



BULETIN 2024 VETERINER

**INFORMASI KESEHATAN HEWAN DAN
KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER**

Vol. XXXIX No. 105 Desember 2024 ISSN : 0854-901X

JAMINAN MUTU PELAYANAN

SNI ISO 17025:2017 SNI ISO 9001:2015

SNI ISO 37001:2016 SNI ISO 45001:2018

SNI ISO 35001:2019



**Diterbitkan Oleh :
Balai Besar Veteriner Denpasar
2024**

BULETIN VETERINER
INFORMASI KESEHATAN HEWAN DAN KESEHATAN MASYARAKAT
VETERINER

ISSN : 0854-901X

Penanggung Jawab

Kepala Balai Besar Veteriner Denpasar
Dr. drh. I Ketut Wirata, M. Si.

Ketua Dewan Redaksi

drh. I.G.N.A.Wisnu A.S, M.Si.

Dewan Redaksi :

drh. I Ketut Narcana, M.Si
drh. I Ketut Eli Supartika, M.Sc.
drh. A.A. Sagung Dewi, M.P.

Sekretariat Redaksi

drh. Vera Paulina Sitanggang, M.Si.
drh. Ni Ketut Harmini Saraswati
Ida Ayu Ratih, S.P., M.Sc.
I Putu Setia Budi, S.Kom
Gede Surya Adiwiguna, S.Kom

Penerbit

Balai Besar Veteriner Denpasar

Alamat Redaksi

Jl. Raya Sesetan 266, Po. Box 3322
Telp (0361) 720862
e-mail : bbvetdenpasar@pertanian.go.id
Denpasar Bali 80223

BULETIN VETERINER

INFORMASI KESEHATAN HEWAN DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER

Volume XXXIX No. 105

DESEMBER 2024

ISSN : 0854-901 X

DAFTAR ISI

Halaman

1. PENTINGNYA “BOOSTER” UNTUK KEBERHASILAN VAKSINASI PENYAKIT JEMBRANA

(The Importance of Booster for The Success of Jembrana Disease Vaccination)

Oleh : Agustini, N.L.P¹., Nanda Laksmi, L.K², Frimananda, P.B³., Purnawati, D⁴., Roy, M⁵., dan Ratih, I.A⁶. **1-12**

2. PENGEMBANGAN KULTUR SEL FIBROBLAST EMBRIO AYAM

(Development of Chicken Embryo Fibroblast Cell Culture)

Oleh : Nanda Laksmi, L.K. ¹, Agustini, N.L.P. ², Purnawati, D. ³, Frimananda, P.B. ⁴, Roy, M⁵. **13-22**

3. KASUS SEPTICAEMIA EPIZOOTICA PADA SAPI DI KABUPATEN SIKKA PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR

(Case of Septicaemia Epizootica in Cattle in Sikka District, East Nusa Tenggara Province)

Oleh : Narcana, I.K. ¹, Nurlatifah, I. ², Dewi, A.A.S. ³ **23-34**

4. KAJIAN TERHADAP METODE PENGUJIAN MINI-ANION EXCHANGE CENTRIFUGATION TECHNIQUE DAN / ATAU ELISA SURRA SEBAGAI SALAH SATU PERSYARATAN LALU-LINTAS HEWAN DALAM PERATURAN MENTERI PERTANIAN RI NOMOR 17 TAHUN 2023

(Study of Testing Methods mini-Anion Exchange Centrifugation Technique and / or ELISA Surra as One of the Requirements for Animal Traffic In the Regulation of the Minister of Agriculture of the Republic of Indonesia Number 17 of 2023)

Oleh : Wisnu Adi Saputra, I G.N.A . **35-44**

5. PROFIL ANTIBODI ANTRAKS DI PROVINSI BALI, NUSA TENGGARA BARAT DAN NUSA TENGGARA TIMUR TAHUN 2023

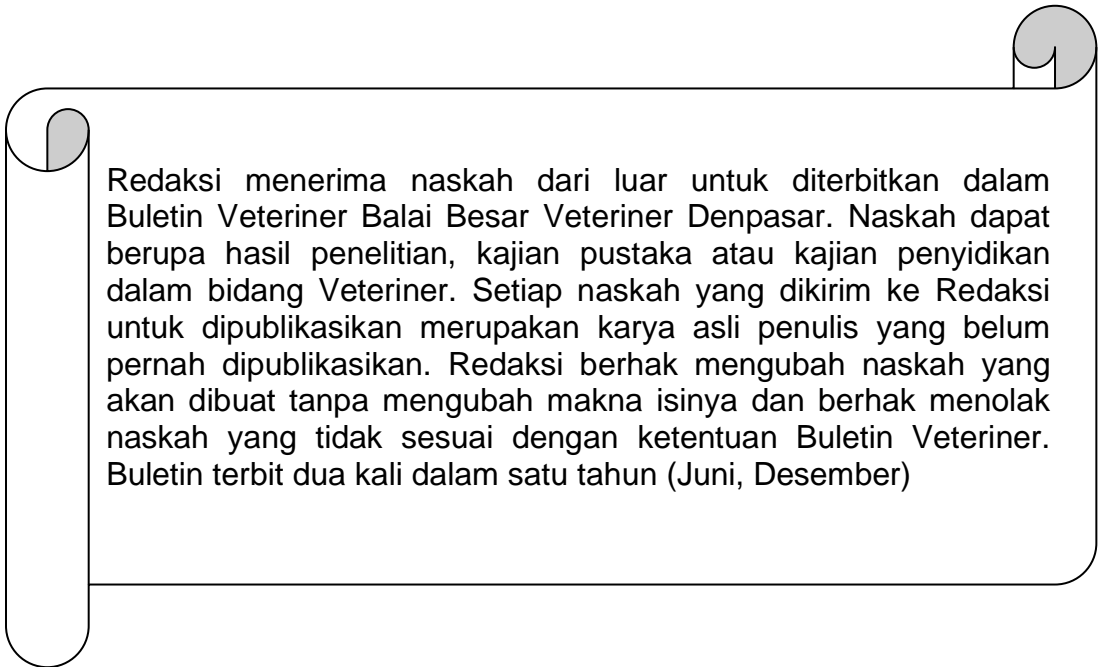
(Anthrax Antibody Profile in Bali, West Nusa Tenggara and East Nusa Tenggara Provinces in 2023)

Oleh : Dewi, A.A.S.¹; A. A.G. Semara Putra²; I K. Narcana³; M.Rohmanto⁴; R.Cahyo Saputro⁵ **45-58**

6. UJI TOKSIKOLOGI PADA HIJAUAN PAKAN TERNAK: BERBASIS KEJADIAN KERACUNAN NITRAT PADA SAPI BALI

(Toxicology Test on Forage: Incident Based of Nitrate Poisoning in Bali Cattle)

Oleh : M Septiani¹, IKE Supartika², FI Kusuma³, IWA Muliadi⁴ **59-71**



Redaksi menerima naskah dari luar untuk diterbitkan dalam Buletin Veteriner Balai Besar Veteriner Denpasar. Naskah dapat berupa hasil penelitian, kajian pustaka atau kajian penyidikan dalam bidang Veteriner. Setiap naskah yang dikirim ke Redaksi untuk dipublikasikan merupakan karya asli penulis yang belum pernah dipublikasikan. Redaksi berhak mengubah naskah yang akan dibuat tanpa mengubah makna isinya dan berhak menolak naskah yang tidak sesuai dengan ketentuan Buletin Veteriner. Buletin terbit dua kali dalam satu tahun (Juni, Desember)

SALAM REDAKSI

Puji Syukur kami panjatkan ke hadapan Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat karunia-Nya Buletin Veteriner Balai Besar Veteriner Denpasar edisi Desember 2024 ini dapat diterbitkan tepat pada waktunya.

Pada Buletin Veteriner edisi kali ini, kami mengulas beberapa hal diantaranya: Booster Untuk Keberhasilan Vaksinasi Penyakit Jembrana, Pengembangan Kultur Sel Fibroblast Embrio Ayam, Kasus *Septicaemia Epizootica* Pada Sapi Di Kabupaten Sikka Provinsi Nusa Tenggara Timur, Kajian Terhadap Metode Pengujian *Mini-Anion Exchange Centrifugation Technique* Dan / Atau Elisa Surra Sebagai Salah Satu Persyaratan Lalu-Lintas Hewan Dalam Peraturan Menteri Pertanian Ri Nomor 17 Tahun 2023, Profil Antibodi Antraks Di Provinsi Bali, Nusa Tenggara Barat Dan Nusa Tenggara Timur Tahun 2023, Uji Toksikologi Pada Hijauan Pakan Ternak: Berbasis Kejadian Keracunan Nitrat Pada Sapi Bali.

Pada akhirnya, kami mengucapkan terima kasih kepada tim redaksi, penulis dan semua pihak yang telah mendukung mulai dari proses penulisan, penyuntingan, sampai dengan penerbitan Buletin Veteriner ini. Kritik dan saran untuk penyempurnaan Buletin Veteriner ini selalu kami terima dengan terbuka, agar senantiasa dapat memberikan manfaat dan inspirasi kepada semua pihak, khususnya bagi pembaca.

Denpasar, Januari 2025
Kepala,

Dr. drh. I Ketut Wirata, M.Si
NIP 197503232008011017

PENTINGNYA “*BOOSTER*” UNTUK KEBERHASILAN VAKSINASI PENYAKIT JEMBRANA

*(The Importance of Booster for The Success of Jembrana
Disease Vaccination)*

Agustini, N.L.P¹., Nanda Laksmi, L.K¹, Frimananda, P.B¹.,
Purnawati, D¹., Roy, M¹., dan Ratih, I.A¹.

Balai Besar Veteriner Denpasar Jl. Raya Sesetan No. 266,
Denpasar Selatan, Denpasar, Bali

ABSTRAK

Penyakit Jembrana/*Jembrana disease* (JD) merupakan salah satu penyakit virus yang spesifik menyerang sapi Bali, disebabkan oleh *Jembrana Disease Virus* (JDV) yang termasuk dalam *family Retroviridae*, *subfamily Orthoretrovirinae* dan genus *Lentivirus*. Saat ini JD sudah menyebar ke beberapa provinsi di Indonesia dan tingkat kejadian penyakit juga semakin meningkat. Salah satu upaya pencegahan dan pengendalian JD adalah dengan cara vaksinasi. Saat ini vaksin JD yang digunakan untuk pencegahan dan pengendalian JD di Indonesia adalah vaksin JD-Vet produksi Balai Besar Veteriner Farma Surabaya. Permasalahan yang terjadi saat ini adalah vaksinasi JD sudah dilakukan namun kasus JD masih terus terjadi. Untuk menjawab pertanyaan tersebut Balai Besar Veteriner Denpasar sebagai laboratorium rujukan penyakit Jembrana melakukan komunikasi personal dengan beberapa dinas yang membidangi fungsi peternakan dan kesehatan hewan serta unit pelaksana teknis (UPT) perbibitan yang mengirimkan sampel untuk uji Elisa JD ke BBVet Denpasar. Dari hasil komunikasi tersebut diketahui bahwa vaksinasi sudah dilakukan namun tidak dilakukan *booster* sesuai anjuran. Hal ini terjadi karena beberapa alasan antara lain: kurang pahamnya petugas bahwa vaksinasi JD harus disertai *booster*.

Sulitnya melakukan *booster* karena ternak dipelihara dengan cara dilepas, kurangnya anggaran pengadaan vaksin sehingga jumlah vaksin yang tersedia tidak mencukupi untuk pelaksanaan *booster*. Hasil penelitian dari beberapa ahli menemukan bahwa *booster* sangat penting dilakukan untuk keberhasilan vaksinasi karena durasi kekebalan terhadap virus penyakit Jembrana setelah vaksinasi lapang pada sapi Bali relative pendek, sehingga upaya pengebalan menggunakan vaksin JD inaktif konvensional perlu dilakukan *booster*.

Kata kunci: penyakit Jembrana, vaksinasi, *booster*

ABSTRACT

Jembrana disease (JD) is a viral disease that specifically attacks Bali cattle, caused by the Jembrana Virus (JDV) which belongs to the Retroviridae family, Orthoretrovirinae subfamily and Lentivirus genus. Currently, JD has spread to several regions in Indonesia and the incidence of the disease is also increasing. One effort to prevent and control JD is by vaccination. Currently the JD vaccine used to prevent and control JD in Indonesia is the JD-Vet vaccine produced by the Pusat Veteriner Farma Surabaya. The current problem is that JD vaccination has been carried out, but JD cases are still occurring. To answer this question, the Disease Investigation Centre Denpasar as the Jembrana disease reference laboratory carried out personal communication with several personil in charge of animal husbandry and animal health services as well as the UPT for breeding which sent samples for the Elisa JD test to BBVet Denpasar. From the results of this communication, it was discovered that vaccination had been carried out, but the booster had not been given as recommended. This happens for several reasons, including lack of understanding by officers that JD vaccination must be accompanied by a booster, it is difficult to carry out boosters because livestock are raised by releasing them, there is a lack of budget for vaccine procurement so that the number of vaccines available is not sufficient for implementing boosters. The results of research from

several experts found that a "booster" is very important for successful vaccination because the duration of immunity to the Jembrana disease virus after field vaccination in Bali cattle is relatively short, so that immunization efforts using conventional inactivated JD vaccine need to be carried out with a "booster".

Keywords: *Jembrana disease, vaccination, booste*

PENDAHULUAN

Sapi Bali merupakan salah satu dari tiga ras sapi di dunia, dan merupakan salah satu plasma nutfah Indonesia, Sapi Bali diharapkan mampu membantu memenuhi kebutuhan daging sapi di Indonesia selain daging sapi import., karena sapi Bali memiliki kualitas daging yang cukup bagus. Sapi Bali diminati oleh peternak karena memiliki beberapa keunggulan seperti: tingkat kesuburan reproduksi yang baik dengan persentase beranak mencapai 85%, serta memiliki daya adaptasi tinggi terhadap lingkungan (Samberi et al., 2010). Salah satu permasalahan dalam budidaya sapi Bali adalah kerentanannya terhadap penyakit Jembrana.

Penyakit Jembrana/Jembrana disease (JD) merupakan salah satu penyakit virus yang spesifik menyerang sapi Bali, disebabkan Jembrana disease virus (JDV)

yang termasuk dalam family Retroviridae, subfamily Orthoretrovirinae dan genus Lentivirus (Wilcox et. al., 1992; Chadwick et al., 1995; Anon, 2016). Kasus JD pertama kali dilaporkan terjadi di Desa Sangkar Agung, Kecamatan Negara, Kabupaten Jembrana, Provinsi Bali pada tahun 1964 dan selanjutnya menyebar ke Pulau Sumatra (1976), Kabupaten Banyuwangi, Jawa Timur (1978) dan Pulau Kalimantan seiring dengan adanya lalu lintas sapi Bali ke pulau-pulau tersebut (Soeharsono, 1997; Hartaningsih, 2005). Kasus JD juga dilaporkan terjadi di Provinsi Riau. Hal ini dinyatakan secara resmi dengan diterbitkannya Surat Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia No.180 Tahun 2014 tentang berjangkitnya wabah JD di Kabupaten Rokan Hilir, Bengkalis, Siak dan Kota Dumai.

Sesuai Surat Keputusan Menteri Pertanian Nomor: 678/Kpts/OT.050/11/2021 Balai Besar Veteriner (BB-Vet) Denpasar ditetapkan sebagai Laboratorium Rujukan untuk Penyakit Jembrana. Terkait dengan tugas tersebut, BB-Vet Denpasar berkomitmen untuk “MENJADI LABORATORIUM RUJUKAN PENYAKIT JEMBRANA TERKEMUKA DI INDONESIA” dengan mengemban tugas dan fungsi sebagai: pusat keahlian dan standardisasi, publikasi dan desiminasi informasi, pembuatan dan distribusi bahan standard sebagai acuan pengujian (quality control), dan membangun kolaborasi/kerjasama serta jejaring laboratorium. pengujian.

Dalam upaya pencegahan JD, Balai Besar Veteriner Denpasar telah berhasil mengembangkan vaksin JD yang diberi nama JD Vacc, Sp 15. Mengingat produksi vaksin bukan merupakan tugas pokok dan fungsi BBVet Denpasar, maka pada bulan Pebruari 2010, produksi vaksin JD telah diserahkan ke Balai Besar Veteriner Farma Surabaya. Pasca proses serah terima, telah dilakukan transfer

teknologi dan supervisi produksi vaksin JD di Balai Besar Veteriner Farma Surabaya, oleh staf BBVet Denpasar sehingga proses produksi vaksin JD di Balai Besar Veteriner Farma Surabaya telah mengikuti SOP produksi vaksin yang dibuat oleh BBVet Denpasar dan vaksin JD produksi Balai Besar Veteriner Farma tersebut diberi nama JD-Vet. Vaksin JD-Vet tersebut telah digunakan untuk pencegahan dan pengendalian JD . oleh dinas yang membidangi fungsi peternakan dan kesehatan hewan di Indonesia.

ISU PERMASALAHAN

Penyakit Jembrana masuk ke dalam daftar Penyakit Hewan Menular Strategis (PHMS) sejak tahun 1998 berdasarkan Surat Keputusan Dirjen Peternakan No: 103/TN.510/Kpts/DJP/03.98 yang diperkuat dengan Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia No: 121/KPTS/PK.320/M/03/2023. Sebagai salah satu penyakit hewan Menular strategis di Indonesia (KepMentan 4026/Kpts.OT.140/3/2013, JD merupakan penyakit yang

harus mendapatkan prioritas dalam penanggulangan dan pemberantasannya.

Pencegahan dan pengendalian JD dilakukan antara lain melalui vaksinasi yang telah menjadi prioritas nasional sejak tahun 2015 (Ditkeswan, 2015). Vaksinasi telah terbukti mampu mencegah kematian, mengurangi keparahan dan penularan penyakit yang dibuktikan melalui uji tantang (Hartaningsih et al., 2001, Ditcham et al., 2009).

Dalam beberapa tahun terakhir wabah JD terjadi kembali di wilayah Sumatra antara lain: Bengkulu, Sumatra Utara, Sumatra Selatan dan Sumatra Barat (Guntoro et al., 2018; Nasution et al., 2018; Siswanto et al., 2018; Helmi et al., 2019). Penyebaran JD semakin meluas dengan terjadinya kasus JD pada tahun 2022 -2023 di Provinsi Sulawesi Barat, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, dan Gorontalo. Kejadian JD di daerah baru, akan menyebabkan morbiditas dan mortalitas sangat tinggi. Kematian umumnya terjadi akibat infeksi sekunder, karena virus JD bersifat immunosupresif, menekan respon imun membentuk antibodi sehingga sapi yang

terinfeksi JD akan sangat mudah terinfeksi penyakit lain. Kerugian ekonomi yang tinggi akibat infeksi JD akan terjadi jika keterlambatan penanganan, penularan penyakit terjadi sangat cepat, disertai angka kematian sangat tinggi. Keberadaan JD merupakan salah satu kendala dalam lalu lintas hewan antar pulau, terutama ke daerah bebas JD. Hal ini dilakukan pemerintah untuk mencegah penyebaran JD ke daerah baru, karena sifat “carrier” virus JD berpotensi menyebabkan terjadinya wabah apabila ada faktor predisposisi yang mendukung.

Keberhasilan vaksinasi Jembrana dapat diketahui dengan melakukan pengambilan sampel serum paskavaksinasi untuk selanjutnya dilakukan uji Elisa. Beberapa UPT perbibitan dan dinas yang membidangi fungsi peternakan dan kesehatan hewan telah melakukan vaksinasi JD dan melakukan monitoring paska vaksinasi. Data hasil pengujian Elisa JD terhadap 3.158 sampel serum paskavaksinasi di BBVet Denpasar menunjukkan hanya 378 sampel seropositif JD (Tabel 1).

Tabel 1. Data hasil uji Elisa JD sampel pasif di BBVet Denpasar tahun 2021-2023

No	No Sampel	Status Vaksinasi	Jumlah Sampel	Jumlah Seropositif	Proporssi Seropositif
1	P06210010	vaksin	202	22	10,9%
2	P06210081	Vaksin	243	8	3,3%
3	P06210370	Vaksin	100	25	25%
4	P06220053	Vaksin	151	26	17,2%
5	P06220074	Vaksin	127	0	0%
6	P06221172	Vaksin	304	74	24,3%
7	P062201121	Vaksin	55	0	0%
8	P06221411	Vaksin	266	15	5,6%
9	P06221500	Vaksin	130	16	12,3%
10	P06221542	Vaksin	50	15	30%
11	P06230005	Vaksin	120	0	0%
12	P06120308	Vaksin	510	0	0%
13	P06230992	Vaksin	40	0	0%
14	PR517101230306	Vaksin	40	0	0%
15	PR517101230459	Vaksin	180	69	38,3%
16	PR517101230501	Vaksin	150	8	5,3%
17	PR517101230487	Vaksin	200	68	34%
18	PR517101230502	Vaksin	100	10	10%
TOTAL			3.158	378	11,97%

Dari hasil uji Elisa menunjukkan vaksinasi JD sudah dilakukan, namun proporsi seropositif JD sangat rendah sehingga kasus JD masih berpotensi terjadi.

PEMBAHASAN

Berdasarkan isu permasalahan tersebut di atas maka sebagai laboratorium rujukan penyakit Jembrana BB-Vet Denpasar berkewajiban memberikan solusi terkait permasalahan yang terjadi. Untuk menjawab isu permasalahan yang ada telah dilakukan komunikasi personal dengan staf UPT/dinas /pengirim sampel. Dari hasil komunikasi personal diperoleh informasi bahwa, vaksinasi JD hanya dilakukan satu kali tanpa booster. Adapun beberapa alasan tidak dilakukannya booster antara lain: sapi sudah

pernah divaksinasi JD tahun sebelumnya sehingga tidak perlu booster, tidak tahu bahwa vaksinasi JD harus disertai booster satu bulan setelah vaksinasi pertama, sulit melakukan booster karena sistem pemeliharaan sapi yang umumnya dilepas, dan keterbatasan dana pengadaan vaksin serta biaya operasional vaksinasi sehingga booster tidak bisa dilakukan.

Vaksin JD yang beredar di Indonesia saat ini adalah vaksin JD-Vet produksi Balai Besar Veteriner Farma Surabaya dengan registrasi Kementan RI No : D.19035899VKC: merupakan

vaksin inaktif yang diproduksi dari suspensi limpa sapi Bali terinfeksi JD, diinaktivasi dengan Triton X-100 dan diemulsifikasikan dalam mineral oil adjuvant sampai membentuk fase air dalam minyak (water-in oil, W/O) (Hartaningsih et al., 2001; Ditcham et al., 2009).

Dalam peraturan persyaratan teknis lalu lintas sapi Bali bibit disebutkan bahwa pemberian vaksin JD dosis pertama dilakukan maksimal 1 bulan sebelum sapi dilalulintaskan, dilanjutkan dengan dosis kedua di daerah tujuan (Ditkeswan 2015). Pemberian vaksin kedua (booster) penting untuk memperkuat efek dari vaksinasi pertama. Hal ini diperkuat dengan penelitian Steven et al., 2009 menemukan bahwa antibodi yang diinduksi oleh vaksin inaktif pada sapi tidak bertahan lama sehingga perlu dilakukan booster. Hasil kajian eksperimental Agustini et al., 2015 menemukan bahwa kemampuan vaksin JD menggertak antibodi relatif rendah sehingga perlu dilakukan booster. Pentingnya booster untuk keberhasilan vaksinasi juga disampaikan oleh Ardiawan et al., 2023 dalam penelitiannya

menemukan bahwa durasi kekebalan terhadap virus JD setelah vaksinasi lapang pada sapi Bali relatif pendek, sehingga upaya pengebalan menggunakan vaksin JD inaktif konvensional perlu dilakukan booster.

Immunogenisitas vaksin dapat dipengaruhi oleh proses inaktivasi antigen yang dapat merusak epitope kunci sehingga antigen tidak mampu mengirimkan sinyal untuk menginduksi kekebalan protektif (Spickler & Roth, 2003; Cunningham et al., 2006). Selain itu vaksin inaktif diketahui kurang menstimulasi sel T helper, sehingga produksi interleukin-2 (IL-2) terhambat yang mengakibatkan terganggunya differensiasi sel B dan pembentukan sel memori (Bali dan Rafi., 2011). Mengingat kompleksitas produksinya, vaksin JD juga tidak lepas dari beberapa kemungkinan tersebut, sehingga untuk mencapai kekebalan yang memadai pemberian vaksin JD inaktif memerlukan ulangan booster.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Masih muncul kasus JD

pada sapi yang divaksinasi tanpa booster

2. Vaksinasi JD tanpa booster dilakukan karena beberapa alasan teknis dan non teknis

Saran

1. Vaksinasi ulang (booster) penting dilakukan untuk keberhasilan vaksinasi JD.
2. Perlu dibuat standar operasional prosedur (SOP) tentang teknis pelaksanaan vaksinasi JD dan waktu pelaksanaan booster, serta monitoring paskavaksinasi JD sehingga menghasilkan titer antibodi protektif.
3. Perlu disediakan anggaran yang memadai untuk pengadaan vaksin JD dan biaya operasional vaksinasi sehingga booster dapat terlaksana.
4. Perlu dilakukan sosialisasi kepada masyarakat agar mengumpulkan, dan mengikat ternaknya untuk kelancaran pelaksanaan vaksinasi ulang (booster)
5. Untuk lebih menjadi perhatian konsumen/petugas dinas dan vaksinator, dihimbau kepada produsen vaksin JD agar menuliskan

dengan jelas pentingnya pelaksanaan booster satu bulan paskavaksinasi pertama pada leaflet vaksin JD yang diproduksi, dan memberikan highlight atau menulis dengan huruf besar dan ditebalkan.

DAFTAR PUSTAKA

Abbas KA, Lichtmant AH, Pillai S. 2007. Cellular and Molecular Immunology. 6th Ed. WB Saunders Company.

Agustini, NLP., dan Hartaningsih, N. (2002.) Uji Elisa untuk Mendeteksi Antibodi Lentivirus Menggunakan Antigen Rekombinan J Gag-6. Manual Diagnosa Laboratik JD. Materi Kursus Peningkatan Metode Diagnosa JD ACIAR-BPPV VI.

Agustini, NLP, and Wisindie, R (2015) *The Comparative Elisa Test for Detection Antibodies of Jembrana Disease*. Buletin Veteriner BBVet Denpasar XXVII (87), pp. 1-9.

Agustini, NLP., Tenaya, IWM., and Supartika, I.K.E. (2015) Uji Efikasi Vaksin Jembrana. Buletin Veteriner BBVet Denpasar XXVII (86), pp. 1-16.

- Anonymous, 2015. Pedoman Pengendalian dan Penanggulangan Penyakit Jembrana. Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan.
- Ardiawan, F. Nadia Poetri, O., Khusni Hidayanto, N., Rumecko, A., Pradana, D., Setyaningsih, S., 2023. Tanggap Antibodi Capsid Virus Penyakit Jembrana Setelah Vaksinasi Lapang Sapi Bali di Kabupaten Sarolangun, Jambi. *Acta Veterinaria Indonesia* Vol. 11, No,2: 167-174..
- Chadwick, B.J., Coelen, R.J., Wilcox, G E., Sammels, L M., Kertayadnya, G.(1995). *Nucleotide Sequence Analysis of Jembrana Disease Virus: A Bovine Lentivirus Associated with an Acute Disease Syndrome. Journal of General Virology*. 76: 1637-1650.
- Bali P. and Rafi, A. (2011) *Immunological Mechanism of Vaccination. Nature Immunology*, 12(6), pp. 509-517.
- Cunningham, A.L., Nathalie, G., Oberdan, L., Leonard., R.F., Richard, S., Beatrice, L., Doherty, M., and Peter, S. (2016) *Vaccine Development: From Concept to Early Clinical Testing Vaccine* 34(52), pp.6655-6664.
- Ditcham, W.G.F. Joshua, R.L., Dobson, R.J., Hartaningsih, N ., Wilcox, G.E and Desport, M. (2009). *Vaccination Reduces The Viral Load and The Risk of Transmission of Jembrana Disease Virus in Bali Cattle. Virology*, 386(2), pp. 317-324. Availabe at : <http://doi.org/10.1016/j.virol.2009.02.008>.
- Ditkeswan. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan (2019) Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan 2019. *Livestock and Animal Health Medical Association* (KIVNAS PDHI) Jakarta: *Indonesian Veterinary Medical Association*, pp. 471-473.
- Ditkeswan. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan (2015). Pedoman Pengendalian dan Penanggulangan Penyakit Jembrana, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian, Jakarta: Direktorat Kesehatan Hewan.
- Guntoro, T., Sulinawati and Ferro (2018) *Investigasi Penyakit Jembrana di*

- Kabupaten Bengkulu Selatan
Bengkulu: In Indrawati, A,
Priosoeryanto BP, Murtini S
Tiuria R, Idris S(ed).
*Proceeding of the 20th
Federation of Asian Veterinary
Asscociations (FAVA)
Congress and the 15th National
Veterinary Scientific
Conference of Indonesian
Veterinary Medical
Asscociation (KIVNAS PDHI).*
Jakarta Indonesian Veterinary
Medical Asscociation, pp. 471-
473.
- Hartaningsih, N., Sulistyana,
K., and G.E. Wilcox. (1996).
*Serological Test for JDV
Antibodies and Antibody
Respons of Infected Cattle. In
Jembrana Disease and the
Bovine Lentiviruses, ACIAR
Proceedings No.75, page 79-
84.*
- Hartaningsih, N., Dharma,
D.M.N., Soeharsono, S and
Wilcox, G.E (2001). *The
Induction of a Protective
Immunity Against Jembrana
Disease in Cattle by
Vaccination with Inactivared
Tissue-Derived Virus Antigens.*
*Veterinary Immunologi and
Immunopathology*, 78(2), pp.
163-176.
- Hartaningsih, N. (2005).
Laporan Hasil Investigasi JD di
Kalimantan Timur. Laporan
Tahunan Balai Penyidikan dan
Pengujian Veteriner Denpasar.
Putra, AAG. 2003. Peranan
Hewan Karier JD Dalam
Penularan Penyakit di
Lapangan. *Buletin Veteriner.*
Balai Penyidikan dan Pengujian
Veteriner Regional VI
Denpasar. XV (63) :16-26.
- Helmi, Anindita, Mudia, Ibnu,
Budi, S., Yuli, M dan
Rahmanitia (2019). Penyidikan
Kejadian Kematian Sapi Bali
Diduga disebabkan oleh
Jembrana Diseases Virus di
Kabupaten Dharmasraya,
Provinsi Sumatra Barat pada
tanggal 28-29 Januari 2019: In
Putra AAG, Wiyono A,
Sudarmika E, Nugroho WS,
Wibawa H (ed). Prosiding
Penyidikan Penyakit Hewan
Jakarta: Direktorat Kesehatan
Hewan, Ditjen Peternakan dan
Kesehatan Hewan,
Kementerian Pertanian, pp. 11-
20.
- Anonymous (2016) .
*International Committee on
Taxonomy of Viruses (ICTV) .
Code Assigned: Jembrana
Disease Virus.*
- Nasution, S.S., Hutagaol, N.M,
and Purba, J.R. (2028).
Investigasi Outbreak Penyakit
Jembrana di Kabupaten

- Padang Lawas, Provinsi Sumatra Utara Tahun 2017. In: Indrawati A, Priosoeryanto BP, Murtini S, Tiuria R, Idris S (ed). *Proceeding of the 20th Federation of Asian Veterinary Associations (FAVA) Congress and the 15th National Veterinary Scientific Conference of Indonesian Veterinary Medical Association (KIVNAS PDHI). Jakarta Indonesian Veterinary Medical Association*, pp: 459-462.
- Samberi, K., Ngadiyono, Y.N. and Sumadi (2010) "Estimasi Dinamika Populasi dan Produktifitas Sapi Bali di Kabupaten Kepulauan Yapen , Provinsi Papua", *Buletin Peternakan* , pp169-177.
- Siswanto, J., Yulianti, E. And Guntoro, T. (2018). Investigasi Outbreak Penyakit Jembrana di Kecamatan Bayung Lincir, Kabupaten Musi Banyu Asin. In: Indrawati, A. Priosoeryanto BP., Murtini, S. Tiuria R, Idris, S. (ed) *Proceeding of the 20th Federation of Asian Veterinary Association (FAVA) Conggres and 15th National Veterinary Sientific Conference of Indonesian Asscociation (KIVNAS PDHI) Jakarta Indonesian Veterinary Medical Asscociation*, pp. 443-447.
- Soeharsono, S., Wilcox, G.E., Putra, A.A, Hartaningsih, N, Sulistyana K and Tenaya, M. 1995. *The Transmission of Jembrana Disease a Lentivirus Disease of Bos Javanicus Cattle. Epidemiology and Infection* 115: 367:374.
- Soeharsono, S. Temadja, I.G.N. Teken (1997). *The Occurency and History Jembrana Disease in Indonesia* . In C.J. Wilcox GE, Soeharsono s. Dharma DMN (ed). *Jembrana Disease and The Bovine Lentiviruses. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research*, pp. 2-4
- Spickler, A.R. and Roth, J.A.(2003), *Adjuvants in Veterinay Vaccines: Modes of Action and Adverse Effects. Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(3) pp.273-281
- Stevens , E.T., Zimmerman, A.D., Butterbugh, R.B., Berling, K., Scholz, D., Rhodes, J., and Chase, C.C.L (2009). *The Induction of a Cell Mediated Immune Respon to Bovine Viral Diarrhea Virus with an Adjuvanted Inactivated Vaccine* . *PubMed Vet Ther* 2009 winter 10 (4) E: 1-8, PMID 20425730
- Wilcox G.E., Kertayadnya G., Hartaningsih N., Dharma

D.M.N., Soeharsono S., and
Robertson T (1992). *Evidence
for Viral Aetiology of Jembrana
Disease in Bali Cattle.*

Veterinary Microbiology 33:
367-374

PENGEMBANGAN KULTUR SEL FIBROBLAST EMBRIO AYAM

(Development of Chicken Embryo Fibroblast Cell Culture)

Nanda Laksmi, L.K.⁽¹⁾, Agustini, N.L.P.⁽²⁾, Purnawati, D.⁽³⁾,
Frimananda, P.B.⁽⁴⁾, Roy, M.⁽⁵⁾.

Balai Besar Veteriner Denpasar Jl. Raya Sesetan No. 266,
Denpasar Selatan, Denpasar, Bali

ABSTRAK

Kultur sel *Chicken Embryo Fibroblast* (CEF) merupakan teknik laboratorium fundamental yang banyak digunakan dalam berbagai bidang. Penelitian ini dilakukan dalam rangka refreshment keilmuan di bidang sel kultur khususnya pada tahap awal proses pembuatan dan penumbuhan sel kultur primer fibroblast embrio ayam/*chicken embryo fibroblast* (CEF) yang nantinya akan dapat dimanfaatkan dan diterapkan pada Laboratorium Virologi Balai Besar Veteriner Denpasar. Sel primer CEF disiapkan dari telur ayam bertunas berumur 9-11 hari yang bebas patogen. Media *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), *Foetal Bovine Serum* (FBS), dan antibiotik-antimikotik diperlukan dalam kultur sel CEF. Sel kemudian dikultur pada suhu 37°C dalam incubator CO₂ sampai mencapai konfluen dan diamati. Pertumbuhan sel kultur primer CEF yang telah ditumbuhkan menunjukkan hasil sel dapat tumbuh dan melekat dengan baik pada plat. Kondisi sel yang sehat dan konfluen dengan bentuk tanpa klonjong dan beraturan serta tidak terjadi kontaminasi. Sel kultur primer CEF yang berhasil ditumbuhkan nantinya dapat digunakan untuk berbagai tujuan seperti pengujian kualitas vaksin.

Kata Kunci: kultur sel, *Chicken Embryo Fibroblast* (CEF).

ABSTRACT

Chicken Embryo Fibroblast (CEF) cell culture is a fundamental laboratory technique widely used in various fields. This research was conducted as a scientific refreshment in the field of cell culture, specifically at the initial stage

of the process of creating and growing primary chicken embryo fibroblast (CEF) cell cultures, which will later be utilized and applied in Laboratory of Virology, Veterinary Disease Investigation Center, Denpasar. Primary CEF cells are prepared from pathogen-free 9-11 day-old incubated chicken eggs. Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), Foetal Bovine Serum (FBS), and antibiotics-antimycotics are required in CEF cell culture. The cells are then cultured at 37°C in a CO₂ incubator until they reach confluence and are observed. The growth of the cultured primary CEF cells that have been cultivated shows that the cells can grow and adhere well to the plate. The cells are in a healthy and confluent condition with an elongated and regular shape, and there is no contamination. The successfully cultured primary CEF cells can later be used for various purposes such as vaccine quality testing.

Key Words : Cell culture, Chicken Embryo Fibroblast (CEF).

PENDAHULUAN

Kultur sel merupakan salah satu pendorong pengembangan teknologi dan mengatasi keterbatasan dalam kehidupan. Sistem kultur *in vitro* diketahui memiliki potensi besar dalam membantu mendorong banyak penemuan seperti bidang kesehatan, pengujian obat, penyakit dan pengembangan vaksin.

Kultur sel merupakan proses yang menarik. Sel-sel mengalami penempelan dan

merekat pada permukaan tabung kultur dan tumbuh dalam satu lapisan. Sel dapat tumbuh pada suhu yang bervariasi tergantung pada asal sel. Sel dapat dikulturkan dalam wadah pelat kecil, seperti pelat dengan 384 lubang, atau dalam wadah berskala besar. Salah satu jenis sel yang dapat dikultur adalah sel primer.

Sel primer berasal langsung dari jaringan yang dikulturkan dalam kondisi optimal secara *in vitro* dengan

metode statis atau pengocokan yang sesuai. Karena sel diisolasi langsung dari jaringan, sel tersebut merupakan representasi terbaik dari jaringan asli dengan kemiripan yang dekat dengan fisiologi *in vivo* (Zhao, 2023). Satu hal yang perlu disebutkan adalah bahwa sel primer memiliki rentang hidup yang terbatas sebelum mencapai penuaan replikasi yang dapat menjadi kerugian besar di banyak area. Jika diperlukan, sel primer dapat diabadikan dengan memperkenalkan mutasi yang dapat mencegah penuaan normal seperti transformasi virus simian 40 (SV-40), dan/atau human telomerase reverse transcriptase (hTERT) (Krishnan *et al.*, 2022). Salah satu sel primer yang sering dimanfaatkan dalam virologi, vaksinologi, biologi molekuler, mikrobiologi serta dalam bidang bioteknologi adalah kultur sel fibroblas embrio

ayam/ *chicken embryo fibroblast* (CEF).

Kultur sel CEF merupakan teknik laboratorium fundamental yang banyak digunakan dalam berbagai bidang. Dalam studi *in vitro* ini, lingkungan yang terkontrol seperti media, pH, tingkat CO₂, suhu, kelembaban, aliran O₂ meniru kondisi *in vivo* agar sel dapat tumbuh. Embrio ayam atau unggas memberikan model yang baik untuk studi embriologi, virologi, kemajuan imunisasi, serta penelitian vaksinologi. Kultur sel fibroblas embrio ayam memiliki dampak besar pada penelitian produksi vaksin dan biokimia hewan (Farzanehet *al.*, 2017). Selain itu kultur sel CEF memiliki banyak keuntungan seperti aksesibilitas yang mudah, biaya yang lebih rendah, proses penanganan yang relative mudah, dan waktu penyelesaian yang cepat. Salah satu alasan terpenting

untuk menggunakan kultur sel adalah bahwa data yang dihasilkan dari kultur sel dapat direproduksi dan konsisten.

Penelitian ini dilakukan dalam rangka refreshment keilmuan di bidang sel kultur khususnya pada tahap awal proses pembuatan dan penumbuhan sel kultur primer fibroblast embrio ayam / *chicken embryo fibroblast* (CEF) yang nantinya akan dapat dimanfaatkan dan diterapkan pada Laboratorium Virologi Balai Besar Veteriner Denpasar.

MATERI DAN METODE

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut : gunting steril, pinset steril, cawan petri steril, pipet ukur steril, spuit 3 ml, spuit 5 ml, tabung 50 cc, centrifuse dingin, BSC, inkubator CO₂, beker gelas, plastik, plat, mikroskop inverted.

Bahan

Bahan yang digunakan sebagai berikut : telur TAB umur 9-11hari, betadin, *Foetal Bovine Serum* (FBS), *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,2 steril, media *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) 7 %, Gibco™ Antibiotik-Antimikotik (10,000 units / mL penisilin, 10,000 µg / mL streptomycin, dan 25 µg/mL of Amphotericin B), trypsin 0,01 % dan Alkohol 70%.

Penyiapan dan Pembuatan CEF

Penyiapan dan pembuatan kultur sel primer CEF dilakukan di Laboratorium Virologi Balai Besar Veteriner (BB-Vet) Denpasar. Sel primer CEF disiapkan dari telur ayam bertunas berumur 9-11hari yang bebas pathogen. Kulit telur didisinfeksi dengan alkohol 70% kemudian dicuci secara homogeny dengan

betadin. Kulit telur dibuka dengan gunting steril dan dikeluarkan embrionya. Embrio diletakkan pada cawan petri steril selanjutnya kepala, kaki, dan isi perut embrio dipisahkan. Embrio dipotong-potong dan dimasukkan ke dalam tabung steril 50 mL. Potongan embrio dicuci dengan PBS steril, cairan PBS dituang dan disisakan sebanyak 5 mL. Tripsin ditambahkan ke dalam tabung dan dikocok. Cairan supernatant ditampung dan ditambahkan media yang mengandung serum 10% untuk menginaktivasi tripsin. Proses tripsinasi diulang sebanyak 2 kali. Cairan supernatant dibuang dan ditambahkan media *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) yang mengandung 5-7% *Foetal Bovine Serum* (FBS) ke dalam tabung, sel dimasukkan ke dalam plat masing-masing 10-12 tetes. Media komplit sebanyak 5 mL ditambahkan ke dalam plat dengan tambahan

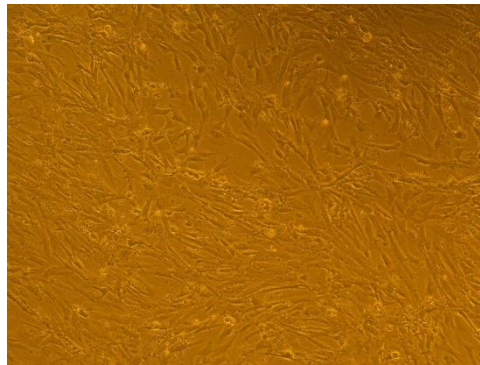
antibiotik-antimikotik. Sel kemudian dikultur pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂ sampai mencapai konfluen, ditandai dengan pertumbuhan sel yang sehat dan memenuhi sumuran plat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan sel kultur primer CEF yang telah ditumbuhkan menunjukkan hasil sel dapat tumbuh dan melekat dengan baik pada plat. Kondisi sel yang sehat dan konfluent dengan bentuk tampak lonjong dan beraturan terlihat pada Gambar 1. Diketahui bahwa sel kultur primer CEF merupakan jenis sel fibroblast. Sel fibroblast merupakan sel yang bersifat bipolar atau multipolar dengan bentuk memanjang, dan tumbuh menempel pada plat (Oyeleet *al.*, 2016). Setiap kultur sel dapat memiliki sifat unik dalam hal morfologi, viabilitas, waktu penggandaan,

dan stabilitas genetik dan penanganan serta pemeliharaannya mungkin memerlukan media, kondisi kultur, dan aditif atau agen

pemrosesan yang berbeda termasuk antibiotik, larutan pelepas, atau pelapis permukaan untuk pelekatan sel (Pamieset *al.*, 2022).



Gambar 1. Sel Kultur Primer CEF yang ditumbuhkan di Laboratorium Virologi BB-Vet Denpasar

Pertumbuhan sel CEF ini merupakan jenis kultur primer karena sel yang dihasilkan diisolasi dari jaringan hewan atau berasal dari inang *in vivo* tanpa melalui proses *in vitro*. Kultur ini disubkultur setelah diekstraksi dari sumber primer. Kondisi sel biasanya heterogen ketika dikultur dari jaringan tetapi masih mewakili jenis sel yang menyusun jaringan tertentu. Ekstraksi sel dari embrio ayam menyebabkan

pertumbuhan fibroblas yang berlebihan pada jenis sel lainnya. Kultur CEF berguna untuk beberapa proses tetapi bukan merupakan garis sel yang berkesinambungan. Setelah beberapa subkultur ke dalam media baru, garis sel akan mati atau mungkin menunjukkan banyak perubahan fisiologis dari kultur primer. Kultur primer digunakan untuk memperbanyak dan studi agen, yang tidak tumbuh dalam

sel yang ditransformasi (garis sel berkesinambungan), dan karena alasan inilah banyak sistem virus memerlukan kultur primer untuk pertumbuhannya (Mao *et al.*, 2012; Pamieset *al.*, 2022).

Sangat penting untuk memperhatikan teknik steril yang baik guna menghindari kontaminasi pada kultur. Penting untuk menggunakan telur yang berusia 11hari karena embrio yang lebih tua tidak akan menghasilkan hasil yang diharapkan karena lebih banyak sel yang telah berdiferensiasi (Hernandez dan Brown, 2010). Proses pertumbuhan sel CEF pada percobaan ini tidak ditemukan adanya kontaminasi dari jamur, bakteri, dan mikoplasma. Hal itu dikarenakan kondisi lingkungan yang aseptik serta dibantu dengan penggunaan antibiotik dan antimikotik. Antibiotik dan antimikotik yang digunakan pada pengembangan kultur sel CEF

adalah penisilin, streptomisin dan amfoterisin B. Kontaminasi biologis yang timbul dari bakteri, jamur, dan mikoplasma dapat dicegah dengan lebih baik dengan penambahan antibiotik dan anti-mikotik ke media kultur sel. Sebagian besar dari antibiotik-antimikotik bertindak dengan menghambat sintesis dinding sel seperti penisilin. Amfoterisin B mengganggu permeabilitas membrane sedangkan streptomisin menghambat sintesis protein dengan mencegah perakitan kompleks inisiasi bakteri antara mRNA dan ribosom bakteri (Weiskirchenet *al.*, 2023). Penggunaan antibiotik rutin dapat mengembangkan kontaminan bakteri persisten / resisten yang tumbuh lambat yang dapat menyebabkan perubahan halus diferensiasi dan perilaku sel (Llobet *et al.*, 2015). Penggunaan antibiotic permanen harus dihindari dalam kultur sel dan sebaiknya

mencoba menerapkan kondisi kerja aseptik yang ketat untuk mencegah kontaminasi bakteri dalam kultur sel.

Tumbuhnya kultur sel CEF yang sehat, normal tanpa kontaminasi serta konfluen menunjukkan bahwa di Laboratorium Virologi Balai Besar Veteriner Denpasar berhasil dalam proses pengembangan kultur sel CEF sehingga dapat dimanfaatkan untuk beberapa tujuan seperti perbanyakan dan studi agen (virus) yang tidak mampu tumbuh dalam kultur sel kontinu sehingga diperlukan kultur primer seperti CEF untuk pertumbuhan virus yang tidak bisa tumbuh pada sel kontinu.

KESIMPULANSARAN

Kesimpulan

Pengembangan kultur sel CEF berhasil ditumbuhkan dengan kondisi sel yang sehat dan konfluen. Bentuk sel yang teramati adalah bentuk fibroblast dengan bentuk

memanjang dan tumbuh menempel pada plat. Tidak ditemukan adanya kontaminasi dari jamur, bakteri maupun mikoplasma.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kondisi sel kultur CEF ketika diinfeksi dengan virus yang nantinya akan dapat digunakan untuk uji kualitas vaksin.

DAFTAR PUSTAKA

- Farzaneh M, Attari F, Mozdziak PE, Khoshnam SE. 2017. The evolution of chicken stem cell culture methods. *British Poultry Science* 58 (6): 681-686.
- Hernandez R dan Brown DT. 2010. Growth and Maintenance of Chick Embryo Fibroblasts (CEF). *Current Protocols in Microbiology* 17(1): A.4I.1–A.4I.8.
- Krishnan J, Wang Y, Kenzior O, Hassan H, Olsen L, Tsuchiya D, Kenzior A, Peub R, Xiong S,

- Wang Y, Zhao C, Rohner N. 2022. Liver-derived cell lines from cavefish *Astyanax mexicanus* as an in vitro model for studying metabolic adaptation. *Sci Rep* 12(1):10115.
- Llobet L, Montoya J, López-Gallardo E, Ruiz-Pesini E. 2015. Side Effects of Culture Media Antibiotics on Cell Differentiation. *Tissue Eng Part C Methods* 21(11):1143-7.
- Mao Z, KeZ, Gorbunova V, Seluanov A. 2012. Replicatively senescent cells are arrested in G1 and G2 phases. *Aging* 4(6): 431–435.
- Oyele OO, Ogundeji ST, Omitogun OG. 2016. Basic of animal cell culture: Foundation for modern science. *Biotechnology and molecular biology Review* 11(2): 6-16.
- Pamies D, Leist M, Coecke S, Bowe G, Allen DG, Gstraunthaler G, Bal-Price A, Pistollato F, de Vries RBM, Hogberg HT, Hartung T, Stacey G. 2022. Guidance Document on Good Cell and Tissue Culture Practice 2.0 (GCCP 2.0). *Altex* 39(1): 30-70.
- Weiskirchen S, Schröder SK, Buhl EM, Weiskirchen R. 2023. A Beginner's Guide to Cell Culture: Practical Advice for Preventing Needless Problems. *Cell* 12(5):682.
- Zhao C. 2023. Cell culture: in vitro model system and a promising path to in vivo applications. *Journal of Histotechnology* 46(1):1-4.
- Farzaneh M, Attari F, Mozdziak PE, Khoshnam SE. 2017. The evolution of chicken stem cell culture methods. *British Poultry Science* 58 (6): 681-686.
- Hernandez R dan Brown DT. 2010. Growth and Maintenance of Chick Embryo Fibroblasts (CEF). *Current Protocols in Microbiology* 17(1): A.4I.1–A.4I.8.

Krishnan J, Wang Y, Kenzior O, Hassan H, Olsen L, Tsuchiya D, Kenzior A, Peub R, Xiong S, Wang Y, Zhao C, Rohner N. 2022. Liver-derived cell lines from cavefish *Astyanax mexicanus* as an in vitro model for studying metabolic adaptation. *Sci Rep* 12(1):10115.

KASUS SEPTICAEMIA EPIZOOTICA PADA SAPI DI KABUPATEN SIKKA PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR

*(Case of Septicaemia Epizootica in Cattle in Sikka District, East
Nusa Tenggara Province)*

Narcana.I.K.⁽¹⁾, Nurlatifah.I.⁽²⁾, Dewi.A.A.S.⁽³⁾

Balai Besar Veteriner Denpasar Jl. Raya Sesetan No. 266,
Denpasar Selatan, Denpasar, Bali

ABSTRAK

Septicaemia epizootica (SE) merupakan penyakit infeksi akut atau menahun pada sapi dan kerbau yang terjadi secara septikemik. Penyakit SE yang terdapat di Indonesia adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Pasteurella multocida* tipe B2. Di Indonesia penyakit SE masih bersifat endemis dan kadang mewabah. Sumber penularan SE antara lain masuknya ternak *carrier*. Hewan sehat akan tertular hewan yang sakit atau *carrier* dengan kontak langsung melalui ekskreta dan alat-alat tercemar bakteri tersebut. Kasus SE telah terjadi di Kabupaten Sikka Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT). Pada tanggal 6 Juli 2024 Tim Kesehatan Hewan Dinas Pertanian Kabupaten Sikka Provinsi NTT melakukan pengambilan sampel beberapa organ sapi yang mati di Kelurahan Wuring Kecamatan Alok Barat, selanjutnya sampel dikirim ke Balai Besar Veteriner (BB-Vet) Denpasar. Pada tanggal 19 Juli 2024, samp yang dikirim oleh Dinas Pertanian Kabupaten Sikka dilakukan pengujian *polymerase chain reaction* (PCR) *Septicaemia Epizootica* (SE), PCR Penyakit Mulut dan Kuku (PMK), dan PCR *Malignant Catarrhal Fever* (MCF) di BB-Vet Denpasar. Hasil uji laboratorium BB-Vet Denpasar menyatakan bahwa satu sampel organ positif PCR SE dan sampel lainnya negatif uji PCR PMK serta MCF. Berdasarkan anamnesa dan gejala klinis, serta didukung hasil pengujian laboratorium dapat disimpulkan bahwa kasus kematian sapi dengan gejala klinis pembengkakan daerah mandibula, hipersalivasi, mata bengkak berair kemerahan, leleran hidung, suhu 40°C, anoreksia disertai dengan suara ngorok menderita SE yang disebabkan bakteri *Pasteurella multocida* tipe B2.

Kata Kunci : *Septicaemia epizootica*, *Pasteurella multocida* type B2, sapi, Kabupaten Sikka.

ABSTRACT

Septicemia epizootica (SE) is an acute or chronic infectious disease in cattle and buffalo that occurs septicemically. The SE disease found in Indonesia is a disease caused by the bacteria Pasteurella multocida type B2. In Indonesia, SE is still endemic and sometimes epidemic. Sources of SE transmission include the entry of livestock carrying healthy animals which will become infected by sick animals or carriers by direct contact through excreta and equipment contaminated with these bacteria. SE cases have occurred in Sikka Regency, East Nusa Tenggara (NTT) Province. On July 6, 2024, the Animal Health Team of the Sikka Regency Agriculture Service, NTT Province, took samples of several organs from dead cows in Wuring Village, West Alok District, then the samples were sent to the Denpasar Veterinary Center (BB-Vet). On July 19, 2024, samples sent by the Sikka District Agriculture Service were tested for polymerase chain reaction (PCR) Septicemia Epizootica (SE), PCR for Foot and Mouth Disease (FMD), and PCR for Malignant Catarrhal Fever (MCF) at BB-Vet Denpasar. The results of the BB-Vet Denpasar laboratory test stated that one organ sample was positive for SE PCR and the other sample was negative for PMK and MCF PCR tests. Based on the anamnesis and clinical symptoms, and supported by laboratory test results, it can be concluded that the case of cow death with clinical symptoms of swelling of the mandible area, hypersalivation, reddish watery swollen eyes, runny nose, temperature 40°C, anorexia accompanied by snoring sounds was suffering from SE caused by the Pasteurella multocida type B2.

Keywords: *Septicemia epizootica, Pasteurella multocida type B2, cattle, Regency Sikka.*

PENDAHULUAN

Pulau Flores merupakan salah satu gudang ternak dan menjadi pemasok ternak bagi daerah lain di Indonesia. Salah satunya Kabupaten Sikka berada di Pulau Flores merupakan salah satu kabupaten di Provinsi NTT yang memiliki populasi sapi yang cukup tinggi. Populasi sapi sebanyak 17.328 ekor

tahun 2022 (BPS NTT, 2023). Ternak sapi memiliki peran penting dalam pemenuhan kebutuhan akan daging. Populasi sapi tersebut hendaknya bisa tetap dipertahankan bahkan ditingkatkan guna menunjang program swasemada pangan. Namun adanya ancaman penyakit menular menjadi momok yang sangat

menakutkan bagi kelangsungan perkembangan ternak sapi tersebut.

Sesuai Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia nomor : 311/KPTS/PK.320/ M/06/2023 tentang Penetapan Status Situasi penyakit Hewan dinyatakan bahwa Kabupaten Sikka merupakan daerah status tertular Septicaemia epizootica (SE). Penyakit Ngorok atau Septicaemia epizootica (SE) suatu penyakit infeksi akut atau menahun pada sapi dan kerbau yang terjadi secara septikemik. Pada kerbau dalam stadium terminal akan menunjukkan gejala ngorok disamping adanya kebengkakan pada daerah-daerah sub mandibula dan leher bagian atas. Penyakit SE disebabkan oleh serotipe tertentu dari kuman *Pasteurella multocida* yaitu tipe B2 (tipe Asia) dan tipe E2 (tipe Afrika) (Chancellor et al., 1996). De Alwis (1993) menyatakan bahwa penyakit ngorok yang terdapat di Indonesia adalah penyakit yang disebabkan oleh *Pasteurella multocida* tipe B2. Di Indonesia, penyakit ngorok masih bersifat endemis dan terkadang mewabah. Penyakit ini secara ekonomis sangat merugikan akibat kematian yang ditimbulkan dan juga

karena turunnya produktifitas ternak, hilangnya tenaga kerja dan tingginya biaya penanggulangannya (Farooq et al., 2007).

Penyakit SE umumnya terjadi dan berkembang selama musim penghujan dimana hewan banyak mengalami stress karena dipekerjakan (Carter and De Alwis, 1989). Kondisi stress di musim penghujan menyebabkan peningkatan daya tahan hidup kuman dalam induk semang. Dalam kondisi induk semang yang lemah, organisme dalam hewan carrier bertahan dan kepekaan hewan terhadap penyakit meningkat. Hewan dengan kondisi buruk dan keengganan pemilik hewan untuk melakukan vaksinasi juga berperan terhadap peningkatan kejadian penyakit (Mosier, 1993).

Septicaemia epizootica adalah salah satu penyakit strategis di Indonesia dan seharusnya mendapat prioritas dalam penanggulangan dan pemberantasannya.

Keberhasilan untuk menciptakan suatu wilayah atau pulau yang bebas dari SE dapat diwujudkan dengan melakukan program pemberantasan yang terencana, melaksanakan

program vaksinasi massal yang mencakup seluruh populasi, dan dilanjutkan dengan program monitoring dan surveilans yang intensif dan berkelanjutan.

Adanya informasi kejadian peningkatan kasus kematian sapi di lokasi peternakan Kelurahan Wuring, Kecamatan Alok Barat, ini mengindikasikan adanya paparan penyakit tertentu di peternakan tersebut. Untuk mengetahui asal, sumber penularan dan penyebaran penyakit yang berakibat kematian sapi, pada tanggal 6 Juli 2024 Tim Bidang Kesehatan Hewan Dinas Pertanian Kabupaten Sikka melakukan investigasi dan pengambilan sampel terhadap kasus tersebut. Selanjutnya sampel diuji di BB-Vet Denpasar. Pengungkapan agen penyakit, sumber penularan, melalui kegiatan investigasi menjadi salah satu langkah dalam upaya pemberantasan, penanggulangan dan pencegahan penularan penyakit sapi di Kabupaten Sikka.

Pada tulisan ini disajikan tentang kasus SE pada sapi di Kabupaten Sikka berdasarkan anamnesa, gejala klinis dan

pemeriksaan laboratorium, beserta saran-saran pencegahan dan pengobatannya.

MATERI DAN METODE

Penyidikan kasus penyakit pada sapi dengan gejala klinis pembengkakan daerah mandibula, hipersalivasi, mata bengkak berair kemerahan, leleran hidung, suhu 40oC, anorexia disertai dengan ngorok di Kelurahan Wuring, Kecamatan Alok Barat, Kabupaten Sikka, Provinsi NTT pada hari Sabtu 6 Juli 2024 oleh tim Kesehatan Hewan (Keswan) Dinas Pertanian Kabupaten Sikka Provinsi NTT.

Pengumpulan Data dan Informasi

Informasi dan data-data di lapangan diperoleh dari Tim Kesehatan Hewan (Keswan) Dinas Pertanian Kabupaten Sikka dengan wawancara saat invetigasi dengan peternak. Anamnesa, gejala klinis dan jumlah sapi yang sakit atau mati dan data vaksinasi serta pengobatan yang pernah diberikan dicatat.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan oleh Tim Kesehatan

Hewan Dinas Pertanian Kabupaten Sikka Provinsi NTT di Kelurahan Wuring Kecamatan Alok Barat selanjutnya sampel dikirim ke Balai Besar Veteriner (BB-Vet) Denpasar. Sampel yang diambil antara lain: organ otak, paru-paru, limpa, hati, ginjal untuk keperluan uji polymerase chain reaction (PCR).

Pengujian Laboratorium

Pengujian laboratorium terhadap sampel meliputi pemeriksaan polymerase chain reaction (PCR) Septicaemia Epizootica (SE), PCR Penyakit Mulut dan Kuku (PMK), dan PCR Malignant Catarrhal Fever (MCF)

Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif dan analitik sederhana. Definisi kasus yang ditetapkan adalah sapi yang menunjukkan gejala klinis pembengkakan daerah mandibula, hipersalivasi, mata bengkak berair kemerahan, leleran hidung, suhu 40oC, anorexia disertai dengan suara ngorok tapi tidak begitu jelas di Kelurahan Wuring, Kecamatan Allok Barat, Kabupaten Sikka, Provinsi NTT.

HASIL

Kronologis Kejadian

Adanya informasi kejadian peningkatan kasus sapi sakit dan kematian sapi di lokasi peternakan Kelurahan Wuring, Kecamatan Alok Barat, Kabupaten Sikka ini mengindikasikan adanya paparan penyakit tertentu di peternakan tersebut. Untuk mengetahui asal, sumber penularan dan penyebaran penyakit yang berakibat kematian sapi, pada tanggal 6 Juli 2024 Tim Bidang Kesehatan Hewan Dinas Pertanian Kabupaten Sikka melakukan investigasi terhadap kasus tersebut. Pengungkapan agen penyakit, sumber penularan, melalui kegiatan investigasi menjadi salah satu langkah dalam upaya pemberantasan, penanggulangan dan pencegahan penularan penyakit sapi di Kabupaten Sikka.

Hasil investigasi penelusuran kasus TIM Keswan Dinas Pertanian Kabupaten Sikka teramati ada beberapa ekor sapi sakit dan mengancam sapi lainnya disekitar lokasi kasus dengan total kematian sapi saat investigasi terdata sebanyak 18 ekor.

Anamnesa

Berdasarkan wawancara petugas Tim Keswan dengan peternak dan gejala klinis yang teramati yaitu pembengkakan daerah mandibula,

hipersalivasi, mata bengkak berair kemerahan, leleran hidung, suhu 40°C, anoreksia disertai suara ngorok (seperti Gambar 1), dugaan sementara sapi mati karena SE.



Gambar 1. Sapi sakit dengan gejala klinis yang teramati pembengkakan daerah mandibula, mata bengkak berair kemerahan dan leleran hidung.

Selain penelusuran kasus, saat investigasi juga dilakukan nekropsi dan pengambilan sampel organ oleh Tim Keswan Dinas Pertanian Kabupaten Sikka. Hasil nekropsi teramati

pendarahan trakea, epiglotis dan paru-paru, masa perkejuan pada jantung (Gambar 2). Sampel selanjutnya diuji di BB-Vet Denpasar.



Gambar 2. Hasil nekropsi oleh Tim Keswan Dinas Pertanian Kabupaten Sikka teramati pendarahan trakea, epiglotis dan paru-paru, masa perkejuan pada jantung

Pemeriksaan laboratorium.

Pada tanggal 19 Juli 2024, sampel yang dikirim oleh

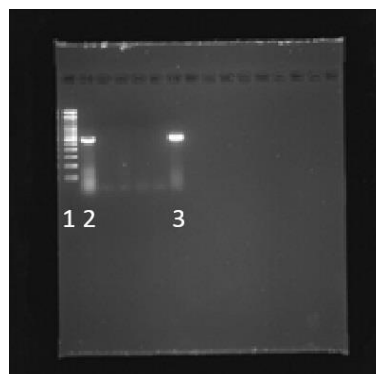
Dinas Pertanian Kabupaten Sikka dilakukan pengujian PCR *Septicaemia Epizootica* (SE), PCR Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) dan PCR *Malignant Catarrhal Fever* (MCF) di BB-Vet Denpasar. Hasil uji

laboratorium menyatakan bahwa satu sampel organ positif PCR SE dan sampel lainnya negatif uji PCR PMK serta MCF dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil uji PCR PMK, MCF dan SE sampel Kabupaten Sikka

No	Kecamatan	Keluarahan	Jensi Sampel	Hasil Uji PCR		
				SE	PMK	MCF
1	Alok Barat	Wuring	Plasma sapi	Negatif	Negatif	Negatif
2	Alok Barat	Wuring	Swab sapi	Negatif	Negatif	Negatif
3	Alok Barat	Wuring	Swab sapi	Negatif	Negatif	Negatif
4	Alok Barat	Wuring	Organ sapi	Positif	Negatif	Negatif

Hasil uji PCR SE dari sampel organ dinyatakan positif SE seperti pada **Gambar 3** sebagai berikut :



Gambar 3. Hasil uji PCR SE : 1. Marker, 2. Sampel Positif SE, 3. Kontrol positif SE

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil konfirmasi pengujian PCR terhadap sampel organ sapi bahwa kasus kematian sapi di Kabupaten Sikka dengan gejala klinis pembengkakan daerah mandibula, hipersalivasi, mata bengkak

berair kemerahan, leleran hidung, suhu 40°C, anoreksia disertai dengan suara ngorok menderita penyakit SE yang disebabkan oleh bakteri *Pasteurella multocida* tipe B2 (sesuai gambar no 3). De Alwis (1993) menyatakan bahwa penyakit ngorok yang terdapat

di Indonesia adalah penyakit yang disebabkan oleh *Pasteurella multocida* tipe B2. Diagnosa SE menggunakan teknik PCR hasilnya cepat, memiliki sensitivitas tinggi dan sangat berguna dalam memberikan pertimbangan keputusan penanganan (pencegahan dan pengobatan) SE yang tepat.

Menurut Mardiatmi dkk. (2015) menyatakan bahwa SE biasanya berjalan akut sehingga mortalitas tinggi, terutama pada penderita yang telah menunjukkan tanda-tanda klinis secara jelas. Di daerah endemik, diagnosa terhadap SE dilakukan dengan pengamatan gejala klinis. Hewan yang terinfeksi menunjukkan gejala ngorok, kebengkakan daerah submandibular dan leher bagian bawah serta gejala sepsis.

Adanya lesi dikerongkongan mengakibatkan sesak nafas dan kesulitan menelan. Hewan yang menderita penyakit ini sangat kesakitan dan murung, kematian dapat terjadi antara 1 – 2 hari setelah terjadinya gejala. Penyakit ini dapat berlangsung menahun, pada hewan muda angka kematian

tinggi, terjadinya kematian oleh karena pelepasan endotoksin oleh bakteri sehingga terjadinya toksimia (Anon, 2014)

Kasus kematian sapi yang di Kabupaten Sikka berdasarkan informasi dari Keswan Dinas Pertanian Kabupaten Sikka saat kejadian kasus pada waktu tersebut adanya perubahan musim dari musim hujan ke musim kemarau menyebabkan sapi mulai menunjukkan gejala sakit. Tidak ada laporan pemasukan sapi dari daerah lainnya.

Kasus SE di Kabupaten Sikka kemungkinan terjadi karena belum dilakukan vaksinasi SE. Sesuai data Dinas Pertanian Kabupaten Sikka vaksinasi SE dilakukan padat tahun 2021 dan 2022, sumber vaksin SE dari alokasi dana APBD Provinsi NTT. Di tahun 2023 sampai saat ini belum dilakukan vaksinasi SE mengingat tidak tersedianya vaksin SE. Tingkat kekebalan kelompok yang relatif rendah, cukup mengkhawatirkan akan terjadinya kasus penyakit SE (Ngorok). Widder, et al (1996) menyatakan bahwa untuk dapat menghindari terjadinya wabah diperlukan minimal 70% ternak memiliki antibodi yang

protektif. Hal yang sama juga dinyatakan oleh Putra,et.al (2003a) bahwa pada sistem peternakan yang bersifat tradisional/semi intensif, diperlukan tingkat kekebalan kelompok sekitar 60% atau lebih agar mampu menekan terjadinya wabah Ngorok.

Pasteurella multocida dapat hidup secara normal di dalam saluran pernafasan bagian atas. Jika kondisi tubuh menurun maka kuman akan bersifat pathogen dan menimbulkan gejala penyakit seperti nafsu makan menurun, penurunan berat badan, bulu kusam dan berdiri, oedem dan diare. Jika penyakit berlanjut dapat menimbulkan kematian. Bakteri tersebut dapat menyebabkan beberapa penyakit penting pada hewan antara lain pneumonia pada sapi dan SE (Ngorok) pada sapi dan kerbau.

Oleh sebab itu untuk pengobatan dapat dilakukan dengan pemberian antibiotika yang efektif terhadap bakteri Gram (-) negatif mengingat *Pasteurella multocida* merupakan bakteri Gram (-) negatif (WOAH, 2021).

Menurut Anon (2014) bahwa Pengobatan dapat

dilakukan dengan penyuntikan streptomisin sebanyak 10 mg secara IM atau kloromisetin, terramisin dan aureomisin sebanyak 4 mg tiap kg berat badan secara IM, Preparat sulfa seperti sulfametasin 1 gram tiap 7,5 kg berat badan dapat membantu penyembuhan penyakit.

Sedangkan untuk mencegah terjadinya penyakit SE (Ngorok) pada ternak sapi akibat infeksi *Pasteurella multocida* maka sangat penting untuk menjaga kesehatan ternak dengan pemberian pakan yang berkualitas, manajemen beternak yang baik dan melakukan vaksinasi SE pada ternak.

Meskipun demikian, pengendalian penyakit efektif tidak hanya tergantung pada vaksin yang baik tetapi juga pada program vaksinasi yang benar.

Menurut Mardiatmi, dkk. (2015) vaksinasi disarankan dilakukan menjelang musim hujan. Jika menggunakan vaksin *oil adjuvat* puncak kekebalan biasanya terjadi pada 3 bulan pasca vaksinasi, booster berikutnya dilakukan setiap tahun. Vaksinasi pada ternak sapi dengan

perencanaan program vaksinasi yang benar sehingga tercapainya target cakupan vaksinasi yang memadai dan adanya evaluasi terhadap program vaksinasi yang telah dilakukan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Telah terjadi kasus penyakit menular pada ternak sapi di Kabupaten Sikka dengan menunjukkan gejala klinis pembengkakan daerah mandibula, hipersalivasi, mata bengkak berair kemerahan, leleran hidung, suhu 40°C, anoreksia disertai suara ngorok dan didukung dengan hasil uji laboratorium yaitu uji PCR SE dari sampel organ menunjukkan positif SE dapat disimpulkan bahwa kasus kematian sapi di Kabupaten Sikka disebabkan oleh penyakit SE atau ngorok.

Saran-saran

Disarankan agar ternak yang sakit diisolasi atau dipisahkan dari ternak yang sehat dan segera dilakukan pengobatan antibiotika yang sensitif terhadap bakteri

tersebut dan pemberian vitamin. Untuk pencegahan penyebaran penyakit agar dilakukan pengawasan lalu lintas ternak baik yang masuk maupun keluar dari daerah tertular serta agar segera dilakukan vaksinasi SE pada ternak peka terutama sapi dan kerbau.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kami sampaikan kepada Dinas Pertanian (dinas yang membidangi fungsi peternakan dan kesehatan hewan) Kabupaten Sikka Provinsi Nusa Tenggara Timur. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Kepala Balai Besar Veteriner Denpasar atas izin untuk melakukan pengujian serta kepada semua pihak yang telah membantu memberikan informasi dan data dukung.

DAFTAR PUSTAKA

Anonimus (2014). Manual Penyakit Hewan Mamalia. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian.

Badan Pusat Statistik Provinsi Nusa Tenggara Timur, (2023). Populasi Ternak Besar Menurut Kabupaten/Kota, <https://ntt.bps.go.id/id/statistics>

-table/2/NTkwzl=/populasi-ternak-besar-menurut-kabupaten-kota.html.

Carter GR and de alwis MCL. (1989). Hemorrhagic septicemia. In : Adlan C and Rutters JM (eds). *Pasteurella and Pasteurellosis*. London : Academic Press Limited, London p. 131-160

Chancellor, R, A., Priadi, L., Natalia dan A.Syamsudin. (1996). Tinjauan Penyakit Ngorok atau Septicaemia Epizootica (SE). Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan veteriner, Cisarua, Bogor: 12-20

De Alwis, M.C.L.(1993). *Pasteurellosis in Production Animals : A Review*. Australian Center for International Agricultural Research. Canberra, Australia.

Farooq U., Hussain M., Irshad H., Badar N., Munir R., and Ali Q. (2007). Status Haemorrhagic Septicaemia Based On Epidemiology In Pakistan. *Pakistan Vet.J.* 27(2):67-72.

Mardiatmi, Ernawati, Sofyan I., Yupiana y., Suseno P.P, Ekowati R.V., Kurniawan W.E., Ermawanto. (2015). *Pedoman Pengendalian dan Penanggulangan Septicemia Epizootica*. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian.

Mosier, D. (1993). Prevention and Control of Pasteurellosis. 121-134. In ACIAR Proceedinag no. 43: *Pasteurellosis in Production Animals*. B.E.PATTEN et al.,(Eds).

Putra A.A G., Ekaputra I.G.M.A., Putra A.A.G.S., Dartini N.L. (2003a), *Surveilans Penyakit Ngorok di Pulau*

Sumba Provinsi Nusa Tenggara Timur Tahun 1994-1995. *Buletin Veteriner BPPV Denpasar* 15(62) : 15-21.

Widder P.R., Morgan I., Ekaputra A., and Dartini N.L. (1996). Analysis of Herd Coverage of Vaccination Program Using Antibody ELISA. Kumpulan Abstrak. International Workshop on Diagnosis and Control of Haemorrhagic Septicaemia. Kuta, Denpasar,Bali 28-30 Mei 1996:33.

World Organisation for Animal Health (WOAH). (2021). *Haemorrhagic Septicaemia (Pasteurella multocida Serotypes 6:b and 6:e). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 3.4.1

**KAJIAN TERHADAP METODE PENGUJIAN
MINI-ANION EXCHANGE CENTRIFUGATION TECHNIQUE DAN / ATAU
ELISA SURRA SEBAGAI SALAH SATU PERSYARATAN LALU-
LINTAS HEWAN DALAM PERATURAN MENTERI PERTANIAN RI
NOMOR 17 TAHUN 2023**

*(Study of Testing Methods mini-Anion Exchange Centrifugation Technique
and / or ELISA Surra as One of the Requirements for Animal Traffic In the
Regulation of the Minister of Agriculture of the Republic of Indonesia
Number 17 of 2023)*

Wisnu Adi Saputra, I G.N.A .

Balai Besar Veteriner Denpasar Jl. Raya Sesetan No. 266,
Denpasar Selatan, Denpasar, Bali

ABSTRAK

Pengenalan penyakit Surra didapatkan melalui pengamatan gejala klinis, perubahan patologis serta diagnosa penyakit. Pada OIE Terrestrial Manual tahun 2010. khususnya Trypanosoma evansi Infection (Surra).Chapter 2.1.17., diagnosa Surra dilakukan melalui beberapa metode, antara lain : pemeriksaan mikroskopik secara langsung, meliputi pemeriksaan preparat ulas darah (PUD) natif, pemeriksaan PUD dengan pewarnaan Giemsa serta pemeriksaan biopsi cairan limfa dan edema; metode konsentrasi meliputi pengujian *HMCT (Haematocrit Centrifugation Technique)*, *Murray test* atau *BCM (Buffy Coat Method)* dan *mini-Anion Exchange Centrifugation Technique (m-AECT)*; Inokulasi pada hewan percobaan (tikus / mencit); deteksi DNA meliputi metode *DNA probes*, *antigen detection*, dan *PCR*; dan uji serologi meliputi metode *ELISA*, *IFAT*, *CAT (Card Agglutination Tests)*, dan *Immune Trypanolysis Tests*.

Pada Lampiran II di Bab II Permentan RI nomor 17 tahun 2023 diuraikan tentang beberapa persyaratan lalu lintas dari daerah terduga ke daerah terduga Surra dan dari daerah tertular ke daerah tertular, salah satunya adalah “Hewan telah diuji ulas darah metode *mAECT* dan / atau *ELISA Surra* dengan hasil negatif pada setiap individu hewan yang dilalulintaskan.

Pada kajian terhadap Peraturan Menteri Pertanian RI nomor 17 tahun 2023 muncul isu permasalahan di tingkat lapang, laboratorium dan proses pengujian, stakeholder serta cakupan dan dampaknya. Berdasarkan hasil kajian, dapat disimpulkan dan disarankan rekomendasi, antara lain : peningkatan kapasitas laboratorium veteriner di tingkat nasional dan

regional, melalui penganggaran serta pengadaan alat dan bahan pengujian *mAECT* dan / atau *ELISA Surra*; peningkatan kompetensi SDM melalui pelatihan pengujian *mAECT* dan / atau *ELISA Surra*; penambahan metode uji *mAECT* dan / atau *ELISA Surra* sebagai metode uji yang terakreditasi oleh KAN di seluruh laboratorium veteriner di Indonesia; sementara kapasitas laboratorium dan kompetensi SDM serta terakritisasinya pengujian belum tercapai maksimal, maka diusulkan adanya revisi Permentan dimaksud berupa penambahan metode uji Surra yaitu ulas darah tebal / tipis dan *Haematocrit Centrifugation Technique (HMCT)*.

Kata Kunci : Permentan RI no. 17 tahun 2023, Surra, *mAECT*, *ELISA Surra*, Ulas darah, *HMCT*

ABSTRACT

The recognition of Surra disease is obtained through observation of clinical symptoms, pathological changes, and disease diagnosis. In the 2010 OIE Terrestrial Manual, especially Trypanosoma evansi (Surra) Infection. Chapter 2.1.17., Surra diagnosis is carried out through several methods, including: direct microscopic examination, including examination of native blood smears (NBS), examination of NBS with Giemsa staining and examination of lymph fluid and edema biopsies; concentration methods include HMCT (Haematocrit Centrifugation Technique) testing, Murray test or BCM (Buffy Coat Method) and mini-Anion Exchange Centrifugation Technique (m-AECT); Inoculation in experimental animals (mice); DNA detection includes DNA probe methods, antigen detection, and PCR; and serological tests include ELISA, IFAT, CAT (Card Agglutination Tests), and Immune Trypanolysis Tests. In Appendix II in Chapter II, it is explained about the requirements for some traffic from unexpected areas to unexpected Surra areas and from infected areas to infected areas, one of which is "Animals have been tested for blood smears using the mAECT and/or Surra ELISA methods with negative results for each individual animal that is trafficked.

In Appendix II in Chapter II, several requirements for traffic from suspected areas to suspected Surra areas and from infected areas to infected areas are outlined, one of which is that "Animals have been tested using mAECT and/or Surra ELISA blood smear methods with negative results for each individual animal being transported.

In the study of the Regulation of the Minister of Agriculture of the Republic of Indonesia Number 17 of 2023, issues arose at the field level, laboratories and testing processes, stakeholders and their scope and impacts. Based on

the results of the study, it can be concluded and recommendations suggested, including: increasing the capacity of veterinary laboratories at the national and regional levels, through budgeting and procurement of mAECT and/or ELISA Surra testing tools and materials; increasing HR competency through training in mAECT and/or ELISA Surra testing; adding mAECT and/or ELISA Surra test methods as test methods accredited by KAN in all veterinary laboratories in Indonesia; while the laboratory capacity and HR competency and accreditation of testing have not been achieved optimally, it is proposed that there be a revision to the Regulation in question in the form of adding the Surra test method, namely thick/thin blood smears and Haematocrit Centrifugation Technique (HMCT).

Keywords : Permentan RI no. 17 tahun 2023, Surra, mAECT, ELISA Surra, Blood smear, HMCT

PENDAHULUAN

Surra merupakan penyakit parasit yang menular pada hewan dan disebabkan oleh protozoa berflagella yang tersirkulasi dalam darah secara ekstraseluler yang bernama *Trypanosoma* sp. Penyakit ini dapat bersifat akut maupun kronis, tergantung pada inanganya. Di Indonesia, penyakit ini lebih sering menyerang kuda, sapi, kerbau, babi dan anjing. Tingkat infestasi bervariasi tergantung pada lokasi dan spesies inanganya.

Penyakit ini disebarkan lalat penghisap darah seperti *Tabanus* sp, *Chrysops* sp. dan *Haematopota* sp. Surra merupakan penyakit endemik yang telah menyebar di hampir seluruh wilayah di Indonesia.

Penyakit Surra bersifat asimtomatis sehingga sering diketahui setelah infeksi berjalan kronis. Kasus penyakit Surra umumnya terjadi secara sporadik, tetapi terkadang dapat juga merupakan wabah yang menimbulkan banyak kematian. Kerugian ekonomi berupa pertumbuhan tubuh yang lambat, penurunan produksi susu, hewan tidak mampu dipekerjakan optimal di sawah, penurunan kesuburan, dan abortus. Adanya kebijakan memasukkan Surra ke dalam penyakit hewan menular strategis (PHMS), mampu menekan kejadian Surra di lapang. Namun, ketika penyakit ini dicabut dari daftar tersebut, wabah kembali terjadi bahkan telah mengintroduksi daerah-daerah yang sebelumnya dinyatakan bebas Surra seperti

Pulau Sumba dan Papua. (Anon., 2014).

Pengenalan penyakit Surra didapatkan melalui pengamatan gejala klinis, perubahan patologis serta diagnosa penyakit. Pada OIE *Terrestrial Manual* tahun 2010. khususnya *Trypanosoma evansi* Infection (Surra).Chapter 2.1.17., diagnosa Surra dilakukan melalui beberapa metode, antara lain :

1. Pemeriksaan mikroskopik secara langsung, meliputi :
 - a) Pemeriksaan preparat ulas darah natif
 - b) Pemeriksaan preparat ulas darah dengan pewarnaan Giemsa
 - c) Pemeriksaan biopsi cairan limfa dan edema
2. Metode konsentrasi

Jumlah parasite yang menginfeksi inang dapat bersifat sub-klinis atau karier, sehingga tidak terdapat banyak parasit di dalam darah. Hal tersebut membuat pengamatan mikroskopis sulit dilakukan. Metoda konsentrasi dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan *Trypanosoma sp.*, meskipun dalam jumlah yang sedikit. Metoda konsentrasi tersebut dapat dilakukan dengan

pengujian **HMCT** (***Haematocrit Centrifugation Technique***), Murray test atau BCM (***Buffy Coat Method***), dan ***mini-Anion Exchange Centrifugation Technique (m-AECT)***.

3. Inokulasi pada hewan percobaan (tikus / mencit)
4. Deteksi DNA

Deteksi DNA *Trypanosoma sp.* dapat dilakukan dengan metode DNA *probes*, *antigen detection*, dan PCR.
5. Uji serologi

Secara serologi, deteksi *Trypanosoma sp.* dapat dilakukan dengan **metoda ELISA**, IFAT, CAT (***Card Agglutination Tests***), dan ***Immune Trypanolysis Tests***.

Peraturan Menteri Pertanian RI nomor 17 tahun 2023 tentang Tata cara pengawasan lalu-lintas hewan, produk hewan dan media pembawa penyakit hewan lainnya di dalam wilayah Negara Kesatuan Republik Indonesia, pada Lampiran II (Persyaratan kesehatan hewan dan analisis risiko) Bab I (Identifikasi bahaya (hazard)), menginformasikan bahwa lalu lintas HPM dalam wilayah NKRI, dimana Penyakit Surra termasuk dalam identifikasi

bahaya (hazard) pada kelompok hewan sapi, kerbau, kambing, domba, babi (domestik dan liar), unta dan kuda; akan tetapi pada Bab II. (Produk hewan) dan Bab III (Media pembawa penyakit lainnya) Surra tidak dicantumkan sebagai bahaya (hazard).

Pada Lampiran II di Bab II (Persyaratan kesehatan hewan HPM berdasarkan status / situasi penyakit hewan) nomor 11 (Penyakit Surra) diuraikan tentang beberapa persyaratan lalu lintas dari daerah terduga ke daerah terduga Surra dan dari daerah tertular ke daerah tertular, salah satunya adalah **“Hewan telah diuji ulas darah metode *mini-Anion Exchange Centrifugation Technique* dan / atau ELISA Surra** dengan hasil negatif pada setiap individu hewan yang dilalulintaskan.

MATERI DAN METODE

Materi

Peraturan Menteri Pertanian RI nomor 17 tahun 2023 tentang Tata cara pengawasan lalu-lintas hewan, produk hewan dan media pembawa penyakit hewan lainnya di dalam wilayah

Negara Kesatuan Republik Indonesia.

Metode

Melakukan kajian terhadap Peraturan Menteri Pertanian RI nomor 17 tahun 2023, khususnya tentang pengujian ulas darah metode *mini-Anion Exchange Centrifugation Technique* dan / atau ELISA Surra pada pengawasan lalu-lintas hewan sapi, kerbau, kambing, domba, babi (domestik dan liar), unta dan kuda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada hasil kajian terhadap Peraturan Menteri Pertanian RI nomor 17 tahun 2023 muncul isu permasalahan di tingkat lapang, laboratorium dan proses pengujian, *stakeholder* serta cakupan dan dampaknya yang diuraikan pada pembahasan sebagai berikut :

Pengujian lapang dan laboratorium

Pengujian darah hewan seringkali menjadi masalah mengingat Trypanosoma terdeteksi hanya pada saat parasitemia tinggi. Diagnosa terhadap penyakit Surra dapat

dilakukan dengan ditemukannya parasit Trypanosoma dalam darah yang hanya mungkin ditemukan pada saat parasitemia. Oleh karena parasitemia hanya terjadi sewaktu-waktu, kemungkinan peneguhan diagnosa yang didasarkan hanya pada penemuan langsung parasit adalah relatif kecil.

Pengujian preparat ulas darah dengan pewarnaan giemsa memiliki sensitifitas yang rendah. Pada infeksi subklinis, seringkali sulit menemukan parasit dalam darah. Lebih 50 – 80% dari kejadian infeksi Trypanosomiasis tidak terdeteksi secara mikroskopis langsung. Kemampuan diagnosis dapat secara signifikan ditingkatkan dengan metode *Haematocrit Centrifugation Technique* (HMCT) yang memiliki sensitivitas hingga 85 % dan sering digunakan untuk mendeteksi Trypanosomiasis di lapang, namun pengujian ini punya kelemahan yaitu harus segera dilakukan pengujian semenjak sampel diambil (Reid *et al.*, 2001).

Metode *mini-Anion Exchange Centrifugation Technique* (m-AECT) juga

sensitif untuk mendeteksi trypanosoma dalam darah dan dapat untuk mendeteksi satu Trypanosoma tiap dua mililiter darah (Reid, *et al.*, 2001). Metode ini sangat sensitif, namun memakan waktu lama sehingga kurang cocok untuk memeriksa banyak hewan dengan cepat. Selain itu, harganya sangat mahal karena mahalnya harga bahannya seperti dietil amino-etil kolom selulosa (DE52) dan waktu yang dibutuhkan untuk menyiapkannya (Desquesnes, M., *et al*, 2017).

Beberapa metode deteksi antigen *Enzim-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), berdasarkan pada serum imun atau antibodi monoklonal, telah digunakan untuk Trypanosomiasis. Namun, evaluasi lapangan terhadap pengujian ini memberikan hasil yang bervariasi dan umumnya kurang memuaskan. Misalnya pada uji Ag-ELISA berdasarkan antibodi monoklonal menunjukkan kurangnya spesifisitas antara spesies Trypanosoma dan ada juga reaksi silang dengan spesies lain yang tidak teridentifikasi sebagai agen parasit, mengakibatkan tingginya angka positif palsu di daerah non-endemik. Oleh karena itu,

deteksi antigen dengan ELISA tidak digunakan dalam diagnosis rutin Trypanosomosis.

Beberapa teknik deteksi antibodi ELISA telah dikembangkan untuk diagnosis Trypanosomosis, dengan berbagai tingkat sensitifitas dan spesifisitas. Meskipun deteksi IgM secara teori dimungkinkan, karena ketidakkonsistenan dan variabilitasnya hasil yang

diperoleh untuk deteksi IgM (kehadiran IgM dalam serum tidak konsisten karena pembentukan imun kompleks dan waktu paruhnya yang pendek), hanya deteksi IgG yang rutin dilakukan dengan ELISA untuk deteksi atau tindak lanjut Trypanosomosis.

Perbandingan masing-masing metode uji terhadap penyakit Surra dirangkum dalam **Tabel 1** di bawah ini.

Tabel 1. Perbandingan Metode Uji terhadap penyakit Surra

Metode Uji	Sensitifitas	Spesifisitas	Keunggulan	Kelemahan
Ulas darah tebal	Rendah	Rendah	<ul style="list-style-type: none"> • Sederhana • Murah • Lebih sensitif dari ulas darah tipis 	<ul style="list-style-type: none"> • Perlu cukup waktu dan mudah rusak selama proses pewarnaan • Sulit untuk identifikasi spesies. • Dalam kondisi parasitemia tinggi
Ulas darah tipis	Rendah	Sedang	<ul style="list-style-type: none"> • Sederhana • Murah • Identifikasi spesies Trypanosoma lebih mudah diamati 	<ul style="list-style-type: none"> • Kurang sensitif dibandingkan ulas darah tebal • Dalam kondisi parasitemia tinggi
<i>Haematocrit Centrifugation Technique</i> (HMCT)	Tinggi	Tinggi	<ul style="list-style-type: none"> • Cepat, sederhana • Murah • Lebih sensitif dibandingkan ulas darah tebal dan tipis 	<ul style="list-style-type: none"> • Harus cepat dikerjakan • Sulit mengidentifikasi spesies Trypanosoma
<i>mini-Anion Exchange Centrifugation Technique</i>	Tinggi	Tinggi	<ul style="list-style-type: none"> • Dapat mendeteksi Trypanosoma tiap dua mililiter darah 	<ul style="list-style-type: none"> • Waktu pengujian lama • Tidak cocok untuk

(m-AECT)				memeriksa hewan dengan populasi besar. • Biaya uji cukup mahal.
<i>Antibody Enzim-Linked Immunosorbent Assay</i> (Ab-ELISA)	Tinggi	Sedang	• Dapat mendeteksi antibodi Trypanosoma khususnya IgG dengan baik.	• Perlu cukup waktu untuk Pengujian • Biaya uji cukup mahal

Pelaksanaan Pengujian dan Stakeholder

Merujuk pada sensitifitas, spesifisitas, keunggulan dan kelemahan masing-masing metode uji Surra yang dijabarkan di atas, maka metode uji *Haematocrit Centrifugation Technique* (HMCT) layak digunakan sebagai *gold-standart* pengujian Surra di lapang, sedangkan metode uji *mini-Anion Exchange Centrifugation Technique* (m-AECT) dan *Antibody Enzim-Linked Immunosorbent Assay* (Ab-ELISA) antibodi untuk pengujian di laboratorium.

Memperhatikan Peraturan Menteri Pertanian RI nomor 17 tahun 2023 tentang Tata cara pengawasan lalu-lintas hewan, produk hewan dan media pembawa penyakit hewan lainnya di dalam wilayah Negara Kesatuan Republik Indonesia, dimana jenis

metode uji yang digunakan pada pengujian Surra adalah metode *mini-Anion Exchange Centrifugation Technique* dan / atau ELISA Surra dengan hasil negatif pada setiap individu hewan yang dilalulintaskan. Sehingga untuk menindaklanjuti Permentan tersebut, seluruh laboratorium kesehatan hewan terakreditasi di Indonesia wajib menyiapkan pelayanan pengujian dimaksud khususnya dalam keperluan lalu-lintas hewan antar daerah.

Sementara itu, *stakeholder* lainnya seperti dinas yang menangani fungsi peternakan dan kesehatan hewan, karantina pertanian, perhubungan dan instansi terkait wajib mendukung penerapan Permentan dimaksud.

Namun yang menjadi permasalahan adalah, Balai Besar Veteriner (BBVet) Denpasar serta beberapa Balai Veteriner dan laboratorium

provinsi / kabupaten / kota secara umum / rutin hanya melaksanakan pengujian Surra dengan metode uji ulas darah tebal / tipis dan *Haematocrit Centrifugation Technique* (HMCT). Sedangkan pengujian *mini-Anion Exchange Centrifugation Technique* dan / atau ELISA Surra belum dilakukan secara maksimal, karena terbatasnya ketersediaan sarana dan prasarana pendukung (alat dan bahan uji).

Cakupan dan dampak

Penerapan Peraturan Menteri Pertanian RI nomor 17 tahun 2023 dalam rangka menjaga penyebaran penyakit hewan menular strategis, seperti Surra, yang mencakup seluruh wilayah di Indonesia agar tidak dapat masuk ke daerah bebas dan / atau daerah terduga Surra, karena dampak kerugian ekonomi yang dapat ditimbulkan jika terjadinya wabah Surra pada suatu daerah.

Jika pengembangan metode uji Surra tidak dilaksanakan dengan baik dan hanya mengandalkan pengujian ulas darah tebal / tipis yang diketahui memiliki sensitifitas yang rendah

(muncul negatif palsu) ataupun hanya mengandalkan uji *Haematocrit Centrifugation Technique* (HMCT) yang lebih efektif digunakan di lapangan, tentu sangat berisiko pada penyebaran penyakit dan kemunculan wabah Surra melalui peralulintasan hewan ke daerah bebas / terduga.

Sebagaimana kita ketahui bahwa wabah Surra dapat menimbulkan banyak kematian pada hewan disamping kerugian ekonomi berupa pertumbuhan tubuh yang lambat, penurunan produksi susu, hewan tidak mampu dipekerjakan optimal di sawah, penurunan kesuburan, dan abortus.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kajian ini dibuat sebagai bahan pertimbangan kepada Pimpinan / Pemegang Kebijakan dalam penerapan Peraturan Menteri Pertanian RI nomor 17 tahun 2023 khususnya kendala dalam pelaksanaan pengujian penyakit Surra dan rekomendasi perbaikannya.

Berdasarkan kajian terhadap isu permasalahan di atas, dapat disimpulkan dan disarankan rekomendasi

kepada Pimpinan / Pemegang Kebijakan, antara lain :

1. Peningkatan kapasitas laboratorium veteriner di tingkat nasional dan regional, bahkan jika memungkinkan di tingkat provinsi melalui penganggaran serta pengadaan alat dan bahan pengujian *mini-Anion Exchange Centrifugation Technique* dan / atau ELISA Surra;
2. Peningkatan kompetensi SDM serangkaian dengan poin 1 di atas melalui pelatihan pengujian *mini-Anion Exchange Centrifugation Technique* dan / atau ELISA Surra;
3. Penambahan metode uji *mini-Anion Exchange Centrifugation Technique* dan / atau ELISA Surra sebagai metode uji yang terakreditasi oleh KAN di seluruh laboratorium veteriner di Indonesia;
4. Sementara kapasitas laboratorium dan kompetensi SDM serta terakreditasinya pengujian belum tercapai maksimal sehingga belum dapat mendukung pelaksanaan pengujian *mini-Anion Exchange Centrifugation*

Technique dan / atau ELISA Surra sebagai amanat Peraturan Menteri Pertanian RI nomor 17 tahun 2023, maka diusulkan adara revisi Permentan dimaksud berupa penambahan metode uji Surra yaitu ulas darah tebal / tipis dan *Haematocrit Centrifugation Technique* (HMCT).

DAFTAR PUSTAKA

Anonim (2010). OIE *Terrestrial Manual* tahun 2010. khususnya Trypanosoma evansi Infection (Surra). Chapter 2.1.17.

Anonim (2014). Manual Penyakit Hewan Mamalia. Subdit Pengamatan Penyakit Hewan Direktorat Kesehatan Hewan Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian. Hal. 440-449.

Anonim (2023). Peraturan Menteri Pertanian RI nomor 17 tahun 2023 tentang Tata cara pengawasan lalu-lintas hewan, produk hewan dan media pembawa penyakit hewan lainnya di dalam wilayah Negara Kesatuan Republik Indonesia.

Desquesnes, Marc., Bengaly, Z., Berthier, D., Bossard, G., Cene, B., Ilboudo, H., Jamonneau, V., Kaboré, J., Mémé, Y., Millogo, L., Ravel, S., Sakandé, H., Sanogo,

L., Thévenon, S., Yoni, W., and Zoungrana, A. (2017). OIE Reference Laboratory for Animal Trypanosomoses of African origin. Compendium of Diagnostic Protocols of the OIE Reference Laboratory for Animal Trypanosomoses of African Origin. Montpellier, October 2017.

Nurcahyo, Wisnu (2017). Penyakit Surra pada Hewan dan Ternak. Penerbit Samudra Biru (Anggota IKAPI). Yogyakarta.

Reid, S.A., Hussein, A., dan Copeman, D.B. (2001). Evaluation dan Improvement of Parasitological Tests for Trypanosoma evansi Infection. Vet. Parasitology. 104: 79- 84.

**PROFIL ANTIBODI ANTRAKS
DI PROVINSI BALI, NUSA TENGGARA BARAT DAN
NUSA TENGGARA TIMUR TAHUN 2023**

(Anthrax Antibody Profile in Bali, West Nusa Tenggara and East Nusa Tenggara Provinces in 2023)

Dewi, A.A.S.⁽¹⁾; A. A.G. Semara Putra⁽²⁾; I K. Narcana⁽³⁾; M.Rohmanto⁽⁴⁾;
R.Cahyo Saputro⁽⁵⁾.

Balai Besar Veteriner Denpasar Jl. Raya Sesetan No. 266,
Denpasar Selatan, Denpasar, Bali

ABSTRAK

Salah satu penyakit yang bersifat zoonosis yang disebabkan oleh agen bakteri adalah penyakit Antraks. Penyakit Antraks merupakan penyakit infeksi akut yang disebabkan oleh bakteri *Bacillus anthracis*. Antraks di wilayah kerja Balai Besar Veteriner Denpasar berbeda diantara satu pulau dengan pulau lainnya. Provinsi Bali diketahui sebagai daerah bebas antraks sedangkan Provinsi NTB dan NTT dinyatakan sebagai daerah endemis antraks. Program pengendalian antraks khususnya di Provinsi NTB dan NTT dilakukan melalui vaksinasi.

Untuk mengetahui profile antibodi Antraks pada kelompok ternak, maka Balai Besar Veteriner Denpasar tahun 2023 melakukan monitoring dan surveilans dengan melakukan pengambilan sampel serum sapi di Provinsi Bali (240 sampel), NTB (685 sampel) dan NTT(398 sampel) sehingga total sampel sebanyak 1.323 sampel. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan dengan metoda ELISA. Hasil pemeriksaan menunjukkan, dari 240 sampel serum sapi yang berasal dari Bali semuanya negatif antibodi Antraks. Sedangkan yang berasal dari NTB, sebanyak 91 sampel (13,3%) positif antibodi antraks Sementara itu hasil uji sampel dari NTT menunjukkan, dari 398 sampel yang diperiksa sebanyak 54 sampel (13,6%) positif antibodi antraks. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat kekebalan kelompok ternak relatif masih rendah dan cakupan vaksinasi yang belum memadai.

Berbagai kendala dihadapi masing-masing provinsi dalam pelaksanaan vaksinasi. Tingkat kekebalan kelompok ternak yang relatif masih rendah dan cakupan vaksinasi yang belum memadai cukup mengkhawatirkan akan terjadinya kasus, oleh sebab itu perlu dilakukan strategi yang baik dalam menanggulangi kendala-kendala yang ada sehingga cakupan vaksinasi dapat ditingkatkan. Keberhasilan vaksinasi umumnya dapat dicapai apabila cakupan vaksinasinya tinggi dan tingkat kekebalan kelompok minimal 70%.

Kata kunci : Antibodi Antraks, Bali, NTB, NTT

ABSTRACT

*One of the zoonotic diseases caused by bacterial agents is Anthrax. Anthrax disease is an acute infectious disease caused by the bacteria *Bacillus anthracis*. Anthrax in the working area of the Denpasar Veterinary Center differs from one island to another. Bali Province is known as an anthrax-free area while NTB and NTT Provinces are declared as anthrax endemic areas. The anthrax control program, especially in NTB and NTT Provinces, is carried out through vaccination.*

To determine the Anthrax antibody profile in livestock groups, the Denpasar Veterinary Center in 2023 conducted monitoring and surveillance by taking cattle serum samples in Bali Province (240 samples), NTB (685 samples) and NTT (398 samples) so that the total sample was 1,323 samples. Next, an examination was carried out using the ELISA method. The results of the examination showed that of the 240 cow serum samples from Bali, all were negative for Anthrax antibodies. Meanwhile, those samples from NTB, as many as 91 samples (13.3%) were positive for anthrax antibodies. Meanwhile, the results of the sample test from NTT showed that of the 398 samples examined, 54 samples (13.6%) were positive for anthrax antibodies. This shows that the level of herd immunity of livestock is still relatively low and vaccination coverage is inadequate.

Various obstacles are faced by each province in implementing vaccination. The level of herd immunity of livestock is still relatively low and vaccination coverage is inadequate, which is quite worrying about the occurrence of cases, therefore a good strategy is needed to overcome existing obstacles so that vaccination coverage can be increased. Vaccination success can generally be achieved if vaccination coverage is high and the herd immunity level is at least 70%.

Keywords: Anthrax Antibody, Bali, NTB, NTT

PENDAHULUAN

Salah satu penyakit zoonosis yang disebabkan oleh agen bakteri adalah penyakit Antraks. Penyakit Antraks merupakan penyakit infeksi

akut yang disebabkan oleh bakteri *Bacillus anthracis*. Penyakit antraks kebanyakan menyerang mamalia terutama herbivora. Hewan ternak yang sering terkontaminasi yaitu

sapi, kerbau, kambing, domba dan babi (Dutta *et al*, 2011). Penyakit antraks dapat menginfeksi dari hewan ke manusia melalui kontak dengan lesi, ingesti / makan daging hewan terkontaminasi dan inhalasi dari spora *Bacillus anthracis* (WHO, 2008). Penyakit Antraks bersifat universal karena secara geografis tersebar di seluruh dunia, baik negara yang beriklim tropis maupun sub tropis. Penyakit timbul secara enzootis pada saat-saat tertentu sepanjang tahun, namun lokasi terbatas hanya pada daerah tertentu yang disebut Daerah Antraks (Pedoman PHM, 2016). Wabah paling sering terjadi di daerah yang memiliki karakteristik alkalin, tanah berkapur, lingkungan yang hangat dan memiliki episode periodik banjir (Sean and Theresa, 2008).

Pada hewan, penularan terjadi dengan menelan,

menghirup spora atau masuk melalui lesi kulit. Herbivora biasanya terinfeksi saat menelan cukup banyak spora di tanah atau pada tanaman di padang rumput. Wabah anthraks sering dikaitkan dengan hujan deras, banjir atau kekeringan. Burung pemakan bangkai dan lalat dapat menyebarkan anthraks secara mekanis. Spora anthraks dapat bertahan selama puluhan tahun di tanah atau produk hewani seperti kulit kering atau olahan dan wol (Powel *et al*, 2015). Gejala klinis antraks pada hewan diawali dengan suhu tubuh tinggi sekitar 41-42 °C, kehilangan nafsu makan yang mengarah kepada terhentinya produksi susu pada sapi perah, edema di sekitar leher, hidung, kepala dan scrotum, selain itu hewan terlihat sempoyongan, gemetar dan kemudian mati (WHO, 2008).

Di wilayah kerja Balai Besar Veteriner Denpasar,

Provinsi Bali merupakan daerah bebas antraks, sedangkan Provinsi NTB dan NTT merupakan daerah endemis antraks. Program pengendalian anthraks khususnya di Propinsi NTB dan NTT dilakukan melalui vaksinasi. Keberhasilan vaksinasi umumnya dapat dicapai apabila cakupan vaksinasinya tinggi dan tingkat kekebalan kelompok minimal 70%. Untuk mengetahui profile antibody Antraks pada kelompok ternak, maka Balai Besar Veteriner Denpasar tahun 2023 melakukan monitoring dan surveilans dengan melakukan pengambilan sampel serum sapi di Povinsi Bali, NTB dan NTT selanjutnya dilakukan pemeriksaan dengan metoda ELISA.

MATERI DAN METODE

Materi

Sampel yang diperiksa adalah serum sapi yang berasal

dari Provinsi Bali, NTB dan NTT. Total sampel serum adalah 1.323 yang berasal dari Provinsi Bali sebanyak 240 sampel, Provinsi NTB sebanyak 685 sampel dan dari Provinsi NTT sebanyak 398 sampel. Bahan dan peralatan yang dipergunakan antara lain kit elisa antraks, aquadest, mikropelat, mikropipet, tips, gelas Erlenmeyer, gelas ukur dan elisa reader.

Metode

Lokasi sampling

Pengambilan sampel dilakukan di beberapa kelompok ternak sapi di wilayah di Provinsi Bali, NTB dan NTT. Di Provinsi Bali pengambilan sampel dilakukan di 8 (delapan) Kabupaten/Kota yaitu : Badung, Gianyar, Klungkung, Buleleng, Jembrana, Karangasem, Tabanan dan Kota Denpasar. Pengambilan sampel di Provinsi NTB dilakukan di 7 (tujuh)

Kabupaten/Kota yaitu : Lombok Timur, Lombok Tengah, Lombok Utara, Kota Mataram, Sumbawa, Bima dan Kota Bima. Sedangkan di Provinsi NTT dilakukan di 6 (enam) Kabupaten yaitu : Manggarai, Manggarai Barat, Timor Tengan Utara (TTU), Belu dan Sumba Tengah.

Metode Uji

Pengujian sampel serum sapi menggunakan metode Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) antibodi Antraks dengan prosedur sebagai berikut :

a. Sebanyak 100 ul antigen antraks yang telah dilarutkan dalam coating buffer (1/100) dimasukkan dalam semua lubang mikroplat dan diinkubasikan semalam pada suhu 4°C, selanjutnya mikroplat dicuci sebanyak 4 kali dengan PBS tween 0,05%.

b. Sampel serum dilarutkan dalam PBST casein 0,2% (1/200) dan dimasukkan 100 ul ke dalam semua lubang kecuali lubang A1-A2 dan B1-B2, pada lubang A1-A2 dimasukkan kontrol positif dan lubang B1-B2 dimasukkan kontrol negatif, diinkubasikan selama 1 jam pada suhu kamar, selanjutnya mikroplat dicuci sebanyak 4 kali dengan menggunakan PBS tween 0,05%.

c. Masukkan 100 ul Conjugat anti-bovine yang telah dilarutkan dalam PBST casein 0,2% (1/5000) ke dalam semua lubang mikroplat, diinkubasikan selama 1 jam pada suhu kamar, kemudian mikroplat dicuci sebanyak 4 kali dengan PBS tween 0,05%.

d. Sebanyak 100 ul substrat TMB dimasukkan ke dalam semua lubang mikroplat, diinkubasikan 15-30 menit

pada suhu kamar, selanjutnya ditambahkan 100 ul stop solution.

- e. Pembacaan pada elisa reader dengan panjang

gelombang 450 nm. *Optical density* (OD) selanjutnya dikonversikan ke S/P ratio.

$$\text{Titer} = \text{S/P ratio} \times 100.$$

Tabel 1. Tabel Interpretasi

Titer	Interpretasi
Titer < 50	Negatif
$50 \leq \text{Titer} \leq 60$	Dubius
Titer > 60	Positif

HASIL

Hasil pemeriksaan antibodi Antraks tahun 2023 terhadap 1.323 sampel serum sapi yang berasal dari Provinsi Bali (240 sampel), NTB (685 sampel) dan NTT (398 sampel) menunjukkan, dari 240 sampel serum sapi yang berasal dari Provinsi Bali semua sampel menunjukkan negatif antibodi Antraks. Sedangkan sampel dari Provinsi NTB, sebanyak 91 dari 685 sampel (13,3%)

menunjukkan terdeteksi positif antibodi Antraks dan sampel dari Provinsi NTT sebanyak 54 dari 398 sampel (13,6%) menunjukkan positif antibodi Antraks. Hasil selengkapnya tersaji dalam tabel 1, 2 dan 3 di bawah ini.

Pada tabel 2 disajikan hasil pengujian sampel yang berasal dari 8 (delapan) Kabupaten/Kota di wilayah Provinsi Bali.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan antibodi Antraks sampel serum sapi asal Bali tahun 2023

Provinsi	Kabupaten/Kota	Jumlah Sampel	Antibodi Antraks		
			Negatif	Positif	Prosentase Positif
Bali	Badung	30	30	0	0,0%
	Gianyar	30	30	0	0,0%
	Klungkung	30	30	0	0,0%
	Karangasem	30	30	0	0,0%
	Buleleng	30	30	0	0,0%
	Jembrana	30	30	0	0,0%
	Tabanan	30	30	0	0,0%
	Kota Denpasar	30	30	0	0,0%
Jumlah		240	240	0	0,0%

Pada tabel 2 di bawah ini, disajikan hasil pengujian terhadap sampel serum yang berasal dari 7 (tujuh) Kabupaten/Kota yang ada di wilayah Provinsi NTB. sampel

yang menunjukkan positif antibodi Antraks berasal dari Kabupaten Lombok Timur, Sumbawa, Bima dan Kota Bima.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan antibodi Antraks sampel serum Sapi asal NTB tahun 2023

Provinsi	Kabupaten/Kota	Jumlah Sampel	Antibodi Antraks		
			Negatif	Positif	Prosentase Positif
NTB	Lombok Utara	75	75	0	0,0%
	Lombok Tengah	75	75	0	0,0%
	Lombok Timur	155	150	5	3,2%
	Kota Mataram	75	75	0	0,0%
	Sumbawa	75	58	17	22,7%
	Bima	80	44	36	45,0%

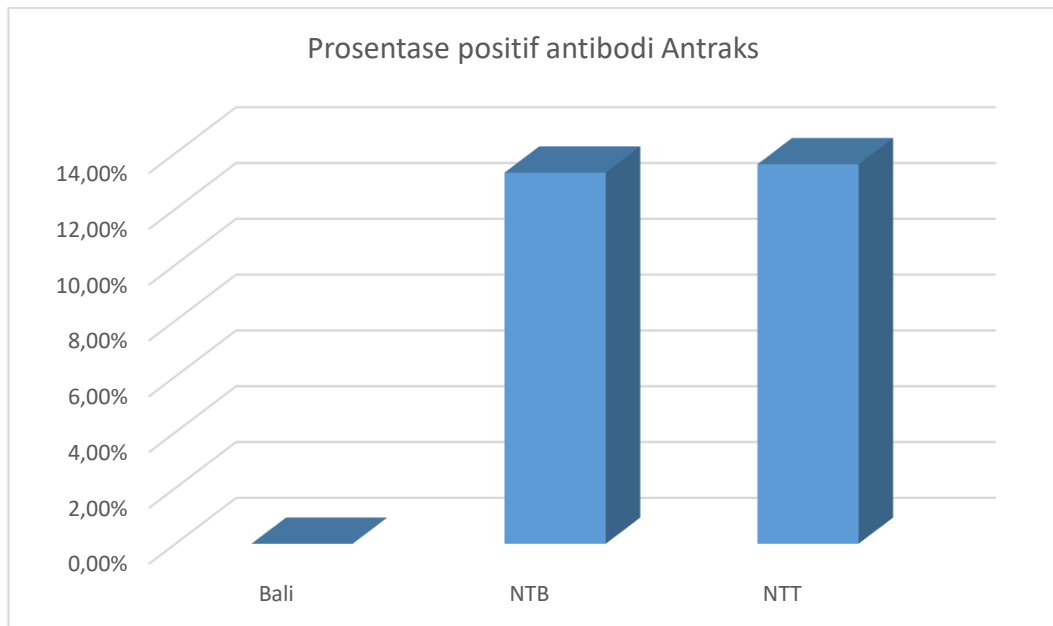
	Kota Bima	150	117	33	22,0%
Jumlah		685	594	91	13,3%

Sementara itu, hasil pengujian sampel serum terhadap 5 (lima) Kabupaten yang ada di wilayah Provinsi NTT disajikan dalam tabel 3 di bawah ini. Sampel serum yang positif antibodi Antraks berasal dari Kabupaten Manggarai Barat dan Sumba Tengah.

Tabel 4. Hasil pemeriksaan antibodi Antraks sampel serum sapi asal NTT tahun 2023

Provinsi	Kabupaten/ Kota	Jumlah Sampel	Antibodi Antraks		
			Negatif	Positif	Prosentase Positif
NTT	Manggarai	75	75	0	0,0%
	Manggarai Barat	88	35	53	60,2%
	TTU	80	80	0	0,0%
	Belu	80	80	0	0,0%
	Sumba Tengah	75	74	1	1,3%
Jumlah		398	344	54	13,6%

Pada gambar 1 di bawah ini, disajikan perbandingan prosentase positif antibodi Antraks terhadap sampel asal Provinsi Bali, NTB dan NTT.



Gambar 1. Perbandingan prosentase positif antibodi antraks terhadap sampel serum asal Provinsi Bali, NTB dan NTT Tahun 2023

PEMBAHASAN

Pemeriksaan antibodi antraks terhadap serum sapi asal Provinsi Bali, NTB dan NTT dilakukan dengan metode Enzyme linked immunosorbent assay (Elisa). Secara historis Provinsi Bali merupakan wilayah yang bebas dari penyakit Antraks. Dari hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa sampel serum sapi dari Provinsi Bali semuanya negatif antibodi Antraks. Sedangkan hasil pemeriksaan terhadap sampel serum asal NTB dan

NTT masing-masing sebanyak 13,3% dan 13,6% positif antibodi Antraks. Dengan menggunakan batasan nilai titer Elisa negatif yaitu <50 dapat dikatakan merupakan serum yang tidak mengandung antibodi antraks atau dengan kata lain negatif antraks. Sedangkan sampel yang menunjukkan hasil Elisa dengan nilai titer >60 merupakan serum yang mengandung antibodi antraks atau positif antraks yaitu beberapa sampel dari Provinsi NTB (Kabupaten Lombok

Timur, Sumbawa, Bima dan Kota Bima) dan Provinsi NTT (Sumba Tengah dan Manggarai Barat) dengan prevalensi yang bervariasi.

Antraks merupakan penyakit yang sangat berbahaya dan mudah ditularkan dari hewan ke hewan, hewan ke manusia atau sebaliknya. Prevalensi kejadian penyakit antraks di Indonesia cukup tinggi. Antraks menyebar ke seluruh Indonesia, Kejadian antraks menyebar sejak tahun 1884 dan saat ini terdapat 11 provinsi yang dapat dinyatakan sebagai daerah endemis antraks meliputi Jakarta, Jawa Barat, Jawa Tengah, Nusa Tenggara Barat, dan Nusa Tenggara Timur, Sumbar, Jambi, Sulteng, Sultra, 2 dan Papua (Widoyono, 2008).

Kasus antraks di Provinsi Nusa Tenggara Barat (NTB) pertama kali dilaporkan di Pulau Sumbawa pada tahun 1917 yaitu di Kecamatan

Kempo, Kabupaten Dompu. Selanjutnya dilaporkan di Pulau Sumbawa tahun 1931 dan Pulau Lombok tahun 1933. Kasus terakhir antraks di Pulau Lombok dilaporkan terjadi pada 26 Januari tahun 1987 di desa Kenyalu, Kecamatan Janapria, Kabupaten Lombok Tengah pada sapi. Pada saat itu 12 orang dilaporkan tertular antraks dan 2 orang diantaranya meninggal. Namun demikian penyakit dapat dikendalikan dengan baik sehingga tidak menyebar ke wilayah lainnya (Putra, dkk., 2011). Sejak tahun 1988 sampai 2019 tidak ada lagi laporan kasus antraks di Pulau Lombok, dan berdasarkan informasi dari petugas dinas peternakan setempat, bahwa di Pulau Lombok sudah tidak dilakukan vaksinasi antraks.

Sedangkan antraks di Pulau Sumbawa menjadi endemis, dengan kejadian yang cukup tinggi, kasus

dilaporkan terjadi hampir setiap tahun, terutama di Kabupaten Sumbawa, Kabupaten Bima dan Kota Bima. Tahun 2016 dilaporkan terjadi satu kasus antraks di Kabupaten Sumbawa, dan tahun 2017 kasus dilaporkan terjadi di Kabupaten Bima pada 3 ekor kambing. Kasus antraks di Kabupaten Bima dalam 2 tahun terakhir dilaporkan tahun 2015 pada 2 ekor ternak yaitu di Kecamatan Ambalawi dan Kecamatan Sangar, tahun 2016 terjadi 2 kasus di Kecamatan Bolo (Dartini, 2017). Kasus antraks pada tahun 2018 dilaporkan terjadi di Kota Bima, di Kelurahan Kumbe, Kecamatan Rasanae Timur. Kecamatan Rasana'e Timur diketahui sebagai daerah endemis antraks. Beberapa kasus anthraks pernah dilaporkan menyerang ternak sapi, kuda, dan kambing/domba (Putra, dkk., 2011).

Sementara itu, situasi antraks di Provinsi Nusa Tenggara Timur bervariasi diantara pulau yang menjadi wilayah NTT. Antraks di Pulau Flores tersebar luas hampir diseluruh kabupaten, Antraks sering menyerang sapi, kerbau, kuda, kambing/domba, kadang-kadang babi. Selain menyerang ternak, antraks di Pulau Flores sering menulari manusia akibat menyembelih dan atau mengkonsumsi daging terduga antraks. Kasus antraks dalam beberapa tahun terakhir di Pulau Flores dilaporkan terjadi di Manggarai tahun 2001, Ngada tahun 2009, Nagekeo tahun 2007, Ende tahun 2012, Sikka tahun 2007, Manggarai Barat tahun 2008 dan terakhir dilaporkan pada tahun 2019 dan 2020.

Kasus antraks di Pulau Sumba pertama kali dilaporkan pada tahun 1939 di Kabupaten Suma Timur. Wabah Antraks di Pulau Sumba pernah

dilaporkan terjadi pada tahun 1963, 1965, 1980 (Putra, dkk., 2011) dan tahun 2007 di Kabupaten Sumba Barat. Kasus terakhir dilaporkan terjadi di Sumba Barat Daya tahun 2011. Anthraks di Kabupaten lainnya di Provinsi NTT pernah dilaporkan terjadi di Kabupaten Saburaijua tahun 2011.

Salah satu tindakan pengendalian penyakit antraks di Provinsi NTB dan NTT dilakukan melalui vaksinasi yang dilakukan setiap tahun. Namun demikian belum semua ternak mendapatkan vaksinasi antraks dengan berbagai kendala yang dihadapi di masing-masing Provinsi. Salah satunya adalah sulitnya menangkap ternak sapi khususnya di Provinsi NTT, mengingat sistem pemeliharaan ternak yang sebagian besar adalah ekstensif. Sehingga cakupan vaksinasi antraks di Provinsi

NTB dan NTT relatif masih rendah. Hal ini dapat dilihat dari hasil pemeriksaan sampel serum tahun 2023 yaitu rata-rata prevalensi antibodi anthraks <70%.

Tingkat kekebalan kelompok ternak yang relatif masih rendah dan cakupan vaksinasi yang belum memadai cukup mengkhawatirkan akan terjadinya kasus, oleh sebab itu perlu dilakukan strategi yang baik dalam menanggulangi kendala-kendala yang ada sehingga cakupan vaksinasi dapat ditingkatkan. Keberhasilan vaksinasi umumnya dapat dicapai apabila cakupan vaksinasinya tinggi dan tingkat kekebalan kelompok minimal 70%.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan :

- a. Provinsi Bali yang secara historis merupakan wilayah

bebas Antraks, masih tetap merupakan wilayah bebas Antraks.

- b. Cakupan vaksinasi antraks di Provinsi NTB dan NTT relatif rendah.

Saran

Untuk meningkatkan kekebalan kelompok ternak terhadap penyakit Antraks, diharapkan melakukan vaksinasi pada ternak rentan dengan cakupan yang memadai, terutama dilokasi yang sering dilaporkan terjadinya kasus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih yang sebesar-besarnya disampaikan kepada Kepala Dinas dan staf Dinas Peternakan / dinas yang membidangi fungsi Peternakan dan serta Kepala Dinas Peternakan / dinas yang membidangi fungsi peternakan dan Kesehatan Provinsi dan Kabupaten/Kota di Nusa Tenggara Timur, atas bantuan dan kerjasamanya sehingga

kegiatan ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

Dutta TK, Sujatha S, Sahoo RK. 2011. Anthrax Update on Diagnosis and Management. JAPI. 2011; 59(1): 573-8. 2.

Dartini dan Mamak Rohmato. 2017. Laporan hasil investigasi kasus kematian kambing di Kecamatan Bolo, Kabupaten Bima. BBVet Denpasar.

Putra, A.A.G., Helen Scoot-Orr, Nuri Widowati. 2011. Antraks di Nusa Tenggara, Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan bekerjasama dengan ACIAR. Hal. 37 - 75.

Powell JD, Hutchison JR, Hess BM, Straub TM. 2015. *Bacillus anthracis* spores germinate extracellularly at air-liquid interface in an in vitro lung model under serum-free conditions. *Journal of Applied Microbiology*.12(2);711—23. 11.

Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan. 2016. Seri Penyakit Anthrax. Kementerian Pertanian Republik Indonesia, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan.

Sean V, Theresa LS. 2008.
Zoonosis Update – Anthrax.
JAVMA. 23(1): 63-72.

Widoyono. 2008. Penyakit Tropis
Epidemiologo. Penularan.
Pencegahan &
Pemberantasannya. Erlangga.
Jakarta

World Health Organization. 2008.
Anthrax in humans and animals
4th ed. Geneva: the Organization.
4(1):36-4

UJI TOKSIKOLOGI PADA HIJAUAN PAKAN TERNAK: BERBASIS KEJADIAN KERACUNAN NITRAT PADA SAPI BALI

*(Toxicology Test on Forage: Incident Based of Nitrate Poisoning in Bali
Cattle)*

M Septiani, IKE Supartika, FI Kusuma, IWA Muliadi

Laboratorium Patologi

Balai Besar Veteriner Denpasar Jl. Raya Sesetan No. 266,
Denpasar Selatan, Denpasar, Bali

ABSTRAK

Nitrat adalah komponen alami dalam hijauan pakan ternak dan merupakan sumber utama nitrogen di tanah. Pada kondisi tertentu seperti pemupukan berlebih, kandungan nitrat dalam hijauan menjadi meningkat. Keracunan nitrat dapat menjadi ancaman kesehatan bagi hewan. Hewan ternak, khususnya sapi sangat rentan terhadap keracunan nitrat dan nitrit karena konversi cepat nitrat menjadi nitrit yang lebih toksik oleh mikroorganisme rumen. Penyebab utama keracunan nitrat pada ternak adalah konsumsi pakan atau air dengan kadar nitrat tinggi yaitu lebih dari 0,5% (5000 ppm) dalam pakan ternak. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan toksin dalam hijauan pakan ternak yang diduga menyebabkan kematian sapi di Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, melalui uji toksikologi kualitatif dan semikuantitatif, serta menentukan kadar nitrat dalam hijauan tersebut. Sampel hijauan (N=10) terdiri dari rumput gajah (N=9) dan gamal (N=1) dari desa Mengani, kecamatan Kintamani, kabupaten Bangli, provinsi Bali. Uji toksikologi nitrat menggunakan kit *Nitrate Test Method: colorimetric with test strips 10 - 25 - 50 - 100 - 250 - 500 mg/l NO₃⁻ MQuant® 100 test strips* (Cat. No. 1.10020 - Merck, Darmstadt, Germany). Uji toksikologi lain dilakukan terhadap kandungan nitrit, sianida, dan striknin. Hasil uji kandungan nitrat sampel berturut-turut 100ppm (1/10), 1.000ppm (3/10), 2.500ppm (1/10), dan 5.000ppm (1/10). Kandungan nitrat >1.500ppm dalam hijauan segar,

dikategorikan cukup tinggi dan dapat menyebabkan keracunan pada sapi. Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh adanya pemupukan berlebih disekitar lahan hijauan, volume pemberian hijauan dan waktu pemberian pakan.

Kata kunci: keracunan, nitrat, sapi, toksikologi

ABSTRACT

Nitrate is a natural component in forage and a major source of nitrogen in the soil. Under certain conditions, such as over-fertilization, the nitrate content in forage can increase. Nitrate poisoning poses a health threat to animals. Livestock, particularly cattle, are highly susceptible to nitrate and nitrite poisoning due to the rapid conversion of nitrate to the more toxic nitrite by rumen microorganisms. The primary cause of nitrate poisoning in livestock is the consumption of feed or water with high nitrate levels, i.e., more than 0.5% (5000 ppm) in the feed. Therefore, this study aims to determine the toxins in forage suspected of causing cattle deaths in Kintamani District, Bangli Regency, through qualitative and semi-quantitative toxicity tests, and to determine the nitrate levels in the forage. Forage samples (N=10) comprised elephant grass (N=9) and gamal (N=1) from Mengani village, Kintamani district, Bangli regency, Bali province. Nitrate toxicology tests used the Nitrate Test Method kit: colorimetric with test strips 10 - 25 - 50 - 100 - 250 - 500 mg/l NO_3^- MQuant® 100 test strips (Cat. No. 1.10020 - Merck, Darmstadt, Germany). Other toxicology tests were conducted for nitrite, cyanide, and strychnine contents. Nitrate content test results were 100 ppm (1/10), 1,000 ppm (3/10), 2,500 ppm (1/10), and 5,000 ppm (1/10). Nitrate content >1,500 ppm in fresh forage is considered high and can cause cattle poisoning. This is likely due to over-fertilization around the forage area, the volume of forage given, and the timing of feed administration.

Keywords: cattle, nitrate, poisoning, toxicology

PENDAHULUAN

Di Indonesia, khususnya di Provinsi Bali, pakan hijauan merupakan sumber serat kasar yang berasal dari rumput gajah dan pakan limbah pertanian berupa jerami padi yang banyak ditanam di pematang sawah atau lahan lain yang teraliri irigasi (Sari *et al.*, 2022). Di Indonesia sendiri, rumput gajah merupakan tanaman hijauan utama pakan ternak yang penanaman maupun introduksinya direkomendasikan oleh berbagai kalangan (Sirait, 2017). Menurut Suarna (2017), produksi hijauan sebesar 871,11kg DM ha⁻¹ pada tahun 2017, sangat mendukung peningkatan populasi ternak ruminansia di Provinsi Bali. Rumput gajah yang banyak tumbuh sekarang ini, terutama di lahan-lahan terbatas adalah rumput *P. purpureum* cv. *Mott* dikenal dengan nama lokal gajah mini (karena tinggi tanaman maupun panjang dan

lebar daun yang lebih kecil dibandingkan dengan rumput gajah, *P. purpureum*) (Sirait, 2017). Rumput gajah merupakan rumput yang tumbuh baik pada kondisi cahaya penuh dan akan tumbuh sangat baik bila ditanam di tanah yang gembur dan subur (Heuze *et al.*, 2016). Rumput gajah mini juga dapat tumbuh baik pada areal di bawah pohon-pohon perindang (kondisi teduh). Rellam dkk. (2017) menyebutkan adanya pengaruh interaksi antara taraf pupuk nitrogen dengan peneduhan 70% menghasilkan panjang daun, jumlah daun dan tinggi tanaman terbaik.

Penggunaan pupuk kimia yang mengandung nitrogen (pupuk NPK) dan pupuk kotoran unggas di Bali, khususnya di Kabupaten Bangli (daerah Kintamani) merupakan hal yang biasa dilakukan oleh petani jeruk dan komoditas tanaman produksi lain. Upaya untuk mempertahankan

keberlanjutan pertanian dilakukan melalui pemanfaatan sumber daya secara efektif dan efisien dalam sistem pertanian terpadu (Widnyana dkk., 2023). Penggunaan pupuk nitrogen (N) yang berlebihan di lahan pertanian untuk meningkatkan kualitas dan hasil panen telah meningkat pesat di seluruh dunia (Malhi *et al.*, 2004). Kadang-kadang, tanaman mengakumulasi nitrat dalam jumlah berlebihan, yang mengakibatkan tingginya angka kematian ternak (Soetan *et al.*, 2010). Wabah keracunan nitrat terjadi pada hewan ternak di seluruh dunia, akibat konsumsi pakan ternak yang mengandung nitrat dalam jumlah tinggi. Nitrat merupakan komponen normal tanaman dan merupakan komponen utama sumber nitrogen dalam tanah. Semua tanaman mengandung beberapa nitrat, tetapi jumlah yang berlebihan cenderung terjadi pada hijauan yang tumbuh dalam kondisi

pemupukan berlebihan dan/atau stres (Basso and Ritchie, 2005). Setiap kondisi stres yang menyebabkan penurunan pertumbuhan tanaman secara tiba-tiba dapat berkontribusi pada akumulasi nitrat tanaman, bahkan dengan pasokan nitrogen normal. Penumpukan nitrat di tanah yang disebabkan oleh pemupukan berlebihan dengan kotoran unggas atau pupuk kandang juga merupakan penyebab umum akumulasi nitrat pada tanaman (Soomro *et al.*, 2017). Banyak spesies hewan yang rentan terhadap keracunan nitrat dan nitrit; tetapi sapi dianggap paling rentan karena konversi cepat nitrat menjadi bentuk nitrit yang lebih beracun oleh mikroorganisme rumen (Tokarnia *et al.*, 2002; Ozmen *et al.*, 2005).

Keracunan nitrat merupakan masalah serius di seluruh dunia, dan penelitian terkini menunjukkan bahwa

kandungan nitrat dalam air tanah dan air sumur meningkat (Manassaram *et al.*, 2007; Burow *et al.*, 2010; Ward *et al.*, 2010), yang menimbulkan bahaya kesehatan bagi hewan dan manusia. Penyebab paling umum keracunan nitrat pada hewan ternak adalah konsumsi pakan atau air yang mengandung nitrat dalam kadar tinggi (Ozmen *et al.*, 2003). Kadar nitrat yang lebih tinggi dari 0,5% (5.000 ppm) dalam pakan ternak berpotensi merusak kesehatan dan produktivitas ruminansia. Konsentrasi nitrat dalam pakan ternak umumnya belum terstandarisasi dan pedoman yang ditemukan saat ini dalam literatur didasarkan pada data penelitian yang terbatas. Oleh karena itu, tulisan ini dirancang untuk (i) menentukan toksin dalam hijauan pakan ternak yang diduga menjadi penyebab kematian sapi di Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, Provinsi Bali melalui uji

toksikologi kualitatif dan semikuantitatif, dan (ii) menentukan kadar nitrat dalam hijauan pakan ternak tersebut.

MATERI DAN METODE

Sampel hijauan (N=10) terdiri dari rumput gajah (N=9), diduga jenis rumput gajah mini (*P. purpureum* cv. *Mott*) dan gamal (N=1) dari Desa Mengani, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, Provinsi Bali yang diambil oleh tim investigasi Balai Besar Veteriner Denpasar sebagai respon terhadap laporan kasus kematian sapi. Pengujian sampel dilaksanakan pada tanggal 5 Desember 2024 dan 11 Desember 2024 di laboratorium Patologi, Balai Besar Veteriner Denpasar.

Uji Nitrat Kuantitatif

Kit yang digunakan dalam uji ini adalah *Nitrate Test Method: colorimetric with test strips 10 - 25 - 50 - 100 - 250 -*

500 mg/l NO_3^- MQuant® 100 test strips (Cat. No. 1.10020 - Merck, Darmstadt, Germany). Persiapan bahan uji meliputi: (i) sampel berupa cairan dengan suhu 15-25°C, (ii) sampel padat digerus atau dihaluskan dan ditambahkan akuades dengan perbandingan tertentu (pembanding = faktor dilusi), (iii) sampel yang mengandung 500 mg/l NO_3^- harus didilusi dengan akuades dengan perbandingan lebih tinggi dari sebelumnya, dan (iv) pH harus 1-12 (Jika <1 tambahkan sodium asetat, jika >12 tambahkan asam tartar sampai 3-5). Prosedur pengujian adalah sebagai berikut: (1) masukkan test strip ke dalam sampel selama 1 detik, (2) keringkan test strip dengan tisu, tunggu reaksi perubahan warna selama 1 menit, (3) baca hasil dengan membandingkan warna test strip dengan label, (4) catat hasil dalam g/l NO_3^- atau $\text{NO}_3\text{-N}$. Warna zona reaksi akan berubah seiring berjalannya

waktu sehingga tidak boleh digunakan sebagai pengukuran. Jika warna zona reaksi sama dengan atau lebih intens dari pada warna tergelap pada skala, ulangi pengukuran menggunakan sampel segar yang didilusi sampai nilai $\text{NO}_3^- > 500$ mg/l, jika perlu, hilangkan ion nitrit (5 ml sampel (pH<10) dengan menambahkan 5 tetes cairan asam amidosulfur). Kandungan nitrat diukur menggunakan rumus berikut:

HASIL ANALISIS = NILAI TERUKUR X FAKTOR DILUSI

Uji Sianida Kuantitatif

Kit yang digunakan dalam uji ini adalah *Cyanide Test Method: colorimetric with test strips and reagents 1 - 3 - 10 - 30 mg/l CN^- MQuant® 100 test strips* (Cat. No. 1.10044.0001 - Merck, Darmstadt, Germany). Persiapan bahan uji meliputi: (i) sampel berupa cairan dengan suhu 15-30°C, (ii) volume sampel harus lebih dari 5 ml karena tabung reaksi perlu dibilas dengan sampel dahulu lalu diisi 5 ml sampel, (iii) sampel padat digerus/dihaluskan dan ditambahkan akuades dengan

perbandingan tertentu. (misal 2 gram sampel : 10 ml akuades = 1:5), (iv) sampel yang mengandung >30 mg/l CN^- harus didilusi dengan akuades dengan perbandingan lebih tinggi dari sebelumnya, dan (v) pH harus 6-7 (Tambahkan dengan cairan sodium hidroksida solution atau asam sulfat). Prosedur pengujian adalah sebagai berikut: (1) bilas tabung uji beberapa kali dengan cairan sampel, (2) isi tabung uji dengan 5 ml sampel, (3) tambahkan reagen CN-1 sebanyak 1 sendok (*level red dosing spoon*) aduk rata, (4) tambahkan reagen CN-2 5 tetes dan aduk rata, (5) segera masukan test strip (kertas ukur) ke dalam larutan selama 30 detik, (vi) ambil test strip, keringkan dengan tisu, (vii) dalam 10 detik, amati warna zona reaksi dibandingkan

<p>HASIL ANALISIS =</p> <p>NILAI TERUKUR X FAKTOR DILUSI</p>
--

dengan warna pada label, dan (viii) baca hasil dalam mg/l atau ppm CN^- . Warna zona reaksi akan berubah seiring berjalannya waktu sehingga tidak boleh digunakan sebagai pengukuran. Jika warna zona reaksi sama dengan atau lebih intens dari pada warna tergelap pada skala, ulangi pengukuran menggunakan sampel segar yang didilusi sampai

nilai $\text{CN}^- < 30$ mg/l. Kandungan sianida diukur menggunakan rumus berikut:

Uji Striknin Kualitatif

Kit yang digunakan dalam uji ini adalah *Test Kit Strychnine* (ET Group-Indonesia). Persiapan bahan uji meliputi: (i) jika bahan uji berupa padatan basah, ambil 20-50 g bahan yang akan diuji. Masukkan dalam gelas dan tambahkan 100 ml air mendidih dan aduk. Setelah dingin, ambil 5 ml larutan tersebut, (ii) jika bahan uji padatan kering, ambil 1-2 g untuk pengujian (langsung), (iii) jika bahan uji berupa cairan, ambil 5 ml untuk pengujian. Prosedur pengujian adalah sebagai berikut: (1) ambil bahan yang akan diuji ke tabung reaksi atau botol kaca bening volume 10-20 ml, (2) tambahkan 4 tetes reagen A dan 4 tetes reagen B, kocok agar tercampur. Biarkan 10 menit, lalu amati perubahannya. Interpretasi ditunjukkan dengan warna biru violet pekat atau ungu pekat (lama-kelamaan menjadi kuning).

HASIL

Uji toksikologi pada hijauan pakan ternak menunjukkan adanya kandungan nitrat di beberapa sampel (6/10), sedangkan kandungan toksin lain

seperti nitrit, sianida, dan striknin nihil atau negatif (10/10) (tabel 1). Kandungan nitrat pada sampel

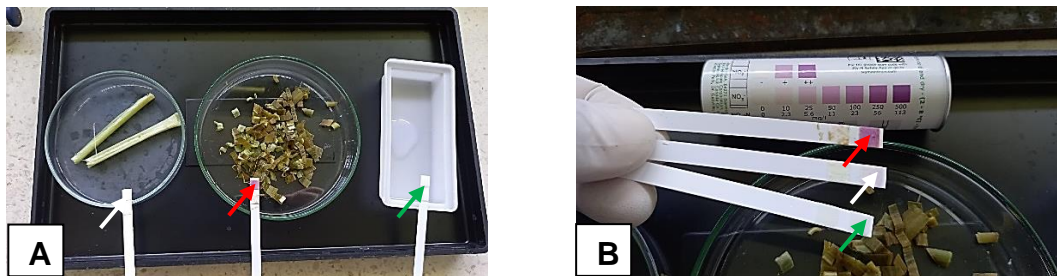
rumput gajah menunjukkan angka antara 100-5.000 ppm (gambar 1,2).

Tabel 1

Hasil uji toksikologi beberapa hijauan yang diduga menyebabkan sapi sakit/mati di Desa Mengani, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, Provinsi Bali

Kode Sampel	Jenis Sampel	Kandungan Nitrat (ppm)	Kandungan Nitrit (ppm)	Kandungan Sianida (ppm)	Kandungan Striknin
1	Rumput Gajah	1.000	0	0	Negatif
2	Rumput Gajah	0	0	0	Negatif
3	Rumput Gajah	0	0	0	Negatif
4	Rumput Gajah	0	0	0	Negatif
5	Rumput Gajah	1.000	0	0	Negatif
6	Gamal	100	0	0	Negatif
7	Rumput Gajah*	5.000	0	0	Negatif
8	Rumput Gajah	2.500	0	0	Negatif
9	Rumput Gajah	1.000	0	0	Negatif
10	Rumput Gajah	0	0	0	Negatif

Keterangan: Sampel merupakan hijauan yang diambil di tempat pakan sapi yang menunjukkan gejala sakit/mati. Sedangkan rumput dengan tanda (*) merupakan rumput yang baru dipetik disekitar kandang sapi sakit.



Gambar 1

[A,B] Uji toksikologi nitrat pada rumput gajah nomor 1 (panah merah) dibandingkan dengan rumput gajah IKHP (panah putih) dan air keran (panah hijau). Kertas uji rumput gajah nomor 1 menunjukkan perubahan warna label yang merujuk pada angka 100, lainnya 0.



Gambar 2

Uji toksikologi nitrat pada rumput gajah nomor 7 (kepala panah) menunjukkan warna label di angka 500 dan rumput gajah nomor 8 di angka 250.

PEMBAHASAN

Kandungan nitrat dalam hijauan pakan ternak

Hasil uji kandungan nitrat dalam rumput gajah berturut-turut 100, 1.000, 2.500, dan 5.000 ppm, sedangkan gamal 100 ppm. Kandungan nitrat di atas 1.500 ppm dapat dikategorikan cukup tinggi. Sejalan dengan Gontijo *et al.* (2017) yang dalam penelitiannya dosis nitrat dalam rumput gajah terungkap 3.965 ppm (0,3965%) menyebabkan dua kematian pada sapi pertama yang terjadi sekitar 1 minggu setelah dimulainya pasokan rumput gajah, sedangkan kematian ketiga terjadi setelah sekitar 20 hari. Menurut Vough *et al.* (2006), bila konsentrasi nitrat dalam hijauan pakan antara 3.500 ppm dan 4.000 ppm maka pemberian pakan harus dibatasi hingga 25% dari total asupan bahan kering. Begitu pula menurut Cash *et al.* (2006) dan Whittier (2011), apabila kandungan nitrat 1.500-5.000 ppm, pemberian pakan hijauan maksimal 50% dari total pakan, nitrat >5.000 ppm tidak dianjurkan untuk sapi bunting dan maksimal 25% dari total pakan pada sapi tidak bunting. Kandungan nitrat <1.500 dalam hijauan dipastikan berpotensi toksik ketika sapi diberikan pakan 100% hijauan.

Faktor risiko keracunan nitrat dan patofisiologisnya

Penggunaan pupuk kandang tanpa fermentasi sebelumnya, atau menerapkan pemupukan nitrogen yang berlebihan merupakan salah satu faktor risiko kejadian keracunan nitrat pada ternak (Medeiros *et al.*, 2003; Jönck *et al.*, 2013). Pada ruminansia, mikroorganisme dari kompartemen lambung mengubah nitrat makanan menjadi nitrit dan selanjutnya mengubah nitrit menjadi amonia untuk sintesis protein mikroba. Konsentrasi awal nitrat, flora mikroba, dan pakan hewan, di antara faktor-faktor lainnya, mengganggu konversi nitrit menjadi amonia, dan mungkin terjadi akumulasi nitrit (Gontijo *et al.*, 2017). Nitrit bersifat toksik bagi eritrosit karena mengubah hemoglobin menjadi sejenis dishemoglobin, yaitu methemoglobin (hemoglobin teroksidasi) dimana Fe^{2+} teroksidasi menjadi keadaan ferik (Fe^{3+}), yang tidak dapat mengikat oksigen (O_2). Selain itu, terjadi perubahan alosterik pada hemoglobin yang teroksidasi sebagian yang menghasilkan afinitas yang lebih besar antara protein ini dan O_2 , sehingga menyulitkan pelepasan oksigen ke jaringan, dan menyebabkan anoksia jaringan (Haymond *et al.*, 2005). Namun, dalam dosis yang terkendali, nitrat dalam makanan ruminansia dapat memberikan manfaat. Huyen *et al.*

(2010) menyimpulkan bahwa ion ini dapat digunakan, seperti halnya urea, sebagai sumber nitrogen nonprotein untuk sintesis protein oleh mikroorganisme rumen. Lebih jauh lagi, nitrat dapat mengurangi produksi metana di kompartemen lambung dengan bertindak sebagai akseptor elektron dan mengurangi produksi enterik H_2 , yang diperlukan untuk metanogenesis (Ellis *et al.*, 2008; Leng, 2008; Nolan *et al.*, 2010).

Sapi yang dilaporkan mengalami sakit atau mati, yang berkaitan dengan laporan ini, menerima pakan berupa hijauan sekitar 90% dari total pakan setiap hari, dengan 10% pakan jenis lain seperti batang pisang dan sisa makanan rumah tangga. Suplementasi konsentrat rendah kemungkinan berkontribusi terhadap keracunan nitrat/nitrit, karena kemampuan mikrobiota rumen untuk mendetoksifikasi nitrat dan nitrit tergantung pada energi (Gontijo *et al.*, 2017). Lebih lanjut, mengenai keracunan nitrat/nitrit spontan pada sapi di Brasil bagian tenggara menunjukkan tiga dari 18 sapi betina mati setelah pertukaran tiba tiba silase jagung dengan rumput gajah cincang (tanaman utuh). Kurangnya adaptasi mikrobiota rumen terhadap nitrat, yang terkait dengan pola makan yang kaya ion ini, menyebabkan produksi nitrit yang berlebihan, karena mikrobiota rumen mereduksi sejumlah besar nitrat

menjadi nitrit, yang lima hingga enam kali lebih beracun daripada nitrat. Nitrit diserap oleh kapiler rumen dan mencapai aliran darah (Leng, 2008).

Menurut laporan peternak dalam kasus ini, waktu pemberian pakan hijauan pada sapi dilakukan sebanyak 2 kali sehari, yaitu pagi dan sore hari. Rumput diambil dari kebun sekitar kandang, kemudian langsung diberikan pada ternak tanpa ada proses pelayuan/didiamkan beberapa saat/beberapa hari. Cara tanaman diberikan kepada hewan juga memengaruhi jumlah nitrat yang dikonsumsi. Tanaman, secara alami, memiliki kandungan nitrat yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan tanaman yang diawetkan, karena proses fermentasi mengurangi kadar ion-ion ini secara signifikan. Distribusi nitrat dalam makanan ternak merupakan faktor lain yang mengganggu jumlah nitrat yang dapat diakses hewan, karena batang memiliki konsentrasi ion-ion ini lebih tinggi dibandingkan dengan daun. Dengan demikian, tinggi pemotongan tanaman penting, karena semakin sedikit batang yang dikonsumsi, semakin sedikit pula jumlah nitrat yang dikonsumsi (Gontijo *et al.*, 2017), lebih lanjut, juga menemukan bahwa perkebunan rumput gajah yang sangat subur dikarenakan kemiringan medan, dimana tanaman terletak di bawah tempat sapi diperah dan diberi makan,

sehingga air hujan dan pencucian tempat pemerahan susu setiap hari membawa kotoran ternak ke perkebunan, yang mengakibatkan pemupukan berlebihan pada rumput. Selain itu, pupuk kandang sapi diberikan tanpa pengolahan sebelumnya pada keracunan tanaman yang terjadi pada musim hujan (November 2016 hingga Januari 2017) yang diikuti musim kemarau (Mei hingga Oktober 2016). Terjadinya musim kemarau yang diikuti dengan musim hujan dianggap sebagai faktor penting yang mengakibatkan meningkatnya konsentrasi nitrat dalam tanaman, sehingga menyebabkan percepatan pertumbuhan dan penyerapan nitrat dalam tingkat yang beracun (Gontijo *et al.*, 2017). Begitu pula kasus yang berkaitan dengan laporan ini, dimana sapi sakit/mati terjadi pada bulan November-Desember 2024 (musim penghujan di sebagian besar wilayah Bali)

KESIMPULAN DAN SARAN

Hijauan (rumput gajah mini) yang berkaitan dengan laporan kasus kematian sapi di kabupaten Bangli mengandung nitrat yang cukup tinggi (1.000-5.000 ppm) dan tidak mengandung jenis toksin lain (nitrit, sianida dan striknin). Kandungan nitrat >1.500 dapat menjadi penyebab sapi sakit atau mati apabila 90% dari total pakan yang diberikan berupa

hijauan, ditambah faktor lain seperti penggunaan pupuk kimia mengandung nitrogen dan pupuk organik dan cara pemberian rumput tanpa proses pelayuan. Sebaiknya, peternak mengubah cara pemberian pakan hijauan dengan cara dilayukan terlebih dahulu sebelum diberikan ke ternak dan atau dengan mengubah komposisi pakan 50% hijauan, 50% pakan konsentrat agar microbiota dalam lambung bekerja optimal dalam mengunyah nitrat menjadi nitrit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan untuk tim investigasi kematian sapi di Kabupaten Bangli (drh. Ardiana dan tim; drh. I Ketut Narcana, M. Si. dan tim) yang telah menyediakan data sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Basso, B. and Ritchie, J.T., (2005). Impact of Compost, Manure and Inorganic Fertilizer on Nitrate Leaching and Yield for A 6-Year Maize–Alfalfa Rotation in Michigan. *Agric. Ecosyst. Environ* 108: 329-341. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2005.01.011>.
- Burow, K.R., Nolan, B.T., Rupert, M.G., and Dubrovsky, N.M., (2010). Nitrate in Groundwater of the United States, 1991–2003. *Environ. Sci. Technol.* 44: 4988-4997. <https://doi.org/10.1021/es100546y>.
- Cash, D., Funston, R., King, M., and Wichman, D. (2006). Nitrate Toxicity of Montana Forages. *Field Crops C-12 (Forages)*. The U.S. Department of Agriculture (USDA), Montana State

University and the Montana State University Extension Service. <http://www.montana.edu/wwwpb/pubs/m-t200205.htm>.

Ellis, J.L., Dijkstra, J., Kebreab, E., Bannink, A., Odongo, N.E., McBride, B.W., and France, J. (2008). Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modelling of methane production in cattle. *Journal of Agricultural Science* 146: 213-233. doi: 10.1017/S0021859608007752.

Gontijo, D.A., Borges, A.A., and Wouters, F. (2017). Nitrate/Nitrite Poisoning in Dairy Cattle from the Midwestern Minas Gerais, Brazil. *Ciência Rural Santa Maria* 47: 12. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20170373>.

Haymond, S., Cariappa, R., Eby, C.S., and Scott, M.G. (2005). Laboratory Assessment of Oxygenation in Methemoglobinemia. *Clinical Chemistry* 434-444. doi: 10.1373/clinchem.2004.035154.

Heuze, V., Tran, G., Giger-Reverdin, S., and Lebas, F. (2016). Elephant Grass (*Pennisetum purpureum*). Feedipedia, a Programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO [Internet]. <http://www.feedipedia.org/node/395>.

Huyen, L.T.N., Do, H.Q., Preston, T.R., and Leng, R.A. (2010). Nitrate as Fermentable Nitrogen Supplement to Reduce Rumen Methane Production. *Livestock Research for Rural Development* 22(8). <http://www.lrrd.org/lrrd22/8/huye22146.htm>.

Jönck, F., Gava, A., Traverso, S.D., Luciola, J., Furlan, F.H., and Gueller, E. (2013). Spontaneous and Experimental Poisoning by Nitrate/Nitrite in Cattle Fed *Avena sativa* (Oat) and/or *Lolium spp.* (Ryegrass). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 33(9): 1062-1070. doi: 10.1590/S0100-736X2013000900003.

Leng, R.A. (2008). The potential of feeding nitrate to reduce enteric methane production in ruminants. A Report to the

Department of Climate Change, Commonwealth Government of Australia, Canberra. <http://www.penambulbooks.com/Downloads/Leng-Final%20Modified%20%2017-9-2008.pdf>.

Malhi, S., Gill, K., McCartney, D.M., and Malmgren, R. (2004). Fertilizer Management of Forage Crops in The Canadian Great Plains. *Rec. Res. Develop. Crop Sci.* 1: 237-271.

Manassaram, D.M., Backer, L.C., Moll, D.M. (2007). A Review of Nitrates in Drinking Water: Maternal Exposure and Adverse Reproductive and Developmental Outcomes. *Environ. Hlth. Perspect* 114: 320-327. <https://doi.org/10.1289/ehp.8407>.

Medeiros, R.M.T., Riet-Correa, F., Tabosa, I.M., Silva, Z.A., Barbosa, R.C., Marques, A.V.M.S., and Nogueira, F.R.B. (2003). Nitrate and Nitrite Poisoning in Cattle Due to the Ingestion of *Echinochloa polystachya* (Capim-Mandante) and *Pennisetum Purpureum* (Elephant Grass) in the Sertão of Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 23(1): 17-20. doi:10.1590/s0100-736x2003000100004.

Nolan, J.V., Hegarty, R.S., Hegarty, J., Godwin, I.R., and Woodgate, R. (2010). Effects of Dietary Nitrate on Fermentation, Methane Production and Digesta Kinetics in Sheep. *Animal Production Science* 50 (8): 801-806. doi: 10.1071/AN09211.

Ozmen, O., Mor, F., and Ayhan, U. (2003). Nitrate Poisoning in Cattle Fed *Chenopodium Album* Hay. *Vet. Hum. Toxicol.* 45: 83-84.

Ozmen, O., Mor, F., Sahinduran, S., and Unsal, A. (2005). Pathological and Toxicological Investigations of Chronic Nitrate Poisoning in Cattle. *Toxicol. environ. Chem.* 87: 99-106. <https://doi.org/10.1080/02772240400007104>.

Rellam, C.R., Anis, S., Rumambi, A., dan Rustandi. (2017). Pengaruh Naungan dan Pemupukan Nitrogen terhadap

Karakteristik Morfologis Rumput Gajah Dwarf (*Pennisetum purpureum* cv. Mott). *J Zootek*. 37:179-185.

Sari, D.D.K, Marianty, R., dan Kristina. (2022). Performans Produksi Sapi Bali pada Pola Pemeliharaan Ekstensif di Pulau Bali. *Agrienvi* 16(2): 137 –143. <https://doi.org/10.36873/aev.v16i2.5547>.

Sirait, J. (2017). Rumput Gajah Mini (*Pennisetum purpureum* cv. Mott) sebagai Hijauan Pakan untuk Ruminansia. *Wartazoa* 27(4): 167-176. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/wartazoa.v27i4.1569>.

Soetan, K., Olaiya, C., and Oyewole, O. (2010). The Importance of Mineral Elements for Humans, Domestic Animals and Plants-A Review. *Afri. J. Fd. Sci.* 4: 200-222.

Soomro, F., Rafique, T., Michalski, G., Ali, S.A., Naseem, S., and Khan, M.U. (2017). Occurrence and Delineation of High Nitrate Contamination in The Groundwater of Mithi Sub-District, Thar Desert, Pakistan. *Environ. Earth Sci.* 76: 355-362. <https://doi.org/10.1007/s12665-017-6663-0>.

Suarna, W. (2017). Profil dan Potensi Produksi Tumbuhan Pakan Lokal di Provinsi Bali. Prosiding Seminar Nasional VI HITPI “Peran Strategis Tumbuhan Pakan dalam Mendukung UPSUS SIWAB untuk Mewujudkan Ketahanan Pangan” Jambi, 23 – 24 November 2017.

Tokarnia, C.H., Döbereiner, J., and Peixoto, P.V. (2002). Poisonous Plants Affecting Livestock in Brazil. *Toxicon* 40: 1635-1660. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(02\)00239-8](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(02)00239-8)

Vough, L.R., Cassel, E.K., and Barao, S.M. (2006). Nitrate Poisoning of Livestock: Causes and Prevention. Extension Extra Archives, Paper 114, South Dakota State University (SDSU). http://openprairie.sdstate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1113&context=extension_extra.

Ward, M.H., Kilfoy, B.A., Weyer, P.J., Anderson, K.E., Folsom, A.R., and Cerhan, J.R. (2010). Nitrate Intake and The Risk of Thyroid Cancer and Thyroid Disease. *Epidemiology* 21: 389-394. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e3181d6201d>.

Whittier, J.C. (2011). Nitrate Posioning. Colorado State University Extension Livestock Series. *Health* 610 (1). Colorado State University, U.S. Department of Agriculture and Colorado counties cooperating.

Widnyana, I.K., Pandawani, N.P., Yastika, P.E., Partama, I.G.Y., dan Suparyana, P.K. (2023). Peningkatan Produktivitas Kelompok Tani di Desa Batukaang Kintamani Bangli Melalui Pembuatan Pupuk Organik Dan Pestisida Nabati Dari Tanaman Lokal. *Jasintek* 4(2): 155-163.

PEDOMAN PENULISAN BULETIN VETERINER

1. Buletin Veteriner memuat naskah ilmiah dalam bidang Kedokteran Hewan, Kesehatan Masyarakat Veteriner dan bidang terkait lainnya. Naskah dapat berupa: Hasil penyidikan, Penelitian, Tinjauan Pustaka dan Laporan Kasus. Naskah harus asli (belum pernah dipublikasikan) dan ditulis menggunakan bahasa Indonesia. Naskah ilmiah yang telah diseminarkan dalam suatu pertemuan ilmiah, hendaknya disertai dengan catatan kaki.
2. Panjang naskah ilmiah maksimum 15 (lima belas) halaman, kertas ukuran kwarto (A4, 210 x 29,7 cm), diketik satu spasi menggunakan huruf Arial ukuran 12 kecuali abstrak dan daftar pustaka ukuran 10. Margin kiri 4 cm, kanan 3 cm, bawah 3 cm, dan atas 3 cm. Naskah diserahkan satu eksemplar kepada redaksi dalam bentuk *soft copy*.
3. Tata cara penulisan naskah hendaknya disusun menurut urutan sebagai berikut : Judul, identitas penulis, abstrak, pendahuluan, materi dan metode, hasil, pembahasan, kesimpulan dan saran, ucapan terimakasih dan daftar pustaka.
 - 3.1. Judul
Singkat, Jelas, ditulis dengan huruf besar, apabila judul ditulis dalam bahasa Indonesia diikuti dalam kurung terjemahannya dalam bahasa Inggris, setiap kata pertama menggunakan huruf besar kecuali kata sambung, demikian sebaliknya jika menggunakan bahasa Inggris.
 - 3.2. Identitas Penulis
Nama lengkap penulis tanpa gelar. Bila penulis lebih dari satu orang dengan alamat yang berbeda maka dibelakang setiap nama diberi indeks dengan angka arab. Lembaga/instansi penulis ditulis dibawah nama penulis.
 - 3.3. Abstrak
Abstrak bersifat informative, ditulis dalam bahasa Indonesia terlebih dahulu kemudian Inggris dan dilengkapi dengan kata kunci (*Keywords*) dengan urutan : penyakit, metoda dan lokasi, jumlah kata maksimal 500, abstrak merupakan intisari dari latar belakang, tujuan, metode dan interpretasi.
 - 3.4. Pendahuluan
Memuat latar belakang/status ilmiah, ruang lingkup dan tujuan serta manfaat.
 - 3.5. Materi dan Metode
Diuraikan secara rinci dan jelas mengenai bahan dan alat, metoda/alat yang digunakan, lokasi dan tahun pelaksanaannya
 - 3.6. Hasil
Disajikan secara lengkap, jelas dan ringkas. Hasil dapat disajikan dalam bentuk tabel, grafik dan gambar. Tabel menggunakan format tertutup dalam kolom,

setiap judul berlatar belakang gelap dan shading 10 %, Judul tabel terletak ditengah atas, sedangkan judul grafik dan gambar terletak ditengah bawah. nomor tabel, grafik atau gambar dicetak tebal, bila diperlukan tabel, grafik atau gambar dapat diberikan catatan kaki/keterangan dengan ukuran huruf 8.

3.7. Pembahasan

Membahas dengan jelas, cermat dan lengkap terhadap hasil yang telah disajikan.

3.8. Kesimpulan dan Saran

Bisa menyatu dalam pembahasan atau disajikan terpisah.

3.9. Ucapan Terimakasih

Dapat disajikan bila dipandang perlu.

3.10. Daftar Pustaka

Disusun secara alphabetic menurut nama, tahun terbit, judul, penerbit, volume atau nomor halaman. Contoh pustaka dapat diperoleh dari jurnal, buku, *proceedings*, laporan dan web resmi.

Contoh Penulisan daftar pustaka :

- Jurnal
Tepsumethanon, V., Wilde, H. and Meslin, F.X. (2005) Six Criteria for Rabies Diagnoses in Living Dogs. Journal of Medical Association of Thailand, 88:419-278-280
- Buku
Jackson, A.C (2000). Rabies. J. Neurol. Sci. 27: 278-283.
- Proceedings/pertemuan ilmiah
Selhorst, T., Thulke, H.H., and Muller, T. (2000). Thershold Analysis of Cost effective oral vaccination strategies against rabies in fox (*Vulpes vulpes*) population. Proceeding of Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine meeting held at the University of Edinburgh on 29-31 March 2000, 71-84
- Website
Wilsmore, T., Hanlon, C. A., and Hemachuda, T. (2006). Qualitative Veterinary risk assessment of introduction of rabies into the United Kingdom. A report prepared for Defra (Departement for the Environment, Food and Rural Affairs) : <http://www.defra.gov.uk/animalh/disease/notifiable/rabies/pdf/gra-rabies.pdf>

4. Naskah tinjauan pustaka, dikecualikan dari persyaratan dalam butir 3 di atas