterangan ^{ab} kelompok dengan *superscript* berbeda memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif melalui pengujian *Kruskal Wallis*.

Adanya lesi makroskopik pada embrio ayam yang berasal dari kelompok TAB SPF yang diinokulasi *A. paragallinarum* berbagai serotype disebabkan oleh kapsul polisakarida milik *A. paragallinarum*. Kapsul polisakarida berfungsi dalam kolonisasi, melindungi bakteri dari fagositosis dan menimbulkan lesi. Adanya lesi dapat juga disebabkan karena *cytolethal distending toxin* (CDT) adalah toksin yang diproduksi oleh bakteri patogen Gram negatif. CDT secara normal mengandung tiga protein subunit yaitu CdtA, CdtB, dan CdtC, yang disandi oleh tiga gen yang berdekatan dalam sebuah operon. Subunit CdtB memiliki aktivitas *Dnase I-like*, yang menyebabkan kerusakan DNA, siklus sel berhenti dan apoptosis pada sel target. Subunit CdtA dan CdtC dibutuhkan untuk terjadinya ikatan antara CDT dengan permukaan sel dan mentransfer CdtB ke dalam sel. Glikan hospes dan membran kolesterol berperan dalam terjadinya ikatan antara CDT dengan permukaan sel hospes (Chen *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2010).

Kesimpulan

Avibacterium paragallinarum serotype A strain 221, B strain Spross, B strain 2448, dan C strain bersifat patogen pada telur ayam berembrio.

Daftar Pustaka

- Akter, S., Saha, S., Khan, K.A., Amin, M.M., dan Haque, M.E. (2014). Isolation and identification of *Avibacterium paragallinarum* from Layer Chickens in Gazipur, Bangladesh. *Microbes and Health* 3(1): 9-11.
- Akter, M.R., Khan, M.S.R., Rahman, M.M., Kabir, S.M.L., dan Khan, M.A.S. (2016). Article: Epidemic behavior of the etiological agent of infectious coryza in layer chicken of Bangladesh with isolation, identification, and pathogenicity study. *Asian Journal of Medical and Biological Research* 2(1): 82:94.
- Ali, M., Hossain, M.S., Akter, S., Khan, M.A.H.N.A., dan Hossain, M.M. (2013). Pathogenesis of infectious coryza in chickens (*Gallus gallus*) by *Avibacterium paragallinarum* isolate of Bangladesh. *The Agriculturists* 11(1): 39-46.
- Blackall. (1995). Vaccine against infectious coryza. *World's Poultry Science Journal* 51: 17-26.
- Blackall, P.J. and Soriano-Vargas, E. (2013) Infectious Coryza and Related Bacterial Infections. In: *Diseases of Poultry 13th Edition*. John Wiley & Sons, Inc. United States. 859-873.
- Chen, Y.C., Tan, D.H., Shien, J.H., Hsieh, M.K., Yen, T.Y., dan Chang, P.C. (2014). Identification and functional analysis of the cytolethal distending toxin gen from *Avibacterium paragallinarum*. *Avian Pathology* 43: 43-50.
- Gong, Y., Zhang, P., Wang, H., Zhu, W., Sun, H., He, Y., Shao, Q., dan Blackall, P.J. (2014). Safety and efficacy studies on trivalent inactivated vaccines against infectious coryza. *Veterinary immunology and immunopathology* 158: 3-7.
- Morales-Erasto, V., Maruri-Esteban, E., Trujillo-Ruiz, H.H., Talavera-Rojas, M., Blackall, P.J., dan Soriano-Vargas, E. 2015. Protection conferred by infectious coryza vaccines against emergent *Avibacterium paragallinarum* serovar C-1. *Avian Diseases* 59: 162-164.
- Patil, V.V., Mishra, D.N., dan Mane, D.V. (2016). Isolation, characterization, and serological study of *Avibacterium paragallinarum* field isolates from Indian Poultry. *Journal of Animal and Poultry Sciences* 5(1): 13-20.

- Takagi, M., Takahashi, T., Hirayam, N., Istianingsih, Mariana, S., Zarkasie, K., Sumadi, Ogata, M., dan Ohta, S. (1991). Survey of infectious coryza of chickens in Indonesia. *J. Vet. Med. Sci.* 53(4): 637-642.
- Wu, J., Chen, P., Shien, J., Shyu, C., Shieh, H.K., Chang, F., dan Chang, P. (2010). Analysis of biosynthesis genes and chemical components of the capsule of *Avibacterium paragallinarum*. *Veterinary Microbiology* 145: 90-99.
- Zhao, Q., Sun, Y., Zhang, X., Kong, Y., Xie, Z., Zhu, Y., Zhou, E., dan Jiang, S. 2010. Evaluation of two experimental infection models for *Avibacterium paragallinarum*. *Veterinary Microbiology* 141: 68-72.

Faktor Risiko Cemaran *Escherichia coli* pada Daging Kambing dan Domba Kurban di Provinsi DKI Jakarta

Risk Factors of Escherichia coli contamination in Kurban Goat and Lamb Meat in Province of DKI Jakarta

Wahyu Septiani¹, Herwin Pisestyani², Renova Ida Siahaan³, Chaerul Basri^{2*},

¹Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

³Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner, Dinas Ketahanan Pangan, Kelautan dan Pertanian, Provinsi DKI Jakarta

*Corresponding Author; Email: chaerul@apps.ipb.ac.id

Naskah diterima: 22 Februari 2020, direvisi: 22 Mei 2020, disetujui: 10 Agustus 2020

Abstract

Escherichia coli is one of the biological hazards affecting the safety of Kurban goat and lamb meat. This research aimed to measure the level of contamination and determine the risk factors of *E. coli* in Kurban goat and lamb meat in Province of DKI Jakarta. This research used data about the health of Kurban meats in Province of DKI Jakarta. The level of contamination *E. coli* was obtained from laboratory tests using MPN method, while the risk factors data were obtained from the assessment's results of Kurban place eligibility using checklist. Data was analysed using the chi-square test to determine the association and the odds ratio (OR) to measure strength of association. The results showed that 66.7% of Kurban places had produced goat and sheep meat containing *E. coli* with levels exceeding the Indonesian National Standard/SNI (1×10^1 MPN/g). *The risk factor of cleaning animal manures had a significant association to the level of contamination E. coli* in meat from Kurban. Kurban organizers must improve hygiene and sanitation practices in processing meat to control the level of contamination *E. coli*. The DKI Jakarta provincial government needs to increase efforts to improve public awareness through communication, education and information related to good handling practices of meat for Kurban.

Key words: *Escherichia coli*; goat; kurban; lamb; meat

Abstrak

Escherichia coli merupakan salah satu bahaya biologis yang mempengaruhi keamanan daging kambing dan domba Kurban. Penelitian ini ditujukan untuk mengukur tingkat kontaminasi dan menentukan faktor risiko yang mempengaruhi tingkat cemaran *E. coli* pada daging kambing dan domba kurban di Provinsi DKI Jakarta. Penelitian ini menggunakan data dari hasil pemeriksaan kesehatan hewan dan daging Kurban. Tingkat kontaminasi *E.coli* diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium dengan metode MPN, sedangkan data faktor risiko diperoleh dari penilaian kelayakan tempat kurban menggunakan *checklist* yang dikembangkan oleh tim Fakultas Kedokteran Hewan IPB University. Data dianalisis menggunakan uji chi-square untuk menentukan asosiasi dan rasio odds (OR) untuk mengukur kekuatan asosiasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa 66,7% tempat penyelenggaraan kurban telah menghasilkan daging kambing dan domba yang mengandung *E. coli* dengan level melampaui batas Standar Nasional Indonesia/SNI (1×10^1 MPN / g). Faktor risiko selalu membersihkan kotoran hewan memiliki hubungan yang signifikan dengan tingkat kontaminasi *E. coli*. Penyelenggara Kurban harus meningkatkan praktik higiene dan sanitasi dalam mengolah daging untuk mengendalikan tingkat kontaminasi

E.coli. Pemerintah Provinsi DKI Jakarta perlu meningkatkan upaya untuk memperbaiki kesadaran masyarakat melalui komunikasi, edukasi dan informasi terkait praktik-praktik penanganan daging yang baik untuk Kurban.

Kata kunci: daging; domba; *Escherichia coli*; kambing; kurban.

Pendahuluan

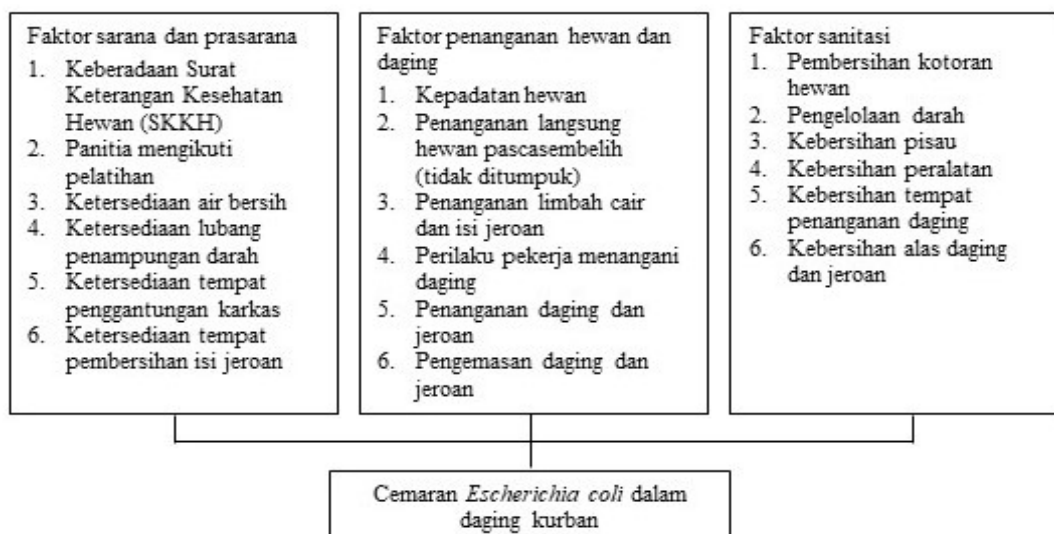
Hari raya kurban atau Idul Adha merupakan hari raya bagi umat Islam untuk mendekatkan diri kepada Allah SWT dengan melakukan pemotongan hewan kurban. Hewan kurban yang disembelih merupakan binatang ternak, yaitu unta, sapi, kambing, dan domba. Kambing dan domba merupakan binatang ternak yang banyak dijadikan sebagai hewan kurban karena harganya yang lebih murah dibandingkan dengan unta dan sapi.

Daging kurban harus aman, sehat, utuh, dan halal (ASUH). Daging berpotensi menjadi media pertumbuhan mikroba seperti bakteri, karena daging memiliki nutrisi yang tinggi. Salah satu bakteri yang memengaruhi keamanan daging kambing dan domba kurban adalah cemaran *Escherichia coli*. *Escherichia coli* merupakan flora normal pada usus manusia maupun hewan yang kemudian dikeluarkan melalui feses (Berthe et al., 2013). Salah satu strain patogenik dari *E. coli* adalah *E. coli* O157:H7 yang ditemukan di feses (Suardana et al., 2010). Cemaran *E. coli* yang bersifat patogenik dapat menimbulkan *foodborne disease*. Gejala umum infeksi *E. coli* diantaranya diare berdarah, muntah, nyeri abdomen, dan kram perut (Kusumaningsih, 2010). Pemotongan hewan kurban di Indonesia biasanya dilakukan di lapangan

atau halaman masjid. Kontaminasi bakteri *E. coli* dapat terjadi selama proses pemotongan hewan dan penanganan daging, kebersihan yang kurang terjaga, jumlah panitia yang terlalu banyak, dan lalu lalang manusia pada tempat penyembelihan.

Cemaran *E. coli* pada daging kurban dapat menyebabkan penurunan kualitas daging dan gangguan kesehatan jika dikonsumsi tanpa pengolahan yang benar. Usaha untuk meningkatkan kualitas daging dilakukan melalui pengolahan atau penanganan yang lebih baik sehingga dapat mengurangi kerusakan atau kebusukan selama penyimpanan (Afiati, 2009). Pencegahan dan pengendalian kejadian cemaran *E. coli* dapat dilakukan dengan cara meminimalisasi faktor-faktor yang memengaruhi cemaran *E. coli* pada daging.

Penelitian ini bertujuan mengukur tingkat cemaran dan menentukan faktor risiko cemaran *Escherichia coli* pada daging kambing dan domba kurban di wilayah DKI Jakarta. Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai tingkat cemaran dan faktor risiko cemaran *Escherichia coli* yang dapat dijadikan dasar untuk meningkatkan keamanan daging kambing dan domba kurban di wilayah DKI Jakarta.



Gambar 1. Kerangka konsep penelitian

Materi dan Metode

Penelitian ini merupakan studi epidemiologi dengan desain penelitian Cross Sectional di wilayah DKI Jakarta. Analisis data dilakukan di Laboratorium Epidemiologi, Divisi Kesehatan Masyarakat Veteriner dan Epidemiologi, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor (FKH IPB). Kerangka konsep yang dibangun dalam penelitian ini digambarkan sebagai berikut pada Gambar 1.

Penelitian ini menggunakan data pemeriksaan hewan dan daging kurban tahun 2018 yang dilakukan Dinas Ketahanan Pangan, Kelautan dan Pertanian Provinsi DKI Jakarta. Data cemaran *E. coli* berasal dari hasil pemeriksaan kualitas mikrobiologik di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner DKI Jakarta terhadap daging kurban. Data faktor risiko berasal dari hasil pemeriksaan kelayakan higiene dan sanitasi tempat pemotongan kurban menggunakan *checklist* terstruktur yang dirancang oleh tim FKH IPB. Pengurus masjid atau ketua pelaksana kurban merupakan responden dalam penelitian ini.

Pengujian sampel dilakukan dengan metode pengujian yang mengacu pada SNI 01-2897-2008 tentang Metode Pengujian Cemaran Mikroba dalam Daging, Telur dan Susu, serta Hasil Olahannya, yaitu pengujian *Most Probable Number E. coli* (BSN, 2008). Nilai MPN *E. coli* merupakan perkiraan atau estimasi jumlah *E. coli* dalam daging, dengan memupuk pada suatu tingkat pengenceran ke dalam tiga atau lima tabung berisi media cair. Nilai perhitungan MPN ditentukan menggunakan tabel MPN berdasarkan pengamatan jumlah tabung positif (timbulnya gas) (BSN, 2008).

Peubah yang diamati terdiri dari faktor sarana dan prasarana, faktor penanganan hewan dan daging kurban, serta faktor sanitasi. Peubah yang termasuk faktor sarana dan prasarana meliputi

keberadaan Surat Keterangan Kesehatan Hewan (SKKH), panitia mengikuti pelatihan, ketersediaan air bersih, ketersediaan lubang penampungan darah, ketersediaan tempat penggantungan karkas, dan tempat pembersihan isi jeroan. Peubah yang termasuk faktor penanganan hewan dan daging kurban meliputi kepadatan hewan, penanganan langsung hewan pascasembelih (tidak ditumpuk), penanganan limbah cair dan isi jeroan, perilaku pekerja menangani daging, penanganan daging dan jeroan, serta pengemasan daging dan jeroan. Peubah faktor sanitasi meliputi pembersihan kotoran hewan, pengelolaan darah, kebersihan pisau, kebersihan peralatan, kebersihan tempat penanganan daging, serta kebersihan alas daging dan jeroan.

Data dianalisis secara analitik menggunakan uji *chi-square* untuk menentukan hubungan dan *odds ratio* (OR) untuk mengukur kekuatan hubungan antara faktor risiko terhadap keberadaan *E. coli* dalam daging kambing dan domba kurban di tempat pemotongan hewan kurban wilayah DKI Jakarta. Hasil signifikan ditunjukkan apabila nilai *p* pada taraf uji 5% (*P value* < 0.05). Data dianalisis dengan menggunakan piranti lunak *Microsoft Excel* 2017 dan *SPSS* v.21.

Hasil dan Pembahasan

Tingkat Cemaran *Escherichia coli*

Persentase jumlah *E. coli* pada daging kambing dan domba kurban tersedia pada Tabel 1. Sebagian besar sampel daging kambing dan domba yang diperiksa menunjukkan jumlah *E. coli* di atas ambang batas SNI. Kontaminasi yang telah ditetapkan dalam SNI 01-7388-2009 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan, batas maksimum jumlah *E. coli* dalam daging adalah 1×10^1 MPN/g (BSN, 2009).

Tabel 1. Persentase jumlah *E. coli* pada daging kambing dan domba kurban pada tahun 2018

Wilayah	Jumlah sampel	Tingkat cemaran <i>E. coli</i>	
		Di bawah SNI (%)	Di atas SNI (%)
Jakarta Pusat	7	10.00 (3/30)	13.33 (4/30)
Jakarta Utara	5	3.33 (1/30)	13.33 (4/30)
Jakarta Barat	4	10.00 (3/30)	3.33 (1/30)
Jakarta Selatan	9	6.67 (2/30)	23.33 (7/30)
Jakarta Timur	5	3.33 (1/30)	13.33 (4/30)
Total	30	33.33 (10/30)	66.67 (20/30)

Berdasarkan Tabel 1, jumlah *E. coli* di bawah ambang batas SNI sebesar 33.33% (10/30), sedangkan di atas ambang batas SNI sebesar 66.67% (20/30). Hal ini menunjukkan cemaran *E. coli* pada daging kambing dan domba kurban wilayah DKI Jakarta masih berada di atas batas maksimum SNI, sehingga perlu perhatian lebih lanjut terhadap faktor-faktor yang memengaruhi cemaran *E. coli*. Menurut Purwanti (2006), tingginya persentase cemaran *E. coli* pada daging kambing sebesar 41.3% dapat disebabkan oleh adanya proses cemaran melalui air. *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri dari golongan Koliform yang menjadi indikator pencemaran feses pada air (Afrisetiawati et al., 2016). Cemaran *E. coli* terhadap lingkungan dapat terjadi melalui kotoran ternak, limbah pemotongan hewan, dan air limbah (Jang et al., 2017).

Faktor Risiko terkait Sarana dan Prasarana

Faktor sarana dan prasarana meliputi keberadaan Surat Keterangan Kesehatan Hewan (SKKH), panitia mengikuti pelatihan, ketersediaan air bersih, ketersediaan lubang penampungan darah, ketersediaan tempat penggantungan karkas, dan tempat pembersihan isi jeroan. Hubungan antara faktor sarana dan prasarana terhadap keberadaan *E. coli* dalam daging kambing dan domba

kurban tersedia pada Tabel 2. Hasil penelitian menunjukkan persentase faktor-faktor sarana dan prasarana, yaitu keberadaan SKKH sebesar 73.33% (22/30), panitia mengikuti pelatihan penyembelihan hewan kurban dan penanganan daging yang higienis sebesar 73.33% (22/30), ketersediaan air bersih yang memadai sebesar 93.33% (28/30), ketersediaan lubang khusus penampungan darah sebesar 66.67% (20/30), ketersediaan tempat penggantungan karkas sebesar 83.33% (25/30), dan ketersediaan tempat pembersihan isi jeroan sebesar 66.67% (20/30).

Berdasarkan uji *chi-square*, semua peubah terkait faktor sarana dan prasarana yang terdiri atas keberadaan SKKH, panitia mengikuti pelatihan, ketersediaan air bersih, ketersediaan lubang penampungan darah, ketersediaan tempat penggantungan karkas, dan ketersediaan tempat pembersihan isi jeroan tidak menunjukkan hasil yang signifikan (*P value* > 0.05) yang berarti bahwa semua peubah tersebut tidak berhubungan terjadinya cemaran *E. coli* pada daging kurban.

Adanya SKKH pada domba atau kambing hidup yang dipotong pada kurban ternyata tidak memiliki pengaruh terhadap tingkat kontaminasi *E. coli* pada daging yang dihasilkan. Menurut Kementan (2014), SKKH merupakan bukti tertulis yang menjamin status kesehatan ternak dari daerah

Tabel 2. Hubungan antara faktor sarana dan prasarana terhadap keberadaan *E. coli* dalam daging kambing dan domba kurban

No	Peubah	Kategori	Tingkat cemaran <i>E. coli</i>				Nilai p	OR	SK 95%
			Di bawah SNI		Di atas SNI				
			n	%	n	%			
1	Keberadaan SKKH	Ya	5	62.50	3	37.50	0.08	5.67	0.99–32.43
		Tidak	5	22.73	17	77.27			
2	Panitia mengikuti pelatihan	Ya	3	37.50	5	62.50	1.00	1.29	0.24–6.96
		Tidak	7	31.80	15	68.20			
3	Ketersediaan air bersih	Ya	1	50	1	50	1.00	2.11	0.12–37.72
		Tidak	9	32.14	19	67.86			
4	Ketersediaan lubang penampungan darah	Ya	4	40	6	60	0.69	1.56	0.32–7.59
		Tidak	6	30	14	70			
5	Ketersediaan tempat penggantungan karkas	Ya	2	40	3	60	1.00	1.42	0.19–10.23
		Tidak	8	32	17	68			
6	Ketersediaan tempat pembersihan isi jeroan	Ya	4	40	6	60	0.69	1.56	0.32–7.59
		Tidak	6	30	14	70			

Keterangan:

n : ukuran sampel

Nilai p : batas kemaknaan

* : signifikan pada taraf uji 5% ($\alpha= 0,05$)

OR : *odds ratio*

SK 95% : selang kepercayaan 95%

asal yang telah diperiksa oleh dokter hewan berwenang. Keberadaan SKKH menunjukkan bahwa ternak berasal dari peternakan yang sehat dan telah diperiksa oleh dokter hewan berwenang (Basri *et al.*, 2013). Berdasarkan hal tersebut kemungkinan tingkat kontaminasi *E. coli* pada daging kurban lebih banyak dipengaruhi oleh penanganan hewan setelah disembelih dan penanganan daging setelah dipotong-potong dibandingkan dengan kondisi hewan saat masih hidup.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengerjaan karkas hewan kurban dengan digantung ternyata tidak mempengaruhi tingkat kontaminasi *E. coli* pada daging yang dihasilkan. Hasil ini tidak sesuai dengan pernyataan Azwarini (2013) bahwa pengerjaan karkas dengan cara digantung dapat menurunkan kontaminasi terhadap *E. coli*. Dampak *E. coli* di lingkungan akan menyebabkan daging terkontaminasi *E. coli*, karena secara tidak langsung lingkungan terkontaminasi feses yang kemudian akan mencemari daging hewan kurban (Jian, 2016).

Faktor Risiko terkait Penanganan Hewan dan Daging

Faktor penanganan hewan dan daging meliputi kepadatan hewan, penanganan langsung he-

wan pascasembelih (tidak ditumpuk), penanganan limbah cair dan isi jeroan, perilaku pekerja menangani daging, penanganan daging dan jeroan, serta pengemasan daging dan jeroan. Penanganan daging seharusnya dilakukan di meja khusus, penanganan jeroan dilakukan terpisah dengan tempat pemotongan daging, serta daging dan jeroan dalam kemasan terpisah (Azwarini, 2013). Hubungan antara faktor-faktor penanganan hewan dan daging kurban terhadap keberadaan *E. coli* dalam daging kambing dan domba kurban tersedia pada Tabel 3.

Berdasarkan uji *chi-square* diperoleh hasil bahwa semua peubah faktor yang berkaitan dengan penanganan hewan dan daging kurban yang terdiri atas kepadatan hewan, penanganan langsung hewan pascasembelih, penanganan limbah cair dan isi jeroan, perilaku pekerja menangani daging, penanganan daging dan jeroan, dan pengemasan daging dan jeroan tidak menunjukkan hasil yang signifikan (*P value* > 0.05).

Hasil analisis menunjukkan bahwa kepadatan hewan sebelum dipotong tidak mempengaruhi terhadap tingkat kontaminasi *E. coli* pada daging yang dihasilkan. Menurut Kementan (2014), untuk menjaga kesehatan hewan maka tempat penampungan hewan harus memiliki luas yang sesuai dengan jumlah dan jenis hewan kurban

Tabel 3. Hubungan antara faktor penanganan hewan dan daging kurban terhadap keberadaan *E. coli* dalam daging kambing dan domba kurban

No	Peubah	Kategori	Tingkat cemaran <i>E. coli</i>				Nilai p	OR	SK 95%
			Di bawah SNI		Di atas SNI				
			n	%	n	%			
1	Kepadatan hewan	Ya	3	75.00	1	25.00	0.09	8.14	0.72-91.89
		Tidak	7	26.90	19	73.10			
2	Penanganan langsung hewan pascasembelih (tidak ditumpuk)	Ya	5	55.56	4	44.44	0.12	4.00	0.77-20.92
		Tidak	5	23.81	16	76.19			
3	Penanganan limbah cair dan isi jeroan dengan baik	Ya	4	33.33	8	66.67	1.00	1.00	0.21-4.71
		Tidak	6	33.33	12	66.67			
4	Perilaku bersih pekerja menangani daging	Ya	4	36.36	7	63.64	1.00	1.24	0.26-5.91
		Tidak	6	31.58	13	68.42			
5	Penanganan daging dan jeroan terpisah	Ya	2	28.57	5	71.43	1.00	0.75	0.12-4.77
		Tidak	8	34.78	15	65.22			
6	Pengemasan daging dan jeroan terpisah	Ya	4	50	4	50	0.38	2.67	0.50-14.22
		Tidak	6	27.27	16	72.73			

Keterangan:

n : ukuran sampel

Nilai p : batas kemaknaan

* : signifikan pada taraf uji 5% ($\alpha = 0,05$)

OR : *odds ratio*

SK 95% : selang kepercayaan 95%

yang ditampung. Menurut Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner (2019), kepadatan tempat penampungan hewan kurban untuk kambing dan domba dipersyaratkan memiliki luas minimal 1 m²/ekor.

Analisis yang dilakukan menunjukkan tidak ada hubungan antara penanganan langsung hewan pascasembelih dengan cara ditumpuk dengan tingkat kontaminasi *E. coli* pada daging yang dihasilkan. Hewan yang telah disembelih harus dipastikan mati terlebih dahulu sebelum proses pengulitan. Hewan yang telah disembelih harus dibiarkan mati sempurna, kemudian dilakukan pemisahan kepala dan teracak, penggantungan, dan pengulitan (Pisestyani et al., 2015). Tingkat kontaminasi *E. coli* pada daging kurban kemungkinan tidak banyak dipengaruhi oleh penanganan hewan sesaat setelah dipotong, akan tetapi lebih banyak dipengaruhi oleh penanganan saat pengeluaran jeroan.

Faktor Risiko terkait Sanitasi

Sanitasi menurut World Health Organization (WHO) adalah suatu usaha yang mengawasi beberapa faktor lingkungan fisik yang berpengaruh kepada manusia terutama terhadap hal-hal yang memengaruhi efek, merusak perkembangan fisik, kesehatan, dan kelangsungan hidup. Sanitasi

bertujuan untuk membunuh semua mikroba yang terdapat pada peralatan dan wadah yang digunakan. Oleh karena itu, peralatan pengolahan pangan sebaiknya dipilih yang mudah dibersihkan, mudah digunakan serta terbuat dari bahan yang anti karat (Azwarini, 2013). Faktor sanitasi juga sangat memengaruhi keamanan daging. Bakteri indikator sanitasi yang biasa dikenal yaitu *E. coli*. Keberadaan *E. coli* dalam pangan menunjukkan bahwa pangan tersebut pernah tercemar oleh kotoran yang berasal dari usus manusia dan atau hewan (Saimah et al., 2016).

Faktor sanitasi meliputi pembersihan kotoran hewan, pengelolaan darah, kebersihan pisau, kebersihan peralatan, kebersihan tempat penanganan daging, serta kebersihan alas daging dan jeroan. Hubungan antara faktor sanitasi terhadap keberadaan *E. coli* dalam daging kambing dan domba kurban tersedia pada Tabel 4.

Hasil penelitian menunjukkan persentase faktor-faktor sanitasi, yaitu kotoran hewan yang dibersihkan sebesar 76.67% (23/30), pengelolaan darah tidak dibiarkan berceceran di atas tanah atau lantai sebesar 63.33% (19/30), kebersihan pisau sebesar 80.00% (24/30), kebersihan peralatan sebesar 73.33% (22/30), kebersihan tempat penanganan daging sebesar 66.67% (20/30), serta daging dan jeroan yang telah dipotong-potong

Tabel 4. Hubungan antara faktor sanitasi terhadap keberadaan *E. coli* dalam daging kambing dan domba kurban

No	Peubah	Kategori	Tingkat cemaran <i>E. coli</i>				Nilai p	OR	SK 95%
			Di bawah SNI		Di atas SNI				
			n	%	n	%			
1	Pembersihan kotoran hewan	Ya	5	71.43	2	28.57	0.03*	9.00	1.33–61.14
		Tidak	5	21.74	18	78.26			
2	Pengelolaan darah	Ya	2	18.18	9	81.82	0.25	0.31	0.05–1.82
		Tidak	8	42.11	11	57.89			
3	Kebersihan pisau	Ya	2	33.33	4	66.67	1.00	1.00	0.15–6.67
		Tidak	8	33.33	16	66.67			
4	Kebersihan peralatan	Ya	3	37.50	5	62.50	1.00	1.29	0.24–6.96
		Tidak	7	31.82	15	68.18			
5	Kebersihan tempat penanganan daging	Ya	3	30	7	70	1.00	0.79	0.16–4.08
		Tidak	7	35	13	65			
6	Kebersihan alas daging dan jeroan	Ya	3	37.50	5	62.50	1.00	1.29	0.24–6.96
		Tidak	7	31.82	15	68.18			

Keterangan:

n : ukuran sampel

Nilai p : batas kemaknaan

* : signifikan pada taraf uji 5% (α= 0,05)

OR : odds ratio

SK 95% : selang kepercayaan 95%

disimpan pada alas yang bersih sebesar 73.33% (22/30). Berdasarkan uji *chi-square* menunjukkan hubungan signifikan antara peubah pembersihan kotoran hewan dengan keberadaan *E. coli* (*P value* = 0.03). Nilai OR yang diperoleh adalah 9.00 (SK 95% ; 1.33–61.14). Hal ini menunjukkan bahwa risiko cemaran *E. coli* pada daging terjadi 9 kali lebih besar jika kotoran hewan tidak dibersihkan dibandingkan dengan kotoran hewan yang dibersihkan di tempat pemotongan.

Sumber *E. coli* antara lain kotoran hewan atau lingkungan sekitar kandang (Suwito *et al.*, 2018). Oleh sebab itu, kotoran hewan yang dibersihkan di tempat pemotongan dapat menurunkan cemaran *E. coli* pada daging kambing dan domba kurban. Kotoran hewan yang tidak dibersihkan di tempat pemotongan dapat terbawa oleh pekerja atau peralatan, sehingga menyebabkan kontaminasi silang ketika pekerja atau peralatan bersentuhan dengan daging. Risiko daging terkontaminasi lebih besar terjadi ketika permukaan daging bersentuhan dengan tangan yang tidak menggunakan sarung tangan (Jian, 2016).

Kontaminasi pada daging biasanya terjadi selama pemotongan dan pemrosesan daging melalui kontak dengan kulit yang terkontaminasi dengan kotoran (Erickson dan Doyle, 2007). Menurut Rananda (2016), beberapa faktor yang menjadi sumber kontaminasi bakteri *E. coli*, yaitu kontaminasi silang antara tangan pemotong yang terkontaminasi dengan daging, alat pemotong daging dan lantai tempat pemotongan menjadi sarana bakteri *E. coli* berpindah tempat ke daging. Cara terbaik untuk mencegah kontaminasi *E. coli* adalah dengan selalu mencuci tangan dengan air mengalir dan sabun segera setelah kontak dengan hewan, lingkungan hewan atau kotoran hewan (Daly *et al.*, 2017). Cara untuk menurunkan atau membunuh bakteri *E. coli* dalam daging salah satunya dengan memasak daging hingga matang sempurna dengan suhu minimal 70 °C (suhu aman untuk membunuh mikroba) selama 10 menit. Daging kambing disimpan tidak lebih dari 6 jam pada suhu ruang agar daging tetap berkualitas baik (Sembiring *et al.*, 2015).

Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah 66,7% tempat penyelenggaraan kurban telah

menghasilkan daging kambing dan domba yang mengandung *E. coli* yang melampaui batas Standar Nasional Indonesia /SNI (1×10^1 MPN/g). Tingginya cemaran *E. coli* disebabkan oleh faktor pembersihan kotoran hewan di tempat pemotongan. Tempat pemotongan yang tidak membersihkan kotoran saat pemotongan berisiko 9 kali lebih besar untuk tercemar *E. coli* dibandingkan dengan yang selalu membersihkan kotoran. Hal ini menunjukkan pentingnya untuk selalu membersihkan kotoran hewan yang dihasilkan dari proses pemotongan hewan di tempat kurban karena dapat menjadi sumber kontaminasi mikroba terutama *E. coli* pada daging kurban.

Ucapan Terima Kasih

Kami menyampaikan terima kasih kepada panitia hewan kurban FKH IPB dan Dinas Ketahanan Pangan, Kelautan, dan Pertanian Provinsi DKI Jakarta yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Afiati, F. (2009). Pilih-pilih daging ASUH. *BioTrends*. 4(1): 19-25.
- Afrisetiawati R., Erly, dan Endrinaldi. (2016). Identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang yang diproduksi DAMIU di Kelurahan Lubuk Buaya Kota Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 5(3):570-574.
- Azwarini, R. (2013). Kondisi Sanitasi Peralatan dan Tempat Pemotongan Serta Tingkat Kontaminasi Mikrob dalam Daging Kurban Di DKI Jakarta. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Basri C., Zudanang, Sunandar, dan Sudarnika E. (2013). Faktor risiko terkait manajemen kesehatan unggas terhadap infeksi virus Flu Burung di tempat penampungan ayam. *Jurnal Veteriner*. 14 (2):197-203.
- Berthe T., Ratajczak M., Clermont O., Denamur E., and Petit F. (2013). Evidence for coexistence of distinct *Escherichia coli* populations in various aquatic environments and their survival in estuary water. *Applied*

- and *Environmental Microbiology*. 79: 4684-4693.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. (2008). *SNI 2897:2008 tentang Metode Pengujian Cemar Mikroba dalam Daging, Telur dan Susu, serta Hasil Olahannya*. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. (2009). *SNI 7388:2009 tentang Batas Maksimum Cemar Mikroba dalam Pangan*. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- Daly R.F., House J., Stanek D., and Stobierski M.G. (2017). Compendium of measures to prevent disease associated with animals in public settings. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 251(11):1268-1292.
- Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner. (2019). *Pedoman Penerapan Kesejahteraan Hewan pada Pemotongan Hewan Kurban*. Jakarta (ID): Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner.
- Erickson M.C., and Doyle M.P. (2007). Food as a vehicle for transmission of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Journal of Food Protection*. 70:2426-2449.
- Jang J., Hur H.G., Sadowsky M.J., and Byappanahalli M.N., Yan T., Ishii S. (2017). Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implication-a review. *Applied and Environmental Microbiology*. 123:570-581.
- Jian J.O.Z. (2016). Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Patogen pada Daging, Feses Dan Hati Sapi. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- [Kementan] Kementerian Pertanian Republik Indonesia. (2014). *Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 114 Tahun 2014 tentang Pemotongan Hewan Kurban*. Jakarta (ID): Kementan RI.
- Kusumaningsih A. (2010). Beberapa bakteri patogenik penyebab *foodborne disease* pada bahan pangan asal ternak. *Wartazoa*. 20(3): 103-111.
- Pisestyani H., Dannar N.N., Santoso K., dan Latif H. (2015). Kesempurnaan kematian sapi setelah penyembelihan dengan dan tanpa pemingsanan berdasarkan parameter waktu henti darah memancar. *Acta Veterinaria Indonesiana*. 3(2):58-63.
- Purwanti U. (2006). Hubungan antara sanitasi tempat pemotongan hewan qurban dengan cemaran mikrob pada daging kambing di Kotamadya Jakarta Timur *Tesis*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Rananda R.M., Djamal A., dan Julizar. (2016). Identifikasi bakteri *Escherichia coli* O157:H7 dalam daging sapi yang berasal dari Rumah Potong Hewan Lubuk Buaya. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 5(3):614-618.
- Saimah, Sudarwanto M.B., dan Latif H. (2016). Dekontaminasi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada sarang burung walet dengan perlakuan pemanasan. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 10(2):143-147.
- Sembiring U.R., Suada I.K., dan Agustina K.K. (2015). Kualitas daging kambing yang disimpan pada suhu ruang ditinjau dari uji subjektif dan objektif. *Indonesia Medicus Veterinus*. 4(2):155-162.
- Suardana I.W., Artama W.T., Asmara W., dan Daryono B.S. (2010). Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 serta deteksi gen *shiga like toxin 1* dan *2* asal feses hewan, daging, dan feses manusia. *Jurnal Veteriner*. 11(4):264-270.
- Suwito W., Winarti E., Kristiyanti F., Widyastuti A., dan Andriani A. (2018). Faktor risiko terhadap total bakteri, *Staphylococcus aureus*, *Coliform* dan *Escherichia coli* pada susu kambing. *Agricultural Technology*. 38(1):39-44.

Observation Of Uterine Involution In Etawa Crossbreed Goats (*Capra hircus*) Using Transcutaneous Ultrasonography

Observasi Involusi Uterus pada Kambing Peranakan Etawa (Capra hircus) Menggunakan Ultrasonografi (USG) Transkutaneus

Juli Melia¹, Ayu Wannisa², Tongku Nizwan Siregar¹, Hafizuddin¹, Budianto Panjaitan^{3*}, Arman Sayuti³, Syafruddin³

¹Reproduction Laboratory of Veterinary Medicine, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Study Program of Veterinary Medicine, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Clinic Laboratory of Veterinary Medicine, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

*Corresponding Author, Email: budi@unsyiah.ac.id

Naskah diterima: 8 April 2019, direvisi: 20 Juli 2020, disetujui: 20 Nopember 2020

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati involusi uterus kambing Peranakan Etawa (PE) dengan menggunakan ultrasonografi (USG) secara transkutaneus. Penelitian ini menggunakan empat ekor kambing PE betina pasca melahirkan yang proses pengeluaran plasenta terjadi secara normal. Kambing PE diperiksa pada posisi berbaring secara menyamping. Involusi uterus diamati setiap hari. Penelitian dimulai dari hari pertama pasca melahirkan sampai tidak ada lagi pengurangan diameter lumen pada cornu uteri. Dari hari ke-1 hingga ke-7 periode pasca melahirkan, pencitraan ultrasonografi pada dinding uterus menunjukkan karunke yang terlihat hipoechoik, lumen uterus terisi lokia (gambar terlihat hipoechoik sampai anechoik) dan lumen pada cornu uteri terlihat dengan jelas yang telah berkurang diameternya dari $105,9 \pm 0,9$ mm menjadi $87,2 \pm 4,6$ mm. Mulai hari ke-8 sampai ke-14, diameter lumen mengalami penurunan dari $80,4 \pm 3,8$ mm menjadi $63,6 \pm 3,2$ mm. keberadaan karunkel berkurang dan jumlah lokia berkurang (anechoic). Mulai hari ke-15 sampai ke-21, diameter lumen mengalami penurunan dari $61,4 \pm 2,1$ mm menjadi $52,1 \pm 2,7$ mm, dan sisa-sisa karunkel dan lokia masih dapat terlihat. Mulai hari ke-22 sampai ke-26, diameter dinding rahim telah menurun dari $49,7 \pm 0,6$ mm menjadi $41,5 \pm 6,7$ mm, lokia dan karunkel sudah tidak terlihat lagi. Pada hari ke-26 sampai ke-30, diameter lumen conu uteri masih mengalami penurunan dari $41,5 \pm 6,7$ mm menjadi $31,7 \pm 0,9$ mm. Ukuran diameter lumen cornu uteri mengalami penurunan setiap hari dan menjadi stabil pada hari ke-30, dan berkurang pada hari ke-31, namun ukuran diameter lumen masih sama seperti pada hari ke-30 pasca melahirkan ($31,7 \pm 0,9$ mm). Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa lama involusi uterus pada kambing PE pasca melahirkan secara normal adalah 30-31 hari.

Kata kunci: Kambing PE; ultrasonografi; involusi uterus

Abstract

The aim of this study was to observe the uterine involution of Etawa crossbreed goats using transcutaneous ultrasonography (USG). This study used four postpartum female goats that released placenta normally. The goats were examined on lateral recumbence position. Uterine involution was observed daily. The study began from the first day of postpartum period until there were no more reduction of uterine horns lumen diameter. From the 1st to 7th day of postpartum period, ultrasound imaging of the uterine wall showed caruncle which was hypoechoic, lumen of uterine filled with lochia (the image was hypoechoic to anechoic) and a clearly visible uterine horns lumen which had decreased in diameter from 105.9 ± 0.9 mm to 87.2 ± 4.6 mm. From the 8th day to the 14th day, lumen diameter had decreased from 80.4 ± 3.8 mm to 63.6 ± 3.2 mm. The presence of caruncle was reduced and

the amount of lochia was decreased (anechoic). From the 15th day to the 21st day, lumen diameter had decreased from 61.4 ± 2.1 mm to 52.1 ± 2.7 mm, and the remnants of caruncle and lochia were still visible. From the 22nd day to the 26th day, the diameter of the uterine wall had decreased from 49.7 ± 0.6 mm to 41.5 ± 6.7 mm, and the lochia and caruncle were no longer visible. From the 26th to the 30th day, uterine horns lumen diameter had still decreased from 41.5 ± 6.7 mm to 31.7 ± 0.9 mm. Uterine horns lumen diameter size had decreased every day, stabilized on the 30th day, and ceased to decrease on the 31st day, where the diameter size was the same as on the 30th day postpartum (31.7 ± 0.9 mm). It can be concluded that the duration of uterine involution in PE goats, which had normal delivery is 30-31 days.

Key words: PE goat; ultrasonography; uterine involution

Introduction

Postpartum uterine involution has a profound effect on reproductive and economic interests in order to determine the optimal timing of subsequent pregnancies¹ (Sanchez et al., 2002). During the postpartum period, the reproductive system returns to normal function and prepares itself for a new pregnancy (Elsheikh et al., 2013). Uterine involution is the reduction of uterine volume from pregnancy size to normal size of the uterus before pregnancy. In this reduction process, the following processes also occur: regeneration of the endometrial epithelium, reduction of myometrial tendon fibers, and reduction of uterine blood vessels. The maternal placenta experiences involution through necrosis of caruncle cord due to vasoconstriction, leukocyte infiltration and caruncle removal due to fat infiltration, dissolution, drainage and decay of the entire caruncle surface that becomes lochia (Gier and Marion, 1968). Uterine involution is needed to prepare for a new pregnancy. The time needed to complete the uterine involution macroscopically in sheep varies between 17-30 days (Van Wyck et al., 1972), whereas uterine involution in Kacang goat (*Capra hircus*) is completed on the 20th day, which is marked by the stabilization in size of the diameter of uterine horns lumen (Riady et al., 2015).

According to Call et al. (1976), it is difficult to assess the time of uterine involution in goats, because the uterus cannot be examined by rectal palpation. Most studies of uterine involution were examined surgically or by laparotomy⁷ (Rubianes et al., 1996). According to Goel and Agrawal (1992), several techniques such as laparotomy, laparoscopy, and radiography, which were used to study various stages and changes

in uterine morphology in ruminants, had many disadvantages. Its application in this field has surgical risks, radiation hazards, requires certain expertise or specific laboratory requirements. The dynamic aspects of morphological changes are largely inaccessible, while ultrasound provides non-invasive techniques that do not interfere with organs (Griffin and Ginther, 1992). Ultrasound is routinely used for the diagnosis of pregnancy in goats (Buckrell, 1988). Examination of pregnancy with ultrasound can be carried out in two different methods, namely transrectal and transcutaneous, depending on the method of diagnosis, type of ultrasound probe available, and conditions on the ground at the time of examination (Kahn, 2004). In addition, Hauser and Bostedt (2002) proved that transrectal ultrasonography was a useful and reliable method for observing uterine involution in sheep.

This study aimed to describe the uterine involution of Etawa crossbreed (PE) goat using transcutaneous ultrasonography. The benefit of this study was expected to provide information about the description of uterine involution of Etawa crossbreed (PE) goats.

Materials and Methods

This study used four postpartum female goats which delivered their placenta normally. Female goats were kept in separate cages with male goats and were allowed to breastfeed their lambs. Observations were made using ultrasound (DP3300 MINDRAY, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronic Co. Ltd, China) with 3.5 MHz abdominal probes (35C50EB, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronic Co. Ltd, China) in PE goats since the first day of postpartum period. Observation of uterine involution stopped after

there was no longer a reduction in the diameter of uterine lumen.

Observation of Uterine Involution with Transcutaneous Ultrasound

Observation of uterine involution using transcutaneous ultrasound started from the first day of postpartum period. Goat were observed at the same hour every day. For the initial step, an ultrasound device was prepared, then the ultrasound was placed to the left of the operator's arm and the operator was on the left side of the goat. Observation of uterine involution using transcutaneous ultrasound was performed after the goat was laid in a lateral recumbence position. Some hair in the abdominal area was shaved before the evaluation in order to acquire the best visualization of the image in this area.

The next step was the application of KY jelly around the abdomen. The probe was gently pressed on the abdomen towards urinary bladder, then it was directed to cranially to the mammary glands and to the base of the hind leg. Afterwards, the ultrasound device was directed to the dorsal and slightly caudomedial, followed by measurement of the lumen diameter of the uterine horns. Ultrasound images were taken with the freeze button and then the diameter of uterine horns lumen was measured. After the observation was completed, the abdomen was cleaned of the excess KY jelly. Observation was stopped and involution was said to be complete after there was no longer a reduction in uterine lumen diameter.

Data Analysis

The results of observation of uterine involution were analyzed descriptively and presented in several images.

Results and Discussion

On the first day until the 7th day of postpartum period, the uterine horns images were almost identical, and the diameter of the uterine horns lumen consistently decreased every day from 105.9 ± 0.9 mm to 87.2 ± 4.6 mm. Examination of postpartum uterus on the first day clearly showed the caruncle, the uterine lumen, and the uterine wall appearances. The appearance of caruncles on

the uterine wall from ultrasound examination was hypoechoic (gray), while the lumen of the uterus, which was filled with lochia was anechoic (Figure 1).

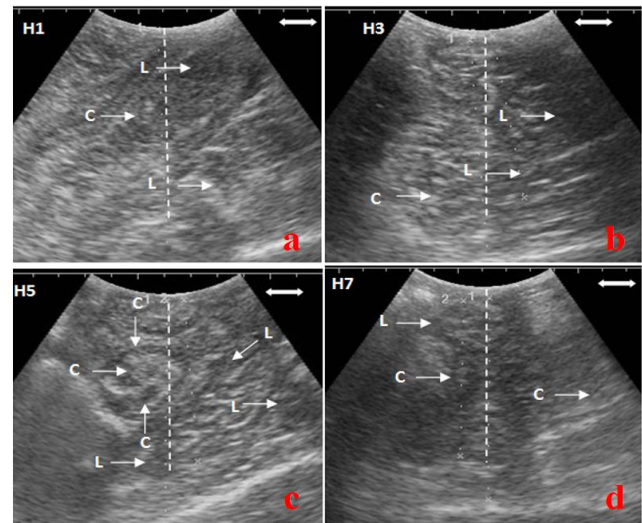


Figure 1. Transcutaneous ultrasound features of uterine involution of PE goats on the first day until the 7th day of postpartum period. The uterine lumen was filled with lochia and caruncles were still clearly visible (a. day 1, b. day 3, c. day 5, d. day 7, L = lochia, C = caruncle, H = day). (Bar scale: 50 mm.)

These ultrasound images of postpartum uterine (H-1 to H-7) in PE goats were almost the same as images which were reported by Riady et al. (2015) in Kacang goats. The images showed that caruncle was hypoechoic and anechoic in the center, lochia was anechoic, and the blood vessel layer was anechoic which limits the endometrium (hypoechoic) to the myometrium (hypoechoic). According to Ababneh and Degefa (2005) in Balady goats, observation of uterine involution using transcutaneous ultrasound on the first and second days of postpartum period showed caruncles, myometrial and endometrial layers separated clearly by anechoic lines, and anechoic lochia in the uterine lumen.

Uterine involution occurs on a reduced logarithmic scale with the most significant changes occurs during the first days postpartum. Uterine contractions last for several days, during which the amount of lochia is reduced and followed by a reduction of the uterine lumen (Noakes, 2009). This finding was supported by a study by Degefa et al. (2006) which found that uterine involution in Balady goats was divided into three stages: the

most rapid decline occurred until the 7th day, the regression stage occurred until the 13th day, and uterine involution was completed on the 19th day of postpartum period. The results of a study by Ababneh and Degefa (2005) also proved that the decrease in uterine volume was significantly faster until the 7th day of postpartum period compared to the 7th to 19th day of postpartum period. According to Hauser and Bostedt (2002), uterine regression is completed around 17-19 days postpartum based on a research conducted on sheep.

The diameter of uterine horns lumen on the 8th day was 80.4 ± 3.8 mm, which was decreased daily to 63.6 ± 3.2 mm on the 14th day of postpartum period as presented in Figure 2. Hauser and Bostedt (2002) also stated that ultrasound could accurately distinguish and measure the caruncles only until the 8th day of postpartum period. Fasulkov (2012) stated that on the 9th day of postpartum period, only the thickness of the uterine wall that could be measured using transcutaneous ultrasound. Uterine involution in small ruminants were characterized by a reduction in the size and the presence of rapid uterine contractions as showed by measurements of uterine weight and length, lumen diameter, and diameter of uterine horns of pregnant animals (Noakes, 2009).

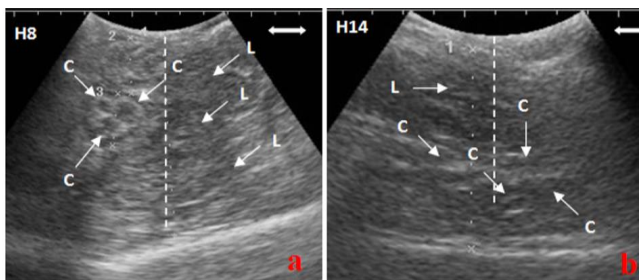


Figure 2. Transcutaneous ultrasound features of uterine involution of PE goats on the 8th and the 14th day of postpartum period. The appearance of the caruncle was diminished and the lochia began to thin out which was shown by anechoic appearance (a. day 8, b. day 14, L = lochia, C = caruncle, H = Day). (Bar scale: 50 mm.).

From the 15th to the 21st day, ultrasound images showed that the lumen of the uterine horns, the remnants of caruncle, and the lochia began to become less obvious by the 21st day. The diameter of uterine horns lumen on the 15th day was 61.4 ± 2.1 mm which had decreased to a size of 52.1 ± 2.7 mm by the 21st day, as presented in Figure 3. In this study, the images only showed two layers of the

uterus namely the endometrium and myometrium while the *perimetrium* layer was not seen. Hauser and Bostedt (2002) reported that *perimetrium* and myometrium exhibit the same echoic structure (image) so it was impossible to distinguish them from ultrasound observations. The vascular layer, which was located in the myometrial layer, was a sign of high vascularization. This anechoic vascular layer can be seen as a black line in the cross-section.

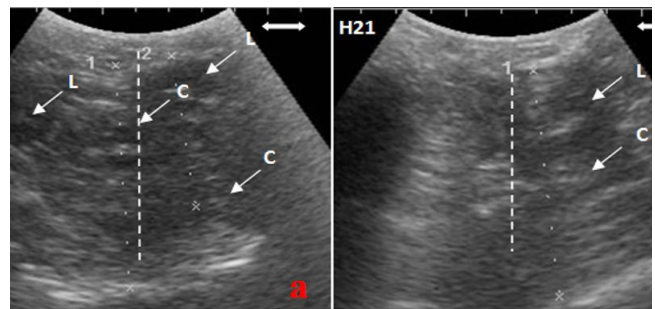


Figure 3. Transcutaneous ultrasound features of uterine involution of PE goats on the 15th and 21st day of postpartum period (a. day 15, b. day 21, L = lochia, C = caruncle, H = Day). (Bar scale: 50 mm.)

Observation of uterine involution on the 22nd day of postpartum showed that lochia in the lumen of the uterus was no longer visible. The average diameter of uterine horns lumen on the 22nd day was 49.7 ± 0.6 mm and it had decreased to 41.5 ± 6.7 mm by the 26th day of postpartum period and the lochia or caruncles were no longer visible (Figure 4).

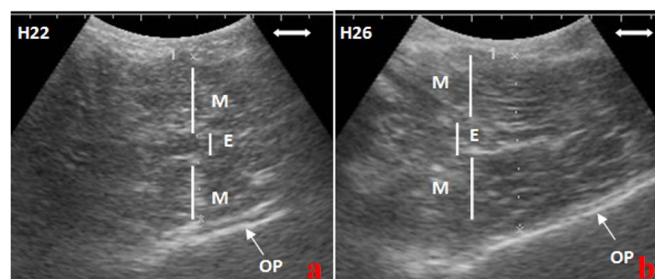


Figure 4. Transcutaneous ultrasound features of uterine involution of PE goats on the 22nd and 26th day of postpartum period (a. day 22, b. day 26, E = Endometrium, M = Myometrium, OP = Os Pubis, H = Day). (Bar scale: 50 mm.)

After the offspring is born, the uterus, which experiences contraction and retraction during pregnancy, becomes hard so it could close large blood vessels, which lead to placental implantation site (Sarwono, 2002). Uterine involution is an

autolysis process or a self-destruction process that occurs in the uterine muscle, the tissue, which undergoes proliferation in the presence of large amounts of estrogen. It then undergoes atrophy as a response to the cessation of estrogen production, which accompanies the release of the placenta. The effect of oxytocin hormone release from pituitary gland strengthens and regulates uterine contractions, compresses blood vessels, and helps the hemostasis process. The contraction and retraction of uterine muscle reduces the blood supply to the uterus. This process helps reduce the scar where the placenta was implanted and reduces bleeding (Sarwono, 2008).

Uterine involution is highly dependent on myometrial contraction, bacterial elimination, and regression of the endometrium. These three things are related to each other. The myometrium is a collection of smooth muscle cells and collagen fibers that will contract regularly under the influence of the estrogen, prostaglandin, and oxytocin hormones during postpartum period. This process results in shortening of longitudinal and circular myometrial fibers, followed by involution of caruncle and endometrial regeneration. Factors that influence uterine involution are breastfeeding, quality and quantity of feed, and hormonal activity. The longer the period of breastfeed, the lower the quality and quantity of feed. Additionally, the lack of hormonal stimulation, especially prostaglandins, prolongs uterine involution and consequently the interval of breeding will be longer (Jainudeen and Hafez, 1993).

From the 26th to the 30th day, the ultrasound images of the uterus only show the lumen of the uterine horns, whereas the caruncle, uterine wall layer, vascular layer, and lochia were not seen. The average diameter of uterine horns lumen on the 26th day was 41.5 ± 6.7 mm, which had decreased to 31.7 ± 0.9 mm by the 30th day. On the 30th and 31st day of postpartum period, the diameter of the uterus lumen remained at 31.7 ± 0.9 mm and the observation of uterine involution was stopped. This was in accordance with a study by Ababneh and Defega (2005), which found that in Balady goat, involution was completed after there was no longer reduction in the diameter of the uterine horns lumen. Uterine ultrasound features of PE goats on the 30th and 31st day are shown in Figure 5.

Endometrial and myometrial features were poorly differentiated using transcutaneous ultrasound because the diameter of uterine is fixed, same as before pregnant. This imaging is different from the appearance of a pregnant goat uterine. In previous research Melia et al. (2018) reported, the uterus of non-pregnant Etawa crossbred goat showed isoechogenic uterus lumen, no hypoechogenic appearance from embryonic vesicle and no image of isoechogenic embryo as early indication of diagnosing pregnancy.

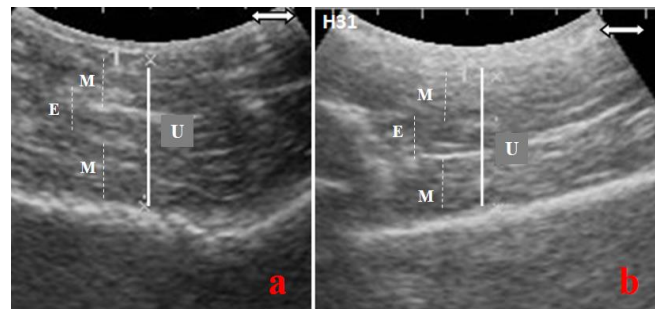


Figure 5. Transcutaneous ultrasound features of uterine involution of PE goats on the 30th and 31st day of postpartum period. (a. day 30, b. day 31, U = uterine, M = myometrium, E = endometrium, H = Day). (Bar scale: 50 mm.)

The time required for uterine involution varies according to the type of animal, reproductive status, and time of observation (Jainudeen and Hafez, 1993). Most of the studies found that uterine involution is completed around 17-19 days postpartum (Hauser and Bostedt, 2002; Ababneh and Degefa, 2005). In Kacang goats, uterine involution is completed on the 20th day of postpartum with a diameter of 19.3 mm^5 . Another technique used to observe the process of uterine involution in small ruminants is the measurement of hormone and its metabolites, radiography, and laparotomy. In this study, there were three goats with single gestation and one goat with multiple gestations. The measurements of uterine horns diameter and the duration to complete uterine involution were similar in goats with multiple gestation and single gestation.

Conclusion

Ultrasonography of uterine involution in PE goats showed caruncles and lochia were present until the 21st day of postpartum period. There was a daily decrease in the diameter of the uterine

horns lumen from 105.9±0.9 mm on the first day to 31.7±0.9 mm on the 31st day of postpartum period. The process of uterine involution in PE goats, which had normal delivery lasted for 30-31 days.

Conflict of Interests

The authors have no conflict of interests.

Acknowledgment

The author would like to express gratitude the Directorate of Research and Community Service, Directorate General of Research, Technology, and Higher Education Empowerment, Ministry of Research, Technology, and Higher Education which provided grant for this research through Competitive Research Grant Number: 025 / SP2H / LT / DRPM / II / 2016, dated February 17th, 2016, and UD. Thanks also to Puna Farm Lamduro Aceh Besar, which helped conduct this study.

References

- Ababneh M and Defega T (2005). Ultrasonic assessment of puerperal uterine involution in Balady goats. *Journal of Veterinary Medical Association*, 52(5): 244-248.
- Buckrell BC (1988). Applications of ultrasonography in reproduction in sheep and goats. *Theriogenology*, 29(1): 71-84.
- Call JW, Foote WC, Eckre CD and Hulet CV (1976). Postpartum uterine and ovarian changes and estrous behaviour from lactation effects in normal and hormone treated ewes. *Theriogenology*, 6(5): 495-521.
- Degefa T, Ababneh MM and Moustafa MF (2006). Uterine involution in the post-partum Balady goat. *Veterinarski Archiv*. 76(2): 119-133.
- Elsheikh AS, Omer NNE and Alqurashi AM (2013). Management of postpartum interval of Nubian goats with PGF₂ α and GnRH. *Journal of American Science*, 9(3): 181-184.
- Fasulkov I (2012). Ultrasonography of uterine involution in goats. *Istanbul Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 40(1): 63-69.
- Gier HT and Marion GB (1968). Uterus of the cow after parturition: Involutional changes. *American Journal of Veterinary Research*, 29(1): 83-96.
- Goel AK and Agrawal KP (1992). A review of pregnancy diagnosis techniques in sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 9(3): 255-264.
- Griffin PG and Ginther OJ (1992). Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *Journal of Animal Science*, 70(3): 953-972.
- Hauser B and Bostedt H (2002). Ultrasonographic observation of the uterine regression in the ewe under different obstetrical conditions. *Journal of Veterinary Medical Association*, 49(10): 511-516.
- Ishwar AK (1995). Pregnancy diagnosis in sheep and goats: A review. *Small Ruminant Research*, 17(1): 37-44.
- Jainudeen MR and Hafez ESE (1993). Sheep and goat. In Hafez ESE 1993. *Reproduction in Farm Animals*. 6nd ed., Lea and Febiger, Philadelphia: 330-342.
- Kahn W (2004). *Veterinary reproductive ultrasonography*. Schlutersche Verlagsgesellschaft Mbh & Co., Hannover: 113-217.
- Kene ROC (1991). Radiographic investigation of dystocia in the West Africa Dwarf Goat. *British Veterinary Journal*, 17(3): 283-289.
- Melia J, Fauziah, Hamdan, Panjaitan B, Syafruddin, Armansyah T and Siregar TN (2018). The image of embryo and fetal of etawa crossbred goats using ultrasonography at different gestational ages. *J. Ked. Hewan*. 12(2): 47-52.
- Noakes DE (2009). The puerperium. In *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Noakes DE, Parkinson TJ and England GCW (Eds). 9th ed. W.B. Saunders, Philadelphia: 137-149.
- Riady G, Siregar TN, Melia J, Hamdan and Ayunanda R (2015). Gambaran involusi uterus kambing kacang (*Capra sp.*) berdasarkan pengamatan dengan ultrasonografi transkutaneus. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 9(1): 24-28.

- Rubianes E, Ungerfeld R, Vinales C, Carbajal B, de-Castro T and Ibarra D (1996). Uterine involution time and ovarian activity in weaned and suckling ewes. *Canada Journal of Animal Science*, 76(1): 153-155.
- Sanchez MA, Garcia P, Menendez S, Sanchez B, Gonzalez M and Flores JM (2002). Fibroblastic growth factor receptor (FGF-R) expression during uterine involution in goat. *Animal of Reproduction Science*, 69(1-2): 25-35.
- Sarwono P (2008). Ilmu kebidanan. Bina Pustaka, Jakarta: 45-59.
- Tian W and Noakes DE (1991). A radiographic methods for measuring the effect of exogenous hormone therapy on uterine involution in ewes. *Veterinary Record*, 129(21): pp. 463-466.
- Van Wyck LC, Van Niekerk CH and Bolonje PC (1972). Involution of the postpartum uterus of the ewe. *Journal of South African Veterinary Association*, 43(1): 19-26.

Frekuensi Pulsus dan Nafas Sapi Peranakan Ongole Pasca Beranak yang Diinfusi Povidone Iodine 1%

The Heart and Respiration Rate on Postpartum Ongole Crossbreed Cattle after Infusion Povidone Iodine 1%

Jumaryoto¹, Agung Budiyanto², Soedarmanto Indarjulianto^{3*}

¹Balai Besar Inseminasi Buatan, Kotak Pos 8, Ngujung, Toyomarto, Singosari, Malang, Jawa Timur

²Departemen Reproduksi dan Kebidanan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta,

³Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Jl. Fauna No 2, Karangmalang, Yogyakarta, 55281, Indonesia.

*Corresponding Author; Email: indarjulianto@ugm.ac.id

Naskah diterima: 11 Agustus 2020, direvisi: 18 Agustus 2020, disetujui: 20 Nopember 2020

Abstract

This study aimed to determine the frequency of respiration rate and pulse rate during postpartum period on Ongole crossbreed cattle after Povidon iodine 1% infusion. This study used 10 Ongole crossbreed (PO) cattle with normal partus and healthy, 4-9 years old and body condition score 2.5-3.5. Cattle are divided into 2 groups 1). control 2). Povidon iodine 1% infusion. All cattle were physically examined including general condition, respiration rate and pulse rate on the 3rd day (1st week), 38th and 66th day postpartum. Group 2 cows were given povidon iodine infusion of 250 ml on the 3rd day. The results showed that the respiration rate of cattle in the control group at days 3, 38 and 66 were 29 ± 5 ; 24 ± 0 and 25 ± 4 breaths/minute and in the treatment group were 28 ± 3 ; 22 ± 4 and 21 ± 6 breaths/minute respectively. The pulse rate in the control group at days 3, 38 and 66 were 82 ± 8 ; 67 ± 15 and 62 ± 5 beats/minute and the treatment group were 74 ± 8 ; 63 ± 9 and 73 ± 10 beats/minute respectively. The t-test analysis showed no significant difference ($p > 0.05$) between control and treatment cattle. Based on this study it can be concluded that healthy PO cattle 3rd-66th postpartum have a respiration rate of 21 ± 6 - 29 ± 5 breaths/minute and a pulse rate of 62 ± 5 - 82 ± 8 beats/minute, which can be used as a reference for healthy cattle, especially postpartum cattle.

Key words: Ongole Crossbreed Cattle; postpartum; Povidone iodine; pulse; respiration rate

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengetahui frekuensi pulsus dan nafas saat *recovery* uterus sapi potong pasca beranak yang diinfusi Povidon iodine 1%. Penelitian ini menggunakan 10 ekor sapi Peranakan Ongole (PO) yang beranak normal, sehat, umur 4-9 tahun, skor kondisi tubuh 2,5-3,5. Sapi dikelompokkan menjadi 2 yaitu 1). kontrol 2). infusi Povidon iodine 1%. Semua sapi diperiksa secara fisik meliputi kondisi kesehatan umum, penghitungan frekuensi pulsus dan nafas pada hari ke-3 (minggu ke-1), hari ke 38 dan hari ke 66 pasca beranak. Sapi kelompok 2 diberi infusi Povidon iodine 1 % sebanyak 250 ml per-ekor pada hari ke-3. Hasil penelitian menunjukkan semua sapi dalam kondisi sehat dengan frekuensi nafas pada sapi kelompok kontrol hari ke-3, 38 dan 66 berturut-turut adalah 29 ± 5 ; 24 ± 0 dan 25 ± 4 kali/menit dan pada sapi kelompok perlakuan adalah 28 ± 3 ; 22 ± 4 dan 21 ± 6 kali/menit. Frekuensi pulsus pada sapi kelompok kontrol hari ke-3, 38 dan 66 berturut-turut adalah 82 ± 8 ; 67 ± 15 dan 62 ± 5 kali/menit dan kelompok perlakuan adalah 74 ± 8 ; 63 ± 9 dan 73 ± 10 kali/menit. Uji t-test didapatkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antara sapi kontrol dan perlakuan. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sapi PO sehat 3-66 hari pasca beranak

mempunyai frekuensi nafas $21 \pm 6 - 29 \pm 5$ kali/menit dan frekuensi pulsus $62 \pm 5 - 82 \pm 8$ kali/menit, yang dapat dipakai sebagai acuan pada sapi sehat, khususnya sapi pasca beranak.

Kata kunci : nafas; pasca beranak; Povidone iodine; pulsus; Sapi PO

Pendahuluan

Sapi potong merupakan ternak ruminansia besar yang berperan sebagai komoditas unggulan, yang diharapkan dapat memenuhi kebutuhan daging dalam negeri melalui program swasembada daging dari Dirjen Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian. Program tersebut telah berhasil meningkatkan populasi sapi potong menjadi 16,4 juta ekor pada tahun 2018 (peningkatan 0,02 %) dibanding tahun 2017 (Anonim, 2010; Ariningsih, 2014; Anonim, 2019). Salah satu jenis sapi yang banyak mendukung program tersebut adalah sapi persilangan Ongole (PO). Sapi PO merupakan salah satu sapi lokal yang banyak dibudidayakan di Indonesia, karena daya tahan dan aktivitas reproduksi yang relatif lebih bagus dibanding sapi silangan lainnya. Walaupun demikian, kinerja reproduksi sapi PO masih perlu dioptimalkan, karena hasil penelitian menunjukkan bahwa *service/conception* (S/C) $1,97 \pm 0,20$ dan bahkan masih banyak yang lebih dari 2 (Matondang dan Rudiana, 2014; Sudrajad dan Subiharta, 2014; Kusuma *et al.*, 2017). *Service/conception* yang melebihi 1 tersebut dapat dipengaruhi oleh proses beranak dan proses involusi uterus. Saat beranak dan pasca beranak merupakan salah satu titik kritis dalam pemeliharaan sapi potong, karena saat setelah beranak, uterus sapi yang sebelumnya berisi fetus akan berubah ke arah normal seperti sebelum bunting. Uterus berubah menjadi lebih kecil, sel-sel serta jaringan yang rusak diperbaiki dan akan kembali pada kondisi normal setelah pengeluaran plasenta (Sheldon, 2007; Ismudiono *et al.*, 2010; Saut *et al.*, 2011).

Sesaat setelah beranak, sapi akan mengeluarkan lochia yang merupakan sisa-sisa cairan fetus, darah dari pembuluh darah umbilikus, karunkula dan selaput fetus yang mengalami nekrosis. Hari ke 2 dan 3 pasca beranak merupakan waktu pengeluaran lochia terbanyak. Pengeluaran lochia ini akan berkurang pada hari-hari berikutnya dan akan tuntas pada hari

ke 14-18 pasca beranak (Crowe, 2008). Uterus yang tidak ada gangguan ataupun infeksi akan mengalami involusi berkisar 2 hingga 6 minggu. Adanya infeksi mikroorganisme pada uterus akan mengakibatkan terjadinya endometritis. Endometritis biasanya terjadi akibat masuknya bakteri patogen melalui vagina dan berlanjut ke serviks sehingga mengkontaminasi uterus selama partus. Endometritis ini akan membuat tertundanya involusi uterus dan menurunnya performa reproduksi, sehingga menyebabkan kerugian ekonomis (Sheldon, 2007; Dolezel *et al.*, 2008; Ismudiono *et al.*, 2010; Hadisutanto *et al.*, 2013; Jeon *et al.*, 2016; Sheldon dan Owens, 2017). Salah satu pengobatan untuk infeksi di dalam uterus sapi pasca beranak adalah pemberian antiseptik ataupun antibiotika. Antiseptik diberikan secara infusi langsung ke lumen uterus, yang ditujukan untuk membunuh bakteri, meningkatkan mekanisme pertahanan uterus atau meningkatkan tonus uteri dan aliran darah. Salah satu antiseptik yang sering digunakan adalah iodine yang bersifat bakterisidal, fungisidal, tuberculosidal, virusidal, dan sporisidal (Dolezel *et al.*, 2008; Kumalajati, 2014; Ahmed dan Elsheikh, 2014). Pemberian infusi povidon iodine pada sapi pasca beranak akan meminimalkan terjadinya endometritis akibat infeksi bakteri, sehingga sapi akan tetap sehat.

Sapi yang menderita endometritis dapat menunjukkan gejala klinis peningkatan suhu tubuh, yang dapat berpengaruh terhadap frekuensi nafas dan pulsus (Jeon *et al.*, 2016; Cunha *et al.*, 2018). Gambaran proses fisiologis, termasuk frekuensi nafas dan pulsus merupakan kondisi yang dapat dipakai sebagai indikator status kesehatan hewan (Widiyono *et al.*, 2003; Serang *et al.*, 2016; Raharjo *et al.*, 2019). Selama ini, referensi kondisi fisiologis yang digunakan untuk sapi PO pasca beranak kemungkinan kurang sesuai, karena masih mengacu pada referensi ras sapi lainnya dan bukan dalam kondisi pasca beranak. Hal ini dapat menyebabkan ketidak efektifan dalam tindakan diagnostik sehingga penanganan menjadi kurang akurat pada suatu kasus penyakit (Suherman

et al., 2013; Rona et al., 2016; Serang et al., 2016). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui frekuensi pulsus dan nafas sapi PO pasca beranak dengan infusi Povidon 1 % dan tanpa perlakuan, yang diharapkan hasilnya akan dapat dipakai sebagai acuan penentuan status kesehatan sapi secara klinis.

Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan 10 ekor sapi peranakan ongole (PO) pasca beranak, umur 4 – 9 tahun dengan skor kondisi tubuh 2,5-3,5 yang dipelihara secara semi intensif. Peralatan yang digunakan adalah *stopwatch* (Xiami, China), *glove* (Minitub, Jerman), *gun* IB (Minitub, Jerman), *plastic sheeth* (Minitub, Jerman), gunting, spuit 50 cc, gelas ukur dan alat tulis. Bahan yang digunakan di dalam penelitian ini adalah aquadestilata (PT. USFA, Indonesia) dan Povidone iodine 1% (Betadine-PT. Makam Beta Farma, Indonesia).

Sapi dikelompokkan menjadi 2 kelompok (masing-masing sejumlah 5 ekor) yaitu kelompok kontrol dan perlakuan infusi Povidon iodine 1%. Semua sapi diperiksa kondisi fisik secara klinis, termasuk tingkah laku, nafsu makan. Pemeriksaan dilakukan sebelum melakukan pemeriksaan frekuensi nafas dan pulsus, pada sore hari jam 16.00. Selanjutnya dilakukan penghitungan frekuensi pulsus dan nafas pada semua sapi pada hari ke-3, 38 (minggu 5) dan 66 (minggu 9) pasca beranak. Sapi kelompok 2 diberikan larutan Povidon iodine 1 % sebanyak 250 ml perekor pada hari ke-3 pasca beranak secara *intra uterine*. Penghitungan frekuensi pulsus ditentukan dengan melakukan palpasi pada arteri *coccygea*–(Kelly 1984). Pengukuran frekuensi nafas dilakukan dengan meletakkan punggung tangan di depan hidung ternak dan menghitung hembusan nafas dalam 1 menit (Udeh et al., 2011). Hasil pengukuran frekuensi pulsus dan nafas dari 5 sapi sesuai kelompoknya dibuat rerata dan standar deviasinya dan dibandingkan dengan referensi sapi sehat. Perbandingan/perbedaan nilai rerata pengukuran frekuensi pulsus dan nafas antara sapi kontrol dan perlakuan pada hari yang sama (hari ke 3, 38 dan 66) selanjutnya dianalisa menggunakan *t-test*. Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Hewan,

Universitas Gadjah Mada dengan nomor: 0134/EC-FKH/Int/2019.

Hasil dan Pembahasan

Semua sapi yang dipakai di dalam penelitian ini mulai awal (hari ke 3 pasca beranak) sampai akhir (hari ke 66 pasca beranak) menunjukkan tingkah laku ceria, nafsu makan dan minum baik, tidak ada material abnormal yang keluar dari lubang alami, termasuk organ reproduksi, sehingga secara umum sapi yang digunakan di dalam penelitian ini dapat disimpulkan dalam kondisi sehat. Sapi penelitian ini juga menunjukkan tidak mengalami kesulitan pada saat bernafas, dan hal tersebut juga termanifestasi pada saat diperiksa dan dihitung frekuensi nafas dan pulsusnya. Hasil penghitungan frekuensi nafas pada sapi kelompok kontrol pada hari ke 3, 38 dan 66 pasca beranak berturut-turut adalah 29 ± 5 ; 24 ± 0 dan 25 ± 4 kali/menit dan pada sapi kelompok perlakuan adalah 28 ± 3 ; 22 ± 4 dan 21 ± 6 kali/menit (Tabel 1). Apabila dibandingkan dengan penelitian lain, hasil tersebut masih berada di dalam kisaran sapi sehat. Aritonang et al. (2017) melaporkan bahwa frekuensi nafas sapi sehat adalah antara 18-34 kali/ menit. Hasil penelitian ini sedikit lebih tinggi dari pada hasil penelitian Serang et al. (2016) pada sapi bali betina dewasa yang mendapatkan hasil penghitungan frekuensi nafas antara $16,05 \pm 0,82$ sampai $20,95 \pm 0,88$. Hasil penelitian yang sedikit lebih rendah dilaporkan oleh Ferreira et al. (2006) yaitu kisaran frekuensi nafas sapi adalah 24-36 kali/menit.

Tabel 1. Hasil penghitungan frekuensi nafas per menit pada sapi kelompok kontrol dan perlakuan infusi Povidon iodine 1% (n = 10)

Perlakuan	Hari ke (pasca beranak)		
	3	38	66
Kontrol (n=5)	$29 \pm 5^{a*}$	$24 \pm 0^{b*}$	$25 \pm 4^{c*}$
Perlakuan (n=5)	$28 \pm 3^{a*}$	$22 \pm 4^{b*}$	$21 \pm 6^{c*}$

* Ket: Nilai dengan huruf yang sama adalah nilai yang dibandingkan dan menunjukkan tidak berbeda nyata ($P < 0,05$)

Walaupun ada kecenderungan perbedaan frekuensi nafas antara sapi kontrol dan perlakuan, serta dari hari ke 3 ke hari ke 38 dan 66, tetapi secara fisik semua sapi dalam kondisi yang sehat. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh faktor lingkungan pada saat pemeriksaan, terutama suhu

lingkungan yang tidak sama antara hari ke 3, 38 dan 66 pasca beranak. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi frekuensi pernafasan antara lain adalah kondisi kesehatan hewan, umur, ukuran tubuh, aktifitas fisik, status kebuntingan, adanya gangguan pada saluran pencernaan, pernafasan dan stres (Kelly, 1984; Feils dan Magee, 2018; Yanuartono *et al.*, 2018a,b). Salah satu stress yang dapat terjadi adalah akibat pengaruh lingkungan, kondisi pasca beranak dan akibat interaksi dengan orang asing, terutama ketika akan diperiksa (Lima *et al.*, 2018). Stres yang paling sering dialami oleh sapi adalah akibat perubahan lingkungan, terutama karena suhu dan kelembaban kandang. Suhu udara yang meningkat di atas suhu kritis akan menyebabkan sapi menderita cekaman panas, sehingga mekanisme termoregulasi mulai bekerja terutama dengan cara meningkatkan respirasi, detak jantung dan penguapan air melalui kulit. Secara fisiologis, peningkatan frekuensi respirasi terjadi karena adanya mekanisme pembuangan panas tubuh untuk menjaga suhu tubuh dan adanya peningkatan aktivitas metabolisme. Peningkatan frekuensi pernafasan dapat terjadi pada ternak dalam rangka menjaga keseimbangan panas tubuh saat mengalami perubahan panas tubuh dari hasil metabolisme pakan dan cuaca lingkungan. Secara umum suhu lingkungan akan meningkat pada siang hari dan menurun kembali pada sore hari, sehingga frekuensi nafas sapi pada siang hari akan lebih tinggi dibanding pada pagi atau sore hari. Suhu kandang harian di Indonesia umumnya tinggi yang berkisar antara 24-35 °C yang akan sangat mempengaruhi tingkat produktivitas sapi. Pemeliharaan dengan sistim dikandangan ataupun sistim umbaran dengan banyak naungan akan sangat meminimalkan stress pada sapi dari panas lingkungan (Schutz *et al.*, 2010; Suherman *et al.*, 2013).

Perubahan frekuensi nafas pada sapi secara patologis dapat terjadi baik karena adanya gangguan paru-paru maupun organ lain. Tortorelli *et al.* (2017) melaporkan bahwa 18/28 (64%) sapi yang terinfeksi *Mycoplasma spp.* pada saluran pernafasannya menunjukkan peningkatan frekuensi nafas diatas 40 kali/menit. Peningkatan frekuensi nafas dapat diamati pada sapi yang mengalami kembung ataupun keracunan. Distensi rumen pada sapi kembung

akan mendesak diafragma dan rongga dada, sehingga menyebabkan sapi kesulitan bernafas (Ramaswamy dan Sharma, 2011; Yanuartono *et al.*, 2018b). Pemberian urea yang berlebihan dapat menyebabkan keracunan, yang salah satu gejala klinisnya adalah adanya peningkatan frekuensi nafas (Shaikat *et al.*, 2012; Yanuartono *et al.*, 2018a). Pada penelitian ini semua sampel sapi yang dipakai tidak menunjukkan adanya gangguan yang berkaitan dengan pernafasan, baik yang disebabkan gangguan pada saluran pernafasan, organ lain maupun organ reproduksi akibat dampak pasca beranak.

Sistem sirkulasi berhubungan erat dengan paru-paru tempat terjadi pertukaran gas oksigen dan karbon dioksida, sehingga frekuensi nafas dan pulsus akan berkaitan. Secara fisiologis nafas dan pulsus akan meningkat apabila sapi melakukan aktivitas/*exercise* (Aengwanich *et al.*, 2011; Feils dan Magee, 2018). Sejalan dengan pemeriksaan frekuensi nafas, hasil penghitungan frekuensi pulsus pada penelitian ini juga berada di dalam kisaran sapi sehat. Penghitungan frekuensi pulsus pada kelompok kontrol pada hari ke-3, 38 dan 66 berturut-turut adalah 82 ± 8 ; 67 ± 15 dan 62 ± 5 kali/menit dan kelompok perlakuan adalah 74 ± 8 ; 63 ± 9 dan 73 ± 10 kali/menit (Tabel 2). Hasil tersebut sesuai dengan beberapa referensi, yang menyebutkan bahwa sapi sehat mempunyai frekuensi pulsus antara 40 sampai 70 kali/menit (John *et al.*, 2013) dan antara 46-84 kali/menit (Sudrajad dan Adiarto, 2012). Sapi bali juga mempunyai frekuensi pulsus yang hampir sama dengan penelitian ini, yaitu $67,40 \pm 8,41$ kali/menit untuk sapi dara dan $76,66 \pm 7,88$ kali/menit untuk sapi bunting (Madu *et al.*, 2015; Jinorati *et al.*, 2016; Rona *et al.*, 2016).

Tabel 2. Hasil penghitungan frekuensi pulsus (per menit) pada sapi kelompok kontrol dan perlakuan infusi Povidon iodine 1% (n = 10).

Perlakuan	Hari ke (pasca beranak)		
	3	38	66
Kontrol (n=5)	$82 \pm 8^{**}$	$67 \pm 15^{b*}$	$62 \pm 5^{c*}$
Perlakuan (n=5)	$74 \pm 8^{**}$	$63 \pm 9^{b*}$	$73 \pm 10^{c*}$

* Ket: Nilai dengan huruf yang sama adalah nilai yang dibandingkan dan menunjukkan tidak berbeda nyata ($P < 0,05$)

Seperti pada frekuensi nafas, variasi dan perubahan frekuensi pulsus dapat disebabkan karena adanya aktivitas fisik, penyakit ataupun

stress. Penurunan *output* jantung yang parah secara drastis akan menurunkan tekanan darah, menimbulkan respons yang kuat oleh refleksi baroreseptor, sehingga denyut jantung akan meningkat. Sebaliknya penurunan *output* jantung dan vasokonstriksi perifer yang *intens* akan menyebabkan melemahnya pulsus (Feils dan Magee, 2018). Stres akibat paparan peningkatan suhu lingkungan juga akan meningkatkan frekuensi pulsus. Palulungan *et al.* (2013) melaporkan bahwa penambahan suhu kandang akan meningkatkan frekuensi pulsus dan nafas sapi Friesian Holland (FH). Hal serupa juga dilaporkan oleh Aengwanich *et al.* (2011) yaitu frekuensi nafas dan pulsus akan menjadi lebih tinggi pada sapi yang berada langsung terkena sinar matahari dibanding yang berada di tempat teduh. Suherman *et al.* (2013) juga mendapatkan frekuensi pulsus meningkat dan lebih tinggi pada sapi FH di Jakarta dibanding di daerah Bogor yang suhu lingkungannya lebih rendah. Hasil penelitian Rona *et al.* (2016) menunjukkan bahwa sapi bali bunting trimester II mempunyai frekuensi paling tinggi pada siang hari dibanding pagi dan sore hari.

Perubahan frekuensi pulsus pada sapi secara patologis dapat terjadi terutama karena adanya gangguan jantung, paru-paru antara lain pneumonia, gagal jantung dan pericarditis (Buczinski *et al.*, 2010). Tortorelli *et al.* (2017) melaporkan bahwa selain adanya kenaikan frekuensi nafas sebesar 64% (18/28) ekor, sebanyak 79% (22/28) ekor sapi yang terinfeksi *Mycoplasma spp.* pada saluran pernafasannya, juga menunjukkan peningkatan frekuensi pulsus diatas 100 kali/menit. Hal ini menunjukkan adanya keterkaitan antara frekuensi nafas dan frekuensi pulsus, sehingga kedua parameter tersebut perlu diperiksa sebagai satu kesatuan pada saat memeriksa kondisi kesehatan sapi. Berdasarkan frekuensi pulsus pada penelitian ini semua sampel sapi yang dipakai tidak menunjukkan adanya gangguan yang berkaitan dengan pernafasan ataupun jantung, baik yang disebabkan gangguan pada saluran pernafasan, jantung maupun dampak pasca beranak.

Sapi yang dipakai di dalam penelitian ini dipelihara di dalam kandang, dan pemeriksaan frekuensi nafas serta pulsus dilakukan pada sore hari sekitar jam 16.00, sehingga stress akibat

suhu lingkungan dapat diminimalkan. Konfirmasi kemungkinan adanya stres dapat dilakukan antara lain dengan melihat gambaran hematologi, kimia darah dan melihat kadar hormon kortisol (Sarmin *et al.*, 2014; 2019). Hasil analisa perbandingan dengan uji statistik t-test pada sapi kontrol dan perlakuan pada hari yang sama (hari ke 3, 38 dan 66 pasca beranak) didapatkan tidak adanya perbedaan secara nyata ($P>0,05$) pada frekuensi nafas dan pulsus antara sapi kelompok kontrol dan perlakuan infusi Povidone iodine 1%. Hasil analisa perbandingan tersebut, dan didukung dengan hasil pemeriksaan klinis, mengindikasikan bahwa sapi yang dipakai di dalam penelitian ini (sapi kontrol dan perlakuan) dalam kondisi yang sehat, tidak ada gangguan reproduksi pasca beranak. Hal ini menunjukkan bahwa frekuensi nafas $21 \pm 6 - 29 \pm 5$ kali/menit dan frekuensi pulsus $62 \pm 5 - 82 \pm 8$ kali/menit dapat dipakai sebagai acuan untuk interpretasi kesehatan sapi PO, khususnya untuk sapi pasca beranak sampai hari 66 (minggu ke 5).

Kesimpulan

Frekuensi pulsus dan nafas sapi PO pasca beranak pada sapi kelompok kontrol dan infusi Povidone iodine 1 % tidak ada perbedaan, yang mengindikasikan semua sapi dalam kondisi yang sehat. Kisaran frekuensi nafas sapi PO 3 - 66 hari pasca beranak adalah $21 \pm 6 - 29 \pm 5$ kali/menit dan frekuensi pulsus $62 \pm 5 - 82 \pm 8$ kali/menit dapat dipakai sebagai acuan pada sapi sehat, khususnya sapi pasca beranak. Infusi Povidone iodine 1 % disarankan akan lebih baik diberikan pada sapi pasca beranak yang menunjukkan kemungkinan adanya infeksi mikroorganisme.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis ucapkan kepada Kementerian Pertanian atas beasiswa S2 yang telah diberikan.

Daftar Pustaka

Aengwanich, W., Kongbuntad, W., and Boonsorn, T. (2011) Effects of shade on physiological changes, oxidative stress, and total antioxidant power in Thai Brahman cattle. *Int J Biometeorol.* 55, 741–748.

- Ahmed, F.O., and Elsheikh, A.S. (2014). Treatment of Repeat Breeding in Dairy Cows with Lugol's Iodine. *IOSR-JAVS*. 7 (4-1): 22-26.
- Anonim. (2010). *Blue Print Program Swasembada Daging Sapi Tahun 2014*. Ditjen Peternakan dan Kesehatan Hewan. Jakarta.
- Anonim. (2019). *Statistik peternakan dan Kesehatan Hewan tahun 2019*. Ditjennak Peternakan dan Keswan . Kementerian pertanian.
- Ariningsih, E. (2014). Kinerja Kebijakan Swasembada Daging Sapi Nasional. *Forum Penelitian Agro Ekonomi*. 32 (2): 137-156.
- Aritonang, S.B., Yuniarti, R., Abinawanto, Imron, I., and Bowolaksono, A. (2017). Physiology Response of Indigenous Cattle Breeds to the Environment in West Sumbawa Indonesia. *American Inst of Physics*. 1862 : 1-4.
- Buczinski, S., Francoz, D., Fecteau, G., and DiFruscia, R. (2010). Heart Disease in Cattle with Clinical Signs of Heart Failure: 59 Cases. *Can Vet J*. 51:1123–1129.
- Crowe, M.A. (2008). Resumption Of Ovarian Cyclicity In Pasca beranak Beef And Dairy Cows. *Reprod. Dom. Anim*. 43(5):20-28.
- Cunha, F., Jeon, S.J., Daetz, R., Vieira-Neto, A., Laporta, J., Jeong, K.C, Barbet, A.F., Risco, C.A., and Galvão, K.N. (2018). Quantifying known and emerging uterine pathogens, and evaluating their association with metritis and fever in dairy cows. *Theriogenology*. 114: 25-33.
- Dolezel, R., Vecera, M., Palenik, T., Cech, S., and Vyskocyl, M. (2008). Systematic Clinical Examination of Early Postpartus Cows and Treatment of Puerperal Endometritis Did Not Have Any Beneficial Effect on Subsequent Reproductives Performance. *Vet Med*. 53 (2):59-69.
- Feils, D., and Magee, C. (2018). *Anatomy and physiology of farm animals*. John Wiley & Sons, Inc.
- Ferreira, F., Pires, M.F., Martinez, M.L., Coelho, S.G., Carvalho, A.U., Ferreira, P. M., Facury, Filho, E.J., and Campos, W.E. (2006). Parâmetros Fisiológicos de Bovines Cruzados Submetidos ao Estresse Calórico. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 58 (5):732–738.
- Hadisutanto, B., Purwantara, B., and Darodjah, S. (2013). Involusi Uteri dan Waktu Estrus pada Induk Sapi Perah FH Pasca Partus. *Jurnal Ilmu Ternak*. 13 (1): 4-7.
- Ismudiono, Srianto, P., Anwar, H., Madyawati, S.P., Samik, A., and Safitri, E. (2010). *Buku Ajar Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Jeon, S.J., Cunha, F., Ma, X., Martinez, N., Vieira-Neto, A., Daetz, R., Bicalho, R.C., Lima, S., Santos, J.E., Jeong, K.C., and Galvão, K.N. (2016) Uterine Microbiota and Immune Parameters Associated with Fever in Dairy Cows with Metritis. *PLoS One*. 1;11 (11): e0165740.
- Jinorati, K.Y., Suartha, .IN., and Gunata, I.K. (2016). Frekuensi Pulsus Sapi Bali Pada Masa Kebuntingan Trimester Pertama di Sentra Pembibitan Sapi Bali, Desa Sobangan, Mengwi Badung. *Buletin Veteriner Udayana*. 8 (2): 117-121.
- John, S.D., Christian, O.N.I., Olajide, O., Olusiji, F.S., Matthew, A.A., Mathew, W., David O.O., Abuba, T.M.S., Babatunde, A.O., Raman, A.L., Adeyemi, S.A. and Samuel, A.A. (2013). Effects of Coat Colour Genes on Body Measurements, Heat Tolerance Traits and Haematological Parameters in West African Dwarf Sheep. *Genetics*. 3: 280-284.
- Kelly, W.B. (1984). *Veterinary Clinical Diagnosis*. 3rd Edition. London: The Williams and Wilkins Company. 318-327.
- Kumalajati, A. (2014). Infusi Iodium Povidon 2% Intra Uterus pada Sapi Perah dan Sapi Potong Penderita Endometritis: Kajian pada Kadar Estrogen, Kualitas Estrus dan Kebuntingan Pasca Inseminasi Buatan. *Thesis*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Kusuma, S.B., Ngadiyono, N., and Sumadi. (2017). Buletin Peternakan. Estimasi Dinamika Populasi Dan Penampilan Reproduksi Sapi Peranakan Ongole Di Kabupaten Kebumen Provinsi Jawa Tengah . *Buletin Peternakan*. 41(3): 230-242.

- Lima, M.L.P., Negrão, J.A., de Paz, C.C.P., and Grandin, T. (2018). Minor Corral Changes and Adoption of Good Handling Practices Can Improve the Behavior and Reduce Cortisol Release in Nellore Cows. *Trop Anim Health Prod.* 50: 525–530.
- Madu, E.Y., Suartha, I.N., and Batan, I.W. (2015). Status Praesen Sapi Bali Dara. *Indonesia Medicus Veterinus.* 4 (5) : 437-444.
- Matondang, R.H., and Rusdiana, S. (2014). Langkah-Langkah Strategis dalam Mencapai Swasembada Daging Sapi/ Kerbau 2014. *J. Litbang Pert.* 32 (3):131-139.
- Palulungan, J.A., Adiarto, Hartatik, T. (2013). Pengaruh kombinasi pengkabutan dan kipas angin terhadap kondisi fisiologis sapi perah peranakan friesland holland. *Buletin Peternakan.* 37 (3): 189-197.
- Raharjo, S., Hartati S., Indarjulianto, S., and Widayanti R. (2019). Studi Frekuensi Nafas dan Pulsus pada Ular Sanca Batik (Malayopython Reticulatus) Lokalitas Jawa. *J sains veteriner.* 37 (1): 121-127.
- Ramaswamy, V., and Sharma, R.H. (2011). Plastic bags threat to environment and cattle health: A retrospective study from Gondar city, Ethiopia. *Special Issue IIOAB J.* 2 (1): 7-12.
- Rona, T.L., Suartha, I.N., and Budiasa, M.K. (2016). Frekuensi detak jantung sapi bali betina pada kebuntingan trimester ke II. *Buletin Veteriner Udayana.* 8 (2): 106-111.
- Sarmin, Hana, A., Astuti, P., Fibrianto, Y.H., and Mona Airin, C. (2014). Kajian kadar kortisol sapi yang dipotong di rumah potong hewan Yogyakarta. *Jurnal Kedokteran Hewan.* 8 (2): 134-137.
- Sarmin, Hana, A., Astuti, P., Fibrianto, Y.H., and Mona Airin, C. (2019). Respons Hematologi dan Kimia Darah Domba Lokal Indonesia Terhadap Stres Transportasi Selama 12 Jam. *J Vet.* 20 (1) : 48 -57.
- Saut, J.P.E., Oliviera, R.S.B.R., Martins, C.F.G., Moura, A.R.F., Tsuruta, S.A., Nasciutti, N.R., Santos, R.M., and Headley, S.A. (2011). Clinical Observations of Postpartum Uterine Involution in Crossbreed Dairy Cow. *Vet Not.* 1 7(1) :16-25.
- Schutz, K.E., Rogers, A.R., Poulouin, Y.A., Cox, N.R., and Tucker, C.B. (2010). The amount of shade influences the behavior and physiology of dairy cattle. *Journal of Dairy Science.* 93 (1):125-133.
- Serang, P.M., Suartha, I.N., and Arjentina, I.P.G.Y. (2016). Frekuensi Respirasi Sapi Bali Betina Dewasa Di Sentra Pembibitan Sapi Bali Desa Sobangan, Kecamatan Mengawi, Kabupaten Badung. *Buletin Veteriner Udayana.* 8 (1): 25-29.
- Shaikat, A.H., Hassan, M.M., Azizul Islam, S.K.M., Khan, S.A., Hoque, A., Is-lam, N. and Hossain, M.B. (2012). Non-protein nitrogen compound poisoning in cattle. *Univ. j. zool. Rajshahi Univ.* 31: 65-68.
- Sheldon, M. (2007). Endometritis in Cattle: Pathogenesis Consequences for Fertility, Diagnosis and Therapeutic Recommendations. *Reproduction Management Bulletin (Intervet).* 2(1):1-5.
- Sheldon, I.M., and Owens, S.E. (2017). Postpartum uterine infection and endometritis in dairy cattle. *Anim Reprod,* 14 (3):.622-629.
- Sudrajad, P., and Adiarto. (2012). Pengaruh Stress Panas Terhadap Performa Produksi Susu Sapi Friesian Holstein di Balai Besar Pembibitan Ternak Unggul Sapi Perah Baturraden. Di dalam: Prasetyo, L.H., Damayanti, R., Iskandar, S., Herawati, T., Priyanto, D., Puastuti, W., Anggraeni, A., Tarigan, S., Wardhana, A.H., editor. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan.* 7-8: 341-346.
- Sudrajad, P., and Subiharta. (2014). Karakter Fenotipik Sapi Betina Peranakan Ongole (PO) Kebumen. *Widyaiset.* 17 (2), 283–290.
- Suherman, D., Purwanto, B.P., Manalu, W., and Permana, I.G. (2013). Simulasi Artificial Neural Network untuk Menentukan Suhu Kritis pada Sapi Fries Holland Berdasarkan Respon Fisiologis. *JITV.* 18 (1): 70-80.

- Tortorelli, G., Carrillo Gaeta, N., Mendonça Ribeiro, B.L., Miranda Marques, L., Timenetsky, J., and Gregory, L. (2017). Evaluation of Mollicutes Microorganisms in Respiratory Disease of Cattle and Their Relationship to Clinical Signs. *J. Vet. Intern. Med.* 31(4), 1215–1220.
- Udeh, I.P.O. Akporhwarho, C.O., and Onogbe. (2011). Phenotypic Correlations Among Body Measurements and Physiological Parameters in Muturu and Zebu Cattle. *ARPJ-Agric Biol Sci.* 6 (4): 1-4.
- Widiyono, I, Wuryastuti, H., Indarjulianto, S., and Purnamaningsih, H. (2003). Frekuensi Nafas, Pulsus dan gerak rumen serta suhu tubuh pada kambing peranakan Ettawa selama 3 bulan pertama kehidupan pasca lahir. *J Sain Vet.* 21 (2): 39-42
- Yanuartono, Indarjulianto, S., Nururrozi, A., Purnamaningsih, H., and Raharjo, S. (2018) a. Review: Peran pakan pada kejadian kembung rumen. *JHIP.* 28 (2): 141–157
- Yanuartono, Nururrozi, A., Indarjulianto, S., Purnamaningsih, H., and Raharjo, S. (2018) b. Urea: Manfaat pada ruminansia. *JHIP.* 28 (1): 10 – 34

Hematologi dan Mineral Saat Bunting dan Periode Laktasi Kambing Peranakan Ettawa di Kulonprogo, Yogyakarta

Hematology And Mineral In Pregnant And Lactating Ettawa Crossbred Goats In Kulon Progo, Yogyakarta

Sarmin, Amelia Hana, Pudji Astuti, Claude Mona Airin

Departemen Fisiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada
Jl. Fauna 2 Karangmalang, Yogyakarta, Indonesia 55281
Email : sarminkh76@ugm.ac.id

Naskah diterima: 12 Februari 2020, direvisi: 5 Mei 2020, disetujui: 19 Oktober 2020

Abstract

This study aimed at evaluating hematology and mineral in pregnant and lactating Et tawa crossbred goats in Kulon Progo, Yogyakarta. This study examined 38 healthy female goats aged 2.5-4 years and weighing from 30 kg to 40 kg in average. Blood samples for the hematology examination were taken from 2 to 4-month pregnant goats (n=13) and 1 to 4-month lactating goats (n=18). The blood samples for the mineral examination were taken from 1 to 5-month pregnant goats (n=20) and 1 to 4-month lactating goats (n=18). The analyses of data indicated that erythrocyte and hematocrit of pregnant goats were significantly higher than lactating goats, namely, in the 2nd and 3rd months of their pregnancies ($p<0.05$). Neutrophil was highest in 4-month pregnant goats and lowest in 2-month pregnant goats ($p<0.05$). Lymphocyte was highest in 2-month pregnant goats and was lowest in 4-month pregnant goats. Monocyte was highest in 1-month lactating goats and was lowest in 4-month pregnant goats. Inorganic phosphate was highest in 3-month pregnant goats and was lowest in 2-month lactating goats. Calcium was highest in 3-month pregnant goats and was lowest in 3-month lactating goats. Sodium was highest in 1-month lactating goats and was lowest in 3-month lactating goats. Chloride was highest in 1-month lactating goats and was lowest in 4-month lactating goats. The results of this study indicated that some of the hematologic and mineral parameters changed when the Ettawa crossbred goats were pregnant, and lactation follows the changing metabolism in during pregnancy and lactation period.

Key words: Ettawa crossbred goat; hematology; lactating, mineral; pregnant

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi hematologi dan mineral saat bunting dan periode laktasi pada kambing Peranakan Ettawa di Kulonprogo, Yogyakarta. Sebanyak 38 ekor kambing betina sehat berumur 2,5 -- 4 tahun dengan bobot badan rata-rata 30 -- 40 kg digunakan dalam penelitian ini. Sampel darah untuk pemeriksaan hematologi diperoleh dari kambing bunting 2-4 bulan (n=13) dan kambing laktasi 1-4 bulan (n=18). Sampel darah untuk pemeriksaan mineral berasal dari kambing bunting 1-5 bulan (n=20) dan kambing laktasi 1-4 bulan (n=18). Analisis data menunjukkan bahwa eritrosit dan hematokrit kambing bunting signifikan lebih tinggi dibandingkan kambing laktasi yaitu pada bulan ke-2 dan ke-3 kebuntingan ($p<0,05$). Neutrofil paling tinggi pada kambing bunting bulan ke-4 dan paling rendah pada bunting bulan ke-2 ($p<0,05$). Limfosit paling tinggi pada kambing bunting bulan ke-2 dan paling rendah pada pada kambing bunting bulan ke-4 ($p<0,05$). Monosit paling tinggi pada kambing laktasi bulan ke-1 dan paling rendah pada kambing bunting bulan ke-4. Fosfat anorganik paling tinggi ditemukan pada kambing bunting bulan ke-3 dan paling rendah pada kambing laktasi bulan ke-2. Kalsium paling tinggi pada kambing bunting bulan ke-3 dan paling rendah pada kambing laktasi bulan ke-3.

Sodium paling tinggi pada laktasi bulan ke-1 dan paling rendah pada laktasi bulan ke-3. Klorida paling tinggi pada kambing laktasi bulan ke-1 dan paling rendah pada laktasi bulan ke-4. Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa parameter hematologi dan mineral berubah saat kambing Peranakan Ettawa bunting dan laktasi mengikuti perubahan metabolisme yang terjadi pada kondisi bunting dan laktasi tersebut.

Kata kunci: bunting; hematologi; Kambing Peranakan Ettawa; mineral; laktasi

Pendahuluan

Kambing Peranakan Ettawa merupakan salah satu ternak unggulan Kabupaten Kulon Progo, Yogyakarta, yang hasil produksi air susu, bibit dan dagingnya berpotensi dalam meningkatkan pendapatan peternak (Sasmito, 2017). Upaya-upaya penelitian kambing Peranakan Ettawa terutama pada saat bunting dan periode laktasi terus dikembangkan untuk mendapatkan potensi produk unggulan air susu dan bibit. Kebuntingan dan laktasi adalah fase fisiologis yang menyebabkan perubahan metabolik pada individu makhluk hidup yang bersangkutan (Azab & Abdel-Maksoud, 1999). Perubahan metabolik yang terjadi menyebabkan variasi hematologi dan kimia darah antarbangsa hewan (Iriadam, 2007). Perubahan selama bunting dan periode laktasi tersebut sangat penting secara klinis karena terkait dengan pemenuhan kebutuhan metabolit pada plasenta dan uterus selama perkembangan fetus disamping juga untuk memproduksi air susu (Antunović *et al.*, 2017). Sebanyak 80% metabolit yang beredar dalam sirkulasi digunakan untuk sintesis air susu selama periode laktasi (Karapehliyan *et al.*, 2007). Penelitian perubahan metabolik selama kebuntingan dan periode laktasi pada kambing telah dilaporkan pada kambing Baladi (Azab & Abdel-Maksoud, 1999), kambing Alphine (Antunović *et al.*, 2017), Anglonubian dan hasil persilangan antara kambing Saanen×Anglonubian (Cepeda-Palacios *et al.*, 2017), dan kambing Saanen (Brzezińska & Krawczyk, 2010). Hasil-hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya variasi metabolit pada saat bunting dan periode laktasi pada masing-masing bangsa kambing (Azab & Abdel-Maksoud, 1999). Setiap bangsa hewan dan kondisi fisiologi memerlukan parameter yang spesifik untuk menginterpretasikan hasil analisis darah (Bonelli *et al.*, 2016). Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi hematologi dan mineral saat bunting dan laktasi

pada kambing Peranakan Ettawa di Kulonprogo, Yogyakarta.

Materi dan Metode

Ethical clearance

Seluruh metode yang digunakan dalam penelitian ini telah disetujui oleh Komisi *Ethical Clearance* pada penelitian praklinik Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta dengan Surat keterangan kelaikan etik (*Ethical Clearance*) No 400/KEC-LPPT/X/2015.

Lokasi penelitian dan hewan coba

Penelitian dilakukan pada kelompok peternakan kambing Peranakan Ettawa di Samigaluh, Kulonprogo, Yogyakarta. Sebanyak 38 ekor kambing betina sehat berumur 2,5 – 4 tahun dengan bobot badan 30 – 40 kg. digunakan dalam penelitian ini. Sampel darah untuk pemeriksaan hematologi diperoleh dari 13 kambing bunting 2 – 4 bulan dan 18 ekor kambing laktasi 1 – 4 bulan. Sampel darah untuk pemeriksaan mineral berasal dari 20 ekor kambing bunting 1 – 5 bulan dan 18 ekor kambing laktasi 1 – 4 bulan. Masing-masing kambing mendapatkan pakan hijauan dan konsentrat dalam kandang individu.

Pengambilan sampel dan analisis

Sampel darah 10 ml diambil melalui vena jugularis dilakukan pagi hari sebelum kambing diberi pakan. Sebanyak 5 ml darah dimasukkan ke dalam *vacutainer* (Vaculab® Onemed) yang berisi 0,05 mL *ethylenediamine tetraacetic acid* (EDTA) untuk pemeriksaan hematologi dan 5 ml dimasukkan ke dalam *vacutainer plain* (PT. Jayamas Medica Industri, Sidoarjo, Indonesia) untuk analisis mineral. Pemeriksaan hematologi dilakukan dengan *hematology analyzer* The BC-2800Vet *auto hematology analyzer* (Mindray), meliputi eritrosit, hematokrit, *mean corpuscular*

volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), leukosit, neutrofil, limfosit, monosit dan eosinofil. Rasio neutrofil/limfosit (N/L) diperoleh dengan membagi persentase neutrofil dengan persentase limfosit. Analisis mineral dalam plasma menggunakan kit *supplied from Roche Diagnostics in Roche/Hitachi cobas c systems cobas c 502 analyzer* (Japan) untuk parameter magnesium, fosfat anorganik, kalsium, sodium, potasium, dan klorida.

Analisis statistik

Data hematologi dan mineral dianalisis dengan sidik ragam, dan untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan antara saat bunting dan periode laktasi maka analisis dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan.

Hasil dan Pembahasan

Rata-rata (\pm SD) data hematologi kambing saat bunting 2 -- 4 bulan dan kambing laktasi 1 -- 4 bulan disajikan pada Tabel 1. Rata-rata eritrosit kambing saat bunting adalah $17,44\pm 0,72$ juta/ μ L pada bulan ke-2, kemudian $19,57\pm 2,84$ juta/ μ L pada bulan ke-3 dan $13,45\pm 1,31$ juta/ μ L pada bulan ke-4. Rata-rata eritrosit kambing

pada bulan ke-1 laktasi adalah $14,59\pm 3,48$ juta/ μ L bulan ke-2 adalah $13,22\pm 1,20$ juta/ μ L, bulan ke-3 adalah $14,66\pm 1,27$ juta/ μ L dan bulan ke-4 adalah $13,27\pm 1,24$ juta/ μ L. Rata-rata hematokrit pada kelompok kambing bunting adalah $27,33\pm 0,58\%$ pada bulan ke-2, bulan ke-3 adalah $28,00\pm 3,00\%$ dan bulan ke-4 adalah $23,50\pm 2,29\%$, sedangkan rata-rata hematokrit pada kelompok kambing laktasi adalah $25,50\pm 3,04\%$ pada bulan ke-1, bulan ke-2 adalah $21,80\pm 2,49\%$, bulan ke-3 adalah $24,67\pm 3,52\%$, dan $22,13\pm 2,78\%$ pada bulan ke-4. Rata-rata eritrosit dan hematokrit hasil penelitian ini seluruhnya berada pada level parameter normal secara berurutan masing-masing sebesar 8,00-18,00 juta/ μ L dan 22,00-38,00% (Byers & Kramer, 2010) dan mendukung hasil penelitian ini bahwa tidak ditemukan indikasi anemia pada kambing bunting dan laktasi (Bonelli et al., 2016). Meskipun demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa eritrosit dan hematokrit kambing bunting lebih tinggi dibandingkan kambing laktasi ($p<0,05$). Hasil penelitian ini sesuai dengan eritrosit dan hematokrit kambing bunting dan laktasi pada kambing Nguni, Boer dan *Non-descript* di Afrika Selatan (Idamokoro et al., 2018) dan pada keledai bunting dan laktasi (Bonelli et al., 2016).

Tabel 1. Rata-rata hematologi kambing Pernakaan Ettawa bunting 2-4 bulan dan laktasi 1-4 bulan

Parameter	Status fisiologi							Referensi
	Bunting bulan ke-			Laktasi bulan ke-				
	2 (n=4)	3 (n=5)	4n(n=4)	1 (n=5)	2 (n=5)	3 (n=4)	4 (n=4)	
Eritrosit (juta/ μ L)	17,44 \pm 0,72 ^{ab}	19,57 \pm 2,84 ^a	13,45 \pm 1,31 ^{b,c}	14,59 \pm 3,48 ^{b,c}	13,22 \pm 1,20 ^c	14,66 \pm 1,27 ^{b,c}	13,27 \pm 1,24 ^c	8,00-18,00(*)
Hematokrit (%)	27,33 \pm 0,58 ^{b,c}	28,00 \pm 3,00 ^b	23,50 \pm 2,29 ^{b,c,d}	25,50 \pm 3,04 ^{b,c,d}	21,80 \pm 2,49 ^d	24,67 \pm 3,52 ^{b,c,d}	22,13 \pm 2,78 ^{c,d}	22,00-38,00 (*)
MCV (fL)	15,67 \pm 0,55 ^a	14,40 \pm 1,39 ^a	17,47 \pm 0,23 ^a	18,36 \pm 5,19 ^a	16,50 \pm 1,56 ^a	16,80 \pm 1,40 ^a	16,65 \pm 0,71 ^a	16,00-25,00(*)
MCH (pg)	5,43 \pm 0,15 ^a	5,23 \pm 0,21 ^a	6,10 \pm 0,30 ^a	6,48 \pm 1,98 ^a	5,76 \pm 0,42 ^a	5,67 \pm 0,15 ^a	5,65 \pm 0,13 ^a	5,20-8,00(*)
MCHCg/dL)	34,77 \pm 2,43 ^a	36,40 \pm 2,57 ^a	34,93 \pm 1,23 ^a	35,22 \pm 1,94 ^a	35,08 \pm 2,58 ^a	33,83 \pm 2,06 ^a	34,00 \pm 1,51 ^a	30,00-36,00(*)
Leukosit (ribu/ μ L)	13,60 \pm 4,39 ^b	16,57 \pm 6,43 ^{ab}	12,20 \pm 2,46 ^b	16,82 \pm 2,50 ^{ab}	11,14 \pm 4,20 ^b	15,20 \pm 0,95 ^b	13,73 \pm 3,01 ^b	4,00-13,00 (*)
Neutrofil (%)	10,67 \pm 2,31 ^b	24,00 \pm 5,66 ^{a,b}	49,00 \pm 25,36 ^a	34,20 \pm 27,13 ^{a,b}	40,40 \pm 20,45 ^{a,b}	26,33 \pm 6,03 ^{a,b}	28,75 \pm 14,77 ^{a,b}	30,00 – 48,00 (*)
Limfosit (%)	80,67 \pm 0,58 ^a	67,75 \pm 11,73 ^{a,b}	36,00 \pm 30,79 ^b	36,60 \pm 26,08 ^b	51,00 \pm 20,48 ^{a,b}	54,33 \pm 3,06 ^{a,b}	51,50 \pm 25,21 ^{a,b}	50,00 – 70,00 (*)
Monosit (%)	3,00 \pm 2,00 ^{ab}	3,75 \pm 2,22 ^{a,b}	2,33 \pm 2,31 ^b	7,00 \pm 3,87 ^a	2,80 \pm 1,30 ^{ab}	5,67 \pm 1,53 ^{a,b}	3,25 \pm 0,50 ^{ab}	0,00 – 4,00 (*)
Eosinofil (%)	5,67 \pm 3,79 ^a	4,50 \pm 7,14 ^a	12,67 \pm 10,97 ^a	6,00 \pm 5,34 ^a	5,80 \pm 5,59 ^a	13,67 \pm 10,26 ^a	16,50 \pm 11,09 ^a	1,00-8,00(*)
Rasio N/L	0,13 \pm 0,03 ^b	0,37 \pm 0,13 ^{ab}	2,89 \pm 2,89 ^a	1,39 \pm 1,63 ^{ab}	1,23 \pm 1,44 ^{ab}	0,48 \pm 0,09 ^{ab}	0,74 \pm 0,55 ^{ab}	0,74 \pm 0,06 (^^)

* Byers S, R. and J W. Kramer. (2010). Normal hematology of sheep and goats in *Schalms Veterinary Hematology*. Wiley Blackwell, Pp. 836-842

^^ Rajion, M. A., Saat, I. M., Zulkifli, I., Goh, Y. M. (2001). The effects of road transportation on some physiological stress measures in goatsthe effects of road transportation on some physiological stress measures in goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 14(9), 1250–1252.

Superskrip yang berbeda (a,b,c,d) pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p<0,05$)

Peningkatan eritrosit pada kambing bunting berkaitan dengan adanya peningkatan pasokan darah seiring dengan pertumbuhan fetus dalam memenuhi kebutuhan nutrisi dan oksigen serta pertukaran gas pada plasenta (Abuelo *et al.*, 2015). Peningkatan eritrosit yang terjadi berkaitan dengan adanya peningkatan ukuran tubuh fetus sehingga kebutuhan oksigen juga semakin meningkat, mengakibatkan adanya peningkatan eritropoietin oleh ginjal oleh aksi progesteron dan *placental chorionic somatotropin*, pada akhirnya eritrosit meningkat dalam sistem sirkulasi (Cunningham, 2011). Eritropoietin yang dilepaskan mempunyai aksi meregulasi eritropoiesis pada fetus demikian juga menstimulasi peningkatan produksi eritrosit pada sumsum tulang induknya (Fried, 2009). Peningkatan hematokrit pada kambing bunting berkaitan dengan adanya mobilisasi darah yang tinggi untuk memenuhi kebutuhan metabolik selama pertumbuhan fetus sehingga jumlah eritrosit menyesuaikan dengan grafik pertumbuhan fetus dalam rangka memenuhi kebutuhan nutrisi ke jaringan *mamae* induk untuk mempersiapkan sintesis air susu dan kolustrum. Mekanisme metabolisme ini memicu dilepaskannya kortisol yang memicu perubahan sirkulasi berupa penurunan volume plasma darah sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan hematokrit pada kambing bunting (Ingvarstsen & Andersen, 2000).

Rata-rata MCV pada kambing bunting bulan ke-2 adalah $15,67 \pm 0,55$ fL, bulan ke-3 adalah $14,40 \pm 1,39$ fL dan bulan ke-4 adalah $17,47 \pm 0,23$ fL. Rata-rata MCV pada kambing laktasi adalah $18,36 \pm 5,19$ fL pada bulan ke-1, kemudian $16,50 \pm 1,56$ fL pada bulan ke-2, dan $16,80 \pm 1,40$ fL pada bulan ke-3 serta $16,65 \pm 0,71$ fL pada bulan ke-4. Rata-rata MCV kambing bunting dan laktasi hasil penelitian ini masuk dalam parameter normal sebesar 16,00-25,00 fL (Byers & Kramer, 2010), sesuai dengan MCV pada kambing Baladi bunting sebesar $16,59 \pm 0,49$ fL dan laktasi sebesar $16,50 \pm 0,54$ fL (Azab & Abdel-Maksoud, 1999). Rata-rata ini lebih rendah dibandingkan dengan MCV pada kambing Red Sokoto bunting sebesar $20,60 \pm 0,46$ fL maupun laktasi sebesar $21,64 \pm 0,33$ fL (Habibu *et al.*, 2014). Rata-rata MCV antara kambing bunting dengan kambing laktasi hasil penelitian ini tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$)

sesuai dengan MCV kambing bunting dan laktasi pada kambing Nguni, Boer dan *Non-descript* di Afrika Selatan (Idamokoro *et al.*, 2018). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan antara kambing bunting dan laktasi dalam kapasitas transportasi oksigen (Şimşek *et al.*, 2015).

Rata-rata MCH pada kelompok bunting pada bulan ke-2 adalah $5,43 \pm 0,15$ pg kemudian pada bulan ke-3 adalah $5,23 \pm 0,20$ pg dan bulan ke-4 adalah $6,10 \pm 0,30$ pg. Rata-rata MCH pada kelompok kambing laktasi pada bulan ke-1 adalah $6,48 \pm 1,98$ pg, bulan ke-2 adalah $5,76 \pm 0,42$ pg, bulan ke-3 adalah $5,67 \pm 0,15$ pg dan bulan ke-4 adalah $5,65 \pm 0,13$ pg. Rata-rata MCH kelompok kambing bunting dan laktasi seluruhnya masuk dalam parameter normal sebesar 5,20-8,00 pg (Byers & Kramer, 2010). Hasil penelitian ini sesuai dengan MCH pada kambing bunting Nguni, Boer dan *Non-descript* di Afrika Selatan sebesar $5,93 \pm 3,69$ pg (Idamokoro *et al.*, 2018), dan kambing Baladi bunting sebesar $5,17 \pm 0,16$ pg dan laktasi sebesar $5,25 \pm 0,14$ pg (Azab & Abdel-Maksoud, 1999), serta kambing red Sokoto bunting sebesar $6,24 \pm 0,30$ pg (Habibu *et al.*, 2014). Hasil ini lebih rendah dibandingkan MCH pada kambing Sahel bunting 20 minggu sebesar $8,31 \pm 0,29$ pg (Waziri *et al.*, 2010), dan pada kambing Omani sebesar $8,09 \pm 0,83$ pg, kambing Barbari sebesar $8,14 \pm 1,53$ pg, kambing Black Aardi $7,53 \pm 0,63$ pg, dan kambing Damascus $6,70 \pm 0,33$ pg (Al-Bulushi *et al.*, 2017). Rata-rata MCH hasil penelitian ini tidak berbeda signifikan antara kambing bunting dengan kambing laktasi ($p > 0,05$). Hasil ini sesuai dengan MCH pada kambing Baladi bunting dan laktasi (Azab & Abdel-Maksoud, 1999). Hasil penelitian ini menunjukkan adanya kesamaan kapasitas dalam membawa oksigen dalam sistem sirkulasi antara kambing bunting dan laktasi (Poljičak-Milas *et al.*, 2009) dan tidak ada indikasi defisiensi zat besi pada kambing bunting dan laktasi tersebut (Mohammad, 2011).

Rata-rata MCHC pada kambing bunting bulan ke-2 adalah $34,77 \pm 2,43$ g/dL kemudian pada bulan ke-3 adalah $36,40 \pm 2,57$ g/dL dan bulan ke-4 adalah $34,93 \pm 1,23$ g/dL. Rata-rata MCHC pada kelompok kambing laktasi pada bulan ke-1 adalah $35,22 \pm 1,94$ g/dL, bulan ke-2 adalah $35,08 \pm 2,58$ g/dL, bulan ke-3 adalah $33,83 \pm 2,06$ g/dL dan bulan

ke-4 adalah $34,00 \pm 1,51$ g/dL. Rata-rata MCHC kelompok kambing bunting dan laktasi seluruhnya masuk dalam parameter normal sebesar 30,00-36,00 g/dL (Byers & Kramer, 2010). Rata-rata MCHC ini lebih tinggi dibandingkan MCHC pada kambing Omani sebesar $27,05 \pm 3,50$ g/dL, namun lebih rendah dibandingkan kambing Barbari sebesar $58,90 \pm 8,63$ g/dL, dan kambing Black Aardi sebesar $58,05 \pm 5,16$ g/dL, dan kambing Damascus sebesar $55,25 \pm 4,88$ g/dL (Al-Bulushi *et al.*, 2017). Rata-rata MCHC hasil penelitian ini tidak berbeda antara kambing bunting dengan kambing laktasi ($p > 0,05$). Hasil ini sesuai dengan MCHC pada keledai bunting dan laktasi (Bonelli *et al.*, 2016) serta kambing Egyptian Baladi bunting dan laktasi (Salem, 2017), kambing Baladi bunting dan laktasi (Azab & Abdel-Maksoud, 1999) dan sapi Nellore bunting dan laktasi (De Oliveira *et al.*, 2019) serta domba Santa Inês bunting dan laktasi (Bezerra *et al.*, 2017). Hasil ini menunjukkan tidak adanya penurunan kapasitas total oksigen yang beredar dalam sirkulasi antara kambing bunting dan laktasi tersebut (Poljičak-Milas *et al.*, 2009) karena rata-rata MCHC lebih menggambarkan indeks eritrosit (Mohammad, 2011).

Rata-rata leukosit pada kelompok kambing bunting adalah $13,60 \pm 4,39$ ribu/ μ L pada bulan ke-2, bulan ke-3 adalah $16,57 \pm 6,43$ ribu/ μ L dan bulan ke-4 adalah $12,20 \pm 2,46$ ribu/ μ L, sedangkan rata-rata leukosit pada kelompok kambing laktasi adalah $16,82 \pm 2,50$ ribu/ μ L pada bulan ke-1, bulan ke-2 adalah $11,14 \pm 4,20$ ribu/ μ L, bulan ke-3 adalah $15,20 \pm 0,95$ ribu/ μ L dan $13,73 \pm 3,01$ ribu/ μ L pada bulan ke-4. Keseluruhan rata-rata leukosit hasil penelitian ini masuk dalam referensi normal sebesar 4,00-13,00 ribu/ μ L (Byers & Kramer, 2010), juga sesuai dengan leukosit pada kambing Omani sebesar $14,6 \pm 3,32$ ribu/ μ L, kambing Barbari sebesar $12,88 \pm 4,83$ ribu/ μ L, kambing Black Aardi sebesar $12,20 \pm 2,97$ ribu/ μ L, dan kambing Damascus sebesar $8,05 \pm 2,06$ ribu/ μ L (Al-Bulushi *et al.*, 2017). Rata-rata leukosit tidak berbeda antara kambing bunting dan laktasi ($p > 0,05$), sesuai dengan leukosit pada kambing bunting dan laktasi Nguni, Boer dan *Non-descript* di Afrika Selatan (Idamokoro *et al.*, 2018), domba Santa Inês bunting dan laktasi serta domba Morada Nova pada akhir kebuntingan dan *postpartum* (Bezerra *et al.*, 2017), sapi bunting pada trisemester dan seminggu

awal laktasi di Zaria (Ate, 2006), serta sapi Nellore bunting dan laktasi (De Oliveira *et al.*, 2019). Hasil ini menunjukkan bahwa antara kambing bunting dan laktasi tidak ditemukan indikasi peradangan, ataupun respon stres yang memicu hormon kelenjar adrenal dalam sistem sirkulasi dalam menstimulasi peningkatan leukosit.

Rata-rata persentase neutrofil pada kambing bunting adalah $10,67 \pm 2,31\%$ pada bulan ke-2, kemudian $24,00 \pm 5,66\%$ pada bulan ke-3, selanjutnya $49,00 \pm 25,36\%$ pada bulan ke-4. Sementara pada kambing laktasi adalah $34,20 \pm 27,13\%$ pada bulan ke-1, kemudian $40,40 \pm 20,45\%$ pada bulan ke-2, dan $26,33 \pm 6,03\%$ pada bulan ke-3 serta $28,75 \pm 14,77\%$ pada bulan ke-4. Rata-rata persentase neutrofil termasuk dalam parameter normal 30,00 – 48,00 % (Byers & Kramer, 2010), sesuai dengan kambing Red Sokoto bunting sebesar $43,00 \pm 2,78\%$ dan kambing laktasi sebesar $47,45 \pm 1,54\%$ (Habibu *et al.*, 2014), kecuali neutrofil pada kambing bunting bulan ke-1 ditemukan lebih rendah, namun demikian masih dalam kategori normal menurut Idamokoro *et al.* (2018) pada kambing kambing bunting Nguni, Boer dan *Non-descript* di Afrika Selatan. Variasi-variasi rata-rata neutrofil yang terjadi sesuai dengan pernyataan Tibbo *et al.* (2004) dan Idamokoro *et al.* (2018) yaitu perbedaan yang terjadi karena perbedaan bangsa kambing. Rata-rata persentase neutrofil kambing bunting bulan ke-4 berbeda signifikan dengan neutrofil kambing bunting bulan ke-2 ($p < 0,05$), dan tidak berbeda dengan neutrofil pada kambing bunting 2 dan 3 bulan, serta kambing laktasi bulan ke-1– 4 ($p > 0,05$). Namun demikian, analisis sidik ragam menunjukkan bahwa rata-rata neutrofil tidak berbeda antara kambing bunting dan laktasi ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan tidak ada proses infeksi pada kambing bunting dan laktasi (Ahmed *et al.*, 2018). Analisis sidik ragam menunjukkan tidak ada perbedaan rata-rata neutrofil antara kambing bunting dan laktasi ($p < 0,05$). Hasil penelitian ini sesuai dengan neutrofil pada domba lokal Irak yang bunting dan laktasi (Ahmed *et al.*, 2018) maupun kambing bunting Nguni, Boer dan *Non-descript* di Afrika Selatan (Idamokoro *et al.*, 2018) domba Santa Inês bunting dan laktasi (Bezerra *et al.*, 2017), dan kambing Red Sokoto bunting dan laktasi (Habibu *et al.*, 2017).

Rata-rata persentase limfosit pada kambing bunting adalah $80,67 \pm 0,58\%$ pada bulan ke-2, kemudian $67,75 \pm 11,73\%$ pada bulan ke-3, selanjutnya $36,00 \pm 30\%$ pada bulan ke-4. Sementara pada kambing laktasi adalah $36,60 \pm 26,08\%$ pada bulan ke-1, kemudian $51,00 \pm 20,48\%$ pada bulan ke-2, dan $54,33 \pm 3,06\%$ pada bulan ke-3 serta $51,50 \pm 25,21\%$ pada bulan ke-4. Rata-rata limfosit hasil penelitian yang termasuk dalam referensi normal sebesar $50,00 - 70,00\%$ (Byers & Kramer, 2010) adalah limfosit kambing bunting bulan ke-2, dan kambing laktasi bulan ke-2 sampai bulan ke-4. Rata-rata limfosit kambing bunting hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan limfosit pada kambing bunting Nguni, Boer dan *Non-descript* di Afrika Selatan sebesar $36,47 \pm 3,38\%$ demikian juga pada kambing laktasi sebesar $23,25 \pm 4,49\%$ (Idamokoro *et al.*, 2018). Rata-rata limfosit kambing bunting bulan ke-4 berbeda signifikan dengan kambing bunting bulan ke-2 ($p < 0,05$) dan tidak berbeda signifikan dengan limfosit kambing bunting dan laktasi pada bulan lain ($p > 0,05$). Rata-rata keseluruhan limfosit dengan analisis sidik ragam antara kambing bunting dan laktasi tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$). Hasil ini sesuai dengan limfosit pada domba lokal Irak yang bunting dan laktasi (Ahmed *et al.*, 2018) dan domba Awasi di Irak yang sedang bunting dan laktasi (Badawi & AL-Hadithy, 2014), Red Sokoto bunting dan laktasi (Habibu *et al.*, 2014) serta kambing Kilis bunting dan laktasi (Iriadam, 2007).

Rata-rata rasio N/L pada kambing bunting adalah $0,13 \pm 0,03$ pada bulan ke-2, kemudian $0,37 \pm 0,13$ pada bulan ke-3, selanjutnya $2,89 \pm 2,89$ pada bulan ke-4. Sementara pada kelompok kambing laktasi adalah $1,39 \pm 1,63$ pada bulan ke-1, kemudian $1,23 \pm 1,44$ pada bulan ke-2, dan $0,48 \pm 0,09$ pada bulan ke-3 serta $0,74 \pm 0,55$ pada bulan ke-4. Analisis sidik ragam terhadap keseluruhan rata-rata N/L tidak berbeda signifikan antara kambing bunting dan laktasi ($p < 0,05$) dan masuk dalam referensi normal sebesar $0,74 \pm 0,06$ (Rajion *et al.*, 2001), demikian juga sesuai dengan N/L pada anak kambing Red Sokoto $0,80 \pm 0,08$ dan Sahel sebesar $0,77 \pm 0,10$ (Habibu *et al.*, 2017). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya indikasi stres pada kambing bunting dan laktasi (Bezerra *et al.*, 2017).

Rata-rata persentase monosit pada kambing bunting adalah $3,00 \pm 2,00\%$ pada bulan ke-2, kemudian $3,75 \pm 2,22\%$ pada bulan ke-3, selanjutnya $2,33 \pm 2,31\%$ pada bulan ke-4. Sementara pada kambing laktasi adalah $7,00 \pm 3,87\%$ pada bulan ke-1, kemudian $2,80 \pm 1,30\%$ pada bulan ke-2, dan $5,67 \pm 1,53\%$ pada bulan ke-3 serta $3,25 \pm 0,50\%$ pada bulan ke-4. Keseluruhan rata-rata monosit hasil penelitian ini masuk dalam referensi normal $0,00 - 4,00\%$ (Byers & Kramer, 2010). Hasil penelitian ini juga sesuai dengan monosit pada kambing Omani sebesar $3,34 \pm 1,88\%$, kambing Barbari sebesar $4,52 \pm 2,11\%$, kambing Black Aardi sebesar $3,73 \pm 2,56\%$ dan pada kambing Damascus sebesar $5,61 \pm 4,99\%$ (Al-Bulushi *et al.*, 2017), namun lebih tinggi dibandingkan monosit pada kambing Kilis bunting 18 minggu sebesar $0,34 \pm 0,28\%$ dan laktasi 3 minggu sebesar $1,64 \pm 0,41\%$ (Iriadam, 2007). Rata-rata monosit menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antara kambing bunting dan laktasi ($p > 0,05$). Hasil ini sesuai dengan monosit pada domba Morada Nova dan Santa Inês bunting dan laktasi (Bezerra *et al.*, 2017) dan kambing Baladi bunting dan laktasi (Azab & Abdel-Maksoud, 1999).

Rata-rata persentase eosinofil kelompok kambing bunting adalah $5,67 \pm 3,79\%$ pada bulan ke-2, kemudian $4,50 \pm 7,14\%$ pada bulan ke-3 serta $12,67 \pm 10,97\%$ pada bulan ke-4. Rata-rata eosinofil pada kelompok kambing laktasi pada bulan ke-1 adalah $6,00 \pm 5,34\%$, bulan ke-2 adalah $5,80 \pm 5,59\%$, bulan ke-3 adalah $13,67 \pm 10,26\%$ dan $16,50 \pm 11,09\%$ pada bulan ke-4. Keseluruhan rata-rata eosinofil hasil penelitian ini masuk dalam referensi normal sebesar $1,00 - 8,00\%$ (Byers & Kramer, 2010) lebih tinggi dibandingkan eosinofil pada kambing Kilis bunting 18 minggu sebesar $1,25 \pm 0,37\%$ dan laktasi 3 minggu $1,25 \pm 0,31\%$ (Iriadam, 2007), kambing bunting Nguni, Boer dan *Non-descript* di Afrika Selatan sebesar $1,85 \pm 0,32\%$ dan laktasi sebesar $1,26 \pm 0,42\%$ (Idamokoro *et al.*, 2018). Analisis sidik ragam menunjukkan rata-rata eosinofil antara kambing bunting dan laktasi tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$). Hasil ini sesuai dengan eosinofil pada kambing di Afrika Selatan (Idamokoro *et al.*, 2018).

Rata-rata (\pm SD) mineral kambing bunting dan laktasi disajikan pada Tabel 2. Rata-rata magnesium pada kambing bunting bulan ke-1 adalah $2,47 \pm 0,11$

mg/dL, bulan ke-2 adalah $3,11 \pm 0,56$ mg/dL, bulan ke-3 adalah $2,75 \pm 0,16$ mg/dL, dan $3,43 \pm 1,54$ mg/dL pada bulan ke-4, serta $3,02 \pm 0,39$ mg/dL pada bulan ke-5. Rata-rata magnesium pada kambing laktasi adalah $2,94 \pm 0,10$ mg/dL pada bulan ke-1, kemudian $3,18 \pm 0,36$ mg/dL pada bulan ke-2, dan $3,44 \pm 0,39$ mg/dL pada bulan ke-3, serta $2,76 \pm 0,58$ mg/dL pada bulan ke-4. Rata-rata magnesium antara kambing bunting dengan kambing laktasi tidak berbeda ($p < 0,05$), sesuai dengan magnesium pada kambing di Afrika Selatan yang bunting dan laktasi (Idamokoro *et al.*, 2018). Rata-rata magnesium hasil penelitian ini sesuai dengan parameter normal (Radostits *et al.*, 2000); sesuai juga dengan magnesium pada kambing di Polandia (Brzezińska & Krawczyk, 2010) dan pada kambing Afrika Selatan (Idamokoro *et al.*, 2018). Magnesium hasil penelitian ini ditemukan lebih tinggi dari parameter pada kambing bunting bulan ke-2 sampai bulan ke-5, kemudian kambing laktasi bulan ke-2 dan bulan ke-3. Faktor terbesar yang menyebabkan tingginya magnesium ini berasal dari kandungan magnesium sumber pakan (Brzezińska & Krawczyk, 2010; Idamokoro *et al.*, 2018).

Rata-rata fosfat anorganik pada kelompok kambing bunting adalah $5,00 \pm 1,56$ mg/dL pada bulan ke-1, pada bulan ke-2 adalah $4,50 \pm 1,44$ mg/dL, pada bulan ke-3 adalah $5,38 \pm 0,46$ mg/dL, dan pada bulan ke-4 adalah $3,95 \pm 0,74$ mg/dL. Rata-rata fosfat anorganik pada kelompok kambing laktasi adalah $4,13 \pm 0,66$ mg/dL pada bulan ke-1, dan $3,54 \pm 1,49$ mg/dL pada bulan ke-2, kemudian $4,63 \pm 0,49$ mg/dL pada bulan ke-3 serta $4,83 \pm 0,85$ mg/dL pada bulan ke-4. Rata-rata fosfat anorganik hasil penelitian ini sesuai dengan level parameter normal sebesar 5,00-7,30 mg/dL (Radostits *et al.*, 2000). Hasil penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan fosfat anorganik pada Nubian Ibex bunting (AL-Eissa & Alkahtani, 2012) sebesar $6,52 \pm 2,11$ mg/dL sebaliknya lebih tinggi dibandingkan fosfat anorganik pada kambing Peranakan Ettawa bunting sebesar $3,70 \pm 1,18$ mg/dL maupun laktasi sebesar $3,76 \pm 1,28$ mg/dL (Widiyono & Sarmin, 2012). Analisis sidik ragam terhadap rata-rata fosfat anorganik tidak berbeda antara kambing bunting dan laktasi ($p > 0,05$). Hasil penelitian ini sesuai dengan fosfat anorganik kambing di Afrika Selatan (Idamokoro *et al.*,

2018) yang menunjukkan normalnya homeostasis antara kambing bunting dan laktasi. Rata-rata fosfat anorganik ini sangat dipengaruhi oleh sumber pakan (Žvorc *et al.*, 2006).

Rata-rata kalsium pada kambing bunting bulan ke-1 adalah $2,32 \pm 0,13$ mmol/L, pada bulan ke-2 adalah $2,32 \pm 0,14$ mmol/L, pada bulan ke-3 adalah $2,37 \pm 0,11$ mmol/L, dan $2,26 \pm 0,24$ mmol/L pada bulan ke-4 serta $2,31 \pm 0,14$ mmol/L pada bulan ke-5. Pada kambing laktasi, rata-rata kalsium pada bulan ke-1 adalah $2,27 \pm 0,11$ mmol/L, pada bulan ke-2 adalah $2,23 \pm 0,21$ mmol/L, pada bulan ke-3 adalah $2,10 \pm 0,14$ mmol/L, dan $2,39 \pm 0,06$ mmol/L pada bulan ke-4. Rata-rata kalsium hasil penelitian ini seluruhnya masuk dalam level parameter normal sebesar 1,42-1,62 mmol/L (Radostits *et al.*, 2000). Hasil penelitian ini juga sesuai dengan kalsium pada kambing Peranakan Ettawa bunting sebesar $2,39 \pm 0,32$ mg/dL maupun laktasi sebesar $2,55 \pm 0,17$ mg/dL (Widiyono & Sarmin, 2012). Rata-rata kalsium kambing laktasi bulan ke-4 signifikan lebih tinggi dibandingkan pada kalsium pada kambing laktasi bulan ke-3 ($p < 0,05$). Analisis sidik ragam menunjukkan rata-rata kalsium tidak berbeda antara kambing bunting dan laktasi ($p > 0,05$), sesuai dengan kalsium pada babi yang bunting dan laktasi (Žvorc *et al.*, 2006). Hasil ini menunjukkan bahwa status bunting dan laktasi tidak mempengaruhi metabolisme kalsium di dalam darah kambing dan diduga karena normalnya sistem homeostasis pada kambing penelitian ini (AL-Eissa & Alkahtani, 2012; Žvorc *et al.*, 2006). Rata-rata kalsium banyak dipengaruhi oleh sumber pakan (Brzezińska & Krawczyk, 2010).

Rata-rata sodium kambing bunting bulan ke-1 adalah $142,33 \pm 1,53$ mmol/L, bulan ke-2 adalah $144,25 \pm 2,87$ mmol/L, bulan ke-3 adalah $143,17 \pm 2,32$ mmol/L, pada bulan ke-4 adalah $144,50 \pm 1,00$ mmol/L serta bulan ke-5 adalah $143,00 \pm 2,65$ mmol/L. Rata-rata sodium pada kambing laktasi pada bulan ke-1 adalah $144,50 \pm 1,91$ mmol/L, bulan ke-2 adalah $142,80 \pm 3,27$ mmol/L, bulan ke-3 adalah $140,33 \pm 0,58$ mmol/L, dan bulan ke-4 adalah $140,50 \pm 3,70$ mmol/L. Rata-rata sodium hasil penelitian ini seluruhnya masuk dalam parameter normal sebesar 145,00-152,00 mmol/L (Radostits *et al.*, 2000). Hasil penelitian ini juga sesuai dengan sodium pada kambing

Tabel 2. Rata-rata mineral kelompok kambing peranakan ettawa bunting dan laktasi

Parameter	Status fisiologis												Referensi ***
	Kebuntingan bulan ke-						Laktasi bulan ke-						
	1 (n=3)	2 (n=4)	3 (n=6)	4(n=4)	5 (n=3)	1 (n=4)	2 (n=5)	3 (n=3)	4 (n=6)				
Magnesium (mg/dL)	2,47±0,11 ^a	3,11±0,56 ^a	2,75±0,16 ^b	3,43±1,54 ^b	3,02±0,39 ^a	2,94±0,10 ^a	3,18±0,36 ^a	3,44±0,39 ^a	2,76±0,58 ^a	2,20-2,80			
Fosfat anorganik (mg/dL)	5,00±1,56 ^a	4,50±1,44 ^a	5,38±0,46 ^a	3,95±0,74 ^a	4,53±2,22 ^a	4,13±0,66 ^a	3,54±1,49 ^a	4,63±0,49 ^a	4,83±0,85 ^a	5,00-7,30			
Kalsium (mmol/L)	2,32±0,13 ^{ab}	2,32±0,14 ^{ab}	2,37±0,11 ^a	2,26±0,24 ^{ab}	2,31±0,14 ^{ab}	2,27±0,11 ^{ab}	2,23±0,21 ^{ab}	2,10±0,14 ^b	2,39±0,06 ^a	1,42-1,62			
Sodium (mmol/L)	142,33±1,53 ^{ab}	144,25±2,87 ^{ab}	143,17±2,32 ^{ab}	144,50±1,00 ^a	143,00±2,65 ^{ab}	144,50±1,91 ^a	142,80±3,27 ^{ab}	140,33±0,58 ^b	140,50±3,70 ^{ab}	145-152			
Potasium (mmol/L)	4,83±0,58 ^a	5,38±1,89 ^a	5,62±1,81 ^a	4,38±0,25 ^a	5,50±0,60 ^a	4,45±0,77 ^a	4,74±0,27 ^a	4,83±0,32 ^a	4,25±0,21 ^a	3,9-5,4			
Klorida (mmol/L)	105±1,00 ^b	108,75±1,89 ^{ab}	109,17±0,98 ^{ab}	111,00±2,83 ^{ab}	108,33±0,58 ^{ab}	135,25±1,86 ^a	109,00±1,87 ^{ab}	107,67±2,08 ^{ab}	104,75±1,26 ^b	95-103			

*** Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C. and Hincheliff, K.W. (2000). Veterinary Medicine, 9th edn, W.B. Saunders, London, pp. 1819 – 1822.
Superskrip yang berbeda (a,b) pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (p<0,05)

Peranakan Ettawa bunting sebesar $143,00 \pm 2,49$ mmol/L dan laktasi sebesar $143,82 \pm 3,13$ mmol/L (Widiyono & Sarmin, 2012) namun lebih rendah dibandingkan sodium pada domba Buchi bunting di Pakistan sebesar 147,60- 149,33 mmol/L dan laktasi sebesar $147,67 \pm 3,91$ mmol/L (Akhtar *et al.*, 2015). Rata-rata sodium pada kambing laktasi bulan ke-1 lebih tinggi dibandingkan sodium pada kambing laktasi bulan ke-3 ($p < 0,05$). Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa rata-rata sodium tidak berbeda antara kambing bunting dan laktasi ($p > 0,05$). Hasil ini sesuai dengan laporan (Akhtar *et al.*, 2015) pada domba Buchi bunting dan laktasi di Pakistan dan pada sapi *Holstein–East Anatolian Red crossbreed* di Turki yang sedang bunting dan laktasi (Yokus & Akir, 2006) dan kerbau Nili-Ravi bunting dan laktasi di Pakistan (Akhtar *et al.*, 2009). Hasil penelitian ini menunjukkan adanya keseimbangan elektrolit antara kambing bunting dan laktasi (Žvorc *et al.*, 2006).

Rata-rata potasium kambing bunting adalah $4,83 \pm 0,58$ mmol/L pada bulan ke-1 dan $5,38 \pm 1,89$ mmol/L pada bulan ke-2, dan $5,62 \pm 1,81$ mmol/L pada bulan ke-3, kemudian $4,38 \pm 0,25$ mmol/L pada bulan ke-4 serta $5,50 \pm 0,60$ mmol/L pada bulan ke-5. Rata-rata potasium pada kelompok kambing laktasi adalah $4,45 \pm 0,77$ mmol/L bulan ke-1, kemudian $4,74 \pm 0,27$ mmol/L pada bulan ke-2, dan $4,83 \pm 0,32$ mmol/dL pada bulan ke-3 serta $4,25 \pm 0,21$ mmol/dL pada bulan ke-4. Rata-rata potassium hasil penelitian ini seluruhnya masuk dalam parameter sebesar 3,9-5,4 mmol/dL (Radostits *et al.*, 2000) dan sesuai dengan potasium pada kambing Buchi bunting sebesar $4,95 \pm 0,68$ mmol/dL dan laktasi sebesar $4,88 \pm 0,11$ mmol/dL (Akhtar *et al.*, 2015). Rata-rata potasium kambing bunting hasil penelitian ini cenderung lebih tinggi dibandingkan potasium kambing Peranakan Ettawa bunting sebesar $4,32 \pm 0,67$ mmol/dL demikian juga potasium pada kambing laktasi sebesar $4,08 \pm 0,69$ mmol/dL yang dilaporkan oleh Widiyono & Sarmin (2012). Meskipun demikian, analisis sidik ragam hasil penelitian ini menunjukkan rata-rata potassium yang tidak berbeda antara kambing bunting dan laktasi ($p < 0,05$), sesuai dengan laporan (Akhtar *et al.*, 2015) pada kambing Buchi bunting dan laktasi dan (Akhtar *et al.*, 2009) pada kerbau Nili-Ravi

bunting dan laktasi. Hasil ini menunjukkan bahwa adanya keseimbangan elektrolit antara kambing bunting dan laktasi (Žvorc *et al.*, 2006).

Rata-rata klorida pada kambing bunting adalah $105,00 \pm 1,00$ mmol/dL pada bulan ke-1, selanjutnya $108,75 \pm 1,89$ mmol/dL pada bulan ke-2, dan $109,17 \pm 0,98$ mmol/dL pada bulan ke-3, kemudian $111,00 \pm 2,83$ mmol/dL pada bulan ke-4, serta $108,33 \pm 0,58$ mmol/dL pada bulan ke-5. Rata-rata klorida pada kambing laktasi adalah $108,33 \pm 0,58$ mmol/dL pada bulan ke-1, kemudian $109,00 \pm 1,87$ mmol/dL pada bulan ke-2 dan $107,67 \pm 2,08$ mmol/dL pada bulan ke-3 serta $107,67 \pm 2,08$ mmol/dL pada bulan ke-4. Analisis sidik ragam klorida hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan parameter normal sebesar 95,00-103,00 mmol/dL (Radostits *et al.*, 2000), sedangkan klorida pada kambing bunting 1 bulan adalah sesuai dengan parameter normal. Rata-rata klorida pada kambing bunting hasil penelitian ini masih dalam rata-rata klorida pada kambing Peranakan Ettawa bunting yang dilaporkan oleh Widiyono & Sarmin (2012) sebesar $109,70 \pm 4,27$ mmol/dL, demikian juga pada kambing laktasi sebesar $106,55 \pm 4,78$ mmol/dL. Rata-rata klorida kambing laktasi bulan ke-1 lebih tinggi secara signifikan dengan klorida kambing laktasi bulan ke-4 ($p < 0,05$). Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa rata-rata klorida antara bunting dan laktasi hasil penelitian ini tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$), sesuai dengan laporan pada kerbau Nili-Ravi bunting dan laktasi (Akhtar *et al.*, 2009) dan kambing Buchi bunting dan laktasi (Akhtar *et al.*, 2015) serta sapi (Yokus, 2006). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kebutuhan klorida pada kelompok kambing bunting dan laktasi telah mencukupi terutama dalam memenuhi kebutuhan perkembangan sistem saraf fetus selama dalam proses kebuntingan induknya (Khayat *et al.*, 2017).

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa parameter hematologi dan mineral berubah saat kambing Peranakan Ettawa bunting dan laktasi mengikuti perubahan metabolisme yang terjadi pada kondisi bunting dan laktasi tersebut.

Daftar Pustaka

- Abuelo, A., Hernández, J., Benedito, J. L., & Castillo, C. (2015). The importance of the oxidative status of dairy cattle in the periparturient period: Revisiting antioxidant supplementation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 99(6): 1003–1016. <https://doi.org/10.1111/jpn.12273>
- Ahmed, M. N., Humide, A. O., & Muhadi, M. J. (2018). Hematological state of ewes injected with some mediators during postpartum and lactation period. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(8): 1921–1924.
- Akhtar, M. S., Farooq, A. A., Muhammad, S. A., Lodhi, L. A., Hayat, C. S., & Aziz, M. M. (2009). Serum electrolyte and mineral variations during pregnancy and lactation in Nili-Ravi buffalo. *Biological Trace Element Research*, 137(3): 340–343. <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8581-9>
- Akhtar, M.S., Lashari, M.H., Inayat, S., Hussain, I., Lodhi, L.A., Ijaz Ahmad, S. A. M., Hayat, C.S., & Aziz, M. M. (2015). Serum electrolyte and mineral variations during pregnancy, lactation and dry periods in Buchi sheep. *Wayamba Journal of Animal Science*, 1440586371:1260–1265.
- Al-Bulushi, S., Shawaf, T., & Al-Hasani, A. (2017). Some hematological and biochemical parameters of different goat breeds in Sultanate of Oman “ A preliminary study .” *Veterinary World*, 10(4): 461–465. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.461-466>
- AL-Eissa, M. S., & Alkahtani, S. (2012). Gestation effects on the hematological and biochemical profile of nubian ibex (Capra Nubiana). *Research in Zoology*, 2(1): 5–7. <https://doi.org/10.5923/j.zoology.20120201.02>
- Antunović, Z., Šperanda, M., Novoselec, J., Đidara, M., Mioč, B., Klir, Ž., & Samac, D. (2017). Blood metabolic profile and acid-base balance of dairy goats and their kids during lactation. *Veterinarski Arhiv*, 87(1):43–55. <http://www-staro.vef.unizg.hr/vetarhiv/papers/2017-87-1-5.pdf>
- Ate, I. U., Rekwot, P.I., Nok A. J., & Tekdek L. B. (2009). Haematological values of cows during third trimester of pregnancy and early lactation in settled cattle herds in Zaria, Northern Nigeria. *African Journal of Biomedical Research*, 12(3): 225–231.
- Azab, M. E., & Abdel-Maksoud, H. A. (1999). Changes in some hematological and biochemical parameters during prepartum and postpartum periods in female Baladi goats. *Small Ruminant Research*, 34(1): 77–85. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(99\)00049-8](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(99)00049-8)
- Badawi, NM, AL-Hadithy, H. (2014). The hematological parameters in clinically healthy Iraqi Awassi sheep. *World s Veterinary Journal*, 4(1): 01–05. <https://doi.org/10.5455/wvj.20140237>
- Yokus, B., Cakir, U. D. (2006). Seasonal and Physiological Variations in Serum Chemistry and Mineral Concentrations in Cattle. *Biological Trace Element Research*, 109: 255–266.
- Bezerra, L. R., Oliveira, W. D. C., Silva, T. P. D., Torreão, J. N. C., Marques, C. A. T., Araújo, M. J., & Oliveira, R. L. (2017). Comparative hematological analysis of Morada Nova and Santa Inês ewes in all reproductive stages. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 37(4), 408–414. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000400017>
- Bonelli, F., Rota, A., Corazza, M., Serio, D., & Sgorbini, M. (2016). Hematological and biochemical findings in pregnant, postfoaling, and lactating jennies. *Theriogenology*, 85(7), 1233–1238. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.12.004>
- Brzezińska, M., & Krawczyk, M. (2010). The influence of pregnancy and lactation on the magnesium and calcium concentration in goats blood serum. *J. Elementol*, 15(1):31–38.
- Byers S, R. and J W. Kramer. (2010). Normal hematology of sheep and goats in *Schalms Veterinary Hematology*. Wiley Blackwell, Pp. 836-84

- Cunningham, J. (2011). *Tratado de fisiologia veterinária*. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan
- Cepeda-Palacios, R., Fuente-Gomez, M. G., Ramírez-Orduña, J. M., García-Álvarez, A., Llinas-Cervantes, X., & Angulo, C. (2017). Effects of pregnancy and post-kidding stages on haematochemical parameters in cross-bred goats. *Journal of Applied Animal Research*, 46(1): 269-273. <https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1295970>
- De Oliveira, W. D. C., Silva, T. P. D. E., De Araújo, M. J., Edvan, R. L., Oliveira, R. L., & Bezerra, L. R. (2019). Changes in hematological biomarkers of Nellore cows at different reproductive stages. *Acta Scientiarum - Animal Sciences*, 41(e45725):1–7. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v41i1.45725>
- Fried, W. (2009). Erythropoietin and erythropoiesis. *Experimental Hematology*, 37(9):1007–1015. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2009.05.010>
- Habibu, B., Kawu, M., & Makun, H. (2014). Influence of sex, reproductive status and foetal number on erythrocyte osmotic fragility, haematological and physiologic parameters in goats during the hot-dry. *Veterinarni Medicina*, 2014(10): 479–490. <http://agriculturejournals.cz/publicFiles/138070.pdf>
- Habibu, B., Kawu, M., Makun, H., Aluwong, T., Yaqub, L., Dzenda, T., & Buhari, H. (2017). Influences of breed, sex and age on seasonal changes in haematological variables of tropical goat kids. *Archives Animal Breeding*, 60: 33–42. <https://doi.org/10.5194/aab-60-33-2017>
- Idamokoro, E. M., Muchenje, V., Afolayan, A. J., & Masika, P. J. (2018). Variations in some haemato-biochemical markers from a small flock of free ranging Nguni, Boer and Non-descript goats during late gestation and early lactation periods. *Indian Journal of Animal Research*, 53(4):476–481. <https://doi.org/10.18805/ijar.b-865>
- Ingvartsen, K. L., & Andersen, J. B. (2000). Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. *Journal of Dairy Science*, 83(7): 1573–1597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75029-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75029-6)
- Iriadam, M. (2007). Variation in certain hematological and biochemical parameters during the peri-partum period in Kilis does. *Small Ruminant Research*, 73(1–3), 54–57. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.11.001>
- Karapehliyan, M., Atakisi, E., Atakisi, O., Yucayurt, R., & Pancarci, S. M. (2007). Blood biochemical parameters during the lactation and dry period in Tuj ewes. *Small Ruminant Research*, 73(1–3): 267–271. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.12.006>
- Khayat, S., Fanaei, H., & Ghanbarzehi, A. (2017). Minerals in pregnancy and lactation: A review article. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(9): QE01–QE05. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/28485.10626>
- Mohammad, A. Q. (2011). *A Study of some Haematological and Biochemical Parameters in Late Pregnancy, Parturition and early Lactation in Crossbred Cows*. Thesis. Master Degree of Sciences in Veterinary Medicine. College of Veterinary Medicine University of Basrah.
- Poljičak-Milas, N., Marenjak, T. S., Slavica, A., Janickf, Z., Filipović, N., & Sruk, V. (2009). Comparative hematological and biochemical values in pregnant and non-pregnant red, Cervus elaphus, and fallow deer, Dama dama, females. *Folia Zoologica*, 58(1): 36–44.
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C. and Hinchcliff, K.W. (2000). *Veterinary Medicine*, 9th edn, W.B. Saunders, London, pp. 1819 – 1822.
- Rajion, M. A., Saat, I.M., Zulkifli, I., Goh, Y. M. (2001). The Effects of Road Transportation on Some Physiological Stress Measures in Goats The Effects of Road Transportation on Some Physiological Stress Measures in Goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 14(9): 1250–1252.

- Salem, N. (2017). Effect of Lactation on Hemato-Biochemical and Minerals Constituents in Small Ruminant. *International Journal of Veterinary Science*, 6(1), 53–56.
- Sasmito, P. (2017). Adopsi Inovasi Budidaya Kambing Peranakan Etawa (Pe) Di Kabupaten Kulon Progo Provinsi D.I. Yogyakarta. *Komuniti: Jurnal Komunikasi Dan Teknologi Informasi*, 8(5), 85. <https://doi.org/10.23917/komuniti.v8i5.2142>
- Şimşek, Ö., Arıkan, Ş., & Çınar, M. (2015). Reference values for selected hematological and biochemical blood parameters from pre-pregnancy to advanced gestation in Angora cats. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39(1), 29–33. <https://doi.org/10.3906/vet-1405-2>
- Tibbo, M., Jibril, Y., Woldemeskel, M., Dawo, F., Aragaw, K., & Rege, J. E. O. (2004). Factors Affecting Hematological Profiles in Three Ethiopian. *Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 2(4): 297–309.
- Waziri, M. A., Ribadu, A. Y., & Sivachelvan, N. (2010). Changes in the serum proteins, hematological and some serum biochemical profiles in the gestation period in the Sahel goats. *Veterinarski Arhiv*, 80(2): 215–224.
- Widiyono, I., Sarmin. (2012). Kadar Mineral Makro dalam Serum Kambing Peranakan Ettawa yang Secara Klinis Sehat. *Jurnal Veteriner*, 13(2):176–181.
- Žvorc, Z., Mrljak, V., Sušić, V., & Gotal, J. P. (2006). Haematological and biochemical parameters during pregnancy and lactation in sows. *Enzyme*, 76(3): 245–253.

Kajian Sinkronisasi Birahi Menggunakan PGF2 α pada Kambing Lokal terhadap Kualitas Estrus, Konsentrasi Progesterone, dan Tingkat Kebuntingan

Study of Estrous Synchronization using PGF2 α in Local Goats on Estrous Quality, Progesterone Concentration, and Pregnancy Rate

Agung Budiyanto^{1*}, Faradina Kusuma Savitri², Yuda Heru Fibrianto³

¹Departemen Reproduksi dan Obstetri, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

³Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

*Email: agung_bd2004@yahoo.com

Naskah diterima: 8 Oktober 2020, direvisi: 3 Nopember 2020, disetujui: 30 Nopember 2020

Abstract

The low pregnancy rate in goats is caused by a short time of estrous and mating behavior that is not clear, resulting in low reproductive performance. The application of estrous synchronization technology is expected to solve this problem. Prostaglandin F2 α (PGF2 α) is commonly applied in Indonesia intramuscularly (IM), while other methods have no known scientific data on the effectiveness of this method. The IM method is a standard method that is commonly used in synchronizing goat estrous, while the intravaginal sponge (IS) method with a smaller dose has never been studied scientifically and in detail. This study was to determine the effective dose required in the IS administration of PGF2 α hormone in influencing the quality of estrous, progesterone hormone profile, and pregnancy and compared with IM application as a control. This study used the two methods, namely intramuscular (IM) as a control and intravaginal sponge (IS) method. Furthermore, this study used 24 goats that had given birth, were not pregnant, aged 3-5 years, had an average weight of 40 kg and were healthy, divided into 3 treatment groups. Group 1 IM PGF2 α hormone (8.25 mg / head), group 2 IS PGF2 α hormone (5.5 mg / head) and group 3 IS PGF2 α hormone (2.75 mg / head). Estrous detection was carried out by visual observation, mating using a trained male, testing progesterone levels with an ELISA kit and pregnancy examination with ultrasound. The results were analyzed using ANOVA and T-Test. The results showed that there was no difference in estrous quality ($P > 0.05$) at the peak of estrous in each group. Progesterone levels in the IS group with a dose of PGF 5.5 and 2.75 mg / head indicated that the dose of 5.5 mg / head was lower than that in the 2.75 mg / head group. The pregnancy rate of the IM group was not significantly different from the IS group. The conclusion of this research is that synchronization of estrous using PGF2 α by IS would to be effectively produce the quality of estrous, the level of progesterone in the blood and pregnancy which are not different from the IM administration. The IS method can be applied to estrous synchronization in goats in Indonesia at a lower cost, but the level of efficiency and effectiveness is not different from the IM method which uses a higher dose.

Key words: Intramuscular, intravaginal spons, progesterone, prostaglandin F2 α , estrous synchronization

Abstrak

Tingkat kebuntingan pada kambing yang rendah disebabkan oleh waktu birahi yang singkat dan tingkah laku kawin yang tidak jelas berakibat kinerja reproduksi rendah. Penerapan teknologi sinkronisasi birahi diharapkan dapat mengatasi masalah tersebut. Pemberian hormon prostaglandin F2 α (PGF2 α) sudah biasa diaplikasikan di Indonesia secara *intramuscular* (IM) sedangkan metode lain belum diketahui data ilmiah efektivitas dari metode tersebut. Metode IM adalah metode standart yang sudah umum digunakan pada sinkronisasi birahi kambing sedangkan metode *intravaginal sponge* (IS) dengan dosis yang lebih kecil belum pernah dilakukan kajian sebcara ilmiah dan detail. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dosis efektif yang dibutuhkan dalam pemberian

hormon PGF2 α secara IS dalam mempengaruhi kualitas birahi, profil hormon progesteron, dan kebuntingan dan dibandingkan dengan aplikasi secara IM sebagai kontrol. Penelitian ini menggunakan dua metode yaitu *intramuscular* (IM) sebagai kontrol dan metode *intravaginal spons* (IS). Selain itu, penelitian ini menggunakan 24 ekor kambing pernah beranak, tidak bunting, berumur 3-5 tahun, berbobot rata-rata 40 kg dan sehat, dibagi 3 kelompok perlakuan. Kelompok 1 IM hormon PGF2 α (8.25 mg/ekor), kelompok 2 IS hormon PGF2 α (5.5 mg/ekor) dan kelompok 3 IS hormon PGF2 α (2.75 mg/ekor). Deteksi estrus dilakukan dengan pengamatan visual, perkawinan menggunakan pejantan terlatih, pengujian kadar hormon progesteron dengan kit ELISA dan pemeriksaan kebuntingan dengan USG. Hasil penelitian dianalisis menggunakan ANOVA dan T-Test. Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan kualitas estrus ($P > 0.05$) saat puncak estrus pada setiap kelompok. Kadar hormon progesteron pada kelompok IS dengan dosis PGF 5.5 dan 2.75 mg/ekor menunjukkan bahwa dosis 5.5 mg/ekor lebih rendah dari pada kelompok 2.75 mg/ekor. Tingkat kebuntingan dari kelompok IM tidak ada perbedaan yang signifikan dengan kelompok IS. Kesimpulan penelitian ini yaitu sinkronisasi birahi menggunakan PGF2 α secara IS mampu menghasilkan kualitas birahi, kadar hormone progesterone dalam darah dan kebuntingan yang tidak berbeda dengan pemberian secara IM. Metode IS dapat diaplikasikan pada sinkronisasi birahi kambing di Indonesia dengan biaya yang lebih rendah namun dengan tingkat efisien dan efektivitasnya tidak berbeda dengan metode IM yang menggunakan dosis lebih tinggi

Kata kunci: Intramuskuler, spon intravaginal, progesteron, prostaglandin F2 α , sinkronisasi estrus

Pendahuluan

Indonesia yang beriklim tropis memungkinkan kambing menunjukkan aktivitas seksual sepanjang tahun sehingga perkawinan dan kelahiran dapat terjadi setiap saat. Kambing betina memiliki waktu estrus yang singkat dan tingkah laku kawin yang kadang tidak tampak sehingga kinerja reproduksi menjadi rendah (Gall and Phililipe, 1981). Sinkronisasi birahi menggunakan hormone PGF2 α sudah banyak dilakukan sampai terjadi kebuntingan dan kelahiran yang terjadwal untuk semua tujuan produksi ternak (Mortemucci & D'Alessandro, 2011), juga digunakan dalam mengatasi kesulitan deteksi estrus dan rendahnya efisiensi perkawinan (Goodling *et al.*, 2005). Sinkronisasi yang berkualitas tentunya akan sangat membantu peternak dalam pelaksanaan program reproduksi kambing dan sistem sinkronisasi estrus akan memudahkan peternak dalam mengatur jumlah hewan yang akan diprogramkan untuk bunting (Ridlo dan Budiyanto, 2017). Sinkronisasi birahi pada kambing di Indonesia sudah dilakukan dan umum digunakan adalah metode IM, sedangkan metode IS belum banyak dilakukan dan kajian terhadap aplikasi itu masih sedikit.

Pemberian hormon PGF2 α merupakan metode sinkronisasi estrus yang dapat diaplikasikan pada kambing. Hormone PGF2 α pada ruminansia kecil menurut McCracken *et al.* (2004), memiliki sifat luteolitik. Mekanisme kerja hormon tersebut dalam menimbulkan estrus yaitu dengan meng-

hambat aliran darah ke CL hingga atrofi dan lisis, menyebabkan turunnya kadar hormon progesteron sehingga hormon estrogen meningkat (Brezlaff *et al.*, 1981) Metode pemberian hormon PGF2 α saat sinkronisasi estrus akan memengaruhi kinerja reproduksi betina (Saoeni, 2007). Pengaplikasian hormon PGF2 α biasanya dilakukan secara IM karena dianggap lebih praktis namun, pada metode ini dibutuhkan dosis hormon lebih besar dan waktu yang diperlukan untuk memengaruhi organ target lebih lama karena jalur yang ditempuh hormon akan lebih panjang melalui peredaran darah dan dapat termetabolisme dalam hati (Mellado *et al.*, 1994). Metode pemberian secara *intravaginal* masih jarang digunakan karena memerlukan peralatan dan membutuhkan keterampilan khusus oleh karenanya digunakan modifikasi pemberian *intravaginal spons* (IS) yang mudah didapat dan lebih ekonomis.

Keberagaman metode pemberian hormon prostaglandin F2 α dalam sinkronisasi estrus akan memengaruhi kemampuan dan efektivitasnya dalam memunculkan estrus. Kemampuan hormon dalam menimbulkan estrus dapat dilihat dari munculnya tanda-tanda tingkah laku seksual yang secara visual dapat teramati sehingga tercapai tingkat konsepsi yang tinggi (Hastono, 2003). Efektifitas proses sinkronisasi birahi dapat dinilai melalui penampakan tingkah laku seksual, profil hormon progesteron dalam darah dan keberhasilan fertilisasi dan terjadinya kebuntingan (Isabel *et al.*, 2018). Berdasarkan penelitian pendahulu yang

dilakukan oleh Saoeni (2007) pemberian hormon PGF2 α sebanyak 5 mg/ml/ekor pada domba betina selama 2 hari mampu menimbulkan onset, lama birahi dan kebuntingan mencapai 100%.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui dosis pemberian hormon PGF2 α dengan metode IS dan dilanjutkan dengan uji membandingkan metode sinkronisasi birahi IM dan IS terhadap kualitas birahi, profil hormon progesteron dalam darah, dan kebuntingan setelah dikawinkan dengan pejantan. Manfaat dari penelitian ini adalah dapat sebagai alternatif untuk mengurangi biaya sinkronisasi melalui pengurangan dosis PGF2 α pada metode IS sehingga biaya produksi dapat dikurangi dan meningkatkan pendapatan peternak kambing di Indonesia.

Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan 24 ekor kambing betina di peternakan rakyat, kambing pernah beranak, tidak sedang bunting, berumur 3-5 tahun dengan bobot tubuh rata rata 40 kg dan dalam keadaan sehat. Kambing jantan adalah kambing jantan yang sudah terlatih terlatih dan biasa digunakan untuk deteksi estrus dan pengawinan secara alam. Hormon prostaglandin F2 α (*Dinopros tromethamine* 5.5 mg (PT. Caprifarmindo Labs), *spons, lubricant gell* (K-Y™ Jelly), dan kit ELISA (EIA-1561, *Progesterone* ELISA, DRG) utuk pengujian kadar hormone progesteron serta alat *ultrasonografi* (HS-2000 Honda, Japan) untuk pemeriksaan kebuntingan. Pemasangan hormon prostaglandin F2 α secara *intravaginal spons* dilakukan selama \pm 3 hari dan pengamatan tingkah laku estrus dimulai setelah *spons* dikeluarkan dari vagina kambing betina perlakuan (Saoeni, 2007). Penyuntikan hormonj PGF 2 alfa dilakukan dengan spuit 20 cc jarum 22 G pada dosis 8.25 mg per ekor dan birahi dilihat pada 48 s.d. 72 jam setelah penyuntikan. Perkawinan alam dengan pejantan pemacek dan dilakukan pemeriksaan kebuntingan menggunakan ultrasonografi.

Kualitas Birahi

Pengamatan dan penilaian kualitas estrus dilakukan secara visual terhadap perubahan vulva, lendir serviks dan tingkah laku. Pengamatan kualitas estrus di lakukan pada 0, 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64 jam. Penilaian atau *scoring* yang

dilakukan mengikuti kriteria penilaian estrus yaitu perubahan pada vulva, lendir serviks, dan tingkah laku. *Scoring* pada kriteria estrus dapat di lihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kriteria penilaian estrus pada kambing betina

No	Kriteria Penilaian	Skor	Keterangan
1	Perubahan Vulva	4	Bengkak; <i>Oedematus</i> ; Mukosa merah;
		3	Kebengkakan tidak maksimal; Mukosa kemerahan;
		2	Terdapat perubahan kebengkakan vulva; Perubahan warna vulva menjadi pink tua/merah pudar
		1	Vulva tidak mengalami perubahan bentuk dan warna (normal)
2	Lendir Serviks	4	Lendir banyak (Leleran di ekor, sekitar vulva, lantai)
		3	Leleran sedang (Leleran di sekitar vulva)
		2	Lendir sedikit (Terlihat ketika vulva dibuka)
		1	Tidak berlendir
3	Tingkah Laku	4	Sering mengembik; Naik-naik dinding kandang; Tertarik dengan pejantan; Diam bila dinaiki; Ekor terangkat saat dinaiki
		3	Tertarik terhadap pejantan; Mengibas-ngibas ekor; Diam bila dinaiki; Ekor menutup saat dinaiki
		2	Gelisah; Mengibas-ngibaskan ekor Belum mau dinaiki pejantan;
		1	Tidak mau dinaiki

(Modifikasi dari Santoso et al.(2014) pada besarnya poin skor; skor 2, penambahan pada kriteria tingkah laku gelisah; skor 3, penambahan pada kriteria ekor menutup saat dinaiki pejantan; skor 4, penambahan pada kriteria ekor terangkat saat dinaiki)

Analisis Hormon

Pengukuran kadar hormone progesteron menggunakan metode ELISA dengan kit *Progesterone* ELISA (EIA-1561, DRG) metode *Competitive* ELISA. Prinsip kerja kit *Progesterone* ELISA yaitu antibodi poliklonal yang melapisi analog hormon progesteron dan antigen sampel yang akan bersaing dengan konjugat *houseradise peroxidase* (HRP). Pengambilan sampel darah dilakukan 48 jam setelah pemasangan IS dan setelah injeksi Prostaglandin secara IM.

Pemeriksaan Kebuntingan

Pemeriksaan kebuntingan dilakukan 50 hari setelah perkawinan alami yang dilakukan menggunakan alat USG (HS-2000 Honda, Japan) untuk mengetahui tanda tanda kebuntingan pada uterus kambing.

Analisis Data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk rata-rata (*mean*) dan simpangan baku (*Standar Deviasi*). Kualitas estrus dan kebuntingan dianalisis menggunakan *one way Anova*, sedangkan profil hormon progesteron dianalisis menggunakan *T-test*. *Tukey HSD* digunakan untuk menganalisis perbedaan rata-rata parameter pemeriksaan antar kelompok.

Hasil dan Pembahasan

Kualitas Birahi

Kualitas birahi perlu dinilai untuk mengetahui efektivitas kerja hormon PGF2 α saat sinkronisasi dalam menginduksi estrus sehingga dapat mempermudah dalam pendeteksian estrus (Abecia *et al.*, 2011). Pengamatan tingkah laku kawin kelompok pemberian hormon PGF2 α secara IM dilakukan pada 48 jam setelah perlakuan terakhir karena timbulnya estrus pada pemberian hormon PGF2 α secara IM terjadi saat 36-72 jam setelah injeksi terakhir (Herdis *et al.*, 1999).

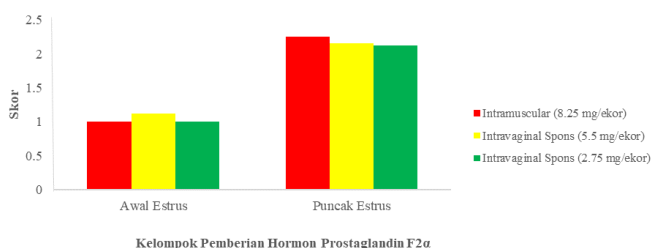
Tabel 2. Perbandingan kualitas estrus pada awal dan puncak estrus setelah pemberian hormon PGF2 α

Perlakuan	Awal Estrus (Mean \pm Standar deviasi)	Puncak Estrus (Mean \pm Standar deviasi)
<i>Intramuscular</i> (8,25 mg/ekor)	1.00 \pm 0.00 ^a	2.25 \pm 0.70 ^a
<i>Intravaginal spons</i> (5,5 mg/ekor)	1.12 \pm 0.00 ^b	2.16 \pm 0.64 ^a
<i>Intravaginal spons</i> (2,75 mg/ekor)	1.00 \pm 0.00 ^a	2.12 \pm 0.64 ^a

Nilai dalam satu kolom dengan superskrip (a dan b) yang berbeda menunjukkan perbedaan ($P < 0.05$)

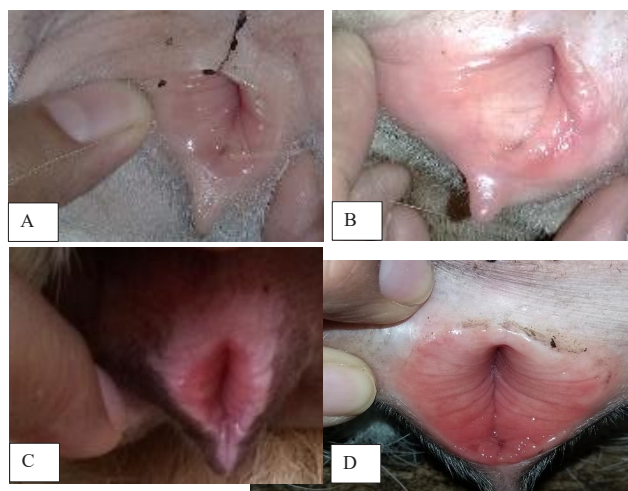
Perbandingan kualitas birahi di setiap metode perlakuan pada awal munculnya estrus dilakukan untuk melihat tingkat efektifitas sinkronisasi birahi dalam menginisiasi tingkah laku kawin. Pada Tabel

2 terlihat hasil perhitungan statistik menunjukkan bahwa kualitas estrus dengan metode IS dengan dosis 2.5 mg/ekor memberikan hasil kualitas estrus dengan kelompok metode IM dengan dosis 8,25 mg/ekor dan IS dengan dosis 5,5 mg/ekor. Gambar 1 menunjukkan perbandingan kualitas estrus lebih jelas diantara 3 kelompok.



Gambar 1. Histogram Perbandingan kualitas estrus pada awal dan puncak estrus setelah pemberian hormon prostaglandin F2 α

Nilai kualitas estrus tertinggi di setiap kelompok perlakuan dianggap sebagai saat terjadinya puncak estrus. Hasil statistik diatas juga dapat diartikan bahwa pemberian hormon PGF dengan dosis yang berbeda secara IS memiliki kemampuan yang sama dalam menginisiasi kualitas birahi pada kambing dibanding secara IM. Gambar 2 menunjukkan perbedaan penilaian vulva kambing dengan berbagai tingkat kualitas birahi.



Gambar 2. Vulva kambing betina (A) normal (tidak birahi), (B) warna vulva pink muda, (C) kebengkakan belum maksimal dan warna kemerahan, dan (D) bengkak dan warna kemerahan saat vulva dibuka.

Perubahan fisiologis dan tingkah laku yang teramati menunjukkan bahwa hormon PGF2 α mampu melisis *corpus luteum* (CL). Lisisnya

CL disebabkan karena hormon PGF2 α dapat menyempitkan pembuluh darah (Wiltbank *et al.*, 2012) sehingga aliran darah ke CL terhenti dan tidak mendapat nutrisi untuk tumbuh. Hal tersebut menyebabkan kadar hormon progesteron dalam darah menjadi rendah sehingga *Gonadotropin Releasing Hormon* (GnRH) merangsang *hypophisa* mensekresikan *Folikel Stimulating Hormon* (FSH) dan folikel-folikel matang mampu menghasilkan hormon estrogen yang dapat menimbulkan estrus pada kambing betina, sesuai yang diterangkan oleh Rawling *et al.* (2003) tentang *feed back mechanism hormone* reproduksi.

Profil Hormon Progesteron

Profil hormon progesterone di dalam darah akan dapat menggambarkan efektivitas dari metode pemberian PGF2 α (Hartantyo, 1995). Salah satu cara mengamati siklus estrus pada betina yaitu dengan mengetahui naik dan turunnya hormon progesteron dalam darah (Sjahfirdi *et al.*, 2013). Pengujian kadar hormon progesteron dalam darah pada penelitian ini menggunakan metode *Enzyme-linked immunosorbent Assay* (ELISA). Metode ini dipilih karena memiliki tingkat sensitivitas dan akurasi yang tinggi.

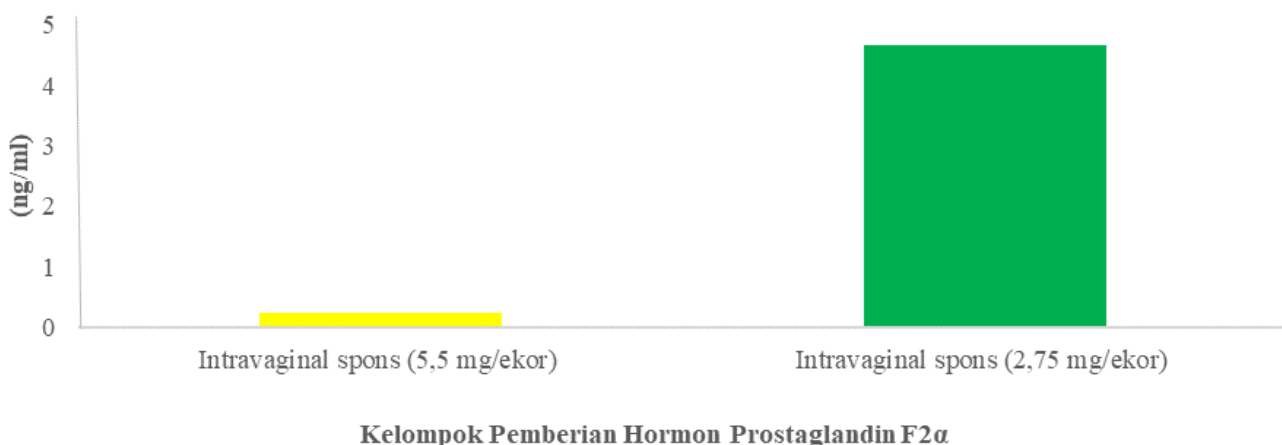
Hasil perhitungan statistik pada Tabel 3 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar hormon progesteron ($P < 0.05$) secara signifikan pada kelompok perlakuan pemberian PGF2 α secara IS dengan dosis 5.5 mg/ekor lebih baik dari pada dosis 2.75 mg/ekor. Kadar progesterone yang rendah menunjukkan efektivitas lisisnya Cl lebih cepat dan lebih banyak sehingga hormone progesterone turun di dalam darah.

Tabel 3. Profil hormon progesteron setelah \pm 2 hari pemasangan *intravaginal spons* hormon PGF2 α

Perlakuan	Jumlah Hewan Coba (Ekor)	Kadar Hormon Progesteron (ng/ml) (Mean \pm Standar deviasi)
<i>Intravaginal spons</i> (5,5 mg/ekor)	8	0.24 \pm 0.07 ^a
<i>Intravaginal spons</i> (2,75 mg/ekor)	8	4.65 \pm 2.90 ^b

Nilai dalam satu kolom dengan superskrip (a dan b) yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P < 0.05$)

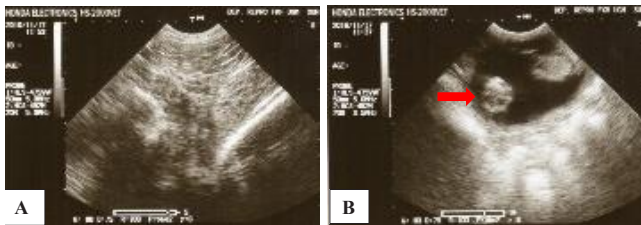
Penurunan kadar hormon progesteron dalam darah dapat menggambarkan efektifitas kerja hormon PGF2 α dalam melisiskan CL. Tabel 3 menunjukkan bahwa penggunaan IS dengan dosis yang lebih rendah dapat memberikan hasil yang sama dengan dengan metode IM dengan dosis PGF2 α yang lebih tinggi. Kedua metode tersebut mampu melisiskan CL dalam waktu dan jumlah yang tidak berbeda. Sesuai yang disampaikan oleh Karzynski *et al.*, (2013) bahwa PGF2 α mempunyai reseptor di Cl dan PGF2 α merupakan agen luteolitik utama yang menyebabkan luteinasi. Selanjutnya dengan penurunan hormon progesteron dengan *feedback mechanism* terjadi proses pertumbuhan folikel-folikel secara serentak karena diproduksi FSH yang mengakibatkan pertumbuhan folikel ovarium dan diproduksi hormon estrogen dan birahi pun terjadi secara bersamaan (Arosh *et al.*, 2006 dan Agnieszka *et al.*, 2020). Metode IS dengan dosis yang lebih kecil mampu memberikan pengaruh yang sama dibanding metode IM (kontrol) yang dosisnya lebih tinggi, hal ini akan mengurangi biaya sinkronisasi birahi namun dengan efek kualitas birahi yang sama.



Gambar 3. Histogram Profil hormon progesteron setelah \pm 2 hari pemasangan *intravaginal spons* hormon prostaglandin F2 α

Kebuntingan Kambing

Pemeriksaan kebuntingan dalam penelitian ini dilakukan menggunakan alat *Ultrasonography* (USG) pada \pm 50 hari setelah perkawinan alam terjadi. Hasil USG menunjukkan bunting atau tidaknya kambing betina disetiap individu pada kelompok perlakuan dengan melihat keberadaan fetus dalam uterus (Gambar 4).



Gambar 4. Hasil pemeriksaan USG kambing betina, (A) gambaran uterus yang tidak terdapat fetus dan (B) gambaran uterus yang terdapat fetus (Panah merah menunjukkan fetus)

Hasil perhitungan statistik menunjukkan bahwa tingkat kebuntingan tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($P > 0.05$) antar perlakuan pemberian hormon PGF2 α IS dengan dosis 5.5 mg/ekor dan IM dengan dosis 8.25 mg/ekor dalam menghasilkan kebuntingan. Hal ini sesuai yang disampaikan oleh Bretzlaff *et al.*, 1981; Arosh *et al.*, 2006; dan Agniewicz *et al.*, 2020 tentang efektivitas penanganan secara intrauterine untuk berbagai masalah reproduksi dan menunjukkan hasil yang baik.

Tabel 4. Persentase kebuntingan kambing betina di setiap kelompok pemberian hormon PGF2 α

Perlakuan	Kawin alami (Ekor/%)	Kebuntingan (Ekor/%)
<i>Intramuscular</i> (8,25 mg/ekor)	8 (100)	6 (75)
<i>Intravaginal spons</i> (5,5 mg/ekor)	8 (100)	4 (50)

Kebuntingan adalah sebuah tanda bahwa semua proses reproduksi berjalan dengan baik. Proses birahi yang baik diikuti oleh ovulasi dari sel telur dan selanjutnya terjadi fertilisasi dan akan terjadi kebuntingan (Pereira *et al.*, 2016). Proses sinkronisasi birahi dengan kedua metode ini memberikan tingkat kebuntingan yang tidak berbeda nyata antara IS dan metode IM menunjukkan bahwa kualitas birahi dari kelompok perlakuan adalah kualitas birahi yang baik dan mampu menghasilkan sel telur yang siap untuk

difertilisasi (Tabel 4). Metode IS lebih efisien karena menggunakan dosis yang lebih rendah sehingga menjadi lebih murah dan efisien. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Siregar (2006), yang mengatakan bahwa proses reproduksi betina berhubungan dengan mekanisme sistem hormonal yaitu interaksi antar hormon *hypothalamus-hipophisa* seperti GnRH, FSH, LH, hormon-hormon ovarium dan hormon uterus. Lebih lanjut dalam sistem regulasi hormon, maka mekanisme *feedback* berjalan dengan baik dengan metode IS ini. Menurut Ioannis (2006) menyatakan bahwa rendahnya konsentrasi progesterone dan kerja dari inhibin B akan mengotrol pelepasan FSH dan LH sehingga terjadi pembentukan folikel dan selanjutnya terjadi ovulasi yang siap dibuahi. Perkawinan yang terjadi menyebabkan terjadinya proses fertilisasi sperma ke sel telur dan terjadi kebuntingan. Dalam kasus ini siklus reproduksi berlangsung normal pada kedua perlakuan dan mekanisme hormonal pada betina berjalan dengan normal, sesuai yang disampaikan oleh Wahyudi *et al.*, (2014) bahwa siklus reproduksi yang normal merupakan salah satu syarat terjadinya kebuntingan pada hewan.

Penggunaan metode intrauterin ini memberikan hasil yang baik dan lebih efisien, beberapa peneliti sebelumnya sudah melakukan pada berbagai *treatment* dengan metode intra uterin ini, antara lain pada penanganan metritis (Haimerland *et al.*, 2014) penanganan endometritis dengan Yodim Povidon (Mido *et al.*, 2016) dan infus dekstros pada endometritis dengan dekstros (Machado *et al.*, 2015), dan dilaporkan memberikan hasil yang baik, efektif, efisien dan tidak memberikan efek samping.

Kesimpulan

Metode sinkronisasi birahi menggunakan IS dengan dosis 5.5 mg/ekor pada kambing betina lokal dewasa di Yogyakarta dapat memberikan efek pada kualitas estrus, kadar hormone progesterone dalam darah dan tingkat kebuntingan yang tidak berbeda signifikan dengan metode IM yang biasa digunakan saat ini. Metode sinkronisasi dengan hormone PGF2 α dengan metode IS lebih rendah dosis yang digunakan sehingga dapat mengurangi biaya produksi dan dapat diaplikasikan dengan lebih mudah dan efisien pada peternakan kambing.

Daftar Pustaka

- Abecia, J.A, Forcada, F., Gonzalez-Bulnes A. (2011). Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Vet Clin Food Animal Proc.* 27:67-79
- Agnieszka, W.J., Katarzyna, K.T, Skarzynski, J.D. (2019). Effects of prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) on cell-death pathways in the bovine corpus luteum (CL). *BMC Vet Res.* 15: 416
- Arosh J.A, Banu S.K, Chapdelame P, Madore E, Sirois J, Fortier M.A. (2006) Prostaglandin biosynthesis, transport, and signaling in corpus luteum: A basis for autoregulation of luteal function. *Endocrinol.* 145 (5): 2551-2560
- Gall C.W.P and Phililipe H. (1981). Prespection on untilization goats. *Anim Res Develomt.* 19: 7-16
- Goodling R.C, Shook G.E, Weigel K.A, Zwald N.R. 2005. The effect of synchronization on genetic parameters of reproductive traits in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 88: 2217-2225
- Goodling, R.C, Shook, G.E, Weigel, K.A, Zwald, N.R. (2005). The effect of synchronization on genetic parameters of reproductive traits in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 88: 2217-2225
- Hartantyo, S. (1995). Calculation of percent progesterone in skim milk fraction when configuration temperature and bufferfat of whole milk are know bull. *FKH-UGM.* 14 (2):1-6
- Haimerland, W. H. (2014). Antibiotic treatment of metritis in dairy cows: A systematic approach P. 1 Clinic for Animal Reproduction, Faculty of Veterinary Medicine, Freie Universität Berlin, 14163 Berlin, Germany, *J Dairy Sci Nov.* 97(11):6649-61. doi: 10.3168/jds.2014-8462.
- Hastono. (2003). Usaha perbaikan kinerja reproduksi induk kambing dan domba, Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Balai Penelitian Ternak Bogor: Bogor
- Herdis, S.M, Kusuma, I., Suhana, R.E. (1999). Peningkatan efisiensi reproduksi sapi melalui penerapan teknologi penyerentakan birahi. *WARTAZOA.* 9: 1-6
- Ioannis, E.M. (2006). Ovarian feedback, mechanism of action and possible clinical implications. *Human's Reproduction Update.* 5:557-571
- Isabel, O.C., Mario, F.A , Felipe, S.C., Ana, B.C., Paula, R.C, Eduardo, K.N.A., Felipe, Z. B. (2018). Accuracy of assessment of luteal morphology and luteal blood flow for prediction of early pregnancy in goats. *Therio.* 121:104-111
- Machado, V. S., Oikonomou, G., Ganda, E. K., Stephens, L., Milhomem, M., Freitas, G. L., Zinicola, M., Pearson, J., Wieland, M., Guard, C., Gilbert, R. O., Bicalho, R. C. (2015). The effect of intrauterine infusion of dextrose on clinical endometritis cure rate and reproductive performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science.* 6:3849-3858
- Martemucci, G. and D'Alessandro, O.G. (2011). Induction/Synchronization of oestrus and ovulation in dairy goats with different shortterm treatments and fixed time intrauterin of exocervical insemination system. *Animal Reproduction Science.* 126: 187-194
- Mellado, M. Aleman, P, Orazco, F.J, Urebi, G. 1994. Effect of prostaglandin dosage and route administration on oestrus respons in creolla goats under range condition. *Small Rum. Res* 14: 205-208
- Mido, S., Murata N., Rawy M.S., Kitahara G., Osawa T. 2016. Effects Of Intrauterine Infusion Of Povidone-Iodine On Endometrial Cytology And Bacteriology In Dairy Cows With Clinical Endometritis. *J Vet Med Sci.* 78(4):551-6
- Pereira, M. H. C., Wiltbank, M. C., Vasconcelos, J. L. M. (2015). Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive artificial insemination or embryo transfer. *Dairy Sci.* 99:2237-2247

- Rawlings, N.C., Evans, A.C.O., Honaramooz, A., Bartlewski, P.M. (2003). Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats, *Anim Reprod Sci.* 78(3-4):259-70
- Ridlo M.R, and Budiyanto, A. (2017). Penambahan Suplemen Zinc (Zn) pada Sinkronisasi Estrus Kambing Ras Campuran. *J. Nasional Teknik Terapan.* 1:69-76
- Santoso, Amrozi, Purwantara B. dan Herdis. (2014). Gambaran ultrasonografi ovarium kambing kacang yang disinkronisasi dengan hormon prostaglandin F2 alfa (PGF2 α) dosis tunggal. *J. Ked. Hewan.* 8(1): 38-42
- Saoeni, R. (2007). Efek pemberian prostaglandin F2 α secara Intra Vaginal Spons (IVS) dan Intra Muskuler (IM) terhadap peningkatan kinerja reproduksi domba. *Animal Production.* 9 (3): 129-134
- Siregar, T.N. (2006). Fisiologi Reproduksi Hewan Betina. Percetakan Universitas Syiah Kuala: Banda Aceh
- Sjahfirdi, L., P.G.K. Putri, Astuti, P. dan Maheshwari, H. 2013. Pemeriksaan profil hormon selama siklus estrus tikus (*Rattus norvegicus*) betina menggunakan perangkat inframerah. *Jurnal Kedokteran Hewan.* Vol. 7. No: 1
- Skarzynski, D.J., Piotrowska-Tomala, K.K., Lukasik, K., Galvao, A., Farberov, S.Y., Zalman, Y., Meidan, R. (2013). Growth and Regression in Bovine Corpora Lutea: Regulation by Local Survival and Death Pathways. *Reprod Dom Anim.* 48:25–37
- Wahyudi, L, Susilawati, T. dan Isnaini, N. (2014). Tampilan reproduksi hasil inseminasi buatan menggunakan semen beku hasil *sexing* pada sapi persilangan ongole di peternakan rakyat. *J. Ternak Tropika.* Vol.15. 1: 80-88
- Wiltbank, M.C., Salih, S.M., ^{Atli, M.O.}, Luo, W., Bormann, C.L., Ottobre, J.S., Vezina, C.M., Mehta, F.J., Diaz, V., ^{Tsai, S.J.}, and Sartori, R.. (2012). Comparison of endocrine and cellular mechanisms regulating the corpus luteum of primates and ruminants. *Anim Reprod.* 9(3): 242–259

Seroprevalensi Penyakit *Avian Influenza* Subtipe H5N1 pada Ayam Buras di Pasar Beringkit dan Galiran, Bali

Seroprevalence of Avian Influenza H5n1 Subtype of Free Range Chicken in Beringkit dan Galiran Markets, Bali

Baiq Indah Pratiwi¹, Gusti Ayu Yuniati Kencana^{2*}, I Nyoman Suartha³

¹Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Bali

²Laboratorium Virologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Bali

³Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Bali

*Email: yuniati_kencana@unud.ac.id

Naskah diterima: 22 Februari 2020, direvisi: 22 Mei 2020, disetujui: 10 Agustus 2020

Abstract

Avian Influenza (AI) is a strategic communicable and zoonotic disease caused by the Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) subtype H5N1. The poultry market has important roles in the preservation, propagation, and spreads of the HPAI subtype H5N1 virus from poultry to other species and humans-beings. The purpose of this study was to determine the level of seroprevalence of Avian Influenza (H5N1) in free-range chickens at the Beringkit and Galiran markets. A total of 120 free-range chicken serums from 2 markets, 60 from the Beringkit market and 60 from the Galiran market were used in this study. The retrieval period is 2 months and is taken every 2 weeks so there are 4 withdrawals. Chicken serum is taken from five selected traders who sell 6 to 10 free-range chickens. All samples were tested using Haemagglutination (HA) and Haemagglutination Inhibition (HI) tests at the Denpasar Veterinary Centre. The data titer of the antibodies obtained was analyzed by Non-Parametric Statistic Test Chi-Square (χ^2) using IBM SPSS for windows. The results of the study showed that seroprevalence of HPAI subtype H5N1 in both Beringkit and Galiran Markets were 3.3% and 6.7% respectively with seroprevalence in two markets of 5.0% which was statistically not significantly different ($P < 0.05$). To prevent the transmissions of HPAI subtype H5N1 at the Beringkit market and Galiran it was recommended to do vaccination and more attantion to the market management and the free-range chicken maintenance system.

Key words: avian influenza (H5N1); Beringkit dan Galiran markets; free-range chicken; seroprevalence

Abstrak

Avian Influenza (AI) merupakan penyakit menular srategis dan bersifat zoonosis disebabkan oleh virus *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) subtipe H5N1. Pasar unggas memiliki peran penting dalam pelestarian, perbanyakan, dan penyebaran virus HPAI subtipe H5N1 dari unggas ke unggas lain dan manusia. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui seroprevalensi penyakit *Avian Influenza* subtipe H5N1 pada ayam buras di Pasar Beringkit dan Galiran, Bali. Sebanyak 120 serum ayam buras dari 2 pasar, 60 dari pasar Beringkit dan 60 dari pasar Galiran digunakan dalam penelitian ini. Periode pengambilan selama 2 bulan dan diambil tiap 2 minggu sehingga ada 4 kali pengambilan. Serum ayam diambil dari lima orang pedagang terpilih yang menjual 6 sampai 10 ekor ayam buras. Pengujian sampel dilakukan di Balai Besar Veteriner Denpasar dengan uji Haemaglutinasi (HA) dan Hambatan Hemaglutinasi (HI). Data titer antibodi yang diperoleh dianalisis dengan Uji Statistik Non-Parametrik *Chi-Square* (χ^2) menggunakan IBM SPSS *for windows*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seroprevalensi HPAI subtipe H5N1 di Pasar Beringkit sebesar 3,3% dan Pasar Galiran sebesar 6,7%, dengan seroprevalensi di kedua pasar sebesar 5,0% yang secara statistik tidak berbeda nyata ($P < 0,05$).

Kata kunci: ayam buras; avian influenza (H5N1); Pasar Beringkit dan Galiran; seroprevalensi

Pendahuluan

Avian Influenza (AI) merupakan salah satu penyakit unggas menular strategis dan bersifat *zoonosis* dapat menimbulkan kematian baik pada hewan maupun manusia yang terinfeksi. Penyebab penyakit AI adalah virus *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) subtipe H5N1 (Wright dan Webster, 2001). Ternak domestik termasuk ayam dan kalkun sangat rentan terhadap virus ini menimbulkan kematian (Kumala, 2005). Di Indonesia kasus AI pertama kali dilaporkan pada peternakan ayam ras komersial di Jawa, Lampung, Sumatera dan Kalimantan (Kandun, 2006). Di Bali kasus AI pertama kali dilaporkan pada ayam buras (Mahardika *et al.*, 2004). Saat ini penyakit AI subtipe H5N1 sudah terkendali, tetapi perlu di waspadai dan kondisi penyakit perlu di deteksi secara berkala. Oleh karena itu *surveillance* terhadap AI perlu dilakukan di peternakan maupun di pasar.

Pasar unggas merupakan salah satu tempat yang berperan penting dalam pelestarian, perbanyakan, dan penyebaran virus AI dari unggas ke unggas lain (Leung *et al.*, 2007) serta dari unggas ke manusia (Dinh *et al.*, 2007). Penyebaran virus didukung oleh sistem perdagangan lokal di pasar unggas yang kurang memperhatikan manajemen pasar yang baik, sanitasi serta tata lokasi pasar unggas (Siahaan *et al.*, 2014). Penularan AI dapat terjadi akibat mobilitas manusia yang membeli dan menjual unggas hidup serta produk asal unggas di pasar (Suartha *et al.*, 2010).

Sebagian besar pasar unggas yang ada di Bali bercampur dengan pedagang pasar yang menjual kebutuhan sehari-hari seperti beras, sayur-sayuran, bumbu, buah-buahan, jajanan dan makanan yang telah matang. Unggas yang diperjual-belikan berasal dari peternakan intensif maupun peternakan rakyat (Suartha *et al.*, 2010). Di pasar, unggas yang dijual berada dalam area yang sangat berdekatan. Kondisi tersebut mempermudah terjadinya penularan virus AI antar unggas (Nguyen *et al.*, 2005). Kondisi pasar yang demikian memiliki resiko sangat tinggi bagi pengunjung pasar hewan karena secara tidak langsung dapat tertular dan pula sebagai sumber penyebar virus ke hewan lain (Susanti *et al.*, 2008).

Pasar Beringkit dan Galiran merupakan pasar tradisional terbesar di Bali dan sangat ramai dikunjungi dengan aktifitas perdagangan hewan

besar maupun perunggasan. Sumber unggas yang diperdagangkan di pasar Beringkit sebagian besar berasal dari Kabupaten Badung, Tabanan, Denpasar, dan Kabupaten Buleleng. Pasar Unggas Galiran mendapat suplai unggas dari Kabupaten Klungkung, Gianyar, Bangli, dan Karangasem (Hartawan, 2011; Putra *et al.*, 2013). Sebanyak 76,1 % menjual unggas berbagai umur dan jenis yang ditempatkan didalam satu keranjang besar (Suartha *et al.*, 2010). Hal ini tidak menutup kemungkinan akan meningkatkan laju penyebaran dan perkembangan virus AI di tempat tersebut (Amonsin *et al.*, 2008). Setelah terjadi taransaksi jual beli maka unggas akan menyebar ke berbagai kabupaten lain di seluruh Bali melalui perantara pembeli (Siahaan *et al.*, 2014). Mobilitas unggas yang tinggi memungkinkan terjadinya rekombinasi serta mutasi virus AI di pasar (WHO, 2006). Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan pemeriksaan titer antibodi ayam buras di pasar unggas untuk mengetahui kondisi penyebaran penyakit AI di pasar hewan. Jika seroprevalensi AI di pasar hewan dalam suatu waktu tertentu berubah maka kemungkinan besar juga terjadi perubahan di peternakan sekitarnya (Siahaan *et al.*, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi antibodi terhadap virus AI subtipe H5N1 pada ayam buras yang dijual di Pasar Beringkit dan Pasar Galiran, Bali. Deteksi antibodi virus AI subtipe H5N1 dilakukan didengan uji serologi hambatan hemaglutinasi (*haemagglutination inhibition*=HI). Pemeriksaan serologi dilakukan di Balai Besar Veteriner Denpasar, Bali. Penelitian ini dilakukan selama 4 bulan di lapangan sejak bulan Oktober 2019 sampai Januari 2020.

Metode dan Metode

Pengambilan Sampel

Penelitian dilakukan dengan metode *purposive sampling*. Ayam buras untuk sampel berumur lebih dari 3 bulan dan belum pernah di vaksin AI subtipe H5N1. Sampel diambil sebanyak 4 kali per pasar dengan jarak pengambilan dua minggu sekali. Jumlah ayam yang digunakan untuk sampel adalah sebagai berikut: sebanyak tiga ekor ayam dijadikan sampel dari pedagang menjual minimal 6-10 ekor ayam buras. Sampel darah diambil

melalui vena *brachialis* yang sebelumnya telah didesinfeksi menggunakan kapas beralkohol 70% 1,5 ml dengan menggunakan *disposable syringe* volume 3 ml. Setelah darah masuk ke spuit, disisakan ruang kosong pada spuit, kemudian spuite ditempatkan di dalam *cool box* dengan posisi horizontal (Darmawi et al., 2013).

Pemisahan Serum

Sampel darah yang baru diambil dibiarkan satu sampai dua jam agar serumnya keluar kemudian ditampung dalam tabung mikro. Serum selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Serum dipisahkan dari bekuan darah dan ditampung dengan tabung mikro steril kemudian dimasukkan ke dalam penangas air bersuhu 56°C dan didiamkan selama 30 menit (Kencana et al., 2016).

Uji Serologi

Pembuatan suspensi eritrosit 1%

Suspensi sel darah merah ayam 1% disiapkan dengan cara: sebanyak 2,5 mL darah ayam yang berisi antikoagulan selanjutnya dicuci dengan cara ditambahkan 5 mL *Phosphat Buffered Saline* (PBS) pH 7,2 lalu dihomogenkan perlahan-lahan agar tidak rusak, selanjutnya darah disentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit. *Buffy coat* dan supernatan dipisahkan dari endapan eritrosit. Eritrosit dicuci sebanyak tiga kali, endapan eritrosit hasil pencucian dipisahkan lalu diencerkan hingga 1% dalam larutan PBS (OIE, 2012).

Uji Hemaglutinasi (HA)

Uji hemaglutinasi yang digunakan adalah teknik mikrotiter. Sebanyak 0,025 mL *Phosphat buffer saline* (PBS) ditambahkan kedalam setiap sumuran plat mikro dengan menggunakan pipet mikro. Sebanyak 0,025 mL suspensi antigen AI subtipe H5N1 standar dari Pusvetma, ditambahkan pada sumuran pertama. Pengenceran berseri berkelipatan dua dimulai dari sumuran ke-1, dengan menggunakan mikropipet diambil sebanyak 0,025 mL campuran tadi lalu diencerkan berseri sampai sumuran ke-11, kemudian pada sumuran nomor 11 suspensi ini dibuang. Selanjutnya PBS ditambahkan sebanyak 0,025 mL kedalam setiap sumuran plat mikro. Sel darah merah unggas 1% ditambahkan sebanyak 0,025

mL ke dalam setiap sumuran plat mikro kemudian digoyang-goyangkan menggunakan pengayak mikro selama kurang lebih 15 detik. Plat mikro dibiarkan pada suhu ruangan selama 30 menit sambil diamati terjadinya hemaglutinasi. Reaksi positif pada uji HA ditandai dengan adanya bentukan butiran seperti pasir pada sumuran plat mikro akibat dari reaksi haemaglutinasi. Pembacaan titer HA dilakukan dengan cara memiringkan plat mikro pada kemiringan $\geq 45^\circ$ (Kencana et al., 2015) dan penentuan titer HA dilihat dari pengenceran antigen tertinggi yang masih dapat menghaemaglutinasi sel darah merah secara sempurna. Titer HA yang digunakan pada uji HI adalah 4 unit HA (OIE, 2012).

Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI)

Sebelum dilakukan uji, serum dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 56°C selama 30 menit. Antigen 4 unit HA juga disiapkan untuk uji HI. Setelah semua bahan siap selanjutnya sebanyak 0,025 mL PBS dimasukkan ke setiap sumuran plat mikro. Sumuran pertama diisi dengan 0,025 mL serum kemudian diencerkan secara berseri kelipatan dua mulai dari sumuran ke-1 sampai ke-10 dengan pengencer mikro dan dari sumuran nomor 10 suspensi dibuang sebanyak 0,025 mL. Masing-masing sumuran plat mikro ditambahkan dengan 0,025 mL suspensi antigen AI 4 unit HA mulai dari sumuran nomor 1 sampai nomor 11. Plat mikro goyang-goyangkan selama kurang lebih 15 detik dengan mikrosaker kemudian dibiarkan selama 30 menit pada suhu ruangan. Suspensi sel darah merah 1% ditambahkan ke dalam sumuran ke-1 sampai ke-12 sebanyak 0,025 ml lalu diayak kembali selama kurang lebih 15 detik. Plat mikro kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit sambil diamati. Pembacaan hasil uji HI dilakukan apabila pada sumuran nomor 11 sudah tampak adanya aglutinasi eritrosit dan pada sumuran nomor 12 terlihat endapan eritrosit. Titer HI dibaca dengan cara memiringkan plat mikro 45 derajat dan melihat ada atau tidaknya endapan sel darah merah yang turun (*tear-shaped*) sebagai tanda uji HI positif. Titer HI ditentukan dengan cara melihat pengenceran serum tertinggi yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit 1% (OIE, 2012).

Analisis Data

Data titer antibodi HI dari sampel serum ayam buras dianalisis dengan uji statistik Non- parametrik *Chi-Square* menggunakan *software Statistical Product dan Service Solution* (SPSS) (Sampurna dan Nindhia, 2019). Seroprevalensi AI dihitung dengan rumus:

$$\text{Seroprevalensi \%} = \frac{\text{Jumlah serum (+) hasil uji} \times 100\%}{\text{Jumlah keseluruhan sampel}}$$

Hasil Dan Pembahasan

Sebanyak 120 sampel serum yang di uji HI, 6 sampel diantaranya positif dengan titer 2^4 dan 2^6 HI Unit. Persentase uji HI sampel serum ayam buras yang positif dan negatif *Avian Influenza* H5N1 di Pasar Beringkit dan Pasar Galiran dimuat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase uji HI sampel serum ayam buras berdasarkan waktu dan lokasi pengambilan

Waktu Pengambilan Sampel	PASAR			
	Pasar Beringkit (60)		Pasar Galiran (60)	
	Positif (+)	Negatif (-)	Positif (+)	Negatif (-)
1	6,7%	93,3%	0,0%	100,0%
2	0,0%	100,0%	26,7%	73,3%
3	6,7%	93,3%	0,0%	100,0%
4	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
Rataan	3,3±3,19%	96,7±3,19%	6,7±6,25%	93,3±6,25%

Hasil uji HI sampel pada pengambilan pertama di Pasar Beringkit 6,7% (1/15) positif antibodi virus AI-H5N1 sedangkan sampel asal Pasar Galiran negatif (0,0%). Pengambilan periode kedua hasilnya negatif (0,0%) sampel Pasar Beringkit sedangkan sampel Pasar Galiran hasilnya 26,7% (4/15) positif. Uji sampel pengambilan periode ketiga di Pasar Beringkit diperoleh 6,7% (1/15) positif sedangkan di Pasar Galiran semuanya negatif. Hasil uji sampel pengambilan periode keempat di Pasar Beringkit dan di Pasar Galiran semuanya negatif antibodi AI-H5N1.

Hasil uji statistika Non-Parametrik dengan *Chi-Square* menunjukkan bahwa seroprevalensi infeksi virus AI-H5N1 di Pasar Beringkit dan Pasar Galiran pada ayam buras untuk empat kali pengambilan sampel tidak berbeda nyata ($P > 0,05$ / $P = 0,402$) seperti dimuat pada Tabel 2.

Tabel 2. Seroprevalensi infeksi virus *Avian Influenza* pada empat kali pengambilan

Waktu Pengambilan	Pasar Beringkit	Pasar Galiran	Nilai Chi-Square	Asymp.sig (tailed-2)
1	6,7%	0,0%	0,702	0.402virus
2	0,0%	26,7%		
3	6,7%	0,0%		
4	0,0%	0,0%		
Rataan	3,3%	6,7%		

Rataan titer antibodi HI sampel serum ayam buras yang diambil dari Pasar Beringkit dan Pasar Galiran dimuat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil rata-rata titer antibodi HI (log 2) ayam buras di Pasar Beringkit dan Galiran

Waktu Pengambilan Sampel	PASAR	
	Pasar Beringkit (60)	Pasar Galiran (60)
1	2,00	1,75
2	1,33	3,67
3	4,00	0,00
4	0,00	0,00
Rataan	2,00 ± 1,09	2,57 ± 1,60

Avian Influenza (AI) adalah penyakit virus pada unggas, termasuk ayam dan unggas liar yang disebabkan oleh virus influenza tipe A subtipe H5N1 (OIE, 2015) yang sangat mematikan. Di Asia, virus AI subtipe H5N1 termasuk virus *strain* HPAI. Bentuk gejala klinis akibat infeksi virus HPAI ditandai dengan angka kematian hampir 100% pada unggas terutama ayam buras dan ras dengan atau tanpa menunjukkan gejala klinis sebelum terjadi kematian (Hewajuli dan Dharmayanti, 2008). Ayam yang terserang virus HPAI umumnya tidak menunjukkan gejala klinis melainkan langsung mati mendadak. Virus penyakit AI memiliki aktivitas hemaglutinasi dari protein Hemaglutinin (HA) untuk mengikat sel darah merah unggas 1%, sehingga dapat dideteksi dengan uji HA/HI. Reaksi positif uji HI karena adanya ikatan antara antigen dengan antibodi spesifik yang homolog ditandai dengan endapan sel darah merah 1% pada dasar plat mikro (Kencana, 2012).

Uji HA dilakukan untuk mengetahui adanya antigen terhadap virus AI. Sedangkan uji HI dilakukan untuk mengetahui titer antibodi spesifik

dalam serum terhadap virus AI (Mahardika *et al.*, 2016). Tujuan pemanasan serum sesaat sebelum dilakukan uji HI adalah untuk menghilangkan faktor penghambat nonspesifik yang terkandung dalam serum agar tidak mengganggu hasil uji HI (Kencana *et al.*, 2015). Adanya faktor penghambat nonspesifik dalam serum dapat mengganggu spesifitas uji HI sehingga menghasilkan nilai titer yang salah (*false negative*) (WHO, 2014).

Berdasarkan hasil uji HI titer antibodi terhadap virus HPAI subtipe H5N1 dari 120 sampel serum ayam buras yang diambil di Pasar Beringkit dan Pasar Galiran didapatkan titer antibodi spesifik dengan kisaran 2^1 HI - 2^6 HI unit. Hasil uji HI tersebut menunjukkan 6 sampel positif (6/120) mengandung antibodi terhadap virus HPAI subtipe H5N1 dengan sebaran titer 2^4 - 2^6 HI unit. Pada Tabel.3 terlihat rata-rata nilai titer antibodi tergolong rendah pada kedua pasar, menunjukkan ayam buras yang di jual banyak yang tidak memiliki antibodi protektif atau antibodi yang ada tidak dapat memberikan proteksi terhadap serangan virus AI. Hal ini dikarenakan ayam buras yang di jual di Pasar Beringkit dan Pasar Galiran tidak pernah di vaksinasi AI. Adanya titer antibodi yang sangat rendah kemungkinan disebabkan karena infeksi alami dari lingkungan yang terkontaminasi. Sementara untuk nilai titer antibodi yang tinggi tersebut diduga diperoleh dari sistem pertahanan tubuh yang merespon paparan virus AI secara terus menerus dari lingkungan sehingga terbentuk antibodi dalam tubuh unggas secara alami (Elfidasari *et al.*, 2014).

Titer antibodi protektif adalah tingkat titer antibodi yang menunjukkan kekebalan hewan terhadap suatu infeksi. Titer antibodi ayam dikategorikan protektif terhadap serangan AI apabila titer antibodi $\geq 2^4$ HI unit (OIE, 2015). Untuk kategori titer tidak protektif $< 2^4$ (Direktorat Jenderal Peternakan, 2005). Titer antibodi $> 2^4$ HI unit dapat memberikan proteksi terhadap penyakit AI sekitar 75%, sedangkan nilai titer antibodi kisaran 2^6 - 2^8 HI unit dapat memberikan tingkat proteksi 100% (Swayne, 2005). Kondisi titer antibodi ayam tidak akan selamanya protektif, setelah beberapa periode waktu, titer antibodi akan menurun dan kecepatan penurunan titer antibodi ini dipengaruhi oleh tantangan antigen penyakit maupun kondisi ternaknya (Sianita *et*

al., 2011). Selain itu variasi titer antibodi dapat dipengaruhi oleh beberapa kondisi diantaranya kesehatan ayam, jumlah virus yang menginfeksi, dan perbedaan waktu infeksi (Bernadeta *et al.*, 2015). Mekanisme imunitas dapat dipicu apabila dirangsang oleh paparan dosis virus yang cukup. Lamanya virus menginfeksi ayam juga mempengaruhi titer antibodi. Hewan yang baru saja terpapar virus (jangka waktu pemaparan singkat) akan menunjukkan nilai titer yang rendah, karena jumlah virus masih sedikit sehingga hewan tidak mampu menghasilkan antibodi dalam jumlah yang cukup tinggi (Darmawi *et al.*, 2012).

Mahardika *et al.* (2016) menyatakan bahwa uji HI pada suatu serum dengan titer antibodi 4 unit HI (2^2) menunjukkan hasil positif rendah. Titer antibodi 2^2 HI unit dianggap positif dengan titer antibodi yang sangat rendah karena sampel diambil dari ayam buras yang tidak divaksinasi (Suryana, 2005). Namun, dalam OIE, (2015) titer antibodi 2^1 HI unit sampai 2^2 HI unit dianggap dubius. Apabila menggunakan antigen 4HA unit, hasil uji dikatakan positif apabila titer antibodinya $\geq 2^4$ HI unit. Sementara jika menggunakan pengenceran antigen 8 HA unit, hasil uji dikategorikan positif apabila titer antibodi $\geq 2^3$ HI unit.

Ayam buras yang tidak memiliki antibodi terhadap AI karena tidak ada paparan virus AI dalam tubuhnya. Berdasarkan hasil pemeriksaan serologi HI, besarnya titer antibodi ini menunjukkan bahwa ayam buras yang di jual di Pasar Beringkit dan Pasar Galiran tampaknya pernah terinfeksi oleh virus AI meskipun titer antibodinya rendah. Antibodi yang terdeteksi memiliki titer rendah $< 2^4$ HI unit, bersifat tidak protektif terhadap virus AI (OIE, 2000). Titer antibodi ayam buras pada penelitian ini sebagian besar berada pada kisaran 2^2 HI unit yang mana titer tersebut bersifat tidak protektif.

Sampel diambil dari ayam buras yang berumur 3 bulan keatas sehingga maternal antibodi sudah tidak ada, dan untuk melihat terjadinya infeksi pada ayam buras tersebut. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan titer antibodi rendah yaitu ketika ayam buras terinfeksi virus HPAI dengan jumlah antigen sedikit sehingga tubuh kurang mampu membentuk antibodi (Darmawi *et al.*, 2013). Selain itu, kemungkinan karena ayam sudah lama terinfeksi alami sehingga titer antibodinya

sudah menurun. Ketika ayam buras tidak memiliki antibodi protektif akan dapat terinfeksi virus HPAI-H5N1 (Yuliantari *et al.*, 2018).

Titer antibodi yang rendah pada penelitian ini dapat juga disebabkan karena ayam buras tidak pernah divaksinasi dengan vaksin yang mengandung antigen dari virus AI subtipe H5N1. Ayam buras yang tidak memiliki antibodi atau titer antibodinya yang rendah sangat berisiko terhadap paparan virus HPAI subtipe H5N1 karena dapat menimbulkan kematian 100%. Di Kabupaten Tabanan virus HPAI subtipe H5N1 masih ditemukan pada ayam buras tidak divaksinasi (Kencana *et al.*, 2018). Kecamatan Marga lokasinya relatif dekat dengan Pasar Beringkit. Hasil wawancara dengan pedagang ayam buras di Pasar Beringkit saat pengambilan sampel bahwa mereka mendapatkan ayam buras juga dari pedagang ayam asal Kecamatan Marga.

Hasil penelitian menunjukkan seroprevalensi penyakit AI subtipe H5N1 pada ayam buras yang di jual di Pasar Beringkit sebanyak 3,3% (2/60) sedangkan di Pasar Galiran 6,7% (4/60). Secara keseluruhan seroprevalensi di kedua pasar diperoleh sebesar 5,0%, lebih kecil dibandingkan dengan seroprevalensi di Bali tahun 2017 sebanyak 6,6% (BBVet, 2018). Perbedaan angka seroprevalensi AI di Pasar Beringkit dan Galiran dapat dipengaruhi oleh faktor kondisi ayam buras yang dijual di pasar. Tingginya permintaan pasar pada saat tertentu memungkinkan para pedagang dan pengepul mendatangkan ayam buras dari daerah lain termasuk pula dari luar Bali (Disnak, 2009). Selain itu ada banyak faktor lain yang mempengaruhi perbedaan seroprevalensi AI diantaranya musim, migrasi burung liar, perbedaan manajemen peternakan asal unggas, keadaan lingkungan yang memungkinkan adanya kontak dengan itik yang merupakan reservoir virus AI dan unggas lain, daya tahan tubuh unggas, dan populasi ternak di pasar unggas dan peternakan (Saif, 2006).

Pendistribusian unggas terjadi dari berbagai peternakan ke Pasar Unggas Beringkit dan Galiran dilakukan langsung oleh peternak tanpa diperantarai oleh pengepul ayam. Sementara pengepul bertugas untuk membawa unggas dari berbagai peternakan dan mengantarkannya ke Pasar Unggas. Para peternak juga membeli

bibit ayam buras di pasar unggas Beringkit dan Galiran sehingga terjadi kontak yang saling berkesinambungan di pasar. Pada saat pendistribusian unggas kemungkinan terjadi penyebaran virus AI dari peternakan ke pasar unggas Beringkit dan Galiran atau sebaliknya (Disnak, 2009). Peristiwa tersebut dapat diperparah lagi oleh manajemen yang buruk, baik di pasar, peternakan, maupun kendaraan pasar yang tidak didesinfeksi secara rutin yang dapat meningkatkan kemungkinan virus AI berkembang dan menyebar (Widyastuti *et al.*, 2008). Perlakuan terhadap ternak ayam buras di pasar misalnya berjubel dalam satu keranjang akan dapat mempengaruhi tingkat stress ayam yang juga turut berpengaruh terhadap infeksi virus AI subtipe H5N1. Stress pada ternak menurunkan sistem kekebalan tubuh sehingga infeksi menjadi lebih parah (Damanik *et al.*, 2013).

Siahaan *et al.* (2014) menyebutkan bahwa tingkat biosekuriti, sanitasi lingkungan, kesadaran higienis manusia, program vaksinasi, maupun pengawasan ternak berpengaruh terhadap infeksi AI. Tindakan pencegahan penularan virus AI dari itik ataupun ayam melalui pasar dapat dilakukan dengan cara regulasi pasar unggas agar tidak mencampurkan berbagai jenis unggas dalam suatu lokasi. Pembersihan kandang atau keranjang tempat menampung ayam buras saat dipasarkan juga perlu dilakukan untuk menghilangkan penyebaran sekunder virus AI. Pembersihan kandang dilakukan dengan menggunakan air secara berkala dengan frekuensi yang berbeda di antara masing-masing pemilik. Material seperti peralatan dan kandang yang tidak didesinfeksi secara berkala memungkinkan virus AI mampu bertahan hidup dalam kurun waktu yang lebih lama. Penerapan biosekuriti yang ketat seperti penggunaan desinfektan serta program vaksinasi merupakan faktor-faktor yang berperan untuk meminimalkan penyebaran virus AI ke lingkungan (Hewajuli *et al.*, 2014)

Berdasarkan hasil analisis data uji HI dari sampel serum ayam buras yang di peroleh menunjukkan bahwa virus AI subtipe H5N1 masih bersirkulasi di Pasar Beringkit dan Galiran. Meskipun data hasil *survey* seroprevalensi terhadap penyakit AI menunjukkan nilai positif di Pasar Beringkit dan Pasar Galiran, namun data ini tidak dapat digunakan sebagai acuan untuk pelaksanaan

monitoring dan evaluasi dalam jangka waktu yang lama. Hal ini dikarenakan survey lapangan hanya dilakukan dalam satu kali penelitian, sementara virus AI akan selalu mengalami dinamika setiap waktu. Hal ini menyebabkan hasil penelitian sekarang belum tentu sama dengan kondisi lapangan pada waktu berikutnya. Oleh karena itu perlu dilakukan pemantauan terhadap virus AI subtipe H5N1 di Pasar Beringkit dan Pasar Galiran secara periodik dalam jangka waktu panjang agar munculnya virus AI subtipe H5N1 ganas dapat terdeteksi secara dini.

Kesimpulan

Disimpulkan bahwa seroprevalensi penyakit AI subtipe H5N1 pada ayam buras di Pasar Beringkit sebesar 3,3% dan di Pasar Galiran sebesar 6,7% dengan rata-rata seroprevalensi di kedua pasar sebesar 5,0% yang secara statistik tidak berbeda nyata. Hasil tersebut menunjukkan bahwa virus *avian influenza* masih endemis di Bali, dan bersirkulasi di Pasar Beringkit dan Pasar Galiran, Bali. Mengingat proporsi titer antibodi yang diuji dengan antigen dari virus AI subtipe H5N1 pada ayam buras yang dijual di Pasar Beringkit dan Galiran termasuk kategori tidak protektif maka perlu dilakukan vaksinasi pada ayam buras. Manajemen pasar perlu diperbaiki untuk mengurangi resiko penularan dan penyebaran virus AI pada hewan dan manusia.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Besar Veteriner Denpasar yang telah memberikan fasilitas penelitian serta telah memberikan kepercayaan terhadap penulis dan FKH Udayana dalam melakukan kerjasama terkait *surveilans* rutin terhadap Virus Avian Influenza subtipe H5N1.

Daftar Pustaka

Amonsin, A., Choatrakol, C., Lapkuntod, J., Tantilertcharoen, R., Thanawongnuwech, R., Suradhat, S., Suwannakarn, K., Theamboonlers, A. P., dan Yong. 2008. Influenza Virus (H5N1) in Live Bird Markets dan Food Markets, Thailand. *Emerging Infectious Diseases*. 14 (11): 1739-1742.

- Balai Besar Veteriner. 2018. Laporan Tahunan Balai Besar Veteriner Denpasar Tahun 2017. Direktorat Jenderal Peternakan
- Bernadeta, E., Yuanita, I., dan Silitonga, L. 2015. Deteksi Antibodi Terhadap Virus Avian Influenza pada Ayam Buras di Peternakan Rakyat Kota Palangka Raya. *Jurnal Ilmu Hewani Tropika*. 4 (1): 22-26.
- Elfidasari, D., Puspitasari, R, L., dan Frisa, A. 2014. Deteksi Antibodi Akibat Paparan Virus AI Subtipe H5N1 pada Unggas Air Domestik di Sekitar Cagar Alam Pulau Dua. *Jurnal Al- Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*. 2(4): 260-269.
- Damanik, E. G., Kencana, G. A. Y., dan Mahardika, I. G. N. K. 2013. Seroprevalensi Penyakit Avian Influenza pada Itik di Kabupaten Klungkung. *Buletin Veteriner*. 5(2): 139-146.
- Darmawi., Manaf, Z. H., Darniati., Fakhurrizi., Abrar M., dan Erina. 2012. Deteksi Antibodi Serum Terhadap Virus *Avian influenza* pada Ayam Buras. *Agripet*. Vol 12 (1): 23-27
- Darmawi. D., Dewi, M., Fakhurrizi., Abrar, M., dan Erina. 2013. Seroprevalensi Avian Influenza H5N1 pada Unggas di Kabupaten Aceh Utara. *Agripet*. 13(2): 21-25.
- Dinas Peternakan Provinsi Bali. 2009. Panduan Pengendalian Penyakit hewan Menular Strategis.
- Dinh, P. N., Long, H. T., Tien, N. T. K., Hien, N. T., Mai, L. T. Q., Phong, H., Tuan, L. V., Tan, H. V., Nguyen, N. B., Tu, P. V., and Phuong, N. T. M. 2007. Risk Factor for Human Infection with Avian Influenza A H5N1, Vietnam. *Emerging Infect Dis*. 13 (9).
- Direktorat Jenderal Peternakan. 2005. Manual Standar Kesehatan Hewan. Edisi Pedoman Surveilans dan Monitoring Avian Influenza di Indonesia. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Hartawan, D. H. W. 2011. Deteksi Avian Influenza di Pasar Unggas Berisiko Tinggi di Propinsi Bali pada Musim dan Jumlah Permintaan Unggas yang Berbeda (*tesis*). Yogyakarta. Universitas Gajah Mada.

- Hewajuli, D. A., dan Dharmayanti, N. I. P. I. 2008. Karakterisasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza (AI). *Wartazoa*. 18(2): 86-100.
- Hewajuli, D. A., dan Dharmayanti, N. I. P. I. 2014. Identifikasi Flu Burung H5N1 pada Unggas di Sekitar Kasus Flu Burung pada Manusia Tahun 2011 di Bekasi. *Jurnal Veteriner*. 15(1): 68-78. ISSN: 1411-8327.
- Kandun, I. N. 2006. Pengendalian penyakit flu burung di Indonesia. Seminar ilmiah Avian Influenza- A global new life threatening disease, UGM.
- Kencana, G. A. Y. 2012. Penyakit Virus Unggas. *Udayana University Press*. ISBN: 978-602-7776-01 -2.
- Kencana, G. A. Y., Suartha, I. N., Paramita, N. M. A. S., dan Handayani, A. N. 2016. Vaksin Kombinasi Newcastle Disease dengan Avian Influenza Memicu Imunitas Protektif pada Ayam Petelur terhadap Penyakit Tetelo dan Flu Burung. *Jurnal Veteriner*. 17(2): 257 – 264.
- Kencana, G. A. Y., Suartha, I. N., Simbolon, M. P., Handayan,i A. N., Ong, S., Syamsidar, dan Kusumastuti, A. 2015. Respons Antibodi terhadap Penyakit Tetelo pada Ayam yang Divaksin Tetelo dan Tetelo-Flu Burung. *Jurnal Veteriner*. 16(2): 283-290.
- Kencana, G. A. Y., Suartha, I. N., dan Kardena, I. M. 2018. Avian Influenza Virus-H5N1 Is Circulating Among Backyard Chicken in Marga District, Tabanan Regency, Bali. *Proc. of the 20th FAVA CONGRESS & the 15th KIVNAS PDHI, Bali*.
- Kumala, W. 2005. *Avian Influenza: Profil dan Penularannya pada Manusia*. *Universa Medicina*. 24(4): 184-188.
- Leung, Y. H. C., L. J., Zhang, C. K., Chow, C. L., Tsang, N. G., Chi-Fung, C. K., Wong, Y., Guan, J. S. M., and Peiris. 2007. Poultry Drinking Water Used for Avian Influenza Surveillance. *Emerging Infectious Diseases*. 13(9): 1380-1382.
- Mahardika, I. G. N. K., Sibang, M., Suamba, M., Adnyana, K. A., Dewi, N. M. S., Meidiyanti, K. A., and Paulus, Y. A., 2004. Isolasi virus Influenza pada ayam kampung di Bali. *Jurnal Veteriner* 5 (1): 35-45.
- Mahardika, I. G. N. K., Astawa, I. N. M., Kencana, G. A. Y., Suardana, I. B. K., dan Sari, T. K. 2016. Teknik Lab Virus. *Udayana University Press*. Denpasar. ISBN: 978-602-294-004-9.
- Nguyen, D. C., Uyeki, T. M., Jadhao, S., Maines, T., Shaw, M., Matsuoka, Y., Smith, C., Rowe, T., Lu, X., Hall, H., Xu, H., Balish, A., Klimov, A., Tumpey, T. M., Swayne, D. E., Huynh, L. P. T., Nghiem, H. K., Nguyen, H. H. T., Hoang, L. T., Cox, N. J., and Katz, J. M. 2005. Isolation dan Characterization of Avian Influenza Viruses, Including Highly Pathogenic H5N1, from Poultry in Live Bird Markets in Hanoi, Vietnam, in 2001. *J Virol*. 79(7): 4201– 4212.
- Office International des Epizooties (OIE). 2000. OIE Manual of Standards for Diagnostic Test dan Vaccines, 4th ed. Diakses tanggal 3 Maret 2020.
- Office International des Epizooties (OIE). 2012. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animal Chapter. Capter 2.3.14. Newcastle Disease. Hlm. 1-9 www.oie.int. Diakses tanggal 7 Juli 2020.
- Office International des Epizooties (OIE). 2015. Chapter 2.3.4. Avian Influenza (Infection with Avian Influenza Viruses). OIE Terrestrial Manual: 1 – 23.
- Putra, I. G. N. N., Dewi, N. M. R. K., Suartha, I. N., dan Mahardika, I. G. N. K. 2013. Dinamika Seroprevalensi Virus Avian Influenza H5 pada Itik di Pasar Unggas Beringkit dan Galiran. *Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan*. 1(2): 70-75.
- Saif, M. C. 2006. Avian Influenza. An Internal Report for the College of Food, Agricultural, dan Environmental Sciences.
- Siahaan, L. L., Suartha, I. N., dan Mahardika, I. G. N. K. 2014. Seroprevalensi Avian Influenza pada Itik di Pasar Hewan Beringkit dan Peternakan di Badung. *Indonesia Medicus Veterinus*. 3(2): 147-154. ISSN: 2301-7848.
- Sianita, N., Hasan, Z., dan Kusriningrum, R. 2011. Respon Antibodi dan Protektivitas

- pada Ayam Pasca Vaksinasi Menggunakan Vaksin ND Aktif LV12. *Veterinaria Medika* 4(2):129 – 134.
- Sampurna, I. P., dan T. S. Nindhia. 2019. *Biostatistika*. Penerbit Puri Bagia. Genre Pendidikan.
- Diterbitkan Online melalui nulisbuku.com/view-profile/90381/1%20Putu-Sampurna
- Suartha, I. N., Antara, I. M. D., Wiryana, I. K. S., Sukada, I. M., Wirata, I. W., Dewi, N. M. R. K., dan Mahardika, I. G. N. K. 2010. Peranan Pedagang Unggas dalam Penyebaran Virus Avian Influenza. *Jurnal Veteriner*. 11(4): 220-225.
- Suryana, N. 2005. Isolasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza dari Ayam Asal Peternakan di Jawa Timur. *Prosiding Temu Teknis Nasional Tenaga Fungsional Pertanian 2005*: 186- 190.
- Susanti, R., Soejoedono, R. D., Mahardika, I. G. N. K., Wibawan, I. W. T., dan Suhartono, M. T. 2008. Filogenetik dan Struktur Antigenik Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 Isolat Unggas Air. *J Vet*. 9(3): 99-106.
- Swayne, D. 2005. Avian Influenza, Poultry Vaccines: a review. A ProMed-mail post (<http://www.premedmail.org>). Diakses tanggal 17 Maret 2020.
- Widyastuti N. D. W., Basri, C., Naipospos, T. S. P., dan Bleich, E. G., 2008. Tinjauan Sistem Beternak Itik Secara Lepas di Indonesia dan Penilaian Implikasinya Terhadap Penyebaran AI Strain Highly Pathogenic (H5N1). *KIVNAS 19th – 22th*
- World Health Organization (WHO). 2006. Geographical spread of H5N1 avian influenza in bird– update 28 Situation assessment dan implication for human health. www.who.int/WHO.
- World Health Organization (WHO). 2006. A Manual for Improving Biosecurity in the Food Supply Chain: Focusing on Live Animal Market. Public Health Intervention for Prevention dan Control of Avian Influenza. New Delhi.
- World Health Organization (WHO). 2014. H5N1 highly Pathogenic Avian Influenza: Timeline of Major Event. Available at www.who.int. (Diakses pada tanggal 25 April 2020).
- Wright, P. E., dan Webster, R. G. 2001. Orthomyxoviridae. In *Fields Virology*. 4th ed. Edited by Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Martin MA, Lamb RA, Roizman B, Straus SE, Lippincott Williams, dan Wilkins, Philadelphia, USA: 1533-1568.
- Yuliantari, I. A. M., Kencana, G. A. Y., dan Kardena, I. M. 2018. Seroprevalensi Penyakit Flu Burung (*Avian Influenza*) pada Ayam Kampung di Kerta, Payangan, Gianyar, Bali. *Indonesia Medicus Veteriner*. 7(6): 689-698.

Aktivitas Antimikroorganisme Ekstrak Etanol 70 % Biji Bengkuang terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Candida albicans*

Antimicroorganism Activity Of 70 % Ethanolic Extract Of *Pachyrrizus Erosus* Seed Against *Staphylococcus Epidermidis*, *Pseudomonas Aeruginosa*, And *Candida Albicans*

Min Rahminiwati^{1*}, Joshie Ramadhan¹, Oom Komala²

¹Divisi Farmakologi, Departement Anatomi Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

²Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor.

*Email: minrahminiwati@yahoo.com

Naskah diterima: 28 Maret 2019, direvisi: 21 September 2020, disetujui: 20 Nopember 2020

Abstract

Biopesticida effect of ethanolic extract of *Pachyrrizus erosus* seed and antibacterial activity of this extract on *Staphylococcus* and *E. coli* as well as antifungal against *Candida albicans* have been known very well. However its anti-microorganism activity against *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* have not been reported. In this study we determined the antibacterial activity of seed extract of *Pachyrrizus erosus* against *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* using agar disc diffusion technique and dilution method. The anti-microorganism activity of extract was tested at concentration 10% 12% 14% 16% As control of antibacterial, antifungal activity are eritromisin and ketokonazol at concentration 10 ppm respectively as well as aquadestilata as negative control . The data showed that the extract potentially effective as anti-microorganism against *Staphylooccus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* as well as against *Candida albicans* at concentration of 10 mg/ml as minimum bactericidal concentration.

Key words: Eritromisin *Pseudomonas* biji bengkuang *Candida albicans*; Ketokonazol

Abstrak

Ekstrak etanol 70 % biji bengkuang selain berpotensi sebagai biopestisida, juga dilaporkan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif *Escherichia coli* serta *Candida albicans*. Namun efeknya terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*, belum diketahui. Penelitian ini ditujukan untuk menentukan aktivitas antimikroorganisme ekstrak etanol 70 % biji bengkuang lokal terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Candida Albicans* menggunakan teknik difusi agar dan metoda dilusi. Aktivitas antimikroorganisme ekstrak diteliti pada konsentrasi 10%, 12%, 14%, 16% dan sebagai kontrol negatif, kontrol positif antibakteri dan kontrol positif antifungal masing masing digunakan akuadestilata, eritromisin 10 ppm, ketokonazol 10 ppm. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak efektif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* serta sebagai antifungi terhadap *Candida albicans*, pada konsentrasi bunuh minimum 10 mg/ml.

Kata kunci: Eritromisin *Pseudomonas* biji bengkuang *Candida albicans*; Ketokonazol

Pendahuluan

Tanaman bengkuang merupakan tumbuhan semak semusim dan membelit yang dapat tumbuh dengan baik di lingkungan yang lembab panas, panas dan bebas bunga es. (Rubatzky dkk., 1998). Umbi bengkuang mengandung serat, inulin, vitamin C, flavonoid dan daidzein yang bermanfaat sebagai prebiotik, antidiabetes mellitus, immunomodulator, fitoestrogen dan kecantikan (Roberfroid, 2005; Kumalasari et al., 2014; Nines, 1999). Biji bengkuang mengandung, isoflavonoid, tanin, saponin dan zat nutrisi seperti proteins, lipids, Fe dan Ca, dan rotenoid (Santos et al., 1996; Bella and Lynn, 1953; Parra et al., 2014). Rotenoid adalah suatu flavonoid yang mempunyai efek sebagai inhibitor enzim-enzim pernapasan yang kuat yang menyebabkan transport elektron pada sistem pernapasan terhambat dan akhirnya sintesa ATP sebagai sumber energi ditekan. Namun demikian, rotenon dilaporkan mempunyai banyak manfaat diantaranya sebagai insektisida, obat kulit dan antifungal (Necha et al., 2004). Efek ekstrak bengkuang terhadap *Candida albicans* dilaporkan oleh Wiredu (2014). Wiredu (2014) mengemukakan adanya perbedaan potensi antifungi yang signifikan antara bagian akar daun dan biji yang diduga berkaitan dengan perbedaan kandungan kimia diantara bagian bagian tanaman bengkuang.

Potensi biji bengkuang sebagai antibakteri dikemukakan oleh Juriah (2003) dan Wiredu (2004). Kedua peneliti ini menyatakan bahwa ekstrak biji bengkuang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan gram negatif *Escherichia coli*. Namun, efektivitas antimikroba ekstrak biji bengkuang terhadap bakteri gram negatif *Pseudomonas aeruginosa*, bakteri gram positif *Staphylococcus epidermidis* belum pernah dilaporkan.

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri yang terdapat di tanah dan air. Sekitar 10% *Pseudomonas aeruginosa* merupakan flora normal di kolon (usus besar). Selain itu, bakteri ini juga dapat dijumpai pada daerah lembab di kulit dan saluran pernapasan bagian atas pasien-pasien rumah sakit (Levinson and Jawetz, 2003). *Pseudomonas aeruginosa* merepresentasikan permasalahan yang terkait dengan bakteri yang

resisten terhadap antimikroba Resistensi terhadap antimikroba, disamping adanya mekanisme alami dan labilitas genetik yang tinggi, bakteri ini secara terus menerus mengisi persenjataannya dari mekanisme resistensi yang didapat sehingga kecenderungan untuk menyebarkan resistensi secara global cukup tinggi (Zavascki et al., 2010; Zowalaty et al., 2015; Woodforf et al., 2011)

Staphylococcus epidermidis terdapat pada kulit manusia, saluran pernapasan dan saluran pencernaan. Bakteri ini menyebabkan pembengkakan seperti jerawat, infeksi luka, infeksi saluran kemih dan infeksi ginjal (Radji, 2011). Penularan penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus epidermidis* dapat terjadi melalui kontak dengan peralatan yang terkontaminasi karena *Staphylococcus epidermidis* memiliki kemampuan membentuk biofilm diatas permukaan peralatan sehingga penularan penyakit akan terjadi dengan mudah dilingkungannya. Individu yang mempunyai imunitas rendah mudah terinfeksi oleh bakteri ini.

Candida sp. merupakan flora normal yang biasanya terdapat di kulit tubuh, kulit kepala, mulut, sela-sela jari kaki, di dalam usus, di paru-paru, dan di vagina. Fungi ini menginfeksi berbagai bagian tubuh, seperti mulut, vagina, kulit dan paru-paru (Wesley dan Margaret, 1989). Selain menyerang manusia, candidiasis juga dapat menyerang berbagai jenis unggas terutama ayam, kalkun, burung puyuh dan angsa. Suatu study yang dilakukan terhadap 317 pasien yang meliputi 154 manusia, 69 anjing 21 kerbau, 6 kuda dan 4 kambing semuanya di suspect terkena infeksi fungi. Manifestasi penyakit ini pada hewan secara klinis dapat berupa mastitis subklinis, stomatitis, dermatitis dan otitis (Jadhav and Pal, 2013)

Tujuan dari penelitian ini adalah meneliti aktivitas antimikroba ekstrak biji bengkuang terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan fungi *Candida albicans* serta menetapkan konsentrasi ekstrak biji tanaman bengkuang (*Pachyrrizus erosus*) yang dapat membunuh ketiga mikroorganisme tersebut. Parameter yang diamati meliputi Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) dan Lebar Daerah Hambat.

Materi dan Metode

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji tanaman bengkuang, yang diperoleh dari Pasar Induk daerah Bogor, etanol 70%, pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, FeCl_3 1%, asam klorida 2 N, magnesium (Mg), media Natrium Agar (NA), Media PDA (Potato Dextrose Agar), *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, NaCl 0,9%, Natrium gelatin 10%, eritromisin, ketokonazol, dan akuades.

Alat-alat yang digunakan diantaranya *rotary evaporator*, oven, neraca analitik, tabung reaksi, cawan petri, autoklaf, inkubator, krus, kertas cakram, ayakan mesh 40, *moisture balance*, lemari pendingin, lup inokulasi, kain batis, *Vacuum drier*, api bunsen, jarum ose, sentrifugator dan peralatan gelas lainnya.

Biji tanaman bengkuang yang telah dide-terminasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) disortasi basah kemudian dicuci bersih menggunakan air mengalir. Setelah dikeringkan di dalam oven dengan suhu 40°C selama ± 3 hari, biji bengkuang dibersihkan kembali dari kotoran yang masih menempel kemudian digiling dan diayak menggunakan ayakan mesh 40 (DepKes RI, 1985). Serbuk yang diperoleh digunakan untuk penentuan kadar air dan kadar abu, uji fitokimia dan pembuatan ekstrak.

Penentuan kadar air serbuk dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Sebanyak 1 g serbuk disimpan diatas punch yang telah dipanaskan dan ditara. Serbuk diratakan dalam punch dan dibakar pada suhu 105°C selama kurang lebih 10 menit. Penentuan kadar air dilakukan duplo. Kadar air simplisia pada umumnya ditetapkan $\leq 10\%$ (DepKes RI, 1977).

Pada penentuan kadar abu sebanyak 2 - 3 g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam krus platina atau krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara dalam keadaan dingin. Serbuk dalam krus diratakan dan dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, kemudian didinginkan dan ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara (DepKes RI, 2000). Kadar abu simplisia pada umumnya tidak lebih dari 3,5%.

Cara perhitungannya :

$$\text{Kadar Abu} = \frac{(\text{bobot krus+abu}) - \text{bobot krus kosong}}{\text{bobot sampel}} \times 100\%$$

Ekstraksi serbuk biji bengkuang dilakukan dengan cara maserasi dingin. Seratus gram serbuk biji bengkuang dimaserasi dalam 350 mL etanol 70 % selama 24 jam dengan pengocokan dilakukan setiap 6 jam sekali. Pada jam ke 24 maserat disaring menggunakan kain batis. Filtrat yang diperoleh disimpan dalam suhu kamar. Residunya diremaserasi 2 kali menggunakan pelarut alkohol yang baru. Total pelarut alkohol yang digunakan untuk mengekstrak 100 g serbuk biji adalah 1000 mL. Semua maserat (filtrat) dari masing masing proses maserasi dikumpulkan kemudian dienaptuangkan selama 24 jam. Larutan hasil tuangan dikeringkan dengan *Vacuum drier*. Rendemen ekstrak kering yang diperoleh dihitung dengan cara sebagai berikut.

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

Ekstrak yang diperoleh disimpan dalam desikator untuk selanjutnya digunakan dalam uji fitokimia dan uji antimikroba.

Uji fitokimia yang meliputi penentuan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin dilakukan sebagai salah satu upaya standardisasi bahan baku.

Penentuan golongan alkaloid dilakukan mengikuti protokol yang terdapat dalam DepKes RI (1980). Satu mL HCl 2 N, dan 9 mL air suling berturut turut ditambahkan ke dalam 0,5 g ekstrak biji bengkuang, kemudian dipanaskan selama 2 menit. Setelah didinginkan larutan disaring dan filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam 3 tabung yang berbeda masing masing sebanyak 1 mL. Dua tetes pereaksi Wagner, dimasukkan ke dalam tabung pertama, pereaksi Dragendorf ke dalam tabung kedua dan pereaksi Mayer ke dalam tabung ketiga. Reaksi dinyatakan positif mengandung alkaloid jika dengan penambahan pereaksi Wagner, terbentuk warna coklat sampai hitam, warna merah atau jingga dengan penambahan Dragendorf dan warna putih atau kuning dengan penambahan pereaksi Mayer (DepKes RI, 1980).

Penentuan senyawa golongan flavonoid dilakukan terhadap kurang lebih 0,5 g ekstrak biji bengkuang. Biji bengkuang dimasukkan ke dalam 100 mL air panas, kemudian dididihkan selama 5 menit dan disaring. Serbuk Mg sebanyak 0,5 g, HCl pekat dan amil alkohol berturut turut di masukkan ke dalam 5 mL filtrat yang diperoleh. Terbentuknya warna kuning merah atau jingga dalam larutan amil alkohol setelah dikocok kuat kuat dan dibiarkan memisah menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid (DepKes RI, 1980).

Ekstrak bengkuang sebanyak 0,2 g untuk penentuan senyawa golongan tannin, setelah ditambah 5 mL air suling panas diaduk dalam tabung kemudian didinginkan dan diendapkan menggunakan sentrifuse. Bagian yang cair dipisahkan dari bagian yang padat dengan cara di dekantisir. NaCl 0,9% ditambahkan ke dalam bagian yang cair dan disaring kemudian ke dalam 1 mL filtrat yang diperoleh ditambahkan larutan gelatin 10% sebanyak 3 mL. Endapan yang terbentuk setelah penambahan gelatin 10 % menunjukkan larutan positif mengandung tanin (Fransworth, 1966).

Ekstrak biji bengkuang sebanyak 0,5 g dilarutkan dalam 10 mL air panas kemudian didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil dinyatakan positif mengandung saponin bila terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 m dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N, buih tidak hilang (DepKes RI, 1978).

Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak dilakukan pada isolat bakteri dan fungi. Isolat bakteri ditumbuhkan pada media agar miring NA sedangkan untuk fungi pada media PDA (Potato Dextrose Agar) yang steril. Media biakan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, Setelah tumbuh, biakan disimpan pada lemari pendingin suhu 4°C sebagai stok.

Penentuan KBM dan LDH

Staphylococcus epidermidis, *Pseudomonas aeruginosa*, masing masing sebanyak satu ose secara terpisah dimasukkan ke dalam tabung yang berisi NaCl 0,9% sebanyak 9 mL untuk membuat stok suspensi bakteri dan jamur. Suspensi dihomogenkan dengan cara pengocokan (pengenceran 10^{-1}), selanjutnya dari stok suspensi

tersebut dibuat pengenceran berseri 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} sampai 10^{-6} dengan menggunakan NaCl 0.9 % sebagai larutan pengencer. Khusus untuk *Candida albicans*, pengenceran tertinggi dilakukan sampai dengan pengenceran 10^{-4} . Satu mL biakan dari masing-masing pengenceran diambil dan dicampurkan ke dalam 20 mL media agar cair suhu 45°C. Media cair dituangkan ke dalam cawan petri yang telah disterilkan diikuti dengan menggerakkan cawan seperti angka 8 atau dengan gerakkan melingkar supaya pertumbuhan bakteri merata. Jumlah koloni agar dihitung setelah diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Perhitungan jumlah koloni dilakukan sebelum perlakuan untuk memenuhi persyaratan uji, yaitu antara 30-300 koloni setiap cawan.

Penyiapan Larutan Uji, Larutan Kontrol dan Kertas Cakram

Larutan ekstrak diuji aktivitas antimikro-organismenya pada konsentrasi 10%, 7,5%, 5%, 2,5% pada penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan 10%, 12%, 14%, 16% pada penentuan Lebar Daerah Hambat (LDH). Sebagai kontrol positif untuk bakteri gram positif dan negatif digunakan larutan eritromisin 10 ppm, untuk kontrol positif fungi digunakan ketokonazol 10 ppm. dan sebagai kontrol negatifnya digunakan akuades.

Kertas cakram berukuran 6 mm disterilisasi dengan cara meletakkan kertas cakram dalam cawan petri kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf 121°C, 1 atm selama 15 menit. Kertas cakram steril secara terpisah ditetesi larutan uji dan kontrol positif serta kontrol negatif masing-masing 20 µL. Selanjutnya kertas cakram tersebut dikeringkan pada suhu 37°C sampai kering dan siap digunakan.

Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi terkecil yang dapat membunuh mikro-organisme. Nilai KBM ditetapkan berdasarkan pada tidak adanya pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Candida albicans* dipermukaan media yang menandakan masing-masing mikroba uji mati karena larutan uji pada konsentrasi tersebut.

(McKane dan Kandel, 1996; Koneman *et al.*, 1997).

Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan menggunakan metode dilusi agar. Sebanyak 20 mL media NA untuk bakteri dan 20 mL media PDA untuk jamur, yang telah disterilkan dimasukkan ke dalam cawan petri dengan cara aseptis diikuti dengan penambahan ekstrak pada berbagai konsentrasi sebanyak 1 mL. Selanjutnya media tersebut diaduk sampai homogen dan dibiarkan sampai mengeras. Sediaan bakteri untuk penentuan KBM dibuat pada konsentrasi bakteri 10^{-6} , sedangkan untuk jamur dibuat konsentrasi 10^{-4} . Penentuan konsentrasi dilakukan dengan menentukan kekeruhan menurut standar Mc Farland. Sebanyak 0,2 mL bakteri yang sudah disiapkan disebar diatas permukaan media NA yang sudah mengeras sedangkan untuk jamur disebar diatas permukaan media Potato Dextrose Agar (PDA). Pengamatan terhadap pertumbuhan mikroorganisme dilakukan pada media yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C .

Pengujian Lebar Daerah Hambatan (LDH)

Inokulum mikroba dari hasil pengenceran diambil sebanyak 0,2 mL, dicampurkan ke dalam media NA untuk bakteri atau media PDA untuk jamur. Setelah diratakan dengan menggunakan *spreader* agar menyebar merata, kertas cakram yang sudah berisi larutan ekstrak 10%, 12%, 14%, 16%, dan kontrol diletakkan di atas media agar kemudian dimasukkan ke dalam inkubator. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C . Zona bening yang terbentuk disekeliling cakram diukur dan ditentukan Lebar Daerah Hambat nya (LDH) (Gambar 1). Pengujian ini dilakukan untuk masing-masing konsentrasi ekstrak dengan 4 kali pengulangan. Data yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan analisa sidik ragam (*Analysis Varian/ANOVA*)

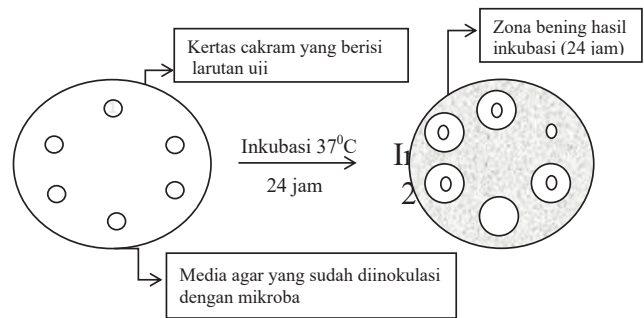
Cara penentuan LDH:

$$\text{LDH} = \frac{\text{DDH} - \text{Disk}}{2}$$

Keterangan:

- LDH : Luas Daerah Hambatan
- DDH : Diameter Daya Hambat (cm)
- Disk : Ukuran kertas saring (cm)

Pengujian :



Gambar 1. Letak kertas cakram pada media Nutrien Agar (NA) dan PDA (Potato Dextrose Agar) yang telah di inkubasi dengan *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Candida albicans*.

Keterangan : 1 : Eritromisin (kontrol positif untuk bakteri) dan ketokonazol (kontrol positif untuk jamur), 2: Akuadestilata (kontrol negatif), 3: Konsentrasi ekstrak 10%, 4: Konsentrasi ekstrak 12%, 5:Konsentrasi ekstrak 14% 6: Konsentrasi ekstrak 16%

Hasil Dan Pembahasan

Proses pembuatan serbuk simplisia biji bengkuang terhadap 1,5 kg biji menghasilkan 425,32 g serbuk simplisia dengan rendemen sebesar 28,3%. Proses maserasi terhadap 300 g serbuk menggunakan etanol 70% yang dilanjutkan dengan proses pengeringan ekstrak menggunakan *vaccum drier* menghasilkan ekstrak kering sebanyak 57,3 g, dengan perolehan rendemen sebanyak 19,1 % (Gambar 2).



Gambar 2. Serbuk Simplisia Biji Tanaman Bengkuang (a) dan Ekstrak Kering Biji Tanaman Bengkuang

Berdasarkan hasil penentuan kadar air dan kadar abu simplisia, serbuk simplisia biji tanaman bengkuang mengandung kadar air sebesar 7,27% dan kadar air ekstrak kering biji tanaman bengkuang sebesar 4,02% dengan rerata kadar abu serbuk simplisia biji bengkuang sebesar 3,40%. Kadar air dan kadar abu simplisia mapun ekstrak tersebut memenuhi persyaratan kadar air serbuk simplisia yang tertuang dalam materia medika Indonesia edisi 1 (DepKes RI, 1977), yaitu persyaratan kadar air simplisia dan ekstrak tidak

lebih dari 10% dan kadar abu tidak lebih dari 3,5% (DepKes RI, 2000).

Hasil uji fitokimia yang dilakukan terhadap serbuk simplisia dan ekstrak kering biji bengkuang menunjukkan kedua sampel tersebut positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Penetapan Uji Fitokimia Ekstrak Biji Tanaman Bengkuang

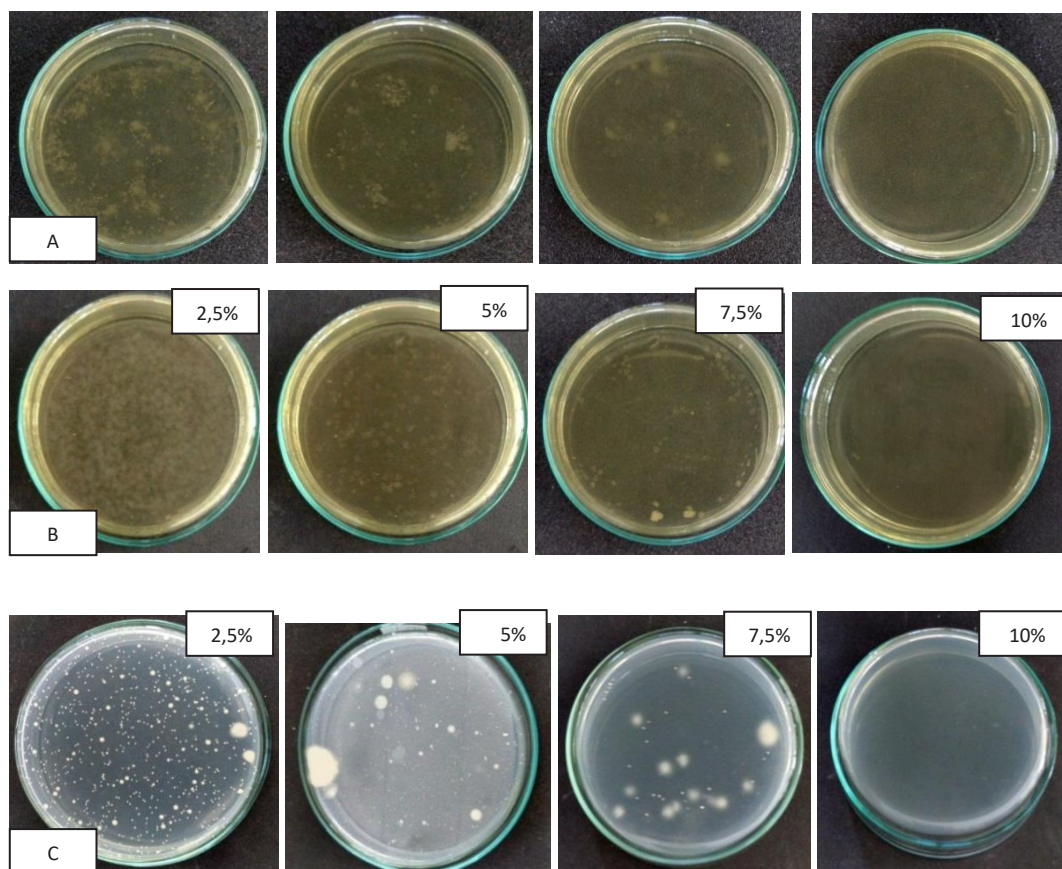
Golongan Senyawa	Serbuk simplisia Biji tanaman Bengkuang	Ekstrak kering Biji Tanaman Bengkuang
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Tanin	+	+

Keterangan: tanda (+) positif ada, tanda (-) negatif tidak ada.

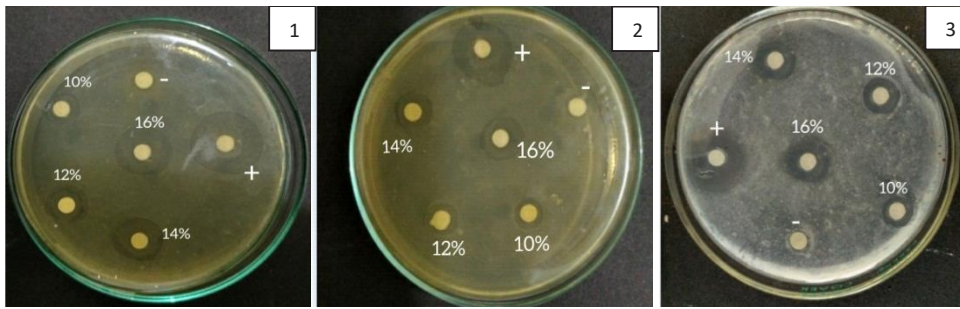
Aktivitas antimikroba ekstrak biji bengkuang terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, serta fungi *Candida albicans*

disajikan pada Gambar 3-4 dan Tabel 2. Hasil uji KBM, menunjukkan adanya pertumbuhan mikroorganisme pada media yang mengandung ekstrak konsentrasi 2,5-7,4 %, namun pada media tumbuh yang mengandung ekstrak biji bengkuang 10 % tidak teridentifikasi adanya pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, maupun *Candida albicans*. Berdasarkan data tersebut maka KBM ekstrak untuk ketiga mikroorganisme tersebut ditetapkan berada pada konsentrasi 10% (Gambar 3).

Daya inhibisi ekstrak ditentukan berdasarkan hasil uji sensitivitas mikroorganisme terhadap ekstrak pada uji cakram. Lebar Daerah Hambat (LDH) pada uji cakram merupakan refleksi dari diameter zona bening yang terbentuk akibat adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh bioaktif. Nilai LDH ekstrak biji bengkuang terhadap *Staphyococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, serta *Candida albicans* disajikan pada Tabel 2.



Gambar 3. (a) Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Biji Tanaman Bengkuang terhadap *Staphylococcus epidermidis*; (b) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan (c) terhadap *Candida albicans*



Gambar 4. Hasil Uji LDH Ekstrak Biji Tanaman Bangkuang Terhadap 1) *Staphylococcus epidermidis*, 2) *Pseudomonas aeruginosa*, 3) *Candida albicans*.

Tabel 2. Lebar Daerah Hambat (LDH) Ekstrak Biji Tanaman Bengkuang terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Candida albicans*

Mikroorganisme	Kontrol negatif	Ekstrak				kontrol (+)
		10	12	14	16	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ^b	0	3.54 ± 0.069	4.04 ± 0,232	5.43 ± 0.312	6.55 ± 0,324	11.40 ± 0.451
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^a	0	2.30 ± 0.071	2.70 ± 0.158	4.35 ± 0.279	5.45 ± 0.319	11.43 ± 0.455
<i>Candida albicans</i> ^b	0	3.46 ± 0.138	4.01 ± 0.085	5.35 ± 0.279	6.46 ± 0.342	11.39 ± 0.464

Keterangan. Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan efek ekstrak yang signifikan terhadap mikroorganisme uji (ANOVA P<0.05 dilanjutkan dengan Duncan P<0.05). namun tidak berlaku untuk

Data yang disajikan pada Tabel 2 menunjukkan bahwa kontrol negatif memiliki LDH 0 yang berarti tidak ada aktivitas antimikroba. Aktivitas antimikroba ditunjukkan oleh ekstrak biji tanaman bengkuang pada konsentrasi 10% dengan nilai rata – rata LDH ekstrak yaitu 3.54 ± 0.069 mm untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis*, 2.30 ± 0.071 mm untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dan 3.46 ± 0.138 mm untuk jamur *Candida albicans*. Nilai LDH ekstrak terhadap ketiga mikroorganisme tersebut semakin tinggi sejalan dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak dari 12%, 14% dan 16% secara berturut – turut yaitu 4.04 ± 0,232 mm, 5.43 ± 0.312 mm, 6.55 ± 0,324 mm untuk *Staphylococcus epidermidis*, 2.70 ± 0.158 mm, 4.35 ± 0.279 mm, 5.45 ± 0.319 mm untuk *Pseudomonas aeruginosa*, dan 4.01 ± 0.085 mm, 5.35 ± 0.279 mm, 6.46 ± 0.342 mm untuk *Candida albicans*. Dengan demikian, konsentrasi terbaik yang dapat membunuh mikroorganisme dari ekstrak biji bengkuang pada percobaan ini adalah 16%. Namun, aktivitas antimikroba dari ekstrak biji bengkuang pada konsentrasi tersebut masih lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif.

Hasil analisa statistik dengan ANOVA, menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antimikroba ekstrak yang signifikan terhadap ketiga mikroorganisme tersebut (ANOVA, P<0.05). Aktivitas antimikroba ekstrak terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ialah paling rendah diikuti dengan aktivitas antimikroba terhadap *Candida albicans* dan aktivitas antimikroba ekstrak terhadap *Staphylococcus epidermidis* (ANOVA dilanjutkan Duncan P<0.05).

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram negatif yang kurang sensitif dibandingkan dengan *Staphylococcus epidermidis* dan *Candida albicans* terhadap ekstrak biji bengkuang. Struktur dinding bakteri gram negatif mempunyai membrane luar (*Outer membrane*) yang melindungi bakteri dari beragam antibiotik, bahan kimia dan detergen. Struktur dinding bakteri gram positif lebih sederhana dibandingkan dengan struktur bakteri gram negatif. Hal ini menyebabkan senyawa antimikroorganisme dari ekstrak biji bengkuang lebih mudah menembus dinding dan masuk ke dalam sel bakteri gram positif daripada menembus

dinding sel bakteri gram negatif (Peng *et al.*, 2017).

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa selain aktivitas antimikrobanya rendah, potensi antimikroba ekstrak terhadap *Pseudomonas aeruginosa* juga lebih rendah dibandingkan dengan potensi antimikroba ekstrak terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Candida albicans*. Potensi antimikroba ekstrak pada konsentrasi 16 % terhadap kontrolnya ialah 57,5 untuk *Staphylococcus epidermidis*, 47,7 untuk *Pseudomonas aeruginosa*, dan 56,7 % untuk *Candida albicans*. Potensi antimikroba dihitung berdasarkan LDH tertinggi dibagi dengan LDH kontrol positif dikali 100 %.

Aktivitas antimikroba ekstrak biji bengkuang terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dibandingkan dengan tanaman Yasmin dan Mayana juga masih rendah. LDH ekstrak *Yasmin officinale* baik berupa ekstrak air dingin dan ekstrak air hangat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* masing masing ialah 16 dan 9 mm (Khan *et al.*, 2013). LDH ekstrak etanol daun Mayana konsentrasi 10 % ialah 8 mm (Mpila *et al.*, 2012).

Davis and Stout (1971) memaparkan potensi antimikroba berdasarkan lebar daerah hambat. Diameter zona hambat, yaitu 5 mm atau <5 mm dikategorikan lemah, 5-10 mm dikategorikan sedang zona 10-20 dikategorikan kuat, lebih atau sama dengan 20 mm dikategorikan sangat kuat. Pada konsentrasi tertinggi yaitu 16 %, ekstrak biji bengkuang mempunyai LDH < 5 mm namun kurang dari 10 mm. Berdasarkan klasifikasi tersebut maka ekstrak biji bengkuang mempunyai aktivitas antimikroorganisme yang termasuk ke dalam kategori sedang.

Flavanoid, saponin dan tanin diduga berperan penting terhadap aktivitas antimikroba biji bengkuang. Robinson (1995) mengemukakan bahwa flavanoid, saponin dan tannin mempunyai aktivitas antibakteri melalui mekanisme kerja yang berbeda. Flavanoid bekerja sebagai antibakteri melalui proses denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri mati, sedangkan saponin bekerja sebagai antibakteri melalui peningkatan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis sel. Selain itu, saponin bekerja sebagai antimikroorganisme dengan cara membentuk ikatan yang stabil dengan protein yang

menyebabkan terjadinya koagulasi protoplasma (Robinson, 1995).

Sejalan dengan penelitian ini, Wiredu (2014) melakukan penelitian terhadap kandungan polifenol biji, daun dan akar bengkuang. Hasilnya menunjukkan keberadaan polifenol dengan kandungan polifenol tertinggi terdapat pada akar diikuti oleh biji dan daun, selain itu juga diketahui adanya perbedaan komposisi kandungan fitokimia pada akar, biji dan daun. Namun Wiredu (2014) tidak melaporkan adanya flavonoid dalam ekstrak etanol 70 % biji bengkuang. Perbedaan potensi ekstrak biji bengkuang untuk *Pseudomonas* kemungkinan terjadi karena adanya perbedaan tempat tumbuh dari tanaman bengkuang yang diambil bijinya sebagai objek dalam penelitian ini.

Ekstrak biji bengkuang pada penelitian ini masih termasuk ke dalam ekstrak kasar. Beragam senyawa kimia masih terdapat di dalam ekstrak sehingga aktivitas antimikroba yang muncul merupakan hasil dari resultante kinerja senyawa yang ada di dalamnya baik sebagai agonis maupun antagonis. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui senyawa dalam ekstrak bengkuang yang berpotensi sebagai antimikroorganisme

Kesimpulan

Ekstrak biji tanaman bengkuang memiliki aktivitas terhadap bakteri *Staphylooccus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta fungi *Candida lbican* dengan nilai KBM 10 % . Semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji tanaman bengkuang, maka semakin besar aktivitas dalam membunuh mikroba. Flavonoid, saponin dan tannin merupakan bioaktif dari ekstrak etanol biji bengkuang yang diduga mempunyai efek antimikroorganisme terhadap ketiga mikroorganisme tersebut.

Daftar Pustaka

- Bella, B.Y and Lynn, E.V. (1953). Examination of the Seed of *Pachyrrhizus erosus*. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific ed.)*. 42 (2) : 117-118.
- Davis, W. W., dan Stout, T. R.(1971). Disc Plate Method of Microbiological. Antibiotic

- Assay. *Applied Microbiology*. 22 (4): 659-665.
- Dep. Kes RI. (1977). *Materia Medika Indonesia, Edisi III*. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Dep. Kes RI. (1978). *Materia Medika Indonesia*. Jilid II. Jakarta. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Hal : 49-150.
- Dep. Kes RI. (1980). *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV. Cetakan Pertama. Jakarta : Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Dep. Kes RI. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. Hal : 1-22.
- Dep. Kes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.:
- Fransworth, N.R. (1966). Biological and Phytochemical Screening Of Plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 55 (3) : 262-264.
- Jadhav, V.J., and Pal, L. M. (2013). Human and domestic animal infections caused by *Candida albicans*. *J. Mycopathol. Res.* 51(2): 243—249.
- Juriah, J. (2003). *Fraksinasi Ekstrak Biji Bengkuang (Pachyrrhizus erosus) yang Berpotensi Sebagai Antibakteri*. Skripsi. IPB. Bogor :
- Khan, U.A., Rahman, H., Niaz, Z., Qassim, M., Khan, J., Tayyaba and Rehman, B. 2013. Antibacterial activity of Some Medicinal Plants Against Selected Human Pathogenic Bacteria, *European Journal of Microbiology and Immunology* 3 (4): 272–274.
- Kumalasari, I.D., Nishi, K., Harmayani, E., Raharjo, S., Sugahara, T. (2014). Immunomodulatory Activity of Bengkoang (*Pachyrrhizus Erosus*) Fiber Extract In Vitro And In Vivo. *Cytotechnology*. 66(1):75-85.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., and Winn, W.C. (1997). *Color atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Fifth Edition. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer Company. Page : 171-199.
- Levinson, W.M.D., and Jawetz, E. (2003). *Medical Microbiology And Immunology (Examination and Board Review)*. Seventh edition. McGraw Hill Companies. Nort America : 286 – 288.
- McKane, L. and Kandel, J. (1996). *Microbiology : Essentials and Applications*. McGraw-Hill. New York.
- Mpila, D. A., Fatimawali., & Wiyono, W. I. (2012). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa* secara In Vitro (online) (<http://ejournal.unstrat.ac.id/index.php/pharmacon/article/view/440/351>, diakses tanggal 10 Mei 2013).
- Necha, L.L.B., Baños, S.B., Luna, L.B., Suárez, F.J.L.G. (2004). Antifungal Activity of Seed Powders, Extracts, and Secondary Metabolites of *Pachyrrhizus erosus* (L.) Urban (Fabaceae) Against Three Postharvest Fungi. *Revista Mexicana de FITOPATOLOGIA*, 22(3):356-361.
- Nines, K.R (1999). Inulin and Oligofruktosa what are they. *Jurnal of Nutrition*. 129 :1402S-1406 S.
- Parra, E.A.E., Verjana, J.C.G., Sánchezab, I. G.L., Martí ´nez b,E.R.V., Castaneda, E.V., , Cerbon. M.A., Solano, D.A., and Chilpaa.R.R. (2014). Rotenone Isolated From *Pachyrrhizus Erosus* Displays Cytotoxicity And Genotoxicity In K562 Cells .*Natural Product Research*. 28 (20): 1780–1785.
- Peng, B., Wang, C., Li, H., Su, Y.B., Ye, J.Y., Yang, M.J.M., and Peng. X.X. (2017). Outer Membrane Proteins form Specific Patterns in Antibiotic-Resistant *Edwardsiella tarda*. *Front Microbiol.*8: 69.
- Radji, M. (2011). *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta : Buku Kedokteran EGC. Hal 201-207.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung : ITB. Hal

132,157,191.

- Roberfroid, M.B. (2015) Prebiotic and Probiotic are They Functional Food. *J. Clint. Nytr.*18:117-143.
- Rubatzky, V. E. dan Yamagutchy, M. (1998). *Sayuran Dunia*. Jilid ke-2. Bandung: ITB.
- Santos, A.C., Cavalcanti, M.S., Coelho, L.C.(1996). Chemical Composition And Nutritional Potential Of Yam Bean Seeds (*Pachyrhizus Erosus* L. Urban). *Plant Foods Hum Nutr.* 49(1):35-41.
- Wiredu, C.B. 2014. Evaluation of Starch properties, Phytochemical Composition and Antimicrobial Activities of Yam Bean (*Pachyrhizus erosus* (L Urban.)). *Thesis Kwame Nkrumah University of Science and Technology*.
- Wesley, A.V., dan Margaret, F.W. (1989). *Mikrobiologi Dasar*. Edisi 5 jilid II. LIPI. Jakarta: Erlangga. Hal 155,156,157,195,196.
- Woodford, N., Turton, J.F., and Livermore, D.M. (2011). Multiresistant Gram negative Bacteria: the Role of High-Risk Clones In The Dissemination Of Antibiotic Resistance. *FEMS Microbiol Rev.*35(5): 736-55. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00268.x> PMID:21303394.
- Zavascki, A.P., Zavascki, A.P., Carvalhaes, C.G., Picão ,R.C., Gales, A.C. (2010). Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Resistance Mechanisms and Implications for Therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 8(1):7193. <https://doi.org/10.1586/eri.09.108> PMID:20014903.
- Zowalaty, M.E., Al Thani, A.A., Webster,T.J., El Zowalaty,A.E., Schweizer,H.P., Nasrallah, G.K., Marei, H.E., Ashour, H.M. (2015) *Pseudomonas aeruginosa*: arsenal of resistance mechanisms, decades of changing resistance profiles, and future antimicrobial therapies. *Future Microbiol.*10 (10): 1683-706. <https://doi.org/10.2217/fmb.15.48> PMID:26439366

INDEK PENULIS

A

Abu Tholib Aman 199
 Ade Dewi Maharani 25
 Afif Muhammad Akrom 31
 Agnesia Endang Trihastuti Wahyuni 55, 231
 Agung Budiyanto 20, 252, 272
 Agustin Indrawati 126
 Alfarisa Nururrozi 31, 77, 121, 175
 Amelia Hana 260
 Aprilia Maharani 106
 Apris Beniawan 126
 Arman Sayuti 245
 Asmarani Kusumawati 20, 199
 Ayu Wannisa 245

B

Baiq Indah Pratiwi 280
 Bambang Sumiarto 45, 188, 206
 Bambang Waluyo Hadi Eko Prasetyono 61
 Budianto Panjaitan 245

C

Chaerul Basri 237
 Christin Marganingsih Santosa 95
 Clara Ajeng Artdita 37
 Claude Mona Airin 188, 260

D

Darmawi 1
 David Ardiyanto 222
 Dela Ria Nesti 144
 Dhirgo Adji 7
 Dian Astuti 7
 Djoko Winarso 12

E

Endah Purwati 168
 Eren Adiacahya 135
 Erina 1
 Erwan Agus Purwanto 45

F

Fachriyan Hasmi Pasaribu 126
 Fachrul Reza 1 25
 Faisal Fikri 214

Fajar Budi Lestari 95, 168
 Fakhurrazi 1
 Faradina Kusuma Savitri 272
 Farida 112
 Fathur Rohman Haryadi 144
 Fatkhanuddin Aziz 168
 Fithria Nisa Hanifah 12

G

Gono Semiadi 159
 Gunanti Mahasri 135
 Guntari Titik Mulyani 206
 Gusti Ayu Yuniati Kencana 280

H

Hafizuddin 245
 Hary Purnamaningsih 77, 121, 175
 Hastari Wuryastuty 222
 Herwin Pisestyani 237

I

I Nyoman Suartha 280
 Ida Tjahajati 144
 Ima Fauziah 231
 Ima Fauziah 55
 Irkham Widiyono 121
 Irma Dian Nurani 188

J

Joko Ismadi 45
 Joshie Ramadhan 289
 Juli Melia 245
 Jumaryoto 252

K

Khrisdiana Putri 188

L

Lailatul Muniroh 151
 Lynda Nugrahaning I 231
 Lynda Nugrahaning Imanjati 55

M

M. Daud AK 1
 Mahdi Abrar 1

Mariana Ruth Theresia Hutabarat 12
Marlena 112
Maryulia Dewi 1
Masda Admi 1
Min Rahminiwati 289
Morsid Andityas 37
Muhamad Atabika Farma Nanda 106
Muhammad Nuriy Nuha Naufal 106
Muhammad Rusdi 112
Muhammad Thohawi Elziyad Purnama 214
Mulyono 61

N

Narendra Yoga Hendarta 199
Ni Luh Putu Rischa Phadmacanty 159
Nur Ika Prihanani 37 Nurliana 1
Nurliana 112
Nurman Haribowo 175

O

Okti Herawati 144
Oom Komala 289
Pudji Astuti 188
Pudji Astuti 260

R

Raden Wasito 222
Rahmad Dwi Ardhiansyah 106
Renova Ida Siahaan 237
Ridzki M. F. Binol 69
Rief Ghulam Satria Permana 31
Riefky Pradipta Baihaqie 106
Rifky Rizkiantino 69
Rini Widayanti 95
Rinidar 112
Riyandini Putri 206
Rondius Solfaine 151
Rusmihayati 77, 121

S

Sarah Nuraida S. 168
Sarmin 260
Setiawan Koesdarto 135
Shabrina Fauzia Prayoga 214
Silvi Susanti 25
Sitarina Widyarini 55, 231
Siti Hadijah 12
Siti Isrina Oktavia Salasia 95, 168
Slamet Raharjo 31, 77, 175
Soedarmanto Indarjulianto 31, 77, 121, 175, 252
Sri Murwani 12
Sruti Listra Adrenalin 55, 231
Syafruddin 245

T

T. Fadrial Karmil 1
T. Zahrial Helmi 1
Teuku Reza Ferasyi 112
Tongku Nizwan Siregar 245
Topas Wicaksono Priyo Jr 20
Tri Wibawa 199
Trini Susmiati 31
Vinsa Cantya Prakasita 55, 231
Wahyu Septiani 237
Wida Wahidah Mubarakah 151
Widagdo Sri Nugroho 45
Widiyanto 61

Y

Yanuartono 31, 77, 121, 175
Yeremia Yobelanno Sitompul 31
Yohanes Wawan Budiyanto 37
Yuda Heru Fibrianto 106, 272

Z

Zulkurnia Irsaf 159

INDEK SUBYEK

A

Accessory gene regulator 96
Aceh cattle 1
Aedes aegypti 112, 113
 Analog hidroksi metionin 61 Antibiotics 1, 2
 Antidota 175
Antidote 175
 Arthropod vector 77
 Asam urat 145
 Assesory gene regulator 95
Avian influenza (H5N1) 280
 Avian pathogenic *E. coli* (APEC) 55, 56
Avibacterium paragallinarum 231
 Ayam buras 280

B

Babi Landrace Crossbred 214
Bacterial detection 37
 Bawang merah 145
Beringkit dan Galiran markets 280
 Biofilm 1, 2
Blood 106
Blood plasm 25
Blood profiles 7
Bos Taurus 188
 Bovine ephemeral fever 77 Buccal swab 31
Brucellosis 222, 223
Buffer 199
 Bunting 261
Burns 106
 Burung kenari 32
 Burung merpati 32

C

Calving interval 20, 21
Campylobacter fetus subs venerealis (Cfv) 126, 127
 Canary 31
Carbon tetrachloride Cashew leaves Clinical signs 77
Case DHF 112
Case-control study 206
Cat 121
Cats 206
Cervidae 159
 Chocolate 175

Cisplatin 151

Coklat 175
Coleus amboinicus 151
 Control rabies 45
Cross-hybridization 199
Culture 126

D

Daging 238
 Daun jambu mete 13 Deteksi bakteri 37
Deer 159
Direct PCR 222
 Domba 238
 Domba local 61

E

E. coli serotypes 56
Ectoparasite 135
 Ekstrak 152
 Ektoparasit 136
Elasmobranchii 69
Elasmobranchs 70
electrical stunning 214
Electrical stunning 214
Embryo lethality assay 55, 56
Embryonic chicken eggs 231
Enterotoksin 96
 Enterotoxin 95
Eritromisin Pseudomonas biji bengkuang Candida albicans 289
Eritromisin Pseudomonas biji bengkuang Candida albikan 289
Escherichia coli 237
Escherichia coli 238
Estrous synchronization 272
Etawah crossbreed goat 37
Ettawa crossbred goat 260
Extrac 151

F

Feline Panleukopenia 121
Feline panleukopenia 206
 Fermentasi rumen 61
 Fibrosis hati 13
 Floating-net cages 25
 Follicle size 20
Free-range chicken 280

G

Gadjah Mada University 7 Gejala klinis 77
Geographic Information System 112
GnRH 188
Goat 168
Goat 237
Growth factor 106

H

Hairs 159
Hematologi 261
Hematology 260
Hibridisasi silang 199
Hiperurisemia 145
Hyperuricemia 144
Hypothalamus 188

I

Ikan nila 25
Ikan pari cambuk Jenkins 69 IL-6 12, 13
Imbah darah sapi 107
In vitro 61
Indigenous sheep 61
Infestasi 136
Infestation 135
Inoculation 231
Inokulasi 231
Intramuscular 272
Intramuskuler 273
*Intravaginal spon*s 272
Involusi uterus 245

J

Jahe merah 145
Jenkins' whipray 70

K

Kambing 168, 238
Kambing PE 245
Kambing Peranakan Etawah 37
Kambing Peranakan Ettawa 261
Karbon Tetraklorid 13
Kasus DBD 113
Kecamatan Kokap 37
Kepadatan permukiman 113
Keramba 25
Ketokonazol 289
Kokap area 37

Kucing 121, 206
Kultur bakteri 127
Kurban 237, 238

L

Lactating 260
Lake substrate 25
Laktasi 261
Lamb 237
Landrace Crossbred pig 214
Leukocyte 121
Leukosit 121
Liver Fibrosis 12
Low fertility 20
Luka bakar 107

M

Macroscopic 159
Makroskopis 159
Mastitis subklinis 37
Methionine hydroxy Analog 61 Mindray BC 2800 7
Meat 237
Media transport 127
Membran nitroselulose 199
Microscopic 159
Mikroskopis 159
Mindray BC 2800 7
Mineral 260
Mineral 261
Musim up-welling 25

N

Nafas 253
Neutrophil 95
Neutrophil 96
Nile tilapia 25
Nitrocellulose membrane 199
Nucleic acid lateral flow 199

O

Ongole Crossbreed Cattle 252
Otoritas veteriner 45
Outbreaks 77
Ovarian size 20

P

Pasar Beringkit dan Galiran 280
Pasca beranak 253

- Pateobatis jenkinsii Pateobatis jenkinsii 69
 PCR 31, 32, 168
PCR inhibitor 222
 PCR langsung 223
PE goat 246
 Penanggungan 45
 Penghambat PCR 223
 Penurunan fertilitas 21
 PIAT 7
 Pigeon 31
 Plasma darah 25
Platelet Rich Plasma 106, 107
Postpartum 252
Povidone iodine 252
 Povidone iodine 253
Pregnant 260
 Profil darah 7
 Progesteron 273
Progesterone 272
Prostaglandin F2 α 272, 273
Pulse 252
 Pulsus 253
- R
- Rabies 45
 Rambut 159
Rats 144
Raw milk 168
Receptors 188
Red ginger 144
 Regional organizations (OPD) 45
 Reseptor 188
Respiration rate 252
 Ruminal fermentation 61
 Rusa 159
 Rusa total 7
- S
- Sampel darah-utuh 223
 Sapi Aceh 1
 Sapi PO 253
Septicemia 70
 Septisemia 69 Serotipe E. coli 55
Seroprevalence 280
 Seroprevalensi 280
Service per conception 20, 21
Settlement density 112
Sexing 31, 32
Shallots 144
- Sinkronisasi estrus 273
 Sistem informasi geografis 113
 Slaughterhouse 106
 SOD 12, 13
Spon intravaginal 273
Spotted deer 7
Staphylococcus aureus 1, 2, 95, 96, 168
Staphylococcus sp. 168
Structure 159
 Struktur 159
 Studi kasus-kontrol 206
 Substrat danau 25
 Subclinical Mastitis 37
 Super intensif 136
Super Intensive 135
Superoxide dismutase 214
 Swab bukal 32
- T
- Tanpa ekstraksi DNA 223
 Telur ayam berembrio 231
TGF-1 β 151
Theobroma cacao 175
 Tikus 145
 Toksikosis 175
Toxicosis 175
Transport Media 126
- U
- Udang vaname 136
 Ukuran folikel 21
 Ukuran ovarium 21 Universitas Gadjah Mada 7
 Up-welling season 25
 Ultrasonografi 245
Ultrasonography 246
Uric acid 144
Uterine involution 246
- V
- Vektor arthropoda 77
Veterinary authority 45
Virulence 56
 Virulensi 56
- W
- Wabah 77
White shrimp 135
Whole-blood sample 222
Without DNA extraction 222

