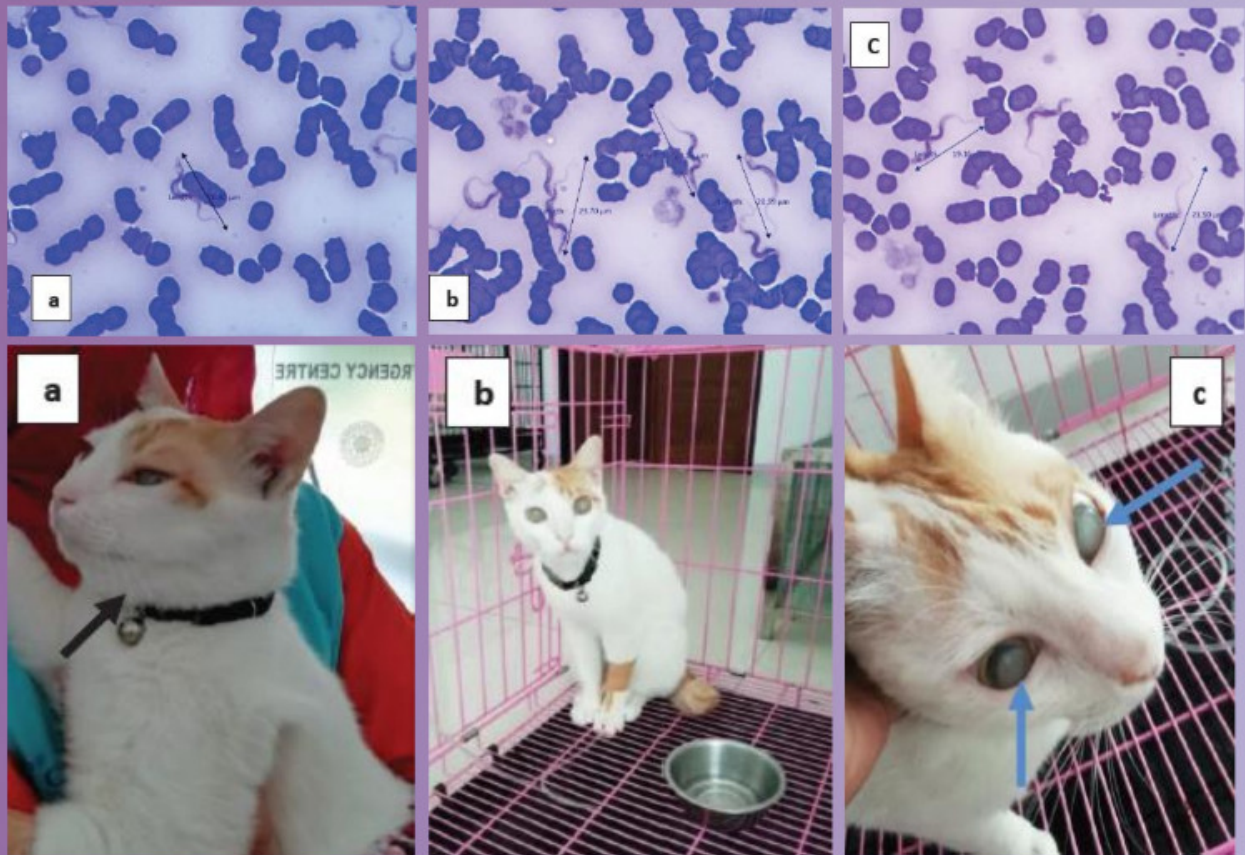


Jurnal Sain Veteriner



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



PENGANTAR REDAKSI

Para pembaca JSV yang budiman dimanapun berada,

Pada saat ini di tengah masa pandemi COVID-19 yang masih terus berlangsung di Indonesia, JSV Vol. 39 No. 1 edisi April 2021 akhirnya dapat terbit tepat waktu. Jurnal Sain Veteriner pada edisi ini merupakan edisi kedua yang terbit di tahun 2020 setelah JSV memutuskan untuk menerbitkan tiga edisi setiap tahun dengan jumlah artikel sebanyak 13 artikel setiap kali terbit, sehingga dalam setahun JSV mempublikasikan sebanyak 39 artikel ilmiah.

Berdasarkan surat dari Deputy 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, Alhamdulillah JSV kembali terakreditasi dalam kategori Sinta-2 yang dimulai dari edisi Desember 2019 sampai dengan edisi Desember 2024. Hal ini merupakan kabar yang sangat menggembirakan bagi seluruh sivitas akademika di FKH UGM pada umumnya, khususnya seluruh anggota dewan penyunting JSV mengingat persiapan re-akreditasi JSV yang cukup panjang dan menyita banyak waktu, energi dan pikiran. Untuk itu mewakili seluruh anggota Dewan Penyunting JSV, kami mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Dekan dan jajaran Wakil Dekan, Asisten Wakil Dekan di FKH, segenap sivitas akademika FKH UGM, Reviewer dan Mitra Bebestari, serta para mitra penulis, kontributor dan penulis JSV di manapun berada atas kerjasama dan kontribusi yang luar biasa sehingga jsv kembali terakreditasi selama lima tahun ke depan.

Pada JSV Vol. 39 No. 1 edisi April 2021 ini, memuat sebanyak 13 artikel ilmiah dari berbagai bidang ilmu veteriner, yaitu bidang Kesmavet, Bedah Veteriner, Virologi, Ilmu Penyakit Dalam, Mikrobiologi, Parasitologi, Farmakologi dan Anatomi. Kami senantiasa mengundang bapak/ibu/saudara penulis dan kontributor artikel ilmiah untuk mengirimkan manuskrip artikel ilmiah agar dapat dipublikasikan di JSV pada edisi yang akan datang secara *online* melalui *Open Journal System* (OJS) pada situs JSV. Pada situs tersebut, sudah tersedia *Template* untuk artikel ilmiah yang akan disubmitkan, sehingga lebih mudah dan dapat menyeragamkan format penulisan artikel ilmiah pada JSV. Kami selalu menerima kritik, saran dan masukan yang bersifat membangun untuk perbaikan pada masa yang akan. Kami berharap bahwa JSV akan semakin berkembang dalam mempublikasi artikel-artikel ilmiah yang berkualitas di bidang veteriner.

Terima kasih atas perhatian dan kerjasamanya.

Ketua Dewan Penyunting JSV

Aris Haryanto

DAFTAR ISI

Uji Aktivitas Antelmintik Infus Bunga Widuri (<i>Calotropis gigantea</i>) (L.) Dryand Terhadap <i>Fasciola sp.</i> Secara <i>In Vitro</i> <i>Iman Surya Pratama, Zurriatun Toyyibah, Galuh Tresnani</i>	1-7
Status Klinis dan Deteksi Lip L32 pada Sapi Seropositif Leptospirosis di Kabupaten Kulon Progo <i>Guntari Titik Mulyani, Wayan Tunas Artama, Estu Widodo</i>	8-12
Prevalence and Risk Factors of <i>Cryptosporidium spp.</i> on Dairy Farms in Bogor <i>Arifin Budiman Nugraha, Umi Cahyaningsih, Etih Sudarnika</i>	13-19
Mutant Prevention Concentration Siprofloksasin Terhadap <i>Escherichia coli</i> Patogen dari Usap Kloaka Broiler Secara <i>In Vitro</i> <i>Maria Fatima Palupi, Eli Nugraha, Meutia Hayati, Neneng Atikah</i>	20-27
Analisis Epidemiologi Kasus Hipofungsi Ovarium pada Sapi Potong di Kabupaten Jepara <i>Aldi Salman, Surya Agus Prihatno, Bambang Sumiarto</i>	28-35
Undernutrisi dan Anestrus pada Kambing Bligon Betina Umur 2-3 Tahun: Sebuah Studi Kasus <i>Kelviano Muqit, Irkham Widiyono, Yanuartono, Sarmin, Tridjoko Wisnu Murti</i>	36-46
Pemilihan Antibiotika pada Anjing Diare yang Terinfeksi <i>Escherichia coli</i> <i>Soedarmanto Indarjulianto, Sitarina Widyarini, Gede Bayu Suparta, Alfarisa Nururrozi, Yanuartono, Slamet Raharjo, Yeremia Yobelanno Sitompul, Ika Tidariani, Anna Ekawati, Mega Cahya Nalasukma</i>	47-54
Hematology Profile and Liver Histopathology in <i>E. Coli</i> Infected Layers Treated with <i>Phyllanthus (Phyllanthus niruri L.)</i> and Turmeric (<i>Curcuma domestica</i>) Combination <i>Sri Hartati, Tri Untari, Bambang Sutrisno, Ida Fitriana</i>	55-61
Tantangan dan Kendala Pengendalian <i>African Swine Fever (ASF)</i> <i>Roza Azizah Primatika, Etih Sudarnika, Bambang Sumiarto, Chaerul Basri</i>	62-72
Anemia pada Anjing Pascaenterektomi <i>Julita Dewitri Merthayasa, Agustina Dwi Wijayanti, Soedarmanto Indarjulianto, Yanuartono Alfarisa Nururrozi³, Putu Devi Jayanti</i>	73-78
Pengaruh Pemberian GnRH pada Sapi Potong yang Mengalami Kawin Berulang <i>Surya Agus Prihatno, Sri Gustari, Asmarani Kusumawati, Agung Budiyo, Erif Maha Nugraha Setyawan, Yosua Kristian Adi</i>	79-83
Stasis Urin pada Kucing: Evaluasi Klinis dan Laboratoris <i>Geovani Meryza Oka Putra Caesar, Sitarina Widyarini, Soedarmanto Indarjulianto</i>	84-89
Akumulasi Fibrin dalam <i>Anterior Chamber</i> pada Kucing Penderita <i>Tripanosomiasis</i> dan <i>Feline Immunodeficiency Virus</i> <i>Kurnia, Dyah Kunthi Wiraprawati, Setyo Budhi, Guntari Titik Mulyani, Dwi Priyowidodo</i>	90-96
Indek Penulis	97
Indek Subyek	98

Gambar Depan: Atas: Trypanosoma sp yang ditemukan pada preparat apus darah.
Bawah: Kondisi fisik pasien kucing
Keterangan gambar lihat di halaman 92-93

Uji Aktivitas Antelmintik Infus Bunga Widuri (*Calotropis gigantea*) (L.) Dryand terhadap *Fasciola sp.* secara *In Vitro*

The In Vitro Anthelmintic Activity of Flower Infusion of Milkweed (Calotropis gigantea) (L.) Dryand on Fasciola sp.

Iman Surya Pratama¹, Zurriatun Toyyibah², Galuh Tresnani¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram

²Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram

Email: imanespe@gmail.com

Naskah diterima: 8 Juli 2019, direvisi: 1 November 2020, disetujui: 8 Januari 2021

Abstract

The high prevalence rate of cattle fasciolosis in Lombok Island on the period of 2012-2017 make an urge search for natural antifasciolosis agent such as the anthelmintic product from milkweed flower (*Calotropis gigantea*). The aim of this study was to determine the effectivity of milkweed flower infusion as antifasciolosis agent including death time and histopathology aspects. An *in vitro* antifasciolosis test was carried out by soaking *Fasciola sp* worm into the infusion in four different concentration: 5, 10, 15, and 30 % w/v. Saline solution pH 7.8 were used as a negative control and Albendazole 10 % as the positive control. The worms were observed for the motility after incubating at 37°C. Death time was observed and recorded. The dead flukes were fixed in formaldehyde fixative, processed and embedded in paraffin. Tissue section stained with hematoxylin-eosin. Death time was analyzed by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U Test, while histopathology data were analyzed descriptively. The result showed that the death time of the *Fasciola sp.* was 660, 135, 240, 345, 360 and 360 minutes for negative control, positive control, flower infusion (5,10,15,30 % w/v) respectively. The histological analysis illustrated the damage of tegumen and the spine structure in tegument. The most severe damage was caused by concentration 30% w/v. Based on death time, relative motility and survival index, it is concluded that milkweed flower infusion 5% w/v is more effective as an antifasciolosis than Albendazole 10% w/v (p<0.05).

Keywords: antifasciolosis; *Calotropis gigantea* flower; *Fasciola sp*; histology; infusion

Abstrak

Angka prevalensi fasciolosis yang tinggi pada sapi di pulau Lombok periode 2012-2017 mendorong pencarian antifasciolosis bahan alam diantaranya bunga Widuri (*Calotropis gigantea*). Penelitian ini bertujuan menentukan efektivitas infus bunga widuri terhadap *Fasciola sp.* secara *in vitro* ditinjau dari lama waktu kematian dan aspek histopatologi. Uji antifasciolosis *in vitro* dilakukan dengan merendam *Fasciola sp* pada infus bunga widuri dalam empat konsentrasi berbeda : 5, 10, 15, dan 30% b/v. Larutan garam fisiologis pH 7,8 dan *Albendazole* 10% b/v berturut-turut digunakan sebagai kontrol negatif dan positif. Seluruh kelompok diinkubasi pada suhu 37 °C kemudian lama waktu kematian diamati dan dicatat. Preparat awetan dibuat dari cacing yang mati menggunakan metode paraffin dan pewarnaan hematoksilin eosin. Data lama waktu kematian dianalisa dengan uji *Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney U* sementara data histologi dianalisa secara deskriptif. Lama waktu kematian untuk berturut-turut 660, 135, 240, 345, 360, 360 menit untuk kelompok kontrol (negatif, positif) dan perlakuan (infus bunga widuri 5, 10, 15, dan 30% b/v). Kerusakan terjadi pada tegumen dan spina. Berdasarkan lama waktu kematian, indeks pergerakan relatif dan ketahanan hidup, infus bunga widuri 5% b/v efektif sebagai antifasciolosis meski lebih rendah dibandingkan *Albendazol* 10% b/v (p <0.05). Kerusakan tegumen terbesar terjadi pada infus bunga widuri 30% b/v.

Kata kunci: antifasciolosis; bunga *Calotropis gigantea*; *Fasciola sp*; histologi, infus

Pendahuluan

Fasciolosis merupakan salah satu zoonosis penting pada ruminansia yang disebabkan trematoda *Fasciola hepatica* dan *gigantica* (Mehmood et al., 2017). Spesies *gigantica* sering ditemukan pada sapi di Indonesia sementara spesies *hepatica* sering terdeteksi pada sapi impor (Wariata, W. et al., 2019) Meski spesies *hepatica* lebih sering menginfeksi manusia, tahun 2018 dilaporkan infeksi spesies *gigantica* di Vietnam dan Nepal pada manusia (Nguyen, et.al., 2018 ; Sah et.al., 2018).

Fasciolosis terjadi di seluruh belahan dunia termasuk Indonesia. Angka prevalensi fasciolosis yang menyerang sapi di dunia pada tahun 2000 hingga 2015 berkisar dari 0,71 – 86,0% (Mehmood et al., 2017). Angka prevalensi fasciolosis sapi Bali di pulau Lombok pada tahun 2012 sebesar 96,23% dan 52,78% pada sampel hati dan feses (Astiti dan Panjaitan, 2012). Angka prevalensi sapi Bali fasciolosis pada 10 kecamatan di Kabupaten Lombok Barat sebesar 54, 25% (Karlina, 2017).

Fasciolosis berdampak pada morbiditas dan mortalitas pada sapi meliputi penurunan berat badan, anemia dan hiperproteinemia. Fasciolosis juga sering dikaitkan dengan kerusakan organ hati yang ditemui di rumah potong hewan, infertilitas, dan bobot anak sapi yang rendah ketika kelahiran (Alemneh dan Ayelign, 2018). Fasciolosis juga menyebabkan kerugian ekonomi, kurang lebih 16.450 USD pada kasus di Berau, Kalimantan Timur sebagai contoh berdasarkan studi Prasetya, dkk. tahun 2019.

Triklabendazol, Nitazoksanid, Rafoxanid, Mebendazol dan Albendazol termasuk antifasciolosis (Direktorat Kesehatan Hewan, 2014). Albendazol merupakan salahsatu antifasciolosis yang sering digunakan (Rana, et.al., 2014). Kegagalan terapi flukisidal sintetis termasuk Albendazol akibat resistensi telah dilaporkan dalam studi (Novobilsky dan Höglund, 2015). Efikasi Albendazol 10 mg/kg BB pada sapi fasciolosis di daerah Sleman menurun hingga 30% menimbulkan dugaan resistensi (Kristiyani, et al., 2019).

Isu resistensi flukisid yang ada mendorong alternatif pengembangan antifasciolosis salahsatunya berbasis herbal (Alvarez-Mercado, et.al,

2015). *Calotropis gigantea* atau dikenal dengan widuri merupakan salah satu tanaman khas Indonesia dengan bagian bunga telah dikenal berkhasiat mengobati kecacingan (Direktorat Sejarah dan Nilai Tradisional, 1992).

Hasil penapisan ekstrak air bunga widuri mengandung komponen antelmintik seperti alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin (Kumar et al., 2013). Studi lain menunjukkan ekstrak air bunga widuri yang diperoleh melalui Soxhletasi mengandung alkaloid dan flavonoid (Patel, et al., 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh Maulana et al., (2015), ekstrak daun widuri dalam cairan empedu dengan rentang konsentrasi 2,5-10% b/v menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antar rentang konsentrasi ($p < 0,05$) namun berbeda signifikan dengan kontrol negatif yang hanya berisi cairan empedu ($p < 0,01$).

Kajian efek antelmintik infus bunga widuri masih terbatas sehingga diperlukan studi lanjutan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efektivitas infus bunga widuri terhadap *Fasciola* sp secara *in vitro* dan mendeskripsikan gambaran histologi tegumen pasca pemaparan infus.

Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan 18 ekor cacing *Fasciola* sp. dewasa (ukuran 25-27 x 3-12 mm), akuades, albumin, Albendazol 10% b/v (Industrial Veterinaria, Spanyol), alkohol berbagai konsentrasi, bunga Widuri (*Calotropis gigantea*) segar, larutan formaldehid 10% v/v, larutan NaCl 0,9% b/v, larutan NaOH 0,1 M, larutan paraffin. larutan xylol, larutan metilen biru 1%, pewarna eosin, pewarna hematoksilin.

Peralatan penelitian yang digunakan adalah ayakan bertingkat, batang pengaduk, blender, cawan petri, alat gelas laboratorium, cetakan kayu, plat panas, inkubator, kaca benda, kaca penutup, kain, kamera, mikrotom, mikroskop cahaya (Zeiss®, Jerman), oven, panci infus, seperangkat alat bedah, tangas air dan termometer.

Bunga widuri diperoleh dari pantai Setangi, Desa Malaka, Kabupaten Lombok Utara. Adapun *Fasciola* sp. dewasa diperoleh dari Rumah Potong Hewan di daerah Pagesangan. Identifikasi cacing uji melalui analisis morfometri kemudian

dibandingkan dengan literatur (Mas-Coma *et.al*, 2008).

Bunga widuri disortasi, dicuci, dikeringkan, disortasi kemudian diserbukkan dengan ayakan berukuran 40/80 mesh. Infus bunga widuri 30% b/v diperoleh melalui prosedur berikut : Sejumlah 30 g serbuk dicampurkan dengan 100 mL akuades dan dipanaskan di atas tangas air selama 15 menit mulai suhu mencapai 90 °C sembari sesekali diaduk. Campuran diserukai selagi panas dan ampas ditambahkan akuades hingga volume 100 mL (BPOM, 2006).

Infus selanjutnya diencerkan bertingkat dengan menggunakan akuades hingga diperoleh konsentrasi 5, 10, 15% b/v. Penentuan konsentrasi berdasarkan kelipatan dengan acuan konsentrasi terbaik adalah 5% sesuai dengan penelitian Maulana tahun 2015.

Cacing uji dikelompokkan menjadi kelompok perlakuan (5, 10, 15, 30% b/v), kontrol positif Albendazol 10% b/v dan kontrol negatif (NaCl 0,9% b/v + NaOH 0,1 M). Cacing uji diletakkan pada cawan petri yang berisi larutan kemudian diinkubasi.

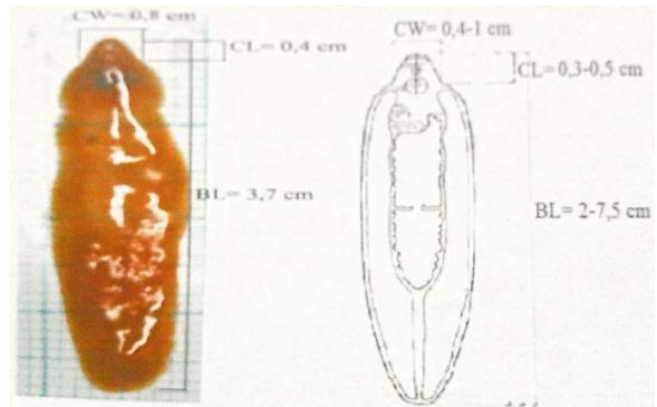
Skor pergerakan diamati kemudian diolah menjadi indeks pergerakan relatif dan ketahanan hidup sesuai dengan Lorsuwannarat *et al.*, 2014. Lama waktu kematian dicatat kemudian perbedaan masing-masing kelompok dianalisa secara statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney U-Test.

Preparat awetan permanen dibuat dari cacing yang telah diuji secara *in vitro* mengikuti prosedur Jayethilakan *et al.*, 2012. Hematoksisilin-eosin digunakan sebagai pewarna untuk pengamatan gambaran histologis tegumen. Hasil pengamatan tegumen dianalisa secara deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Cacing uji yang diperoleh berwarna coklat, berbentuk seperti daun. Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh ukuran panjang tubuh, panjang bahu, dan lebar bahu berturut-turut 3,7; 0,4; dan 0,8 cm (Gambar 1). Selaras dengan pustaka, hal ini menunjukkan spesies *Fasciola gigantica* (Mas-Coma *et al.*, 2008).

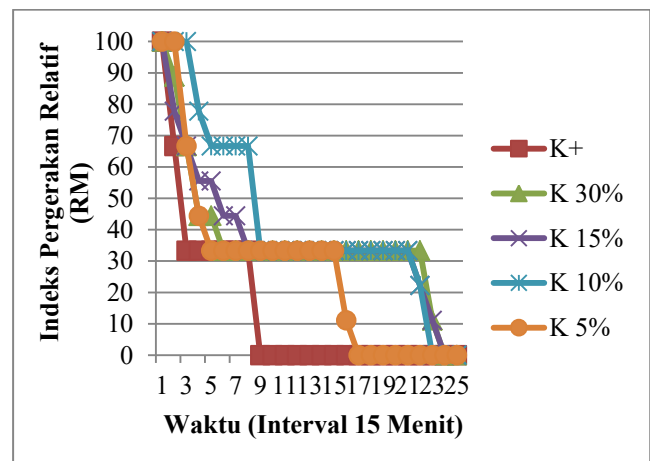
Bunga yang digunakan adalah bunga Widuri (*Calotropis gigantea*) sesuai dengan surat deter-



Gambar 1. *Fasciola gigantica* (kiri) : hasil pengamatan (kanan)

minasi no. 290/UN18/PN/2016 yang dirilis oleh PS Biologi FMIPA UNRAM.

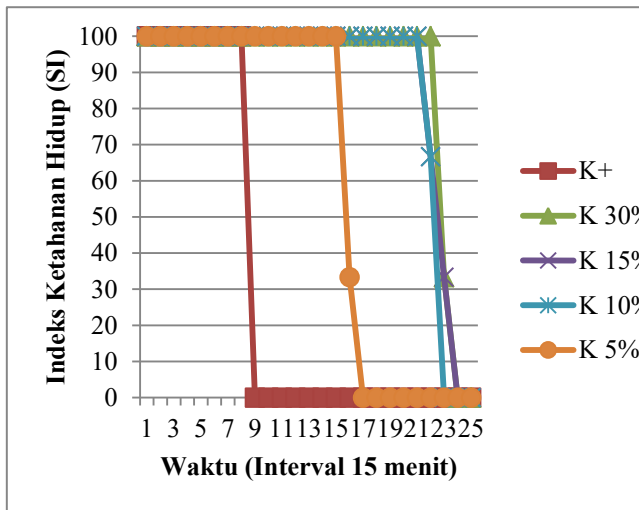
Berdasarkan hasil uji *in vitro* yang telah dilakukan diperoleh indeks pergerakan relatif (RM) dan indeks ketahanan hidup (SI) yang berturut-turut diilustrasikan dalam Gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Indeks Pergerakan Relatif (RM). Keterangan simbol (atas ke bawah) : kontrol positif dan kelompok perlakuan : infus 30, 15,10 dan 5 % b/v

Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan bahwa pergerakan relatif terendah dimiliki kontrol positif Albendazol 10% b/v dengan waktu kematian tercepat 2 jam 15 menit. Pergerakan relatif yang rendah selanjutnya ditunjukkan oleh kelompok infus 5 % b/v kemudian meningkat 10, 15 dan 30 % b/v (waktu kematian 4 jam, 5 jam 45 menit dan 6 jam).

Berdasarkan Gambar 3 menunjukkan bahwa indeks ketahanan hidup terendah ditunjukkan oleh Albendazol 10% b/v, selanjutnya disusul oleh kelompok infus 5, 10, 15 dan 30 % b/v. Dari kedua parameter tersebut menunjukkan infus bunga widuri 5% b/v memberikan indeks



Gambar 3. Indeks Ketahanan Hidup (SI) . Keterangan simbol (atas ke bawah) : kontrol positif dan kelompok perlakuan : infus 30, 15,10 dan 5 % b/v

pergerakan relatif dan ketahanan hidup terendah pada perlakuan meski lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif.

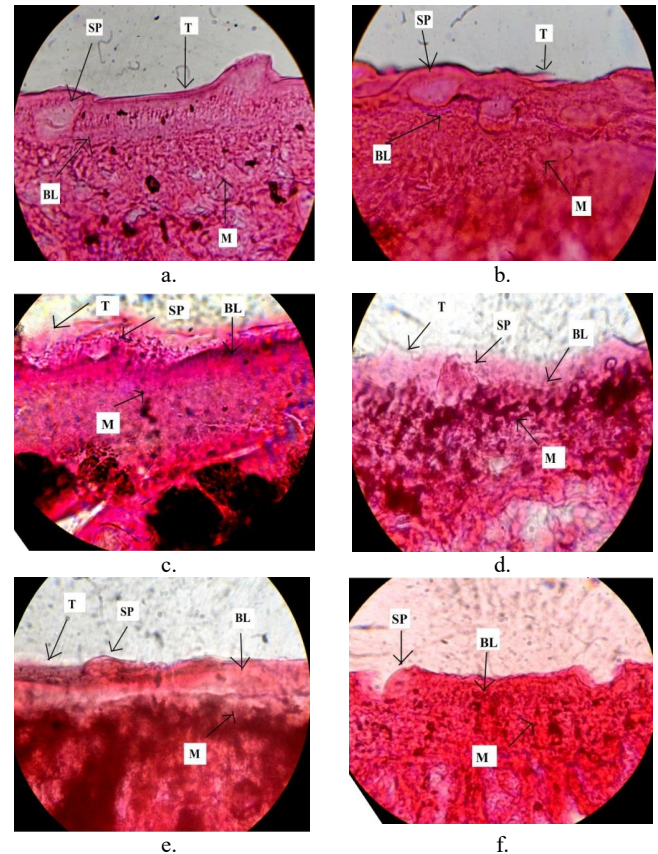
Perbandingan lama waktu kematian cacing diilustrasikan dalam Tabel 1. Kelompok kontrol positif dan infus memiliki efek antifasciolosis berdasarkan parameter waktu kematian, ditinjau dari perbedaan signifikan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$). Infus 5% b/v efektif sebagai antifasciolosis dengan lama waktu kematian terendah 240 menit meski lebih lama dibandingkan kontrol positif.

Studi Fereirra, et.al., (2011) menunjukkan beberapa antifasciolosis bahan alam seperti *A. annua*, *A. absinthium*, *A. triloba* dan *F.officinalis* cenderung efektif pada konsentrasi rendah, Efek antifasciolosis diduga akibat beberapa zat aktif pada infus seperti flavonoid, tanin dan saponin (Pratama et al., 2016).

Flavonoid bekerja dengan menghambat transmisi neuromuskular sehingga menyebabkan paralisis dan kematian (Asmaydo, et al., 2019).

Tanin diduga bekerja dengan cara menghambat pembangkitan energi melalui hambatan kopling via reduktase yang memperantarai reaksi fosforilasi oksidatif (Adeniran dan Sonibare, 2013).

Saponin bekerja menurunkan tegangan permukaan sehingga kontak antara ekstrak dan tegumen menjadi lebih cepat dan efektif. Saponin juga diketahui dapat menyebabkan destabilisasi membran sel sehingga permeabilitas membran meningkat (Mahardika, et al.,2017)



Gambar 4. Irisan melintang abdomen *Fasciola* sp. perbesaran 10x10 a. kontrol negatif; b. kontrol positif; c.,d.,e.,f., berturut-turut infus bunga widuri konsentrasi 5, 10, 15 dan 30 % b/v; (Sp) spina; (BL) lamina basalis; (T) tegumen; (M) otot.

Tabel 1. Perbandingan Durasi Kematian Cacing

Kelompok Perlakuan	Waktu Kematian Cacing (Menit)
Kontrol Negatif ^{a)}	660
Kontrol Positif ^{a)}	135
Konsentrasi 5% ^{b)}	240
Konsentrasi 10% ^{b)}	345
Konsentrasi 15% ^{b)}	360
Konsentrasi 30% ^{b)}	360

Keterangan : ^{a)} berbeda signifikan pada $p < 0,05$

^{b)} berbeda signifikan pada ($p < 0,05$) dengan kontrol positif dan negatif

Pada kelompok kontrol negatif terlihat tegumen *Fasciola* sp. normal yang terdiri dari lapisan tegumen paling luar, kemudian spina yang menempel pada lamina basalis dan lapisan otot dibawah lamina basalis tersebut sesuai dengan pustaka (Lorsuwannarat *et al.*, 2014).

Hasil pada kontrol positif menunjukkan bahwa beberapa lokasi pada lapisan tegumen mengalami sedikit kerusakan, akan tetapi bagian spina, lamina basalis dan otot tidak mengalami kerusakan.

Gambaran histologi *Fasciola* sp. pada kelompok infus bunga widuri menunjukkan hasil sebagai berikut. Infus bunga widuri konsentrasi 5% menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dengan kontrol positif, Adapun infus bunga widuri konsentrasi 10% menunjukkan kerusakan sebagian lapisan tegumen.

Pada infus bunga widuri konsentrasi 15% lapisan tegumen hancur, akan tetapi spina, lamina basalis dan otot masih terlihat baik. Infus bunga widuri konsentrasi 30% menunjukkan kerusakan pada bagian tegumen dan spina. Lapisan tegumen hampir tidak teramati dan spina masuk kedalam jaringan, sedangkan lamina basalis dan otot tetap utuh

Berdasarkan gambaran histologis pada Gambar 4, menunjukkan peningkatan konsentrasi seiring dengan peningkatan kerusakan tegumen. Kerusakan terbesar ditunjukkan oleh infus bunga widuri konsentrasi 30%. Tegumen merupakan salah satu target antifasciolosis (Mahardika *et al.*, 2017). Tegumen berperan penting dalam respirasi, absorpsi nutrien, fungsi metabolik dan imunopatologi pada inang. Hal ini menjelaskan kerusakan tegumen yang memacu kematian cacing (Vanda, *et al.*, 2020)

Trend peningkatan konsentrasi infus dalam menyebabkan kerusakan struktur tegumen berbanding terbalik dengan lama waktu kematian cacing. Semakin meningkat konsentrasi infus, kerusakan tegumen semakin besar namun kematian cacing semakin lambat.

Hal ini dapat diakibatkan diantaranya sifat serbuk widuri yang meruah menyebabkan peningkatan konsentrasi dapat berefek pada peningkatan kepekatan infus dan ukuran molekul yang ada di dalamnya. Berdasarkan Hukum Ficks, laju difusi berbanding lurus dengan koefisien difusi. Adapun

menurut persamaan Stokes-Einstein menyatakan bahwa koefisien difusi menurun seiring peningkatan ukuran molekul dan peningkatan viskositas pelarut (Bordin, *et al.*, 2009).

Oleh karena itu, konsekuensi kedua hukum ini menyebabkan peningkatan konsentrasi menghambat difusi molekul sehingga tetap merusak struktur tegumen di bagian luar akibat kontak yang lama dengan komponen dalam infus, namun sulit untuk masuk target kerja lain yang berada di dalam jaringan.

Dalam penelitian ini terdapat keterbatasan bahwa tidak dilakukan analisis kuantitatif pada masing-masing metabolit sekunder dalam berbagai konsentrasi infus sehingga tidak dapat ditentukan kandungan mana yang secara pasti berperan dalam kerusakan tegumen. Flavonoid diduga berperan penting merusak tegumen melalui hambatan enzim tegumen seperti AcPase dan ATPase sebagaimana studi genistein pada tegumen *F. hepatica* (Toner *et al.*, 2008)

Kesimpulan

Berdasarkan lama waktu kematian, indeks pergerakan relatif dan ketahanan hidup, infus bunga widuri 5% b/v efektif sebagai antifasciolosis meski lebih rendah dibandingkan dengan Albendazol 10% b/v ($p < 0,05$). Infus bunga widuri 30% b/v menunjukkan kerusakan pada tegumen dan spina lebih baik dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain dan kontrol positif.

Daftar Pustaka

- Adeniran, A. A dan Sonibare, M. A. 2013. In vitro potential anthelmintic activity of bulbils of *Dioscorea bulbifera* L. on earthworms and liverflukes. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. 5 (12) :196-203.
- Alemneh, T dan Ayelign, M. 2018. Fasciolosis-Public Health and Economic Impacts : A Review. *International Journal of Zoological Investigations*. 4 (2) :186-195.
- Alvarez, J. M., Ibarra-Velarde, F., Alonso-Diaz, M.A., Vera-Montenegro, Y, Avila-Acevedo, J. G., dan Garcia-Bores, A. M. 2015. In vitro anthelmintic effect of fifteen tropical plant extracts on excysted flukes of *Fasciola*

- hepatica. *BMC Veterinary Research*. 11(45) : 5-6.
- Asmaydo, D., Hamid, I. S., Yunus, M., Kusnoto, Sukmanadi, M., Suprihati, E. 2019. The Anthelmintics Activity of Ethanol Extract of African Leaf (*Vernonia amygdalina*) on Mortality of *Fasciola gigantica* In Vitro. *Journal of Parasite Science*. 3(1) : 15-18.
- Astiti, L. G. S. dan Panjaitan, T. 2012. Mapping of Fasciolosis on Bali Cattle in Lombok. *Dipresentasikan pada International Conference on Livestock Production and Veterinary Technology*. Bogor, 1-4 Oktober 2012.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2006. *Acuan Sediaan Herbal Volume Kedua*. Edisi Pertama. Jakarta : Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- Brodin, B., Steffansen, B., Nielsen, C. U. 2009. Passive diffusion of drug substances : the concepts of flux and permeability. In Brodin, B., Steffansen, B., Nielsen, C. U. (Ed.), 2009. *Molecular Biopharmaceutics*. London : Pharmaceutical Press
- Direktorat Kesehatan Hewan. 2014. *Manual Penyakit Hewan Mamalia*. Cetakan Ke-2. Jakarta : Subdit Pengamatan Penyakit Hewan Direktorat Kesehatan Hewan Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian.
- Direktorat Sejarah dan Nilai Tradisional. 1992. *Usada Gede..* Jakarta : Direktorat Sejarah dan Nilai Tradisional Direktorat Jenderal Kebudayaan Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Fereira, J. F. S, Peadar, P., Keiser, J., 2011. In vitro trematocidal effects of crude alcoholic extracts of *Artemisia annua*, *A. absinthium*, *Asimina triloba* and *Fumaria officinalis*. *Parasitology Research*. 109 : 1585-1592.
- Jayethilakan, N, Murali, K., Anandaraj, A. 2012. In vitro evaluation of anthelmintic property of ethno-veterinary plant extracts against the liver fluke *Fasciola gigantica*. *Journal of Parasitic Disease*. 36(1) : 26-30.
- Karlina, A. 2017. Prevalensi Cacing Hati (*Fasciola sp.*) Pada Sapi Bali di Kabupaten Lombok Barat. Skripsi. Universitas Mataram.
- Kristiyani, F., Aini, N., dan Wijayanti, A. D. 2019. Evaluasi Pengobatan Trematodiasis Menggunakan Albendazole pada Sapi di Kecamatan Pakem, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta. *Jurnal Sains Veteriner*. 37 (1) : 104-11.
- Lorsuwannarat, N., Piedrafita, D., Chantree, P., Sansri V., Songkoomkrong S., Bantuchai, S., Sangpaio T, K., Kueakhai, P., Changklungmoa, N., Chaichanasak, P., Chansela, P., Sobhon P. 2014. The *In Vitro* Anthelmintic Effects of Plumbagin on Newly Excysted and 4-Weeks-Old Juvenile Parasites of *Fasciola gigantica*. *Experimental Parasitology* 136: 5-13.
- Mahardika, M. M, Sudjarwo, S. A., Koesdarto, S. 2017. Anthelmintic activity of *Ocimum sanctum* Linn. Leaves Ethanol Extracts Against *Fasciola gigantica* In Vitro. In *The Veterinary Medicine International Conference 2017*, KnE Life Sciences, 266-277.
- Mas-Coma, S, Curtale., F., Desquesnes, M., Mohamed, M. Y., El Wakeel, A., Ashrafi, K., El Sayed, M., Valero, M. A., Periago, M. V., 2008. First Phenotypic Description of *Fasciola hepatica/Fasciola gigantica* Intermediate Forms from the Human Endemic Area of the Nile Delta, Egypt. *Infection, Genetics and Evolution*. 8 (1): 51-58.
- Maulana, K. G., Oka, M. B. I., Dwinata, M. I. 2015. Aktivitas Vermisidal dan Ovisidal Daun Biduri (*Calotropis spp.*) Terhadap Cacing *Fasciola gigantica* Secara *In Vitro*. *Indonesia Medicus Veterinus* 4(4): 314-320.
- Mehlhorn, H, Aksu, G., Fischer, K., Strassen, B., Ghaffar, F. A., Al-Rasheid, K. A. S., Klimpel, S., 2011, *The Efficacy of Extracts from Plants- Especially from Coconut and Onion- Against Tapeworms, Trematodes, and Nematodes* In Mehlhorn, H (Ed.), 2011. *Nature Helps : How Plants and Other Organism Contribute to Solve Health Problems*. Heidelberg : Springer.

- Mehmood, K., Zhang, H., Sabir, A. J., Abbas, R. Z, Ijaz M., Durrani, A. Z., Saleem, M. H., Rehman, M. U, Iqbal, M. K., Wang, Y., Ahmad, H. I., Abbas, T., Hussain, R., Ghorri, M. T., Ali, S., Khan, A. U., Li, J. 2017. A review on epidemiology, global prevalence and economical losses of fasciolosis in ruminants. *Microbial Pathogenesis* 109: 253-262
- Nguyen, T. B. N., Van De, N., Nguyen, T. K. L., Quang, H. H., Doan, H. T. T., Agatsuma, T., Le, T. H., 2018. Distribution Status of Hybrid Types in Large Liver Flukes, *Fasciola* Species (Digenea : Fasciolidae), from Ruminants and Humans in Vietnam. *The Korean Journal of Parasitology.*, 56(5): 453-461
- Novobilsky, A. dan Höglund, J. 2015. First Report of Closantel Treatment Failure Against *Fasciola hepatica* in Cattle. *International Journal for Parasitology : Drugs and Drug Resistance.* 5 (3) : 172-177
- Patel, H. V., Patel, J. D., dan Patel, B. 2014, Comparative Efficacy of Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of Methanolic Extract of *Calotropis gigantea* and *Calotropis procera*. *International Jpurnal of Biological & Pharmaceutical Research.* 5 (2) :107-113
- Pratama, I. S., Tresnani , G., dan Maharani, B. F., 2016. Efek Antelmintik Infus Bunga Widuri (*Calotropis gigantea*). Laporan Penelitian. Lembaga Penelitian Universitas Matarm
- Prasetya, M. R., Koesdarto, S., Lastuti, N. D. R., Suwanti, L. T., Kusnoto, K., dan Yunus, M. 2019. Study on the Morphology of *Fasciola gigantica* and Economic Losses due to Fasciolosis in Berau, East Kalimantan. *Biosantifika* 11 (1) : 156-161
- Rana, M. A. A., Roohi, N., Khan, M. A. 2014. Fascioliasis in Cattle- A Review. *The Journal Animal & Plant Sciences* 24 (3) :668-675
- Sah. R, Khadka, S., Lakhey, P. J., Pradhan, S., Shah, N. P., Singh, Y. P., Mas-Coma, S., 2018. Human case of *Fasciola gigantica*-like infection, review of human fascioliasis reports in Nepal, and epidemiological analysis within the South Central Asia. *Acta Parasitologica*, 63 (435-443)
- Toner, E., Brennan, G. P., Wells, K., McGeown, J. G., dan Fairweather, I. 2008. Physiological and morphological effects of genistein against the liver fluke, *Fasciola hepatica*. *Parasitology.* 135(10) : 1189-203
- Vanda, H., Parindra, R., Hambal, M., Athaillah, F., 2020. Anthelmintic Activity of *Curcuma aeruginosa* Roxb Extract on *Fasciola gigantica* In Vitro. In *The E3S Web of Conference 2017*, 151 : 1-3
- Wariata, W., Sriasih, M., Rosyidi, A., Ali, M, Depamede S. 2019. Infeksi dan Tingkat Penyebaran Parasit Zoonosis Cacing Hati (*Fasciola sp.*) Pada Sapi Di Kabupaten Lombok Tengah dan Lombok Timur. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Indonesia.* 5(2) : 86-92

Status Klinis dan Deteksi Lip L32 pada Sapi Seropositif Leptospirosis di Kabupaten Kulon Progo

Clinical Status and Detection of Lip L32 in Seropositive Leptospirosis Cattles in Kulon Progo District

Guntari Titik Mulyani^{1*}, Wayan Tunas Artama², Estu Widodo³

¹Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

²Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

³Bidang Kesehatan Hewan, Dinas Pertanian dan Pangan Kabupaten Kulon Progo, Yogyakarta

*Email: guntari@ugm.ac.id

Naskah diterima: 7 Mei 2020, direvisi: 8 Januari 2021, disetujui: 8 Februari 2021

Abstract

Leptospirosis is a zoonotic disease caused by *Leptospira interrogans*. Animals can act as carriers, spreading *Leptospira* from urine, and be a source of infection for other animals and humans. In leptospirosis cows can cause abortion, early birth, infertility, decreased milk production and death. The aims of this study was to determine the clinical status and detect the presence of *Leptospira* with Polymerase Chain Reaction (PCR) from cattles urine i.e leptospirosis seropositive. A total of 12 cattles seropositive leptospirosis by Microscopic Agglutination Test (MAT) were carried out clinical examinations covering general conditions, pulsus, breathing and temperature and organ systems examination. The urine was collected aseptically, then DNA isolation carried out using Genoid. Detection of leptospira in the urine is carried out by detecting the presence of the primary lipoprotein LipL32 composing the *Leptospira* membrane. The primer employed was as follow forward: 5'-TGG ATC TGA TCA ACT ATT ACG-3' and reverse 5'-CAC TTC ACC TGG TTT GTA GGT-3'. Amplification was carried out at 40 cycles followed by electrophoresis to determine the band size at 506 bp. The results showed that all cows positive for leptospirosis by MAT were clinically healthy PCR showed 7 out of 12 positive samples were sourced from urine. It can be concluded that leptospirosis in cattles do not always show clinical symptoms, but have the potential to excrete leptospire from urine, so they can act as a source of transmission of leptospirosis to humans, and other animals.

Keywords: cattles; clinical status; Leptospirosis; LipL32.

Abstrak

Leptospirosis adalah penyakit zoonosis yang disebabkan oleh *Leptospira interrogans*. Hewan dapat berperan sebagai pembawa, menyebarkan *Leptospira* bersama urin, dan menjadi sumber infeksi bagi hewan lain dan manusia. Pada sapi leptospirosis dapat menyebabkan aborsi, kelahiran dini, infertilitas, produksi susu turun dan kematian. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui status klinis dan mendeteksi gen LipL32 leptospira dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) sampel urin dari sapi seropositif leptospirosis. Sebanyak 12 sapi yang seropositif leptospirosis dengan uji *Microscopic Agglutination Test* (MAT) dilakukan pemeriksaan klinis meliputi keadaan umum, pemeriksaan pulsus, nafas dan temperatur serta sistem organ. Urin dikoleksi secara aseptis, selanjutnya dilakukan isolasi DNA menggunakan kit dari Genoid. Deteksi leptospira dalam urin dilakukan dengan mendeteksi adanya lipoprotein utama LipL32 penyusun membrane LPS leptospira. Primer yang dipakai adalah *forward* 5'-TGG ATC TGA TCA ACT ATT ACG-3' dan primer *reverse* 5'-CAC TTC ACC TGG TTT GTA GGT-3'. Amplifikasi dilakukan sebanyak 40 siklus dan dilanjutkan dengan elektroforesis untuk mengetahui adanya pita yang terbentuk pada ukuran 506 bp. Hasil penelitian memberikan gambaran bahwa semua sapi yang positif leptospirosis dengan MAT dalam kondisi sehat secara klinis. Hasil PCR memberikan gambaran 7 dari

12 sampel positif ditemukan LipL32 *Leptospira interrogans* dalam urin yang ditunjukkan dengan terbentuknya pita pada 506 bp. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sapi yang positif leptospirosis tidak selalu menunjukkan gejala klinis, namun memiliki potensi mengeluarkan leptospira bersama urin, sehingga dapat berperan sebagai sumber penularan leptospirosis bagi hewan lain, maupun manusia.

Kata kunci: sapi; status klinis; Leptospirosis; LipL32

Pendahuluan

Leptospirosis adalah penyakit zoonosis yang disebabkan oleh *Leptospira interrogans* yang masuk genus *Leptospira*, family *Leptospiraceae* dan ordo *Spirochaetales*. Leptospirosis menyerang hampir semua mamalia, termasuk manusia. Hewan dapat bertindak sebagai karier yang dapat menyebarkan *Leptospira*, terutama bersama urin dan menjadi sumber penularan bagi hewan lain dan manusia (Thaipadungpanit *et al.*, 2011). *Leptospira* bersifat aerobik, motil, gram negatif, bentuknya dapat berkerut-kerut, dan terpilin dengan ketat. *Leptospira* memiliki 3 komponen utama, yaitu : protoplasmik spiral, filament axial (230 – 250 A), dan kompleks amplop yang melindungi organisme. Amplop luar *Leptospira* tersusun atas protein, lemak dan lipopolisakarida (Adler dan Moctezuma, 2010).

Leptospirosis memiliki distribusi geografis yang luas dan terjadi di daerah tropik, sub tropik dan daerah yang hangat. Iklim yang cocok untuk perkembangan *Leptospira* adalah udara yang hangat, tanah yang lembab/basah dan pH alkalis. Keadaan demikian banyak dijumpai di negara tropik sepanjang tahun, termasuk di Kulon Progo wilayah yang banyak memiliki sungai. Penularan dapat langsung maupun tidak langsung, peranan hewan dalam penyebaran leptospirosis sangat potensial (Adler and Moctezuma, 2010).

Tanda-tanda klinis yang terkait dengan leptospirosis sapi bervariasi dan tergantung pada serovar yang menginfeksi dan kerentanan hewan. Secara klinis, leptospirosis sapi sulit untuk didiagnosis karena gejalanya tidak spesifik dan mudah disalahartikan dengan penyakit lain (Brown *et al.*, 2011). Infeksi biasanya didapat pada usia dini, dan prevalensi ekskresi kronik melalui urin meningkat dengan bertambahnya umur hewan. Leptospirosis akan menetap sebagai infeksi kronik dalam tubulus ginjal inang reservoir, dan akan dikeluarkan bersama urin dan merupakan

sumber penularan leptospirosis (Besung, 2012). *Leptospira* dapat bertahan hidup selama 74 hari di tanah dan dapat tumbuh dan berkembang pada kondisi yang memungkinkan (Vijayachari, 2007).

Menurut Vijayachari *et al.*, (2007), MAT adalah *Gold standart* untuk mendiagnosis leptospirosis karena kemampuannya mendeteksi antibodi spesifik terhadap spesies *Leptospira* dalam sampel serum. Ahmed *et al.*, (2012) telah menyarankan teknik PCR karena memberikan keuntungan substansial dibandingkan isolasi dan teknik MAT, PCR dirasa lebih murni, waktu penyelesaian cepat, dan tidak perlu memelihara leptospira hidup dalam berbagai serovar. Musso *et al.*, (2013) mengatakan bahwa keuntungan dari diagnosis berbasis asam nukleat terletak pada kemampuannya untuk mendapatkan diagnosis pasti selama tahap akut penyakit bahkan sebelum antibodi dapat dideteksi.

Beberapa sasaran yang dapat digunakan dalam PCR *Leptospira* adalah : (1) RNA, seperti 16SrRNA, 23SrRNA, (2) komponen dalam membran luar *Leptospira* seperti : LipL21, LipL32, LipL41, OmpL1 dan (3) immunoglobulin-like (Lig) gen, seperti LigA, LigB, LigC serta (4) antigen dalam flagella, seperti fla A dan fla B (Satbige, *et al.*, 2020). Teknik PCR dengan target wilayah gen protein permukaan LipL32 hanya mampu mendeteksi *L. interrogans*. Metode ini mampu mendeteksi 100 leptospira / mL plasma, serum atau darah utuh, dan 0,7 setara genom (GE) / reaksi jaringan parafin (Gonzales *et al.*, 2013). Lipoprotein L32 adalah protein yang paling menonjol dalam profil protein *Leptospira*, lipoprotein ini penting dalam patogenesis, diagnosis, dan pencegahan leptospirosis (Haake *et al.*, 2010).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui status klinis dan keberadaan *Leptospira interrogans* dalam urine sapi yang seropositif leptospirosis dengan mendeteksi adanya LipL32. Sapi

yang mengeluarkan *Leptospira interrogans* bersama urin tanpa menunjukkan gejala klinis, merupakan sumber penularan yang tidak disadari.

Materi dan Metode

Penelitian ini diawali dengan melakukan deteksi leptospirosis terhadap sapi di wilayah aliran sungai Progo, kabupaten Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta. *Microscopic Agglutination Test* (MAT) dilakukan dengan mereaksikan serum sapi dengan 14 jenis serovar *Leptospira interrogans*, yaitu serovar : *Ichterohaemorrhagiae, Javanica, Celledoni, Ballum, Pyrogenes, Cynopeteri, Rachmati, Auatralis, Pomona, Canicola, Grippotyphosa, Bataviae, Hardjo, Tarrasovi*. Sebanyak 12 sapi yang seropositif leptospirosis dilakukan pemeriksaan klinis meliputi keadaan umum, pemeriksaan pulsus, nafas dan temperatur serta kondisi tubuh. Sapi dinyatakan sehat secara klinis jika memiliki kondisi tubuh sedang dengan BCS minimal 2-3, ekspresi muka tenang, pulsus 60-70 kali/menit, nafas 24-42 kali/menit dan suhu 37,5-39,5°C.

Polymerase Chain Reaction dilakukan terhadap 12 sampel urin sapi seropositif yang dikoleksi secara aseptis, selanjutnya disentrifus dan endapannya dilakukan isolasi DNA menggunakan kit dari Genoid. Deteksi leptospira dalam urin dilakukan dengan mendeteksi adanya lipoprotein utama LipL32 penyusun membrane LPS *Leptospira*. Primer didesain dengan primer *forward* sepanjang 21 basa: 5'-TGG ATC TGA TCA ACT ATT ACG-3' yang mengandung GC 38,1% dengan Tm 57,2°C. Primer *reverse* sepanjang 22 basa diperoleh: 5'-CAC TTC ACC TGG TTT GTA GGT-3' yang mengandung GC 45,5% dengan Tm 62,1°C. Amplifikasi membutuhkan DNA cetakan hasil isolasi sebanyak 10,5 µl (tanpa dH₂O) . Kondisi untuk amplifikasi gen lipL32 adalah: predenaturasi awal selama 5 menit pada suhu 95°C, denaturasi selama 30 detik pada suhu 95°C, *annealing* selama 30 detik pada suhu 55 °C, *elongasi* selama 1 menit pada suhu 72 °C. Amplifikasi dilakukan sebanyak 40 siklus dan diakhiri dengan ekstra *elongasi* selama 10 menit pada suhu 72 °C. Elektroforesis dilakukan pada 100 V selama 45 menit atau sampai pewarna merah pelacakan bermigrasi lebih dari dua pertiga panjang baki gel. Gel diletakkan di bawah UV

trans-illuminator dan hasilnya didokumentasikan untuk dianalisis.

Hasil dan Pembahasan

Pemeriksaan klinis sapi meliputi keadaan umum, pemeriksaan pulsus, nafas dan temperatur serta pemeriksaan sistem organ. Hasil pemeriksaan klinis disajikan pada Tabel 1.

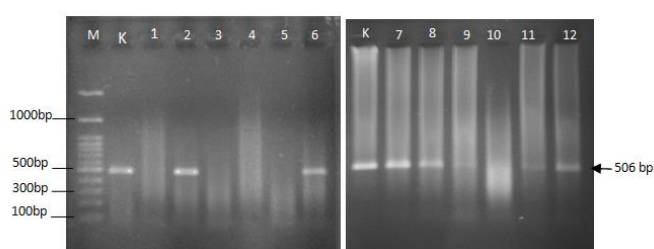
Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Klinis

No	Jenis Pemeriksaan	Hasil	Keterangan
1	BCS	2,1±0,30.	Normal
2	Frekuensi nafas	32±6,97 kali/menit	Normal
3	Pulsus	69±10,00 kali/menit	Normal
4	Suhu	38,1±0,19°C	Normal
5	Sistema organ	Tidak ada perubahan	Normal

Dari 12 sapi yang diperiksa, semuanya berada pada batas normal. Pemeriksaan terhadap semua sistem organ tidak ditemukan adanya perubahan. Infeksi *Leptospira* pada penelitian ini bersifat subklinis, diagnosis leptospirosis ditetapkan berdasarkan adanya antibodi dalam tubuh. Menurut Hamond *et al.*, (2015) leptospirosis pada sapi sebagian besar bersifat asimtomatik sekalipun sapi menyebarkan leptospira bersama urin. Tidak adanya gejala klinis pada sapi-sapi yang terinfeksi *Leptospira* ini, diduga karena faktor usia dewasa dan jenis serovar yang menginfeksi. Kondisi ini menyebabkan tidak adanya perbedaan klinis antara sapi yang sehat dengan sapi yang menderita leptospirosis, akibatnya peran sapi sebagai sumber penularan leptospirosis tidak disadari.

Menurut Vijayachari *et al.*, (2007), MAT adalah *Gold standart* untuk mendiagnosis leptospirosis karena kemampuannya mendeteksi antibodi spesifik terhadap spesies *Leptospira* dalam sampel serum. MAT telah digunakan sebagai uji referensi, namun demikian metode ini menunjukkan sensitivitas yang relatif rendah (Limmathurotsakul *et al.*, 2012). Menurut Toyokawa *et al.*, (2011) MAT tidak mampu mendeteksi antibodi pada awal penyakit. Kelemahan ini telah menyebabkan peningkatan pengembangan dan penggunaan diagnostik berbasis asam nukleat, seperti konvensional dan real-time polymerase chain reaction (PCR) dan metode amplifikasi isothermal, yang menonjolkan sensitivitas tinggi (Ahmed *et al.*, 2012). Metode PCR adalah metode yang secara

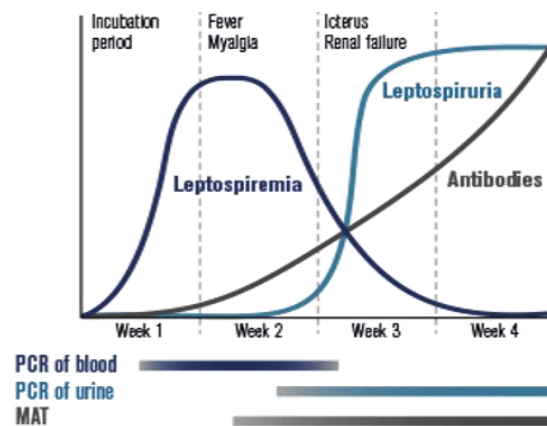
langsung mendeteksi adanya *Leptospira* dalam sampel dan lebih banyak digunakan untuk deteksi *Leptospira* patogen karena memiliki sensitivitas tinggi dan kemampuan untuk mendiagnosis dini (Chirathaworn *et al.*, 2007). Pemeriksaan dengan PCR merupakan metode alternatif untuk mendeteksi gen LipL32 leptospira menggunakan sampel urine (Satbige *et al.*, 2020). LipL32 adalah protein yang paling menonjol dalam profil protein *Leptospira*, lipoprotein ini penting dalam patogenesis, diagnosis, dan pencegahan leptospirosis (Haake *et al.*, 2010). Hasil PCR urin sapi disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil elektroforesis gen LipL32 *Leptospira* dari sampel urin sapi.
M= marker, K= kontrol, 1-12 = sampel.

Dari 12 sampel yang dilakukan PCR, 7 sampel (58%) menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya band pada 506 bp. Pada penelitian ini tidak semua sapi seropositif leptospirosis terdeteksi mengeluarkan leptospira bersama urine. Pada sapi yang baru saja mengalami infeksi (fase leptospiremia) akan memberikan hasil PCR urine negatif karena leptospira masih ada dalam darah dan tidak dijumpai dalam urine. Menurut Gonzalez *et al.*, (2013) metode ini mampu mendeteksi 100 leptospira / mL plasma, serum, darah utuh, atau urine, dan 0,7 setara genom (GE) / reaksi jaringan parafin. Harkin *et al.*, (2003) menjelaskan fase leptospiremia dan leptospiruria dan kemampuan PCR untuk mendeteksi leptospira seperti Gambar 2.

Menurut Mulyani *et al.*, (2016) serovar penyebab leptospirosis pada sapi di daerah aliran sungai Progo didominasi serovar Hardjo (38,0%), serovar Ichterohaemorrhagie (15,0%), dan serovar Bataviae (9,0%). Ramadhani dan Yuniarto (2012) melaporkan kasus Leptospirosis pada manusia di Kulon Progo tahun 2011 disebabkan oleh *Leptospira* serovar Harjo, Semarang, Ichterohaemorrhagie, Bataviae, dan Patoc. Adanya



Gambar 2. Fase leptospiremia dan leptospiruria (Harkin *et al.*, 2003).

kesamaan beberapa serovar yang ada pada sapi dan manusia menguatkan dugaan bahwa di Kulon Progo sapi juga memiliki peran sebagai sumber penularan leptospirosis. Hewan pembawa merupakan risiko zoonosis potensial. Manusia terinfeksi melalui urin pembawa secara langsung atau tidak langsung oleh air atau tanah yang terkontaminasi (Adler dan Moctezuma, 2010).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sapi yang seropositif leptospirosis di Kulon Progo tidak menunjukkan gejala klinis leptospirosis. *Leptospira interrogans* dalam urin ditemukan pada 7 (58%) sapi seropositif leptospirosis. Deteksi leptospirosis dengan komponen membran Lip32 menggunakan PCR sangat menguntungkan untuk mendeteksi leptospirosis subklinis. Keberadaan leptospira dalam urin sapi dapat berperan sebagai sumber penularan bagi hewan lain, manusia maupun lingkungan.

Daftar Pustaka

- Adler B, de la Pena Moctezuma A. 2010. *Leptospira* and leptospirosis. *Vet Microbiol.*, 140(3-4):287-296.
- Ahmed, S.A., Sandai, D.A., Musa, S., Hoe, C.H., Riadzi, M., Lau, K.L. & Tang, T.H. 2012. Rapid Diagnosis of Leptospirosis by Multiplex PCR. *Malaysian Journal of Medical Sciences* 19: 9-16

- Besung, I.N.K. 2012. Leptospirosis Pada Hewan. Proceedings of 8th National Congress of Indonesia Association of Clinical Microbiology (PAMKI), November 1st – November 3th 2012, Bali, Indonesia
- Brown, P.D., Mckenzie, M., Pinnock, M., McGrowder, D. 2011. Environmental risk factors associated with leptospirosis among butcher and their associates in Jamaica. *IJOEM*, 20(1):47-57.
- Chirataworn, C., Kaewopas, Y., Poorawan, Y., and Suwancharoen, D. 2007. Comparison of A Slide Agglutination Test, Leptotek Dri-dot, and IgM-Elisa with Microscopic Agglutination Test for Leptospirosis Antibody Detection. *Research Note*, 38 (6), 111-114.
- González S, Geymonat JP, Hernández E, Marqués JM, Schelotto F, Varela G. 2013. Usefulness of real-time PCR assay targeting lipL32 gene for diagnosis of human leptospirosis in Uruguay. *J Infect Dev Ctries*. 7:941-945.
- Haake, D.A., and Matsunaga, J. 2010. Leptospira: A Spirochaeta with a hybrid outer membrane. *Mol. Microbiol.*, 7714, 805-814.
- Hamond, C., Martin, G., Lilenbaum, W., Pinna, M., and Medeiros, M.A. 2015. Infection by Leptospira spp. In Cattle in Tropical Region, Rio de Janeiro, Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 92(1):210.
- Harkin, K.R., Roshto, Y.M., Sullivan, J.T., Purvis, T.J., and Chengappa, M.M. 2003. Comparison of polymerase chain reaction assay, bacteriologic culture, and serologic testing in assessment of prevalence of urinary shedding of leptospire in dogs. *J Am Vet. Med Assoc* 222(9): 1230–1233.
- Limmathurotsakul, D., Turner, E.L., Wuthiekanun, V., Thaipadungpanit, J., Suputtamongkol, Y., Chierakul, W. 2012. Fool's gold: why imperfect reference tests are undermining the evaluation of novel diagnostics: a reevaluation of 5 diagnostic tests for leptospirosis. *Clin Infect Dis*, 55:322-31.
- Mulyani, G.T., Sumiarto, B., Artama, W.T., Hartati, S., Juwari, Sugiwinarsih, S., Putra, H.R.C., Widodo, E. 2016. Kajian Leptospirosis pada Sapi Potong di Daerah Aliran Sungai Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta. *Jurnal Kedokteran Hewan* 10(1):68-71.
- Musso, D., La Scola, B. 2013. Laboratory diagnosis of leptospirosis: a challenge. *J Microbiol Immunol Infect*;46(4):245–52.
- Ramadhani, T., Yuniato, B. 2012. Reservoir dan Kasus Leptospirosis di Wilayah Kejadian Luar Biasa. *J. Kes. Masy. Nas.* 6(4), 162-168.
- Satbige, A.S., Patil, N.A., Awati, B., and Sandeep, H. 2020. Detection of leptospirosis in the urine of cattle in North Karnataka, South India. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 8(1):727-729.
- Thaipadungpanit, S.B.J., Amornchai, P., Wuthiekanun, V., Limmathurotsakul, W.C.D., Day, N.P., Peacock, S.J. 2011. Molecular detection and speciation of pathogenic *Leptospira* spp. in blood from patients with culture-negative leptospirosis. *BMC Infectious Diseases*.; 11 (2):338.
- Toyokawa, T., Ohnishi, M., Koizumi, N. 2011. Diagnosis of acute leptospirosis. *Expert Rev Anti Infect Ther.*;9(1):111–21
- Vijayachari, P. 2007. Leptospira in *Leptospirosis Laboratory Manual*. World Health Organization, Country office for India. 8-12.

Prevalence and Risk Factors of *Cryptosporidium* spp. on Dairy Farms in Bogor

Prevalensi dan Faktor Risiko Cryptosporidium spp. pada Peternakan Sapi Perah di Kabupaten Bogor

Arifin Budiman Nugraha^{1*}, Umi Cahyaningsih¹, Etih Sudarnika²

¹Laboratory of Protozoology, Faculty of Veterinary Medicine, Jln. Agatis Kampus IPB Dramaga, IPB University, Bogor

²Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Jln. Agatis Kampus IPB Dramaga, IPB University, Bogor

*Email: arifin@apps.ipb.ac.id

Naskah diterima: 9 Mei 2020, direvisi: 4 November 2020, disetujui: 17 Desember 2020

Abstrak

Kriptosporidiosis adalah penyakit yang disebabkan oleh *Cryptosporidium* spp. yang dapat menginfeksi manusia dan ternak di seluruh dunia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menduga terdapat infeksi *Cryptosporidium* serta mengidentifikasi faktor risiko yang berhubungan dengan infeksi *Cryptosporidium* spp. di peternakan sapi perah di Bogor. Sebanyak 308 sampel feses yang terdiri atas 136 sampel feses dari sapi berumur < 6 bulan, 43 sampel dari yang berusia antara 6 -12 bulan dan 128 sampel dari sapi berumur > 12 bulan. Pencatatan dilakukan pada data yang terkait dengan faktor-faktor yang berpotensi dengan kemungkinan infeksi *Cryptosporidium* spp. yaitu, status lingkungan, jumlah ternak, dan manajemen ternak. Ookista dari *Cryptosporidium* spp. diidentifikasi dengan menggunakan teknik pewarnaan tahan asam Ziehl Neelsen dan diperiksa secara mikroskopis dengan pembesaran 400x. Hasil penelitian menunjukkan prevalensi kriptosporidiosis di Bogor sebesar 21,1% (CI 95%; 16,5% -25,6%). Prevalensi tertinggi terjadi pada sapi berumur < 6 bulan, yakni 29% (CI 95%; 26,8% -31,7%). Kelimpahan ookista berkisar <5 ookista per luas lapang pandang. Analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara kriptosporidiosis dengan pedet umur < 6 bulan dengan Odds ratio (OR) 2,7 (CI 95%; 1,5-5,2) kali dibandingkan dengan sapi berumur >12 bulan. Penelitian ini menunjukkan bahwa *Cryptosporidium* spp. ditemukan di peternakan sapi perah Kabupaten Bogor. Hasil ini memberikan informasi dasar yang penting untuk penelitian selanjutnya. Oleh karena itu, pencegahan dan pengendalian infeksi *Cryptosporidium* spp. perlu dilakukan untuk mengurangi potensi penularan pada manusia dan hewan.

Kata Kunci: Bogor; *Cryptosporidium* spp.; faktor risiko; prevalensi; sapi perah.

Abstract

Cryptosporidiosis is an important zoonotic disease caused by *Cryptosporidium* spp which found infect humans and livestock worldwide. The aim of this study was to estimate the prevalence of *Cryptosporidium* infection and to identify risk factors related with shedding of oocysts in two dairy farms in Bogor. A total of 308 faecal samples were collected which consisted of 136 faecal samples from cattle aged less than 6 months, 43 samples from those between 6 to 12 months and 128 samples from those above 12 months. Data of factors potentially associated with the likelihood of *Cryptosporidium* spp. infection were recorded (i.e., environmental status, size of herd, and herd management). *Cryptosporidium* spp. oocyst was identified by using modified acid fast (Ziehl Neelsen) staining technique and microscopically examined under 400x magnification. Results showed that the prevalence of cryptosporidiosis in Bogor was 21.1% (CI 95%; 16.5%-25.6%). The highest prevalence was 29% (CI 95%; 26.8%-31.7%) which was observed in cattle aged less than 6 months. The oocysts abundance were around <5 oocysts per microscopy visual area. Data was analyzed using logistic regression models. Statistical

analysis showed that there were association between cryptosporidiosis and calves aged less than 6 months with an odds ratio (OR) was 2.7 (CI 95%; 1.5-5.2) times compared with cattle aged more than 12 months. This study revealed that the *Cryptosporidium* spp. was present in dairy farm Bogor district. The result provide baseline information for further study. Prevention and control of *Cryptosporidium* spp. infection needs to be done to reduce the potential of infection to humans and animal.

Keywords: Bogor; *Cryptosporidium* spp.; Dairy Farm; Prevalence; Risk Factors.

Introduction

Cryptosporidium species belong to the Apicomplexa phylum of parasites and has been detected in a wide range of vertebrate hosts. *Cryptosporidium* is a zoonotic protozoa that infects many different mammals including cattle and humans. *Cryptosporidium* is recognized as one of the primary pathogens causing diarrhea in neonatal calves (Thompson *et al.*, 2017). This protozoa is transmitted through water, food, and environmental contamination by its oocysts. Control of environmental contamination by oocysts is difficult because the oocysts are very small (4- 6 μm) and can survive for months at room temperature (Ramirez *et al.* 2004).

Cryptosporidiosis is become the concern of the dairy producers due to its the direct losses due to calves not performing well and the potential for environmental contamination. It has been reported that cattle infected with *Cryptosporidium* losses its weight 0.5 kg per day. It was suggested that chronic infection in cattle causes gastritis, reduces milk yield and poor weight gain (Anderson 1998). These conditions may lead to serious economic losses.

Currently, there is limited of information regarding the prevalence and risk factors for this protozoal parasite in the Indonesian cattle production systems and how the best way to reduce the occurrence of animal infection. In Indonesia, dairy cattle are primarily managed by small farm holders with traditional management systems. It is therefore necessary to improve management approaches in order to prevent the risk of cryptosporidiosis. Cryptosporidiosis prevalences which has been reported from other countries vary from 22 to 59% (Anderson & Hall 1982; Castro-Hermida *et al.* 2006; Brook *et al.*, 2008). While, studies on the prevalence of cryptosporidiosis in Indonesia in beef cattle has

been reported in in Bali district 37.4% (Artama 2005), and in West Java which reported positive for *C. andersoni* (Ananta 2014). However, the information regarding the cryptosporidiosis prevalence in dairy cattle in Bogor district has not been reported so far. In Indonesia, dairy cattle are primarily managed by small farm holders with traditional management systems. It is therefore necessary to improve management approaches in order to prevent the risk of cryptosporidiosis. The aim of the study is to determine the prevalence of *Cryptosporidium* infection and its associated risk factors in dairy cattle in the district of Bogor, Indonesia. The aim of the study is to determine the prevalence of *Cryptosporidium* infection and its associated risk factors in dairy cattle in the district of Bogor, Indonesia.

Materials and Methods

Study Area

A cross-sectional study was conducted to identify factors associated with the risk of *Cryptosporidium* spp. infection in two dairy farms (i.e., Kawasan Usaha Ternak and KUD Giri Tani) district in Bogor, West Java, Indonesia. All animals in the dairy farms are of Holstein-Friesian breed or local breeds crossed with Holstein-Friesian. Faecal samples were collected per rectum from a random selection of calves younger than 6 months, animals between 6 and 12 months and adult cows (> 12 months).

Sample Size

Samplings were conducted in two dairy farm regions (Kawasan Usaha Ternak, Cibungbulang and KUD Giri Tani, Cisarua), with total 3500 animals population. Sample size was determined based on 95% confident, 50% expected prevalence, and 5% desired absolute precision. Based on that, a total sample size of 308 samples was determined.

The formula for determining the sample size (Thrusfield 2005) is as follows:

$$n = \frac{4pq}{L^2}$$

n : required sample size

p : expected prevalence

q : $(1 - p)(1 - p)$

L : desired absolute precision

Sample collection

Those samples were taken from the rectum of each animal and put into separate plastic bags. The plastic bags were identified based on the farmer's name, age of animal, and animal ear tag and then stored without any preservation at 4°C until faecal processing in the laboratory.

Oocyst purification in faeces

Faecal samples were mixed with Sheater's sucrose floatation, centrifuged at 1500 rpm for 10 minutes, and the upper third of solution (*Cryptosporidium* oocyst layer) were harvested. A drop of the oocyst suspension was spread onto a microscope slide, cover slipped, and examined for oocysts using phase contrast microscopy at 400x magnification. This method was used as an initial screening tool and to generate a semi-qualitative evaluation of oocyst intensity for the sample. After that, the oocyst layer is combined with 30 to 50 ml of distilled water centrifuged at 1500 rpm for 10 minutes, and the supernatant removed. The sediment layer typically contains many oocysts for positive samples and this purification step dramatically improves the sensitivity and specificity of the acid fast staining procedure defined below.

Modified Ziehl-Nelsen (acid fast) staining of oocysts

Twenty µl of resuspended faecal sediment was smeared onto a glass slide and air dried overnight. Slides were stained in carbol fuchsin for 5 to 10 minutes, rinsed in tap water for 2 to 3 minutes, and decolorized in acid alcohol (1% HCL in 70% ethanol) for 5 seconds. Slides were then rinsed in water for 5 seconds, counterstained with methylene blue for 2 to 3 minutes, and air dried. Using light microscopy, the entire smear was examined at

1000x magnification for *Cryptosporidium* spp. oocysts (Rosiléia *et al.* 2006).

Data collection

A questionnaire was designed to collect data on demographic, general herd management, and health factors hypothesized to be associated with the risk of *Cryptosporidium* spp. infection in dairy herds. Data were collected by personal interview with the farm owner or worker.

Oocyst abundance

Oocyst abundance was determined by assessing the average number of oocyst seen per ten fields (1+ = < 5 oocysts per field, 2+ = >5 oocysts per field, 3+ = > 20 oocysts per field). Oocysts were identified using 400x magnification and confirmed under 1000x magnification (Banda *et al.*, 2009).

Statistical Analysis

The SPSS statistical program (Version 6.1) was used to generate descriptive statistics and manage data. Prevalence was determined as the proportion of samples tested positive for *Cryptosporidium* spp. to those tested negative. Prevalence was examined in the population as a whole, at the herd level and by age. Logistic regression analysis was used to determine association of risk factors and infection of *Cryptosporidium* spp. Interval prevalence was calculated as follows :

$$\hat{p} \pm Z_{\alpha/2} \sqrt{\frac{\hat{p}(1 - \hat{p})}{n}}$$

\hat{p} : $x/nx/n$

\hat{p} : prevalence

x : positive samples

n : sample size

$Z_{\alpha/2}$: normal standard value $\alpha/2$

Results and Discussion

The number of faecal samples obtained in this study was 308 samples from 3 different age groups. The sample consisted of 136 faecal samples from cattle aged less than 6 months, 43 samples from those between 6 to 12 months and 128 samples from those above 12 months. The overall prevalence of cryptosporidiosis in the two

Table 1. Prevalence of cryptosporidiosis according to different age groups

Ages	Prevalence (%)	Prevalence Interval (%)
< 6 months (n=136)	29	26.8-31.7
6-12 months (n=44)	23	18.3-27.7
> 12 months (n=128)	13	12.3-23.7
Herd prevalence	21.1	16.5-25.6

dairy farms in Bogor was 21.1% (67/308) (CI 95%; 13.1% -21.5%) with the respective prevalence in each farm was 17.3% (CI 95%; 13.1% -21.5%) in Kunak and 24.9% (CI 95%; 20% -29.7%) in Cisarua. Cryptosporidiosis prevalence data for each region is presented in Table 1.

Table 1 revealed that the highest prevalence was found in cattle aged less than 6 months. Based on microscopic examination with modified acid fast (Ziehl Neelsen) staining, there were 67 stool samples positive for *Cryptosporidium* spp. from a total of 308 samples. From the 67 positive samples, the average abundance of oocysts was less than 5 oocysts per field of view with 400 x magnifications. Cattle aged less than 6 months was the highest age group infected with *Cryptosporidium* spp. compared to the other two age groups (6 to 12 months and more than 12 months).

Risk factor analysis was conducted to determine which variables are risk to cryptosporidiosis. All variables were tested by bivariate (Chi square) to determine the variables candidate. Variables with $p < 0.05$ value was selected candidate variable of risk factors to *Cryptosporidium* infection. The variables candidate included source of water, diarrhea

in cattle, cattle age, duration of diarrhea, faecal disposal sites, and animal density. Furthermore, the six variables were further analyzed using multiple logistic regressions to determine which variables were at risk an incidence risk of cryptosporidiosis in cattle. Calves aged less than 6 months have odds ratio (OR) of 2.7 (CI 95%; 1.5-5.5) times, compared to cattle aged more than 12 months, but only cattle aged less than 6 months with significant relation ($p < 0.05$) on the incidence of cryptosporidiosis (Table 2).

Cryptosporidiosis prevalences which has been reported from other countries vary from 22 to 59% (Anderson & Hall 1982; Castro-Hermida et al. 2006; Brook et al, 2008), although this depends on the age of the target population and the diagnostic test used. Meanwhile, studies on the prevalence of cryptosporidiosis in Indonesia in beef cattle has been reported in two regions namely in Bali district which reported a prevalence of 37.4% with the highest prevalence in cattle aged less than 6 months (16%) (Artama 2005), and in West Java which reported two samples were positive for *Cryptosporidium andersoni* (Ananta 2014). However, the information regarding the

Table 2. Risk factors associated with *Cryptosporidium* spp. in dairy herds in Bogor district

No	Variable	Number of observation	<i>Cryptosporidium</i> spp Oocyst Shedding		Odds Ratio (CI 95%)	p
			Positive	Negative		
1	Feed storage					
	On the floor	71	16 (23%)	55 (77%)	1.1 (0.6-2.1)	0.79
	Feed storage	237	50 (21%)	187 (79%)	Reference	
2	Age					
	< 6 months	136	40 (29%)	96 (70%)	2.7 (1.5-5.5)*	0.002
	6-12 months	44	10 (23%)	33 (77%)	1.9 (0.8-4.8)	
> 12 months	128	17 (13%)	112 (87%)	Reference		
3	Herd density					
	< 10 herds	156	35 (23%)	121 (77%)	Reference	0.01
	≥ 10 herds	152	31 (20%)	121 (80%)	1.1 (0.6- 1.9)	
4	Waste disposal					
	River	186	45 (24%)	141 (76%)	0.6 (0.1-3.6)	0.61
	Field	116	19 (16%)	97 (84%)	0.4 (0.07-2.3)	
	Septic tank (biogas)	6	2 (33%)	4 (67%)	Reference	

note : (*) statistically significant $p < 0.05$

cryptosporidiosis prevalence in dairy cattle in Indonesia has not been reported so far.

According Fayer *et al.*, (2000), the results of the prevalence of cryptosporidiosis depend on the sensitivity and specificity of inspection methods and the age of the animal sampled. Examination of samples using the modified Ziehl Neelsen method had lower specificity and sensitivity compared to molecular technique. Therefore, to obtain better results, a combination of conventional and molecular examination is needed (Brook *et al.* 2008). Low levels of oocysts were detected because the samples were taken mainly in weaned cattle as in this period there were a lack of pre-weaned calves. However, the highest number of positive sample was found in calves aged less than 6 months. Age has a high correlation with *Cryptosporidium* infection, mainly in calves aged between 8 days to 21 days. Brook *et al.* (2008) reported that calves aged 8 days to 21 days old had 5.24 times at higher risk compared to the older cattle, while Atwill *et al.* (1999) reported that calve aged 4 months or less was 13 times at risk compared to older animals. Cryptosporidiosis incidence will decrease when the age increases (Maldonado-Camargo *et al.* 1998), and it was proven by Doungmala *et al.* (2019) who observed that the prevalences in young cattles were higher than older animals (12 months to 24 months and more than 2 years). This is perhaps associated with the immunity of the animals where adult animals have a better immunity due to previous exposure to *Cryptosporidium* infection compared to young animals, which are usually susceptible to initial infections.

Animals and humans can potentially be infected by *Cryptosporidium* oocysts excreted in faeces of infected cows. Disposal of waste on a dairy farm in Bogor in general has not been implemented properly, because the waste is not disposed off in a special channel. There was evident that farmers were flowed some waste disposal (faeces and food remains) that into the river and the area of plantation. Based on observations, most of the farmers dispose the livestock waste (faeces) directly into the river. Therefore, the re-use of river water poses high risk of infection by *Cryptosporidium* infection. Sicho *et al.* (2000) reported that the poor management of surface water which contaminated with cattle manure

was one of the potential risk for the spread of *Cryptosporidium* oocysts. Yoshinori *et al.* (2001) reported that 6 out of the 10 samples of river water that was along the dairy farm in Hokkaido were positive for *Cryptosporidium* oocysts. Additionally, Artama (2005) reported that water samples taken from the river water used to bathe the Bali cattle in Karangasem regency were 100% positive for *Cryptosporidium* oocysts. However, the examination of *Cryptosporidium* oocysts in river water was not conducted in this study. The poor of waste management and disposal were not done properly will be a source of environmental pollution.

Calves are important sources of cryptosporidiosis in herds. The most important thing that calf infected by oocysts was when the farmer provides colostrum. Calves can be infected by *Cryptosporidium* oocyst at any time after birth. Shortly after calves are born, farmer will directly give colostrum from the cow. If the farmers did not clean the udders properly when milking the colostrum, the dirt/contaminant attached to the udder can be a source of contamination to the colostrum. The farmers in Bogor usually gave colostrum in the bucket and assisted by hand to stimulate the calf to drink. However, generally farmers in this area do not pay attention to good personal hygiene such as washing hands properly before giving the colostrum to the calves. Maldonado *et al.* (1998) reported that the way the colostrum was fed to calf was related to incident of cryptosporidiosis. Another study reported that calves infected by oocysts of *Cryptosporidium* were the first hour post birth caused by environmental contamination by oral route (Naciri *et al.* 2011).

Furthermore, there were two sources of water used by the farmers for their activity, one from rivers and the other from springs. The used of river water was risk of *Cryptosporidium* infection. Because one of the transmission of *Cryptosporidium* oocysts was through water. It is known that the water of the river was a collection of fecal waste water from various places, one of which the waste water from dairy farms. In addition, many farmers stated that the source of water used was never checked periodically for filtration and chlorination. Therefore, it is recommended to farmers one precaution against

the possibility of contamination of oocysts in water sources used by breeders do a double check water for *Cryptosporidium* oocysts spp. Korich et al. (1990) reported that the use of ozonation and chlorin dioxide for the water was able to reduced the viability and infectivity of *Cryptosporidium* oocysts. In addition, the use of disinfectants in combination was much better than the used single disinfectants.

There are 5 risk factors associated with cryptosporidiosis such as herd density, number of milking cows, presence of animals other than cattle on the farm, the distance of the barn from the house septic system, and animals' age (Nydham & Mohammed 2005). In this study, the farmers raised the animals in groups and not in individual pen. This management practice will increase the risk of *Cryptosporidium* infection, because if one of the animals gets infected with cryptosporidiosis, the infected animal can be a source of infection for other healthy animals.

Conclusions

Prevalence of cryptosporidiosis in dairy farms in district of Bogor district was 21.1% (CI 95%: 16.5% -25.6%) with the highest prevalence in cattle aged less than 6 months, is 29% (CI 95%: 26.8% -31.7%). The cattle aged less than 6 months have Odds Ratio 2.7 (CI 95%; 1.5-5.5) times compared than other age groups. *Cryptosporidium* oocysts abundance in general is still in the low range (less than 5 oocysts per field of view. Therefore, the prevention and control the danger of infection *Cryptosporidium* infection needs to be done to reduce the potential of infection to humans and decrease the mortality of young animal due to parasites.

References

- Anderson, B.C., Hall, R.F. (1982). Cryptosporidial infection in Idaho dairy calves. *J Am Vet Med Assoc.* 181: 484-485.
- Anderson, Bruce, C. (1998). Cryptosporidiosis in bovine and human health. *J dairy Sci.* 81: 3036-3041.
- Artama, I.K. (2005). *Cross Sectional Study of Cryptosporidiosis for Bali Cattle in Karang Asem Bali. Thesis.* Faculty of Veterinary Medicine, IPB University.
- Atwill, E.R., Johnson, E.M., Pereira, M.G. (1999). Association of herd composition, stocking rate, and duration of calving season with fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in beef herds. *J Am Vet Med Assoc.* 215: 1833-1838.
- Ananta, M.S., Suharno, Hidayat, A., Makoto, M. (2014). Survey on gastrointestinal parasites and detection of *Cryptosporidium* spp. on cattle in West Java, Indonesia. *Asian Pac J Trop Dis.* 7: 197-201.
- Banda, Rosely, A.B., Nichols, A.M., Grimason, Smith, H.V.(2009). *Cryptosporidium* infection in non-human hosts in Malawi. *Onderstepoort J Vet Res.* 76: 363-375.
- Brook, E., Hart, A., French, N., Christley, R. (2008). Prevalence and risk factors for *Cryptosporidium* spp. Infection in young calves. *Vet Parasitol.* 152: 46-52.
- Castro, Hemida, J.A., Caroo, Corral, Gonzales, W, Mezo, M. (2006). Prevalence and intensity of infection of *Cryptosporidium* spp and *Giardia duodenalis* in dairy cattle in Galicia. *J Vet Med. B. Infect Dis. Vet Public Health.* 53: 244-246.
- Clark, D.P., and Sears, C.L. (1996). The Pathogenesis of cryptosporidiosis. *Parasitol Today.* 12: 221-225.
- Doungmala, P., Phuektes, P., Taweean, W., Sangmaneeet, S., Japa, O. (2019). Prevalence and species identification of *Cryptosporidium* spp. In the newborn dairy calves from Muang District, Khon Kaen Province, Thailand. *Vet World.* 12(9): 1454-1459.
- Fayer, R., U. Morgan, and S. J. Upton. (2000). Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *Int J. Parasitol.* 30:1305-1322.
- Korich, D.G., Mead, J.R., Madore, M.S., Sinclair, N.A., Sterling, C.R. (1990). Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocysts viability. *Appl Environ Microbiol.* 56: 1423-1428.
- Maldonado-Camargo, S., Atwill, E.R., Saltijeral-Oaxaca, J.A., Herrera-Alonso, L.C. (1998).

- Prevalence and risk factors for shedding of *Cryptosporidium parvum* in Holstein Freisian dairy calves in central Mexico. *Prev Vet Med.* 36: 95–107.
- Naciri, M., Mancassola, R., Fort, G., Danneels, B., Verhaeghe, J. (2011). Efficacy of amine-based disinfectant KENO COX on the infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Vet Parasitol.* 179 : 43-49.
- Nydam, D.V., Mohammed, H.O. (2005). Quantitative risk assessment of *Cryptosporidium* species infection in dairy calves. *J.dairy Sci.* 88: 3932-3943.
- Ramirez, N.E., Ward, L.A., Sreevatsan, S. 2004. A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes and Infection.* 6: 773-785.
- Rosiléia, M, De Quadros, Sandra, M.T., Marques, Camila, R., Amendoeira, Larissa, A., De Souza, Paula, R., Amendoeira, Carla, C. (2006). Comparison detection of *Cryptosporidium* oocysts by auramine and Ziehl Neelsen staining methods. *Parasitol Latinoam.* 61 :117–120.
- Sischo, W.M., Okhuyen, P.C., Atwill, E.R., Lanyon, L.E., George, J. (2000). *Cryptosporidia* on dairy farms and the role these farms may have in contaminating surface water supplies in the northeastern United States. *Prev Vet Med.* 43: 253-267.
- Thrusfield M. (2005). *Veterinary Epidemiology.* 3rd ed. Iowa, United States of America.
- Thompson, S., Hamilton, C.A., Hope, J.C., Katzer, F., Mabbott, N.A., Morisson, L.J., Innes, E.A. (2017). Bovine cryptosporidiosis: impact, host-parasite interaction and control strategies. *Vet Research.* 48:42.
- Yoshinori, T., Panagiotis, K., Takenori, K., Hideyuki, N.H., Xuenan, X., Ikuo, I., Kozo, F., Eiki, T., Takeshi, M. (2000). Detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in environmental water in Hokaido, Japan. *J Vet Med.* 63: 233-236.

Mutant Prevention Concentration Siprofloksasin terhadap Escherichia coli Patogen dari Usap Kloaka Broiler Secara In Vitro

In Vitro Mutant Prevention Concentration of Ciprofloxacin on Pathogenic Escherichia coli from Broiler Cloacal Swab

Maria Fatima Lupi, Eli Nugraha, Meutia Hayati, Neneng Atikah

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan-Kementerian Pertanian
Jalan Raya Pembangunan Gunungsindur, Bogor
Email: lupi_ima@yahoo.co.id

Naskah diterima: 19 Juni 2020, direvisi: 18 Desember 2020, disetujui: 23 Desember 2020

Abstract

Mutant prevention concentration (MPC) is an in vitro test used to determine the lowest drug concentration needed to inhibit the growth of a single-step-mutant bacterial subpopulation. The purpose of this study was to determine the MPC value of ciprofloxacin against pathogenic *Escherichia coli* to obtain the range of mutant selection windows (MSW) of ciprofloxacin. Ciprofloxacin is a quinolone group that is included in the Highest Priority Critically Important Antimicrobials for Human Medicine but is also used for the treatment of bacterial infections in production animals. Twenty-four of pathogenic *E. coli* isolates sensitive to ciprofloxacin were tested to obtain MPC values and minimum inhibitory concentration (MIC) values. Test the MPC and MIC values to get the MSW range is done by the method of agar dilution. Mueller-Hinton agar containing standard ciprofloxacin was inoculated with 10^{10} cfu *E. coli* for the MPC test and 10^4 cfu for the MIC test. Based on the MPC test results, the MPC value of ciprofloxacin was 4-64 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ($22.96 \pm 19.07 \mu\text{g} / \text{mL}$) and there was one isolate which had an MPC > 256 $\mu\text{g} / \text{mL}$. These results showed a wide range of MSW with a lower limit of the MIC value of 0.25 - 2 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ($0.55 \pm 0.37 \mu\text{g} / \text{mL}$) to the upper limit of the MPC value of 4-64 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ($22.96 \pm 19.07 \mu\text{g} / \text{mL}$). Based on the results of this MPC assessment it can be concluded that the dose of ciprofloxacin in production animals has a wide range of MSW that is allow for single-step mutants.

Keywords : ciprofloxacin; *E. coli*; MPC; MSW

Abstrak

Mutant prevention concentration (MPC) merupakan uji *in vitro* yang digunakan untuk menentukan konsentrasi obat terendah yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan subpopulasi bakteri *single-step-mutant*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai MPC siprofloksasin sehingga didapatkan rentang *mutant selection windows* (MSW) dari siprofloksasin terhadap *Escherichia coli* patogen yang peka terhadap siprofloksasin. Siprofloksasin merupakan golongan kuionolon yang masuk dalam *Highest Priority Critically Important Antimicrobials for Human Medicine* akan tetapi juga digunakan untuk terapi infeksi bakteri di hewan produksi. Sebanyak 24 isolat *E. coli* patogen peka terhadap siprofloksasin diuji untuk mendapatkan nilai MPC dan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM). Uji nilai MPC dan KHM untuk mendapatkan rentang MSW dilakukan dengan metode *agar dilution*. Agar Mueller-Hinton yang mengandung standar siprofloksasin diinokulasi dengan 10^{10} cfu *E. coli* untuk uji MPC dan 10^4 cfu untuk uji KHM. Berdasarkan hasil uji MPC didapatkan nilai MPC siprofloksasin 4-64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($22.96 \pm 19.07 \mu\text{g}/\text{mL}$) dan terdapat satu isolat yang memiliki MPC > 256 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hasil ini memberikan rentang MSW yang luas yaitu dengan batas bawah nilai KHM 0.25 – 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($0.55 \pm 0.37 \mu\text{g}/\text{mL}$) hingga batas atas 4-64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($22.96 \pm 19.07 \mu\text{g}/\text{mL}$). Berdasarkan hasil pengkajian MPC ini dapat disimpulkan dapat bahwa dosis pemberian siprofloksasin pada hewan produksi memiliki rentang MSW yang cukup lebar sehingga memungkinkan timbulnya *single-step-mutant*.

Kata kunci : ciprofloxacin; *E. coli*; MPC; MSW

Pendahuluan

Jumlah kasus resistansi antimikroba, khususnya resistansi antibiotik, secara global cenderung meningkat setiap tahunnya. Salah satu penyebab berkembangnya resistansi menurut Gebru *et al.* (2011) adalah penggunaan antibiotik pada konsentrasi terapi yang berdasarkan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Nilai KHM didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari suatu agen antibiotik untuk mencegah pertumbuhan populasi infeksi bakteri yang diansumsikan tidak ada mutasi (Gianvecchio *et al.* 2019). Nilai KHM sering kali digunakan untuk menentukan resistansi dari suatu antibiotik. Dalam menentukan nilai KHM, metode uji yang sering digunakan adalah *agar dilution* dan *broth micro dilution*. Nilai KHM dengan menggunakan metode *agar dilution* ditentukan menggunakan inokulasi bakteri sebanyak 10^4 cfu per titik, sedangkan untuk *broth micro dilution* menggunakan inokulasi sebanyak 5×10^4 cfu per well (CLSI 2016). Konsentrasi inokulasi bakteri sejumlah 10^4 cfu dalam uji KHM, tidak dapat digunakan untuk mendeteksi perkembangan subpopulasi bakteri resistan dalam konsentrasi infeksi bakteri yang mencapai 10^6 - 10^8 cfu atau lebih (Blondeau 2009; Hindler dan Humphries 2013). Oleh sebab itu, konsentrasi terapi yang ditentukan berdasarkan nilai KHM dapat mengeliminasi atau menghambat pertumbuhan bakteri yang peka, akan tetapi, disisi lain, secara selektif akan memperbanyak bakteri mutan resistan (Gebru *et al.* 2011).

Sejalan dengan pemberian antibiotik pada hewan untuk mengobati infeksi bakteri, jumlah koloni bakteri infeksi akan menurun, akan tetapi terdapat sejumlah kecil koloni yang mampu bertahan karena mutasi spontan setelah terpapar antibiotik pada dosis KHM yang disebut sebagai resistansi mutan *single-step* (Gianvecchio *et al.* 2019). Adapun menurut Drlica (2003) mutasi *single-step* adalah mutasi yang mampu mengurangi kepekaan suatu organisme terhadap suatu antibiotik sedemikian rupa sehingga pada dosis sebagai terapi tidak dapat lagi mencegah pertumbuhan mutan. Berkenaan dengan mekanisme timbulnya resistansi ini, maka dilakukan evaluasi resistansi antibiotik dengan menggunakan hipotesis rentang *mutant selection window* (MSW). Rentang MSW adalah konsentrasi obat yang berada diantara nilai

KHM yang menjadi batas bawah MSW dan nilai *mutant prevention concentration* (MPC) yang menjadi batas atas MSW. Dalam rentang MSW, pertumbuhan bakteri yang peka akan dihambat, akan tetapi pertumbuhan bakteri mutan tidak bisa dihambat (Gebru *et al.* 2011)

Mutant prevention concentration adalah konsentrasi obat, dalam hal ini antibiotik, yang diperlukan untuk mencegah pertumbuhan mutasi *single step* pada populasi bakteri yang peka pada konsentrasi yang tinggi atau 10^{10} cfu atau lebih (Marcusson *et al.* 2005; Mouton *et al.* 2005; Gianvecchio *et al.* 2019). Pengujian MPC selalu dilakukan dengan menggunakan metode *agar dilution* (Blondeau 2009). Nilai MPC digunakan sebagai perkiraan ukuran potensi antibiotik untuk memungkinkan seleksi resistan selama pengobatan pasien yang terinfeksi (Choi dan Ko *et al.* 2014). Guna mencegah adanya bakteri resistan berkenaan dengan mutasi *single step* yang berhubungan dengan pemberian antibiotik, maka sangat diperlukan data nilai KHM, MPC, dan MSW.

Siprofloksasin merupakan antibiotik golongan kuinolon. Kuinolon sangat penting bagi kesehatan manusia. Badan Kesehatan Dunia telah memasukkan kuniolon dalam *Highest Priority Critically Important Antimicrobials for Human Medicine* bersama dengan sefalosporin (generasi ke-3, 4, dan 5), glikopeptid, makrolid, polimiksin, dan ketolide (WHO 2017). Selain digunakan pada manusia, siprofloksasin di Indonesia diperbolehkan untuk digunakan di hewan produksi sebagai terapi infeksi bakteri. Berdasarkan Indeks Obat Hewan Indonesia Edisi IX (DJPKH 2016) terdapat 22 nama dagang obat hewan yang mengandung siprofloksasin.

Berkenaan dengan pentingnya siprofloksasin pada manusia dan hewan maka diperlukan data lengkap mengenai KHM, MSW, dan MPC mengenai siprofloksasin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai MPC siprofloksasin terhadap isolat *E. coli* patogen yang berasal dari *swab* (usap) kloaka broiler hidup.. Berdasarkan nilai KHM dan MPC akan didapatkan rentang MSW dari siprofloksasin terhadap *E. coli* patogen. Data ini merupakan informasi yang penting untuk mengevaluasi kemungkinan dosis siprofloksasin yang digunakan pada hewan masih bisa menimbulkan *single step* mutan resistan.

Materi dan Metode

Penelitian dilakukan pada bulan November 2019 hingga April 2020. Penelitian dilaksanakan di Unit Uji Farmasetik dan Premiks-Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH).

Seleksi Isolat *Escherichia coli* untuk Uji *Mutant Prevention Concentration* Siprofloksasin

Uji *in vitro* MPC hanya dapat dilakukan dengan menggunakan isolat bakteri yang masih peka terhadap antibiotik yang akan diuji (Blondeau 2009). Seleksi kandidat isolat yang digunakan untuk uji MPC siprofloksasin adalah arsip isolat *E. coli* BBPMSOH sebanyak 159 isolat. Arsip isolat yang digunakan diisolasi dari sampel usap kloaka ayam broiler dari 48 kandang broiler dari 7 provinsi yang dilakukan pada tahun 2019. Tiap kandang diambil 5 ekor ayam untuk diambil sampel usap kloaka, kemudian dipool dalam satu wadah yang berisi 0.1% *Phosphate Buffer Solution* (PBS, Oxoid-UK). Tiap *pool* kemudian diambil satu ose dan diinokulasikan ke agar *Eosin Methylene Blue* (EMB, (Oxoid-UK) kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam \pm 2jam. Koloni tunggal tipikal *E. coli* berwarna keemasan, dan dari tiap *pool* diambil 3-5 koloni tunggal. Tiap koloni dipurifikasi dan kemudian dilanjutkan ke uji biokimia sesuai dengan SNI 2897 (2008).

Guna mendapatkan isolat kandidat untuk uji MPC dilakukan uji kepekaan siprofloksasin untuk mendapatkan nilai KHM siprofloksasin terhadap *E. coli*. Uji nilai KHM dilakukan menggunakan metode *agar dilution* (CLSI 2016), adapun untuk uji patogenesis *E. coli* dilakukan dengan menggunakan uji Congo Red (Berkhoff dan Vinal 1986). Media yang digunakan adalah agar Muller Hinton (MHA) (Difco/DB-FRA) yang mengandung standar siprofloksasin (Sigma-USA) dengan konsentrasi pengenceran kelipatan dua. Konsentrasi standar siprofloksasin dalam media MHA dari 0.25 $\mu\text{g/mL}$ hingga 64 $\mu\text{g/mL}$. Sebagai isolat kontrol positif digunakan *E. coli* ATCC 25922 dan MHA tanpa standar digunakan sebagai kontrol media (CLSI 2016).

Isolat *E. coli* yang akan diuji ditanam di media *nutrient agar* (NA, DIFCO/DB-FRA) atau *heart infusion agar* (HIA, DIFCO/DB-FRA) dan

dinkubasi pada suhu 35-37 °C selama 18 jam. Uji kepekaan dilakukan dengan mengambil 1-2 koloni *E. coli* yang tumbuh di NA atau HIA dan kemudian diinokulasi ke dalam *heart infusion broth* (HIB, DB/Difco-FRA). Media HIB yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi selama 2-6 jam pada suhu 35-37 °C hingga kekeruhannya setara dengan standar McFarland 0.5%. *E. coli* dalam HIB kemudian diencerkan dengan menggunakan NaCl fisiologis steril dan diinokulasikan 1-2 μL atau setara 10^4 cfu ke media MHA yang telah mengandung siprofloksasin. Media MHA yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 35-37 °C. Isolat dinyatakan resistan terhadap siprofloksasin jika memiliki nilai KHM ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$ (CLSI 2016).

Uji patogenesis dilakukan dengan menggunakan uji Congo Red. Isolat *E. coli* ditanam pada media Congo Red dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35-37 °C dan dilanjutkan pada suhu ruangan selama 48 jam. Isolat dinyatakan patogen jika pada hari ketiga warna koloni isolat menunjukkan warna merah. Uji KHM dan patogenesis tiap isolat masing-masing diulang tiga kali. Isolat dinyatakan layak menjadi kandidat uji MPC jika memiliki nilai KHM < 4 $\mu\text{g/mL}$ dan bersifat patogen.

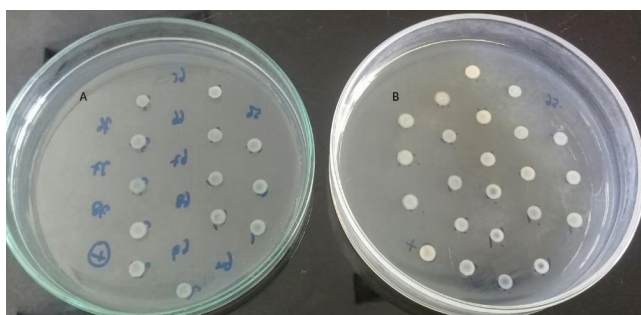
Uji *Mutant Prevention Concentration* Siprofloksasin

Penentuan nilai MPC siprofloksasin dilakukan dengan menggunakan metode *agar dilution*. Isolat *E. coli* peka siprofloksasin-patogen diinokulasikan ke tiga cawan petri media *heart infusion agar* (HIA, DB/Difco-FRA) dan kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 35-37 °C. Semua *E. coli* yang tumbuh pada cawan petri kemudian diambil dengan menggunakan kapas steril dan dipindahkan ke tabung yang berisi 100 mL Mueller-Hinton *broth* (MHB, DB/Difco-FRA). Media MHB yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi selama 18-24 pada suhu 35-37 °C. Setelah inkubasi, MHB kemudian disentrifus dengan kecepatan 5000 x g selama 30 menit pada suhu 4 °C. Pellet yang terbentuk kemudian dilarutkan dalam 3 mL MHB. Uji nilai MPC dilakukan dengan menginokulasikan 100 μL MHB yang mengandung 10^{10} cfu *E. coli* ke MHA yang mengandung standar siprofloksasin (Sigma-

USA) dengan pengenceran kelipatan dua kali dari konsentrasi 0.5 µg/mL hingga 256 µg/mL. Media MHA yang sudah diinokulasi kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C (Blondeau 2009; Gebru *et al.* 2011). Hasil uji MPC dianalisa secara deskriptif dan evaluasi terhadap farmakokinetik siprofloksasin dilakukan dengan menggunakan berbagai kajian farmakokinetik siprofloksasin pada unggas yang sudah dipublikasikan.

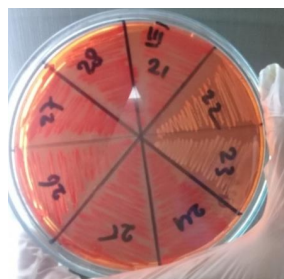
Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil uji seleksi kandidat *E. coli* untuk uji MPC dari 159 isolat *E. coli* didapatkan 24 isolat *E. coli* patogen yang peka terhadap siprofloksasin. Isolat *E. coli* dinyatakan masih peka terhadap siprofloksasin apabila isolat tidak bisa tumbuh pada media MHA yang mengandung siprofloksasin 2 µg/mL atau memiliki KHM < 4 µg/mL (Gambar 1). Isolat *E. coli* dinyatakan patogen jika setelah 3 hari inkubasi pada suhu ruangan, isolat yang tumbuh di media Congo Red menunjukkan koloni warna merah (Gambar 2). Nilai KHM dari 24 isolat *E. coli* tersebut adalah 0.25 – 2 µg/mL sebagaimana tersaji dalam Tabel 1.



Gambar 1 Hasil uji KHM siprofloksasin terhadap *E. coli* dengan menggunakan metode *agar dilution*. (A) Isolat *E. coli* diinokulasikan pada media MHA yang mengandung siprofloksasin 2 µg/mL, *E. coli* yang tidak tumbuh dinyatakan masih peka dan yang tumbuh dinyatakan resistan karena berarti memiliki KHM \geq 4 µg/mL. (B) Hasil pertumbuhan isolat-isolat *E. coli* yang sama dengan cawan petri A diinokulasikan pada media MHA yang tidak mengandung siprofloksasin sebagai kontrol.

Berdasarkan hasil uji MPC pada Tabel 1 dan Gambar 3, dari 24 isolat yang diuji didapatkan nilai MPC dari 4 µg/mL hingga > 256 µg/mL. Sebanyak 2 isolat (8.33%) mempunyai nilai MPC 4 µg/mL, 5 isolat (20.83%) dengan nilai MPC 8



Gambar 2 Hasil uji patogenesis dengan menggunakan Congo Red. Isolat patogen tumbuh setelah inkubasi ditandai dengan koloni warna merah dan isolat komensal/ non patogen berwarna putih

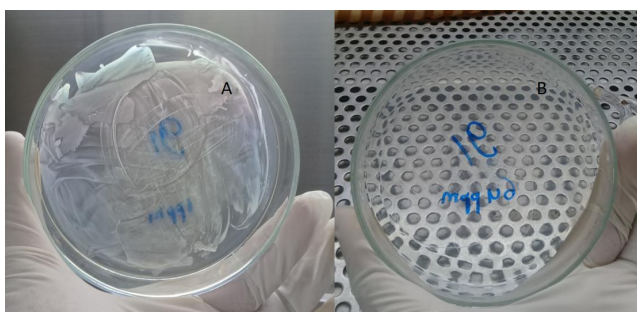
µg/mL, 8 isolat (33.33%) dengan nilai MPC 16 µg/mL, 5 isolat (20.83%) menunjukkan nilai MPC 32 µg/mL, 3 isolat (12.5%) memiliki nilai MPC 64 µg/mL, dan 1 isolat (8.17%) menunjukkan nilai MPC siprofloksasin > 256 µg/mL. Semua nilai MPC siprofloksasin yang dihasilkan dari 24 isolat tersebut berada di atas nilai batas resistansi *E. coli* terhadap siprofloksasin (\geq 4 µg/mL) yang ditentukan berdasarkan nilai KHM. Hasil nilai KHM, MPC, dan *Mutant Prevention Index* (MPI) atau rasio antara KHM dan MPC disajikan pada Tabel 1.

Hasil dalam Tabel 1 menunjukkan nilai MPI adalah 8 hingga \geq 128 atau nilai MPC yang dihasilkan dari isolat-isolat tersebut 8-128 kali lebih tinggi dari nilai KHM. Bahkan terdapat satu isolat yang memiliki nilai MPI > 128. Nilai MPI paling rendah adalah 4 yang berasal dari isolat *E. coli* kode 103 dan 145. Nilai MPI siprofloksasin *E. coli* kode 103 tetap tinggi, karena memerlukan 8 kali konsentrasi KHM siprofloksasin untuk mencegah adanya pertumbuhan koloni bakteri mutan resistan dari isolat *E. coli* 103. Adapun untuk isolat *E. coli* kode 145 diperlukan konsentrasi KHM hingga 16 kali untuk mencegah *single step* mutan. Berdasarkan hasil uji KHM dan MPC siprofloksasin didapatkan rentang konsentrasi MSW yang bervariasi. Batas bawah MSW dengan nilai KHM paling rendah adalah 0.25 µg/mL dan batas atas tertinggi dengan nilai MPC > 256 µg/mL.

MPC merupakan salah satu parameter farmakodinamik yang dapat sangat berguna untuk menentukan dosis antibiotik yang akan digunakan untuk mencegah munculnya mutan *single step* bakteri resistan. Nilai MPC siprofloksasin terhadap 23 isolat *E. coli* peka siprofloksasin-patogen adalah 4-64 µg/mL (22.96 ± 19.07 µg/

Tabel 1 Nilai KHM, MPC, dan MPI siprofloksasin terhadap *E. coli* patogen dari usap kloaka broiler hidup

No.	Kode isolat <i>E. coli</i>	KHM ($\mu\text{g/mL}$)	MPC ($\mu\text{g/mL}$)	MPI
1	1	0.5	16	32
2	6	1	32	32
3	9	1	16	16
4	21	2	>256	>128
5	54	0.5	16	32
6	64	0.5	8	16
7	65	0.5	64	128
8	66	0.5	16	32
9	67	0.5	8	16
10	68	0.5	32	64
11	69	0.5	16	32
12	85	0.5	64	128
13	86	0.5	16	32
14	89	0.5	8	16
15	91	0.5	64	128
16	98	0.5	32	64
17	99	0.5	16	32
18	103	0.5	4	8
19	121	0.5	32	64
20	143	0.25	16	64
21	144	0.25	8	32
22	145	0.25	4	16
23	146	0.25	8	32
24	147	0.25	32	128



Gambar 3 Hasil uji nilai MPC siprofloksasin isolat *Escherichia coli* kode 91.

Keterangan: (A) Terdapat pertumbuhan mutasi *single step* di media MHA konsentrasi siprofloksasin 16 $\mu\text{g/mL}$. (B) Tidak ada pertumbuhan di media MHA dengan konsentrasi siprofloksasin 64 $\mu\text{g/mL}$

mL). Adapun terdapat satu isolat yang memiliki MPC > 256 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan nilai KHM dan MPC dari 23 isolat yang memberikan nilai MPC 4-64 $\mu\text{g/mL}$, maka didapatkan rentang MSW siprofloksasin terhadap *E. coli* patogen adalah dengan batas bawah 0.25–2 $\mu\text{g/mL}$ (0.55 ± 0.37

$\mu\text{g/mL}$) dan batas atas adalah 4-64 $\mu\text{g/mL}$ ($22.96 \pm 19.07 \mu\text{g/mL}$). Sedangkan satu isolat *E. coli* dengan kode 21 memiliki rentang MSW 2 hingga > 256 $\mu\text{g/mL}$.

Hasil KHM, MPC, MPI, dan WSW siprofloksasin sangat bervariasi tergantung dari reaksi tiap isolat bakteri terhadap konsentrasi obat (Randall et al. 2004; Hansen et al. 2005; Marcusson et al. 2005; Daoud et al. 2014; Gianvecchio et al. 2019). Penelitian Daoud et al. (2014) menggunakan isolat *E. coli* dan *Klebsiella* yang diisolasi dari saluran urinaria dan dari kedua isolat tersebut didapatkan rentang nilai MSW 2-12 $\mu\text{g/mL}$. Randall et al. (2004) melakukan evaluasi MPC siprofloksasin terhadap *Salmonella* Enteritidis dan *S. Typhimurium*. Dari hasil penelitiannya didapatkan nilai KHM untuk *S. Enteritidis* berkisar 0.03-5 $\mu\text{g/mL}$, MPC 0.25-4 $\mu\text{g/mL}$, dan MPI yang didapatkan adalah 2-32. Adapun dari penelitian Gianvecchio et al. (2019) didapatkan rata-rata

MPC siprofloksasin terhadap *Staphylococcus epidermidis* adalah 1.2 µg/mL. Hasil MPC sangat bervariasi karena tergantung dari kemampuan munculnya mutasi spontan dari tiap isolat terutama fase munculnya mutasi spontan. Apabila mutasi terjadi pada awal pertumbuhan populasi bakteri, maka jumlah sel yang mengalami mutasi akan lebih banyak. Akan tetapi, jika mutasi terjadi belakangan, maka jumlah sel yang mutasipun akan lebih rendah (Gianvecchio *et al.* 2019).

Guna mendapatkan korelasi antara farmakokinetik dan nilai KHM, MSW, dan MPC pada hewan produksi maka perlu dilakukan evaluasi dengan menggunakan data farmakokinetik siprofloksasin pada broiler. Karakteristik farmakokinetik-farmakodinamik dalam menentukan aktivitas antibakteri dan menghambat laju resisten siprofloksasin adalah menggunakan rasio *Area Under Curve* (AUC) dan nilai KHM (Blondeau 2009; Khan *et al.* 2015). Evaluasi KHM, MSW, dan MPC dengan data farmakokinetik menggunakan data berbagai penelitian farmakokinetik siprofloksasin pada broiler, antara lain data farmakokinetik dengan pemberian dosis peroral 8 mg/kg BB (Anadón *et al.* 2001), farmakokinetik siprofloksasin pada broiler yang diberi dosis 50 mg/kg BB secara intravena (Ambarwati, 2014), dan data farmakokinetik siprofloksasin dengan dosis 10 mg/kg BB peroral atau intraingluvial (Ivanova *et al.* 2017). Data parameter farmakokinetik ketiga penelitian tersebut tersaji pada Tabel 2.

Sebagaimana tersaji dalam Tabel 2, nilai AUC siprofloksasin yang diberikan secara peroral pada dosis 8 mg/kg BB serta 10 mg/kg BB berada di atas rata-rata nilai KHM dan di bawah rata-rata nilai MPC siprofloksasin terhadap *E. coli* yang diuji. Sedangkan AUC pada pemberian IV dengan dosis 50 mg/kg BB berada di atas rata-rata nilai MPC, akan tetapi nilai AUC dosis tersebut masih di bawah batas atas rentang MPC yaitu 42.03 µg/mL. Adapun Cmaks dari data farmakokinetik semuanya berada di atas rata-rata nilai KHM dan di bawah rata-rata nilai MPC. Oleh sebab itu, nilai AUC dan Cmaks siprofloksasin ketiga dosis tersebut masuk ke dalam rentang MSW siprofloksasin terhadap *E. coli*. Informasi ini sangat penting karena hal ini menunjukkan bahwa pada dosis tersebut masih memungkinkan terjadinya *single step mutant*. Hal ini disampaikan oleh Cai *et al.* (2010), apabila

konsentrasi antibiotik masih di dalam rentang MSW, maka subpopulasi mutan resisten dapat berkembang.

Guna mendapatkan efek pengobatan yang memuaskan dan untuk mengurangi munculnya bakteri resisten selama pengobatan, maka nilai rasio AUC/KHM yang diharapkan adalah > 125 (Blondeau 2009). Berkenaan penggunaan siprofloksasin pada broiler di Indonesia mayoritas diberikan melalui air minum, maka, evaluasi AUC/KHM dilakukan dengan menggunakan data AUC hasil penelitian Anadón *et al.* (2001) dan Ivanova *et al.* (2017). Berdasarkan nilai AUC penelitian Anadón *et al.* (2001) didapatkan rentang rasio AUC/KHM dari 24 isolat *E. coli* yang diuji adalah 6.12 – 48.84 (27.73 ± 12.32). Adapun dari data AUC penelitian Ivanova *et al.* (2017) didapatkan rentang rasio AUC/KHM 5.99 – 47.88 (27.18 ± 12.08). Hasil ini menunjukkan bahwa nilai AUC/KHM dari 24 isolat *E. coli* yang diuji lebih rendah dari rasio yang diharapkan sehingga masih bisa memunculkan mutan *single step*.

Pendekatan nilai MPC dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk mengurangi munculnya bakteri resisten akibat mutasi *single step* dari subpopulasi bakteri resisten. Berdasarkan penelitian MPC ini, didapatkan nilai MSW dan MPI siprofloksasin yang sangat penting untuk melihat kemungkinan munculnya mutasi dari dosis yang diberikan. Tingginya nilai MPC menghasilkan rentang MSW siprofloksasin yang lebar yaitu antara 0.55 ± 0.37 µg/mL - 22.96 ± 19.07 µg/mL (batas atas MSW). Lebarinya rentang MSW juga didukung dengan nilai MPI. Nilai MPI siprofloksasin tunggal terhadap *E. coli* bervariasi antara 8-128 (49.74 ± 40.97). Sementara itu, untuk menekan munculnya mutasi *single step* diperlukan MPI yang lebih rendah dan rentang MSW yang lebih sempit. Nilai MPI yang rendah mengindikasikan kemampuan yang lebih baik untuk mencegah pertumbuhan bakteri resisten atau mutan *single step* (Credito *et al.* 2010). Data AUC dari broiler yang diberi siprofloksasin dosis 8 mg/kg BB dan 10 mg/kg BB peroral, menunjukkan bahwa nilai AUC dosis tersebut berada di dalam rentang MSW. Berdasarkan hal tersebut menunjukkan dosis tersebut masih sangat memungkinkan pertumbuhan subpopulasi mutan resisten terhadap siprofloksasin.

Tabel 2. Data farmakokinetik AUC, Cmaks, dan Tmaks siprofloksasin pada ayam broiler

Parameter farmakokinetik	Dosis dan Rute		
	8 mg/kg BB PO (Anadón <i>et al.</i> 2001)	50 mg/kg BB IV (Ambarwati 2014)	10 mg/kg BB PO (Ivanova <i>et al.</i> 2017)
AUC (µg.jam/mL)	12.21 ± 1.22	36.29	11.97 ± 0.6
Cmaks (µg/mL)	2.63 ± 0.20	15.294 ± 1.34 µg/mL	2.638 ± mg/mL
Tmaks (menit ke)	21.6 ± 8.14	-	39 ± 0.17

Keterangan: AUC (*Area Under Curve*); Cmaks = Konsentrasi maksimal; Tmaks = waktu yang diperlukan untuk mencapai Cmaks

Dalam evaluasi dosis obat berkenaan dengan munculnya resistansi data KHM, MPC, MSW dan farmakokinetik sangat memegang peranan penting. Data ini sangat penting untuk melakukan penilaian risiko resistansi (EMA 2018). Pemberian antibiotik dengan dosis berdasarkan MPC juga harus sangat berhati-hati karena memerlukan dosis yang sangat tinggi sehingga dapat menimbulkan efek samping yang tidak diharapkan. Mengingat siprofloksasin merupakan antibiotik yang masuk dalam *Highest Priority Critically Important* bagi manusia maka sebaiknya tidak menggunakan siprofloksasin sebagai pilihan pertama di hewan produksi. Monitoring resistansi siprofloksasin beserta deteksi gen resistan siprofloksasin dari hewan produksi sebaiknya dilakukan secara terus menerus sehingga bisa memberikan gambaran yang utuh mengenai prevalensi siprofloksasin dan dilanjutkan dengan penilaian risiko penggunaan siprofloksasin di hewan produksi.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji MPC didapatkan nilai MPC siprofloksasin 4-64 µg/mL (22.96 ± 19.07 µg/mL) dan terdapat satu isolat yang memiliki MPC > 256 µg/mL. Hasil ini memberikan rentang MSW yang luas yaitu dengan batas bawah nilai KHM 0.25 – 2 µg/mL (0.55 ± 0.37 µg/mL) hingga batas atas 4-64 µg/mL (22.96 ± 19.07 µg/mL). Hasil ini memberikan nilai *mutant prevention index*(MPI) siprofloksasin pada *E. coli* yang lebar yaitu antara 8-128 (49.74 ± 40.97). Berdasarkan hasil pengkajian MPC ini dapat disimpulkan dapat bahwa dosis pemberian siprofloksasin pada hewan produksi memiliki rentang MSW yang cukup lebar sehingga memungkinkan timbulnya *single-step-mutant*.

Daftar Pustaka

- Ambarwati. (2014). Studi farmakokinetik siprofloksasin pada plasma, hati, ginjal, dan otot pada briler menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M.R., Iturbe, J., Martínez, M.A., Díaz, M.J., Frejo, M.T., Martínez, M. (2001). Pharmacokinetics and residues of ciprofloxacin and its metabolites in broiler chickens. *Res Vet Sci.* Oct;71(2):101-9. <https://doi.org/10.1053/rvsc.2001.0494>
- Berkhoff, H.A. and Vinal, C.A. (1986). Congo red medium to distinguish between invasive and non-invasive *Escherichia coli* pathogenic for poultry. *Avian Dis.* 30(1):117-131. <https://10.2307/1590621>
- Blondeau, J.M. (2009). New concepts in antimicrobial susceptibility testing: the mutant prevention concentration and mutant selection window approach. *Vet Dermatol.* (20):383-396. <doi.org/10.1111/j.1365-3164.2009.00856.x>
- Clinical Laboratory Standards Institute [CLSI]. (2016). M100S: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing 26th Ed. CLSI. USA. pp: 52-54, 196
- Cai, Y., Li, R., Liang, B., Bai, N., Liu, Y., Wang, R. (2010). *In vitro* antimicrobial activities and mutant prevention concentration of colistin against *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 54(9):3998-3999. <doi:10.1128/AAC.00264-10>
- Choi, M.J. and Ko, K.S. 2014. Mutant prevention concentration of colistin for *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and

- Klebsiella pneumonia* clinical isolat. *J Antimicrob Chemother.* 69(1):275-277. doi: org/10.1093/jac/dkt315
- Credito, K., Kosowska-Shick, K., Appelbaum, P.C. (2010). Mutant prevention concentration of four carbapenems against gram-negative rods. *Antimicrob Agents Chemother.* 54(6): 2692-2695. doi:10.1128/AAC.00033-10
- Daoud, Z., Sokhn, E.S., Azar, E., Masri, K., Doron, S. (2014). Mutant prevention concentration of ciprofloxacin against urinary isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia*. *J Infect Dev Ctries* 8(2): 154-159. doi:10.3855/jidc.3164
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan [DJKPH]. (2016). Indeks Obat Hewan Indonesia Ed. IX. Jakarta (ID): Kementerian Pertanian Republik Indonesia. pp. 58–599.
- Drlica, K. (2003). The mutant selection window and antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother.* August: 1-7. DOI: 10.1093/jac/dkg269
- European Medicine Agency [EMA]. (2018). Guideline on the assessment of the risk to public health from antimicrobial resistance due to the use of an antimicrobial veterinary medicinal product in food producing animals (Draft 2). Retrieved Oktober 01, 2018 from www.ema.europa.eu/docs/en_gb/document_library/scientific_guideline/2018/07/WC500252679.pdf
- Geburu, E., Choi, M.J., Lee S.J., Damte, D., Park, S.C. (2011). Mutant prevention concentration and mechanism of resistance in clinical isolat and enrofloxacin/ marbofloxacin-selected mutants of *Escherichia coli* of canine origin. *J Med Microbiol.* 60(Pt10):1512-1522. doi:10.1099/JMM.0.028654-0
- Gianvecchio, C., Lozano, N.A., Henderson, C., Kalhori, P., Bullivant, A., Valencia, A., Su, L., Bello, G., Wong, M., Cook, E., Fuller, L., Neal III, J.B., Yeh, P.J. (2019). Variation in mutant prevention concentration. *Front Microbiol.* 10:42. doi:10.3389/fmicb.2019.00042
- Hansen, G.T, Zhao, X., Drlica, K., Blondeau, JM. (2006). Mutant prevention concentration for ciprofloxacin and levofloxacin with *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents* 27: 120-124
- Hindler, J.A, and Humphries, R.M. (2013). Colistin MIC variability by method contemporary clinical isolates of multidrug-resistant gram negative bacilli. *JCM.* 51(6):1676-1684. doi:10.1128/JCM.03385-12
- Ivanova, S., Dimitrova, D., Petrichev, M. (2017). Pharmacokinetics of ciprofloxacin in broiler chickens after single intravenous and intraingluvial administration. *Mac Vet Rev* 40 (1): 67-72
- Khan, G.J., Khan, R.A., Majeed, I., Siddiqui, F.A., Khan, S. (2015). Ciprofloxacin; the frequent use in poultry and its consequences on human health. *Professional Med J* 22(1):001-005.
- Marcusson, L.L., Olofsson, S.K., Lindgren, P.K., Cars, O., Hughes, D. (2005). Mutant prevention concentration of ciprofloxacin for urinary tract infection isolates *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother.* 55:938-943. doi:10.1093/jac/dki136
- Mouton, J.W., Dudley, M.N., Cars, O., Derendorf, H., Drusano, G.L. (2005). Standardization of pharmacokinetic/ pharmacodinamis (PK/ PD) terminology for anti-infective drugs: an update. *J Antimicrob Chemother.* 55:601-607. doi.org/10.1093/jac/dki079
- Randall, L.P, Cooles, S.W., Piddock, L.V.J, Woodward, M.J. (2004). Mutant Prevention concentration of ciprofloxacin for *Salmonella enterica*. *J Antimicrob Chemother.* 54: 688-691
- Standar Nasional Indonesia [SNI]. 2008. SNI 2897 tentang Metode Pengujian Cemaran Mikroba dalam Daging, Telur, dan Susu, serta Hasil Olahannya. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- World Health Organization [WHO]. (2017). Critically important antimicrobials for human medicine – 5th rev. WHO. Switzerland. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Pp:12-37

Analisis Epidemiologi Kasus Hipofungsi Ovarium pada Sapi Potong di Kabupaten Jepara

Epidemiological Analysis of Ovarium Hypofunction in Beef Cattle in Jepara Regency

Aldi Salman¹, Surya Agus Prihatno^{2*}, Bambang Sumiarto³

¹Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan, Provinsi Jawa Tengah, Jalan Gatot Subroto, Ungaran

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

³ Departemen Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

*Corresponding author; email: prihatno@ugm.ac.id

Naskah diterima: 10 Juni 2020, direvisi: 7 November 2020, disetujui: 8 Januari 2021

Abstract

Ovarian hypofunction is the highest incidence of reproductive disorders in Central Java, breeders losses due to the long calving interval and increased maintenance costs. Feed quality is considered to be a cause of ovarian hypofunction, but there are also other factors that cause disease. The purpose of this study was to determine the prevalence and risk factors for ovarian hypofunction in beef cattle, as well as a model for predicting ovarian hypofunction in Jepara Regency. A total of 304 beef cow from 176 breeders were selected by formal random sampling in 14 villages in 7 sub-districts with multiple stages. Anamnesis was conducted to farmers and rectal examination of beef cow to determine the reproductive status, and questionnaires for animal husbandry and individual animals level. The results showed prevalence of ovarian hypofunction 8.88% and risk factors that have a relationship are frequency of supplementary feed (OR = 12.77), ownership of one animal (OR = 0.34), main feed (OR = 9.59), breed type (OR = 0.37), cows age (OR = 0.33), lactation status (OR = 0.07) and calf weaning time (OR = 0.03). The disease model at livestock level is $\text{Ln } P / 1-P = 5,71 - 3,19 \times \text{SAPH} - 1,83 \times \text{STLAK} - 0,99 \times \text{JNTR}$ and at farm level is $\text{Ln } P / 1-P = 1,21 + 1,81 \times \text{PKUT} + 1,74 \times \text{PKTB} - 1,33 \times \text{PUNYA1}$.

Keywords : beef cows; disease model; ovarian hypofunction; prevalence; risk factor

Abstrak

Hipofungsi ovarium menjadi kasus gangguan reproduksi yang memiliki angka kejadian paling tinggi di Jawa Tengah, dengan kerugian peternak karena panjangnya *Calving Interval* dan biaya pengobatan yang tinggi. Kualitas pakan seringkali dianggap menjadi penyebab hipofungsi ovarium, tetapi juga terdapat faktor lain yang mengakibatkan munculnya penyakit. Penelitian bertujuan untuk mengetahui prevalensi dan faktor risiko hipofungsi ovarium pada sapi potong, serta model untuk memprediksi penyakit hipofungsi ovarium di Kabupaten Jepara. Sapi betina produktif sebanyak 304 ekor sampel dari 176 peternak dipilih secara *formal random sampling* pada 14 desa di 7 kecamatan dengan tahapan ganda. Dilakukan anamnesis pada peternak dan pemeriksaan sapi secara per rektal untuk mengetahui status reproduksi, serta kuesioner untuk tingkat peternakan dan individu ternak. Hasil penelitian menunjukkan prevalensi hipofungsi ovarium 8,88% dan faktor risiko yang mempunyai hubungan adalah frekuensi pakan tambahan (OR=12,77) dan pakan utama (OR=9,59). Variabel yang menurunkan hipofungsi ovarium adalah jenis ternak (OR=0,37), kepemilikan ternak satu (OR=0,34), umur ternak (OR=0,32), status laktasi (OR=0,07) dan umur sapih (OR=0,03). Model persamaan pada tingkat ternak adalah $\text{Ln } P/1-P = 5,71 - 3,19 \times \text{SAPH} - 1,83 \times \text{STLAK} - 0,99 \times \text{JNTR}$. Model persamaan pada tingkat peternakan adalah $\text{Ln } P/1-P = 1,21 + 1,81 \times \text{PKUT} + 1,74 \times \text{PKTB} - 1,33 \times \text{PUNYA1}$.

Kata kunci : faktor risiko; hipofungsi ovarium; model penyakit; prevalensi; sapi potong

Pendahuluan

Kesehatan hewan memiliki peran penting dalam dukungan keberhasilan peningkatan populasi kaitannya dengan penanganan gangguan reproduksi. Tingkat gangguan reproduksi pada ternak sapi betina produktif di Indonesia masih cukup tinggi, dengan prevalensi yang bervariasi antara 11% hingga 57% (Prihatno *et al.*, 2015, Budiyanto *et al.*, 2016, Anshori *et al.*, 2017, Oktarianti, 2018, Putri *et al.* 2019). Kerugian ekonomi akibat gangguan reproduksi secara umum sebagai akibat meningkatnya pengeluaran biaya pengobatan dan operasional pemeliharaan karena jarak antar kelahiran yang lebih panjang.

Rendahnya kualitas pakan seringkali dianggap menjadi penyebab hipofungsi ovarium, tetapi kemungkinan terdapat faktor lain yang mengakibatkan munculnya penyakit, sehingga perlu disidik faktor-faktor yang memengaruhi munculnya hipofungsi ovarium pada ternak sapi potong. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui prevalensi dan mengidentifikasi faktor risiko yang berpengaruh terhadap hipofungsi ovarium pada sapi potong di Kabupaten Jepara, serta mendapat model kejadian hipofungsi ovarium pada tingkat peternakan dan ternak. Manfaat penelitian ini ialah mengidentifikasi faktor risiko yang memengaruhi kejadian penyakit sehingga dapat digunakan untuk dasar dalam penyusunan program pencegahan penyakit.

Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan kajian lintas seksional dengan metode sampling tahapan ganda untuk penentuan status reproduksi ternak. Populasi target adalah semua ternak yang dimiliki oleh peternak terpilih pada 14 desa yang terpilih secara acak di Kabupaten Jepara. Pemilihan peternakan dengan metode pengambilan sampel secara rambang sederhana. Pemilihan sampel ternak pada peternakan diambil secara kluster dengan asumsi kepemilikan empat ekor per peternak. Faktor risiko didapat melalui pengamatan langsung dan wawancara dengan peternak untuk mengisi kuesioner yang telah disediakan.

Jumlah sampel dihitung menggunakan rumus besaran sampel (Martin *et al.*, 1987), dengan prevalensi hipofungsi ovarium sebesar 19,32%

(Rosadi *et al.*, 2018) dan tingkat kepercayaan 95% serta galat 5% didapat jumlah sampel $n = \frac{4 \times 0,19 \times 0,81}{0,05^2} = 246,24 \approx 246$ ekor.

Perhitungan *Design Effect* (DE) dilakukan untuk mengurangi bias, melalui perhitungan variansi antar peternak (S_1^2) dan variansi dalam peternak (S_2^2) pada prevalensi yang sama dan $\rho=0,05$, maka perhitungan DE dan jumlah sampel adalah sebagai berikut:

$$S^2 = P \times Q = 0,19 \times 0,81 = 0,1539$$

$$S_1^2 = \rho \times S^2 = 0,05 \times 0,1539 = 0,007695$$

$$S_2^2 = S^2 - S_1^2 = 0,1539 - 0,007695 = 0,146205$$

$$n_p = \left[\frac{S_2^2}{S_1^2} \right]^{1/2} = \left[\frac{0,146205}{0,007695} \right]^{1/2} = 4,36 \approx 4 \text{ ekor per peternak}$$

$$DE = 1 + (n_p - 1) \rho = 1 + (4,36 - 1) 0,05 = 1,17$$

$$n_{pps} = n \times DE = 246,24 \times 1,17 = 287,59 \approx 288 \text{ ekor}$$

Dengan jumlah sampel yang akan diambil sebanyak 288 ekor dan jumlah sampel per peternakan adalah 4 ekor per peternakan, sampel peternakan yang diambil adalah 72 peternakan.

Jumlah Desa yang dipilih menjadi lokasi penelitian dihitung menggunakan metode deteksi penyakit dengan prevalensi yang sama dan jumlah desa di Kabupaten Jepara (N) adalah 195 desa serta tingkat kepercayaan (α) = 95%, maka didapat jumlah desa sampling adalah:

$$D = P \times N = 0,19 \times 195 = 37,05$$

$$n = [1 - (1 - \alpha)^{1/D}] [N - (D - 1)/2]$$

$$n = [1 - (1 - 0,95)^{1/37,05}] [195 - (37,05 - 1)/2] = 13,74 \approx 14 \text{ desa}$$

Pemilihan lokasi menggunakan tahapan ganda secara *probability proportional to size* (PPS) menggunakan data populasi ternak dari Badan Pusat Statistik Kabupaten Jepara Tahun 2018 dimana 14 Kelurahan/Desa dipilih secara random dari 7 (tujuh) Kecamatan dengan populasi padat ternak.

Analisis bivariate dilakukan dengan menghitung prevalensi yang didapat dengan membandingkan proporsi sapi betina terdiagnosis hipofungsi ovarium dan jumlah sampel. Faktor risiko diolah menggunakan IBM SPSS Statistics 22.0 untuk diukur adanya asosiasi dengan menggunakan uji chi-square (χ^2) dan kekuatan asosiasi dengan rasio ganjil (odd ratio/OR). Analisis multivariate digunakan untuk mendapat model regresi logistik yang menerangkan hu-

bungan antara kejadian penyakit dengan beberapa faktor risiko yang berpengaruh. Model dibangun untuk mengetahui peluang kejadian hipofungsi ovarium dari beberapa faktor risiko yang teridentifikasi. Model diolah menggunakan IBM SPSS Statistics 22.0 lalu dihitung sensitifitas dan spesifisitas model.

Hasil dan Pembahasan

Penentuan sampel menggunakan metode *stratified random sampling* agar didapat gambaran kondisi populasi yang sebenarnya. Dari hasil identifikasi status reproduksi pada tingkat individu ternak dapat dilihat pada Tabel 1 dan diketahui prevalensi kasus hipofungsi ovarium di Kabupaten Jepara adalah sebesar 8,9%. Sapi terdiagnosa bunting 39,8%, post partus 16,8%, gangguan reproduksi 29,3% dan 14,1% sudah dikawinkan tetapi belum dapat ditentukan kebuntingannya. Gangguan reproduksi yang ditemukan yaitu kawin berulang (*repeat breeding*), hipofungsi ovarium, birahi tenang (*silent heat*), keterlambatan pubertas (*delayed puberty*), endometritis, sista luteal dan abortus.

Tabel 1. Diagnosa hasil pemeriksaan reproduksi pada individu ternak

Diagnosa	Jumlah (ekor)	Persentase
Bunting	121	39,8%
Post partus	51	16,8%
Repeat breeding	28	9,2%
Hipofungsi ovarium	27	8,9%
Fase folikuler	25	8,2%
Silent heat	24	7,9%
Fase luteal	18	5,9%
Delayed puberty	5	1,6%
Endometritis	3	1,0%
Sista luteal	1	0,3%
Abortus	1	0,3%
Total	304	

Gangguan reproduksi ditemukan pada 29,3% sampel sapi betina produktif di Kabupaten Jepara dengan prevalensi hipofungsi ovarium sebesar 8,88% seperti terlihat pada Tabel 1. Hipofungsi ovarium bukan kasus gangguan reproduksi yang paling banyak ditemukan, prevalensi *repeat breeding* 9,2% paling tinggi dibandingkan diagnosa

gangguan reproduksi lain. Rendahnya prevalensi hipofungsi ovarium kemungkinan disebabkan karena kegiatan penanggulangan reproduksi yang optimal dilaksanakan sejak tahun 2015 di Provinsi Jawa Tengah. Perbaikan dalam praktik pemberian pakan, tata laksana perkandangan, dan manajemen kesehatan secara terus menerus akan menurunkan kejadian gangguan reproduksi, termasuk hipofungsi ovarium (Khan *et al.*, 2016). Menurunnya kejadian hipofungsi ovarium juga dapat disebabkan karena musim saat penentuan status reproduksi ternak, musim hujan cenderung meningkatkan performa reproduksi karena ketersediaan hijauan mencukupi untuk kebutuhan nutrisi ternak (Liu *et al.*, 2018).

Analisis bivariat dengan melakukan tabulasi silang antara variabel peternakan dan ternak dengan variabel hipofungsi ovarium. Hasil analisis bivariat pada Tabel 2 menunjukkan faktor risiko yang mempunyai hubungan signifikan ($p < 0,05$) dan kekuatan hubungan (OR) tinggi terhadap hipofungsi ovarium pada sapi potong di Kabupaten Jepara secara berurutan adalah Frekuensi Pakan Tambahan ($p=0,00$; OR=12,8), Pakan Utama ($p=0,00$; OR=9,6), Jenis Ternak ($p=0,02$; OR=0,37), Jumlah Ternak 1 ($p=0,01$; OR=0,34), Umur Ternak ($p=0,00$; OR=0,32), Status Laktasi ($p=0,00$; OR=0,07), dan Umur Sapih ($p=0,00$; OR=0,03).

Faktor risiko yang tidak mempunyai hubungan dengan hipofungsi ovarium ($p > 0,05$) adalah variabel Mengerti SOP IB ($p=0,06$), Jumlah Ternak 2-4 ($p=0,10$), Jumlah Kelahiran ($p=0,11$), Rekording ($p=0,15$), Jenis Kandang ($p=0,16$), Jumlah ternak >4 ($p=0,22$), Lantai Kandang ($p=0,26$), Alas Kandang ($p=0,35$), Lama Birahi ($p=0,73$), Sumber Cahaya Kandang ($p=0,78$), Jarak laporan dan kawin ($p=0,82$), Sumber Pengetahuan Peternak ($p=0,92$) dan Pencahayaan Kandang ($p=0,92$).

Frekuensi pakan tambahan menjadi variabel yang paling memengaruhi kejadian hipofungsi ovarium pada sapi potong di Kabupaten Jepara, sapi milik peternak yang pakan tambahan diberikan tidak tentu memiliki risiko 12,7 kali mengalami hipofungsi ovarium dibanding yang frekuensi pakan tambahannya rutin. Frekuensi pemberian pakan tambahan menentukan kondisi tubuh induk dan performa reproduksi, semakin sering dan rutin

Tabel 2. Analisis bivariat terhadap variabel peternakan dan ternak

Variabel	Hipofungsi	Non Hipofungsi	Chi Square	p-value	OR
Umur Sapih					
- < 6 bulan	3	228	68,35*	0,00	0,03
- ≥ 6 bulan	24	49			
Pakan Utama					
- Jerami	19	55	34,09*	0,00	9,59
- Rumput	8	222			
Status Laktasi					
- tidak menyusui	2	147	20,51*	0,00	0,07
- menyusui	25	130			
Frekuensi Pakan Tambahan					
- Tidak Tentu	25	137	18,39*	0,00	12,77
- Rutin	2	140			
Umur Ternak					
- muda	12	198	8,42*	0,00	0,32
- tua	15	79			
Jml Ternak 1					
- tidak	18	237	6,49*	0,01	0,34
- ya	9	40			
Jenis Ternak					
- Lokal	18	234	5,50*	0,02	0,37
- Silangan	9	43			
Mengerti SOP IB					
- Tidak ngerti	2	5	3,43	0,06	-
- Mengerti dan paham	25	272			
Jml Ternak 2-4					
- tidak	9	55	2,69	0,10	-
- ya	18	222			
Jumlah Kelahiran					
- < 2 kali	12	167	2,55	0,11	-
- ≥ 2 kali	15	110			
Rekording					
- tidak ada	2	7	2,04	0,15	-
- ada	25	270			
Jenis Kandang					
- kecil	3	63	1,96	0,16	-
- besar	24	214			
Jml Ternak >4					
- tidak	27	262	1,54	0,21	-
- ya	0	15			
Lantai Kandang					
- Becek	4	23	1,29	0,26	-
- Kering	23	254			
Alas Kandang					
- Tanah	12	149	0,86	0,35	-
- Semen	15	128			
Jarak laporan dan kawin					
- < 12 jam	26	264	0,06	0,82	-
- ≥ 12 jam	1	13			
Pencahayaan					
- Gelap	2	22	0,01	0,92	-
- Terang	25	255			
Sumber Pengetahuan					
- Sendiri	2	22	0,01	0,92	-
- Suluh/drh/pv	25	255			

* $\chi^2_{0,05;1} = 3,84$

diberikan maka pola metabolisme tubuh menjadi lebih seimbang. Pemberian pakan yang tidak teratur akan mengganggu keseimbangan energi dan menyebabkan inaktivasi ovarium (Winugroho, 2002; Wathes *et al.*, 2007).

Pemberian jerami tanpa pengolahan sebagai pakan utama juga signifikan memberi pengaruh pada kasus hipofungsi ovarium, peternak yang menggunakan jerami sebagai pakan utama berisiko 9,6 kali mengalami hipofungsi ovarium dibanding peternak yang menggunakan rumput. Nilai nutrisi jerami yang rendah, bahkan setelah pengolahan, membuat jerami kurang bagus untuk digunakan sebagai pakan tunggal (Yanuartono *et al.*, 2017). Hijauan seperti rumput gajah dan rumput odot memiliki protein yang tinggi, yaitu dalam kisaran 17-19% dan Total Digestable Nutrient mencapai 64,31% sehingga mampu mencukupi kebutuhan nutrisi ternak, termasuk kebutuhan untuk sintesis hormon reproduksi (Purwawangsa dan Putera, 2014)

Pemeliharaan ternak sapi potong pada peternakan rakyat di Kabupaten Jepara didominasi oleh sapi lokal, khususnya sapi Peranakan Ongole. Pemilihan jenis sapi memengaruhi kejadian hipofungsi ovarium, sapi lokal menurunkan risiko hipofungsi ovarium sebesar 0,37 kali dibanding sapi silangan. Selain mudah beradaptasi dengan lingkungan dan pakan, sapi lokal jenis peranakan ongole memiliki performa reproduksi yang lebih baik daripada sapi persilangan. Sapi lokal masih menampilkan gejala birahi dan bunting meskipun berada pada Skor Kondisi Tubuh (SKT) yang tidak ideal (Luthfi *et al.*, 2011; Yulyanto *et al.*, 2014).

Rata-rata jumlah kepemilikan ternak di Kabupaten Jepara adalah $2,27 \pm 1,05$ ekor per peternak. Uji chi-square (χ^2) memperlihatkan tidak ada pengaruh jumlah kepemilikan ternak pada kasus hipofungsi ovarium, tetapi ada hubungan antara peternak dengan kepemilikan tunggal dengan kejadian hipofungsi ovarium. Peternakan dengan populasi lebih dari satu ekor menurunkan kasus hipofungsi ovarium 0,34 kali dibandingkan peternakan dengan jumlah satu ekor. Jumlah kepemilikan sapi akan berpengaruh terhadap manajemen pemeliharaannya, peternak rakyat dengan kepemilikan rendah biasanya beternak sebagai sambilan dan ternak sebagai tabungan sehingga pemeliharaan menjadi tidak intensif

dan menurunkan performa reproduksi ternaknya. Populasi yang sedikit pada awalnya dianggap baik karena pemeliharaan menjadi lebih mudah, tetapi pada peternakan berorientasi profit justru ketika populasi bertambah maka pengamatan terhadap ternak juga semakin meningkat sehingga kejadian penyakit lebih rendah (Grohn *et al.*, 2000; Annisa *et al.*, 2018).

Umur ternak ditentukan dengan melihat pergantian gigi seri pada sapi induk, sapi muda berumur di bawah 4 tahun ditandai dengan masih ada gigi susu yang belub berganti menjadi gigi seri. Umur ternak yang dipelihara juga memengaruhi kejadian hipofungsi ovarium, ternak muda menurunkan risiko sebesar 0,32 kali dibanding ternak tua sehingga ternak berusia tua memiliki risiko 3,13 kali mengalami hipofungsi ovarium daripada ternak muda. Ternak yang lebih muda memiliki kemampuan untuk menyerap nutrisi lebih baik daripada ternak yang lebih tua, juga dengan kemampuan regenerasi sel-sel. Performa reproduksi menurun seiring bertambahnya umur ternak dan jumlah kelahirannya (Motlagh *et al.*, 2013).

Induk yang tidak menyusui pedet menurunkan risiko 0,07 kali mengalami hipofungsi ovarium dibanding induk yang menyusui. Induk yang menyusui setidaknya mengalami efek menyusui dan stres laktasi. Menyusui pedet secara signifikan menekan aktivitas ovarium pada induk sehingga status laktasi secara langsung akan memengaruhi kejadian hipofungsi ovarium pada sapi potong. Efek pedet yang mengisap pada puting adalah keluarnya endorfin, yang bekerja sebagai neurotransmitter di seluruh sistem saraf pusat, menyebabkan hambatan penghambatan pelepasan luteinizing hormon yang berfungsi dalam siklus estrus. Stres laktasi terjadi karena peningkatan kebutuhan nutrisi untuk metabolisme basal dan produksi susu, menyebabkan keseimbangan energi negatif dan mengganggu proses sintesis hormon reproduksi (Orihuela dan Galina, 2019; Brauner *et al.* 2009).

Peternak di Kabupaten Jepara menahan untuk tidak menyapih pedetnya lebih cepat untuk mendapatkan harga panen pedet yang lebih tinggi. Umur sapih secara signifikan memiliki asosiasi dengan kasus hipofungsi ovarium pada sapi potong. Induk yang pedetnya disapih sebelum

berumur enam bulan menurunkan risiko kejadian hipofungsi ovarium 0,03 kali dibanding induk yang pedetnya disapih lebih dari enam bulan. Menyapih pedet lebih dari enam bulan memiliki risiko 37 kali induk mengalami hipofungsi ovarium. Pedet yang disapih pada umur lebih dari lima bulan memiliki kondisi tubuh yang lebih baik dan menurunkan kebutuhan hijauan di awal periode pemeliharaan pedet, tetapi kondisi tubuh induk akan terus menurun seiring kebutuhan nutrisi pedet yang semakin tinggi. Dalam jangka panjang, kondisi tubuh yang menurun menyebabkan keseimbangan energi negatif dan berdampak pada performa reproduksi (Ciccioli *et al.*, 2003; Wathes *et al.*, 2007).

Analisis Regresi Logistik digunakan untuk menerangkan hubungan antara kejadian hipofungsi ovarium dengan beberapa faktor risiko yang berpengaruh. Pendekatan yang digunakan untuk hipofungsi ovarium merujuk pada penyakit non infeksius dengan model yang digunakan lebih banyak pada faktor peternak serta aktifitas fisik, pakan dan lingkungan ternak (Nianogo dan Arah, 2015). Regresi logistik dimulai dengan memasukkan seluruh variabel peternakan dan variabel individu ternak, kemudian diuji dengan satu P-value untuk mendapatkan model dengan akurasi terbaik. Sensitivitas dan spesifisitas model dihitung (Harrel, 2012).

Menggunakan variabel ternak, terdapat tiga variabel yang berpengaruh secara signifikan terhadap kasus hipofungsi ovarium, yaitu Umur Sapih Pedet (Pvalue= 0,00; β = -3,19), Status Laktasi (Pvalue= 0,02; β = -1,83) dan Jenis Ternak (Pvalue= 0,07; β = -0,99), seperti tampak pada Tabel 3.

Model persamaan yang dibentuk adalah sebagai berikut:

$$\text{Ln P/1-P} = 5,71 - 3,19 \times \text{SAPH} - 1,83 \times \text{STLAK} - 0,99 \times \text{JNTR}$$

Peternak yang menyapih pedetnya kurang dari enam bulan, sapi betina yang tidak menyusui dan jenis indukan sapi potong lokal akan menurunkan peluang terjadinya hipofungsi ovarium. Perhitungan akurasi model didapat sensitivitas model 25,9% dan spesifisitas model 97,8%, model hipofungsi ovarium dianggap cukup baik terutama untuk mendeteksi ternak yang tidak sakit sebagai ternak yang benar-benar yang tidak mengalami hipofungsi ovarium berdasarkan variabel individu ternak.

Menggunakan variabel peternakan, terdapat tiga variabel yang berpengaruh secara signifikan terhadap kasus hipofungsi ovarium, yaitu Pakan Utama (Pvalue=0,00; β = 1,81), Frekuensi pemberian Pakan Tambahan (Pvalue=0,03; β = 1,74) dan Kepemilikan Ternak Satu Ekor (Pvalue=0,01; β = -1,33), seperti tampak pada Tabel 4.

Tabel 3. Hasil Uji Signifikansi Multivariat pada Variabel Ternak

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	OR
Step 5 ^a	JNTR	-,992	,547	3,283	1	0,070	0,371
	STLAK	-1,825	,788	5,357	1	0,021	0,161
	SAPH	-3,198	,647	24,422	1	0,000	0,041
	Constant	5,709	,890	41,133	1	0,000	301,539

Variable(s) entered on step 1: JNTR, UMT, LBR, JRLK, PART, STLAK, SAPH.

Tabel 4. Hasil Uji Signifikansi Multivariat pada Variabel Peternak

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	OR
Step 16	PUNYA1	-1,331	,507	6,889	1	0,009	0,264
	PKUT	1,813	,495	13,396	1	0,000	6,131
	PKTB	1,736	,793	4,801	1	0,028	5,677
	Constant	1,213	,295	16,886	1	0,000	3,364

Variable(s) entered on step 1: BNGSRI, KEMBANG, PAKISAJI, MLONGGO, BATEALIT, KELING, PUNYA1, PUNYADIKIT, KDGKCL, CAHY, SBCH, LTKD, ALKD, PKUT, PKTB, RKD, SMBP, PRIB.

Model persamaan yang dibentuk adalah sebagai berikut:

$$\ln P/1-P = 1,21 + 1,81 \times \text{PKUT} + 1,74 \times \text{PKTB} - 1,33 \times \text{PUNYA1}$$

Peternak yang menggunakan jerami sebagai sumber pakan utama, tidak rutin memberikan pakan tambahan dan memelihara hanya satu ternak akan menaikkan peluang terjadinya hipofungsi ovarium. Perhitungan akurasi model didapat sensitivitas 66,7% dan spesifisitas 98,6%. Akurasi model cukup baik untuk memprediksi hipofungsi ovarium karena sensitivitas dan spesifisitas di atas 60%.

Ucapan Terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dinas Ketahanan Pangan dan Pertanian Kabupaten Jepara atas data dan pendampingan yang diberikan, serta Program Rekognisi Tugas Akhir Tahun 2020 Universitas Gadjah Mada yang telah mendanai penelitian ini.

Kesimpulan

Prevalensi hipofungsi ovarium pada sapi potong 8,9% dan variabel yang mempunyai hubungan bermakna secara statistik ($p < 0,05$) dan meningkatkan hipofungsi ovarium adalah frekuensi pakan tambahan/PKTB (OR=12,77) dan pakan utama/PKUT (OR=9,59). Variabel yang menurunkan hipofungsi ovarium adalah jenis ternak/JNT (OR=0,37), kepemilikan ternak satu/PUNYA1 (OR=0,34), umur ternak/UMT (OR=0,32), status laktasi/STLAK (OR=0,07) dan umur sapih/SAPH (OR=0,03).

Model persamaan yang diperoleh pada tingkat ternak adalah $\ln P/1-P = 5,709 - 3,198 \times \text{SAPH} - 1,825 \times \text{STLAK} - 0,992 \times \text{JNTR}$. Model persamaan pada tingkat peternakan adalah $\ln P/1-P = 1,213 + 1,813 \times \text{PKUT} + 1,736 \times \text{PKTB} - 1,331 \times \text{PUNYA1}$

Daftar Pustaka

- Annisa, N.N., Roslizawaty, Hamdan, Iskandar, C.D., Ismail dan Siregar, T.N. (2018)., Peran Peternak Terhadap Keberhasilan Inseminasi Buatan Pada Sapi Di Kabupaten Asahan. *JIMVET* E-ISSN : 2540-9492.
- Anshori, A., Nurhajati, T. and Utomo, B. (2017). Cases of Reproduction Disorder in Beef Cattle of Modo District, Lamongan in 2015. *The Veterinary Medicine International Conference 2017* DOI 10.18502/kl.v3i6.1203.
- Budiyanto, A., Tophianong, T.C., Triguntoro dan Dewi, H.K. (2016). Gangguan Reproduksi Sapi Bali pada Pola Pemeliharaan Semi Intensif di Daerah Sistem Integrasi Sapi-Kelapa Sawit. *Acta Veterinaria Indonesiana*. Vol. 4, No. 1: 14-18.
- Brauner, C.C., Pimentel, M.A. and Lemes, J.S. (2009). Postpartum reproductive performance of beef cows in moderate body condition submitted to estrus induction/synchronization. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.38, n.1 p.99-103.
- Ciccioli, N.H., Wettemann, R.P., Spicer, L.J., Lents, C.A., White, F.J. and Keisler, D.H. (2003). Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on endocrine function and reproductive performance of primiparous beef cows. *J. Anim. Sci.* 81:3107–3120.
- Grohn, Y.T. and Rajala-Schultz, P.J. (2000). Epidemiology of reproductive performance in dairy cow. *Animal Reproduction Science*. 60–61 605–614.
- Harrell, F.E. (2012). *Regression Modeling Strategies*. Vanderbilt University: Tennessee, Amerika Serikat.
- Khan, M.H., Manoj, K. and Pramod, S. (2016). Reproductive disorders in dairy cattle under semi-intensive system of rearing in North-Eastern India. *Veterinary World*. 9(5): 512-518.
- Liu, W.B., Peh, H.C., Wang, C.K., Mangwe, M.C., Chen, C.F. and Chiang, H.I. (2018). Effect of seasonal changes on fertility parameters of Holstein dairy cows in subtropical climate of Taiwan. *Asian-Australas J Anim Sci*. Vol. 31, No. 6:820-826.
- Luthfi, M., Anggraeny, Y.N. dan Darminto. (2011). Perbedaan Performan Reproduksi Sapi PO dan Brahman Cross di Berbagai

Lokasi di Jawa Tengah dan Jawa Timur. disampaikan pada Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2011

- Martin, S.W., Meek, A.H. and Willeberg, P. (1987). *Veterinary Epidemiology: Principles and Methods*. Iowa State University Press: Amerika Serikat
- Motlagh, M.K., Roohani, Z., Shahne, A.Z. and Moradi, M. (2013). Effects of age at calving, parity, year and season on reproductive performance of dairy cattle in Tehran and Qazvin Provinces, Iran, *Res. Opin. Anim. Vet. Sci.* 3(10)
- Nianogo, R.A. and Arah, O.A. (2015). Agent-Based Modeling of Noncommunicable Diseases: A Systematic Review. *American Journal of Public Health*. Vol 105, No. 3
- Oktarianti, E. (2018). Reproductive Disorder in Cows: Data Analisis of UPSUS SIWAB in Lima Puluh Kota District, 2017. disampaikan pada 20th FAVA CONGRESS & The 15th KIVNAS PDHI, Bali Nov 1-3.
- Orihuela, A. and Galina, C.S. (2019). Effects of Separation of Cows and Calves on Reproductive Performance and Animal Welfare in Tropical Beef Cattle. *Animals*. 9, 223.
- Prihatno, S.A., Putro, P.P., Gustari, S., Kusumawati, A., Junaidi, A. dan Budiyanto, A. (2015). Kajian Epidemiologi Gangguan Reproduksi Saat/days Partum pada Sapi Perah di Kabupaten Sleman. disampaikan pada Inovasi veteriner dalam Riset dan Industri untuk Menjawab Tantangan Pasar, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta: FKH UGM
- Purwawangsa, H. dan Putera, B.W. (2014). Pemanfaatan Lahan Tidur untuk Penggemukan Sapi. *Risalah Kebijakan Pertanian dan Lingkungan*, Vol. 1 No. 2, 92-96
- Putri, S.H.T. dan Purnama, B.I. (2019). Identifikasi Gangguan Reproduksi Sapi Potong Dalam Mendukung Upsus Siwab Di Kecamatan Ampek Nagari Kabupaten Agam Tahun 2017. Prosiding Penyidikan Penyakit Hewan Rapat Teknis dan Pertemuan Ilmiah (RATEKPIL) dan Surveilans Kesehatan Hewan Tahun 2019
- Rosadi, B., Sumarsono, T. dan Hoesni, F. (2018). Identifikasi Gangguan Reproduksi pada Ovarium Sapi Potong yang Mengalami Anestrus Postpartum Panjang. *Jurnal Veteriner*. Vol. 19 No. 3: 385-389
- Wathes, D.C., Fenwick, M., Cheng, Z., Bourne, N., Llewellyn, S., Morris, D.G., Kenny, D., Murphy, J. and Fitzpatrick, R. (2007). Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow. *Theriogenology* 68S S232–S241
- Winugroho, M. (2002). Strategi Pemberian Pakan Tambahan untuk Memperbaiki Efisiensi Reproduksi Induk Sapi. *Jurnal Litbang Pertanian*. 21(1)
- Yanuartono, Purnamaningsih, H., Indarjulianto, S. dan Nururrozi, A. (2017). Potensi jerami sebagai pakan ternak ruminansia, *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 27 (1): 40 – 62
- Yulyanto, C.A., Susilawati, T. dan Ihsan, M.N. (2014). Penampilan reproduksi sapi Peranakan Ongole (PO) dan Sapi Peranakan Limousin di Kecamatan Sawo Kabupaten Ponorogo dan Kecamatan Tugu Kabupaten Trenggalek, *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 24 (2): 49 – 57

Undernutrisi dan Anestrus pada Kambing Bligon Induk Umur 2-3 Tahun yang Dipelihara dengan Pasokan Pakan Terbatas: Sebuah Studi Kasus

Undernutrition and Anestrus in 2-3 Years Old Bligon Does Kept under Limited Feed Supply: a Case Study

Kelviano Muqit¹, Irkham Widiyono^{2*}, Yanuartono², Sarmin³, Tridjoko Wisnu Murti⁴

¹Program Studi Magister Sains Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada

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

³Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada

⁴Departemen Produksi Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada

*Corresponding author, Email : irkhamwidiyono@ugm.ac.id

Naskah diterima: 15 Juni 2020, direvisi: 9 Agustus 2020, disetujui: 6 Oktober 2020

Abstract

This study was aimed to investigate the poor body condition and anestrus phenomenon of 5 Bligon does aged 2-3 years old that were kept under limited feed supply. Animals were fed with kangkong straw and periodically treated with Ivermectin since 3 months prior of the study. The does looked thinner and showed no signs of estrus. A study of feed management and clinical observation (physical examination, sexual behavior test, and cytological examination of vaginal smears) was carried out for period of 8 weeks. At the end of the observation period (week 7 and 8), the animals were treated with PGF2 α twice with 11 days apart for an estrous synchronization, and an ultrasound examination was done. Clinical examination revealed no ectoparasite and gastrointestinal parasite infestation. The animals had poor body condition score (BCS) (1-1.5 in a scale of 1-5) with no other significant abnormalities detected on physical examination. Results of the observation during 8 weeks showed that the animals consumed a low quality and quantity of feed (dry matter), i.e. approximately 2% of the body weight. The animals had a negative daily weight gain and did not show any sign of estrus. The cytology of vaginal smears were predominated with parabasal and intermediate cells. The estrous synchronization resulted in changes of vulva and cervical mucus without estrous behaviors. The result of ultrasound examination did not show any active ovarian status. The does were diagnosed with undernutrition and anestrus. Based on the results of nutritional and clinical examinations, it can be concluded that feeding at the level of 2% of body weight in Bligon does has the potential to cause a decrease in body condition score and ovarian functions.

Keywords : anestrus; BCS; Bligon doe; feed intake; undernutrition.

Abstrak

Penelitian ini ditujukan untuk mengungkap fenomena kondisi tubuh yang kurus dan anestrus yang dialami 5 ekor kambing Bligon induk umur 2-3 tahun yang dipelihara dengan persediaan pakan yang terbatas. Sejak 3 bulan sebelum dilakukan penelitian hewan diberi pakan jerami kangkung saja dan diobati dengan Ivermectin secara berkala. Hewan terlihat semakin kurus dan tidak pernah birahi. Terhadap hewan tersebut selanjutnya dilakukan evaluasi manajemen pemberian pakan serta observasi klinis (pemeriksaan fisik, uji perilaku birahi, dan pemeriksaan sitologi apus vagina) dalam kurun waktu 8 minggu. Pada akhir periode observasi (minggu ke-7 dan 8) hewan diberi perlakuan gertak birahi dengan pemberian PGF2 α dua kali berselang 11 hari dan pemeriksaan Ultrasonografi (USG). Hasil pemeriksaan klinis menunjukkan bahwa hewan tidak mengalami infestasi ektoparasit dan parasite gastrointestinal. Hewan memiliki BCS buruk (1-1,5 pada skala 1-5) dan tidak ada abnormalitas lain yang secara signifikan ditemukan pada pemeriksaan fisik. Hasil observasi dalam kurun waktu

8 minggu menunjukkan bahwa hewan mengkonsumsi pakan yang berkualitas rendah dan dalam jumlah (berat kering) yang tidak memadai, yakni bekisar 2% bobot badan. Hewan memiliki penambahan bobot badan harian negatif dan tidak menunjukkan tanda-tanda birahi. Gambaran sitologi apus vagina didominasi sel parabasal dan intermediet. Gertak birahi mengakibatkan adanya perubahan keadaan vulva dan lendir estrus tanpa perilaku birahi. Hasil pemeriksaan USG tidak menunjukkan adanya status ovarium yang aktif. Hewan didiagnosa menderita undernutrisi dan anestrus. Berdasarkan hasil pemeriksaan nutrisi dan klinis dapat disimpulkan bahwa pemberian pakan pada level 2% dari bobot badan pada kambing Bligon induk berpotensi mengakibatkan penurunan kondisi tubuh dan fungsi ovarium.

Kata kunci : anestrus; asupan pakan; kambing Bligon; BCS; undernutrisi

Pendahuluan

Pada keadaan pakan tersedia cukup banyak dan kebutuhan energi rendah maka energi yang tersedia digunakan untuk memenuhi berbagai kebutuhan kelangsungan hidup yang dibutuhkan segera, seperti sintesis protein, termogenesis, mempertahankan gradien ionik, dan lokomosi. Selain itu juga digunakan untuk kebutuhan jangka panjang, seperti pertumbuhan, fungsi kekebalan, dan reproduksi. Kelebihan energi yang dikonsumsi disimpan sebagai lemak di jaringan lemak. Sebaliknya, pada kondisi kekurangan pakan atau ketersediaan pakan terbatas maka energi akan lebih diutamakan untuk bertahan hidup dibanding untuk proses pertumbuhan dan reproduksi. Pada kondisi kekurangan pakan akan terjadi regresi gonad dan inaktivitas seksual sehingga proses reproduksinya terhambat (Schneider, 2004). Hasil penelitian pada ternak menunjukkan bahwa nutrisi dan kondisi tubuh mempunyai efek yang nyata terhadap siklus birahi dan kinerja reproduksi (Fatet *et al.*, 2011; Melesse *et al.*, 2013). Defisiensi energi mampu menghambat fungsi reproduksi pada berbagai fase siklus birahi dan mengakibatkan infertilitas (Al-Azraqi, 2007; Furman and Wade, 2007; Wade *et al.*, 1996). Penelitian pada domba dan kambing Shiba menunjukkan bahwa undernutrisi atau pembatasan asupan pakan dan *body condition score* (BCS) yang rendah dapat meningkatkan kejadian anestrus (Tanaka *et al.*, 2003; Sejian *et al.*, 2010). Pemberian pakan terbatas temporal pada domba dapat meningkatkan lamanya periode anovulasi serta mempengaruhi ovulasi dan perkembangan folikel. Nutrisi diketahui dapat mempengaruhi durasi anestrus (Forcada and Abecia, 2006). Estrada-Cortés *et al.* (2009) juga mengemukakan bahwa status nutrisi berpengaruh

terhadap lamanya periode anovulatorik pada kambing Creol Meksiko. Sementara itu, penelitian pada kambing Peranakan Etawah dengan BCS 2 menunjukkan bahwa perilaku birahi setelah perlakuan sinkronisasi estrus tidak diikuti dengan adanya lonjakan LH dan ovulasi (Widayati *et al.*, 2011).

Efek dari adanya pembatasan atau ketidakcukupan pakan terhadap proses reproduksi dimediasi oleh *gonadotrophin-releasing hormone* (GnRH) yang berada di hipotalamus (Furman and Wade, 2007). Lebih lanjut, dalam kaitan kondisi tubuh dan status hormonal, Moeini *et al.* (2014) menemukan adanya pengaruh BCS terhadap kadar hormon FSH. Kambing dengan BCS 2 memiliki kadar hormon FSH yang lebih rendah dibanding kambing dengan BCS 3 atau lebih. Demikian pula, Widayati *et al.* (2011) melaporkan bahwa kambing Peranakan Etawah dengan BCS 2 menunjukkan respon sekresi hormon estrogen yang lebih rendah dibanding kambing dengan BCS 3 terhadap perlakuan sinkronisasi estrus. Sejumlah peneliti melaporkan bahwa kekurangan asupan pakan di bawah level untuk pemenuhan kebutuhan *maintanance* mengakibatkan berbagai permasalahan reproduksi seperti penurunan sekresi hormon steroid dan tiroid, frekuensi pulsasi FSH, persentase birahi, perilaku birahi, serta peningkatan kejadian anestrus dan anovulasi (Tanaka *et al.*, 2003; Tanaka *et al.*, 2004; Al-Azraqi, 2007; Sejian *et al.*, 2010; Sejian *et al.*, 2014). Hasil penelitian pada kambing Kacang menunjukkan bahwa hewan dengan BCS buruk memiliki status ovarium asiklik dan kadar glukosa, kalsium dan magnesium yang lebih rendah dibanding hewan dengan BCS baik (Widiyono *et al.*, 2020). Perubahan hormonal yang terkait fase siklus birahi dan status ovarium pada ruminansia

kecil akan disertai adanya perubahan karakteristik sekresi genital, sitologi vagina, dan perilaku birahi (Ola *et al.*, 2006; Fatet *et al.*, 2011; Popalayah, 2013; Rasad and Setiawan, 2017).

Penelitian ini ditujukan untuk mengungkap gangguan reproduktiv (anestrus) pada kambing Bligon betina dewasa pada periode produktif yang mendapat pasokan pakan dibawah level untuk pemenuhan kebutuhan pokok selama beberapa bulan dan mengalami penurunan kondisi tubuh.

Materi dan Metode

Penelitian ini mendapat persetujuan dari Komisi Kelaikan Etik Hewan Coba Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada dengan Sertifikat Nomor 00036/04/LPPT/VII/2019.

Penelitian dilakukan pada 5 ekor kambing Bligon induk yang berumur 2-3 tahun dan dipelihara oleh petani di satu peternakan di Yogyakarta, mengalami kekurusan, dan tidak bunting. Sejak 3 bulan sebelum penelitian dilakukan, hewan dipelihara diatas kandang panggung individual, diberi pakan jerami kangkung saja, diinjeksi Ivermectin secara berkala, dan tidak pernah menunjukkan birahi. Pada pemeriksaan fisik ditemukan suhu tubuh serta frekuensi nafas dan pulsus dalam batasan normal, kondisi tubuh hewan kurus (BCS 1-1,5), nafsu makan hewan cukup baik, dan tidak ditemukan adanya kecacatan fisik, infestasi parasit, dan abnormalitas lain yang signifikan. Terhadap hewan tersebut selanjutnya dilakukan evaluasi manajemen pemberian pakan serta observasi klinis (pemeriksaan fisik, uji perilaku birahi, dan pemeriksaan sitologi apus vagina) dalam kurun waktu 8 minggu. Untuk memacu birahi betina, seekor pejantan fertil ditempatkan dan pelihara dengan pakan *ad libitum* dalam satu lingkungan dengan hewan-hewan tersebut. Pada awal minggu ke-7 setiap hewan diberi perlakuan gertak birahi dengan pemberian PGF₂ α dan diulang kembali dengan selang waktu 11 hari kemudian. Dilakukan pengambilan sampel pakan untuk pemeriksaan kandungan nutrisional bahan pakan yang dikonsumsi hewan. Pemeriksaan kandungan nutrisional pakan dilakukan di Laboratorium Hijauan Makanan Ternak dan Pastura Fakultas

Peternakan Universitas Gadjah Mada (Suwignyo *et al.*, 2016). Selanjutnya selama masa observasi dilakukan pengukuran konsumsi pakan harian, pengamatan dan deteksi birahi serta pemeriksaan sitologi vagina, bobot badan dan BCS secara berkala. Pengamatan dan uji birahi dilakukan dengan pejantan setiap hari selama masa observasi. Penilaian keadaan estrus ditinjau dari tiga aspek, yakni: keadaan vulva, lendir serviks dan tingkah laku. Penilaian keadaan estrus dalam penelitian ini menggunakan acuan dari Santoso *et al.* (2014) dan Tirpan *et al.* (2019) dengan menggunakan rentang penilaian 0-2, dimana 0 merupakan angka terendah dan 2 adalah angka tertinggi. Keadaan vulva didasarkan pada kebengkakan dan warna vulva. Skor 2 untuk mukosa vulva merah dan menunjukkan kebengkakan, skor 1 apabila vulva agak membengkak dan berwarna pink, dan skor 0 apabila tidak membengkak dan berwarna pink pucat. Kekentalan lendir diberi skor 2 apabila lendir bersifat *viscous* dan membasahi area di sekitar ulva, skor 1 apabila lendir berjumlah sedikit dan hanya dapat ditemukan apabila membuka vulva, dan skor 0 apabila tidak terdapat sekreta. Tingkah laku birahi betina terhadap pejantan dinilai skor 2 apabila betina diam jika dinaiki, menunjukkan ketertarikan terhadap pejantan dan mengibas-ibaskan ekornya, skor 1 diberikan apabila betina menunjukkan ketertarikan kepada pejantan, mengibas-ibaskan ekornya namun masih menghindari ketika dinaiki, dan skor 0 diberikan kepada betina yang mencoba menghindari pejantan dan tidak menunjukkan adanya ketertarikan pada pejantan. Pembuatan preparat apus vagina, pengecatan Giemsa dan pemeriksaannya dilakukan dengan metoda yang dijelaskan oleh Kraft dan Duerr (1999) dan Ola *et al.* (2006). Pertambahan bobot badan harian diperhitungkan berdasarkan selisih antara bobot badan pada akhir dan awal suatu periode pengamatan dibagi jumlah hari dalam periode pengamatan tersebut (Widiyono *et al.*, 2016). Untuk mengetahui status organ reproduksi pada hari ke-3 setelah pemberian PGF₂ α yang kedua (akhir minggu ke-8) dilakukan pemeriksaan Ultrasonografi (USG) per rektal.

Pengaruh waktu terhadap berbagai parameter pengamatan dianalisis dengan *ANOVA*. Hasil

ANOVA yang menunjukkan pengaruh yang signifikan dilanjutkan *Duncan's Multiple Range Test* untuk mengetahui perbedaan rerata parameter antar waktu pengamatan. Signifikansi ditetapkan pada $P < 0,05$.

Hasil dan Pembahasan

Pemberian pakan harus memenuhi kebutuhan nutrisi yang baik untuk kambing. Pakan utama kambing adalah hijauan rumput, tumbuhan rambat serta leguminosa yang memiliki kandungan serat kasar yang tinggi (Purnamasari *et al.*, 2018). Kambing pada penelitian ini diberi pakan berupa jerami kangkung saja. Hasil uji nutrisi jerami kangkung yang diberikan kepada kambing tersebut disajikan pada Tabel 1. Hasil pemeriksaan nutrisi menunjukkan bahwa beberapa parameter nutrisi bahan pakan tersebut memiliki nilai yang lebih rendah dibanding nilai nutrisi bahan sejenis yang disebutkan pada laporan terdahulu. Hartadi *et al.* (2005) menyatakan bahwa kangkung yang telah dikeringkan mempunyai kandungan nutrisi berupa 14,49% protein kasar, 10,25% abu, 4,36% lemak kasar, 15,07% fiber, 55,83% nitrogen bebas, dan 68,22% *Total Digestible Nutrien* (TDN).

Pengamatan asupan pakan dan perubahan bobot badan harian selama beberapa minggu ditampilkan pada Tabel 2. Hasil pengamatan selama beberapa minggu menunjukkan nilai konsumsi pakan jerami kangkung berkisar antara 286-403 g/hari atau sekitar 2% dari bobot badan kambing pada kasus ini. Asupan pakan kambing tersebut lebih rendah dari kebutuhan asupan pakan (berat kering) untuk kambing dewasa menurut National Research Council (2007), yakni sebesar 3,5%. Asupan dan kualitas pakan yang rendah mendorong terjadinya defisiensi kalori dan nutrisi esensial lainnya (undernutrisi). Hal tersebut menyebabkan adanya penambahan bobot badan harian (PBBH) negatif (-14,00 g/hari pada 3 minggu pertama) dan semakin menurun selama penelitian

ini (-31,40 g/hari pada minggu ke-6 dan -53,48 g/hari pada minggu ke-8) dan dengan demikian mengakibatkan terjadinya penyusutan bobot badan. Penyusutan bobot badan yang berlangsung semakin berat selama periode pengamatan ini mengakibatkan terjadinya kondisi tubuh kambing yang semakin memburuk sampai akhir penelitian ini. Hasil pemeriksaan BCS menunjukkan skor kondisi tubuh sekitar 1,1 (pada skala 1-5) pada minggu ke 3 dan menurun menjadi 1 pada minggu ke-6 dan 8 ($P > 0,05$). Hasil penelitian ini selaras dengan hasil penelitian pada kambing yang dilakukan beberapa peneliti terdahulu. Widiyono *et al.* (2016) melaporkan bahwa pemberian pakan 40% dari kebutuhan hidup dengan aktivitas medium pada kambing Kacang betina dewasa selama 4 minggu mengakibatkan PBBH negatif dan penyusutan bobot badan. Lebih dari itu, dari penelitian tersebut ditemukan adanya indikasi kuat bahwa kambing Kacang menggunakan lemak dan protein tubuhnya untuk memenuhi kebutuhan selama masa kekurangan nutrisi. Penyusutan bobot badan yang terkait dengan asupan pakan terbatas selama beberapa minggu juga dilaporkan terjadi pada kambing Peranakan Ettawa, kambing Kacang, dan kambing Iran. Widiyono *et al.* (2013) melaporkan pemberian pakan yang terbatas (80% dari kebutuhan *maintenance*) selama 4 minggu pada kambing Peranakan Ettawa mengakibatkan penurunan bobot badan yang signifikan, dari 39,50 kg menjadi 37,13 kg. Pemberian pakan pada level 40% dari kebutuhan *maintenance* (320 kg/hari) selama 4 minggu mengakibatkan penurunan bobot badan yang signifikan dengan PBBH negatif sebesar -80 g/hari (Widiyono *et al.*, 2016). Demikian pula, Dashtizadeh *et al.* (2008) menemukan hal serupa terjadi pada kambing Iran.

Hasil pengamatan tanda-tanda fisik dan perilaku birahi kambing Bligon induk selama periode observasi disajikan pada Tabel 3. Gejala birahi atau perilaku birahi tidak teramati sampai akhir minggu ke-6 dalam penelitian ini, meskipun

Tabel 1. Kandungan nutrisi jerami kangkung berdasarkan hasil uji proksimat.

Bahan	Kadar (%)					
	Bahan Kering	Abu	PK	LK	SK	BETN
Jerami kangkung	91,42	22,20	9,00	1,63	24,99	42,18

Keterangan : PK = protein kering, LK = lemak kasar, SK = serat kasar, BETN = bahan ekstrak tanpa nitrogen

Tabel 2. Konsumsi pakan harian, penambahan bobot badan harian,,dan BCS kambing Bligon selama masa observasi (rerata \pm SD, n=5)

Parameter	Hasil pemeriksaan		
	Minggu ke-3	Minggu ke-6	Minggu ke-8
Konsumsi pakan harian (g/hari)	286,90 \pm 30,00 ^a	403,66 \pm 47,36 ^b	327,74 \pm 39,17 ^c
PBBH (g/hari)	-14,0 \pm 22,03 ^a	-31,40 \pm 15,96 ^a	-53,48 \pm 24,18 ^a
BCS	1,10 \pm 0,22 ^a	1,00 \pm 0,00 ^a	1,00 \pm 0,00 ^a

^{abc} Rerata dengan superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda signifikan ($P < 0,05$)

pejantan dengan libido tinggi dipelihara bersama selingkungan dengan kambing betina tersebut. Tindakan gertak birahi dengan pemberian PGF2- α pada awal minggu ke 7 dan diulang kembali pada minggu ke 8 dengan selang waktu 11 hari hanya memunculkan tanda estrus berupa adanya perubahan vulva dan lendir estrus ($P < 0,05$), namun tidak disertai adanya perilaku birahi, yakni hewan tetap tidak mau dinaiki oleh pejantan ($P > 0,05$). Sejumlah penelitian terdahulu pada ternak ruminansia kecil (kambing dan domba) juga menunjukkan adanya hubungan yang erat antara asupan pakan, BCS dan reproduksi (Gallego-Calvo et al., 2014; Jalilian dan Moeini, 2013; Melesse et al., 2013; Naqvi et al., 2012). Keadaan kambing yang mengalami anestrus selama 8 minggu ini kemungkinan besar berkaitan erat dengan keterbatasan/kekurangan asupan pakan (286,90-403,66 g/hari). Sejumlah penelitian pada domba dan kambing menunjukkan adanya pengaruh pembatasan pakan atau undernutrisi terhadap estrus dan kinerja reproduktiv. Hasil penelitian pada kambing Mashona betina menunjukkan bahwa pemberian pakan dengan level energi yang rendah mengakibatkan penurunan proporsi hewan yang menunjukkan estrus dan kesuburannya (Kusina et al., 2001). Hasil penelitian pada kambing Shiba menunjukkan bahwa pembatasan pakan pada level 30% dari kebutuhan sejak ovulasi mengakibatkan penurunan bobot badan, tidak adanya peningkatan estrogen dan perkembangan folikel, dan anovulasi (Tanaka et al., 2003). Siregar (2009) melaporkan bahwa kambing yang tidak birahi memiliki kadar estrogen yang rendah dibanding hewan yang sedang birahi. Lebih lanjut, hasil penelitian pada domba Malpura betina juga menunjukkan bahwa pembatasan asupan pakan pada level 80%, 70%, dan 60% dari pemberian pakan *ad libitum* mengakibatkan perubahan respon birahi, dan dampak yang berat ditemukan

pada pembatasan pakan dengan level 60% dari pemberian pakan *ad libitum*. Penurunan asupan pakan pada level 60% dari pemberian pakan *ad libitum* mengakibatkan penurunan BCS, kadar estrodiol plasma, kadar tiroksin dan tri-iodo-tironin plasma, kadar kortisol plasma, persentase birahi, dan durasi birahi (Sejian et al., 2014). Tanaka et al. (2004) melaporkan bahwa anovulasi dan tidak adanya perilaku estrus setelah perlakuan dengan *progesterone-releasing controlled internal drug releasing (CIDR-G) device* pada kambing Shiba yang mengalami pembatasan asupan pakan sejak ovulasi pada level 30% dari kebutuhan terkait dengan penurunan frekuensi pulsasi sekresi LH dan tidak adanya peningkatan hormon estrogen. Al-Azraqi (2007) juga melaporkan hasil penelitian pada kambing bahwa puasa pakan selama 4 hari pada fase luteal (sejak hari ke 10 setelah birahi) mengakibatkan penurunan produksi hormon steroid dan menghambat perilaku birahi. Tanjung et al. (2015) melakukan penelitian pada kambing Peranakan Ettawa dan melaporkan bahwa kejadian birahi abnormal (lebih dari 3 bulan pasca kelahiran) memiliki keterkaitan dengan kadar estrogen yang rendah di dalam darah. Sejian et al. (2010) juga melaporkan bahwa undernutrisi dan BCS yang rendah meningkatkan insidensi anestrus pada domba Malpura. Melesse et al. (2013) menyatakan bahwa kambing Spanish dan Peranakan Spanish dengan BCS yang rendah akan mengalihkan nutrisi yang mereka dapatkan untuk memenuhi kebutuhan metabolisme dirinya sendiri dibandingkan untuk mengaktifasi neuroendokrin ovarium, sehingga hal tersebut menyebabkan hewan tetap dalam keadaan anestrus. Demikian pula, kambing Peranakan Nubian dengan BCS rendah (1,95) yang digembalakan di padang penggembalaan marginal tanpa suplementasi nutrisi tidak menunjukkan adanya picuan jalur neurofisiologik dari efek pejantan untuk

Tabel 3. Tanda-tanda fisik dan perilaku birahi pada kambing Bligon selama masa observasi 8 minggu (rerata \pm SD, n=5)

Parameter	Hasil Pemeriksaan		
	Minggu ke-3	Minggu ke-6	Minggu ke-8 [†]
Keadaan vulva	0,20 \pm 0,45 ^a	0,20 \pm 0,45 ^a	1,20 \pm 0,84 ^b
Lendir birahi	0,20 \pm 0,45 ^a	0,20 \pm 0,45 ^a	1,00 \pm 0,71 ^b
Perilaku birahi	0,00 \pm 0,00 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a	0,60 \pm 0,55 ^a

^{a,b,c} Rerata dengan superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda signifikan ($P < 0,05$)

[†] Setelah gertak birahi dengan PGF2 α

meningkatkan aktivitas ovarium (Urrutia-Morales *et al.*, 2012). Hasil penelitian Widiyono *et al.* (2020) juga menunjukkan bahwa kambing Kacang yang memiliki BCS 1 (buruk) terbukti memiliki ovarium yang asiklik dan kecenderungan jumlah folikel yang lebih sedikit. Lebih lanjut, juga diketahui bahwa domba Kivircik yang memiliki BCS $< 1,5$ juga memiliki tingkat kesuburan, kebuntingan, dan melahirkan yang rendah dibanding domba yang memiliki BCS 2-3 saat dikawinkan (Yilmaz *et al.*, 2011).

Hasil pemeriksaan ultrasonografik terhadap organ reproduksi menunjukkan uterus kosong dan ovarium tidak terlihat dengan jelas. Keadaan ovarium yang tidak menunjukkan perkembangan folikel yang jelas pada kambing pada penelitian ini kemungkinan besar berkaitan dengan status asupan pakan yang rendah. Penelitian pada kambing Mashona yang diberi pakan rendah energi (pada level 0,27 MJ ME/kg.W0,⁷⁵) menunjukkan proporsi hewan dengan siklus ovari dan estrus yang lebih rendah dibanding pada kambing yang diberi pakan dengan level energi menengah dan tinggi (Kusina *et al.*, 2001).

Untuk mengevaluasi status ovarium pada kasus kambing ini juga dilakukan pemeriksaan sitologik vagina selama periode observasi. Hal ini dilakukan dengan pertimbangan bahwa gambaran sel vagina memiliki hubungan dengan status ovarium. Pérez-Martínez *et al.* (1999) menyatakan bahwa pada kambing muda (peripubertal) dan dewasa kehadiran sel parabasal ataupun superfisial pada pemeriksaan sitologik vagina merupakan salah satu cara yang sensitif untuk mengetahui aktivitas dari ovarium dan perubahan hormon reproduksi. Fatet *et al.* (2011) juga menyatakan bahwa terdapat hubungan erat antara sekresi hormon steroid dan perubahan dari sel-sel eksfoliatif vagina. Perbedaan dari bentuk-bentuk

sel dapat digunakan sebagai penanda dari fase-fase dalam siklus birahi. Lebih lanjut, dilaporkan bahwa pemeriksaan sitologi apus vagina dapat digunakan untuk menentukan fase siklus birahi pada kambing Kacang dan Bligon (Popalayah, 2013). Pengamatan pada fase proestrus didominasi oleh sel intermediet dalam jumlah yang cukup banyak diikuti oleh kemunculan sel superfisial dan kornifikasi, pada fase estrus sel kornifikasi dan sel superfisial sangat dominan, pada fase metestrus bentukan sel parabasal mulai muncul diikuti kehadiran leukosit, namun masih terdapat sisa-sisa sel kornifikasi dan superfisial, pengamatan pada fase diestrus bentukan sel parabasal dan intermediet sangat dominan, sel superfisial dan kornifikasi tidak terlihat (Saputra *et al.*, 2007; Meydilasari *et al.*, 2020).

Hasil pemeriksaan sitologi vagina pada kambing Bligon pada kejadian undernutrisi dan kondisi tubuh yang buruk selama 8 minggu disajikan pada Tabel 4. Persentase sel parabasal, intermediet dan superfisial tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan selama masa observasi ($P > 0,05$), sedangkan persentase sel kornifikasi menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada minggu ke-8, pasca pelaksanaan gertak birahi ($P < 0,05$). Hasil pengamatan sitologik apus vagina ditemukan bahwa selama hampir 2 bulan tersebut sel parabasal dan intermediet sangat mendominasi gambaran apus vagina. Gambaran sitologik preparat apus vagina yang didominasi oleh sel parabasal dan intermediet menandakan bahwa ovarium tidak sedang berada dalam fase estrus atau hewan kemungkinan sedang berada dalam fase luteal pada awal metestrus. Ola *et al.* (2006) menyatakan bahwa persentase sel parabasal pada kambing yang tidak mengalami estrus secara dominan (40%) lebih banyak dibandingkan sel lainnya. Sel-sel ini jamak dijumpai mulai awal

Tabel 4. Hasil pemeriksaan sitologi vagina (%) pada kambing Bligon selama masa observasi 8 minggu (rerata \pm SD, n=5).

Periode Pemeriksaan	Jenis sel			
	Parabasal	Intermediet	Superfisial	Kornifikasi
Minggu ke-3	27,60 \pm 16,68 ^a	58,20 \pm 10,31 ^a	14,20 \pm 7,98 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a
Minggu ke-6	36,80 \pm 24,03 ^a	48,00 \pm 16,38 ^a	15,00 \pm 10,51 ^a	0,20 \pm 0,45 ^a
Minggu ke-8 ⁺	23,40 \pm 23,14 ^a	31,20 \pm 16,33 ^a	24,20 \pm 13,61 ^a	21,20 \pm 23,72 ^b

^{a,b} Rerata dengan superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda signifikan ($P < 0,05$)

fase metestrus kemudian melanjut sampai diestrus dan anestrus (Popalayah, 2013; Nalley *et al.*, 2011). Fatet *et al.*, (2011) mengemukakan bahwa persentase sel intermediet dan parabasal pada pengamatan sitologi selama kadar progesteron mengalami kenaikan selama fase luteal. Hasil pemeriksaan sitologi apus vagina kambing Bligon yang mengalami keterbatasan pakan/undernutrisi dan memiliki BCS yang rendah menunjukkan bahwa persentase sel intermediet berada pada level yang cukup tinggi (berkisar 31-58%) dan tidak mengalami perubahan selama periode observasi tersebut. Ola *et al.* (2006) menyatakan bahwa pada 90% dari 69 ekor kambing yang diperiksa sitologi apus vagina, ditemukan adanya persentase sel intermediet yang dominan pada hewan yang anestrus atau peri-pubertal. Lebih lanjut, keberadaan sel intermediet dan parabasal umumnya berada dalam fase diestrus dimana fase luteal dikontrol oleh keberadaan progesteron (Medan *et al.*, 2005; Karaca *et al.*, 2008). Besar kemungkinan kambing Bligon dengan BCS yang buruk pada kasus ini memiliki kadar progesteron yang tinggi selama periode penelitian berlangsung. Lüttgenau *et al.* (2016) menemukan adanya kadar progesteron yang tinggi pada sapi yang mengalami kehilangan bobot badan yang tinggi. Namun demikian, menurut Ola *et al.* (2006) persentase sel intermediet yang tinggi tidak hanya ditemukan pada fase non estrus, tetapi juga banyak ditemukan ketika fase estrus. Widiyono *et al.* (2011) juga menjelaskan bahwa sel intermediet mendominasi gambaran apus vagina dan tidak menunjukkan adanya perubahan selama siklus estrus.

Persentase sel superfisial dan kornifikasi pada pemeriksaan sitologik apus vagina kambing Bligon ini pada berbagai minggu ke-3 dan ke-6 berada pada kisaran 15%. Pada minggu ke-8 setelah pelaksanaan gertak birahi ditemukan adanya peningkatan sel superfisial yang tidak signifikan

menjadi 24,20% ($P > 0,05$) dan peningkatan sel kornifikasi menjadi sebesar 21,20% ($P < 0,05$). Hal ini dapat menunjukkan adanya kemungkinan peningkatan estrogen sebagai respon dari perlakuan gertak birahi tersebut. Widiyono *et al.*, (2011) menyatakan bahwa pada saat terjadinya estrus terjadi kornifikasi penuh dan sel superfisial mendominasi preparat apus vagina. Titik tertinggi persentase sel superfisial dan kornifikasi (32,25%) dilaporkan ketika estradiol mencapai puncaknya menjelang estrus. Keberadaan sel superfisial pada kambing yang mengalami siklus estrus terdapat pada fase proestrus, estrus dan awal dari metestrus (Ola *et al.*, 2006). Persentase sel superfisial yang meningkat pada fase estrus juga dilaporkan terjadi pada sapi Aceh (Siregar *et al.*, 2016). Leigh *et al.* (2010) dan Ola *et al.* (2006) menyatakan bahwa peningkatan sel yang mengalami kornifikasi adalah 10% per hari hingga 100% akan terjadi pada saat terjadinya estrus. Lebih dari itu, kambing Bligon yang mengalami undernutrisi dan memiliki BCS buruk ini pun tidak menunjukkan adanya perilaku birahi setelah perlakuan gertak birahi yang dilakukan dengan pemberian PGF2- α sebanyak 2 kali dengan jeda waktu 11 hari (Tabel 3). Temuan demikian ini kemungkinan disebabkan adanya respon sekresi hormon estrogen yang lemah pada kambing Bligon dengan undernutrisi dan kondisi tubuh yang buruk tersebut. Hal ini dipertimbangkan berdasarkan beberapa hasil penelitian pada sapi dan kambing. Penelitian pada sapi menunjukkan bahwa perilaku birahi berkorelasi kuat dengan kadar estrogen di dalam darah yang ditandai dengan kadar estrogen tertinggi pada puncak perilaku birahi (Lyimo *et al.*, 2000). Sementara itu, hasil penelitian pada kambing Kacang dan Bligon menunjukkan bahwa hewan yang tidak menampilkan perilaku birahi memiliki kadar estrogen di dalam darah yang lebih rendah dibanding hewan yang menampilkan

perilaku birahi (20-94 pg/mL vs 124-418 pg/mL) (Popalayah, 2013). Lebih lanjut, dari penelitian pada sapi juga dilaporkan bahwa hewan dengan BCS rendah memiliki aktivitas birahi yang rendah (Lüttgenau *et al.*, 2016). Demikian pula, hasil penelitian BCS pada kambing Peranakan Ettawa yang diberi perlakuan gertak birahi menunjukkan bahwa peningkatan kadar estrogen di dalam darah setelah gertak birahi pada hewan dengan BCS 2 lebih lemah dibandingkan pada kambing dengan BCS 3 (Widayati *et al.*, 2011). Dengan demikian dapat diketemukan bahwa kambing Bligon dengan kondisi tubuh yang buruk akibat pemeliharaan dengan asupan pakan (berat kering) pada level 2% bobot badan (undernutrisi) selama beberapa bulan pada kasus ini memiliki ovarium yang inaktif atau mengalami gangguan metabolisme hormonal.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil pemeriksaan nutrisi dan klinis dapat disimpulkan bahwa pemberian pakan pada level 2% dari bobot badan pada kambing Bligon betina di masa usia produktif berpotensi mengakibatkan penurunan kondisi tubuh dan fungsi ovarium.

Ucapan Terima kasih

Terima kasih disampaikan kepada Direktorat Riset dan Pengabdian kepada Masyarakat, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi, Republik Indonesia dan Universitas Gadjah Mada atas dukungan dana penelitian (Nomor Kontrak: 2670/UN1.DITLIT/DIT-LIT/LT/2019).

Daftar Pustaka

- Al-Azraqi, A.A. (2007). Effect of fasting on luteal function, leptin and steroids concentration during oestrous cycle of the goat in natural photo-status. *Anim. Reprod. Sci.* 98: 343-349.
- Dashtizadeh, M., Zamiri, M. J., Kamalzadeh, A., and Kamali, A. (2008). Effect of feed restriction on compensatory growth response of young male goats. *IJVR* 9(2): 109-120.
- Estrada-Cortés, E., Vera-Avila, H.R., Urrutia-Morales, J., Villagómez-Amezcuca, E., Jiménez-Severiano, H., Mejía-Guadarrama, C.A., Rivera-Lozano, M.T., Gámez-Vázquez, H.G., (2009). Nutritional status influences reproductive seasonality in Creole goats: 1. Ovarian activity during seasonal reproductive transitions. *Anim. Reprod. Sci.* 116: 282-290.
- Fatet, A., Bubio, M.T.P, and Leboeuf, B. (2011). Reproductive cycles of goats. *Anim Reprod Sci* 124: 211-219.
- Forcada, F. and Abecia, J.A., 2006. The effect of nutrition on the seasonality of reproduction in ewes. *Reprod. Nutr. Dev.* 46: 355-365.
- Furman M and Wade GN. (2007). Animal models in the study of nutritional infertility. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 14(6): 475-81. doi: 10.1097/MED.0b013e3282f1cb7e.
- Gallego-Calvo, L., Gatica, M.C., Guzman, J.L., dan Zaragaza, L.A. (2014). Role of body condition score and body weight in the control of seasonal reproduction in Blanca Andaluza goats. *Anim. Reprod. Sci.* 151: 157-163.
- Hartadi, H.S., Reksohadirojo, and Tillman, A.D. (2005). *Tabel Komposisi Pakan untuk Indonesia*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Jalilian, M. T., and Moeini, M. M. (2013). The effect of body condition score and body weight of sanjabi ewes on immune system, productive and reproductive performance. *Acta Agr. Slov.* 102(2): 99-106.
- Karaca, T., Arikan, S., Kalender, H., and Yoruk, M. (2008). Distribution and heterogeneity of mast cells in female reproductive tract and ovary on different days of the oestrus cycle in Angora goats. *Reprod. Domest. Anim.* 43(4): 451-456.
- Kraft, W. and Duerr, M.W. (1999). *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*, 5. Auflage. Stuttgart: Schattauer.
- Kusina, N.T., Chinuwo, T., Hamudikuwanda, H., Ndlovu, L.R. and Muzanemhano, S. (2001). Effect of different dietary energy level intakes on efficiency of estrus synchronization and fertility in Mashona goat does. *Small Rumin. Res.* 39: 283-288.

- Leigh, O. O., Raheem, A.K., and Olugbuyiro, J.A.O. (2010). Improving the reproductive efficiency of the goat: vaginal cytology and vulvar biometry as predictors of synchronized estrus/breeding time in west african dwarf goat. *Int. J. Morphol.* 28(3): 923-928.
- Lüttgenau J, Purschke S, Tsousis G, Bruckmaier RM, Bollwein H. (2016). Body condition loss and increased serum levels of nonesterified fatty acids enhance progesterone levels at estrus and reduce estrous activity and insemination rates in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 85(4): 656-63. doi: 10.1016/j.theriogenology.2015.10.003.
- Lyimo ZC, Nielen M, Ouweltjes W, Kruip TA, van Eerdenburg FJ. (2000). Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. *Theriogenology* 53(9): 1783-95. doi: 10.1016/S0093-691X(00)00314-9.
- Medan, M. S., Watanabe, G., Sasaki, K., Groome, N. P., Sharawy, S., and Taya, K. (2005). Follicular and hormonal dynamics during the estrous cycle in goats. *J. Reprod. Dev.* 51(4): 455-463
- Melesse, A., Abebe, G., Merkel, R., Goetsch, A., Dawson, L., Gipson, T., and Tilahun S. (2013). Effect of body condition score and nutritional flushing on the reproductive performances of spanish and spanish x boer crossbred does. *Ethiop. J. Agric. Sci.* 153: 141-153.
- Meydilasari, N.I., Hernawati, T., Hidanah, S., Damayanti, T., Lestari, Safitri, E., Sardjito, T., and Ismudiono. (2020). Hubungan antara skor hasil bacaan heat detector dengan gambaran sitologi vagina sebagai parameter penentuan estrus pada kambing. *Ovozoa* 9(1): 7-11.
- Moeini, M.M. Kachuee, R., and Jalilian, M.T. (2014). The effect of body condition score and body weight of merghoz goats on production and reproductive performance. *JAPSC* 3(3): 86-94.
- Nalley, W.M.M., Handarini, R., Rizal, M., Arifiantini, R.I., Yusuf, T.L dan Purwantara, B. (2011). Penemuan siklus estrus berdasarkan gambaran sitologi vagina dan profil hormon pada rusa Timor. *Jurnal Veteriner*, 12(2) : 98-106.
- Naqvi, S. M. K., Sejian, V., and Karim, S. A. (2012). Effect of feed flushing during summer season on growth, reproductive performance and blood metabolites in Malpura ewes under semiarid tropical environment. *Trop. Anim. Health Pro.* 45(1): 143-148.
- National Research Council. (2007). Nutrient requirements of small ruminants sheep, goats, cervids and new world camelids. board on agriculture and natural resources, Division on Earth and Life Studies, The National Research Council, Washington, D.C.: National Academies Press.
- Ola, S.I., Sanni, W.A., and Egbunike, G. (2006). Exfoliative vaginal cytology during the oestrous cycle of west african dwarf goats. *Reprod. Nutr. Dev.* 46: 87-95.
- Pérez-Martínez, M., Mendoza, M.E., and Romano, M.C. (1999). Exfoliative vaginal cytology and plasma levels of estrone and estradiol-17 β in young and adult goats. *Small Ruminant Res.* 33: 153-158.
- Popalayah. (2013). Efektivitas penggunaan *controlled internal drug release* (crid) terhadap respon estrus dan konsentrasi hormon estrogen pada kambing kacang dan kambing bligon. Thesis. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Purnamasari, L., Rahayu, S., and Baihaqi, M. (2018). Respon fisiologis dan palabilitas domba ekor tipis terhadap limbah tauge dan kangkung kering sebagai pakan pengganti rumput. *Journal of Livestock Science and Production* 2(1): 56-63.
- Rasad, S.D. and Setiawan, R. (2017). Cytological characteristics of mucose cell and vaginal temperature and pH during estrous cycle in local sheep. *Anim. Prod.* 19(1): 21-27.
- Santoso, S., Amrozi, A., Purwatara, B., and Herdis, H. (2014). Gambaran ultrasonografi ovarium kambing Kacang yang disinkronisasi dengan hormon prostaglandin F2 alfa

- (PGF2 α) dosis tunggal. *J. Kedokt. Hewan* 8(1): 38-42.
- Saputra D, Sumartono S, and Humaidah N. (2017). Hubungan kualitas estrus berdasarkan profil sitologi swab vagina dan gejala estrus terhadap keberhasilan IB intracervical kambing Peranakan Etawa. *Dinamika Rekasatwa* 2: 1-9.
- Schneider JE. (2004). Energy balance and reproduction. *Physiol Behav.* 81(2): 289-317. doi: 10.1016/j.physbeh.2004.02.007.
- Sejian, V., Maurya, V.P., Naqvi, S.M.K., Kumar, D., and Joshi, A. (2010). Effect of induced body condition score differences on physiological response, productive and reproductive performance of Malpura ewes kept in a hot, semi-arid environment. *J. Anim. Physiol. An. N.* 94(2): 154–161.
- Sejian, V., Bahadur, S., and Naqvi, S.M.K. (2014). Effect of nutritional restriction on growth, adaptation physiology and estrous responses in Malpura ewes. *Anim. Biol.* 64(2): 189–205.
- Siregar, T.N. (2009). Profil hormon estrogen dan progesteron pada siklus berahi kambing lokal. *J. Kedokt. Hewan* 3(2): 240-247.
- Siregar, T.N., Melia, J., Rohaya, Thasmi, C.N., Masyitha, D., Wahyuni, S., Rosa, J., Nurhafni, Panjaitan, B., and Herrialfian. (2016). Determining proportion of exfoliative vaginal cell during various stages of estrus cycle using vaginal cytology techniques in aceh cattle. *Veterinary Medicine International* 2016: Article ID 3976125, 5 pages, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3976125>.
- Suwignyo, B., Wijaya, U.A., Indriani, R., Kurniawati, A., Widiyono, I., and Sarmin. (2016). Konsumsi, pencernaan nutrisi, perubahan berat badan dan status fisiologis kambing Bligon jantan dengan pembatasan pakan. *Jurnal Sain Veteriner* 34(2): 210-219.
- Tanaka, T., Fujiwara, K. I., Kim, S., Kamomae, H., and Kaneda, Y. (2004). Ovarian and hormonal responses to a progesterone-releasing controlled internal drug releasing treatment in dietary-restricted goats. *Anim. Reprod. Sci.* 84(1–2): 135–146.
- Tanaka, T., Yamaguchi, T., Kamomae, H., and Kaneda, Y. (2003). Nutritionally induced body weight loss and ovarian quiescence in Shiba goats. *J. Reprod. Develop.* 49(1): 113–119.
- Tanjung, A.D., Setiatin, E.T., and Samsudewa, D. (2015). Level of estrogen hormone and estrus performance of different postpartum estrus of Jawarandu goat. *J. Indonesian. Trop. Anim. Agric.* 40(2): 87-92.
- Tirpan, M. B., Tekin, K., Cil, B., Alemdar, H., Inanc, M. E., Olgac, K. T., Stelletta, C., and Daskin, A. (2019). The effects of different PMSG doses on estrus behavior and pregnancy rate in Angora goats. *Animal* 13(3): 564–569. <https://doi.org/10.1017/S175173111800190>.
- Urrutia-Morales J, Meza-Herrera CA, Tello-Varela L, Díaz-Gómez MO, and Beltrán-López S. (2012). Effect of nutritional supplementation upon pregnancy rates of goats under semiarid rangelands and exposed to the male effect. *Trop. Anim. Health Prod.* 44(7):1473-1477. doi: 10.1007/s11250-012-0090-8.
- Wade, G.N., Schneider, J.E., and Li, H.Y. (1996). Control of fertility by metabolic cues. *Am. J. Physiol.* 270: E1–E19.
- Widayati, D.T., Sunendar, Suharto, K., Astuti, P., and Junaidi, A. (2011). The effect of body condition score on hormonal and vaginal histological changes during estrus of synchronized Ettawah cross bred does. *World Academy of Sciences, Engineering and Technology* 53: 408-410.
- Widiyono I, Sarmin, and Yanuartono. (2020). Influence of body condition score on the metabolic and reproductive status of adult female Kacang goats. *J. Appl. Anim. Res.* 48(1): 201-206. DOI: 10.1080/09712119.2020.1764361.
- Widiyono I., Sarmin, and Putro, P.P. (2016). Influence of feed intake on blood chemistry parameters in Kacang goats. *AIP Conference Proceedings* 1755, 140011.

- Widiyono, I. Sarmin, and Suwignyo, B. (2013). Respons metabolik terhadap pembatasan asupan pakan pada kambing Peranakan Ettawa (Metabolic responses to food restriction in ettawa crossbred goats). *Jurnal Veteriner* 14(4): 424-429.
- Widiyono, I., Putro, P.P., Sarmin, Astuti, P., and Airin, C.M. (2011). Kadar estradiol dan progesteron serum, tampilan vulva dan sitologi apus vagina kambing selama siklus berahi. *Jurnal Veteriner* 12(4). 263-268.
- Yilmaz, M., Altin, T., Karaca, O., Cemal, I., Bardakcioglu, H. E., Yilmaz, O., and Taskin, T. (2011). Effect of body condition score at mating on the reproductive performance of Kivircik sheep under an extensive production system. *Trop. Anim. Health Prod.* 43(8): 1555–1560.

Pemilihan Antibiotika pada Anjing Diare yang Terinfeksi *Escherichia coli*

Antibiotic of Choice for Diarrhea on Dogs Caused by Escherichia coli

Soedarmanto Indarjulianto^{1*}, Sitarina Widayari², Gede Bayu Suparta³, Alfari Nururrozi¹, Yanuartono¹, Slamet Raharjo¹, Yeremia Yobelanno Sitompul⁴, Ika Tidariani⁵, Anna Ekawati⁶, Mega Cahya Nalasukma⁷

¹Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Departemen Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281.

³Departemen Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Bulaksumur, Yogyakarta, 55281.

⁴Departemen Klinik, Reproduksi, Patologi, dan Nutrisi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang.

⁵Klinik Hewan Calico, Jl. Raya Tajem, Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta, 55281.

⁶Klinik Hewan Griya Satwa Lestari Jl. Kumudasmoro Utara No.17, Bongsari, Semarang Barat, Kota Semarang, Jawa Tengah 50148.

⁷Klinik Hewan Kayu Manis, Jl. Gambiran No.52, Pandeyan, Umbulharjo, Kota Yogyakarta 55161

*Email: indarjulianto@ugm.ac.id

Naskah diterima: 3 Oktober 2020, direvisi: 27 November 2020, disetujui: 8 Januari 2021

Abstract

Diarrhea is a disease that often found in dogs and *Escherichia coli* is one of the causes. The purpose of this study was to determine the diagnose of diarrhea in dogs caused by *E. coli* and determine the choice of antibiotics as therapy. A total of seven dogs with diarrhea were used in this study. All dogs were physically examined and *E. coli* was identified from stool samples. Fecal samples were inoculated on Harlequin™ *E. coli*/Coliform Medium, then incubated at 37 ° C for 24 hours. The growing colonies were observed, and Gram stained followed by examined microscopically. The bacteria tested for their sensitivity to amoxicillin, chloramphenicol, doxycycline and enrofloxacin using the diffusion disk method, and the growth zones were measured and compared with the standard. The results showed that *E. coli* was found in 3 out of 7 fecal samples of dog with diarrhea. All of the bacteria were sensitive to chloramphenicol and one isolate was sensitive to amoxicillin, but the other isolates were intermediate to resistant toward amoxicillin, doxycycline and enrofloxacin. To concluded, *E. coli* can be identified in 43% of dogs with diarrhea and chloramphenicol is the antibiotic of choice for therapy.

Keywords : antibiotic resistant; chloramphenicol; diarrhea; dog; *Escherichia coli*

Abstrak

Diare adalah penyakit yang sering ditemukan pada anjing dan *Escherichia coli* merupakan salah satu yang dianggap sebagai penyebabnya. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan diagnosis diare pada anjing yang disebabkan *E. coli* dan menentukan pilihan antibiotika yang tepat sebagai terapi. Sebanyak tujuh anjing diare digunakan dalam penelitian ini. Semua anjing diperiksa secara fisik dan *E. coli* diidentifikasi dari sampel fesesnya. Sampel feses dipupuk pada media Harlequin™ *E. coli*/Coliform Medium, diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh diamati, dicat Gram dan diperiksa di bawah mikroskop. Bakteri selanjutnya diuji sensitivitasnya terhadap amoksisilin, kloramfenikol, doksisisiklin dan enrofloksasin menggunakan metode disk difusi, zona pertumbuhan diukur dan hasilnya dibandingkan dengan standar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *E. coli* ditemukan pada 3 dari 7 sampel feses anjing diare. Semua bakteri tersebut sensitif terhadap

kloramfenikol dan 1 isolat sensitif terhadap amoksisilin, tetapi isolat lain bersifat intermedier sampai resisten terhadap amoksisilin, doksisisiklin dan enrofloxacin. Kesimpulan penelitian ini adalah *E. coli* dapat diidentifikasi dari 43% anjing diare dan kloramfenikol adalah antibiotika pilihan utama untuk terapi.

Kata kunci : anjing; diare; *Escherichia coli*; kloramfenikol; resistensi antibiotika

Pendahuluan

Diare adalah gejala gangguan gastrointestinal yang ditandai dengan peningkatan konsistensi, frekuensi dan volume feses, yang dapat diderita oleh anjing berbagai ras baik pada umur muda maupun dewasa. Gangguan atau penyakit ini seringkali mengakibatkan kematian yang cukup tinggi apabila tidak segera diobati dengan tepat sesuai penyebabnya. Diare pada anjing dapat disebabkan antara lain a) bahan non infeksius seperti intoleransi pakan, obat, dan b) agen infeksius terdiri dari virus, bakteri, parasit, dan fungi (Marks *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2014; Hsu *et al.*, 2016; Westermarck *et al.*, 2016). Salah satu bakteri penyebab diare pada anjing adalah *E. coli*, dan beberapa strain *E. coli* yang berperan sebagai penyebab diare pada hewan diduga kuat dapat menular kepada manusia (bersifat zoonosis). Jalur penularan *E. coli* antara hewan dan manusia kemungkinan dapat terjadi melalui kontak langsung, kontak dengan kotoran hewan atau melalui rantai makanan yang tercemar (Jay-Russell *et al.*, 2014). Anjing dan kucing diduga memiliki peran dalam penularan *Shiga toxin-producer Escherichia coli* (STEC) pada manusia melalui kontak dengan hewan (Beutin, 1999; Ewers *et al.*, 2010; Bélanger *et al.*, 2011; Marks *et al.*, 2011; Salehi *et al.*, 2011; Bentancor *et al.*, 2012; Torkan *et al.*, 2016; Poirel *et al.*, 2018; Dewandaru *et al.*, 2019). Oleh karena itu informasi berkaitan adanya *E. coli* pada anjing penderita diare sangat penting, dalam rangka untuk pengobatan pada anjing maupun kewaspadaan penanggulangan penularan dari hewan ke manusia.

Kasus diare sering ditemukan pada anjing dalam praktek dokter hewan di Indonesia, tetapi diagnosisnya sering hanya didasarkan pada Pemeriksaan fisik saja, sehingga informasi berkaitan dengan *E. coli* yang berperan dalam menimbulkan diare sangat minim. Diagnosis penyakit ini tidak akurat apabila ditentukan hanya berdasarkan gejala klinis, sehingga harus diteguhkan dengan identifikasi bakteri secara laboratoris. Beberapa

metode isolasi dan identifikasi adanya *E. coli* telah banyak dikembangkan termasuk metode konvensional dan molekuler (DeAlmeida *et al.*, 2012; Yousif *et al.*, 2016). Sayangnya isolasi dan identifikasi menggunakan metode konvensional memerlukan waktu beberapa hari, sehingga penentuan diagnosis dan terapi yang tepat akan tertunda. Identifikasi *E. coli* dapat juga dilakukan secara molekuler dengan metode *polymerase chain ceaction* (PCR), namun demikian metode ini membutuhkan primer spesifik dan peralatan khusus yang belum dimiliki setiap laboratorium, sehingga biaya identifikasinya masih cukup mahal. Alasan lamanya waktu dan tingginya biaya membuat identifikasi *E. coli* dengan metode tersebut sangat jarang dilakukan di dunia praktek hewan kesayangan. Beberapa media selektif telah dikembangkan, salah satunya adalah harlequin yang dalam waktu maksimal 24 jam dapat mengidentifikasi *E. coli* yang sekaligus dapat membedakan dengan coliform (Baylis dan Patrick, 1999; Dewandaru *et al.*, 2019). Penggunaan media selektif ini akan cukup membantu mempercepat penentuan diagnosis dan terapi penyakit yang disebabkan oleh *E. coli*, termasuk diare pada anjing.

Pengobatan atau terapi suatu penyakit sebaiknya didasarkan atas penyebab utamanya, dengan menggunakan obat yang sesuai. Pengobatan untuk penyakit yang disebabkan oleh bakteri adalah antibakteri atau antibiotika, dan seharusnya pemilihannya didasarkan pada hasil uji sensitifitas bakteri terhadap antibiotika. Penggunaan antibiotika yang tidak sesuai aturan akan memicu terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotika (Indarjulianto *et al.*, 2018). *Escherichia coli* dianggap sebagai reservoir utama dari gen resistensi yang mungkin bertanggung jawab atas kegagalan pengobatan, baik pada kedokteran manusia maupun kedokteran hewan. Secara umum, resistensi antimikroba pada *E. coli* dianggap sebagai salah satu tantangan utama pada manusia dan hewan yang perlu dipertimbangkan sebagai masalah kesehatan masyarakat yang

nyata (Poirel *et al.* 2018). Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan diagnosis penyakit diare anjing yang disebabkan *E. coli* dan pilihan antibiotika berdasarkan uji sensitifitasnya terhadap antibiotika. Hasil penelitian ini akan dapat dipakai sebagai dasar diagnosis dan pengobatan pada anjing penderita diare.

Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan 7 pasien anjing penderita diare yang tidak dibedakan umur, ras dan jenis kelamin. Semua anjing diperiksa secara fisik, terutama fesusnya yang berbentuk cair sebagai dasar diagnosis diare. Sampel anjing merupakan pasien yang diperiksa ke klinik hewan dan pengambilan dan pemeriksaan sampel feses telah mendapatkan persetujuan dari pemilik. Sampel feses anjing diare diambil dengan swab steril, dipupuk pada media selektif *E. coli* (Harlequin™ *E. coli*/Coliform Medium (CM), Neogen Culture Culture Media, UK) dan diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh diamati, dicat Gram, kemudian diperiksa di bawah mikroskop untuk pemeriksaan bentuk sel dan warnanya. Bakteri *E. coli* diidentifikasi berdasarkan pertumbuhan koloni pada CM dan hasil pengecatan Gram, yaitu koloni berwarna biru, sel berbentuk batang dan bersifat Gram negatif (Baylis dan Patrick, 1999). Bakteri selanjutnya diuji sensitifitasnya terhadap amoksisilin, kloramfenikol, doksisisiklin dan enrofloksasin menggunakan metode disk difusi di laboratorium Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKH-UGM, dan hasil yang didapatkan diinterpretasi berdasarkan standar seperti yang telah dikerjakan sebelumnya (Tabel 1; Fouad, 2011; Sarker *et al.*, 2014; CLSI, 2012, 2017; Indarjulianto *et al.*, 2018; Maida dan Lestari, 2019). Hasil penelitian selanjutnya dianalisis secara deskriptif.

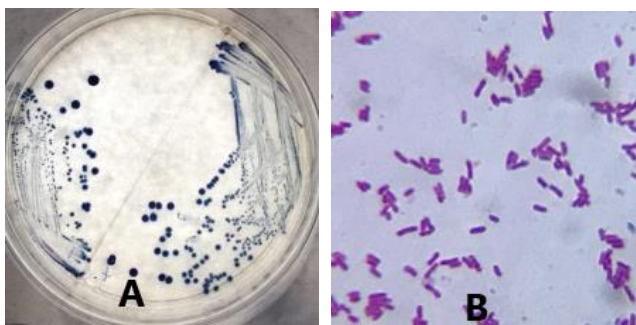
Hasil dan Pembahasan

Diagnosis diare pada anjing secara klinis sebaiknya dilanjutkan dengan peneguhan agen penyebabnya, sehingga diagnosis dan terapinya dapat ditentukan lebih tepat. Berdasarkan pemeriksaan fisik dengan feses cair, 7 ekor anjing yang digunakan di dalam penelitian ini didiagnosis diare, sehingga sampel feses diambil untuk diidentifikasi adanya *E. coli*. Hasil identifikasi bakteri terhadap 7 sampel feses tersebut didapatkan 3 dari 7 (43%) feses anjing tumbuh dengan koloni berwarna biru pada media CM. Hasil pewarnaan Gram didapatkan bakteri berbentuk batang dan bersifat Gram-negatif (Gambar 1). Berdasarkan ciri-ciri tersebut isolat diidentifikasi sebagai *E. coli* (Baylis dan Patrick, 1999; Carter dan Cole, 1990; Quinn *et al.*, 2011). Sementara itu, 4 dari 7 (57%) sampel lainnya negatif *E. coli*. Hasil ini sesuai dengan penelitian lain, yang membuktikan adanya *E. coli* dari feses anjing penderita diare (Beutin, 1999; Goffaux *et al.*, 2000; Marks *et al.*, 2011; Dewandaru *et al.*, 2019). Penggunaan media selektif CM telah dapat mempercepat identifikasi bakteri *E. coli*, yang dapat diaplikasikan pada dunia praktek dokter hewan, tetapi untuk mengetahui karakter lebih mendalam masih perlu dilakukan penelitian lanjutan. Penggunaan media Coliform ini sangat membantu terutama untuk dapat segera menentukan diagnosis kausatif penyebab diare. Selain itu, langkah ini dapat dipakai sebagai skrining awal, sehingga karakterisasi bakteri lanjutan termasuk molekuler dapat dilakukan lebih cepat (Gizzi *et al.*, 2014).

Escherichia coli yang diisolasi dari feses anjing diare pada penelitian ini kemungkinan mempunyai peranan penting sebagai penyebab utama diare, tetapi jenis faktor virulensinya belum diketahui. Berdasarkan faktor virulensi, *E. coli* patogen diklasifikasikan menjadi: 1) patotipe: *enteropathogenic E. coli* (EPEC); 2)

Tabel 1. Acuan penentuan sifat resistensi *E. coli* terhadap antibiotika

Antibiotika	Zona hambat pertumbuhan bakteri		
	Sensitif (mm)	Intermedier (mm)	Resisten (mm)
Amoksisilin (30 µg)	≥17	15-16	≤12
Kloramfenikol (30µg)	≥18	13-17	≤12
Doksisisiklin (30 µg)	≥16	13-15	≤12
Enrofloksasin (5 µg)	≥21	17-20	≤16



Gambar 1. Koloni sampel feses anjing penderita diare, yang diidentifikasi sebagai *Escherichia coli* pada media CM (A) dan hasil pengecatan Gram (B)

enterotoxigenic E. coli (ETEC); 3) *Shiga toxin-producing E. coli* (STEC); 4) *enterohemorrhagic E. coli* (EHEC)]; 5) *diffusely adherent E. coli* (DAEC); 6) *enteroinvasive E. coli* (EIEC), dan 7) *enteroaggregative E. coli* (EAEC) (Beutin, 1999; Croxen *et al.*, 2013). Menurut Marks *et al.* (2011) beberapa *E. coli* termasuk mikro flora normal dalam usus, tetapi beberapa kasus gastroenteritis terkait dengan keberadaan faktor virulensi *E. coli*. Beberapa laporan menyebutkan bahwa diare pada anjing dapat disebabkan oleh *enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) dan *E. coli* yang memiliki gen *eae* (Beutin, 1999, Goffaux *et al.*, 2000, Nakazato *et al.*, 2004; Gouveia *et al.*, 2013; Kjaergaard *et al.*, 2016; Coura *et al.*, 2018). Puño-Sarmiento *et al.* (2013) juga telah mengidentifikasi *E. coli* pada 68 ekor anjing penderita diare, yang 17 diantaranya (25,0%) mempunyai gen virulensi, yaitu gen *eaeA* (EPEC) pada 12 dari 68 (17,6%) dan gen *aggR* (EAEC) pada 5 dari 68 (7,4%). Beberapa strain *E. coli* dapat menyebabkan lesi *attachment* dan *effacing* (A/E) pada mukosa usus yang menyebabkan diare (Beutin, 1999, Goffaux *et al.*, 2000, Nakazato *et al.*, 2004). Sepuluh isolat dari 10 anjing terbukti memiliki setidaknya satu dari gen virulensi EPEC atau STEC (Salehi *et al.*,

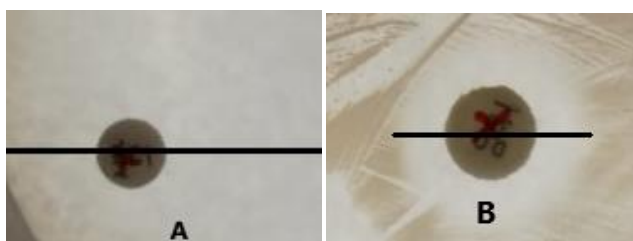
2011). Dua puluh delapan isolat aEPEC ditemukan dari 48 sampel feses *eae*-positif, 24 dari hewan diare dan 4 dari yang non-diare. Penanda fenotipe dan genotipik aEPEC yang diisolasi dari anjing penderita diare dan non-diare serupa dengan yang ditemukan pada isolat yang sembuh dari penyakit manusia (De Almeida *et al.*, 2012). Arais *et al.*, (2018) melaporkan adanya potensi risiko zoonosis karena beberapa galur aEPEC dan strain dari serotipe pada anjing mempunyai gen virulensi yang biasa ditemukan pada galur patogen manusia, yang secara filogenetik sangat dekat. Yousif *et al.* (2016) menyarankan agar anjing dan anak anjing dianggap sebagai reservoir penting bagi *E. coli* O157: H7 yang merupakan salah satu penyebab utama diare dan penyakit lain pada manusia. Oleh karena itu, karakterisasi faktor virulensi dari isolat *E. coli* yang diidentifikasi pada penelitian ini perlu diteliti lebih lanjut, baik dengan metode konvensional maupun molekuler.

Bakteri-bakteri yang telah diidentifikasi sebagai *E. coli* pada penelitian ini telah diuji sensitivitasnya terhadap antibiotika dengan hasil 1 dari 3 isolat sensitif dan 2 dari 3 isolat resisten terhadap amoksisilin. Semua *E. coli* sensitif terhadap kloramfenikol, dan bersifat intermedier dan resisten terhadap doksisisiklin dan enrofloksasin (Gambar 2; Tabel 2). Resistensi *E. coli* juga telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Puño-Sarmiento *et al.* (2013) melaporkan bahwa beberapa strain *E. coli* penyebab diare anjing menunjukkan resistensi terhadap empat atau lebih antimikroba. Beberapa isolat menunjukkan resistensi terhadap enrofloksasin atau siprofloksasin yang biasa digunakan dalam praktik kedokteran hewan, namun beberapa strain menunjukkan resistensi terhadap antimikroba yang tidak biasa dalam praktik kedokteran hewan (aztreonam, imipenem, asam nalidixic dan kloramfenikol). Ojo *et al.* (2014)

Tabel 2. Hasil uji Resistensi *Escherichia coli* isolat Anjing terhadap antibiotika

Antibiotika	Hasil zona hambat pertumbuhan bakteri dan interpretasi					
	Sensitif		Intermedier		Resisten	
	mm	Jumlah (%)	mm	Jumlah (%)	mm	Jumlah (%)
Amoksisilin	20	1 (33)	-	0	< 12	2 (67)
Kloramfenikol	>18	3 (100)	-	0	-	0
Doksisisiklin	-	0	14	2 (67%)	< 12	1 (33)
Enrofloksasin	-	0	-	0	< 16	3 (100)

melaporkan bahwa 16 dari 22 (72,7%) isolat *E. coli* dari feses anjing mempunyai sifat resisten terhadap setidaknya tiga antimikroba dari kelas yang berbeda, dan mendapatkan 18 pola resistensi antimikroba yang berbeda di antara isolat. Isolat tersebut menunjukkan resisten terhadap ampicilin (86,4%), kloramfenikol (36,4%), ciprofloksasin (4,5%), gentamisin (18,2%), kanamisin (68,2%), asam nalidiksat (22,7%), neomisin (40,9%), norfloksasin (9,1%), streptomisin (63,6%), sulfametoksazol/trimetoprim (63,6%) dan tetrasiklin (77,3%). *Escherichia coli* yang diisolasi dari diare anak-anak menunjukkan resisten terhadap ceftazidime (91%), efuroksim (100%), gentamisin (78%), ceftriaxone (91%), ofloxacin (78%) dan resisten terhadap augmentin (100%) (Ugwu *et al.*, 2017). Kibret dan Abera (2011) melaporkan bahwa dari 446 *E. coli* dari manusia menunjukkan sifat resistensi yang tinggi terhadap amoksisilin (85%) dan tetrasiklin (72,6%).



Gambar 2. Contoh hasil uji sensitifitas *E coli* yang sensitif terhadap amoksisilin (A) dan resisten terhadap doksisiklin (B)

Isolat *E. coli* pada penelitian ini masih sensitif terhadap antibiotika kloramfenikol, hal ini kemungkinan karena antibiotika ini jarang digunakan untuk pengobatan pada hewan. Berbeda dengan antibiotika lainnya seperti amoksisilin, doksisiklin dan enrofloksasin yang kemungkinan sering digunakan dalam pengobatan penyakit hewan, sehingga memungkinkan terjadinya sifat resistensi terhadap antibiotika tersebut. Pada penelitian *in vitro* sebelumnya diketahui bahwa resistensi bakteri *E. coli* terhadap oksitetrasiklin dapat terjadi karena pemberian antibiotika yang kurang tepat, baik karena ketidak tepatan dosis yang diberikan ataupun waktu pemberian yang terlalu lama (Indarjulianto *et al.*, 2018). Resistensi bakteri terhadap antibiotika dapat dikode oleh gen, baik gen yang ada di plasmid ataupun gen yang ada pada kromosom dari bakteri (Soedarmanto *et al.*, 1995; Bennett, 2008; Soedarmanto *et al.*,

2011; Poirel *et al.* 2018). Peningkatan jumlah gen resistensi telah diidentifikasi pada isolat *E. coli* selama beberapa dekade terakhir, dan banyak dari gen resistensi ini diperoleh melalui transfer gen horizontal, karena bakteri ini dapat bertindak sebagai donor maupun penerima gen resistensi (Poirel *et al.* 2018). Sifat resistensi isolat *E. coli* pada penelitian ini perlu diteliti lebih lanjut tentang kemungkinan adanya gen yang mengkode sifat resistensi yang dipunyai.

Kesimpulan

Penelitian disimpulkan bahwa *E. coli* dapat diidentifikasi dari 43% anjing diare dan kloramfenikol adalah antibiotika pilihan utama untuk terapi.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini merupakan bagian dari Penelitian PTUPT UGM No. 1824/UN1/DITLIT/DIT-LIT/LT/2018 yang didanai oleh Dirjen Dikti, Kemenristek-Dikti, Indonesia. Terimakasih kepada Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKH-UGM yang telah memberikan fasilitas laboratorium.

Daftar Pustaka

- Arais, L.R., Barbosa, A.V., Andrade, J.R.C., Gomes, T.A.T., Asensi, M.D., Aires, C.A.M., and Cerqueira, A.M.F. (2018). Zoonotic potential of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (aEPEC) isolated from puppies with diarrhoea in Brazil. *Vet Microbiol.* 227: 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.10.023>.
- Baylis, C.L., and Patrick, M. (1999). *Comparison of a range of Chromogenic media for enumeration of total Coliforms and Escherichia coli in foods*. Leatherhead International Technical Notes. No.135: 99.
- Bélanger, L., Garenaux, A., Harel, J., Boulianne, M., Nadeau, E., and Dozois, C.M. (2011). *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E. Coli*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 62(1): 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00797.x>

- Bennett, P.M. 2008. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria (Review). *British J Pharmacol.* 153: S347–S357.
- Bentancor, A., Rumi, M.V., Carbonari, C., Gerhardt, E., Larzábal, M., Vilte, D.A., Pistone-Creydt, V., Chinen, I., Ibarra, C., Cataldi, A., and Mercado, E.C. (2012). Profile of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from dogs and cats and genetic relationships with isolates from cattle, meat and humans. *Vet Microbiol.* 156(3–4): 336-342. ISSN 0378-1135. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.10.030>.
- Beutin, L. 1999. *Escherichia coli* as a pathogen in dogs and cats. *Vet Res.:* 30(2-3):285-298.
- Carter, G.R., and Cole, J.R.. (1990). *Diagnostic Procedure in Veterinary Bacteriology and Mycology*. Fifth Ed. Academic Press: California.
- Coura, F.M., Diniz, A.N., Oliveira Jr, C.A., Lage, A.P., Lobato, F.C.F., Heinemann, M.B., and Silva, R.O.S. (2018). Detection of virulence genes and the phylogenetic groups of *Escherichia coli* isolated from dogs in Brazil. *Ciência Rural*, 48(2): 1-6. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170478>.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. Approved Standard, M07-A9*. Ninth ed. CLSI, Wayne, PA, USA.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2017). *M100-Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Testing. Approved Standard, M10. 27ed.*, CLSI, Wayne, PA, USA.
- Croxen, M.A., Law, R.J., Scholz, R., Keeney, K.M., Wlodarska, M., and Finlay, B.B. (2013). Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev.* 26: 822–880.
- De Almeida, P.M.P., Arais, L.R., Andrade, J.R.C., Prado, E.H.R.B., Irino, K., and Cerqueira, A.M.F. (2012). Characterization of atypical Enteropathogenic *Escherichia coli* (aEPEC) isolated from dogs. *Vet Microbiol.* 158 (3–4): 420-424.
- Dewandaru, R.A., Indarjulianto, S., Yanuartono, Y., Nururrozi A., Purnamaningsih, H. and Rusmihayati. (2019). Diare Disebabkan Infeksi *Escherichia coli* pada Anjing. *JIPVET.* 9(2): 38- 43.
- Ewers, C., Grobbel, M., Stamm, I., Kopp, P.A., Diehl, I., Semmler, T., Fruth, A., Beutlich, J., Guerra, B., Wieler, L.H., and Guenther, S. (2010). Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. *J Antimicrob Chemother.* 65(4): 651–660. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq004>.
- Fouad, Z. (2011). *Antimicrobial Disk Diffusion Zone Interpretation Guide*. 10.13140/RG.2.2.13801.70240.
- Gizzi, A.B.R., Oliveira, S.T., Leutenegger, C.M., Estrada, M., Kozemjak, D.A. Stedile, R., Marcondes, M., and Biondo, A.W. (2014). Presence of infectious agents and co-infections in diarrheic dogs determined with a real-time polymerase chain reaction-based panel. *BMC Vet Res.* 10(23): 1-8.
- Goffaux, F., China, B., Janssen, L., and Mainil, J. (2000). Genotypic characterization of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) isolated in Belgium from dogs and cats. *Res. Microbiol.* 151: 865–871.
- Gouveia, E.M.M.F., Silva, I.S., Nakazato, G., Onselem, V.J.V., Corrêa, R.A.C., Araujo, F.R., and Chang, M.R.. (2013). Action of phosphorylated mannanoligosaccharides on immune and hematological responses and fecal consistency of dogs experimentally infected with enteropathogenic *Escherichia coli* strains. *Brazilian J Microbiol.* 44(2): 499-504. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000200027>.
- Hsu, H., Lin, T., Wu, H. Lin, L.S., Chung, C.S., Chiou, M.T., and Lin, C.N. (2016). High detection rate of dog circovirus in diarrheal dogs. *BMC Vet Res.* 12(116): 1-6. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0722-8>

- Indarjulianto S., Nururrozi, A., Yanuartono, Y., Widyarini, S., Rusmihayati, Pramono, VJ., and Wikan Sari, P. 2018. Perkembangan Resistensi *Escherichia coli* terhadap oksitetrasiklin. *J. Sain Vet.* 36 (1): 11-15.
- Jay-Russell, M.T., Hake, A.F., Bengson, Y., Thiptara, A., and Nguyen, T. (2014) Prevalence and Characterization of *Escherichia coli* and Salmonella Strains Isolated from Stray Dog and Coyote Feces in a Major Leafy Greens Production Region at the United States-Mexico Border. *PLoS ONE.* 9(11): e113433.
- Kibret, M., and Abera, B. (2011). Antimicrobial susceptibility patterns of *E. coli* from clinical sources innortheast Ethiopia. *African health sci.* 11(1-1): S40–S45.
- Kjaergaard, A.B., Carr, A.P., and Gaunt, M.C. (2016). Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) infection in association with acute gastroenteritis in 7 dogs from Saskatchewan. *Can Vet J.* 57(9): 964-968.
- Li, W., Gong, P., Ying, M., Li, J.H., Yang, J., Li, H., Yang, Z.T., Zhang, G.C., and Zhang, X.C. (2014). Pentatrachomonas hominis: first isolation from the feces of a dog with diarrhea in China. *Parasitol Res.* 113: 1795–1801. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-3825-9>.
- Maida, S., and Lestari, K.U.P. (2019). Aktivitas Antibakteri Amoksisilin Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Bakteri Gram Negatif. *Jurnal Pijar Mipa.* 14(3): 189-191.
- Marks, S.L., Rankin, S.C., Byrne, B.A., and Weese, J.S. (2011). Enteropathogenic Bacteria in Dogs and Cats: Diagnosis, Epidemiology, Treatment, and Control. *J Vet Intern Med.* 25:1195–1208.
- Nakazato, G., Gyles, C., Ziebell, K., Keller, R., Trabulsi, L.R., Gomes, T.A., Irino, K., Da Silveira, W.D., Pestana De Castro, A.F. (2004). Attaching and effacing *Escherichia coli* isolated from dogs in Brazil: characteristics and serotypic relationship to human enteropathogenic E coli (EPEC). *Vet. Microbiol.* 101: 269-277.
- Ojo, O.E., Bello, A.O., Amosun, E.A., Ajadi, R.A. (2014). Multidrug resistant ultidrug resistant verocytotoxin-producing erocytotoxin-producing *Escherichia coli* scherichia coliO157:H7 in the faeces of diarrhoeic and O157:H7 in the faeces of diarrhoeic and non-diarrhoeic dogs in Abeokuta, Nigeria on-diarrhoeic dogs in Abeokuta, Nigeria. *Vet. Archiv.* 84: 63-73.
- Poirel, L., Madec, J.Y., Lupo, A., Schink, A.K., Kieffer, N., Nordmann, P. and Schwarz, S. (2018). *Antimicrobial Resistance in Escherichia coli.* In *Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion Animals* (eds S. Schwarz, L.M. Cavaco and J. Shen). doi:10.1128/9781555819804.ch13.
- Puño-Sarmiento, J., Medeiros, L., Chiconi, C., Martins, F., Pelayo, J., Rocha, S., Blanco, J., Blanco, M., Zanutto, M., Kobayashi, R., and Nakazato, G. (2013). Detection of diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from dogs and cats in Brazil. *Vet Microbiol.* 166(3–4): 676-680.
- Quinn, P.J., Markey, B.K., Leonard, F.C., Fitzpatrick, E.S., Fanning, S., and Hartigan P.J. (2011). *Veterinary microbiology and microbial disease.* 2nd ed. Oxford, OX: John Wiley & Sons.
- Salehi Z.T., Badouei, M.A., and Gohari, I, M. 2011. Molecular detection and antibacterial susceptibility of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and shigatoxigenic *Escherichia coli* (STEC) strains isolated from healthy and diarrhoeic dogs. *Comp Clin Pathol.* 20:585–589. <https://doi.org/10.1007/s00580-010-1037-y>.
- Sarker, M.R., Islam, K.N., Huri, H.Z., Hasan, I., Hosen, B., Rahman, M., Mohammad, N., and Sarker, Z.I. (2014). Studies of the Impact of Occupational Exposure of Pharmaceutical Workers on the Development of Antimicrobial Drug Resistance. *J Occupational Health.* 56: 260–270. [10.1539/joh.14-0012-OA](https://doi.org/10.1539/joh.14-0012-OA).
- Soedarmanto, I., Kanbar, T., Ülbegi-Mohyla, H., Hijazin, M., Alber J., Lämmner, C., Akineden, O., Weiss, W., Moritz, A., and

- Zschöck, M. (2011). Genetic relatedness of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) isolated from a dog and the dog owner. *Res. Vet. Sci.* 91: e-25-e27.
- Soedarmanto, I., Schwarz, S., Liebisch, B., and Lämmle, C. (1995). Tetracycline resistance determinants among streptococci of serological group G and L. *Vet Microbiol.* 45(4): 331-337.
- Torkan, S., Bahadoranian, M.A., Khamesipour, F., and Anyanwu, M.U. (2016). Detection of virulence and antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli* isolates from diarrhoeic dogs in Iran. *Arch med vet.* 48(2): 181-190. <https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2016000200008>.
- Ugwu, M.C., Edeani, G.I., Ejikeugwu, C.P., Okezie, U., Ejiofor, S.O. (2017) Antibiotic Susceptibility Profile of *Escherichia coli* and Salmonella Causing Childhood Diarrhoea in Awka Municipality, South-eastern Nigeria. *Clin Microbiol.* 6: 277. doi:10.4172/2327-5073.1000277.
- Westermarck, E. (2016). Chronic diarrhea in dogs: what do we actually know about it? *Top Companion Anim Med.* 31(2): 78-84.
- Yousif, A.A., Hasan, M.S., and Alwan, M.J. (2016). Clinical and molecular study of *E. coli* O157:H7 isolated from Diarrheic and non-diarrheic dogs. *MRVSA.* 5(2): 1-10.
- Culp, W.T.N. (2013). Surgical Treatment of Splenic Disease. In *Small Animal Soft Tissue Surgery*. Monnet, E. (Ed). 1st ed. Wiley-Blackwell, Iowa.

Hematology Profile and Liver Histopathology in *Escherichia coli* Infected Layers Treated with Combination of *Phyllanthus* (*Phyllanthus niruri* L.) and Turmeric (*Curcuma domestica*)

Profil Hematologi dan Histopatologi Hati pada Ayam petelur yang Diinfeksi Escherichia coli dengan Terapi kombinasi Meniran (Phyllanthus niruri L.) dan Kunyit (Curcuma domestica)

Sri Hartati^{1*}, Tri Untari², Bambang Sutrisno³, Ida Fitriana⁴

¹Department of Veterinary Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55821, Indonesia

²Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55821, Indonesia

³Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55821, Indonesia

⁴Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55821, Indonesia

*Email: sri_hartati@ugm.ac.id

Naskah diterima: 7 Agustus 2020, direvisi: 18 November 2020, disetujui: 8 Januari 2021

Abstrak

Kolibasilosis merupakan penyakit disebabkan oleh *Escherichia coli* (*E. coli*) yang dapat mengakibatkan kerugian ekonomi dan masih menjadi masalah. Herbal banyak dikembangkan untuk keperluan terapi. Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan kunyit (*Curcuma domestica*) merupakan herbal yang dapat digunakan sebagai imunomodulator. Studi ini bertujuan untuk mengetahui keamanan kombinasi meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan kunyit (*Curcuma domestica*) terhadap profile darah dan gambaran histopatologi pada hati ayam petelur yang diinfeksi *E. coli*. Ayam dibagi menjadi 5 kelompok yaitu a. Kelompok ayam yang diinfeksi *E.coli* tanpa perlakuan (kontrol), b. kelompok ayam yang diinfeksi *E.coli* yang diberi perlakuan meniran dengan dosis 500 mg/kg bb. c. kelompok ayam yang diinfeksi *E.coli* yang diberi perlakuan perlakuan kunyit dengan dosis 300 mg/kg bb., d. Kelompok ayam yang diinfeksi *E.coli* yang diberi perlakuan kombinasi meniran dan kunyit dengan perbandingan 1:1, e. kelompok ayam yang diinfeksi *E.coli* yang diberi perlakuan kombinasi meniran dan kunyit dengan perbandingan 1:2. Sampel darah dan hati diambil setelah 21 hari perlakuan. Profil hematologi (hemoglobin, hematokrit, eritrosit, leukosit,) dan gambaran histopatologi hati diamati. Hasil dianalisa dengan Anova dan deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan, pada kelompok perlakuan meniran: kadar hemoglobin, hematokrit dan eritrosit lebih tinggi dibanding kelompok kontrol, walaupun tidak berbeda signifikan dengan antar kelompok. Gambaran histopatologi hati pada kelompok kontrol tanpa perlakuan menunjukkan adanya sel radang heterofil, sedangkan pada kelompok perlakuan herbal meniran dan kunyit tidak menunjukkan adanya sel radang. Kesimpulan dari penelitian menunjukkan bahwa kombinasi herbal meniran dan kunyit mempunyai efek terapi terhadap infeksi *E.coli* dan tidak berpengaruh terhadap gambaran darah maupun hati sehingga aman digunakan.

Kata kunci: ayam petelur; *Escherichia coli*; hati; hematologi; kunyit (*Curcuma domestica*); Meniran (*Phyllanthus niruri* L.);

Abstract

Colibacillosis is a disease caused by *Escherichia coli* (*Escherichia coli*) which can cause economic losses and is still a problem. Herbs have been developed for therapeutic purposes. *Phyllanthus niruri* L and *Curcuma domestica* are herbs that can be used as immunomodulators. This study aims to determine the safety of the combination of *Phyllanthus niruri* L and *Curcuma domestica* on the blood profile and histopathological features of the livers of layers infected with *E. coli*. Chickens were divided into 5 groups, namely: a. Group of chickens infected with *E. coli* without treatment, b. Group of chickens infected with *E. coli* and treated with *Phyllanthus niruri* L at a dose of 500 mg / kg BW. c. Group of chickens infected with *E. coli* and treated with turmeric (*Curcuma domestica*) at a dose of 300 mg / kg BW., d. Group of chickens infected with *E. coli* were treated with a combination of *Phyllanthus niruri* L and *Curcuma domestica* with a ratio of 1: 1, e. Groups of chickens infected with *E. coli* were treated with a combination of *Phyllanthus niruri* L and *Curcuma domestica* in a ratio of 1: 2. Blood and liver samples were taken after 21 days of treatment. Haematological profile (hemoglobin, hematocrit, erythrocyte, leukocyte) and liver histopathology were observed. The results were analyzed using ANOVA and descriptive. The results showed that the *Phyllanthus niruri* L treatment group had higher hemoglobin, hematocrit and erythrocyte levels than the control group, although not significantly different between groups. Liver histopathology in the control group without treatment showed heterophyl inflammatory cells, whereas the herbal treatment groups *Phyllanthus niruri* L did not show inflammatory cells. The conclusion from this study shows that the herbal combination of *Phyllanthus niruri* L and *Curcuma domestica* have a therapeutic effect on *E. coli* infection and does not affect the profile of the blood and liver so it is safe to use.

Key words: *Curcuma domestica*; *Escherichia coli*; hematologi; layer; liver; *Phyllanthus niruri* L,

Introduction

Poultry farms have excellent prospects for both large and small scale community farms including easy access to input production, rapid capital turnover and increasing demand for chicken meat, all of which support the development of poultry farms. In Indonesia, the carcasses per capita consumption was predicted to increase from 8.6 kg per capita in 2013 to 14.49 kg per capita in 2017. Similarly, predicted egg consumption will continue to increase over the next five years. In 2012, egg consumption was 74 kg per capita and increased to 162 kg per capita in 2017 (Suwanti, 2015).

Colibacillosis is one of the diseases that affects poultry and causes economic losses in the chicken farming industry worldwide (Kabir, 2010). In addition to causing death, it can cause growth failure and falling egg production. Incorrect antibacterial use leads to antibacterial resistant bacteria that prove difficult to treat. For in these cases, second or third line antibacterial drugs should be used. However, that treatment do not rules out the occurrence of immunity (Hasan *et al.*, 2011; Solà-Ginés *et al.*, 2015).

Pharmacologically, phyllanthus can serve as an immunomodulator (Bagalkotkar *et al.*, 2006). Kamruzzaman and Hoq (2016) have reported that phyllanthus showed some level of antimicrobial activity, particularly toward *E. coli*. Turmeric (*Curcuma domestica*) has long been used, namely as a spice in cooking, herbs and cosmetics. Turmeric has been reported to be an efficacious treatment for hemorrhoids, menstruation, cholesterol, bacterial infection and aging (Çikrikçi *et al.*, 2008). Today, the research and development of medicinal plants both at home and abroad is growing rapidly. The development of both pharmacological and phytochemical studies based on medicinal plants has been conducted by some communities with empirically tested efficacy. The results of these studies have solidified the usefulness of medicinal plants.

The number of blood cells is an indicator of production and quality. Several studies have shown that erythrocytes play a role in immune function (Tian *et al.*, 2013). Therefore, this study aimed to determine whether phyllanthus and turmeric can be used as a therapeutic alternative for colibacillois in layers.

Materials and Methods

Twenty-five layers of Day-Old-Chicken were used in this study. All layers were vaccinated following a one-week adaptation. One week after the vaccinations, the layers were infected with *E. coli* at 10^8 CFU/mL. After contracting colibacillosis, the layers were divided into the following 5 groups: 1) control group, colibacillosis group without treatment (group A); 2) colibacillosis group treated with 500 mg/kg BW of phyllanthus (group B); 3) colibacillosis group treated with 300 mg/kg BW of turmeric (group C); 4) colibacillosis group treated with phyllanthus and turmeric combination (1:1) (group D) and 5) colibacillosis group treated with phyllanthus and turmeric combination (1:2) (group E). The herbal treatments were given for 21 days.

The experiments presented here received approval from the Ethical Clearance Commission of the Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia, with number: 0006 / EC-FKH / Int. / 2017. Blood and organ samples were collected after the herbal treatment. Blood was collected through the right brachial veins. Hemoglobin (HB), hematocrit

(PCV), erythrocyte (RBC) and leukocyte (WBC) concentrations in the blood sample were assayed with a Semi-Auto Chemistry Analyzer. The layers were euthanized by intracardiac administration of saturated MgSO₄ solution (Matin *et al.*, 2017). A thorough post-mortem examination of all the dead layers was carried out. Liver samples were collected and fixed with formalin. Organ samples were processed via the paraffin-embedded method and visualized using Hematoxyllin-Eosine staining.

The hematology profile means and standard deviation (SD) were calculated using descriptive statistical procedures with the SPSS 16 program (SPSS, Chicago, USA). The liver histology samples were analyzed qualitatively.

Results and Discussion

The result of the macroscopic examination of the layers organs 21 days post-therapy showed that the control group had positive infections of *E. coli*, which continuously occurred for the following two weeks. The same results were found for the the groups given turmeric (Table 1).

Fig. 1 showed the macroscopic alterations associated with positive *E. coli* infection including

Table 1. The results of the macroscopic examination of the organs infected by *E. coli* 21 days post-treatment

No	Group A	Group B	Group C	Group D	Group E
1.	++	-	+	-	-
2.	++	-	-	-	-
3.	++	-	+	-	-
4.	++	-	+	-	-
5.	++	-	+	-	-

Note:

(+) : infected

(-) : recovered

Control group, colibacillosis group without treatment (group A), colibacillosis group treated with 500 mg/kg BW of phyllanthus (group B), colibacillosis group treated with 300 mg/kg BW of turmeric (group C), colibacillosis group treated with phyllanthus and turmeric combination (1:1) (group D) and colibacillosis group with phyllanthus and turmeric combination (1:2) (group E).

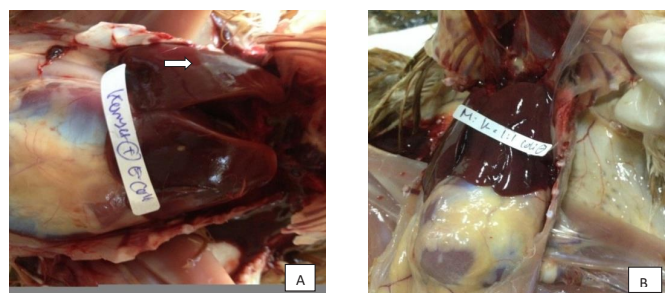


Figure 1. Macroscopic view of the liver infected by *Escherichia coli*, A: control group, positive for colibacillosis showing fibrinous perihepatitis (→) and B: colibacillosis group treated with phyllanthus (*Phyllanthus niruri*) and colibacillosis group treated with the combination herbal therapy, no lesion in liver

air sacculitis, perihepatitis, pericarditis, and even serositis. These symptoms are in accordance with Abalaka *et al.* (2017), who stated that *E. coli* can cause either local or systemic infection, including air sacculitis, fibrinous polyserositis (pericarditis, perihepatitis, and peritonitis), coligranuloma, coliseptisemia, and swollen head syndrome. Notably, the group treated with phyllanthus alone or with combination of phyllanthus and turmeric showed no sign of *E. coli* infection.

Histopathologic liver examination of the colibacillosis control group showed infiltration of heterophil cells around the hepatocytes, whereas the colibacillosis group treated with phyllanthus alone and herbal combination therapy did not showed this infiltration (Fig. 2).

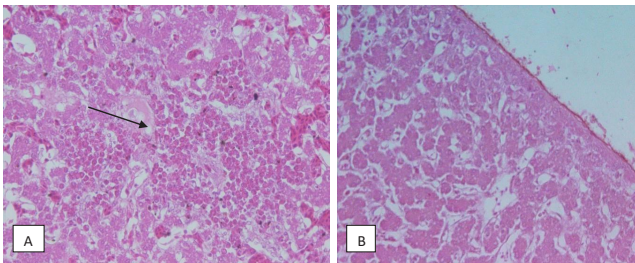


Figure 2. Histopathology of the liver infected by *Escherichia coli*, A : control group, positive for colibacillosis, showing infiltration of heterophil cells around the hepatocytes (arrow) and B: colibacillosis group treated with phyllanthus (*Phyllanthus niruri*) and colibacillosis group treated with the combination of herbal therapy, negative for colibacillosis and showing no heterophil cell reaction in the liver tissue.

Alterations associated with colibacillosis pathology include: a) acute septicemia consisting of spleen in which multiple necrosis, some lymphoid follicles related to fibrinous exudate and bacteria colony, trombifibrinuos in sinusoid

hepar, and hepatocyte necrosis exist but there is no serosal lesion; b) related to sub-acute serositis, serositis fibrinopurulent and granulomataous lesion are dominant lesis; spleen and hepar lesion not only have resemblance with acute septicemia but also involve their serosa in their functions; mesothelial cell of epicardium has necrosis and contains exudate fibrinous; submesothelial tissue has edema and infiltrating heterophil cells. In more serious cases, granulomataous lesions and eosinophilic debris come surrounded by macrophages and giant cells. In this case, adhesion in both the pericardium and epicardium frequently occurs (Nakamura *et al.*, 1985).

The macroscopic examination of the layers' organs post-treatment showed that the control group had positive infections of *E. coli*, which continuously occurred for the following two weeks. Histopathological observation of the colibacillosis group found infiltration of heterophil cells around the hepatocytes (Fig.2). The same results were also found the groups treted with turmeric (Table 1). The main chemical content of curcuminoid and essential oils in *Curcuma longa* could be antibacterial. Curcumin in *Curcuma longa* can change the permeability of the cytoplasmic membrane, which can damage the cell membrane, disrupt cell metabolism and inhibit bacterial growth (Li et al., 2013). The natural product curcumin has low bioavailability and therefore therapeutically ineffective (Shen and Ji, 2012, Hartati et al., 2018). This is in accordance with the results presented here.

Table 2 shows the hematological profile. The mean values of hemaglobin, hematocrit and erythrocyte content of the colibacillosis group

Table 2. Density average of hemoglobin, hematocrit, erythrocytes and leukocytes 21 days post-treatment

Group	Hemaglobin (HB) (gr/dL)	Hematocrit (PCV) (%)	Erythrocyte (Million/UI)	Leukocyte (Thousand/mm ³)
Group A	10.15±1.07	28.25±2.2	2.47 ± 0.16	20.9 ± 5.6
Group B	10.95±0.25	30.75± 2.2	2.64 ± 0.23	12.2 ± 1.20
Group C	10.45±0.53	30.50±2.5	2.16 ± 0.70	17.0 ± 5.56
Group D	9.84±0.41	29.00±1.2	2.32 ± 0.55	13.8 ± 6.95
Group E	9.92±0.46	29.80±1.3	2.17 ± 0.19	12.3 ± 5.42

Note:

Control group, colibacillosis group without treatment (group A), colibacillosis group treated with 500 mg/kg BW of phyllanthus (group B), colibacillosis group treated with 300 mg/kg BW of turmeric (group C), colibacillosis group treated with phyllanthus and turmeric combination (1:1) (group D) and colibacillosis group treated with phyllanthus and turmeric combination (1:2) (group E).

treated with phyllanthus (group B) were higher than the control group (group A) and the other groups. The colibacillosis group displayed higher levels of leukocytes (20.9 ± 5.6 thousand/ mm^3). Statistical analyses, however, did not reveal significant differences between the treatment groups ($P > 0.05$).

As shown in Table 2, the colibacillosis layers treated with the combination of phyllanthus and turmeric showed a higher level of hemoglobin, hematocrits and erythrocytes than the control group. Normal levels for hemoglobin, hematocrit, erythrocytes, and leukocytes for chickens are 7.0 - 13.0 g/dL (Jain, 1993), 22.0 - 35.0% (Nakamura *et al.*, 1985), 1.3 - 4.5 million/UI, and 7.0 - 32.0 thousand/mL (Li *et al.*, 2013), respectively.

Hemoglobin is an erythrocyte pigment consisting of a conjugating protein and a simple protein. The proteins are globulin and heme cells or iron atoms that give the red pigment. The synthesis of hemoglobin is influenced by the presence of nutrients in the diet. Hemoglobin serves to transport oxygen, and is therefore an indicator of oxygen adequacy. The hemoglobin levels in the group treated with turmeric were higher than the other groups due to the content of curcumin in turmeric that serves as an antioxidant and protects hemoglobin from oxidation. Oxidation reactions can damage hemoglobin (Nakamura *et al.*, 1985).

Hematocrit or packed cell volume shows the ratio of red blood cells to total blood volume (Nakamura *et al.*, 1985). Increased levels of hematocrit indicate dehydration and edema due to the release of fluid from the blood vessels. Conversely, the decrease levels of hematocrit indicate blood cell deficiency or anemia. Hence, the hematocrits values is related to the blood viscosity. Normally, the hematocrit values are positively correlated with the number of erythrocytes, erythrocyte size, and blood volume. The hematocrit value was higher in the turmeric-treated group. All of the groups had a normal mean value of hematocrit; demonstrating that the animal health status was good.

The number of blood cells is an indicator of production and quality. The number of blood cells that are more or less than normal, it can cause health problems for animals. Therefore, the number of blood cells can be used for the diagnosis,

treatment and prognosis of disease (Meyer and Harvey, 2004). The function of erythrocytes is generally related to the function of hemoglobin, which plays a role in gas exchange and oxygen distribution into the cell, which is required by the cells for metabolic processes. Several studies have shown that erythrocytes play a role in regulating the immune system, ranging from identification, adhesion, and killing of pathogens (Tian *et al.*, 2013).

The number of erythrocytes and hemoglobin levels will rise if the amount of oxygen in the blood is low. Which stimulate an increase in erythrocyte and hemoglobin levels. The formation of erythrocytes is stimulated by the hormones glycoprotein and erythropoietin found in the kidneys. Factors that affect the number of erythrocytes in the circulation include the hormone erythropoietin which serves to stimulate erythropoiesis by triggering the production of proerythroblasts from hemopoietic cells in the bone marrow. Vitamin B12 and folic acid affect erythropoiesis at the final erythrocyte maturation stage, whereas hemolysis can affect the number of erythrocytes in the circulation. The results showed that the number of erythrocyte in the turmeric-treated group was higher than the other groups. This effect may be to curcumin contained in turmeric having antioxidant activity for hemolysis and lipid peroxidation in erythrocytes induced by hydrogen peroxide as previously shown in rats.

The leukocyte content of the colibacillosis group and colibacillosis group treated with turmeric was higher than the other groups. All groups displayed a mean leukocyte count in the normal range. Normal levels of leukocytes for chickens are 7.0 - 32.0 thousand/mL (Li *et al.*, 2013). A decrease in the number of leukocytes in many species is derived from a decrease in the number of neutrophils and/ or decreases in lymphocytes count. The decrease in the number of lymphocytes is thought to be caused by the differentiation of lymphocytes into plasma cells to produce antibodies. Turmeric contains curcumin-specific compounds that can increase T cell proliferation, and can therefore boost the immune system. In addition, the content of filatin in phyllanthus also serves as an immunomodulator.

Conculsion

Based on the studies presented here, treatment of colibacillosis in layers with the combination of phyllanthus and turmeric did not affect the hematological profile (the levels of hemoglobin, hematocrit, erythrocyte and leukocyte) or the liver histology. The results suggests that the administration of herbal medicine is safe and can be used as an alternative colibacillosis therapy.

Acknowledgements

This study was fully supported by the Grant for Scientific Research from the Directorate General of Higher Education, Ministry of Research, Technology and Higher Education of Indonesia.

References

- Abalaka, S.E., Sani, N.A., Idoko, I.S., Tenuche, O.Z., Ovelowo, F.O., Eieh, S.A. and Enem, S.I. (2017). Pathological changes associated with an outbreak of colibacillosis in commercial broiler flock. *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*, 15 (3): 95-102
- Bagalkotkar, G., Sagineedu, S.R., Saad, M.S. and Stanslas, J. (2006). Phytochemicals from *Phyllanthus niruri* Linn. and their pharmacological properties: a review. *J. pharma. and pharmacol.*, 58(12): 1559-1570
- Çıkrıkçı, S., Mozioglu, E. and Yılmaz, H. (2008). Biological Activity of Curcuminoids Isolated from *Curcuma longa*. *Rec. Nat. Prod.*, 2(1): 19-24
- Hasan, B., Faruque, R., Drobni, M., Waldenstrom, J., Sadique, A., Ahmed, K.U. and Alam, M. (2011). High Prevalence of Antibiotic Resistance in Pathogenic *Escherichia coli* from Large- and Small-Scale Poultry Farms in Bangladesh. *Avian Diseases*, 55 (4): 689–692
- Hartati, S., Untari, T., Sutrisno, B., and Fitriana, I. (2018). Effects of *Phyllanthus niruri* and *Curcuma longa* on Liver and Renal Function of *Escherichia coli* Infected Layers. *Asian Journal of Poultry Science*, 12: 1-6.
- Jain, N.C. (1993). *Essential of Veterinary Hematology*. Philadelphia (US): Lea and Febriger.
- Kabir, S.M.L. (2010). Avian Colibacillosis and Salmonellosis: A Closer Look at Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, Control and Public Health Concerns. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 7: 89-114. DOI:10.3390/ijerph7010089
- Kamruzzaman, H.M. and Hoq, M.O. (2016). A review on ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological properties of *Phyllanthus niruri*. *Journal of Medical Plants Studies*, 4 (6): 173-180
- Li, C., Dong, Y., Hou, H., Li, Q., Zhang, R., Qin, R., Li, Z., Bao, Y. and Shi, W. (2013). Effects of traditional Chinese herbal medicines on blood cell count and immunity in chickens. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. Vol. 7(29), pp. 2081-2086, 2013. DOI 10.5897/ AJPP2013.3460 ISSN 1996-0816
- Matin, M.A., Islam, M.A. and Khatun, M.M. (2017). Prevalence of colibacillosis in chickens in greater Mymensingh district of Bangladesh. *Veterinary World*, 10(1): 29–33. DOI: 10.14202/vetworld.2017.29-33; PMID: PMC5301176
- Meyer, D.J. and Harvey, J.W. (2004). *Veterinary Laboratory Medicine Interpretation & Diagnosis*. Third edition. Saunders, USA.
- Nakamura, K., Maeda, M., Imada, Y., Imada, T. and Sato, K. (1985). Pathology of spontaneous colibacillosis in a broiler flock. *Vet Pathol*, 22(6): 592-597
- Shen, L. And Ji, H.F. (2012). The pharmacology of curcumin: Is it the degradation products?. *Trends in Molecular Medicine*, 18(3): 138-144
- Solà-Ginés, M., Cameron-Veas, K., Badiola, I., Dolz, R., Majó, N., Dahbi, G., Viso, S., Mora, A., Blanco, J., Piedra-Carrasco, N., González-López, J.J. and Migura-Garcia, L. (2015). Diversity of multi-drug resistant avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) causing outbreaks of *colibacillosis* in

broilers during 2012 in Spain. *PLoS One*, 10(11):e0143191. DOI: 10.1371/journal.pone.0143191.

Suwarti, S.A. (2015). Pengaruh Faktor Sosial Ekonomi Rumah Tangga Terhadap Konsumsi Produk Peternakan Di Kecamatan Kasihan Kabupaten Bantul. Tesis. Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta, pp: 2. Available at: <http://etd.ugm.ac.id/index.php?mod=download&sub=DownloadFile&act=view&typ=html&id=81258&ftyp=potongan&potongan=S2-2015-325993-chapter1.pdf> (Accessed 15 January 2018)

Tian, W.X., Sun, N., Ning, G.B., Zhang, D.J., Feng, J. And Li, F. (2013). Effects of Gallid Herpesvirus 2 Marek's Disease Challenge Virus and Attenuated Vaccine Virus CVI988/Rispens on Immune Adhesion of Erythrocytes of Chickens. *International Journal of Poultry Science* 12 (4): 217-223, 2013. ISSN 1682-8356

Tantangan dan Kendala Pengendalian *African Swine Fever* (ASF)

Challenges and Barriers to African Swine Fever (ASF) Control

Roza Azizah Primatika¹, Etih Sudarnika^{2*}, Bambang Sumiarto³, Chaerul Basri²

¹Program Studi Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan,
Institut Pertanian Bogor, Jawa Barat

²Departemen Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan,
Institut Pertanian Bogor, Jawa Barat

³Departemen Kesehatan Masyarakat Veteriner, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
Email: etih@apps.ipb.ac.id

Naskah diterima: 4 November 2020, direvisi: 17 Desember 2020, disetujui: 12 Januari 2021

Abstract

African Swine Fever (ASF) is a highly contagious hemorrhagic viral disease that attacks pigs and wild pigs causing economic losses for farms on a small and large scale. ASF outbreaks that occurred in several regions in the world have caused unrest for the livestock sector. The quick spread ASF virus has resulted in very high pig mortality. ASF virus transmission can occur through the use of swillfeeding, illegal animal products, traffic of pigs, vehicles contaminated with ASF, and the movement of wild boar. The ASF virus has three transmission cycles, namely the sylvatic, domestic, and wild boar cycles. The challenges in vaccine manufacture and development have not been found to be of particular concern to researchers to prevent the ASF virus in pigs. The obstacle faced by the government is monitoring animal products and the movement of animal traffic, while the problem with pig farming is the use of swill feeding without cooking by breeders, which is one of the factors that has not been resolved until now. ASF outbreak control and prevention that can be applied is the establishment of policies in action to break the ASF chain of transmission; securing free areas, suspected areas and infected areas; eradication in infected areas and epidemic areas; rapid response in suspected areas, infected areas, or outbreak areas; and early warning in free and infected areas.

Keywords: African swine fever; transmission route; challenges and barriers; control and prevention

Abstrak

African Swine Fever (ASF) atau demam babi afrika merupakan penyakit viral hemoragik yang sangat menular menyerang ternak babi dan babi liar menyebabkan kerugian ekonomi bagi peternakan skala kecil dan besar. Wabah ASF yang terjadi di beberapa wilayah di dunia menimbulkan keresahan bagi sektor peternakan. Penyebaran virus ASF yang sangat cepat mengakibatkan tingkat kematian babi yang sangat tinggi. Penularan virus ASF dapat terjadi melalui penggunaan *swillfeeding*, produk hewan ilegal, lalu lintas ternak babi, kendaraan yang terkontaminasi ASF, dan pergerakan babi hutan. Virus ASF mempunyai tiga siklus transmisi, yaitu siklus silvatic, domestik, dan babi hutan. Tantangan dalam pembuatan dan pengembangan vaksin hingga saat ini belum ditemukan menjadi perhatian khusus bagi peneliti untuk mencegah virus ASF pada babi. Kendala yang dihadapi oleh pemerintah adalah melakukan pengawasan produk hewan dan pergerakan lalu lintas hewan, sedangkan kendala pada peternakan babi adalah adanya penggunaan *swill feeding* tanpa pemasakan oleh peternak yang merupakan salah satu faktor yang belum dapat diatasi hingga saat ini. Pengendalian dan penanggulangan wabah ASF yang dapat diterapkan adalah penetapan kebijakan dalam tindakan memutus mata rantai penularan ASF; pengamanan daerah bebas, daerah terduga, dan daerah tertular; pemberantasan di daerah tertular dan daerah wabah; respon cepat di daerah terduga, daerah tertular, atau daerah wabah; dan peringatan dini di daerah bebas dan tertular.

Kata kunci: *African swine fever*; pengendalian dan penanggulangan, rute penularan; tantangan dan kendala

Pendahuluan

Penyakit *African Swine Fever* yang selanjutnya disingkat dengan (ASF) merupakan penyakit viral hemoragik yang sangat menular menyerang ternak babi dan babi liar dengan tingkat kematian yang sangat tinggi dengan waktu kematian 2 – 10 hari (FAO 2009) dan tidak bersifat zoonosis (Penrith 2013). Virus *African Swine Fever* (ASFV) berasal dari Sub-Sahara Afrika yang diduga berasal dari babi hutan yang telah menularkan ke babi peliharaan (Dixon *et al.*, 2019). Infeksi dengan strain yang ganas biasanya menyebabkan ASF kronis, per-akut hingga akut dengan tanda-tanda kematian mendadak, demam tinggi, serta pendarahan di kulit dan organ dalam. Babi biasanya mati dalam tiga hingga sepuluh hari setelah infeksi dengan tingkat kematian 90% atau lebih (Chenais *et al.*, 2019). Vaksin ASF sampai saat ini belum tersedia. Strategi pengendalian penyakit tergantung deteksi dini penyakit dan penerapan biosekuriti yang ketat (Yoo *et al.*, 2020). Selain sanitasi ternak, pengendalian wabah ASF dilakukan dengan memberantas ternak yang terinfeksi dan mengkarantina daerah yang terkena dampak (de Carvalho Ferreira *et al.*, 2013).

Penyakit ini menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup besar karena mengancam keamanan pangan dan perdagangan secara global dimana sektor peternakan babi merupakan peran kunci sebagai sumber protein hewani (Beltrán-Alcrudo *et al.*, 2017). Dampak dan tantangan produksi babi sangat berpengaruh kepada negara – negara pengimpor babi. Sejak kemunculan ASF di Georgia pada 2007, penyakit ini telah menyebar ke banyak negara di Eropa dan pada 2018 yang terdeteksi di Asia Timur dimana lebih dari 60 persen menyerang babi domestik (Guberti *et al.*, 2019). Di Negara berkembang, peternakan babi sebagian besar dipelihara secara tradisional, dengan skala kecil untuk memenuhi kebutuhan pangan rumah tangga. Fungsi pemeliharaan babi tidak hanya sebagai tambahan protein melainkan sumber pendapatan dengan penjualan sebagai biaya sekolah, berobat, dan investasi kecil oleh peternak (Beltrán-Alcrudo *et al.*, 2017). Dampak penyakit ini dapat dilihat dari kerugian yang dihitung berdasarkan jumlah hewan yang mati dari peternakan yang terinfeksi wabah ASF (Mebus 2020). Wabah penyakit ASF yang terjadi di beberapa Negara termasuk

Indonesia merupakan permasalahan yang belum teratasi. Tujuan dari *review* artikel ini adalah untuk mengetahui transmisi dan patogenesis, diagnosa klinis, tantangan dan kendala mengenai strategi pengendalian dan pengembangan vaksin penyakit *African Swine Fever*.

Materi dan Metode

Desain penelitian yang masuk dalam *review* artikel ini menggunakan eksperimen dan literatur studi. Jenis metode penelitian ini adalah metode terbaik dalam menjawab pertanyaan klinis di lapangan. Tipe studi yang *direview* adalah semua jenis penelitian yang membahas mengenai *African Swine Fever* (ASF). Literature review ini disusun melalui penelusuran artikel penelitian yang sudah terpublikasi. Penelusuran dilakukan menggunakan *Google search* dan *Science direct* dengan kata kunci tiap variabel yang dipilih. Intervensi yang masuk dalam kriteria inklusi adalah intervensi mengenai virus ASF, transmisi dan patogenesis ASF, diagnosa klinis ASF, strategi pengendalian dan pengembangan vaksin ASF yang dilakukan. Pencarian artikel terbatas mulai dari tahun 2010 – 2020 yang diakses fulltext dalam format pdf.

Hasil dan Pembahasan

Virus *African Swine Fever* (ASFV)

Virus *African Swine Fever* (ASFV) adalah virus besar yang berisi DNA beruntai ganda yang membentuk genom dengan panjang sekitar 190 kbp. Virus ASF berada dalam genus *Asfivirus* dari keluarga *Asfarviridae*. Virus ASF memiliki struktur icosahedral yang kompleks dikelilingi oleh lapisan membran dan memiliki diameter sekitar 200 nm. Inti virus terdiri dari nukleoprotein yang dikelilingi oleh protein matriks. Inti dan matriks dikelilingi oleh lapisan kapsid membran bagian dalam. Lapisan kapsid yang tersusun atas protein kapsid (p72) memiliki simetri ikosahedral dan dilapisi oleh membran luar (Yoo *et al.*, 2020).

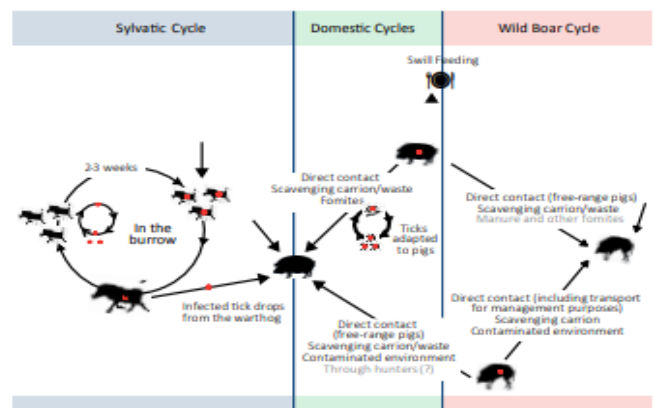
Kejadian ASF di Afrika Timur dan Selatan merupakan siklus silvatic yang melibatkan caplak genus *Ornithodoros* dan babi liar Afrika (*Phacochoerus spp.*) yang terinfeksi secara asimtomatis (Wade *et al.*, 2019). Virus ASF pada daerah endemik terdapat dua siklus yaitu siklus babi hutan dan siklus babi domestik di mana virus bertahan

pada babi domestik tanpa adanya inang vertebrata atau invertebrata (Jori *et al.*, 2013). Di Negara bagian Eropa seperti Belgia dan Federasi Rusia, virus ASF yang bersirkulasi dengan strain sangat virulen termasuk dalam genotype II (Garigliany *et al.*, 2019). Studi saat ini menunjukkan bahwa isolat ASFV yang beredar di Eropa Timur dan Federasi Rusia sangat ganas dan membunuh sebagian besar babi domestik dan babi hutan yang terinfeksi (Sánchez-Cordón *et al.*, 2018). Hingga saat ini, analisis sequencing untuk virus ASF di Indonesia telah dilakukan, namun belum dipublikasi.

Transmisi dan Patogenesis ASF

Penularan virus ASF pada babi liar atau babi domestik melalui beberapa cara yaitu dapat ditularkan melalui kontak langsung (*direct contact*) maupun tidak langsung (*indirect contact*). Virus ASF dapat ditransmisikan melalui kontak langsung dengan hewan terinfeksi dan atau produk hewan yang telah terkontaminasi virus ASF (Rev *et al.*, 2020). Fomites seperti pakaian, truk pengangkut, atau pakan persediaan menjadi sumber infeksi. Caplak *Ornithodoros spp.* mempunyai peran penting dalam transmisi pada babi hutan. Caplak tersebut juga dapat berperan dalam penularan di peternakan babi di sekitarnya (Animal Health Australia 2019). Penularan dapat melalui babi yang terlihat sehat secara klinis tetapi dapat menjadi sumber infeksi baru yang akut, yang berkontribusi bertahannya virus ASF pada populasi babi dengan tingkat penularan (R_0) dalam kelompok babi di peternakan adalah sebesar 0,3 (Eblé *et al.*, 2019). Estimasi laju transmisi penularan berkisar antara 0,45 hingga 3,63 per hari yang ditentukan berdasarkan periode infeksi minimum dan maksimum, untuk mengetahui perhitungan babi yang terinfeksi secara persisten. Sementara periode infeksi minimum berkisar antara 6 hingga 7 hari, rata-rata periode infeksi maksimum berkisar antara sekitar 20 hingga hampir 40 hari (de Carvalho Ferreira *et al.*, 2013). Selain itu, penelitian menunjukkan siklus transmisi antara babi liar dan babi peliharaan adalah siklus penting untuk penyebaran dan pemeliharaan ASFV dalam populasi babi, sementara caplak adalah reservoir alami penting yang dapat menyebarkan dan memelihara ASFV pada populasi babi liar (Alkhamis *et al.*, 2018)

we investigated the evolutionary epidemiology of ASF virus. Transmisi virus ASF juga dapat dibawa oleh manusia sebagai pembawa virus ke peternakan babi domestik selain populasi babi hutan dan habitatnya (Chenais *et al.*, 2019). Hasil ekskresi pada babi yaitu urine dan feses juga dapat menjadi rute penting dalam penularan ASF (Davies *et al.*, 2017). Terdapat tiga siklus dalam transmisi virus ASF, yaitu siklus sylvatic, siklus domestic, dan siklus babi hutan. Penularan dari siklus sylvatic (babi liar Afrika) ke siklus domestik (babi peliharaan) terjadi melalui transmisi tidak langsung oleh caplak. Demikian juga penularan yang terjadi pada babi hutan, dimana babi hutan yang terinfeksi ASF masuk hingga pekarangan peternakan babi peliharaan dan terjadi kontak langsung dengan babi peliharaan tersebut (Beltran-Alcrudo *et al.*, 2017). Siklus transmisi ASF dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Siklus transmisi virus ASF (Sumber : FAO 2017)
Jalur penularan ASF melalui inhalasi dan ingesti disajikan pada Gambar 2.

Jalur penularan ASF melalui inhalasi dan ingesti disajikan pada Gambar 2.

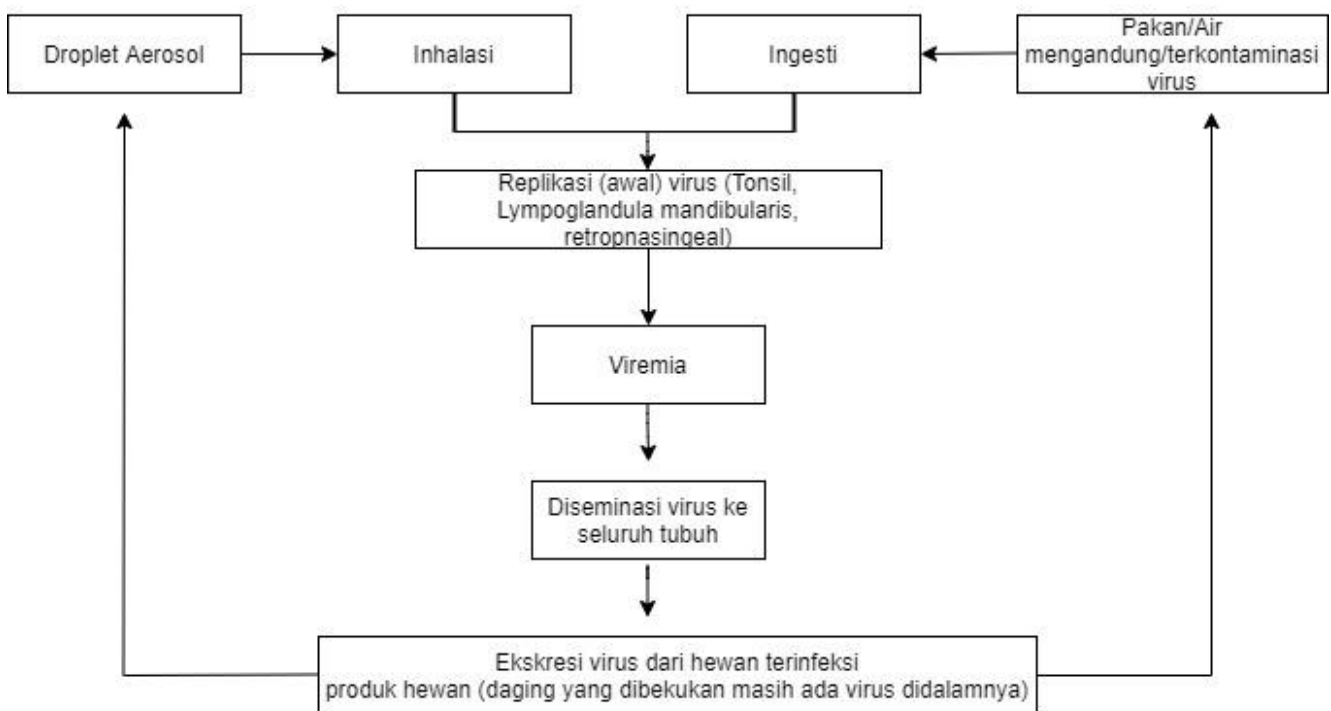
Penelitian ASF pada babi yang ditantang dengan virus ASF strain ganas didapatkan bahwa timbulnya tanda-tanda klinis terjadi antara 1 dan 7 hari pasca inokulasi (dpi) hingga terjadi kematian dengan durasi 4-11 hari. Viremia pertama kali terdeteksi antara 4 dan 5 dpi pada semua kelompok inokulasi sedangkan ASFV yang keluar dari rongga hidung dan amandel pertama kali terdeteksi pada 3-9 dpi. *Intramuscular* (IM) dan kontak langsung/*direct contact* (DC) adalah mode infeksi yang paling konsisten. Inokulasi *intranasopharyngeal* (INP) menghasilkan perkembangan penyakit yang paling konsisten

(Howey *et al.*, 2013). Penularan dapat terjadi melalui kontak tidak langsung dengan hewan yang terinfeksi, yaitu melalui ekskresi darah yang dikeluarkan oleh hewan yang terinfeksi terutama babi hutan. Selain itu, bangkai hewan terinfeksi dapat menularkan virus ASF karena virus ASF sangat resisten dan dapat bertahan lama di bangkai terutama pada suhu rendah (EFSA 2015). Produk hewan dapat membawa virus ASF walaupun dengan cara pembekuan pada daging babi mentah beku, virus ASF dapat bertahan hingga 118 hari (Mazur-Panasiuk *et al.*, 2019).

Mekanisme pathogenesis ASFV dalam tubuh babi memiliki pengaruh yang cukup signifikan. Penelitian yang dilakukan menyebutkan bahwa ekspresi diferensial gen menunjukkan bahwa ASFV dapat menghindari respons imun bawaan dan adaptif dengan (i) menghambat pemrosesan dan presentasi gen *Major Histocompatibility Complex* (MHC) Kelas II, (ii) menghindari sel efektor yaitu sel T sitotoksik (CD8 + T) dan perangkap ekstra-seluler neutrofil melalui penurunan ekspresi dari neutrofil/CD8 + T chemokine perekrut sel efektor, (iii) menekan aktivasi makrofag M1, (iv) menginduksi sitokin penekan kekebalan, dan (v) menghambat proses autofag makrofag dan apoptosis (Zhu *et al.*, 2019).

Diagnosa Klinis ASF

Gejala klinis pada babi yang menderita ASF dapat dibagi menjadi 4 tahap, yaitu per akut, akut, sub akut, dan kronis. Gejala klinis per akut ditandai dengan demam tinggi (41-42°C), kehilangan nafsu makan dan tidak aktif, kematian mendadak mungkin terjadi dalam 1-3 hari sebelum timbulnya tanda klinis. Gejala klinis akut di tandai jika setelah masa inkubasi 4-7 hari (jarang, hingga 14 hari), hewan menunjukkan demam 40-42°C dan kurang nafsu makan; hewan-hewan terlihat mengantuk dan lemah, berbaring dan meringkuk serta menunjukkan peningkatan laju pernapasan, kematian sering terjadi di dalam 6-9 hari untuk strain yang sangat virulen, atau 11-15 hari untuk isolat yang cukup virulen. Gejala subakut disebabkan oleh isolat yang cukup virulen dan dapat terjadi pada daerah endemik. Babi biasanya mati dalam 7-20 hari, dengan tingkat kematian mulai dari 30 hingga 70 persen. Fluktuasi demam, disertai oleh depresi dan kehilangan nafsu makan, juga biasa terjadi, kesakitan pada waktu berjalan dan sendi bengkak dengan akumulasi cairan dan fibrin, tanda-tanda respirasi dan pneumonia, serta keguguran pada babi betina. Gejala kronis sering mengakibatkan tingkat kematian yang biasanya kurang dari 30 persen. Bentuk kronis berasal dari



Gambar 2. Alur jalur penularan ASF (Guinat *et al.* 2016)

Tabel 1. Mekanisme virus African Swine Fever (W. Antin 2020)

Virus + respon imun = pathogenesis → gejala klinis + pemeriksaan laboratorium + temuan patologis		
Virus African Swine Fever (ASFV)	Aksi	Efek
- Monosit	- Kerusakan monosit/makrofag dan sel turunannya	- Proses inflamasi parah
- Megakariosit komponen seluruh darah lainnya	- Menekan pelepasan materi anti inflamasi	- Apoptosis limfosit
- Sel epitel, endotel	- Pelepasan materi pro inflamasi	- Vasodilatasi, meningkatnya permeabilitas vascular yaitu hiperemi, edema, hemoragi
	- Status prokoagulan dan materi pembentuk asam/ Potential Acid Forming (PAF)	- Gangguan hemostatis/koagulasi
	- Penurunan produksi trombosit	- Kerusakan jaringan
	- Aktivasi dan kerusakan endotel, epitel	

virus yang dilemahkan secara alami. Tanda-tanda klinis mulai 14 - 21 hari setelah infeksi dengan sedikit demam, diikuti oleh gangguan pernapasan ringan dan pembengkakan sendi sedang sampai berat, serta dikombinasikan dengan area kulit memerah. Apabila babi dilakukan nekropsi tambahan, maka akan ditemukan pneumonia dengan *nekrosis caseous* di paru-paru, perikarditis fibrinosa, dan kelenjar getah bening edematosa, yang sebagian dapat berupa perdarahan (terutama kelenjar getah bening mediastinum) (Beltran-Alcrudo *et al.*, 2017).

Riwayat Kasus Wabah ASF

ASF pertama kali terjadi di Negara Kenya Afrika pada tahun 1921 yang di jelaskan bahwa penyakit ini berbeda dengan *Classical Swine Fever* (CSF) yang telah terjadi pada tahun 1830 silam di belahan bumi bagian Utara (Penrith 2013). Perkembangan penyakit ASF menular dan menyebar sangat cepat dan sangat luas karena karakteristik virus ASF sangat ganas yang dapat dibawa baik melalui kontak langsung maupun tidak langsung seperti yang telah dijelaskan. Penyebaran virus ASF dibeberapa Negara di

Tabel 2. Gejala klinis pada tubuh babi (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015)

	Per akut	Akut	Sub akut	Kronis
Demam	Tinggi	Tinggi	Sedang	Tidak teratur atau tidak ada
Trombositopenia	Tidak ada	Tidak ada	Sementara	Tidak ada
Kulit	Eritema	Eritema	Eritema	Daerah nekrotik
Kelenjar getah bening		Gastrohepatik dan ginjal dengan aspek marmer	Mayoritas kelenjar getah bening menyerupai gumpalan darah	Bengkak
Limpa		Splenomegali hiperemik	Splenomegali hiperemik parsial atau infark fokus	Diperbesar dengan warna normal
Ginjal		Perdarahan petekie, terutama di korteks	Pendarahan petekie di korteks, medula dan panggul; edema perirenal	
Paru – paru		Edema alveolar yang parah		Pleuritis dan pneumonia
Kantung empedu		Perdarahan petekie	Edema dinding	
Hati		Perdarahan pada epicardium dan endokardium	Perdarahan pada epicardium dan endokardium; hidroperikardium	Perikarditis fibrosis
Tonsil				Fokus nekrotik
Perubahan reproduksi			Keguguran	Keguguran

Dunia dilaporkan dengan tingkat kematian yang cukup tinggi. Peningkatan pola sebaran ASF pada beberapa tahun terakhir di beberapa Negara bagian di Dunia terjadi dalam kurun waktu yang sangat singkat dan mengakibatkan kerugian ekonomi peternak babi di wilayah wabah.

Perkembangan virus ASF 10 tahun terakhir dilaporkan pertama kali pada tahun 2007 yang terjadi di Caucasus Georgia (Costard *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian yang dilakukan, analisis sekuensing wabah yang terjadi di Georgia menunjukkan bahwa isolat berhubungan erat dengan isolat genotipe II, yang beredar di Mozambique, Madagaskar, dan Zambia. Penyebaran penyakit ke Georgia ditularkan melalui pakan babi yang terkontaminasi ASFV yang dibawa oleh kapal (Rowlands *et al.*, 2008). Kejadian wabah di Georgia tahun 2007 mengakibatkan penularan ke sebagian besar wilayah di Federasi Rusia hingga tahun 2012 yang menjadikan penyakit ini menjadi epidemic. Sumber penularan yang terjadi akibat adanya produk babi ilegal dari daerah yang terkontaminasi virus ASF dan berasal dari *swillfeeding* yang diberikan kepada babi peliharaan (Gogin *et al.*, 2013).

Surveilans dilakukan di dataran tinggi Tanzania sejak tahun 2010 yang mengalami kembali wabah ASF, dimana hasil yang diperoleh berdasarkan epidemiologi partisipatif eksploratori menjelaskan bahwa faktor risiko ASF meliputi sistem perdagangan dan pemasaran, sistem manajemen, dan kurangnya biosekuriti, serta masalah antropogenik (manusia), hewan dan fomite (Fasina *et al.*, 2020). Setelah wabah ASF menyebar di Negara Federasi Rusia, pada tahun 2014 terjadi kembali wabah di Negara Uni Eropa (UE) dimana peternakan dengan biosekuriti yang rendah sangat mudah terinfeksi virus ini. Tiga sifat epidemiologi ASF yang terjadi di Negara Uni Eropa ini meliputi penularan, ketahanan virus, dan tingkat fatalitas kasus yang tinggi (Chenais *et al.*, 2019). Wabah yang terjadi di Latvia pada tahun 2014 mengakibatkan kematian 32 babi peliharaan dan 217 babi hutan, dimana penularan pada babi peliharaan terjadi akibat adanya biosekuriti pada pemberian pakan yang telah terkontaminasi virus ASF. Sedangkan penularan pada babi hutan terjadi akibat memakan bangkai babi hutan yang telah terinfeksi. Prevalensi pada babi peliharaan lebih

rendah daripada babi hutan karena adanya pola biosekuriti yang berbeda (Guberti *et al.*, 2016). Banyak faktor yang mempengaruhi terjadinya ASF di Federasi Rusia dan Uni Eropa, yaitu adanya biosekuriti yang sangat rendah, pemberian *swillfeeding* secara tradisional, adanya pergerakan lalu lintas yang sulit untuk dikendalikan seperti pergerakan babi hutan, pergerakan hewan dan produk-produk hewan ilegal serta pergerakan kendaraan yang terkontaminasi atau fomites lainnya (Sa *et al.*, 2013). Pada tahun 2018, wabah ASF terjadi kembali di daerah Uni Eropa tepatnya di daerah Slovakia pada periode bulan November 2018 hingga Oktober 2019. Salah satu faktor yang mempengaruhi terjadinya wabah ini adalah adanya perubahan musim panas yang diketahui meningkatkan jumlah kejadian ASF. Pengendalian yang dilakukan pada wabah di Slovakia adalah memasang pagar agar dapat menghalangi babi hutan masuk ke peternakan babi peliharaan yang membawa virus ASF (Miteva *et al.*, 2020).

Penyebaran wabah ASF terjadi sepanjang tahun 2019 hingga tahun 2020 yang meliputi hampir wilayah di seluruh dunia meliputi daerah bagian Asia. Tahun 2019, wabah ASF terjadi di peternakan babi milik keluarga di Provinsi Hung Yen, Vietnam. Gejala yang dialami pada tahap awal wabah, 1 anak babi dan 1 betina menunjukkan kemerahan di seluruh tubuh, konjungtivitis, dan diare hemoragik serta menunjukkan anoreksia, sianosis, dan demam ($> 40,5^{\circ}\text{C}$) (Le *et al.*, 2019). Bermula kejadian wabah ASF di Vietnam, penyebaran terjadi hampir di bagian Asia yaitu Indonesia, Filipina, Timor Leste. Tahun 2019 wabah terjadi di Medan Sumatra Utara, Indonesia dengan kasus sebanyak 465 diikuti negara Filipina sebanyak 130 kasus pada 10 wilayah administratif yang berbeda (Mebus 2020). Hingga saat ini wabah masih terjadi di sebagian besar daerah Asia seperti China, Myanmar, Papua Nugini, Laos. Pada bulan Februari tahun 2020, wabah ASF terjadi di China dengan jumlah 124 wabah dan 26 wabah pada bulan maret di Negara Timor Leste. Penyebaran berlanjut di Negara Filipina pada bulan Maret 2020 dengan jumlah kasus sebanyak 69 wabah di 15 wilayah administratif yang berbeda (OIE 2020a). Pada bulan Maret hingga April 2020, Wabah diikuti di beberapa Negara di Asia Korea sebanyak 54 kasus yang menyerang

babi hutan, dan pertama kali di Negara Papua Nugini dikonfirmasi terjadi wabah ASF (Mebus 2020). Wabah ASF masih berlangsung hingga bulan Mei 2020, dimana kejadian ASF terjadi di beberapa wilayah Asia, yaitu India sebanyak 11 kasus dan Korea sebanyak 14 kasus pada babi liar (OIE 2020b). Kejadian yang belum dilaporkan hingga saat ini adalah wabah ASF di Provinsi Nusa Tenggara Timur, Indonesia yang telah terjadi pada bulan Maret 2020 hingga mencapai puluhan ribu ekor (FAO 2020a).

Strategi Pengendalian ASF

Upaya pengendalian ASF yang dapat dilakukan oleh beberapa negara adalah melakukan peningkatan karantina dan biosekuriti yang ketat, membatasi lalu lintas babi dan pengurangan populasi ternak babi yang sakit dan terpapar. Disamping penerapan biosekuriti yang baik, mengurangi kontak dengan pakan/alat yang tercemar seperti penggunaan *swill feeding* sebagai pakan ternak babi dan pengolahan limbah pesawat, serta pengetatan barang bawaan penumpang pesawat dan kapal laut perlu dilakukan (Sendow *et al.*, 2020).

Pencegahan yang dilakukan di negara Eropa, dilakukan berdasarkan pada sektor peternakan babi yang dibagi menjadi tiga sektor, yaitu peternakan komersial, non komersial, dan diliarkan. Identifikasi oleh Ahli ASF mengenai tiga sektor peternakan adalah identifikasi hewan dan catatan peternakan, penegakan hukum yang ketat terhadap larangan mencuci makanan, serta penahanan babi, sehingga tidak memungkinkan kontak langsung atau tidak langsung antara babi-babi dan/atau babi-babi hutan. Tindakan pencegahan penting lainnya untuk semua pertanian adalah pendidikan petani, pekerja, dan operator; tidak ada kontak antara petani dan staf peternakan dan babi eksternal; pembuangan bangkai, residu penyembelihan, dan sisa makanan secara tepat; pembuangan kotoran hewan dan hewan mati dengan benar, dan tidak melakukan aktivitas berburu selama 48 jam sebelumnya (memungkinkan interval 48 jam antara berburu dan bersentuhan dengan babi peliharaan). Selain itu, tindakan pencegahan yang dilakukan pada peternakan non-komersial dan liar adalah untuk meningkatkan akses peternakan ke dokter hewan dan layanan kesehatan (Jurado *et al.*, 2018).

Peningkatan biosekuriti di peternakan setelah adanya wabah di Uganda juga ditingkatkan dengan batasan yang diberikan pada zona bersih dan zona kotor. Pemisahan zona bersih dan zona kotor bertujuan untuk menghindari cemaran baik bakteri maupun virus yang berasal dari zona kotor ke zona bersih. Penyembelihan babi tidak dapat dilakukan di zona bersih dan pekerja pada penyembelihan tidak boleh melakukan pekerjaan di zona bersih (Bössfall 2015). Upaya pemberantasan yang dapat dilakukan di negara Afrika adalah dengan mengidentifikasi faktor risikonya ASF. Faktor risiko tersebut antara lain adalah populasi babi yang besar, sistem peternakan tradisional (dilepasliarkan), kurangnya biosekuriti dalam sistem peternakan semi intensif dan intensif, kurangnya organisasi dalam produksi babi dan pemasaran babi yang mengakibatkan kurangnya insentif untuk investasi dalam peternakan babi, serta manajemen ASF yang tidak efektif. Sebagian besar faktor ini terkait dengan kemiskinan, namun babi diakui sebagai spesies ternak yang dapat digunakan untuk meningkatkan mata pencaharian dan berkontribusi secara signifikan terhadap ketahanan pangan (Penrith *et al.*, 2013).

Pengelolaan pakan terkait pemberian *swill feeding* atau pakan sisa harus diberikan dengan pengolahan yang baik (Kementan 2019). Walaupun dilakukan pelarangan pemberian *swill feeding* untuk babi, namun hal ini masih dilakukan oleh peternak akibat tingkat ekonomi peternak yang rendah dan sebagai mata pencaharian peternak babi (FAO 2020b). Pengelolaan manajemen *swill feeding* yang baik meliputi adanya larangan secara hukum, adanya perijinan pada bahan-bahan aman yang teridentifikasi di *swill feeding*, proses menonaktifkan pathogen yang relevan (Penrith 2020). Penonaktifan pathogen dalam *swill feeding* dapat dilakukan dengan pengolahan limbah pakan dengan cara perebusan minimal 30 menit (Beltrán-Alcrudo 2014).

Pengembangan Vaksin Virus *African Swine Fever* (ASFV)

Virus ASF merupakan virus yang sangat virulen dan dapat mengganggu jalur signal seluler yang menghasilkan imunomodulasi, sehingga membuat pengembangan vaksin yang efektif sangat menantang. Virus ASF yang di nonaktifkan

tidak memberi perlindungan dan peran antibodi pada babi. Penggunaan vaksin memberikan tingkat perlindungan tergantung pada hewan yang divaksinasi meliputi keamanan dan efek samping vaksin. Beberapa protein virus ASF telah dikembangkan untuk menginduksi antibodi penetralisasi pada babi yang divaksin. Selain itu, strategi vaksinasi berdasarkan vaksin DNA dan protein rekombinan telah dieksplorasi, namun terjadi kegagalan. Kompleksitas partikel virus dan kemampuan virus memodulasi respons imun inang kemungkinan besar menjadi alasan kegagalan ini. Disamping itu, kultur sel permanen tidak ada yang mampu mempertahankan infeksi virus produktif oleh strain virus ASF yang virulen (Revilla *et al.*, 2018).

Keseimbangan yang tepat antara respons imun ASFV yang dimediasi antara antibodi dan sel jelas penting. Rangsangan terhadap kekebalan menjadi faktor kunci yang mempengaruhi perjalanan penyakit ASF dan tingkat antibodi yang tinggi tampaknya memiliki efek yang sangat merugikan pada hasil klinis. Jenis antibodi dapat ditentukan dengan memilih dan mengidentifikasi epitop. Epitop netralisasi dan non-netralisasi dalam antigen dapat bermanfaat untuk merancang respon imun untuk meningkatkan perlindungan pada individu. Meskipun demikian, induksi imunitas yang dimediasi sel yang kuat, seperti respons *Natural Killer* (NK) dan sel T, tampaknya tetap merupakan komponen penting untuk merancang vaksin ASFV yang aman dan berhasil (Gaudreault dan Richt 2019).

Saat ini strategi pengembangan vaksin dengan menggunakan DIVA (*Differentiating Infected from Vaccinated Animals*) untuk membedakan antara virus hasil vaksinasi dan infeksi alami virus ASF pada babi harus dilakukan secara paralel dengan pengembangan vaksin yang lainnya (Sánchez *et al.*, 2019). Selain itu, penelitian terbaru melakukan urutan genom pada babi hutan spesies warthog (*Phacochoerus africanus*) dan babi hutan (*Potamochoerus larvatus*) untuk lebih memahami mekanisme terhadap infeksi ASFV dibandingkan dengan babi domestik untuk pengembangan pembuatan vaksin (Sang *et al.*, 2020). Beberapa strategi dalam pengembangan vaksin yang dapat dilakukan adalah vaksin tidak aktif (*inactivated vaccines*), vaksin yang dilemahkan secara lang-

sung (*Live-attenuated vaccines/LAV*), Vaksin subunit (*Subunit Vaccines*), Vaksin DNA (*DNA Vaccines*), Vaksin virus-vektor hidup (*Live virus-vectored vaccines*), LAV rekombinan (Vaksin yang menghapus gen/*Gene-deleted vaccines*) (Hua-Ji 2019). *Inactivated vaccines* memiliki kelemahan dimana tidak menghasilkan kekebalan dan tidak memberikan perlindungan terhadap virus ASF bahkan dengan adanya adjuvant. Pengembangan vaksin dengan menggunakan *Live-attenuated vaccines* (LAV) akan menstimulasi imunitas seluler dan humoral bawaan dan sekunder, meskipun LAV harus dilemahkan dengan modifikasi gen virus. Vaksin subunit dikembangkan dengan mengkloning gen virus p30 dan p54 yang dikombinasikan vaksinasi babi dengan DNA yang mengkode domain ekstraseluler hemagglutinin (HA) ASFV menyebabkan perbaikan baik pada respon imun seluler maupun humoral, meskipun tidak memberikan perlindungan (Sánchez *et al.*, 2019). Vaksin DNA yang dikembangkan belum memberikan perlindungan yang baik. Sedangkan *Live virus-vectored vaccines* dengan menggunakan vector Adenovirus mempunyai perlindungan secara parsial. Pengembangan LAV rekombinan mempunyai perlindungan silang berdasarkan pada strain virulen atau isolat alami yang dilemahkan (Hua-Ji 2019).

Kesimpulan

African Swine Fever (ASF) merupakan penyakit viral hemoragik yang menyerang ternak babi dan babi liar yang sangat menular dengan tingkat mortalitas yang sangat tinggi dan menyebabkan kerugian ekonomi bagi peternak baik peternakan skala kecil maupun besar. Penularan virus ASF dapat terjadi melalui penggunaan *swill-feeding*, produk hewan ilegal, lalu lintas ternak babi, kendaraan yang terkontaminasi ASF, dan pergerakan babi hutan. Terdapat tiga siklus dalam transmisi virus ASF, yaitu siklus sylvatic, siklus domestic, dan siklus babi hutan.

Tantangan dalam pembuatan dan pengembangan vaksin hingga saat ini belum ditemukan, sehingga menjadi perhatian khusus bagi peneliti untuk mencegah virus ASF pada babi. Kendala yang dihadapi oleh pemerintah adalah melakukan pengawasan produk hewan dan pergerakan lalu lintas hewan, sedangkan kendala pada

peternakan babi adalah adanya penggunaan *swill feeding* tanpa pemasakan oleh peternak. Hal ini merupakan salah satu faktor yang belum dapat diatasi hingga saat ini. Penerapan strategi yang dapat dilakukan ketika penetapan status wabah ASF adalah berdasarkan amanat Peraturan Pemerintah No.47 tentang Pengendalian dan Penanggulangan Penyakit Hewan pasal 20 Tahun 2014. Pengendalian dan penanggulangan yang diterapkan adalah penetapan kebijakan dalam tindakan memutus mata rantai penularan ASF; pengamanan daerah bebas, daerah terduga, dan daerah tertular; pemberantasan di daerah tertular dan daerah wabah; respon cepat di daerah terduga, daerah tertular, atau daerah Wabah; dan peringatan dini di daerah bebas dan tertular.

Daftar Pustaka

- [FAO]. Food Agriculture Organization of the United Nations. 2017. African Swine Fever: Detection And Diagnosis (a manual for veterinarians). [internet]. [diacu 4 Juni 2020]. Tersedia di <http://www.fao.org/3/a-i7228e.pdf>
- [OIE]. Office International Epizooties/World Organization for Animal Health. 2020. General situation of ASF in Asia and the Pacific. [internet]. [diacu 27 Mei 2020]. Tersedia di <https://rr-asia.oie.int/en/projects/asf/situational-updates-of-asf/>
- Alkhamis MA, Gallardo C, Jurado C, Soler A, Arias M, Sánchez-Vizcaíno JM. 2018. Phylodynamics and evolutionary epidemiology of African swine fever p72-CVR genes in Eurasia and Africa. *PLoS One*. 13(2):1–18. doi:10.1371/journal.pone.0192565.
- Animal Health Australia. 2019. Disease Strategy - African swine fever. *Ausvetplan*.(March).
- Beltrán-Alcrudo D. 2014. Recommendations for the prevention and control of african swine fever in at-risk countries I.
- Beltrán-Alcrudo D, Arias M, Gallardo C, Kramer S&, Penrith ML. 2017. *African swine fever (ASF) detection and diagnosis*.
- Beltran-Alcrudo D, Arias M, Gallardo C, Kramer SA, Penrith M-L. 2017. *African swine fever (ASF) detection and diagnosis-A manual for veterinarians*. Volume ke-19.
- Bössfall C. 2015. Herd biosecurity in smallholder settings With focus of African swine fever in Uganda.
- de Carvalho Ferreira HC, Backer JA, Weesendorp E, Klinkenberg D, Stegeman JA, Loeffen WLA. 2013. Transmission rate of African swine fever virus under experimental conditions. *Vet Microbiol*. 165(3–4):296–304. doi:10.1016/j.vetmic.2013.03.026.
- Chenais E, Depner K, Guberti V, Dietze K, Viltrop A, Ståhl K. 2019. Epidemiological considerations on African swine fever in Europe 2014-2018. *Porc Heal Manag*. 5(1):1–10. doi:10.1186/s40813-018-0109-2.
- Costard S, Mur L, Lubroth J, Sanchez-vizcaino JM, Pfeiffer DU. 2013. Epidemiology of African swine fever virus. *Virus Res*. 173(1):191–197. doi:10.1016/j.virusres.2012.10.030.
- Davies K, Goatley LC, Guinat C, Netherton CL, Gubbins S, Dixon LK, Reis AL. 2017. Survival of African Swine Fever Virus in Excretions from Pigs Experimentally Infected with the Georgia 2007/1 Isolate. *Transbound Emerg Dis*. 64(2):425–431. doi:10.1111/tbed.12381.
- Dixon LK, Sun H, Roberts H. 2019. African swine fever. *Antiviral Res*. 165:34–41. doi:10.1016/j.antiviral.2019.02.018.
- Eblé PL, Hagenaaars TJ, Weesendorp E, Quak S, Moonen-Leusen HW, Loeffen WLA. 2019. Transmission of African Swine Fever Virus via carrier (survivor) pigs does occur. *Vet Microbiol*. 237(February):108345. doi:10.1016/j.vetmic.2019.06.018.
- EFSA. 2015. African swine fever. *EFSA (European Food Saf Authority) J*. 13(7). doi:10.2903/j.efsa.2015.4163.
- FAO. 2009. African swine fever General Disease Information Sheets What is African swine fever ? General Disease Information Sheets Where is the disease found ? *Anim Heal*.: 1–6.
- FAO. 2020a. ASF situation in Asia update.

- FAO. 2020b. Prevention strategies for ASF. : Chapter 4.
- Fasina FO, Kissinga H, Mlowe F, Mshang'a S, Matogo B, Mrema A, Mhagama A, Makungu S, Mtui-Malamsha N, Sallu R, *et al.*, 2020. Drivers, risk factors and dynamics of african swine fever outbreaks, southern highlands, Tanzania. *Pathogens*. 9(3):1–18. doi:10.3390/pathogens9030155.
- Garigliany M, Desmecht D, Tignon M, Cassart D, Lesenfant C, Paternostre J, Volpe R, Cay AB, van den Berg T, Linden A. 2019. Phylogeographic analysis of African swine fever virus, Western Europe, 2018. *Emerg Infect Dis*. 25(1):184–186. doi:10.3201/eid2501.181535.
- Gaudreault NN, Richt JA. 2019. Subunit vaccine approaches for African swine fever virus. *Vaccines*. 7(2). doi:10.3390/vaccines7020056.
- Gogin A, Gerasimov V, Malogolovkin A, Kolbasov D. 2013. African swine fever in the North Caucasus region and the Russian Federation in years 2007-2012. *Virus Res*. 173(1):198–203. doi:10.1016/j.virusres.2012.12.007.
- Guberti V, Khomenko S, Masiulis M, Kerba S. 2019. *African swine fever in wild boar: ecology and biosecurity*.
- Guberti V, Westergaard J, Gallardo C, Rodze I, Depner K. 2016. Research in Veterinary Science African swine fever virus introduction into the EU in 2014 : Experience of Latvia. 105:28–30. doi:10.1016/j.rvsc.2016.01.006.
- Guinat C, Gogin A, Blome S, Keil G, Pollin R, Pfeiffer DU, Dixon L. 2016. Transmission routes of African swine fever virus to domestic pigs: Current knowledge and future research directions. *Vet Rec*. 178(11):262–267. doi:10.1136/vr.103593.
- Howey EB, O'Donnell V, de Carvalho Ferreira HC, Borca M V., Arzt J. 2013. Pathogenesis of highly virulent African swine fever virus in domestic pigs exposed via intraoropharyngeal, intranasopharyngeal, and intramuscular inoculation, and by direct contact with infected pigs. *Virus Res*. 178(2):328–339. doi:10.1016/j.virusres.2013.09.024.
- Hua-Ji Q. 2019. African swine fever vaccines: Current situation and perspectives.
- Jori F, Vial L, Penrith ML, Pérez-Sánchez R, Etter E, Albina E, Michaud V, Roger F. 2013. Review of the sylvatic cycle of African swine fever in sub-Saharan Africa and the Indian ocean. *Virus Res*. 173(1):212–227. doi:10.1016/j.virusres.2012.10.005.
- Jurado C, Martínez-Avilés M, Torre AD La, Štukelj M, Ferreira HC de C, Cerioli M, Sánchez-Vizcaíno JM, Bellini S. 2018. Relevant measures to prevent the spread of African Swine Fever in the European Union Domestic Pig Sector. *Front Vet Sci*. 5(APR). doi:10.3389/fvets.2018.00077.
- Kementan. 2019. Kiat vetindo asf.
- Le VP, Jeong DG, Yoon S, Kwon H, Bich T, Trinh N, Nguyen TL, To T, Bui N, Oh J, *et al.*, 2019. Outbreak of African Swine Fever, Vietnam, 2019. 25(7):2017–2019.
- Mazur-Panasiuk N, Żmudzki J, Woźniakowski G. 2019. African swine fever virus – persistence in different environmental conditions and the possibility of its indirect transmission. *J Vet Res*. 63(3):303–310. doi:10.2478/jvetres-2019-0058.
- Mebus CA. 2020. African swine fever. *Adv Virus Res*. 35(C):251–269. doi:10.1016/S0065-3527(08)60714-9.
- Miteva A, Papanikolaou A, Gogin A, Boklund A, Bøtner A, Linden A, Viltrop A, Schmidt CG, Ivanciu C, Desmecht D, *et al.*, 2020. Epidemiological analyses of African swine fever in the European Union (November 2018 to October 2019). *EFSA J*. 18(1):1–107. doi:10.2903/j.efsa.2020.5996.
- OIE. 2020a. African Swine Fever (ASF) Report N ° 40 : March 13-26 , 2020 World Animal Health Information and Analysis Department. 1:2020.
- OIE. 2020b. African Swine Fever (ASF) Report N° 18: May 10 – 23. 1:2019.

- Penrith ML. 2013. History of “swine fever” in Southern Africa. *J S Afr Vet Assoc.* 84(1). doi:10.4102/jsava.v84i1.1106.
- Penrith ML. 2020. Management options to mitigate the risk of swill feeding. 1.
- Penrith ML, Vosloo W, Jori F, Bastos ADS. 2013. African swine fever virus eradication in Africa. *Virus Res.* 173(1):228–246. doi:10.1016/j.virusres.2012.10.011.
- Rev A, Biosci A, Dixon LK, Stahl K, Jori F, Vial L, Pfeiffer DU. 2020. African Swine Fever Epidemiology and Control. :1–26.
- Revilla Y, Pérez-Núñez D, Richt JA. 2018. African Swine Fever Virus Biology and Vaccine Approaches. *Adv Virus Res.* 100:41–74. doi:10.1016/bs.aivir.2017.10.002.
- Rowlands RJ, Michaud V, Heath L, Hutchings G, Oura C, Vosloo W, Dwarka R, Onashvili T, Albina E, Dixon LK. 2008. African swine fever virus isolate, Georgia, 2007. *Emerg Infect Dis.* 14(12):1870–1874. doi:10.3201/eid1412.080591.
- Sa M, Mur L, Marti B. 2013. African swine fever (ASF): Five years around Europe. 165:45–50. doi:10.1016/j.vetmic.2012.11.030.
- Sánchez-Cordón PJ, Montoya M, Reis AL, Dixon LK. 2018. African swine fever: A re-emerging viral disease threatening the global pig industry. *Vet J.* 233(January):41–48. doi:10.1016/j.tvjl.2017.12.025.
- Sánchez-Vizcaíno JM, Mur L, Gomez-Villamandos JC, Carrasco L. 2015. An update on the epidemiology and pathology of African swine fever. *J Comp Pathol.* 152(1):9–21. doi:10.1016/j.jcpa.2014.09.003.
- Sánchez EG, Pérez-Núñez D, Revilla Y. 2019. Development of vaccines against African swine fever virus. *Virus Res.* 265(March):150–155. doi:10.1016/j.virusres.2019.03.022.
- Sang H, Miller G, Lokhandwala S, Sangewar N, Waghela SD, Bishop RP, Mwangi W. 2020. Progress Toward Development of Effective and Safe African Swine Fever Virus Vaccines. *Front Vet Sci.* 7(February):1–9. doi:10.3389/fvets.2020.00084.
- Sendow I, Ratnawati A, Dharmayanti NI, Saepulloh M. 2020. African Swine Fever: Penyakit Emerging yang Mengancam Peternakan Babi di Dunia. *Indones Bull Anim Vet Sci.* 30(1):15. doi:10.14334/wartazoa.v30i1.2479.
- Wade A, Achenbach JE, Gallardo C, Settypalli TBK, Souley A, Djonwe G, Loitsch A, Dauphin G, Justin J, Ngang E, et al., 2019. Genetic characterization of African swine fever virus in Cameroon , 2010 – 2018. (April):2010–2018. doi:10.1007/s12275-019-8457-4.
- Yoo D, Kim H, Lee JY, Yoo HS. 2020. African swine fever: Etiology, epidemiological status in Korea, and perspective on control. *J Vet Sci.* 21(2):1–24. doi:10.4142/JVS.2020.21.E38.
- Zhu JJ, Ramanathan P, Bishop EA, O’Donnell V, Gladue DP, Borca M V. 2019. Mechanisms of African swine fever virus pathogenesis and immune evasion inferred from gene expression changes in infected swine macrophages. *PLoS One.* 14(11):1–22. doi:10.1371/journal.pone.0223955.
- W, Antin, N.Y. 2020. Perkembangan Wabah ASF : Diagnosa Klinis dan Patologis Penyakit ASF. Webinar Halovet 23 Mei 2020. [internet]. [diacu pada tanggal 23 Mei 2020].

Case Report

Anemia pada Anjing Pascaenterektomi

Anemia on Pascaenterectomy Dog

Julita Dewitri Merthayasa¹, Agustina Dwi Wijayanti², Soedarmanto Indarjulianto^{3*}, Yanuartono³,
Alfarisa Nururrozi³, Putu Devi Jayanti¹

¹Blessing Pet Care & Shop Jl. Frans Seda, Kayu Putih, Kec. Oebobo, Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur

²Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

³Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

Jalan Fauna No.2, Karangmalang, Yogyakarta 55281, Telp: (0274) 560861, 560862 Fax: (0274) 560861

*Corresponding author; Email: indarjulianto@yahoo.com

Naskah diterima: 24 April 2018, direvisi: 28 November 2020, disetujui: 2 Januari 2021

Abstract

Anemia is the occurrence of the deficiency of erythrocyte or hemoglobin or both, so the ability of blood in carrying oxygen is reduced, and it commonly happens in dogs. A 1-year old female local dog named Pogan with a history of enterectomy is examined with signs; limp, thin, decreased appetite and drinking. Physical examination results showed that the oral and eyes mucosa are anemis, dehydrated and thin. Routine hematology, total protein plasma (TPP) and albumin test gave results that the dog had hypochromic microcytic anemia, thrombocytopenia, lymphocytosis, decreased TPP and hypoalbuminemia. Based on anamnesis, physical examination and laboratory examination, the dog was diagnosed with hypochromic microcytic anemia caused by iron deficiency (Fe). The treatment consisting of the subcutaneous infection of Fe (1ml/5kg BW per day) for five days, the intravenous infusion of 128 ml human serum albumin as a supportive therapy for about four hours, and one tablet of Livron (vitamin B complex) daily for five days gave good outcomes for the dog.

Key words: dog; enterectomy; Fe deficiency; hypochromic microcytic anemia

Abstrak

Anemia adalah terjadinya defisiensi eritrosit atau hemoglobin atau keduanya hingga kemampuan darah mengangkut oksigen berkurang dan sering dijumpai pada anjing. Anjing lokal betina bernama Pogan berumur 1 tahun dengan riwayat enterektomi diperiksa dengan keluhan; lemas, kurus, nafsu makan dan minum menurun. Hasil pemeriksaan fisik; mukosa mulut dan mata anemis, dehidrasi dan kurus. Hasil pemeriksaan hematologi rutin, total protein plasma (TPP) dan albumin menunjukkan bahwa anjing mengalami anemia mikrositik hipokromik, trombositopenia, limfositosis, terjadi penurunan nilai TPP dan hypoalbuminemia. Berdasarkan anamnesa, pemeriksaan fisik dan laboratorik anjing Pogan didiagnosis menderita anemia mikrositik hipokromik yang diakibatkan oleh defisiensi zat besi (Fe). Pengobatan dengan menggunakan preparat Fe dengan dosis 1 ml/5kgbb, subcutan selama 5 hari dan terapi suportif berupa infus serum albumin manusia dengan total volume 128 ml melalui infus intravena selama ±4 jam dan Livron (Vitamin B complex) 1tab/hari, per oral selama 5 hari memberikan hasil yang baik.

Kata kunci: anemia mikrositik hipokromik; anjing; defisiensi Fe; enterektomi

Pendahuluan

Anemia adalah terjadinya defisiensi eritrosit atau hemoglobin atau keduanya hingga kemampuan darah mengangkut darah oksigen berkurang (Ovedoff, 2002). Anemia dapat diklasifikasikan menurut morfologi sel darah merah dan etiologinya. Klasifikasi anemia menurut morfologi, mikro dan makro menunjukkan ukuran sel darah merah sedangkan kromik menunjukkan warnanya (Price dan Wilson, 2006). Berdasarkan sitometrik, anemia diklasifikasikan menjadi tiga kelompok utama (Uthman, 2000), yaitu: anemia normokromik normositik (anemia akibat penyakit kronik, kerusakan sel-sel darah merah, dan perdarahan akut), anemia hipokromik mikrositik (defisiensi besi, thalasemia dan penyakit kronik), dan anemia normokromik makrositik (defisiensi vitamin B12) dan defisiensi asam folat.

Apabila ada kerusakan pada usus halus dengan derajat yang meluas misalnya akibat volvulus, strangulasi, neoplasia, intususepsi, maka harus dilakukan enterektomi secara ekstensif (pemotongan sebagian usus yang relatif panjang). Hal ini dimungkinkan untuk menghindari adanya komplikasi dan perkembangan penyakit yang lebih progresif. Enterektomi yang ekstensif akan mengakibatkan hilangnya sebagian besar lapisan endotel di mukosa usus yang berfungsi untuk aktifitas digesti, absorpsi, dan sekresi (Shrock, 1983). Enterektomi yang ekstensif juga dapat menyebabkan gangguan absorpsi nutrisi, elektrolit dan vitamin sehingga terjadi sindrom malabsorpsi yang dapat menyebabkan hipovolemik (abnormalitas volume sirkulasi pembuluh darah), dehidrasi, metabolik asidosis dan malnutrisi yang ditandai dengan kehilangan berat badan, hipoalbuminemia, defisiensi potasium, zat besi (anemia), kalsium, *zinc*, magnesium, *copper*, asam lemak, vitamin larut lemak, asam folat dan B12 (Stollman dan Neustater, 1999).

Artikel ini menjelaskan kejadian anemia dan terapinya pada anjing pascaenterektomi. Menurut Schier (2011), anemia merupakan keadaan tidak normal dan harus dicari penyebabnya. Anamnesis, pemeriksaan fisik dan, pemeriksaan laboratoris sederhana berguna dalam evaluasi penderita anemia.

Materi dan Metode

Pemeriksaan fisik pasien anjing dilakukan di Klinik Hewan Kuningan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, alat yang digunakan adalah timbangan; Stetoskop; Termometer; Sensi®Gloves Medical Latex Examination & Sensi®Mask (PT. Arista Latindo).

Uji hematologi rutin, albumin darah dan total protein dilakukan di Laboratorium Sadewa, Yogyakarta. Pemeriksaan hematologi rutin menggunakan bahan darah 1 ml dalam tabung EDTA, reagen Cellpack, Sromatolyser dan Cellclean. Pemeriksaan albumin darah dan total protein plasma menggunakan bahan sampel darah, blue tip dan yellow tip, tisu, dan reagen diasys sebagai pereaksi. Endo Vacutube Sterile plain & Vacutainer EDTA.K³ (PT. Endo, Indonesia); One Med Disposable Infusion Set, One Med Inflo IV Catheter, dan One Med Disposable Syringe (PT. Jayamas Medica Industri, Indonesia); serta Terumo Syringe With Needle (Terumo Corporation). Alat yang digunakan untuk pemeriksaan hematologi rutin adalah Sysmex KX-21. Alat yang digunakan untuk pemeriksaan kadar albumin dan total protein adalah Microlab, tabung reaksi, rak tabung reaksi, dan mikropipet.

Sinyalemen dan Anamnesis

Pasien anjing lokal betina bernama Pogan berumur 1 tahun dengan warna rambut hitam dan memiliki riwayat enterektomi telah diperiksa dengan keluhan; lemas, kurus, bulu rontok, nafsu makan dan minum menurun.

Pemeriksaan Fisik dan Laboratorik

Status present pasien adalah sebagai berikut: berat badan 4,6 kg, frekuensi pulsus 128 x/menit, frekuensi respirasi 24 x/menit, suhu tubuh 38,7°C, dan *capillary refill time* (CRT) kurang dari 2 detik, membran mukosa anemis dan turgor kulit lambat.

Diagnosis

Berdasarkan anamnesis, gejala klinis, hasil pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan hematologi rutin maka pasien didiagnosis mengalami anemia mikrositik hipokromik.

Terapi

Pasien diberi terapi dengan injeksi preparat Fe (Hematodin[®], Romindo, Indonesia) dengan dosis 1ml/5kgBB, Subcutan selama 5 hari. Pemberian infus serum albumin manusia (*Human Serum albumin 20%*[®], CSL Behring GmbH, Jerman) sebagai terapi suportif dalam mengatasi kondisi hipoalbuminemia pada pasien. Volume pemberian serum albumin manusia diadaptasi dari penelitian Hackner (2011) dan Merthayasa (2019):

$$10 \times [\text{kadar albumin yang diharapkan} - \text{kadar albumin pasien}] \times \text{BB (kg)} \times 0,35.$$

Volume Serum albumin manusia yang di dapatkan selanjutnya diencerkan dengan NaCl 0,9% dengan perbandingan 1 : 9. Pada kasus ini volume serum albumin manusia yang diberikan kepada pasien berdasarkan perhitungan diatas adalah sebanyak 12,8ml yang diencerkan dengan NaCl 0,9% sebanyak 115,2ml. Terapi suportif lainnya berupa Vitamin B complex (Livron[®], PT.Phapros, Indonesia) juga diberikan (1 x sehari, 1 tablet, per oral) diberikan selama 5 hari.

Hasil dan Pembahasan

Bedasarkan pemeriksaan laboratoris sebelum dilakukan terapi, anjing Pogan mengalami anemia mikrositik hipokromik, trombositopenia, limfositosis, terjadi penurunan nilai TPP dan nilai albumin yang dikenal dengan istilah hipoalbuminemia (Tabel 1).

Pemeriksaan fisik pasien anjing menunjukkan gejala klinis nafsu makan dan minum menurun, lemas, mukosa mulut pucat, dan kurus. Dilaporkan bahwa pasien telah menjalani operasi enterektomi sebulan sebelumnya. Menurut Shorck (1983), enterektomi akan mengakibatkan hilangnya sebagian besar lapisan endotel di mukosa usus yang berfungsi untuk aktifitas digesti, absorpsi, dan sekresi. Absorpsi adalah pemindahan air, elektrolit, vitamin dan hasil-hasil akhir pencernaan karbohidrat, lemak, protein (gula sederhana, asam-asam lemak dan asam-asam amino) melalui dinding usus ke sirkulasi darah dan limfe, yang kemudian digunakan oleh sel-sel tubuh. Kegagalan proses absorpsi dikenal dengan malabsorpsi (Sherwood, 2001). Pada kondisi malabsorpsi, nutrisi pada pakan yang dicerna tidak akan terserap sempurna. Kondisi ini dapat diidentifikasi dengan beberapa pengujian antara lain dengan hitung darah lengkap. Pada kondisi malabsorpsi akan terjadi kondisi anemia, hipoproteinemia, hipoalbuminemia, hipokalemia, hipokalsemia, hipomagnesemia, dan metabolik asidosis (Sherwood, 2001).

Pasien yang mengalami anemia biasanya akan menunjukkan gejala-gejala letargi, kelemahan, anoreksia, dyspnea, membrana mukosa menjadi pucat, penurunan hampir seluruh aktivitas. Gejala klinis tersebut merupakan gejala akut, kronis maupun keduanya (Hadler dkk., 2002). Salah satu etiologi dari anemia mikrositik hipokromik adalah defisiensi zat besi (Fe) atau dikenal dengan istilah anemia defisiensi besi (Salasia dan Hariono, 2010).

Tabel. 1. Hasil pemeriksaan hematologi rutin anjing Pogan

Parameter	Hasil		Nilai referensi*
	Sebelum	Sesudah	
Hb (g/dL)	3,4	5,9	12–18
Hematokrit (%)	11,2	21,8	37.0–55.0
Eritrosit (x10 ⁶ /mm ³)	1,92	3,38	5,5 – 8,5
Lekosit (x10 ³ /mm ³)	7900	23800	6–17
Trombosit (x10 ³ /mm ³)	151000	73000	200.000 – 500.000
MCV (fl)	58,3	64,5	60.0-77.0
MCH (pg)	17,7	17,5	19,5 – 24,5
MCHC (g/dL)	30,4	27,1	30–38
Limfosit (%)	95	90	12–30
TPP (g/dL)	4,6	5,27	6,0-7,5
Albumin (g/dL)	1,9	2,23	2,3-3,1

*Day, dkk (2000)

Anemia defisiensi besi adalah anemia yang disebabkan oleh kekurangan zat besi yang dibutuhkan untuk sintesis hemoglobin (Raspati dkk., 2005). Menurut Dallman (1996), anemia defisiensi adalah anemia akibat kekurangan zat besi sehingga konsentrasi hemoglobin menurun di bawah 95% dari nilai hemoglobin rata-rata. Hemoglobin adalah metaloprotein (protein yang mengandung zat besi) di dalam sel darah merah yang berfungsi sebagai pengangkut oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh, pada mamalia dan hewan lainnya. Hemoglobin juga pengusung karbon dioksida kembali menuju paru-paru untuk dihembuskan keluar tubuh (Dallman, 1996). Defisiensi zat besi juga ditandai oleh kadar zat besi di bawah kisaran normal 46 - 241 µg/dL (McCown dan Specht, 2011), namun pada kasus pasien ini tidak dilakukan pemeriksaan kadar zat besi (Fe) di dalam darah.

Penyerapan zat besi oleh tubuh terutama terjadi di mukosa usus duodenum sampai pertengahan jejunum (Raspati dkk., 2005). Proses terjadinya anemia defisiensi besi melalui 3 tahap yaitu: (1). Stadium I: deplesi cadangan besi yang ditandai dengan penurunan *serum ferritin* (<10-12µg/L) sedangkan pemeriksaan Hb dan zat besi masih normal. (2). Stadium II: defisiensi besi tanpa anemia terjadi bila cadangan besi sudah habis maka kadar besi didalam serum akan menurun dan kadar hemoglobin masih normal. Pemeriksaan laboratoris didapatkan penurunan *serum iron* (SI) dan saturasi transferrin, sedangkan *total iron binding capacity* (TIBC) meningkat. (3). Stadium III: anemia defisiensi besi ditandai dengan penurunan kadar Hb, MCH, MCV, MCHC pada keadaan berat, dan peningkatan kadar *free erythrocyte protoporphyrin* (FEP). Gambaran darah tepi didapatkan mikrositosis dan hipokromik (Oski dkk., 1983; Grantham, 2001). Untuk mengatasi defisiensi zat besi dalam kasus pasien ini diberikan injeksi preparat Fe 1ml/5kgBB, subcutan selama 5 hari. Pemberian injeksi zat besi biasanya bersifat kuratif dan dapat diberikan harian/mingguan (Plumb, 2008).

Hasil pemeriksaan darah pasien juga menunjukkan kadar nilai albumin di bawah batas normal atau dikenal dengan istilah hipoalbuminemia (Tabel 1). Penanganan pasien hipoalbuminemia dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu:

Menangani penyakit penyebab hipoalbuminemia, jika penyakit tersebut berhasil ditangani maka kadar albumin akan meningkat dan gangguan yang berkaitan dengan hipoalbuminemia akan hilang. Sayangnya, penyakit yang menyebabkan hipoalbuminemia biasanya sulit untuk diterapi. Pemberian nutrisi terutama yang mengandung protein sangat penting untuk perawatan pasien hipoalbuminemia. Protein akan menyediakan asam amino yang berguna untuk meningkatkan sintesis albumin. Terapi koloid dapat membantu mengatasi kondisi hipoalbuminemia, mengoptimalkan kesembuhan luka, meningkatkan motilitas dan absorpsi gastrointestinal pada hewan dengan hipoalbuminemia sedang sampai parah. Pemberian koloid dapat menjaga tekanan osmotik koloid dan mengurangi akumulasi cairan ekstravaskular. Koloid sintesis dan alami yang tersedia untuk veteriner antara lain *Hexastarch 6%*, *Dextran 70 6%*, *Human albumin 25%*, *Human albumin 12,5%*, *Human albumin 5%*, *Oxyglobin*, dan *Canine fresh-frozen plasma* (Throop, 2004). Untuk mengatasi kondisi hipoalbuminemia maka pasien diterapi menggunakan serum albumin manusia melalui infus intravena. Penggunaan pengganti albumin untuk pengobatan hipotensi, hipoalbuminemia, dan penurunan tekanan osmotik koloid didokumentasikan dengan baik pada manusia dan hewan (Dubois, 2006). Penggunaan serum albumin manusia pada anjing telah banyak dilakukan (Mazzaferro, 2002; Martin, 2004). Terapi suportif lainnya yang diberikan yaitu Livron (Vit. B complex) 1 x 1tab/hari selama 5 hari. Penggunaan vitamin B complex berguna sebagai terapi suportif, vitamin B complex berperan penting dalam membantu sistem pencernaan, produksi energi, sirkulasi, hormon dan kesehatan secara keseluruhan. Vitamin B complex larut dalam air dan tidak disimpan dalam tubuh. Oleh karena itu, pemberian harian sangat disarankan (Bellows dkk., 2012).

Terapi pada pasien ini menunjukkan hasil yang baik. Pada hari kedua nafsu makan mulai membaik, perilaku semakin aktif dan lincah, mukosa mata dan mulut normal, serta hasil pemeriksaan hematologi rutin pada hari kelima menunjukkan peningkatan pada hemoglobin, hematokrit, eritrosit, leukosit, MCV, TPP dan albumin, serta penurunan pada nilai trombosit, MCH, MCHC,

dan limfosit (Tabel 1). Agar anjing terbebas dari anemia perlu diatasi penyebab utama terjadinya anemia yang kasus pasien anjing ini diduga terjadi anemia mikrositik hipokromik akibat dari defisiensi zat besi (Fe), sehingga pemberian preparat Fe secara berkala sangat dianjurkan.

Kesimpulan

Berdasarkan pemeriksaan klinis dan laboratorik pasien anjing didiagnosa mengalami anemia mikrositik hipokromik dan kondisi hipoalbuminemia. Terapi menggunakan preparat Fe dengan dosis 1 ml/kgBB, subcutan selama 5 hari dan infus serum albumin manusia dengan total volume 128 ml memberikan hasil yang baik.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Klinik Hewan Kuningan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada dan Departemen Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada.

Daftar Pustaka

- Bellows, L., Moore, R. (2012). *Water-soluble vitamins: B-complex and vitamin C*. Fort Collins: Colorado State University.
- Day, M. J., Andrew M., Janet D. L. (2000). *Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. England : British Small Animal Veterinary Association; ISBN 0 90521439 0 Page : 316.
- Dallman PR. (1996). *Nutritional anemia. Dalam: Rudolph AM, Hoffman JIE, Rudolph CD, penyunting. Rudolphs pediatrics*. Edisi ke-20. Connecticut: Appleton and Lange hal.1176-80.
- Dubois M, Orellana-Jimenez C, Melot C, et al. (2006). *Albumin administration improves organ function in critically ill hypoalbuminemic patients: a prospective, randomized controlled pilot study*. *Crit Care Med*; 34:2536–2540.
- Grantham, M. (2001). *A review of studies on the effect of iron deficiency on cognitive development in children*. *J Nutr*. 131(1):659S-8.
- Hackner, G. S. (2011). *Plasma And Albumin Transfusions: Indications And Controversies*. Cornell University Veterinary Specialists.
- Hadler, Juliono, Y., Sigulem, D. M. (2002). *Anemia in infancy: etiology and prevalence*. *JPediatr*. 278(1):321-6.
- Mazzaferro EM, Rudloff E, Kirby R. (2002). *The role of albumin replacement in the critically ill veterinary patient*. *J Vet Emerg Crit Care*; 12:113–128.
- McCown, J.L., Specht, A. J. (2011) Iron homeostasis and disorders in dogs and cats: a review. *J Am Anim Hosp Assoc* 47(3):151-160
- Oski, F. A, Honing, A. S., Helu B, Howanitz, P. (1983). Effect of iron therapy on behavior performance in non anemic, iron- deficient infants. *Pediatric*. 71(1):877-80.
- Ovedoff, D. (2002). *Kapita Selekt Kedokteran*, Edisi revisi, hal 150-153, Hendarto Natadidjaja (eds), Fakultas Kedokteran, Universitas Tri Sakti, Jakarta.
- Merthayasa, J.D., Jayanti, P.D., Indarjulianto, S. Permana, R.H., Destinanda, N.L. dan Wijayanti, A.D. (2019). Pengaruh Pemberian Serum Albumin Manusia terhadap Kadar Albumin dalam Darah pada Anjing dengan status Hipoalbuminemia. *Jurnal Sain Vet*. 37(1) 34-40.
- Price, S.A., dan Wilson, L.M. (2006). *Patofisiologi, Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit, Edisi 6, hal. 1271*; Huriawati H, Natalia S, Pita Wulansari, Dewi Asih (eds), Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta.
- Plumb, D.C. (2008). *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. 6th ed. Ames, Iowa: Blackwell Publ. pp:329–331
- Raspati H., Reniarti L., Susanah S. (2005). Anemia defisiensi besi. Dalam: Permono HB, Sutaryo, Ugrasena IDG, Windiastuti E, Abdul salam M, penyunting. *Buku ajar hematologi Onkologi Anak*. Jakarta: BPIDAI. hal.30-43.
- Salasia, S. I.O dan Hariono Bambang. (2010). *Patologi Klinik Veteriner Kasus Patologi Klinis*. Yogyakarta: Samudra Biru. Hal 35-41.

- Schrier, S. L. (2011). Approach to the adult patient with anemia. diakses tanggal 3 Maret 2018. Tersedia dari: www.UpToDate.com
- Sherwood L. (2001). *Fisiologi Manusia : Dari Sel ke Sistem*, Alih Bahasa : Brahm, V.P., editor, Beatrica TS. 2nd ed., Jakarta. EGC.
- Shrock, T. R. (1983). *Hand book of Surgery*, Jones Medical Publications : 258-259
- Stollman, N.H., Neustater, B.R. (1999). *Clinical Practice of Gastroenterology*, Volume one, Philadelphia. PA: Current Medicine 507-516.
- Throop, J.L., Bingaman S, Huxley V. 2004. *Differences between human and other mammalian albumins raises concerns over the use of human serum albumin in the dog.* J Vet Intern Med;18(3):439
- Uthman, O. E. (2000). *Understanding Anemia*. USA: University Press of Mississippi. <http://web2.airmail.net/uthman/anemia/anemia.html>, tanggal akses : 3 Maret 2018.

Pengaruh Pemberian GnRH pada Sapi Potong yang Mengalami Kawin Berulang

Effect of GnRH Administration in Beef Cows with Repeat Breeding

Surya Agus Prihatno*, Sri Gustari, Asmarani Kusumawati, Agung Budiyanto,
Erif Maha Nugraha Setyawan, Yosua Kristian Adi

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

*Email: prihatno@ugm.ac.id

Naskah diterima: 1 Januari 2021, direvisi: 10 Januari 2021, disetujui: 30 Maret 2021

Abstract

Repeat breeding is a condition in which cows have normal estrous cycles and have been mated 3 times or more with a fertile male or inseminated with semen from a fertile male but are not pregnant. The incidence of repeat breeding in beef cows can be detrimental to breeders in terms of time because the calving period becomes longer so that the beef cows cannot give birth to calves once a year. Various ways to deal with repeat breeding have been done, but the results are not optimal. This study was conducted to determine the effect of Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) injection in cows at IB and 3-4 days after IB against the pregnancy rate of beef cows with repeat breeding. Fifteen beef cows with repeat breeding were used in this study. The beef cows were divided into 3 groups of 5 each. Beef cows that were estrus in the first group (as a control group) were only performed artificial insemination (AI) without GnRH injection. In the second and third groups, after AI, they were injected with GnRH at AI time and 3-4 days after AI with a dose of 5 ml (Fertagyl®, 500 µg gonadorelin, Intervet Holland) intramuscularly. A pregnancy examination was carried out 2-3 months later and the results were recorded. The data obtained were analyzed descriptively and quantitatively using Chi-Square statistical analysis. The results of the analysis showed that there were differences in the pregnancy rate in the first group (control) with the second group and the third group, which were 20%, 80%, and 60% respectively. Based on the Chi-Square statistical analysis, there was no significant effect of GnRH on pregnancy rate ($p > 0.5$). It was concluded that the pregnancy rate for the beef cow groups that received GnRH tended to increase compared to that without treatment.

Keywords: beef cows; GnRH; pregnancy rate; repeat breeding,

Abstrak

Kawin berulang adalah suatu keadaan sapi betina yang mempunyai siklus estrus normal dan sudah dikawinkan 3 kali atau lebih dengan pejantan fertil atau diinseminasi dengan semen pejantan fertil namun belum bunting. Kejadian kawin berulang pada sapi potong dapat merugikan peternak yaitu karena menyebabkan jarak beranak menjadi lebih panjang sehingga induk tidak dapat melahirkan pedet satu kali dalam satu tahun. Berbagai cara untuk mengatasi kawin berulang telah dilakukan, namun hasilnya belum optimal. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian *Gonadotrophin Releasing Hormone* (GnRH) pada sapi saat IB dan 3-4 hari setelah IB terhadap angka kebuntingan sapi potong yang mengalami kawin berulang. Sebanyak lima belas ekor sapi potong yang mengalami kawin berulang digunakan pada penelitian ini. Sapi kemudian dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing 5 ekor. Sapi estrus pada kelompok pertama sebagai kontrol hanya dilakukan inseminasi buatan (IB) tanpa diinjeksi GnRH. Pada kelompok kedua dan ketiga setelah dilakukan IB kemudian masing-masing diinjeksi GnRH pada saat IB dan 3-4 hari setelah IB dengan dosis 5 ml (Fertagyl®, 500 µg gonadorelin) secara intramuskuler. Pemeriksaan kebuntingan dilakukan 2-3 bulan kemudian dan hasilnya dicatat. Data yang diperoleh dianalisa secara deskriptif dan kuantitatif menggunakan analisis statistik *Chi-Square*. Hasil analisis menunjukkan perbedaan angka kebuntingan pada kelompok sapi pertama (kontrol) dengan kelompok sapi kedua

dan ketiga yaitu masing-masing 20%, 80%, dan 60%. Berdasarkan analisis statistik *Chi-Square*, pemberian GnRH tidak berpengaruh secara signifikan terhadap angka kebuntingan ($p > 0,5$). Disimpulkan bahwa angka kebuntingan kelompok sapi potong yang mendapat GnRH cenderung meningkat dibanding tanpa perlakuan.

Kata kunci: angka kebuntingan; GnRH; kawin berulang; sapi potong

Pendahuluan

Peningkatan populasi sapi potong untuk mencapai target pemenuhan kebutuhan daging masih terkendala karena adanya gangguan reproduksi. Gangguan reproduksi yang sangat berhubungan erat dengan kegagalan pelaksanaan IB adalah kawin berulang yang mengakibatkan rendahnya capaian efisiensi reproduksi. Penyebab utama terjadinya kawin berulang adalah kematian embrio dini dan kegagalan fertilisasi (Singh *et al.*, 2004). Menurut Perez-Marin *et al.* (2012), kematian embrio dini dan kegagalan fertilisasi memiliki faktor penyebab yang kompleks yaitu faktor dari induk yang berhubungan dengan kelainan pada induk, pengaruh umur induk, faktor genetik, infeksi uterus, kembalinya siklus estrus, kelainan anatomi pada saluran reproduksi betina, disfungsi hormon, perkembangan folikel yang tidak baik, dan pengaruh nutrisi. Selain itu, faktor pejantan seperti kesuburan pejantan, kualitas semen, posisi deposisi semen saat inseminasi, dan ketepatan waktu inseminasi juga dapat berpengaruh. Kawin berulang merupakan salah satu problem yang dapat memengaruhi efisiensi reproduksi dan produksi (Amiridis *et al.*, 2009). Kerugian ekonomi yang ditimbulkan karena kasus kawin berulang antara lain meningkatnya biaya untuk perkawinan, *calving interval* yang panjang, dan meningkatnya sapi-sapi yang diafkir (Lafi *et al.*, 1992). Kejadian kawin berulang pada sapi perah pada tingkat peternak di Daerah Istimewa Yogyakarta cukup tinggi yaitu sebesar 29,4% (Prihatno dkk., 2013). Penanganan yang serius diperlukan untuk menekan angka ini sehingga kerugian peternak dapat dihindari.

Gonadotropin releasing hormone (GnRH) merupakan hormon yang dikeluarkan oleh hipotalamus dan berfungsi sebagai stimuli pituitaria anterior untuk melepaskan hormon *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH). Hormon FSH dan LH akan menstimuli gonad (ovarium) menjadi aktif yang ditandai

adanya perkembangan folikel dan korpus luteum. Performan reproduksi akan berjalan normal jika poros hipotalamus-pituitaria-gonad berjalan optimal. Beberapa peneliti telah mencoba pemberian GnRH pada kasus kawin berulang namun hasilnya tidak konsisten. Peters (2005) mengatakan bahwa pemberian GnRH dapat meningkatkan angka kebuntingan sekitar 18% dibanding kontrol yang tidak diterapi, sedangkan Stevenson *et al.* (1989) mengatakan pemberian GnRH berpengaruh positif pada tingkat kebuntingan, namun peneliti Young and Swanson (1988) menunjukkan tidak adanya pengaruh yang signifikan terhadap kebuntingan. Adanya perbedaan inilah yang menarik bagi peneliti untuk mengetahui pengaruh pemberian GnRH di waktu yang berbeda pasca dilakukan IB pada sapi potong yang mengalami kawin berulang di peternakan tradisional di wilayah Kabupaten Sleman. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu penanganan masalah kawin berulang pada sapi potong di tingkat peternak.

Materi dan Metode

Sebanyak 15 ekor sapi potong dengan kriteria umur diatas 2,5 – 8 tahun, sudah pernah beranak satu kali, sehat, sudah pernah dikawinkan lebih dari 3 kali tetapi belum bunting, dan berada di peternakan tradisional Kabupaten Sleman dipakai pada penelitian ini. Sapi potong tersebut dibagi menjadi 3 kelompok dengan masing-masing terdiri atas 5 ekor. Kelompok pertama sebagai kontrol. Sapi yang estrus pada kelompok pertama langsung dilakukan IB tanpa perlakuan tambahan injeksi GnRH. Sapi yang estrus pada kelompok kedua dilakukan IB dan segera diberi perlakuan injeksi GnRH dengan dosis 5 ml (Fertagyl®, 500 ug gonadorelin) secara intramuskuler. Sapi yang estrus pada kelompok ketiga dilakukan IB kemudian diberi perlakuan injeksi GnRH dengan dosis 5 ml (Fertagyl®, 500 ug gonadorelin) secara intramuskuler pada hari 3-4 setelah dilakukan IB. Pemeriksaan kebuntingan dilakukan setelah 2-3

bulan secara palpasi perrektal pasca dilakukan IB. Persentase angka kebuntingan dihitung berdasar hasil pemeriksaan kebuntingan yang positif dibandingkan dengan jumlah sapi yang diperiksa pada kelompok tersebut. Data kebuntingan pada masing-masing kelompok dianalisis secara deskriptif dan kuantitatif menggunakan analisis statistik *Chi-Square*.

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian pengaruh pemberian GnRH pada sapi potong yang mengalami kawin berulang di kabupaten Sleman dapat dilihat pada pada Tabel 1 di bawah ini.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase angka kebuntingan pada sapi potong yang mengalami kawin berulang tanpa diinjeksi GnRH, diinjeksi GnRH segera setelah dilakukan IB, dan diinjeksi GnRH pada hari ke 3-4 setelah dilakukan IB masing-masing adalah sebesar 20%, 80%, dan 60%. Persentase angka kebuntingan terendah adalah kelompok 1 yaitu sebesar 20% sedangkan persentase angka kebuntingan tertinggi adalah kelompok 2 yaitu 80%

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian hormon GnRH pada sapi potong yang mengalami *kawin berulang* segera setelah sapi dilakukan IB ternyata mampu meningkatkan angka kebuntingan hingga sebesar 80%. Angka kebuntingan ini lebih tinggi jika dibandingkan (dengan) penelitian Prihatno dan Gustari (2003) dengan menggunakan Receptal® (buseralin) yaitu sebesar 44,4%. Adanya perbedaan angka kebuntingan tersebut kemungkinan disebabkan adanya perbedaan analog GnRH yang digunakan. Pada penelitian ini yang digunakan adalah Fertagyl® (Gonadorelin). Persamaan kedua analog GnRH tersebut menunjukkan bahwa pemberian GnRH segera setelah dilakukan IB pada sapi yang mengalami kawin berulang mampu meningkatkan angka kebuntingan dibandingkan dengan sapi yang tidak diberi GnRH.

Pemberian GnRH segera setelah dilakukan IB pada sapi yang sedang estrus diduga menginduksi peningkatan lonjakan LH pra-ovulasi. Peningkatan konsentrasi LH meningkatkan pematangan oosit, menginduksi ovulasi dan dapat meningkatkan fungsi korpus luteum. Hal ini sesuai dengan pendapat Thatcher *et al.* (1993) dan Schneider *et al.* (2006), bahwa pemberian GnRH segera setelah dilakukan IB akan memacu pengeluaran LH dari pituitaria anterior dan ini akan menyebabkan folikel de Graff mengalami ovulasi. Pendapat senada juga disampaikan oleh Shephard *et al.* (2013), bahwa pemberian GnRH pada saat IB akan mampu meningkatkan fungsi korpus luteum, meningkatkan kadar progesteron, dan mencegah terjadinya kematian embrio dini. Kemungkinan salah satu penyebabnya adalah sapi tersebut estrus tetapi tidak mengalami ovulasi atau dengan kata lain anovulasi atau mungkin saja sapi mengalami ovulasi namun perkembangan fungsi korpus luteum kebuntingan tidak maksimal. Hal ini akan berakibat terjadinya kegagalan fertilisasi atau kematian embrio dini. Pemberian GnRH segera setelah sapi tersebut dilakukan IB ternyata diduga mampu menyebabkan ovulasi sehingga memungkinkan terjadinya fertilisasi serta mampu mencegah terjadinya kematian embrio dini dan akhirnya meningkatkan angka kebuntingan.

Pemberian GnRH pada hari ke 3-4 setelah sapi dilakukan IB ternyata menunjukkan angka kebuntingan yang cukup tinggi yaitu sekitar 60%, namun masih lebih rendah jika dibandingkan dengan pemberian GnRH segera setelah dilakukan IB. Peran GnRH ketika diberikan pada hari ke 3-4 (fase luteal awal) setelah dilakukan IB adalah memicu pengeluaran hormon LH dari pituitaria anterior dan selanjutnya akan mengoptimalkan perkembangan korpus luteum kebuntingan sehingga kadar progesteron dalam darah meningkat. Peningkatan kadar progesteron dalam darah akan menyebabkan perkembangan zigot lebih memungkinkan dan juga mampu menjaga kebuntingan. Hal ini sesuai dengan pendapat Lofez dan

Tabel 1. Persentase angka kebuntingan pada sapi kawin berulang tanpa dan dengan mendapat injeksi GnRH

Kelompok	Perlakuan (n=5)	Angka Kebuntingan
1	Kontrol	20% (1/5)
2	Diberi injeksi GnRH segera setelah dilakukan IB	80% (4/5)
3	Diberi injeksi GnRH pada hari ke 3-4 setelah dilakukan IB	60% (3/5)

Garcia (2020) yang menyatakan bahwa pemberian GnRH pada sapi setelah waktu ovulasi yaitu hari ke 5-7 (fase luteal awal) setelah sapi dilakukan IB secara tidak langsung mempunyai peran sebagai luteotropik perkembangan korpus luteum sehingga mampu mencegah kematian embrio dini dan menjaga kebuntingan. Kematian embrio dini umumnya terjadi pada usia kebuntingan hari ke-1 sampai hari ke-16 atau ke-17 yang ditandai dengan terjadinya estrus kembali setelah dikawinkan (Swensson dan Andersson, 1989; Robert, 1986). Penyebab kematian embrio dini adalah rendahnya kadar hormon progesteron, faktor stres atau karena terjadinya infeksi pada saluran reproduksi (Robert, 1986; Copelin *et al.*, 1988).

Kesimpulan

Persentase angka kebuntingan pada sapi potong betina yang mengalami kawin berulang yang diberi injeksi GnRH saat IB dan 3-4 hari setelah dilakukan IB adalah sebesar 80% dan 60%. Angka ini cenderung meningkat dibanding dengan sapi potong yang tidak diberi injeksi GnRH yaitu sebesar 20%.

Ucapan Terimakasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Hewan UGM yang telah memberikan dana penelitian lewat Pendanaan Pengembangan Departemen Reproduksi dan Obstetri dengan nomer kontrak 1361/UN.1/FKH/HK4/2020 Tahun 2020.

Daftar Pustaka

- Amiridis, G.S., Tsiligianni, T.H., Dovolou, E., Rekkas, C., Vouzaras, D., and Menegatos, I. (2009). Combined administration of gonadotropin-releasing hormone, progesterone, and meloxicam is an effective treatment for the repeat-breeder cow. *J. Theriogenology*. 72: 542-548.
- Copelin, J.P., Smith, M.F., Garverick, H.A., Youngquist, R.S., Mc Vey., and Inskeep, E.K. (1988). Responsiveness of bovine korpus luteum to PGF 2 α : Composition of corpora lutea anticipated to have short or normal lifespans. *J. Anim. Sci.* 2: 1236-1246.
- Lafi, S.Q., Kaneene, J.B., Black, J.R., and Lloyd, J.W. (1992). Epidemiological and economic study of the repeat breeder syndrome in Michigan dairy cattle. II Economic modeling. *Prev. Vet. Med.* 14: 99-114.
- Lofez, F.G. and Garcia, I. 2020. Treatment with an elevated dose of the GnRH analogue dephereline in the early luteal phase improves pregnancy rates in repeat-breeder dairy cows. *J. Theriogenology*. 155: 12-16.
- Perez-Marin, C.C., Moreno, L.M., and Colero, G.V. (2012). Clinical approach to the repeat breeder cow syndrome. In: *A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine* (online book). Edited by Perez- Marin CC. IntechOpen (<https://www.intechopen.com/books/a-bird-s-eye-view-of-veterinary-medicine>). London, UK
- Peters, A.R. (2005). Veterinary clinical application of GnRH questions of efficacy, *Anim. Reprod. Sci.* 30(2005): 1-13.
- Prihatno, S.A. dan Gustari, S. (2003). Pengaruh Pemberian Gonadotrophin Releasing Hormone Pada Sapi Yang disinkronisasi Estrus Dengan Prostaglandin F-2 alfa Terhadap Angka Kebuntingan pada Sapi Potong Yang Mengalami Kawin Berulang. <https://repository.ugm.ac.id/92778/>
- Prihatno, S.A., Kusumawati, A., Karja, N.W., dan Sumiarta, B. (2013). Prevalensi dan Faktor Resiko Kawin Berulang pada Sapi Perah pada Tingkat Peternak. *Jurnal Veteriner*. 14(4): 452-461.
- Robert, S.J. (1986). Infertility in the cows. In *veterinary obstetric and genital disease (theriogenology)*. Ithaca. New York. 434-475.
- Schneider, F., Tomek, W., and Carsten, G. (2006). Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: A review. *J. Theriogenology*. 66: 691-709.
- Shephard, R.W., Morton, J.M., and Norman S.T. (2013). Effects of Administration of Gonadotropin-Releasing Hormone at Artificial Insemination on Conception Rates in Dairy Cows. *Anim. Reprod. Sci.* 144 (1-2) 14-21

- Singh, B., Saravia, F., Båge, R., and Rodriguez-Martinez, H. (2004). Report, Master of Science. Programme for International Students. Department of obstetrics and gynaecology, Swedish University of Agriculture sciences (SLU), Uppsala Sweden. Report no. 36, ISSN, 1403-2201.
- Stevenson, J.S., Mee, M.O., Folman, Y., and Soby, R.K. (1989). Timing of GnRH administration and AI relative to the onset of estrus for first services in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 72(1989)1: 352
- Swenson, T. and Anderson, U. (1980). The influence of heat symptoms and timer of insimination of cattle on the early and late returns. *Nord. Vet. Med.* 25: 9-16.
- Thatcher, W., Drost, M., Savio, J., Macmillan, K., Entwistle, K., Schmitt, E., Delasota, R. (1993). New Clinical uses of GnRh and its analogs in Cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 33: 27-49.
- Young, A.J and Swanson, L.V. 1988. Effect of GnRH and hCG at time of insemination of repeat breeders cows. *J. Dairy. Sci.* 71(1988)1: 137.

Stasis Urin pada Kucing: Evaluasi Klinis dan Laboratoris

Urinary Stasis in Cat: Clinical and Laboratory Evaluation

Geovani Meryza Oka Putra Caesar¹, Sitarina Widyarini², Soedarmanto Indarjulianto^{3*},
Alfarisa Nururrozi³, Yanuartono³, Slamet Raharjo³

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

²Departemen Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

³Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

*Corresponding, author; *Email: indarjulianto@ugm.ac.id

Naskah diterima: 18 Desember 2019, direvisi: 3 November 2020, disetujui: 8 Januari 2021

Abstract

Urinary stasis is a symptom which is usually characterized by the retention of urine and enlarged vesica urinaria (VU). Clinical symptoms and laboratory examination is important to establish the diagnosis of urine stasis. The aim of this study was to evaluate the incidence of urine stasis in cat based on clinically and laboratory examination. Ten (10) male cats that showed clinical symptoms of urination difficulties were used in study. Physically examination in cat was done by examining the general condition and the urinary organs especially VU. Ultrasonography (USG) was used to examine VU condition. Blood sample was taken to examine hematological profile such as total erythrocytes, total leukocytes, hemoglobin and packet cell volume. Result of study demonstrates that 10 cats (100%) showed clinical symptoms of retention urine more than 24 hours, enlargement VU, distension of VU, lost appetite, weakness and 3 cats (30%) experienced the decrease of consciousness. All cats in this study were male, consisting of 8 (80%) 13-24 months- and 2 (20%) more than 24 months old. USG showed wall inflammation in 9 cats (90%), thickening of the VU wall in 7 cats (70%) and their urolith in 9 cats (90%). Hematological test showed the normal blood profile in all cats in this study. To conclude, clinical symptoms of stasis urine is urination difficulties, enlargement and distension of VU. Thickening of the VU wall and the presence of urolith were also found by USG examination. However, blood profile was still in the normal range in all cats in this study.

Keywords: cat; FLUTD; ultrasound; urinary stasis; urolith

Abstrak

Stasis urin merupakan diagnosis simtomatif yang menggambarkan tertahannya urin di dalam saluran urinaria yang biasanya ditandai dengan membesarnya *vesica urinaria* (VU). Gejala klinis dan hasil pemeriksaan laboratoris sangat berperan penting dalam menentukan diagnosa penyakit tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kejadian stasis urin pada kucing secara klinis dan laboratoris. Materi yang digunakan di dalam penelitian ini adalah 10 ekor kucing yang menunjukkan gejala klinis kesulitan urinasi. Semua kucing diperiksa fisik secara *lege artis* meliputi kondisi umum dan keadaan organ urinari khususnya VU. Kucing selanjutnya diambil sampel darahnya untuk diperiksa gambaran hematologi meliputi pemeriksaan jumlah eritrosit dan leukosit, nilai hemoglobin (Hb) dan *packet cell volume* (PCV). Hasil pemeriksaan pada penelitian ini didapatkan bahwa semua 10 ekor kucing (100%) menunjukkan gejala klinis tidak urinasi lebih dari 24 jam, pembesaran dan distensi VU, penurunan nafsu makan dan minum, lemas dan 3 ekor kucing (30%) menunjukkan penurunan reflek kesadaran. Semua

kucing dalam penelitian ini berjenis kelamin jantan, terdiri dari 8 ekor (80%) berumur 13-24 bulan dan 2 ekor (20%) berumur lebih dari 24 bulan. Hasil pemeriksaan VU menggunakan USG didapatkan adanya peradangan dinding pada 9 ekor (90%), penebalan dinding pada 7 (70%) ekor dan adanya urolit pada 9 (90%) ekor kucing. Hasil pemeriksaan hematologi didapatkan semua parameter darah yang diperiksa dalam batasan yang normal. Berdasarkan hasil penelitian ini disimpulkan bahwa stasis urin total menunjukkan gejala klinis tidak urinasi, penurunan nafsu makan, pembesaran dan distensi VU yang pada pemeriksaan menggunakan USG menunjukkan adanya peradangan dan penebalan dinding VU dan ditemukan urolit, serta gambaran darah yang normal.

Kata kunci: FLUTD; kucing; Stasis urin; Urolit; USG

Pendahuluan

Stasis urin merupakan keadaan yang menggambarkan tertahannya urin di dalam saluran urinaria yang biasanya ditandai dengan membesarnya VU yang terisi urin penuh. Kejadian ini dapat disebabkan adanya kistik kalkuli, infeksi bakteri saluran kemih, peradangan, neoplasia dan penyakit neurogenik. Stasis urin biasanya menjadi salah satu gejala klinis dari *Feline Lower Urinary Tract Disease* (FLUTD) yang merupakan masalah terutama pada kucing jantan (Tariq *et al.*, 2014; Apritya *et al.*, 2017). Prevalensi kejadian FLUTD telah dilaporkan oleh Forrester *and* Towell (2015) sebesar 27-72 %. Gangguan urinaria ini kebanyakan dikarenakan faktor stres, manajemen pakan dan juga akibat adanya pola aktivitas kucing (Chew *et al.*, 2011). Stasis urin dapat terjadi karena adanya obstruksi di saluran urinari maupun non obstruksi yang dapat disertai maupun tidak disertai infeksi bakteri (Dorsch *et al.*, 2014; Lund *et al.* 2015; Apritya *et al.*, 2017). Diagnosa kasus stasis urin dapat ditetapkan berdasarkan anamnesis, pemeriksaan klinis dan pemeriksaan labolatoris (Chew *et al.*, 2011).

Kasus FLUTD sering kali dapat dikenali ketika kucing menunjukkan gejala klinis antara lain hematuria, pollakiuria, stranguria, periuria, disuria dan membesarnya VU (Dorsch *et al.*, 2014; Lund *et al.* 2015; Nururrozi *et al.*, 2020). Pada tahap awal gejala klinis tersebut sering kali tidak dikenali oleh pemiliknya, sehingga gangguan akan menjadi lebih parah. Lew-Kojrys *et al.* (2017) melaporkan kejadian gangguan urinasi pada kucing menunjukkan gejala klinis antara lain terjadi stasis urin dan mengalami hematuria. Faktor predisposisi terjadinya stasis urin antara lain jenis kelamin, umur dewasa, dan pemberian pakan

kering dengan air minum yang terbatas dalam waktu yang lama (Chew *et al.*, 2011; Lew-Kojrys *et al.*, 2017; Nururrozi *et al.*, 2019). Sebagian besar kasus stasis urin non obstruksi, umumnya akan sembuh dalam beberapa hari tanpa diberi terapi, akan tetapi kejadian stasis urin dapat kembali berulang dalam satu atau dua tahun berikutnya (Forrester *and* Towell, 2015). Kasus stasis urin yang bersifat obstruktif, biasanya penyumbatan terjadi pada uretra yang mengakibatkan terjadinya retensi urin, dan jika tidak segera ditangani dapat mengakibatkan kematian pada kucing. Kejadian gangguan urinaria yang bersifat obstruksi dengan adanya sumbatan di uretra membuat kucing tidak dapat urinasi dan menunjukkan gejala klinis abnormalitas dalam urinasi (Nururrozi *et al.*, 2019).

Selain gejala klinis yang tampak akibat gangguan urinaria, perubahan juga terjadi pada gambaran darah. Tariq *et al.* (2014) melaporkan bahwa FLUTD juga akan membuat perubahan gambaran darah terutama pada kasus infeksi saluran urinaria yang menyebabkan leukosit meningkat. Pada kasus stasis urin, kucing akan menahan rasa sakit akibat tidak dapat urinasi. Hal ini akan membuat kucing menjadi stres yang dapat membuat perubahan pada nilai leukosit (Salasia dan Hariono, 2010).

Problem atau gangguan sistem urinari pada kucing di Indonesia banyak dijumpai oleh dokter hewan praktisi hewan kesayangan. Menurut Apritya *et al.*, (2017) kejadian kasus FLUTD, cukup tinggi, tetapi laporan tentang stasis urin belum banyak ditemukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kejadian stasis urin pada kucing.

Materi dan Metode

Materi yang digunakan di dalam penelitian ini adalah 10 ekor kucing berbagai umur dan jenis kelamin yang menunjukkan gejala klinis kesulitan urinasi. Kucing tersebut merupakan pasien yang diperiksa ke Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKH-UGM. Semua kucing diperiksa fisik secara *lege artis* meliputi kondisi umum serta keadaan organ urinaria khususnya VU. Selanjutnya VU diperiksa menggunakan *ultrasonography* dengan materi yang diamati adalah perubahan bentuk, ukuran, letak dan *echogenisitas*. Kucing, selanjutnya diambil sampel darahnya melalui vena *chepalica* untuk diperiksa gambaran hematologi meliputi pemeriksaan jumlah eritrosit dan leukosit serta nilai Hb dan PCV (Gandasoebrata, 2007; Salasia dan Hariono, 2010). Data hasil pemeriksaan fisik dan laboratorik selanjutnya dianalisis secara deskriptif.

Penelitian ini telah mendapat izin kelayakan oleh komisi etik Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada dengan nomer 0100/EC-FKH/Int./2019.

Hasil dan Pembahasan

Gejala klinis merupakan skrining awal sebagai dasar penentuan diagnosis suatu penyakit, termasuk gangguan urinasi. Gejala klinis utama pada penelitian ini adalah semua 10 ekor kucing (100%) tidak dapat urinasi, mengalami penurunan nafsu makan dan minum, lemas dan 3 ekor (30%) menunjukkan penurunan reflek kesadaran (Tabel 1). Hasil penelitian Fauziah (2015) dan Lew-Kojrys *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa kucing penderita stasis urin menampakkan gejala klinis antara lain depresi, lemah, muntah, nafsu makan menurun, adanya sumbatan, uremia, hematuria, polliuria, periuria merupakan urinasi tidak pada tempatnya, sering menjilati daerah genital dan

kesakitan ketika urinasi. Menurunnya/hilangnya nafsu makan kucing penderita stasis urin pada penelitian ini kemungkinan karena terjadi obstruksi pada saluran urinaria (urethra) dan tertahannya urin di dalam VU, yang mengakibatkan rasa sakit dan rasa tidak nyaman.

Problem pada saluran urinasi bagian bawah biasanya ditandai dengan kesulitan urinasi. Sebanyak 10 ekor kucing yang dipakai sebagai sampel di dalam penelitian ini menunjukkan gejala klinis tidak urinasi selama minimal 24 jam. Kucing penderita tersebut semuanya jantan, terdiri dari 8 ekor berumur 13-24 bulan dan 2 ekor berumur lebih dari 24 bulan (Tabel 1). Hasil penelitian yang menunjukkan kucing tidak urinasi ini hampir sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Lew-Kojrys *et al.*, (2017) yaitu sebanyak 75% dari 385 sampel kucing yang mengalami problem urinasi menunjukkan gejala pollakiuria (frekuensi urinasi meningkat dengan volume sedikit) dan disuria (kesulitan atau tidak dapat urinasi). Semua sampel yang dipakai di dalam penelitian ini mengalami problem urinasi dalam keadaan obstruksi total yang ditandai VU teraba penuh, tetapi tidak keluar urin ketika VU dipalpasi/ditekan. Kondisi stasis urin ini terjadi kemungkinan akibat adanya obstruksi pada saluran urinaria maupun adanya peradangan pada saluran urinaria yang membuat urin tidak dapat keluar dari VU. Kurangnya pemahaman pemilik tentang gejala awal terjadinya obtruksi VU memungkinkan kucing baru diperiksa ke dokter hewan setelah kucing tidak dapat urinasi secara total.

Pada penelitian ini stasis urin terjadi pada kucing yang berumur lebih dari 1 tahun, dan kasus terbanyak terjadi pada kucing yang berumur 13-24 bulan, yaitu sebanyak 8 ekor (80%) dan kucing umur lebih dari 24 bulan, yaitu sebanyak 2 ekor (20 %). Hasil penelitian Lew-Kojrys *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa gangguan urinasi yang

Tabel 1. Jumlah kucing stasis urin yang menunjukkan gejala klinis

Umur	jumlah sampel	Gejala klinis			
		Tidak Urinasi (%)	Nafsu makan minum turun (%)	Lemas (%)	Reflek sadar menurun (%)
13-24 bln	8	8 (80)	8 (80)	8 (80)	2 (20)
> 24 bln	2	2 (20)	2 (20)	2 (20)	1 (10)
Jumlah	10	10 (100)	10 (100)	10 (100)	3 (30)

ditandai dengan stasis urin paling banyak dialami oleh kucing dengan umur rata-rata 5,6 tahun. Stasis urin yang terjadi pada semua kucing pada penelitian ini kemungkinan dipicu karena pemberian pakan kering yang tidak diimbangi dengan pemberian air minum yang cukup, walaupun ada kemungkinan penyebab lain terutama pada kucing yang berumur lebih dari 24 bulan. Kasus urolithiasis pada kucing umur dibawah 24 bulan pada penelitian ini kemungkinan terjadi karena diberikan pakan kering terus menerus sejak umur muda. Penelitian Lew-Kojrys *et al.*, (2017) menyebutkan bahwa gangguan urinasi dapat dialami oleh kucing karena beberapa faktor antara lain jenis kelamin, pensterilan, umur, kondisi hewan, dan pola makan. Triakoso (2016) menyampaikan bahwa kandungan pakan juga dapat menyebabkan meningkatnya pembentukan kristal urin yang dapat menimbulkan stasis urin. Kurangnya asupan air merupakan hal yang sangat penting pada kejadian FLUTD, karena kucing membutuhkan asupan air 40-50 ml/kg/hari. Pakan kaleng atau tipe basah mengandung air sekitar 60-80% sedangkan pakan kering hanya mengandung air sebanyak 5-10%, sehingga kucing membutuhkan lebih banyak air minum untuk memenuhi kecukupan air. Kekurangan asupan air (akibat sifat kucing yang minum sedikit), sedikitnya kandungan air dalam pakan kering dan risiko kehilangan air pada kucing yang mengkonsumsi pakan kering akan menyebabkan hewan mengalami dehidrasi dan berisiko menderita FLUTD (Triakoso, 2016). Tingkat kejadian gangguan urinasi pada kucing terhadap risiko infeksi saluran kemih dan neoplasia meningkat seiring bertambahnya usia. Faktor risiko lain dari kejadian stasis urin pada penderita FLUTD adalah berat badan yang berlebihan, aktivitas fisik tingkat rendah, kurungan dalam ruangan dan kotak kotoran yang terlalu kecil untuk hewan (Cameron *et al.*, 2004; Defauw *et al.*, 2011).

Menurut Chew *et al.*, (2011) stasis urin dapat menyebabkan beberapa abnormalitas fungsi organ

lain, termasuk ginjal. Menurut Wardani (2014) adanya penyakit saluran kencing yang ditandai dengan stasis urin merupakan faktor potensial penyebab terjadinya penyakit ginjal kronis. Kejadian penyakit ginjal kronis dapat disebabkan akibat tekanan intra renal yang disertai infeksi saluran kemih berulang atau urosepsis yang merupakan faktor dominan sebagai penyebab destruksi parenkim ginjal dan penurunan jumlah populasi nefron yang utuh (Sukandar, 2006). Yanuartono *et al.*, (2017) menyebutkan bahwa pada penyakit ginjal kronis ditandai dengan penurunan atau hilangnya kemampuan ginjal dalam mengeliminasi produk produk tidak terpakai, mengkonsentrasikan urin dan konservasi elektrolit. Produk produk tidak terpakai tersebut bersifat toksik dan terakumulasi dalam aliran darah sehingga terjadi uremia dan azotemia. Penyakit ginjal kronis menunjukkan gejala klinis antara lain adalah poliuri, polidipsi, anoreksi, muntah, turunnya berat badan, membrana mukosa pucat, ulserasi mulut halitosis dan kebutaan akut (Yanuartono *et al.*, 2017).

Hasil pemeriksaan VU menggunakan USG terhadap 10 ekor kucing yang mengalami stasis urin didapatkan adanya peradangan sebanyak 9 ekor (90%), penebalan dinding VU sebanyak 7 ekor (70%) dan adanya urolit sebanyak 9 (90%) ekor (Tabel 2). Hal serupa disampaikan oleh Zaenab (2008), Chew *et al.*, (2011), bahwa hasil pemeriksaan VU kucing yang mengalami gangguan urinari menggunakan USG didapatkan adanya gambaran peradangan dinding, penebalan dinding dan urolit pada VU. Penebalan dan peradangan pada dinding VU dikarenakan adanya perubahan pH atau adanya urolit yang melukai dinding VU (Chew *et al.*, 2011). Pembentukan kristal dapat terjadi akibat ketidak seimbangan pH urin, supersaturasi urin, dan adanya ekskresi mineral dari ginjal sebagai promotor urolit (Stevenson, 2002; Westropp *et al.*, 2005; Osborne *et al.*, 2006).

Tabel 2. Jumlah kucing stasis urin yang menegalami perubahan VU pada pemeriksaan USG (n=10)

Umur	Keradangan dinding VU	Penebalan dinding VU	Urolit di dalam VU
13-24 bln	7	5	7
> 24 bln	2	2	2
Jumlah	9 (90%)	9 (90%)	7 (70%)

Tabel 3. Hasil pemeriksaan darah rutin pada 10 sampel kucing yang mengalami stasis urin

Paramater	Normal (%)	Meningkat (%)	Menurun (%)
Jumlah Eritrosit	10 (100)	0 (0)	0 (0)
Jumlah Leukosit	10 (100)	0 (0)	0 (0)
Hemoglobin (Hb)	10 (100)	0 (0)	0 (0)
Hematokrit (PCV)	10 (100)	0 (0)	0 (0)

Guna mendukung pemeriksaan fisik dan memperkuat diagnosa maka dalam penelitian ini dilakukan pemeriksaan darah. Hasil pemeriksaan darah menunjukkan bahwa semua sampel mempunyai jumlah eritrosit dan leukosit serta nilai Hb dan PCV yang normal (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa stasis urin yang terjadi pada kucing pada penelitian ini tidak disertai adanya infeksi bakteri. Beberapa kasus FLUTD yang diikuti infeksi bakteri akan menunjukkan peningkatan nilai leukosit beserta deferensialnya (Dorsch *et al.*, 2014; Tariq *et al.*, 2014; Lund *et al.*, 2015; Lew-Kojrys *et al.*, 2017).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini disimpulkan bahwa stasis urin total sebagai berikut:

1. Terjadi terutama pada kucing jantan dengan 80% berumur < 24 bln.
2. Gejala klinis utama adalah tidak urinasi, penurunan nafsu makan dan distensi VU.
3. Gambaran USG: peradangan dan penebalan VU dan adanya urolith.
4. Mempunyai gambaran RBC, WBC, Hb, PCV yang normal.

Ucapan Terima kasih

Terima kasih kepada Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada dan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada yang telah memberikan fasilitas laboratorium dan pasien.

Daftar Pustaka

Apritya, D., Yunani, R., dan Widyawati R. (2017). Analisis urin kasus urolithiasis pada kucing tahun 2017 di Surabaya. *Agrovet.* 6 (1): 82-84.

Tariq, A., Rafique, R., Abbas, S.Y., Khan, M.N., Huma, I., Perveen, S., and Kamran, M. (2014). Feline Lower Urinary Tract Disease (FLUTD) – An Emerging Problem of Recent Era. *J Ve. Sci. & Anim Husb.* 2 (3):1-5.

Cameron, M.E., Casey, R.A., and Bradshaw, J.W.S. (2004). A study of environmental and behavioural factors that may be associated with feline idiopathic cystitis. *J Small Anim Pract.* 45: 144-147.

Chew, D.J., Dibartola, S.P., and Schenck, P.A. (2011). *Canine and Feline Nephrology and Urology.* USA: Elsevier Saunders.

Defauw, P.A.M., Maele, I.V., Duchateau, L., Polis I.E., Sauders, J.H., and Daminet, S. (2011). Risk Factors and Clinical Presentation of Cats with Feline Idiopathic Cystitis. *J Fel Med Surg.* 13: 967-975.

Dorsch, R., Hartmann K., and Sauter-Louis C. (2014). Feline Lower Urinary Track Disease in a German Cat Population: A retrospective Analysis of Demographic Data. Causes an Clinical Signs. *Tierarztliche Praxis Kleintiere.* 42(4): 231-9.

Forrester, S.D., and Towell, T.L. (2015). Feline Idiopathic Cystitis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 45 (5): 783-806.

Gandasoebrata. 2007. *Penuntun Labiratorium Klinik.* Jakarta: Dian Rakyat.

Lew-Kojrys-Kojrys-Kojrys S., Mikulska-Skupien E., Snarska, A., Krystkiewicz, W., and Pomianowski, A. (2017). Evaluation of clinical signs and causes of lower urinary tract disease in Polish cats. *Veterinarni Medicina,* 62, 2017 (07): 386-393.

Lund, H.S., Krontveit, R.I., Halvorsen, I., and Eggertsdottir, A.V. (2013). Evaluation of Urinalysis from Untreated Adult Cat with

- Lower Urinary Tract Disease and Healthy Control Cat: predictive ability and clinical relevance. *J Fel Med Surg.* 15(12): 1086-97.
- Lund, H.S., Saevik, B.K., Fisntad, O. W., Grontvedt, E.T., Vatne, T. (2015). Risk Factor for Idiopathic Cystitis in Norwegian Cats: a Matched Case-Control Study. *J Fel Med Surg.* 1-9.
- Nururrozi, A., Soedarmanto, I., Yanuartono, Purnamaningsih, H., Widyarini, S., Raharjo, S., dan Ramandani, D. (2019). Terapi Ammonium Khlorida-Asam Askorbat untuk Menurunkan Tingkat Keasaman Urin dan Kristalisasi Struvit pada Kucing Urolithiasis. *J Vet.* 20 (1): 8-13.
- Nururrozi, A., Yanuartono, Y., Sivananthan, P., dan Indarjulianto, S. (2020) Evaluation of lower urinary tract disease in the Yogyakarta cat population, Indonesia, *Vet World.* 13(6): 1182-1186.
- Osborne, C.A., Bartges, J.W., and Luich, J.P. (2006). Canine and feline urolithiasis: relationship of etiopathogenesis to treatment and prevention. Dalam: *Canine and Feline Nephrology and Urology.* Osborne CA & Finco DR (eds.). Lea & Febiger: Pages: 798-888
- Salasia, S.I.O. dan Hariono, B. (2010). *Patologi Klinik Veteriner Kasus Patologi Klinik.* Yogyakarta: Penerbit Samudra Biru. 18-98.
- Stevenson, A. (2002). The Incidence of Urolithiasis in Cats and Dogs and the Influence of Diet in Formation and Prevention of Recurrence. London. Institute of Urology and Nephrology, University College London. 26(2): 169-179.
- Sukandar, E. (2006). *Nefrologi Klinik.* Edisi 3. Bandung: Pusat Informasi Ilmiah Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Unpad. 38:45.
- Triakoso. (2019). Pakan dan Kucing. Kesehatan dan Risiko Penyakit Akibat Pakan Pada Kucing. Disampaikan pada Seminar Hill's Nutrition tanggal 21 Mei 2016. 12-15.
- Westropp, J.L., Buffington, C.A., and Chew, D. (2005). Feline lower urinary tract disease. Dalam: *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* Ettinger SJ & Feldman EC (Eds). Saunders. Minnesota chapter 2. 67(4): 731-736.
- Yanuartono, Nururrozi, A., dan Indarjulianto, S. (2017). Penyakit Ginjal Kronis pada Anjing dan Kucing: Manajemen Terapi dan Diet. *JSV.* 35 (1):2-17.
- Zaenab, S., Noviana, D., dan Zulfanedi, Y. (2008). Ultrasonographic Findings In A Cat With Feline Lower Urinary Tract Disuse. Prosiding KIVNAS 2008. Bogor Indonesia. 325-326.

Akumulasi Fibrin dalam *Anterior Chamber* pada Kucing Penderita *Tripanosomiasis* dan *Feline Immunodeficiency Virus*

Fibrin Accumulation in Anterior Chamber in Cat with Tripanosomiasis and Feline Immunodeficiency Virus

Kurnia^{1*}, Dyah Kunthi Wirapratwi¹, Setyo Budhi², Guntari Titik Mulyani³, Dwi Priyowidodo⁴

¹Rumah Sakit Hewan Prof. Soeparwi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

²Departemen Bedah dan Radiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

³Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

⁴Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

*Email : kurnia.dvm@gmail.com

Naskah diterima : 3 Maret 2020, direvisi : 17 Juli 2020, disetujui : 1 Agustus 2020

Abstract

A male domestic cat three-years old admitted to Prof. Soeparwi veterinary hospital of Gadjah Mada University Yogyakarta with eye problem that both eyes appear whitish, starting from the left eye, a small size that develops progressively for 2 weeks, followed by a decrease in appetite and thin body condition. This unvaccinated cat originated from street cat, probably eating mice and birds. The white mass in both anterior chambers was the fibrin accumulation due to anterior uveitis in systemic infections of viral diagnoses (*Feline Immunodeficiency Virus*, *Feline Infectious Peritonitis*, *Feline Leukemia Virus*), toxoplasmosis, and systemic mycosis. Trypanosomiasis was also considered as a differential diagnosis, although rarely reported infect cats in Indonesia, trypanosomiasis also causes anterior uveitis. Physical examination was conducted and confirmed by laboratory tests consisting of hematology, SGPT, SGOT, albumin, total cholesterol, BUN, creatinine, blood smear, FIV/FeLV and toxoplasma rapid test. Clinical examination results showed anemic mucosa, dehydration, edema in the submandibular area to the shoulder, BCS 4/9, and anterior uveitis. Hematological and blood chemistry results showed normocytic-hypochromic anemia, thrombocytopenia, normal total leukocytes with relatively increased monocytes, very high SGPT and SGOT values, increased creatinine and decreased total cholesterol. The result of the rapid test showed positive FIV antibody, negative FeLV, and negative *Toxoplasma*. Blood smear examination showed a mild anemia without polychromasia and found *Trypanosoma sp.* A diagnosis of trypanosomiasis and FIV was confirmed. Fibrin accumulation in the progressive-bilateral anterior chamber accompanied by aqueous flare and normal retina which refer to anterior uveitis is a characteristic clinical symptoms of trypanosomiasis in cat and FIV infection.

Keywords: anterior uveitis; cat; *Feline Immunodeficiency Virus*; fibrin accumulation; Tripanosomiasis

Abstrak

Seekor kucing domestik jantan berusia tiga tahun diperiksa di RSH Prof Soeparwi FKH-UGM Yogyakarta dengan keluhan kedua mata yang terlihat berwarna putih, berawal dari mata kiri, berukuran kecil yang berkembang secara progresif selama 2 minggu, diikuti penurunan nafsu makan serta kondisi badan yang semakin kurus. Kucing yang belum divaksinasi ini merupakan kucing jalanan yang gemar memakan tikus maupun burung. Masa putih yang melayang di kedua *anterior chamber* merupakan akumulasi fibrin akibat uveitis anterior pada infeksi sistemik dari diagnosa virus (*Feline Immunodeficiency Virus*, *Feline Infectious Peritonitis*, *Feline Leukemia Virus*), toxoplasmosis, dan *systemic mycosis*. Tripanosomiasis juga dipertimbangkan sebagai diagnosa banding, meskipun jarang dilaporkan menyerang kucing di Indonesia, tripanosomiasis juga menimbulkan lesi berupa uveitis anterior. Dilakukan pemeriksaan fisik yang diteguhkan dengan pemeriksaan laboratorium

berupa hematologi, SGPT, SGOT, albumin, total kolesterol, BUN, kreatinin, apus darah, *rapid test* FIV/FeLV dan *rapid test* toxoplasma. Hasil pemeriksaan fisik menunjukkan mukosa anemik, dehidrasi, oedema di daerah submandibular hingga bahu, BCS 4/9, dan uveitis anterior. Hasil pemeriksaan hematologi dan kimia darah menunjukkan anemia normositik-hipokromik, trombositopenia, normal leukosit total dengan peningkatan relatif pada monosit, nilai SGPT dan SGOT yang sangat tinggi, peningkatan creatinin dan penurunan total kolesterol. Hasil pemeriksaan *rapid test* menunjukkan positif antibodi FIV, negatif FeLV dan toksoplasma. Pemeriksaan apus darah menunjukkan anemia ringan tanpa polikromasia, dan ditemukan flagellata *Trypanosoma sp.* Kucing didiagnosa tripanosomiasis dan positif FIV. Akumulasi fibrin di dalam *anterior chamber* yang bersifat progresif-bilateral disertai dengan *aqueous flare* dan normal retina merupakan gambaran anterior uveitis sebagai gejala klinis yang menciri dari Tripanosomiasis pada kucing dan infeksi FIV.

Kata kunci: akumulasi fibrin; *Feline Immunodeficiency Virus*; kucing; Tripanosomiasis; uveitis anterior

Pendahuluan

Tripanomiasis merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Trypanosoma sp.*, protozoa hemofagellata dari kelas Zoomatigophora dan famili Tripanosomatidae. Penyakit ini banyak dijumpai di daerah tropis, yaitu Afrika, Timur Tengah, India, Cina, Asia Tenggara dan Amerika Latin dengan berbagai spesies *Trypanosoma* yang berbeda, serta menyerang berbagai hewan domestik seperti kuda, sapi, kerbau, onta, anjing, kucing dan tikus. Di Indonesia, tripanosomiasis banyak dilaporkan menyerang kuda, sapi dan kerbau, menimbulkan kerugian besar yang luas pada aspek ekonomi dan sosial serta mendapat penanganan khusus dari pemerintah. Tripanosomiasis sangat jarang dilaporkan menyerang hewan peliharaan dan hewan liar di Indonesia, meskipun memungkinkan dapat terjadi pada hewan tersebut (Greene, 2012; Nurcahyo, 2017).

Penyebab jarang kasusnya tripanosomiasis pada kucing di Indonesia antara lain lingkungan kucing jauh dari lingkungan vektor spesifik *Trypanosoma*, tidak terdiagnosa, ataupun tidak dilaporkan. Menurut Bowman dkk. (2002) dan Nurcahyo (2017) vektor memegang peranan yang penting dalam penularan *Trypanosoma sp.* ke hospesnya seperti lalat *Tabanus*, *Haematopota* dan *Chrysops* sebagai vektor *Trypanosoma evansi* di Indonesia dan serangga Triatomid sebagai vektor *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma rangeli*, dan *Trypanosoma caninum* di Amerika maupun Brazil. Vektor tersebut memiliki hospes spesifik dan beberapa hanya hidup pada wilayah geografis tertentu. Beberapa penelitian mengenai tripanosomiasis pada kucing menurut Bowman

dkk (2002), menggunakan probandus kucing yang diberi makan tikus ataupun daging kambing yang terinfeksi *Trypanosoma sp.* Hal ini memungkinkan kucing terinfeksi *Trypanosoma* melalui rute peroral, meskipun demikian tripanosomiasis pada tikus liar juga tidak banyak dilaporkan dan belum banyak diteliti. Gejala klinis yang spesifik dari tripanosomiasis mirip dengan gejala klinis penyakit lain yang lebih umum menginfeksi kucing, sehingga tidak dipertimbangkan sebagai diagnosa. Menurut Silva dkk. (2009^b) terapi tripanosomiasis harus segera diberikan setelah kucing terdiagnosa untuk mencapai kesembuhan permanen dan mencegah kambuhnya tripanosomiasis.

Feline immunodeficiency virus (FIV) berasal dari family *Retroviridae*, subfamily *Orthoretrovirinae*, genus *Lentivirus*. Virus ini ditularkan melalui inokulasi air liur maupun darah dari pertarungan antar kucing. *Feline immunodeficiency virus* (FIV) mengganggu sistem kekebalan tubuh kucing menyebabkan disfungsi imun akibat adanya perubahan sitokin, hiperaktivasi Band T-limfosit non-spesifik, anergi imun dan apoptosis sel-T. Infeksi FIV berkembang dalam tiga tahap yaitu tahap primer sementara, tahap kronis yang asimtomatis, dan tahap kedua (terminal). Perjalanan infeksi FIV pada tahap primer berlangsung antara 6-8 minggu, virus bereplikasi secara cepat dan terdeteksi adanya viremia melalui pemeriksaan PCR. Tahap kronis yang asimtomatis berlangsung selama bertahun-tahun bahkan seumur hidup kucing, ditandai dengan rendahnya viremia dan adanya antibodi anti-FIV, namun disfungsi imun berkembang selama tahap ini. Disfungsi imun dapat bermanifestasi sebagai infeksi bakteri, virus, protozoa, dan

parasit seperti *pyoderma bacterial*, *demodecosis*, *toxoplasmosis*, kriptokokosis pada paru dan gingivostomatitis (Greene, 2012; Ettinger dkk, 2017). Penyakit akibat disfungsi imun terlihat lebih jelas daripada infeksi FIV, hal ini membuat FIV tidak menunjukkan gejala klinis sehingga sering terlambat terdiagnosa. Kasus ini memaparkan temuan tripanosomiasis dan FIV pada kucing yang terinfeksi secara alami, pendekatan diagnosa dan rekomendasi terapinya.

Riwayat Kasus

Seekor kucing domestik jantan, 3 tahun diperiksa di Rumah Sakit Hewan Prof. Soeparwi FKH-UGM dengan keluhan kedua mata terlihat berwarna putih, berawal dari mata kiri, berukuran kecil yang berkembang secara progresif selama 2 minggu, diikuti penurunan nafsu makan serta kondisi badan yang semakin kurus. Kucing berasal dari kucing jalanan, telah dipelihara selama 2 tahun, belum dilakukan vaksinasi, dipelihara secara bebas berkeliaran di sekitar rumah serta gemar memakan tikus maupun burung.

Hasil pemeriksaan klinis menunjukkan mukosa anemik, dehidrasi, *oedema* di daerah submandibular hingga bahu, BCS 4/9. Pemeriksaan mata menunjukkan adanya *blepharospasm* (ringan), hiperlakrimasi, konjungtivitis, *aqueous flare* serta kekeruhan pada *anterior chamber* yang mengarah pada akumulasi fibrin yang terlihat melayang di *aqueous humor*, bersifat progresif dan bilateral. Pemeriksaan laboratorium yang dilakukan berupa hematologi; kimia darah berupa SGPT, SGOT, glukosa, total kolesterol, BUN, kreatinin, *rapid test* FIV/FeLV dan *rapid test* toksoplasma serta pemeriksaan apus darah sebagai pendekatan diagnosa terhadap akumulasi fibrin dalam *anterior chamber* yang tidak normal. Pemberian rekomendasi rencana terapi pasien kucing berdasarkan pada diagnosa dan etiologinya.

Hasil dan Pembahasan

Mata yang terlihat putih akibat akumulasi fibrin dalam *anterior chamber* selama 2 minggu, bersifat progresif dan bilateral merupakan gejala klinis menciri yang disebabkan oleh beberapa agen infeksi. Fibrin di dalam *anterior chamber* merupakan produk radang yang umumnya meng-

ikuti uveitis, diteguhkan dengan adanya *aqueous flare* akibat peningkatan kandungan protein pada *aqueous humor* (Townsend, 2008). Akumulasi fibrin dan *aqueous flare* umumnya juga mengandung leukosit yang disebut sebagai *hypoon*, namun diperlukan peneguhan analisa cairan *aqueous humor* dengan *aqueouscenteces* yang tidak dilakukan pada kasus ini. Gejala klinis dan kondisi kucing dipaparkan pada Gambar 1.

Pemeriksaan dengan ophthalmoskop menunjukkan kondisi normal pada retina sehingga abnormalitas dipastikan terjadi pada bagian anterior dan mengarah pada uveitis anterior. Menurut Shukla dan Pinard (2012) anterior uveitis yang bersifat progresif dan bilateral mengindikasikan adanya infeksi sistemik dari virus (FIV, FeLV, FIP), protozoa (*Toksoplasma gondii*) maupun sistemik mycosis.

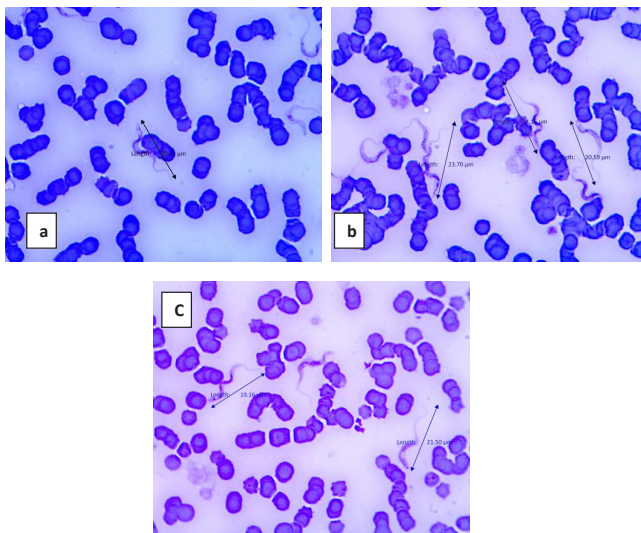


Gambar 1. Kondisi fisik pasien kucing. (a) terlihat adanya oedema pada daerah submandibular sinister hingga daerah brachialis sinister (tanda panah hitam); (b) terlihat bola mata berwarna putih bilateral dan progresif selama 2 minggu; (c) adanya akumulasi fibrin berupa masa putih yang melayang di dalam anterior chamber mata kanan dan kiri (tanda panah biru), permukaan kornea tampak halus dan tidak ada ulcer.

Infeksi *Feline Immunodeficiency Virus* (FIV) dan *Feline Leukemia Virus* (FeLV) dipertimbangkan menyebabkan anterior uveitis. Manifestasi okular umumnya terjadi pada kucing yang lebih tua (lebih dari 5 tahun), dan perubahan yang paling mencolok terlihat pada segmen anterior berupa uveitis kronis yang relatif ringan, *aqueous flare*, *keratic precipitates*, katarak kortikal, hiperemia iridal dan pembentukan nodul *limfositoplasmacytic iridal* (Davidson dan English, 1998; Davidson, 2000; Colitz, 2005; Parry dan Maggio, 2007; Shukla dan Pinard, 2012; Greene, 2012).

Infeksi *Feline Infectious Peritonitis* (FIP) menimbulkan akumulasi fibrin dalam *anterior chamber*, namun juga dijumpai adanya radang pyogranulomatous di traktus uveal anterior dan

posterior, serta lesi pada retina berupa retinal perivaskulitis dan *pyogranulomatous chorioretinitis*. Mata merupakan organ target dari *Toxoplasma gondii* dan menjadi temuan utama toksoplasmosis pada berbagai spesies. Gejala klinis toksoplasmosis umumnya asimtomatik dan sangat jarang dilaporkan pada kucing dewasa, namun juga ditemukan pada kucing muda dan kucing dengan supresi imun karena terapi glukokortikoid ataupun supresi imun oleh virus FIV, FeLV dan FIP. Infeksi *T. gondii* menyebabkan uveitis anterior limfositik-plasmacytic dengan tanda-tanda klinis *aqueous flare*, perubahan iridal dan endapan keratik, namun pada kucing lesi ocular toksoplasmosis utamanya berupa inflamasi pada choroid dengan inflamasi sekunder pada retina (Davidson dan English, 1998; Davidson, 2000; Cucos dkk, 2005; Colitz, 2005; Parry dan Maggio, 2007; Greene, 2012; Shukla dan Pinard, 2012). Toksoplasmosis tidak berkaitan pada kasus ini dibuktikan dengan hasil negatif pemeriksaan *rapid test antibody Toksoplasma*. Hasil pemeriksaan klinis berupa, pemeriksaan mata dan hasil analisis laboratorium tidak mengarah pada kemungkinan mikosis sistemik, FIP, maupun toksoplasmosis. Hasil *rapid test* menunjukkan kucing positif antibodi FIV dan negatif antigen FeLV.



Gambar 2. (a)-(c) *Trypanosoma sp* yang ditemukan pada preparat apus darah. *Trypanosoma sp* terlihat berbentuk slender “S-shape” dengan panjang rata-rata 21,28 µm, memiliki free flagella di bagian anterior, adanya membran undulan, nucleus di dekat mid-body dan kinetoplas di ujung posterior. Bentuk ujung posterior umumnya terlihat tumpul, sebagian terlihat runcing. Sample darah EDTA, pengecatan gimza, perbesaran 100x objektif.

Kucing dipelihara secara bebas berkeliaran dan gemar memakan hewan liar, berpotensi tertular berbagai virus dari kucing lain melalui gigitan saat berkelahi serta rentan terjadi kontak dengan berbagai hospes intermediet seperti tikus dan berbagai ektoparasit sehingga perlu dipertimbangkan penyebab uveitis lainnya yang lebih luas. Kemungkinan penyebab uveitis anterior lain meskipun sangat jarang adalah *Trypanosoma sp*, yang juga dilaporkan menimbulkan kekeruhan mata pada kucing, anjing sapi dan kerbau. Hasil pemeriksaan apus darah memberikan gambaran bahwa kucing terinfeksi *Trypanosoma sp*. (Gambar 2.).

Menurut Bowman dkk (2002), Greene (2012) dan Nwoha (2013) tripanosomiasis dapat menginfeksi kucing baik secara alami maupun eksperimental, beberapa spesies yang sering menginfeksi antara lain *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma evansi*, *Trypanosoma congolense*, *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma rangeli* dan *Trypanosoma caninum*. *Trypanosoma* yang ditemukan mengarah pada *T. brucei* maupun *T. evansi*, keduanya memiliki morfologi yang mirip dan sulit dibedakan. Ukuran kedua *Trypanosoma* hampir sama yaitu 7-23 µm pada *T. brucei* dan 15-34 µm pada *T. evansi*, predominant berbentuk slender “S-shape”, memiliki 3-5 membran undulan, panjang *free flagellum* $1/3 - 1^{1/3}$ panjang sel, nucleus berada di dekat pertengahan badan, serta kinetoplas kecil yang berada di ujung posterior (Bowman dkk, 2002). Diduga kucing terinfeksi *Trypanosoma sp* melalui vektor mekanik berupa lalat penggigit seperti *Tabanus*, *Haematopota*, *Chrysops*, *Stomoxys*, *Musca* ataupun melalui transmisi oral karena memakan rodensia yang terinfeksi *Trypanosoma sp*.

Hasil pemeriksaan darah (Tabel 1) menunjukkan adanya anemia normositik-hipokromik, trombositopenia, peningkatan nilai SGPT dan SGOT yang sangat tinggi, sedikit peningkatan kreatinin, penurunan BUN, total kolesterol dan glukosa. Hasil pemeriksaan apus darah tidak menunjukkan gambaran regeneratif yang signifikan, meneguhkan pada kemungkinan anemia non-regeneratif. Anemia ini dapat disebabkan oleh inflamasi kronis, infeksi virus, gangguan sumsum tulang, hati maupun gagal ginjal, juga terjadi pada anemia pre-regeneratif. Menurut Misra dkk.,

Tabel 1. Hasil pemeriksaan hematologi dan kimia darah pasien kucing.

Jenis Pemeriksaan		Hasil Pemeriksaan	Nilai Referensi	Satuan
Hemoglobin		8,5 ^L	9,5-15,0	gr/dL
Hematokrit		28,6 ^L	29,0 – 45,0	%
Eritrosit		5,49 ^L	6,0-10,0	juta/ μ L
MCV		52,1	41,0-54,0	fL
MCH		15,5	13,5-17,5	pg
MCHC		29,7 ^L	31,0-36,0	%
RDW		16,0	-	%
MPV		7,8	-	fL
PDW		17,2	-	
PCT		0,009	-	%
Trombosit		12 ^L	150-600	ribu/ μ L
Leukosit		9,9	5,5 – 19,5	ribu/ μ L
Neutrofil	R	39,4	35,0-75,0	%
	A	3,9	2,5 – 12,5	ribu/ μ L
Basofil	R	0,0	0,0 – 1,0	%
	A	0,0	0,0-0,1	ribu/ μ L
Eosinofil	R	5,0	2,0-12,0	%
	A	0,5	0,0-1,5	ribu/ μ L
Limfosit	R	50,2	20,0-55,0	%
	A	5,0	1,5-7,0	ribu/ μ L
Monosit	R	5,4 ^H	0,0-4,0	%
	A	0,5	0,0-0,85	ribu/ μ L
SGPT/ALT		HH	28,0-76,0	IU/L
SGOT/AST		HH	5,0-55,0	IU/L
Albumin		2,63	2,4 – 4,1	gr/dL
BUN		14,79 ^L	15,0 – 34,0	mg/dL
Creatinin		2,4 ^H	0,8 – 2,3	mg/dL
Glukosa		82,4	70,0-150,0	mg/dL
Kolesterol total		63,77 ^L	82,0-218,0	mg/dL

Keterangan: H = high, L = low. Pemeriksaan hematologi menggunakan metode automatic hematologi analyzer, impedance Mindray BC-2800Vet. Pemeriksaan kimia darah menggunakan metode semi-automatic blood chemistry analyzer Caretium NB-201 reagen Stanbio. Referensi normal menurut Tilley dkk. dkk. (2016). Nilai SGPT dan SGOT sangat tinggi, tidak terbaca alat.

(2016), Nwoha (2013), Silva dkk., (2009^a) anemia juga ditemukan pada kucing yang diinokulasi *Tripanosoma* secara eksperimental.

Nilai SGPT dan SGOT yang sangat tinggi dan hipokolesterolaemia mengarah pada kerusakan hepatosit penyakit hati primer seperti hepatitis aktif-kronis, *cholangiohepatitis*, *hepatotoxic*. Peningkatan tersebut tidak mengarah pada kerusakan hepatosit sekunder dari penyakit ekstrahepatik seperti pancreatitis, penyakit gastrointestinal, periodontal, endokrin maupun penyakit jantung, berdasarkan temuan klinis dan laboratorium lainnya. Penyebab hipokolesterolaemia lain yaitu *portosystemic shunt* maupun malnutrisi berat. Diperlukan pemeriksaan lanjutan berupa alkalin phosphatase, gamma GT,

dan bilirubin untuk menggambarkan gangguan hati yang lebih spesifik. Penurunan BUN dapat disebabkan oleh *hepatic failure* maupun malnutrisi. Peningkatan creatinin mengarah pada azotemia yang perlu dibedakan antara pre-renal, renal, maupun post-renal azotemia dengan pemeriksaan urinalisis dan *ultrasonography* (USG) (Villiers dkk, 2016).

Tripanosomiasis dan infeksi FIV menyebabkan beberapa manifestasi klinis yang sama, yang juga ditemukan pada kasus ini baik dari hasil pemeriksaan klinis maupun laboratorium, antara lain uveitis, penurunan massa otot, anemia, dan periportal hepatitis (Silva dkk. 2009^a; Greene, 2012; Nwoha, 2013; Misra dkk. 2016). Tidak menutup kemungkinan adanya asosiasi antara

infeksi FIV dengan tripanosomiasis, dimana FIV diduga termasuk dalam tahap kronis asimtomatis yang menyebabkan disfungsi imun sehingga kucing rentan terhadap infeksi lain baik bakteri, virus maupun parasit. Kedua penyakit tersebut juga berpotensi meningkatkan kerusakan fungsi organ dan beresiko menimbulkan kematian yang lebih besar daripada infeksi tunggal.

Tripanosomiasis pada kasus ini lebih akut daripada infeksi FIV. Periode prepaten pada kucing yang diinokulasi tripanosoma secara eksperimental adalah 5-15 hari pasca infeksi *Trypanosoma evansi* dan 5 hari pasca infeksi *Trypanosoma brucei* serta 44 hari pada kucing yang diberi makan mencit yang terinfeksi *Trypanosoma brucei*. Kematian kucing terjadi pada 40-56 hari pasca infeksi *T. evansi* secara eksperimental dan 22-26 hari pasca infeksi *T. brucei* secara eksperimental (Bowman, 2002). Diagnosa FIV yang menggunakan *rapid test* merupakan deteksi antibody, dimana antibodi terbentuk setelah 60 hari terpapar virus dan pada infeksi persisten FIV (Greene, 2012). Hal ini menjadi pertimbangan dalam membuat rencana terapi.

Terapi tripanosomiasis yang disarankan adalah injeksi *dimenazine aceturat* 3.5 mg.kg⁻¹ q24 jam selama 5 hari berturut-turut. Efektivitas *dimenazine aceturat* mencapai 85.7% pada kucing yang terinfeksi *Trypanosoma sp* secara eksperimental (Silva dkk, 2009^b; Greene, 2012; Nwoha, 2013). Pemberian *dimenazine aceturat* pada 3-7 hari pasca infeksi *T. evansi* secara eksperimental menghasilkan kesembuhan yang permanen. Keterlambatan pemberian *dimenazine aceturat*, lebih dari 14 hari pasca infeksi *T. evansi* secara eksperimental akan menimbulkan kekambuhan akibat *T. evansi* yang telah menginvasi jaringan otak sedangkan *dimenazine aceturat* tidak dapat melewati barrier otak. Kekambuhan tripanosomiasis juga dapat disebabkan oleh resistensi *Trypanosoma* terhadap (Silva dkk, 2009^b). Reinfeksi memungkinkan terjadi apabila kucing masih dalam lingkaran siklus hidup *Trypanosoma sp*. Terapi supportif juga dipertimbangkan untuk memperbaiki kondisi yang diakibatkan oleh tripanosomiasis maupun infeksi FIP seperti infus intravena yang mengandung glucose, antibiotik spektrum luas yang terdistribusi sampai jaringan mata namun

aman untuk fungsi hati, hepatoprotektan, preparat immunosupportif dan eritrofoetin.

Diperlukan investigasi lebih lanjut mengenai spesies *Trypanosoma* yang ditemukan pada kasus, patogenesitas terhadap kucing dan rute infeksi untuk mencegah reinfeksi, penularan terhadap kucing lain maupun adanya potensi zoonosis.

Kesimpulan

Akumulasi fibrin di dalam anterior chamber yang bersifat progresif-bilateral disertai dengan *aqueous flare* dan normal retina merupakan gambaran anterior uveitis sebagai gejala klinis yang menciri dari tripanosomiasis dan infeksi *Feline Immunodeficiency Virus* pada kucing.

Ucapan Terima kasih

Penulis berterima kasih kepada drh. Bagus Brahmanto Aji G., M.Sc dari PDHB Dji'o Pet Care & Vet dan drh. Sugiyono, M.Sc dari Departemen Patologi FKH UGM atas diskusi dalam penulisan naskah.

Daftar Pustaka

- Bowman, Dwaight D., Hendrix, Charles M., Lindsay, David S., Barr, and Stephen C. (2002). *Feline Clinical Parasitology*. Wiley-Blackwell, Iowa.
- Cucos, C., Ionascu, I., Mocanu, J., and Militaru, M. (2015). Neurological and Ocular Form of Toxoplasmosis in Cats. *Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine*, 61(1):95-97.
- Colitz, C. M. H. (2005). *Feline Uveitis: Diagnosis and Treatment. Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 20(2):117-120.
- Davidson, M., and English, R. (1998). Feline Ocular Toxoplasmosis. *Veterinary Ophthalmology*. 1:71-80.
- Davidson, M. G. (2000). Toxoplasmosis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 30(5): 1051-1062.
- Ettinger, Stephen J., Feldman, Edward C., Cote, Etienne. (2017). *Textbook of veterinary Internal Medicine: Disease of the Dog and the Cat 8th Edition*. Elsevier Saunders, Missouri.

- Greene Craig E. (2012). *Infectious Diseases of the Dog and Cat 4th Edition*. Elsevier Saunders, Missouri.
- Tilley, Patric, L., Francis, W.K. and Smith, Jr. (2016). *Blackwell's five-minute veterinary consult: canine and feline*, 6th Edition. Ames, Iowa:Blackwell.
- Misra, K.K., Roy, S., and Choudhury, A. (2016). Biology of Trypanosoma (Trypanozoon) evansi in experimental heterologous mammalian hosts. *Journal of parasitic diseases : official organ of the Indian Society for Parasitology*, 40(3): 1047-1061.
- Nurchahyo, W. (2017). *Penyakit Surra pada Hewan dan Ternak*. Samudra Biru, Yogyakarta. ISBN 978-602-5610-17-2 (In Press).
- Nwoha, I. (2013). A Review on Trypanosomosis in Dogs and Cats. *African Journal of Biotechnology*. 12: 6432-6442.
- Parry, N., & Maggio, F. (2007). Uveitis in cats. *Companion Animal*, 12(3): 70-78.
- Shukla, A., and Pinard, C. (2012). *Feline Uveitis*. Compendium (Yardley, PA). 34:E1-E9.
- Silva, A.S., Pierezan, F., Wolkmer, P., Costa, M.M., Oliveiro, C.B., Tonin, A., Santurio, J., Lopes, S., and Monteiro, S. (2009^a). Pathological Findings Associated with Experimental Infection by Trypanosoma evansi in Cats. *Journal of comparative pathology*. 142:170-176.
- Silva, A.S., Zanette, R.A., Wolkmer, P., Costa, M.M., Garcia, H., Lopes, S., Santurio, J., Teixeira, M., and Monteiro, S. (2009^b). Diminazene aceturate in the control of Trypanosoma evansi infection in cats. *Veterinary parasitology*. 165:47-50.
- Townsend, W. M. (2008). Canine and Feline Uveitis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 38(2): 323-346.
- Villiers, E., Ristic, J., and Blackwood, D.L. (2016). *BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology*, 3rd Edition. John Wiley & Sons.