



BULETIN 2023 VETERINER

INFORMASI KESEHATAN HEWAN DAN
KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER

Vol. XXXVII No. 103 Desember 2023 ISSN : 0854-901X

[f](#) [i](#) [t](#) [y](#) [bbvetdenpasar](#) | [bbvdps.ditjenpkh.pertanian.go.id](#)

Vol. XXXVII No. 103 Desember 2023 ISSN : 0854-901X

Diterbitkan Oleh :
Balai Besar Veteriner Denpasar
2023

BULETIN VETERINER
INFORMASI KESEHATAN HEWAN DAN KESEHATAN MASYARAKAT
VETERINER

ISSN : 0854-901X

Penanggung Jawab

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

Dewan Redaksi :

drh. I Ketut Narcana, M.Si
Dr. drh. I Nyoman Dibia, M.P
drh. Ni Made Arsani, M.Sc.
drh. I Ketut Eli Supartika, M.Sc.

Sekretariat Redaksi :

drh. Vera Paulina Sitanggang. M.Si.
Ida Ayu Ratih, S.P.,M.Sc.
drh. Ni Ketut Harmini Saraswati
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 XXXVI No. 103

DESEMBER 2023

ISSN : 0854-901 X

DAFTAR ISI

Halaman

1. EPIDEMIOLOGI DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI LIMFOMA EKSTRANODUS PADA ANJING DI PROVINSI BALI; 28 KASUS (2018-2022)

(Epidemiology and Histopatological Features of Extranodal Lymphoma In Dogs In Bali Province; 28 Cases ; 2018-2022)

Oleh : I K.E. Supartika

1-14

2. SURVEILANS STREPTOCOCCOSIS PADA BABI DI PROVINSI BALI TAHUN 2023

(Surveillance of Streptococcosis in Pig in Bali Province in 2023)

Oleh : Narcana.I.K.,Rido.C.S., Dewi.A.A.S., Putra A.A.G.S.,Rohmanto R.

15-26

3. ANALISA HASIL PENGUJIAN PRODUK HEWAN PADA UNIT USAHA DALAM UPAYA PENJAMINAN PRODUK HEWAN DI PROVINSI BALI, NUSA TENGGARA BARAT DAN NUSA TENGGARA TIMUR TAHUN 2023

(Analysis of Animal Product Safety Testing Results in Business Units in Efforts to Guarantee Animal Products in the Provinces of Bali, West Nusa Tenggara and East Nusa Tenggara in 2023)

Oleh : Handayani, N.M.S., Vera P.S., Andreas Y.T., Putri Ayu S.,I.G.N.B.Surya Dharma

27-43

4. SEROSURVEILANS BRUCELLOSIS DI PROVINSI BALI, NUSA TENGGARA BARAT DAN NUSA TENGGARA TIMUR TAHUN 2023

(Brucellosis Serosurveillance in The Provinces of Bali, West Nusa Tenggara and East Nusa Tenggara in 2023)

Oleh : Dewi, A.A.S. ; A.A G. Semara Putra, A.A.G.S ; Narcana I.K; Rohmanto M.; Saputro R.C

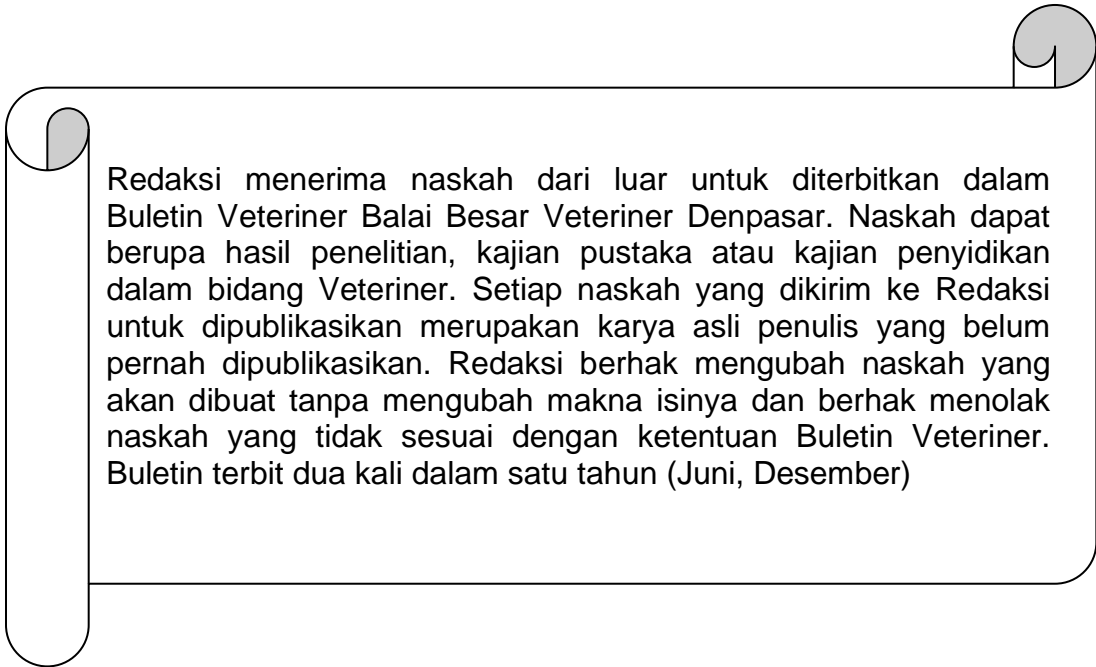
44-56

5. OPTIMASI PRIMER DAN KONTROL SINTETIK UNTUK DETEKSI STREPTOCOCUCCUS SUIS SEROTIPE 2 DENGAN METODE POLYMERASE CHAIN REACTION

(Optimization of Primers and Controls Synthetic for Detection of Streptococcus suis Serotype 2 Using the Polymerase Chain Reaction Method)

Oleh : Dewi, A.A.S. ; Semara Putra, A.A.G. ; Narcana I.K; Rohmanto
M.; Saputro R.C

57-67



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)

**EPIDEMIOLOGI DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI LIMFOMA
EKSTRANODUS
PADA ANJING DI PROVINSI BALI; 28 KASUS (2018-2022)**
*(Epidemiology and Histopatological Features of Extranodal Lymphoma
In Dogs In Bali Province; 28 Cases ; 2018-2022)*

I K.E. Supartika
Balai Besar Veteriner Denpasar

ABSTRAK

Limfoma ektranodus pada anjing merupakan salah satu jenis tumor sistem hemolimfatik dengan target organ tertentu di luar sistem hemolimfatik seperti : kulit, mata, ginjal, paru-paru, atau sistem saraf. Tumor jenis ini sangat jarang terjadi pada anjing. Pada makalah ini disajikan karakteristik epidemiologi dan gambaran histopatologi limfoma ektranodus pada anjing di Provinsi Bali yang didiagnosa di Laboratorium Patologi, Balai Besar Veteriner Denpasar periode tahun 2018 s/d 2022. Dari 28 sampel organ anjing dalam formalin 10% yang diperiksa, kasus terbanyak berasal dari Kota Denpasar (46,43%). Anjing yang menderita tumor kebanyakan anjing lokal (32,14%), berjenis kelamin betina (57,14%). Lokasi anatomi limfoma terbanyak ditemukan pada kulit (85,71%). Secara histopatologi, sebagian besar kasus limfoma pada anjing ini masuk dalam klasifikasi limfositik difusa berdiferensiasi buruk (50,00%) dan kebanyakan masih dalam grade 1 (57,14%). Pemeriksaan histopatologi merupakan *gold standard* dalam penegakan diagnosa limfoma. Pemeriksaan lanjutan seperti: imunohistokimia, *polymerase chain reaction*, *flow cytometri* perlu dilakukan untuk mengetahui imunofenotipe tumor yang dijadikan pedoman pengobatan limfoma yang lebih akurat. Laporan kasus ini bertujuan untuk mengetahui gambaran epidemiologi dan histopatologi kasus limfoma pada anjing di Provinsi Bali dalam periode lima tahun (2018-2022)

Kata kunci: anjing, ektranodus, epidemiologi, histopatologi, limfoma.

ABSTRACT

Extranodal lymphoma in dogs is a type of hemolymphatic system tumor that targets certain organs outside the hemolymphatic system such as: skin, eyes, kidneys, lungs or nervous system. This type of tumor is very rare in dogs. In this paper, we present the epidemiological characteristics and histopathological features of extranodal lymphoma in dogs in Bali Province which were diagnosed at the Pathology Laboratory, Balai Besar Veteriner Denpasar for the period 2018 to 2022. Of the 28 samples of dog organs in 10% formalin examined, the most cases came from Denpasar City (46.43%). Dogs that mostly suffered from local canine tumors (32.14%), were female (57.14%). The most common anatomical location of lymphoma is the skin (85.71%). Histopathologically, the majority of lymphoma cases in these dogs were classified as poorly differentiated diffuse lymphocytic (50.00%) and most were still grade 1 (57.14%). Histopathological examination is the gold standard in diagnosing lymphoma. Further examinations such as: immunohistochemistry, polymerase chain reaction, flow cytometry need to be carried out to determine the tumor immunophenotype which can be used as a more accurate guide for lymphoma treatment. This case report aims to determine the epidemiology and histopathology of lymphoma cases in dogs in Bali Province over a five year period (2018-2022).

Key words: dog, extranodes, epidemiology, histopathology, lymphoma.

PENDAHULUAN

Limfoma atau limfosarkoma merupakan tumor ganas yang menyerang sistem hemolimfatik, sering didiagnosa pada anjing serta merupakan tumor yang paling banyak ditangani dalam bidang onkologi kedokteran hewan, dengan kejadian tahunan 20-100 kasus per 100.000 anjing (Zandvliet., 2013). Limfoma pada anjing telah tersebar diberbagai belahan dunia seperti: Eropa (Comazzi *et al.*, 2018), Kanada (Stoewen *et al.*, 2013), Amerika Serikat (Ito *et al.*, 2014), Afrika Selatan (van Rooyen *et al.*, 2018), Cina (Zhang *et al.*, 2022), India (Senthil *et al.*, 2020) Thailand (Fonghem *et al.*, 2022), Jepang (Adachi *et al.*, 2022), Australia (Bennett *et al.*, 2018), termasuk Indonesia (Amanda, 2019; Kristyari *et al.*, 2023). Limfoma pada anjing sangat mirip dengan limfoma non-Hodgkin pada manusia. Beberapa penelitian bahkan telah menggunakan anjing sebagai model penelitian untuk mempelajari mekanisme molekuler limfoma pada manusia (Coyle *et al.*, 2022; Montaner-

Angoiti *et al.*, 2023). Ada beberapa klasifikasi limfoma pada anjing berdasarkan lokasi anatomi tumor pada tubuh, antara lain: multisentrik yang berarti tumor limfoma banyak ditemukan pada kelenjar getah bening di berbagai bagian tubuh; pencernaan; tumor lebih banyak ditemukan pada saluran pencernaan, mediastinal; tumor ditemukan lebih banyak di dalam rongga dada, khususnya pada daerah kardiothoraks; dan ektranodal, tumor limfoma banyak ditemukan di luar kelenjar getah bening, seperti pada organ ginjal, sistem saraf pusat, atau kulit (Mortier *et al.*, 2012). Persentase limfoma eksnodus hanya sebesar 4.8% dari jumlah kasus limfoma pada anjing (Cora *et al.*, 2016). Bentuk limfoma ektranodal yang paling umum adalah limfoma kulit. Penyebab limfoma pada anjing belum diketahui secara pasti. Diduga penyebabnya multifaktor. Faktor lingkungan seperti adanya paparan cat, pestisida, herbisida, insektisida, paparan radiasi atau medan elektromagnetik, virus, bakteri, imunosupresi serta faktor

genetika (Avery, 2020). Diagnosis limfoma pada saat ini lebih banyak berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi didukung oleh pemeriksaan imunohistokimia, *polymerase chain rection* (PCR), *flow cytometri* untuk mengetahui imunofenotipe dari sel-sel tumor limfoma (Dickinson, 2008; Strykh *et al.*, 2020). Prognosis limfoma tergantung pada jenis limfoma dan gambaran klinis, serta faktor-faktor lainnya. Secara umum, limfoma sel T menunjukkan tingkat remisi dan waktu bertahan hidup yang lebih rendah dibandingkan dengan limfoma sel-B (Ponce *et al.*, 2010). Pengobatan/terapi limfoma sudah tersusun dengan baik dengan mengikuti protokol kemoterapi yang berbasis kombinasi obat siklofosamid, doksorubisin, vinkristin dan prednison yang merupakan kemoterapi standar perawatan saat ini untuk keganasan agresif limfoma.

Tujuan penulisan makalah ini adalah untuk mengetahui karakteristik epidemiologi dan gambaran histopatologi limfoma

ekstranodus pada anjing di Provinsi Bali dalam periode tahun 2018 s/d 2022

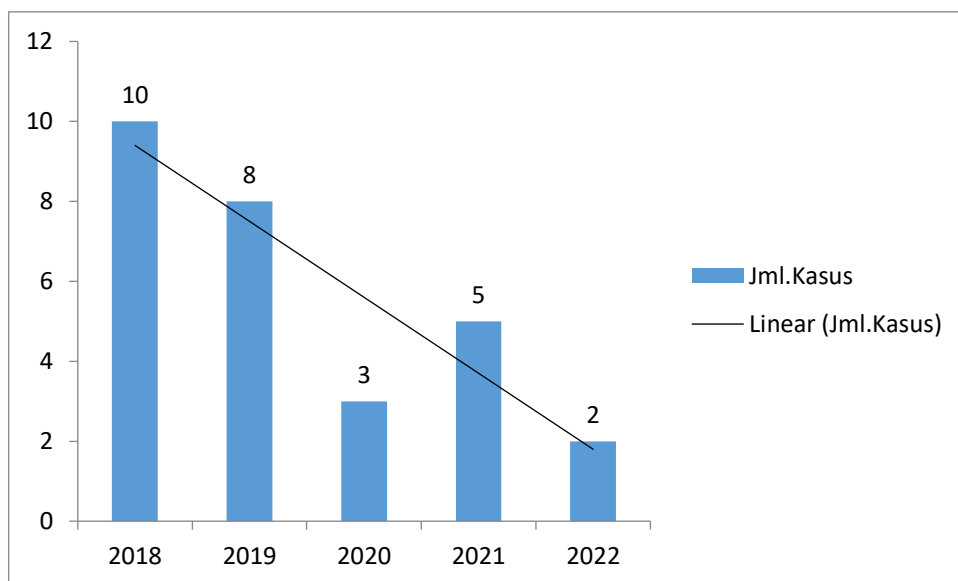
MATERI DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, menggunakan data sampel organ anjing dalam formalin 10% yang diperiksa dan terdiagnosa limfoma secara histopatologi di laboratorium Patologi, BBVet Denpasar dari tahun 2018 s/d 2022. Data tentang jumlah kasus per tahun, asal sampel, anamnesa, gejala klinis dicatat. Untuk pemeriksaan histopatologi; sampel organ dalam formalin 10% diproses rutin untuk pewarnaan H&E. Limfoma diklasifikasikan secara histopatologi mengikuti kriteria Rappaport (Soeripto, 1990; Parodi, 2001; Swerdlow, 2013); berdasar bentuk morfologi tumor, apakah noduler atau difusa. Semakin mendekati bentuk limfosit kecil dianggap sel yang berdiferensiasi baik. Sel-sel tumor yang lebih besar dianggap berdiferensiasi buruk. Selanjutnya bentuk sel, inti sel, sitoplasma, kromatin sel tumor diamati.

Tingkat mitosis dihitung di daerah yang memiliki jumlah angka mitosis tertinggi. Limfoma dengan 0-5 mitosis/HPF (grade 1); 6-10 mitosis/HPF (grade 2), dan >10 mitosis/HPF (grade 3) (Nikousefat *et al.*, 2016; Wolfesberger *et al.*, 2021). Data diolah dan disajikan secara deskriptif-kualitatif.

HASIL

Jumlah sampel organ anjing yang diperiksa dan terdiagnosa limfoma secara histopatologi di laboratorium Patologi, Balai Besar Veteriner Denpasar dalam periode tahun 2018 s/d 2022 sebanyak 28 sampel. Insiden limfoma ektranodus cenderung menurun dari tahun 2018 sampai dengan tahun 2022 (Grafik 1).



Grafik 1. Insiden kasus limfoma ektranodus pada anjing di Provinsi Bali tahun 2018 s/d 2022.

Limfoma ektranodus pada anjing kebanyakan berasal dari Kota Denpasar (46,43%), Gianyar (25,00%), Badung (21,43%), Karangasem (3,57%) dan Tabanan (3,57%). Trah/jenis anjing yang menderita tumor kebanyakan anjing lokal (32,14%), Golden (21,43), ras campuran (14,29%) Beagle (7,14%), Bull Terrier, Collie, Doberman, Husky, Kintamani, Pit Bull masing-masing (3,57%). Anjing yang menderita limfoma

kebanyakan berjenis kelamin betina (57,14%), umur anjing yang terserang tumor kebanyakan berumur di bawah lima tahun (53,37%). Lokasi tumor lebih banyak ditemukan di kulit (85,71%), bibir, vagina, uterus dan palatum durum masing-masing (3,57%) (Tabel 1). Hasil pemeriksaan histopatologi, kebanyakan limfoma ektranodus pada anjing di Provinsi Bali diklasifikasikan sebagai limfositik difusa berdiferensiasi buruk

(50,00%), dan sebagian besar tumor masih dalam grade 1 (57,14%). Tabel 2; Gambaran histopatologi limfoma ektranodus

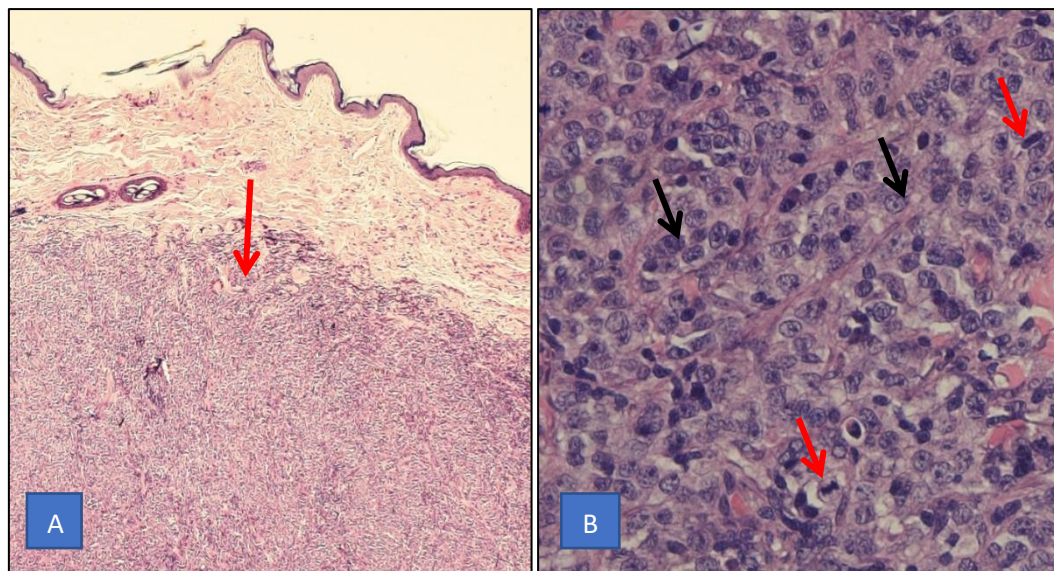
pada anjing di Bali dalam periode 2018 s/d 2022 disajikan pada Gambar A,B,C,D,E,F,G,H).

Tabel 1. Gambaran epidemiologi limfoma ektranodus pada anjing di Provinsi Bali dalam periode tahun 2018 s/d 2022.

Gambaran Epidemiologi	Limfoma Ekstranodus (n=28)	
	n	%
Asal Kasus		
• Badung	6	21.43
• Bangli	0	0.00
• Buleleng	0	0.00
• Kota Denpasar	13	46.43
• Gianyar	7	25.00
• Jembrana	0	0.00
• Karangasem	1	3.57
• Klungkung	0	0.00
• Tabanan	1	3.57
Trah Anjing		
• Beagle	2	7.14
• Bulli Terier	1	3.57
• Collie	1	3.57
• Doberman	1	3.57
• Golden	6	21.43
• Husky	1	3.57
• Ras Kintamani	1	3.57
• Labrador	1	3.57
• Ras Lokal	9	32.14
• Ras campuran	4	14.29
• Pit Bull	1	3.57
Jenis kelamin		
• Betina	16	57.14
• Jantan	12	42.86
Umur		
• 0-5	15	53.57
• >5-10	10	35.71
• >10	3	10.71
Lokasi limfoma		
• Kulit	24	85.71
• Bibir	1	3.57
• Vagina	1	3.57
• Uterus	1	3.57
• Palatum durum	1	3.57

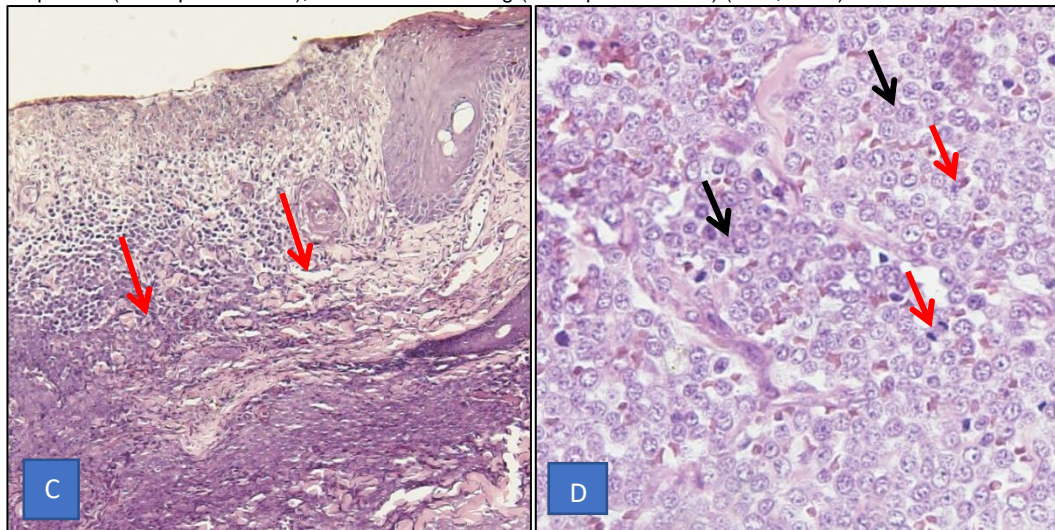
Tabel 2. Gambaran histopatologi limfoma ekstrasnodus pada anjing di Provinsi Bali dalam periode tahun 2018 s/d 2022.

Gambaran Histopatologi	Limfoma Ekstrasnodus (n=28)	
	n	%
Klasifikasi histopatologi		
1. Limfositik; Berdiferensiasi buruk		
• Noduler/Folikuler	6	21.43
• Difusa	14	50.00
2. Limfositik ; Berdiferensiasi baik		
• Noduler/Folikuler	1	3.57
• Difusa	2	7.14
3. Campuran limfosit & histiosit		
• Noduler/Folikuler	0	0.00
• Difusa	5	17.86
4. Tidak terdiferensiasi	0	0.00
Jumlah Keseluruhan	28	
Jumlah mitosis		
• 0-5 mitosis/HPF (low grade; grade 1)	16	57.14
• 6-10 mitosis/HPF (medium grade; grade 2)	7	25.00
• >10 mitosis/HPF (high grade; grade 3)	5	17.86

**Gambar 1.**

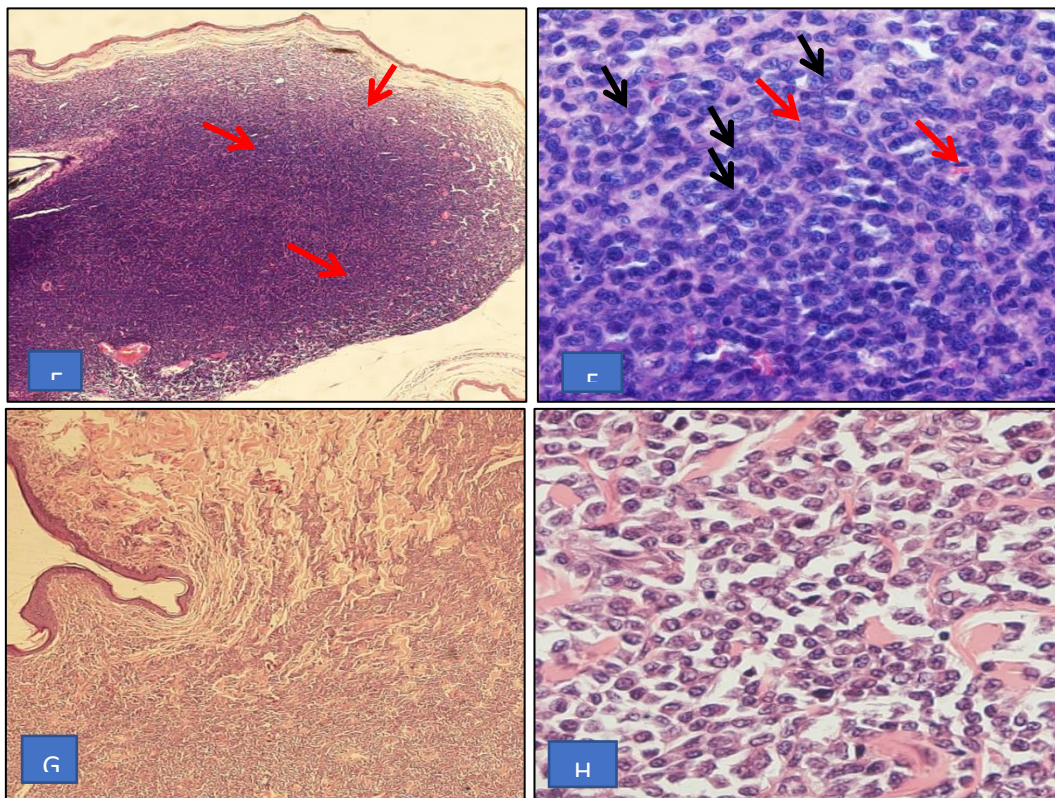
Keterangan: A. Limfoma; nodular, limfositik diferensiasi buruk. Batas tumor jelas; sel-sel tumor terdistribusi lokal pada dermis bagian bawah sampai subkutan (tanda panah merah) (H&E; 40X); B. Limfoma; nodular, limfositik

diferensiasi buruk: Terlihat adanya sel-sel limfosit besar, tersusun padat, inti sel tumor besar, pleomorfik, sedikit sitoplasma (tanda panah hitam), index mitosis sedang (tanda panah merah) (H&E; 400X).



Gambar 2.

Keterangan: C.Limfoma; difusa, limfositik diferensiasi buruk; Epidermis mengalami nekrosis dan ulserasi. Sel-sel tumor bersifat infiltratif, tumor tidak berbatas jelas (tanda panah merah)(H&E; 40X).D. Limfoma; difusa, limfositik diferensiasi buruk. Terlihat adanya sel-sel limfosit besar, tersusun padat, inti sel besar pleomorfik, sitoplasma kurang (tanda panah hitam), index mitosis sedang (tanda panah merah) (H&E; 400X).



Gambar 3.

Keterangan: Gambar E.Limfoma; nodular, diferensiasi baik : Tumor terlihat berbatas jelas, terlokalisir (tanda panah merah)(H&E; 40X).F.Limfoma; nodular, limfositik diferensiasi baik ;Terlihat adanya infiltrasi padat sel-sel tumor, sel-sel tumor berupa sel-sel limfosit, bentuknya homogen, inti sel bulat, oval (tanda panah hitam), index

mitosis rendah (tanda panah merah)(H&E; 400X).G. Limfoma; difusa, limfositik diferensiasi baik; Sel-sel tumor tersebar dari epidermis, dermis dan subkutis, tumor bersifat infiltratif (tanda panah merah)(H&E; 40X).H. Limfoma; difusa, limfositik diferensiasi baik; Sel-sel tumor berukuran sedang, monomorfik, inti sel bulat atau oval (tanda panah hitam), index mitosis rendah(tanda panah merah) (H&E; 400X).

PEMBAHASAN

Data epidemiologi kasus limfoma pada anjing yang terdiagnosa di laboratorium Patologi, Balai Besar Veteriner Denpasar dari tahun 2018 sampai dengan tahun 2022 ada sebanyak 28 kasus. Kasus limfoma pada anjing cenderung menurun dari tahun 2018 sampai dengan tahun 2022. Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh munculnya pandemi Covid-19 pada tahun 2019 yang mewabah hampir di seluruh dunia. Pergerakan orang dibatasi sehingga orang yang punya anjing sakit kesulitan untuk membawa anjingnya ke praktek dokter hewan. Kasus limfoma pada anjing paling banyak berasal dari Kota Denpasar (46,43%), disusul Kabupaten Gianyar (25,00%), Badung (21,43%), Karangasem (3,57%) dan Tabanan (3,57%). Penyebab limfoma pada anjing sangat kompleks, salah satunya adalah adanya pencemaran lingkungan akibat asap kendaraan bermotor,

penggunaan pestisida, insektisida, dan herbisida yang tidak ramah lingkungan. Kota Denpasar dan kabupaten lainnya di Provinsi Bali juga tidak terlepas dengan adanya pencemaran lingkungan tersebut. Zanini *et al*, 2013 menyebutkan bahwa adanya polusi udara akibat pencemaran lingkungan yang berasal dari asap kendaraan bermotor dapat meningkatkan risiko anjing menderita tumor limfoma. Hasil penelitian Takashima-Uebelhoeer *et al.*, 2012, menemukan bahwa paparan jenis bahan kimia untuk perawatan rumput tertentu yang digunakan untuk mengendalikan hama insekta dapat meningkatkan risiko limfoma ganas pada anjing.

Berdasarkan karakteristik ras anjing, prevalensi limfoma ektranodus di Provinsi Bali ternyata paling banyak ditemukan pada anjing lokal (32,14%) disusul anjing Golden (21,43), ras campuran (14,29%) Beagle (7,14%), Bull Terrier, Collie,

Doberman, Husky, Kintamani, Pit Bull masing-masing (3,57%). Anjing Golden sangat peka dengan tumor limfoma. Peningkatan risiko limfoma pada anjing kemungkinan besar karena faktor genetik dan lingkungan (Luethcke *et al.*, 2022). Berbagai jenis anjing ras seperti: Beagle, Bull Terrier, Collie, Doberman, Golden, Husky, Labrador, Mix, Pit Bull juga dilaporkan memiliki kepekaan terhadap risiko terkena limfoma (van Rooyen *et al.*, 2018). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Commazi *et al.*, 2018 menemukan bahwa ada perbedaan antar negara di Eropa, di mana beberapa ras anjing cenderung peka terhadap limfoma secara umum dan ras anjing yang lain cenderung terkena limfoma subtype tertentu.

Berdasarkan karakteristik jenis kelamin, kejadian limfoma ekstranodus pada anjing di Provinsi Bali lebih banyak terjadi pada anjing betina (57,14%). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Sanchez *et al.*, 2019 yang menemukan bahwa proporsi kasus limfoma pada anjing betina

lebih banyak dibandingkan anjing jantan. Hasil penelitian lainnya yang menyebutkan bahwa kasus limfoma lebih banyak terjadi pada anjing jantan. Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh peranan hormon estrogen terhadap resistensi tumor limfoma pada anjing betina (Villamil *et al.*, 2009).

Hasil pengamatan berdasarkan distribusi karakteristik usia, kasus limfoma pada anjing di Bali kebanyakan terjadi pada usia anjing dibawah umur 5 tahun (53,57%), disusul umur 5-20 tahun (35,71%) dan umur di atas 10 tahun (10,71%). Meskipun anjing dari segala usia dapat mengembangkan limfoma, penyakit ini terutama menyerang anjing dewasa hingga tua dengan usia rata-rata 6 sampai dengan 9 tahun (Mirkes *et al.*, 2014). Seiring dengan bertambahnya usia sistem imunitas tubuh juga menurun sehingga peka terpapar penyakit..

Berdasarkan distribusi karakteristik lokasi tumor, bentuk

limfoma ektranodal yang paling banyak ditemukan di Provinsi Bali adalah limfoma kulit (85,71%) kemudian limfoma yang ditemukan pada bibir, vagina, uterus dan palatum durum masing-masing sebesar 3,57%. Bentuk limfoma ektranodus yang paling umum ditemukan adalah limfoma pada kulit (Dobbins, 2019). Limfoma kulit menyumbang sekitar 3% sampai dengan 8% dari semua jenis limfoma pada anjing (Fontaine *et al.*, 2009). Anjing yang menderita limfoma kulit, pada tahap awal, biasanya menunjukkan gejala klinis sebagai ruam kulit dengan benjolan kering, merah, gatal atau lesi bersisik soliter atau menyeluruh. Gejala seperti ini biasanya sering dikelirukan dengan penyakit kulit diakibatkan oleh bakteri, atau agen infeksius lainnya. Kasus-kasus limfoma ektranodus pada anjing yang lokasinya ditemukan pada bibir (Ganta, 2018), vagina (Zambelli *et al.*, 2013), uterus (Ko *et al.*, 2013) dan palatum durum (Varghese *et al.*, 2014) juga pernah dilaporkan

tetapi dengan kejadian kasus yang sangat rendah.

Hasil pemeriksaan histopatologi mengikuti kriteria Rappaport (Swerdlow, 2013) menunjukkan bahwa kebanyakan kasus limfoma ektranodus pada anjing di Provinsi Bali tergolong dalam klasifikasi limfositik difusa berdiferensiasi buruk (50,00%; Gambar C dan D), limfositik noduler berdiferensiasi buruk (21,43%; Gambar A dan B), campuran sel limfosit dan histiosit difusa (17,86%), limfositik difusa diferensiasi baik (7,14%; Gambar G dan H) dan limfositik noduler berdiferensiasi baik (3,57%; Gambar E dan F). Kebanyakan limfoma ektranodus pada anjing di Bali masih dalam grade 1 (57,14%). Hasil penelitian ini sesuai dengan Greenlee *et al.*, 1990 yang menyebutkan bahwa secara histopatologi, sel-sel tumor limfoma pada anjing umumnya heterogen dan bersifat difusa serta cenderung ganas. Limfoma limfositik diferensiasi buruk sering disebut juga dengan limfosarkoma. Bentuk tumor

limfosarkoma bisa bersifat noduler maupun difusa. Tumor jenis ini termasuk tumor dengan tingkat keganasan tinggi, sering ditemukan pada anjing kelompok usia dewasa dan tua dengan proporsi sekitar 30% dari limfoma. Secara histopatologi; inti sel-sel tumor memiliki morfologi yang bervariasi serta jarang mengalami mitosis. Limfoma pada anjing yang terdiri dari campuran sel limfosit dan histiosit, proporsinya sekitar 5% dari limfoma, sering dijumpai pada kelompok umur anjing tua. Pada stadium awal, limfoma jenis ini bentuknya nodular dan bisa berkembang menjadi difusa serta termasuk limfoma tingkat keganasan rendah. Limfoma difusa limfositik diferensiasi baik, proporsinya sekitar 5% dari limfoma. Terlihat adanya infiltrasi sel-sel limfosit B kecil dengan inti kompak. Sel-sel tumor yang mengalami mitosis jarang terjadi, sering ditemukan pada kelompok anjing usia tua dengan tingkat keganasan tumor yang rendah dan memberikan peluang harapan hidup lebih lama (Bhutta *et al.*, 2023).

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan.

Kasus limfoma ektranodus pada anjing di Provinsi Bali (2018 s/d 2022) paling banyak ditemukan pada organ kulit, termasuk jenis tumor ganas. Berdasarkan gambaran histopatologinya, kemungkinan besar tumor tersebut masuk dalam katagori *Diffuse Large B Cells Lymphoma* (DLBCL).

2. Saran.

Diagnosa kasus limfoma ekstanodus pada anjing di Bali hanya berdasarkan pemeriksaan histopatologi, untuk kepastian diagnosis, dan untuk mengetahui imunofenotipe limfoma ekstanodus pada anjing dan program kemoterapi lebih tepat maka diperlukan uji laboratorium lanjutan seperti : uji imunohistokimia, *flow cytometri* atau PCR.

DAFTAR PUSTAKA

Adachi, M., Igarashi, H., Okamoto, M., Tamamoto, T., and Hori, Y. (2022). Large Granular Lymphocyte Lymphoma

in the skin and Urinary Bladder of a Dog. J. Vet. Med. Sci. 84(2): pp. 296–301,

Amanda, A.S (2019). Kasus Limfoma pada Anjing Golden Retriever. ARSHI Vet Lett, 3 (2): pp.21-22

Avery, A.C.(2020). The Genetic and Molecular Basis for Canine Models of Human Leukemia and Lymphoma. Front Oncol.; 10: 23.

Bennett, P.F., Taylor, R., and Williamson, P. (2018). Demographic Risk Factors for Lymphoma in Australian Dogs: 6201 cases. J Vet Intern Med; Vo;32: pp.2054–2060

Bhutta,R.A., Syed, N.A., Ahmad, A and Khan, S (2023). Lymphnode, Lymphomas, Non-Hodgkin Lymphoma, Part 3. Labpedia.net. www.labpedia.net/ diakses tanggal 10 Juli 2023.

Comazzi, S., Marelli, S., Cozzi, M., Rizzi, R., Finotello, R.,Henriques, J., Pastor, J., Ponce, F., Rohrer-Bley, C., Rütgen, B.C., and Teske, E. (2018). Breed-Associated Risks for Developing Canine Lymphoma Differ Among Countries: An European Canine Lymphoma Network Study. BMC Veterinary Research. 14: 232

Cora,R., Gal, A.F., TĂbĂran,F., Taulescu, M., Nagy, A., Vidrighinescu, R., Cătoi, C. (2016). Epidemiological Data Concerning Canine Lymphoma over a Ten-Year Period (2005-2014), in Cluj-Napoca, Romania. Bulletin UASVM Veterinary Medicine 73(1) pp. 83-88.

Coyle,K.M., Hillman, T., Cheung, M., Grande, B.M., Bushell, K.R., Arthur, S.E., Alcaide, M., Thomas, N., Dreval, K., Wong,S., Campbell, K. and Morin, R.D. (2022). Shared and Distinct Genetic Features in Human and Canine B-cell Lymphomas. Blood Adv; 6(11): pp.3404–3409.

Dickinson, R.M. (2008). Canine Lymphosarcoma: Overcoming Diagnostic Obstacles and Introduction to the Latest Diagnostic Techniques. Can Vet J;49(3): pp.305–308.

Dobbins, B (2019). Canine Lymphoma: Risk Factors, Symptoms, Diagnosis, and

Treatment. WholeDog Journal. www.whole-dog-journal.com/. Diakses tanggal 11 September 2023.

Fontaine, J., Bovens, C S. Bettenay, S., and Mueller, R.S (2009). Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: a review. Veterinary and Comparative Oncology. Vol.7. Issue.1.

Fonghem, P., Pisitkun, T., Rattanapinyopituk, K., Sirivisoot, S.,and Rungsipat, A. (2022). Investigation of Proteomic Profiles in Canine Lymphoma Using Tandem Mass Tag-based Quantitative Proteomics Approach. Veterinary World, Vol.15. pp.1333-1340

Ganta, C (2018). Cutaneous Epitheliotrophic Lymphoma/Mycosis Fungoides in Dog, Clinical and Histopathological Characteristic. www.ksvdl.org/. diakses tanggal 11 september 2023.

Greenlee, P.G., Filippa, D.A., Quimby, F.W., Patnaik, A.K., Calvano, S.E., Matus, R.E., Kimmel, M., Hurvitz, A.I and Leiberman, P.H (1990). Lymphomas in Dogs. A Morphologic, Immunologic and Clinical Study. Cancer. 66. pp. 480-490.

Ito, D., Frantz, A.M., and Modiano, J.F. (2014). Canine Lymphoma as a Comparative Model for Human Non-Hodgkin Lymphoma: Recent Progress and Applications. Vet Immunol Immunopathol.; 159(3-4): pp.192–201.

Ko, S.J., Kim., H.J., Han, S and Do, S.H (2013). Primary Lymphoma of the Uterine Horn in a Lhasa Apso Dog. Irish Vet. J. Vol. 66.

Kristyari, N.P.G., Pemayun, I.G.A.G.P., dan Wirata, I.W (2023). Laporan Kasus: Penanganan Limfosarkoma Inguinalis pada Anjing Minipom Jantan. Buletin Veteriner Udayana.Vol.15 No. 4: pp.609-619.

Luethcke, K.R., Trepanier, L.A., Tindle, A.N. and Labadie, J.D (2022). Environmental Exposures and Lymphoma Risk: a Nested Case–Control Study Using the Golden Retriever Lifetime Study Cohor. Canine Medicine and Genetics. 1-10.

- Mirkes, E.M., Alexandrakis, I., Slater, K., Tuli, R., and Gorban, A.N.(2014). Computational Diagnosis and Risk Evaluation for Canine Lymphoma. *Computers in Biology and Medicine*. Vol.53. pp. 279-290
- Montaner-Angoiti, E., Marín-García, P.J., and Llobat, L (2023). Epigenetic Alterations in Canine Malignant Lymphoma: Future and Clinical Outcomes. *Animals*. 13.
- Mortier, F., Daminet, S., van Denabeele, S., van de Maele, I. (2012). Canine Lymphoma: a Retrospective Study (2009 – 2010). *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*; 81; pp. 341-351
- Nikousefat, Z., Hashemnia, M., Javdani, M. (2016). Large B-Cell Lymphoma in a Dog: A Cyto-histopathological Evaluation and Immunophenotyping According to WHO Classification for Canine Lymphomas. *Veterinary Research Forum*. Vol.7 (1) pp.79 - 83
- Parodi, A.L (2001). Classification of Malignant Lymphoma in Domestic Animals. History and Conceptual Evaluation. *European Journal of Veterinary Pathology*. Vo.7. No. 2. Pp.43-50.
- Ponce F., Marchal T., Magnol J.P., Turinelli V., Ledieu D., Bonnefont C., Pastor M., Delignette M.L., Fournel-Fleury C. A (2010). Morphological Study of 608 Cases of Canine Malignant Lymphoma in France with a Focus on Comparative Similarities between Canine and Human Lymphoma Morphology. *Vet. Pathol.*;47:pp.414–433.
- Sánchez, D., Sánchez- Verin, R., Corona, H., Gutiérrez, A., Núñez-Ochoa, L., Paredes, J., and Cesarman-Maus, G. (2019). Canine Lymphoma: Pathological and Clinical Characteristics of Patients Treated at a Referral Hospital. *Veterinaria México OA* Vol.6. No.2.
- Senthil N.R., Chakravarthi, R and Vairamuthu, S. (2020). Retrospective Studies on Tumor Conditions in Dogs Over a Period of Four Years (2014-2018). *The Pharma Innovation Journal*. SP-9(4): 224-227.
- Soeripto (1990). Diagnosis Histopatologis Limfoma Non-Hodgkin Disesuaikan Dengan Pengelolaan Penderita. *Berkala Ilmu Kedokteran*. Jil. XXII. No. 1. pp. 13-20
- Stoewen, D.L., Coe,J.B., MacMartin, C., Stone,E.A., Dewey, C.E (2013). Factors Influencing Veterinarian Referral to Oncology Specialists for Treatment of Dogs with Lymphoma and Osteosarcoma in Ontario, Canada.J. *Am Vet Med Assoc*. 243:1415–1425.
- Swerdlow, S.H. (2013). Lymphoma Classification and the Tools of Our Trade: an Introduction to the 2012 USCAP Long Course. *Modern Pathology*; 26, S1–S14
- Srykh, C., Abreu, A., Amara, N., Siegfried, A., Maisongrosse, V., Frenois, F.X., Martin, L., Rossi, C., Laurent, C., and Brousset, P (2020). Accurate Diagnosis of Lymphoma on Whole-slide Histopathology Images Using Deep Learning. *Digital medicine*. 63.
- Takashima-Uebelhoer, B.B., Barber, L.G., Zagarins, S.E., Procter-Gray,E., Gollenberg, A.L., Moore,A.S. and Elizabeth R. Bertone-Johnson, E.R (2012). Household Chemical Exposures and the Risk of Canine Malignant Lymphoma, a Model for Human Non-Hodgkin's Lymphoma. *Environ Res*. Jan; (112): pp.171–176.
- van Rooyen, L.L., Hooijberg, E., and Reyers, F (2018). Breed Prevalence of Canine Lymphoma in South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association*. ISSN: (Online) 2224-9435, (Print) 1019-9128.
- Varghese, A.K., Nair, S., and Babu, S.S (2014). Primary Extranodal Non-Hodgkin's Lymphoma of the Palate: A Diagnostic and Therapeutic Challenge. *Oral and Maxillofacial Pathology Journal*. Vol.5(1):pp.453-455
- Villamil, J.A., Henry, C.J., Hahn, A.W., Bryan, J.N., Tyler, J. and Caldwell, C.W (2009). Hormonal and Sex Impact on the

Epidemiology of Canine Lymphoma. Journal of Cancer Epidemiology. pp. 1-7

Wolfesberger, B., Burger, S., Kummer, S., Walter, I., Tichy, A., Klinger, S., Alton, K., Burgener, I.A., Liehmann, L., Hammer, S.E., R  tgen, B.C. and Baumgartinger, A.F. (2021). Proliferation Activity in Canine Gastrointestinal Lymphoma. J. Comp. Path., Vol. 189, pp.77-87

Zambelli, A.B., Clift, S.J., Gerber, D and Schoeman, J.P (2013). Hypercalcaemic Multicentric Lymphoma in A Dog Presenting as Clitoromegali. Journal of The Soth African Veterinary Association. Vo.84. No.1.

Zandvliet, M. (2013). Canine lymphoma: A Review. Veterinary Quarterly. Vol.36. No.2. pp. 76-104.

Zanini, D.A., Kimura, K.C., Nishiya, A.T., Ubukata, R., Leandro, R.M., de Brito, C.P., Trombetti, M., Lagoa, A.C., Macedo, T.R., de S   Rodrigues, L.C., da Silva Rosendo, J.A., Arndt, H.L., Dias, R.A., Dag. M.L.Z. (2013). Environmental Risk Factors Related to the Development of Canine Non-Hodgkin's Lymphoma. Ciência Rural, Vol.43, No.7; pp.1302-1308.

Zhang, Y., Han, Q., Du, P., Lu, Y., Hu, L., Ali, S., Mehmood, K., Hameed, S., Tang, Z., Zhang, H., and Li, Y., (2022). Diagnosis of Canine Multicentric Lymphoma in Dog. Pakistan J. Zool., vol. 54(2), pp 957-960,

SURVEILANS STREPTOCOCCOSIS PADA BABI DI PROVINSI BALI TAHUN 2023

(Surveillance of Streptococcosis in Pig in Bali Province in 2023)

Narcana.I.K., Rido.C.S., Dewi.A.A.S.,

Putra A.A.G.S., Rohmanto R.

Balai Besar Veteriner Denpasar

ABSTRAK

Streptococcosis merupakan salah satu penyakit menular pada babi dan bersifat zoonosis. Penyakit ini endemis dan terkadang mewabah di beberapa negara Asia dan Afrika, termasuk di Indonesia. Di Bali kasus Streptococcosis pada babi sering tidak dilaporkan mengingat peternak langsung menjual atau memotong babinya dengan tujuan mengurangi kerugian ekonomi. Pada tahun 2023 surveilans Streptococcosis pada babi di Provinsi Bali dilaksanakan di 9 kab/kota dengan pengambilan sampel swab tenggorokan, darah dan organ tonsil babi dilakukan uji isolasi identifikasi dilanjutkan uji grouping dan Vitek 2 Compact. Tujuan surveillance untuk mengisolasi dan mengidentifikasi kuman *Streptococcus sp.* yang patogen pada babi sebagai upaya pencegahan dan pengendalian Streptococcosis pada babi. Dari 140 sampel yang diuji di laboratorium, hanya satu sampel organ tonsil babi berasal dari RPH Kabupaten Gianyar positif *Streptococcosis dysgalactiae subspecies equisimilis* dan sisanya 139 sampel negatif *Streptococcus sp.* Infeksi *Streptococcus dysgalactiae subspecies equisimilis* biasanya pertama kali terlihat pada anak babi berumur 1-3 minggu. Pengobatan *Streptococcus dysgalactiae subspecies equisimilis* infeksi pada babi yaitu bakteri *Streptococcus beta-hemolitik* sensitif terhadap antibiotik beta-laktam (salah satunya penisilin).

Kata Kunci :Streptococcosis, babi, surveilans, Provinsi Bali

ABSTRACT

Streptococcosis is an infectious disease in pigs and is zoonotic. This disease is endemic and sometimes epidemic in several Asian and African countries, including Indonesia. In Bali, cases of Streptococcosis in pigs are often not reported because farmers immediately sell or slaughter their pigs with the aim of reducing economic losses. In 2023, national surveillance of Streptococcosis in pigs in Bali Province will be carried out in 9 districts/cities by taking samples of throat swabs, blood and tonsil organs from pigs, carrying out identification isolation tests followed by grouping and Vitek 2 Compact tests. The aim of surveillance is to isolate and identify *Streptococcus sp.* which is pathogenic in pigs as an effort to prevent and control Streptococcosis in pigs. Of the 140 samples tested in the laboratory, only one pig tonsil organ sample from the Gianyar Regency slaughterhouse was positive for *Streptococcosis dysgalactiae subspecies equisimilis* and the remaining 139 samples were negative for *Streptococcus sp.* *Streptococcus dysgalactiae subspecies equisimilis* infection is usually first seen in piglets aged 1-3 weeks. Treatment of *Streptococcus dysgalactiae subspecies equisimilis* infection in pigs, namely *beta-hemolytic Streptococcus* bacteria sensitive to beta-lactam antibiotics (one of which is penicillin).

Keywords: Streptococcosis, pigs, surveillance, Bali Province

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit yang berhubungan dengan babi beberapa diantaranya zoonosis telah dilaporkan seperti virus Japanese encephalitis (JEV), virus hepatitis E (HEV), virus Nipah (NiV), virus swine influenza (SIV), *Clostridium difficile*, *Leptospira spp.*, *Salmonella spp.*, *Brucella spp.*, *Trichinella spiralis*, *Streptococcus suis*, dan lain-lain (Lin, dkk 2023). Streptococcosis pada babi adalah penyakit bakterial yang berasal dari bakteri kokus gram positif dan merupakan penyakit yang bersifat akut subakut, septikemik disertai dengan meningitis dan poliarteritis. Wabah Streptococcosis yang disebabkan oleh *Streptococcus zooepidemicus*, yang termasuk dalam grup *Lancefield C* pertama kali dilaporkan terjadi pada babi dan kera di Bali tahun 1994 (Dartini, dkk., 1994). Klasifikasi bakteri dari genus *Streptococcus* disusun berdasarkan sifat-sifat hemolitik yang dimiliki yaitu *Streptococcus hemolitik alpha*, *hemolitik beta*, dan *hemolitik*

gamma. Berdasarkan kombinasi sifat antigen, hemolitik dan fisiologisnya, genus dari bakteri ini dibagi menjadi grup A, B, C, D, F, dan G.

Akhir-akhir ini kejadian dan penanganan Streptococcosis pada babi di Bali belum banyak dilaporkan. Secara klinis kasus dilaporkan setiap tahun masih ada, seperti di Kabupaten Tabanan Bali pada tahun 2015 sebanyak 649 kasus tetapi tidak ada konfirmasi laboratorium (Sukada, dkk., 2016). Susilawathi (2019) melaporkan tentang adanya meningitis pada manusia di Bali yang disebabkan oleh *Streptococcus suis* (*S.suis*). Mengonsumsi daging mentah dan kuah dari babi yang sakit atau terinfeksi secara subkutan mungkin merupakan faktor utama risiko utama penularas *S.suis* pada manusia di Bali. Hasil penelitian Besung dkk. (2019), berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi *S.suis* pada babi di peternakan babi di beberapa kabupaten di Bali.

Oleh karena itu perlu tetap dilakukan surveilans Streptococcosis untuk mengetahui kejadian kasus sehingga diperoleh data pemetaan kasus dan mengetahui keberhasilan program penanganan kasus Streptococcosis dilapangan.

Streptococcosis di Provinsi Bali endemis, namun laporan kejadian kasus klinis tidak pernah dilaporkan. Data pelaksanaan program penanganan kasus Streptococcosis dan kejadian penyakit tidak tercatat dengan jelas. Kasus penyakit ini sering tidak dilaporkan mengingat peternak langsung menjual atau memotongnya dengan tujuan mengurangi kerugian ekonomi. Untuk program pencegahan dan pengendalian menuju upaya pembebasan Streptococcosis di Provinsi Bali maka perlu dilakukan pengamatan situasi dengan cara melakukan surveilans terstruktur berkelanjutan. Balai Besar Veteriner (BB-Vet) Denpasar setiap tahun melaksanakan surveilans Streptococcosis pada

babi di wilayah kerja. Pada tahun 2023 surveilans dilaksanakan di 9 kabupaten/kota di Provinsi Bali.

1.2 Tujuan

Surveilans Streptococcosis bertujuan untuk mendapatkan data sebaran penyakit Streptococcosis dalam rangka upaya pencegahan dan mengendalikan Streptococcosis di Provinsi Bali.

II MATERI DAN METODE

2.1 Materi

Sampel berupa swab tenggorokan, darah dan organ tonsil babi. Bahan uji yang digunakan seperti BHI broth, MacConkey Agar, media agar darah (*Blood Agar*), pewarnaan Gram's, media biokimia dan gula-gula, petridish, inkubator, mikroskop. Sedangkan uji group menggunakan *Reagen Lateks* (menurut Lancefield). Uji konfirmasi untuk menentukan jenis kuman dengan mesin Vitek 2 Compact.

2.2 Metode

a. Lokasi Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari ternak babi di beberapa peternakan rakyat dan/atau perusahaan serta Rumah Potong Hewan (RPH) yang ada di Provinsi Bali. Sampel yang diambil adalah swab tenggorokan, darah dan organ tonsil babi. Jumlah sampel yang diambil sebanyak 140 sampel (swab tenggorokan 85 sampel, darah 35 sampel dan tonsil 20 sampel)

b. Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Metode isolasi dan identifikasi kuman menggunakan metode standar BB-Vet Denpasar. Sampel swab tenggorokan, darah dan tonsil babi dikultur pada media Agar darah (Blood agar), kemudian diinkubasi selama satu malam pada suhu 37°C. Koloni yang dicurigai berwarna kekuningan, bersifat mukoid, licin dan bercahaya (glossy) atau koloni yang kasar. Koloni bakteri tersebut selanjutnya diidentifikasi melalui pewarnaan Gram dan diperiksa di bawah mikroskop.

Dengan pewarnaan Gram *Streptococcus sp.* terlihat Gram positif, berbentuk kokoid dan membentuk rantai pendek, panjang atau berpasangan. Koloni yang dicurigai dimurnikan dengan melakukan subkultur ke media *Blood Agar* dan *MacConkey Agar*. Inkubasikan semalam pada suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram, pemeriksaan mikroskopis, uji biokimia dan gula-gula. Hasil uji biokimia dan gula-gula dicocokkan dengan standar dan contoh kontrol positif *streptococcus* dilanjutkan uji grouping (*Lancefield Grouping*) untuk mengetahui *streptococcus* termasuk ke dalam grup A, B, C, D, F, atau G. Uji konfirmasi dilakukan pada mesin Vitek 2 Compact merupakan sistem identifikasi otomatis untuk mengetahui jenis bakteri.

III HASIL

Surveilans Streptococcosis pada babi di 9 kabupaten/kota di Provinsi Bali telah diambil sebanyak 140 sampel terdiri dari

sampel swab tenggorokan, darah dan organ tonsil babi seperti pada Tabel 1. Hasil pemupukan sampel dari 140 sampel pada media *blood agar* hanya 1 sampel tonsil yang berasal dari RPH Gianyar dicurigai merupakan *Streptococcus sp.* Ditandai

dengan adanya pertumbuhan koloni kuman kecil, bening (putih keabuan) dan tampak terlihat adanya beta hemolisis. Sedangkan pada media *MacConkey* agar tidak ditemukan pertumbuhan koloni.

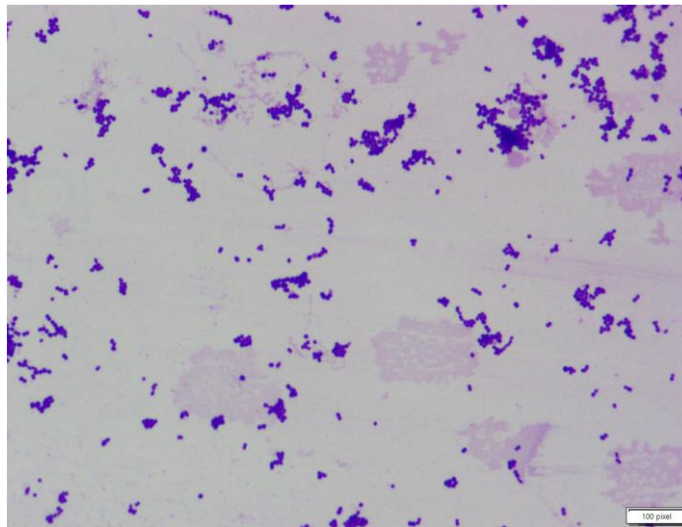
Tabel 1. Hasil Uji Isolasi Identifikasi *Streptococcus sp.* Laboratorium Bakteriologi

NO	LOKASI	JENIS SAMPEL	JUMLAH	HASIL UJI
1	Badung	Swab Tenggorokan Babi	10	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
	Badung	Darah Babi	5	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
	RPH Badung	Tonsil Babi	5	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
2	Bangli	Swab Tenggorokan Babi	10	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
	Bangli	Darah Babi	5	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
3	Buleleng	Swab Tenggorokan Babi	10	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
	Buleleng	Darah Babi	5	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
4	Denpasar	Swab Tenggorokan Babi	10	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
	RPH Denpasar	Tonsil Babi	5	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
	RPH Denpasar	Darah Babi	5	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
5	Gianyar	Swab Tenggorokan Babi	10	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
	Gianyar	Darah Babi	5	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
	RPH Gianyar	Tonsil Babi	5	1 sampel tonsil Positif <i>Streptococcus sp.</i>
6	Jembrana	Swab Tenggorokan Babi	10	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
7	Karangasem	Swab Tenggorokan Babi	10	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
	Karangasem	Darah Babi	5	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
8	Klungkung	Swab Tenggorokan Babi	10	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
	Klungkung	Swab Tenggorokan Babi	5	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>

9	Tabanan	Darah Babi	5	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
	RPH Tabanan	Tonsil Babi	5	Negatif <i>Streptococcus sp.</i>
			140	

Sumber : Data Laboratorium Bakteriologi BB-Vet Denpasar

Selanjutnya pada pewarnaan Gram kuman dari koloni ini pengamatan dengan mikroskop tampak berbentuk kokus berantai dan berwarna ungu. (Gambar 1).



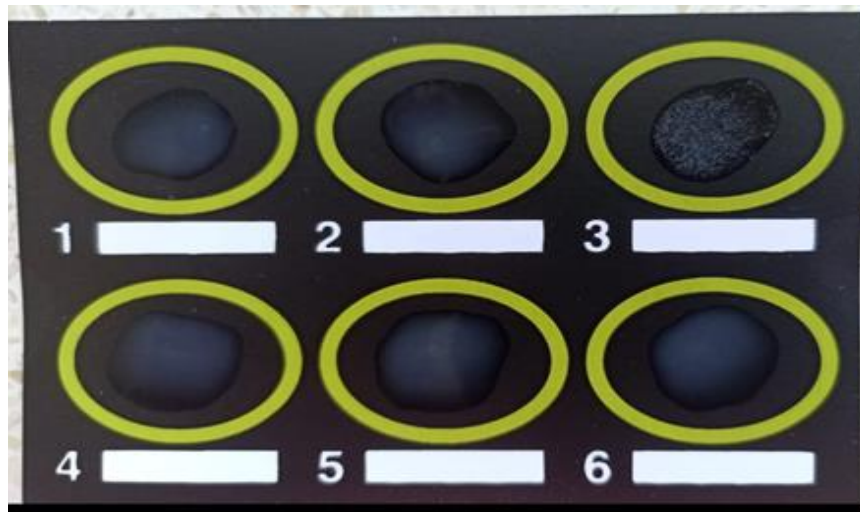
Gambar 1. Pewarnaan Gram yang menunjukkan bakteri berbentuk kokus berantai dan dapat mempertahankan warna ungu.

Koloni bakteri dimurnikan kembali pada media *blood agar*, selanjutnya diidentifikasi dengan uji biokimia dengan hasil TSIA negatif, LIA negatif, MIO (indol negatif, non motil, H₂S negatif). Hasilnya kuman yang tidak memproduksi H₂S ini mengarah ke *Streptococcus sp.* Hasil uji gula-gula menunjukkan trehalosa positif, maltose positif dan sukrosa positif, sedangkan mannitol negative. Hasil uji ini menunjukkan

bahwa kuman *Streptococcus* tergolong dalam spesies *Streptococcus dysgalactiae* dengan menunjukkan zona hemolitik β pada blood agar serta mampu memfermentasi trehalose, maltose dan sukrose namun tidak mampu memfermentasi mannitol.

Diteguhkan dengan uji group menurut Lancefield memperlihatkan reaksi positif terjadi aglutinasi pada grup C termasuk *Streptococcus* grup C

yaitu *Streptococcus dysgalactiae*
(Gambar 2).



Gambar 2. Uji group menurut *Lancefield* terjadi Aglutinasi Grup C

Uji konfirmasi dilakukan pada mesin Vitek 2 Compact hasil ujinya menunjukkan *Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis* (SDSE) (Gambar 3.)



Gambar 3. Hasil uji Vitek 2 Compact *Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis*

IV PEMBAHASAN

Hasil uji isolasi dan identifikasi dari 140 sampel pada media *blood*

agar hanya 1 sampel tonsil yang berasal dari RPH Kabupaten Gianyar menunjukkan adanya pertumbuhan koloni kuman kecil,

bening (putih keabuan) dan tampak terlihat adanya beta hemolisis. Sedangkan pada media *MacConkey* agar tidak ditemukan pertumbuhan koloni. Pada pewarnaan Gram kuman dengan pengamatan mikroskop tampak berbentuk kokus berantai dan berwarna ungu. Bakteri dapat mempertahankan zat warna ungu karena adanya struktur peptidoglikan yang tebal pada dinding selnya. Bakteri jenis ini tergolong bakteri Gram positif menunjukkan kuman *Streptococcus sp.* Hasil tersebut sesuai dengan literatur Carter dan Cole (1990) yang menyatakan bahwa koloni bakteri *Streptococcus sp.* yang tumbuh pada media blood agar adalah kecil, putih keabuabuan, mukoid, halus, berbentuk bulat dan menunjukkan alfa, beta, dan gamma hemolisa pada media.

Berdasarkan hasil uji biokimi, kuman *Streptococcus* tergolong dalam spesies *Streptococcus dysgalactiae* dengan menunjukkan zona hemolitik β pada *blood agar* serta mampu memfermentasi

trehalose, maltose dan sukrose namun tidak mampu memfermentasi mannitol. Menurut Cowan (1979), bahwa *Streptococcus dysgalactiae* mampu memfermentasi trehalose, maltose dan sucrose. Peneguhan dengan uji group menurut Lancefield memperlihatkan reaksi positif terjadi aglutinasi pada grup C termasuk *Streptococcus* grup C yaitu *Streptococcus dysgalactiae*. Hasil tersebut sesuai dengan literatur Lancefield (1933), bahwa Rebecca Lancefield merancang sistem klasifikasi yang mengklasifikasikan kokus Gram positif katalase negatif berdasarkan komposisi karbohidrat antigen bakteri yang terdapat pada dinding selnya, berturut-turut mendeskripsikan *Streptococcus equisimilis*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus dysgalactiae* yang termasuk dalam kelompok C.

Uji konfirmasi dilakukan pada mesin Vitek 2 Compact merupakan sistem identifikasi otomatis untuk mengetahui jenis

kuman/bakteri dengan hasil ujinya menunjukkan *Streptococcus dysgalactiae subspesies equisimilis* (SDSE). *Streptococcus dysgalactiae* saat ini dibagi menjadi 2 subspesies yaitu *Streptococcus dysgalactiae subspesies. equisimilis* dan *Streptococcus dysgalactiae subspesies dysgalactiae* (Vieira et al,1998). Dalam kedokteran hewan, penyakit ini dikenal sebagai penyebab mastitis sapi, oleh karena itu dinamakan *dysgalactiae*. Penyebaran bakteri melalui serangga terbang juga diduga bisa terjadi (Scott, 2000). *Streptococcus dysgalactiae* telah diisolasi dari poliartritis menular pada beberapa spesies hewan, termasuk babi, domba, sapi dan kambing (Vela, et al 2006).

Menurut Marcelo (2020) bahwa *Streptococcus dysgalactiae equisimilis* pada babi sebagian besar termasuk dalam kelompok Lancefield C. Infeksi dapat menyebabkan radang sendi, endokarditis dan meningitis pada anak babi yang masih sangat muda. *Streptococcus*

dysgalactiae equisimilis juga ditemukan sebagai flora normal pada babi dewasa. Meskipun merupakan anggota flora normal, namun *Streptococcus beta-hemolitik* terpenting yang terlibat dalam lesi pada babi. *Streptococcus* ini umum ditemukan pada sekreta hidung, tenggorokan, amandel, serta sekret vagina dan preputial.

Dari literatur Marco (2020) ini dibandingkan dengan hasil uji *Streptococcus dysgalactiae equisimilis* ditemukan pada organ tonsil ini menunjukkan kesesuaian. Surveilans *Streptococcus sp.* pada babi di Provinsi Bali tahun 2023 dengan pengambilan sampel swab tenggorokan, darah dan organ tonsil dari hasil uji 1 sampel organ tonsil yang berasal dari RPH Kabupaten Gianyar ditemukan *Streptococcus dysgalactiae subspesies equisimilis* namun pada babi yang sama juga diambil sampel swab dan darah tidak ditemukan *Streptococcus dysgalactiae subspesies equisimilis*. Tidak ditemukannya

bakteri ini pada sampel swab dan darah babi bukan berarti babi terbebas dari infeksi *Streptococcus*. Ini kemungkinan pada infeksi yang berlanjut, bakteri tidak lagi berada di darah tetapi sudah menyebar ke jaringan, sehingga pengambilan sampel darah menunjukkan hasil negatif.

Sekresi vagina dan susu dari babi pasca melahirkan kemungkinan besar merupakan sumber infeksi pada anak babi. Infeksi *Streptococcus dysgalactiae subspesies equisimilis* biasanya pertama kali terlihat pada anak babi berumur 1-3 minggu. Pembengkakan dan ketimpangan sendi adalah tanda-tanda klinis yang paling jelas dan persisten. Peningkatan suhu, kelesuan, bulu rambut menjadi kasar, dan kurangnya nafsu makan juga dapat terjadi (Marco, 2020).

Pengobatan *Streptococcus dysgalactiae subspesies equisimilis* infeksi pada babi yaitu bakteri *Streptococcus* beta-

hemolitik sensitif terhadap antibiotik beta-laktam (salah satunya penisilin). Agen antibakteri jangka panjang mungkin bermanfaat, dan pengobatan harus diberikan sebelum peradangan menjadi parah. Sampai saat ini tidak ada vaksin komersial, tetapi bakterin autogen kadang-kadang diberikan kepada babi yang belum melahirkan untuk mencoba mengurangi kejadian radang sendi pada anak babi. Asupan kolostrum yang cukup dapat memastikan bahwa anak babi menerima antibodi pelindung (Marcelo, 2020).

Oleh karena itu pencegahan dapat dilakukan dengan menjaga kebersihan kandang, tempat pakan dan minuman. Pemberian pakan berasal dari limbah hewan sakit harus dihindari. Secara umum bakteri *Streptococcus sp.* mati pada suhu 56°C dalam waktu 30 menit dan dengan desinfektan yang biasa dipergunakan bakteri ini akan mati. Dengan demikian hasil surveilans Streptococcosis dan

identifikasi yang telah dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dapat dijadikan dasar atau bahan pertimbangan untuk tindakan pengendalian dan penanggulangan penyakit Streptococcosis serta bisa dijadikan dasar pengambil kebijakan untuk menentukan status daerah terhadap penyakit hewan menular.

V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil surveilans dan didukung dengan hasil uji laboratorium (uji isolasi identifikasi kuman, uji Lancefield Grouping dan uji konfirmasi Vitek 2 Compact) dapat disimpulkan bahwa dari 140 sampel (terdiri dari sampel swab tenggorokan, darah dan tonsil babi) hanya 1 sampel ditemukan bakteri *Streptococcus dysgalactiae* subspesies *equisimilis* pada sampel organ tonsil babi yang berasal dari RPH Kabupaten Gianyar dan 139 sampel tidak ditemukan bakteri *Streptococcus sp.*

5.2 Saran

Kasus Streptococcosis di Provinsi Bali belum dinyatakan bebas, namun laporan kejadian kasus klinis tidak pernah dilaporkan. Data pelaksanaan program penanganan kasus Streptococcosis dan kejadian penyakit tidak tercatat dengan jelas. Disarankan perlu dilakukan KIE yang lebih intensif, biosekuriti dan memperketat pengawasan lalu lintas babi sehingga kasus Streptococcosis pada babi dapat dicegah. Kasus Streptococcosis pada babi bisa dicegah dengan perlakuan yang baik, menjaga sanitasi dan kebersihan kandang. Bila ada babi yang sakit segera dipisah dan diberikan pengobatan sesegera mungkin dengan antibiotika.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kami sampaikan kepada Dinas yang membidangi fungsi peternakan dan kesehatan hewan kabupaten/kota di Provinsi Bali. Ucapan terima kasih juga

disampaikan kepada Kepala Balai Besar Veteriner Denpasar atas izin untuk melakukan surveilans dan pengujian serta kepada semua pihak yang telah membantu memberikan informasi dan data selama surveilans dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Carter G.R. and Cole, J.R. (1990). Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. 5th Edition, Academic Press, Inc.131-140.
- Lin C.N, Okabayashi T., Tummaruk P., and Toung P. (2023), *Zoonotic Diseases among Pigs published online 2023 Jan 5*. doi: 10.3389/fvets.2022.1122679.
- Cowan. S.T.(1979). Cowan and Steel's, Manual for Identification of Medical Bacteria. 2nd ed. Cambridge Univ Press.93-97.
- Dartini, N.L., Soeharsono, Dharma, Dibia (1994) Karakteristik Streptococcus yang Diisolasi dari Letupan Penyakit pada Babi dan Kera di Bali. Kongres XII dan Konferensi Ilmiah VI PDHI, diselenggarakan di Surabaya pada bulan Nopember 1994.
- Besung I.N.K., Suarjana I.G.K., Agustina K.K., Winaya I.B.O, Soeharsono H., Suwiti N.K., and Mahardika G.N, Isolation and Identification of Streptococcus suis from sick pigs in Bali, Indonesia. BMC Res Notes (2019) 12:795. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4826-7>
- Lancefield RC (1933), A Serological Differentiation of Human and Other Groups of Hemolytic Streptococci. J Exp Med. 57 (4): 571–95. doi:10.1084/jem.57.4.571. PMC 2132252. PMID 19870148.
- Marcelo G. (2020), *Streptococcus dysgalactiae equisimilis* Infection in Pigs, Department of Pathology and Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Montreal, MSD Manual Veterinary Manual, Reviewed/Revised Jun 2020 | Modified Oct 2022
- Scott, P. R. (2000). Extensive Fibrinous Pleurisy Associated with Streptococcus dysgalactiae Mastitis in Two Ewes. The Veterinary Record. 146 (12): 347–349. doi:10.1136/vr.146.12.347. ISSN 0042-4900. PMID 10777043. S2CID 46686035.
- Sukada I.M., Dharmayudha A.A.G.O., Anthara, M.S., (2016). Interpretasi Kejadian Streptococcosis Pada Babi di Daerah Tabanan. Perpustakaan Universitas Udayana.
- Susilawathi N.M., Tarini N.M.A., Fatmawati N.N.D., Mayura P.I.M., Suryapraba A.A.A., Subrata M., Sudewi A.A.R., Mahardika I.G.N., (2019) Streptococcus suis–Associated Meningitis, Bali, Indonesia, 2014–2017, Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 25, No. 12, December 2019.
- Vela, A.I., Falsen E., Isabel S., Eduardo R., Collins, M.D., Lucas D., Fernandez-Garayzabal, J.F., (2006). Neonatal Mortality in Puppies Due to Bacteremia by *Streptococcus dysgalactiae subsp. dysgalactiae*. Journal of Clinical Microbiology. 44 (2): 666–668. doi:10.1128/JCM.44.2.666-668.2006. ISSN 0095-1137. PMC 1392640. PMID 16455943.
- Vieira, V.V., Teixeira, L.M., Zahner V., Momen, H., Facklam R.R., Steigerwalt, A.G., Brenner, D.J., Castro, A.C.D. (1998). [Genetic Relationships Among the Different Phenotypes of Streptococcus dysgalactiae strains](https://doi.org/10.1099/00207713-48-4-1231). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 48 (4): 1231–1243. doi:10.1099/00207713-48-4-1231. PMID 9828425.

**ANALISA HASIL PENGUJIAN PRODUK HEWAN PADA UNIT USAHA
DALAM UPAYA PENJAMINAN PRODUK HEWAN DI PROVINSI BALI,
NUSA TENGGARA BARAT DAN NUSA TENGGARA TIMUR TAHUN
2023**

***(Analysis of Animal Product Safety Testing Results in Business Units
in Efforts to Guarantee Animal Products in the Provinces of Bali,
West Nusa Tenggara and East Nusa Tenggara in 2023)***

Oleh :

Handayani, N.M.S., Vera P.S., Andreas Y.T., Putri Ayu S., I.G.N.B. Surya
Dharma

Abstrak

Kriteria pangan asal hewan yang berkualitas baik adalah aman, sehat, utuh, dan halal (ASUH) yang berarti bahan tersebut harus bebas dari kontaminasi bahan berbahaya dan mempunyai nilai gizi yang cukup tinggi, serta memberikan keamanan bagi konsumen. Upaya penjaminan produk hewan tersebut tidak lepas dari peran pemeriksaan dan pengujian laboratorium untuk parameter keamanan produk hewan. Parameter pengujian keamanan produk hewan digunakan untuk penentuan persyaratan batas maksimal cemaran dan residu pada produk hewan. Berdasarkan hasil pengujian keamanan produk hewan yang diambil dari unit usaha produk hewan RPH Ruminansia (Kabupaten Karangasem dan Badung Provinsi Bali, Kabupaten Sumbawa Provinsi NTB), RPH Unggas (Kabupaten Buleleng Provinsi Bali), TPD (Kota Kupang dan Manggarai, NTT), Cold storage (Denpasar Provinsi Bali, Kota Mataram Provinsi NTB, Kota Kupang Provinsi NTT), ritel (Kota Denpasar Provinsi Bali, Kota Mataram Provinsi NTB), ditemukan produk hewan yang tidak memenuhi persyaratan mikrobiologi *Enterobacteriaceae*, hal ini menunjukkan bahwa di unit usaha tersebut praktik higiene dan sanitasi yang buruk. Hasil pengujian produk hewan sampel dari unit usaha PPTK (Kabupaten Sumbawa Provinsi NTB, Kabupaten Karangasem Provinsi Bali) menunjukkan hasil uji residu antibiotika golongan penisilin (11,7%), tetrasiklin (8,3%) dan aminoglikosida (8,3%) positif. Menindaklanjuti hasil pengujian keamanan produk hewan yang tidak memenuhi persyaratan keamanan produk disarankan kepada dinas yang membidangi fungsi Kesehatan Masyarakat Veteriner di provinsi/kabupaten/kota melakukan pembinaan kepada unit usaha tersebut agar bisa memenuhi syarat keamanan produksi.

Kata kunci : Analisa, Keamanan produk hewan, Unit Usaha

Abstract

The criteria for good quality animal origin are safe, healthy, intact and halal (ASUH), which means that the material must be free from contamination from dangerous substances and have quite high food nutritional value, as well as providing safety for consumers. Efforts to guarantee animal products cannot be separated from laboratory inspection and testing for animal product safety parameters. Animal product safety testing parameters are used to determine the maximum limit requirements for contamination and residue in animal products. Based on the results of animal product safety testing taken from the Ruminant RPH animal product business unit (Karangasem and Badung Regencies, Bali Province, Sumbawa Regency, NTB Province), Poultry RPH (Buleleng Regency Bali Province), TPD (Kupang and Manggarai Cities, NTT), Cold Storage (Denpasar, Bali Province, Mataram City, NTB Province, Kupang City, NTT Province), retail (Denpasar City, Bali Province, Mataram City, NTB Province), animal products were found that were not meets the microbiological requirements for *Enterobacteriaceae*, this shows that the business unit is implementing poor hygiene and sanitation practices. The results of testing animal product samples from the PPTK business unit (Sumbawa Regency, NTB Province, Karangasem Regency, Bali Province) showed that the results of the antibiotic residue tests for penicillin

(11.7%), tetracycline (8.3%) and aminoglycosides (8.3%) were positive. Following up on the results of safety testing for animal products that do not meet product safety requirements, it is recommended that the Department in charge of the Veterinary Public Health function in the Province/Regency/City conduct training for these business units so that they can meet production safety requirements.

Keywords: *Analysis, Animal product safety, Business Unit*

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Berdasarkan amanat Undang-Undang Nomor 18 Tahun 2009 tentang Peternakan dan Kesehatan Hewan sebagaimana telah diubah dengan Undang-Undang Nomor 41 Tahun 2014 tentang Perubahan atas Undang-Undang Nomor 18 Tahun 2009 tentang Peternakan dan Kesehatan Hewan, Pasal 58 bahwa dalam rangka menjamin produk hewan yang aman, sehat utuh dan halal, Pemerintah dan Pemerintah Daerah sesuai kewenangannya melaksanakan pengawasan, pemeriksaan, pengujian, standardisasi, sertifikasi, dan registrasi produk hewan. Amanat tersebut diatur lebih lanjut dalam Peraturan Pemerintah Nomor 95 Tahun 2012 tentang Kesehatan Masyarakat Veteriner dan Kesejahteraan Hewan yang

menjabarkan lebih lanjut terkait dengan pengaturan peredaran, pengawasan unit usaha, pengawasan, pemeriksaan dan pengujian, standardisasi, sertifikasi dan registrasi produk hewan dalam rangka penjaminan produk hewan.

Pangan asal hewan memiliki nilai dan kualitas tinggi untuk memenuhi kebutuhan manusia. Pangan asal hewan berupa daging, telur, dan susu merupakan protein hewani yang mengandung asam amino esensial yang tidak dapat diganti dengan protein nabati atau protein sintetis lainnya, sehingga sangat bermanfaat bagi pertumbuhan, kesehatan, dan mencerdaskan kehidupan bangsa. Namun demikian, pangan asal hewan merupakan bahan pangan yang mudah rusak dan memiliki potensi bahaya bagi makhluk hidup dan lingkungan karena mudah tercemar secara fisik, kimiawi, dan

biologis sehingga dapat membahayakan keselamatan hidup manusia, hewan, tumbuhan dan lingkungan serta mengganggu ketentraman batin masyarakat termasuk kehalalan. Kekhawatiran masyarakat terhadap jaminan keamanan pangan asal hewan yang beredar di masyarakat senantiasa ada, dan bisa menurun atau meningkat sesuai kondisi perkembangan berita di lapangan.

Kriteria pangan asal hewan yang berkualitas baik adalah aman, sehat, utuh, dan halal (ASUH) yang berarti bahan tersebut harus bebas dari kontaminasi bahan berbahaya dan mempunyai nilai gizi yang cukup tinggi, serta memberikan keamanan bagi konsumen. Parameter pengujian keamanan produk hewan digunakan untuk penentuan persyaratan batas maksimal cemaran dan residu pada produk hewan, mengevaluasi keberterimaan *lot/batch* produk hewan serta mengevaluasi penerapan cara yang baik di sepanjang rantai unit usaha

produk hewan. Parameter pengujian keamanan produk hewan meliputi cemaran mikrobiologis, khususnya bakteri dan kapang/khamir, serta berupa cemaran kimiawi yang meliputi residu dan cemaran pada produk hewan. Cemaran tersebut dapat berasal dari produk itu sendiri, penerapan hygiene sanitasi unit usaha dan hygiene personal yang kurang baik atau praktik-praktik yang kurang baik.

Cemaran mikrobiologis yang diuji sebagai parameter mutu dan keamanan produk hewan umumnya dapat digolongkan menjadi tiga kelompok yaitu (ICMSF 2018) :

1. Kelompok utilitas yaitu kelompok mikroba yang dapat memberikan gambaran tentang pencemaran umum, kerusakan/kebusukan dan umur simpan suatu produk. Termasuk ke dalam kelompok ini adalah angka lempeng total (ALT), total kapang khamir dan sebagainya.

2. Kelompok Indikator yaitu kelompok mikroba yang umumnya tidak membahayakan kesehatan tetapi dapat menunjukkan terjadinya pencemaran fekal atau kemungkinan adanya pathogen.
3. Kelompok Patogen yaitu kelompok mikroba yang telah terbukti dapat menyebabkan penyakit melalui pangan atau terlibat dalam kejadian luar biasa keracunan pangan.

Adapun upaya penjaminan produk hewan tersebut tidak lepas dari peran pemeriksaan dan pengujian laboratorium untuk parameter keamanan produk hewan. Kegiatan ini ditargetkan untuk mendukung upaya pembinaan dan pengawasan unit usaha kearah Sertifikasi Nomor Kontrol Veteriner (NKV), disamping untuk menyediakan data dan informasi terkait Tingkat keamanan produk hewan (residu dan cemaran) di sepanjang rantai produksi produk hewan, selain itu untuk memenuhi persyaratan sertifikasi dan

registrasi produk hewan juga diperlukan hasil pengujian produk. Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan bahwa kegiatan ini ditargetkan untuk mendukung upaya pembinaan dan pengawasan unit usaha kearah Sertifikasi Nomor Kontrol Veteriner (NKV), disamping untuk menyediakan data dan informasi terkait Tingkat keamanan produk hewan (residu dan cemaran) di sepanjang rantai produksi produk hewan, selain itu untuk memenuhi persyaratan sertifikasi dan registrasi produk hewan juga diperlukan hasil pengujian produk dari unit usaha rumah potong hewan (RPH) Gudang *cold storage*/swalayan/kios, PPTK, ritel, tempat pengolahan daging (TPD). Berdasarkan latar belakang di atas maka dalam kegiatan ini dapat dirumuskan permasalahan yaitu apakah suatu unit usaha layak atau memenuhi persyaratan sertifikasi dan registrasi produknya melakukan pembinaan terhadap unit usaha produk hewan yang sudah bersertifikat NKV.

1.2. Tujuan

Tujuan dari kegiatan ini adalah untuk menginterpretasikan hasil pengujian produk hewan yang bebas residu dan cemaran mikroba serta memberikan analisa dan rekomendasi bagi proses produksi di unit usaha produk hewan di wilayah kerja BB-Vet Denpasar agar produk hewan yang dihasilkan dapat memenuhi persyaratan keamanan.

II. MATERI DAN METODE

2.1. Materi

Jumlah sampel produk yang diambil pada kegiatan ini sebanyak 650 sampel, terdiri dari sampel daging segar, susu dan telur konsumsi dengan berat sampel daging diambil sebanyak 500 gram/sampel untuk daging dan 500 ml/sapel untuk susu segar, sedangkan telur untuk satu sampel diwakili dengan 8 butir telur.

2.2. Metode

Pemilihan lokasi sampling yang dipilih untuk pengambilan sampel

ini sesuai dengan hasil pemetaan unit usaha yang ada di wilayah kerja BBVet Denpasar, baik yang sudah NKV (surveilans), maupun belum NKV (pembinaan). Pengujian mikrobiologi mengenal dua macam sampling plan, yaitu sampling plan 2 kelas dan sampling plan 3-kelas. Sampling plan 2-kelas membagi produk yang dihasilkan dalam suatu *lot* menjadi 2 kelompok yaitu kelompok baik ($\leq m$) dan kelompok buruk ($> m$): oleh karena itu hanya ada satu batas mikrobiologi yaitu m . Sampling plan -2 kelas umum diterapkan untuk pathogen yang dianggap sangat berbahaya. Sementara itu sampling plan 3-kelas membagi produk yang dihasilkan dalam suatu *lot* menjadi 3 kelompok yakni kelompok baik ($\leq m$), kelompok marginal ($> m$ tetapi $< M$) dan kelompok buruk ($> M$). Sampling plan 3-kelas umum diterapkan untuk kelompok bakteri utilitas, indikator atau pathogen yang dianggap kurang berbahaya. Nilai m yang ditetapkan, harus dapat dicapai dengan penerapan program hygiene sanitasi yang baik.

Tabel 1. Perbedaan Sampling Plan 2-kelas dan 3-kelas

2-kelas	3-kelas
1. Produk dalam suatu <i>lot</i> dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok baik ($\leq m$) dan kelompok buruk ($> m$).	1. Produk dalam suatu <i>lot</i> : 3 kelompok yaitu kelompok baik ($\leq m$), kelompok marginal ($> m$ tetapi $< M$) dan kelompok buruk ($> M$).
2. Hanya ada satu batas mikrobiologi (m).	2. Terdapat dua (2) batas mikrobiologi (m dan M).
3. Patogen sangat berbahaya	3. Kelompok bakteri utilitas, indikator atau patogen yang kurang berbahaya,

Semua sampel (daging segar) yang diambil ditangani secara aseptis. Sampel yang diperoleh disimpan dan ditransportasikan pada suhu dingin, sedangkan sampel telur diletakkan dalam wadah telur.

2.3. Pengujian Sampel

2.3.1. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT)

Angka Lempeng Total (ALT) atau *Total Plate Count* (TPC) adalah jumlah mikroba (bakteri, kapang dan kamir) yang terdapat dalam suatu produk yang tumbuh pada media agar (*Plate Count Agar*) pada suhu dan waktu inkubasi yang ditetapkan. Angka lempeng total tidak spesifik untuk menguji

keamanan pangan akan tetapi mencerminkan kontaminasi pada produk, serta praktik hygiene sanitasi pada suatu proses produksi yang berdampak pada kualitas dan masa atau umur simpan.

Prinsip ALT adalah perhitungan jumlah koloni yang tumbuh pada media agar. Setiap koloni diasumsikan mewakili satu sel.

2.3.2. Jumlah

Enterobacteriaceae

Metode ini untuk menghitung jumlah bakteri famili *Enterobacteriaceae* yang terdapat dalam suatu produk. *Enterobacteriaceae* adalah famili yang memiliki habitat di saluran pencernaan. Gram negatif dan

bersifat komensal atau pathogen (*Salmonella*, *Shigella* dan *E.coli*). Jumlah Enterobacteriaceae menjadi indikator praktik hygiene sanitasi terutama adanya pencemaran dari fekal. Penghitungan bakteri famili *Enterobacteriaceae* dengan teknik penghitungan koloni dengan cara menumbuhkan pada media agar selektif.

2.3.3. Jumlah *Staphylococcus aureus*

Pengujian ini bertujuan untuk menghitung jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* dalam suatu produk. Habitat *S. aureus* terutama di kulit manusia dan hewan, rambut dan kerongkongan serta lubang hidung. Jumlah *S. aureus* dijadikan indikator pencemaran dari 2.3.kulit pekerja dan/atau hewan. Jika bakteri *S. aureus* pada produk mencapai jumlah 100.000 per gram/ml maka dapat menghasilkan 1 mikrogram enterotoksin yang dapat membuat konsumen keracunan (intoksikasi). Enterotoksin bersifat tahan panas.

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif, memfermentasi glukosa anaerob dengan memproduksi asam, katalase positif, nitrat positif dan koagulase positif. Metode perhitungan *S. aureus* menggunakan metode cawan hitung dengan menumbuhkannya pada media Baird-Parker Agar. Koloni tipikal *Staphylococcus aureus* pada media selektif Baird Parker agar mempunyai ciri bundar, licin halus, cembung, abu-abu hingga kehitaman dengan tepi koloni putih dikelilingi zona yang terang.

2.3.4 Identifikasi *Salmonella* spp.

Untuk mengidentifikasi keberadaan *Salmonella* spp. Bakteri *Salmonella* spp memiliki habitat terutama di saluran pencernaan hewan dan manusia. Semua serovar *Salmonella* spp. diidentifikasi sebagai pathogen. *Salmonella* spp merupakan bakteri dari famili Enterobacteriaceae, Gram negative, lisin positif, hydrogen sulfida positif, reaksi positif/negative pada media Triple

Sugar Iron Agar (TSIA (dengan gas), indol positif dan citrate positif. Isolasi dan identifikasi bakteri *Salmonella* spp. Dari pangan terdiri atas pra pengayaan, pengayaan, selektif, identifikasi koloni pada media agar, uji biokimia dan uji serologi.

Pengujian sampel dari unit usaha yang dilaksanakan di Balai Besar Veteriner Denpasar menggunakan Matrix Sampling Plan yang sudah ditentukan oleh Direktorat Kesmavet Pusat seperti diuraikan pada table di bawah ini.

Tabel 2. Matrix Sampling Plan

No	Jenis Unit Usaha	Jenis Produk Hewan	Jumlah Satuan Sampel	Parameter	N	c	m	M	Metode Analisis
1	Tempat Penampungan Susu (KUD/collecting milk unit)	Susu Segar	500 ml	Angka Lempeng Total	5	3	10 ⁴ koloni/ml	10 ⁵ koloni/ml	ISO 4833
				Enterobacteriaceae	5	3	<1 APM/ml	5 APM/ml	SNI ISO 21528
				Stapylococcus aureus	5	3	Negatif/25 ml	NA	SNI ISO 6888
				Residu Obat	2	0	Mengacu pada SNI 01-6366-2000 atau Codex Alimentarius Commission		
2	Rumah Potong Hewan/	Karkas/ Daging	500 g	Enterobacteriaceae	5	2	10 koloni/g	10 ² koloni/g	SNI ISO 21528
				Stapylococcus aureus	5	1	2.5 x 10 ² koloni/g	10 ⁴ koloni/g	SNI ISO 6888
				Salmonella	5	0	Negatif/25 g	NA	ISO 6579:2002;
				Residu Obat	2	0	Mengacu pada SNI 01-6366-2000 atau Codex Alimentarius Commission		
3	Tempat pengolahan daging	Bahan baku (daging)	500 g	Enterobacteriaceae	5	2	10 koloni/g	10 ² koloni/g	SNI ISO 21528
				Salmonella	5	0	Negatif/25 g	NA	ISO 6579:2002;
				Stapylococcus aureus	5	1	10 ² koloni/g	2 x 10 ² koloni/g	SNI ISO 6888
4	Peternakan/Pengumpul/Pengemas Telur Konsumsi	Telur	8-10 butir	Enterobacteriaceae	5	2	1x10 ¹ koloni/g	1x10 ² koloni/g	SNI ISO 21528
				Salmonella	5	0	Negatif/25 g	NA	SNI ISO 6579
				ResiduObat	2	0	Mengacu pada SNI 01-6366-2000 atau Codex Alimentarius Commission		
KETERANGAN:									
n : Jumlah sampel yang diambil dan dianalisis									
c : Jumlah sampel yang boleh melampaui batas mikroba untuk menentukan keberterimaan suatu produk									
m : Batas minimum									
M : Batas maksimum									

III. HASIL

Berdasarkan hasil pengujian keamanan produk hewan yang diambil dari unit usaha produk

hewan di wilayah kerja Balai Besar Veteriner Denpasar (Provinsi Bali, NTB dan NTT) ditampilkan pada tabel berikut.

Dari tujuh jenis unit usaha yang di sampling dari RPH-U (20 sampel), Tempat Penampungan Susu (15 sampel), Pengemas Pengumpul Telur Konsumsi (105 sampel), RPH-Ruminansia (120 sampel),

Tempat Pengolahan Daging (30 sampel), Ritel (60 sampel) dan *Cold Storage* (300 sampel) menunjukkan ditampilkan pada tabel berikut ini :

Tabel 3. Persentase Pengujian Produk Hewan dari Unit Usaha

No	Parameter	Persentase Memenuhi Mikrobiologi (%)	Negatif (%)
	<i>Cold Storage</i> (300 Sampel)		
1	Enterobacteriaceae	92	
2	<i>S. aureus</i>	100	
3	<i>Salmonella</i>	100	
4	Residu Antibiotik Gol. PC		100
5	Residu Antibiotik Gol. TC		100
6	Residu Antibiotik Gol. AG		100
7	Residu Antibiotik Gol. ML		100
	RPH Ruminansia (120 Sampel)		
1	Enterobacteriaceae	94,2	
2	<i>S. aureus</i>	100	
3	<i>Salmonella</i>	100	
4	Residu Antibiotik Gol. PC		100
5	Residu Antibiotik Gol. TC		100
6	Residu Antibiotik Gol. AG		100
7	Residu Antibiotik Gol. ML		100
	Ritel (60 sampel)		
1	Enterobacteriaceae	88,3	
2	<i>S. aureus</i>	100	
3	<i>Salmonella</i>	100	
4	Residu Antibiotik Gol. PC		100
5	Residu Antibiotik Gol. TC		100
6	Residu Antibiotik Gol. AG		100
7	Residu Antibiotik Gol. ML		100
	PPTK (105 sampel)		
1	Enterobacteriaceae	100	
2	<i>Salmonella</i>	100	
3	Residu Antibiotik Gol. PC		88,3
4	Residu Antibiotik Gol. TC		91,7
5	Residu Antibiotik Gol. AG		91,7
6	Residu Antibiotik Gol. ML		100
	RPH Unggas (20 sampel)		
1	Enterobacteriaceae	80	
2	<i>S. aureus</i>	100	
3	<i>Salmonella</i>	100	
4	Residu Antibiotik Gol. PC		100
5	Residu Antibiotik Gol. TC		100
6	Residu Antibiotik Gol. AG		100
7	Residu Antibiotik Gol. ML		100
	TPD (30 sampel)		

1	Enterobacteriaceae	80	
2	<i>Salmonella</i>	100	
3	Residu Antibiotik Gol. PC		100
4	Residu Antibiotik Gol. TC		100
5	Residu Antibiotik Gol. AG		100
6	Residu Antibiotik Gol. ML		100
Tempat Penampungan Susu (20 sampel)			
1	ALT	100	
2	Enterobacteriaceae	100	
3	<i>S.aureus</i>	100	
4	Residu Antibiotik Gol. PC		100
5	Residu Antibiotik Gol. TC		100
6	Residu Antibiotik Gol. AG		100
7	Residu Antibiotik Gol. ML		100

Berdasarkan hasil pengujian keamanan produk hewan yang diambil dari unit usaha produk hewan RPH Ruminansia, RPH Unggas, TPD, *Cold storage*, ritel, ditemukan produk hewan yang

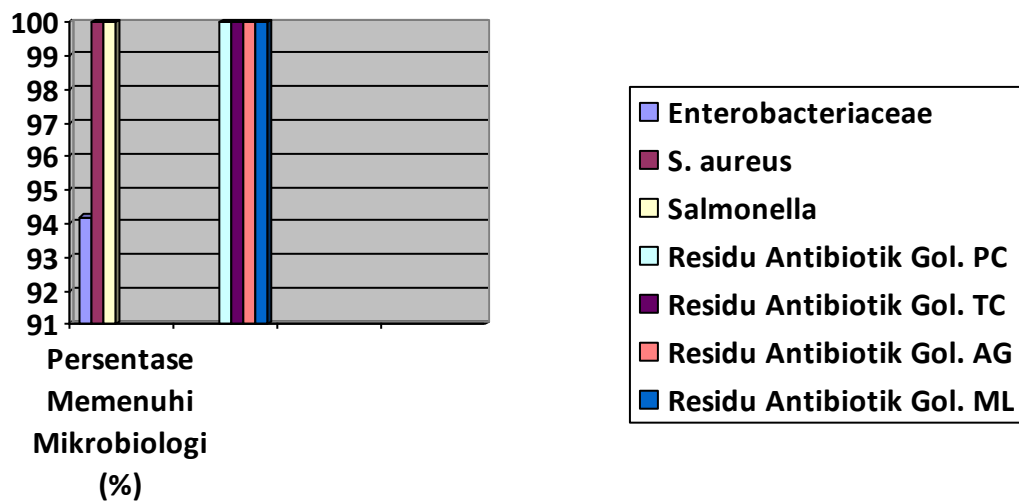
tidak memenuhi persyaratan keamanan, hal ini menunjukkan bahwa di unit usaha tersebut praktik higiene dan sanitasi yang buruk.



Gambar 1. Pengujian Produk Hewan pada Sampel dari Unit Usaha *Cold Storage*

Dari diagram pada Gambar 1 menunjukkan bahwa unit usaha *Cold Storage* 92% yang memenuhi kriteria mikrobiologi

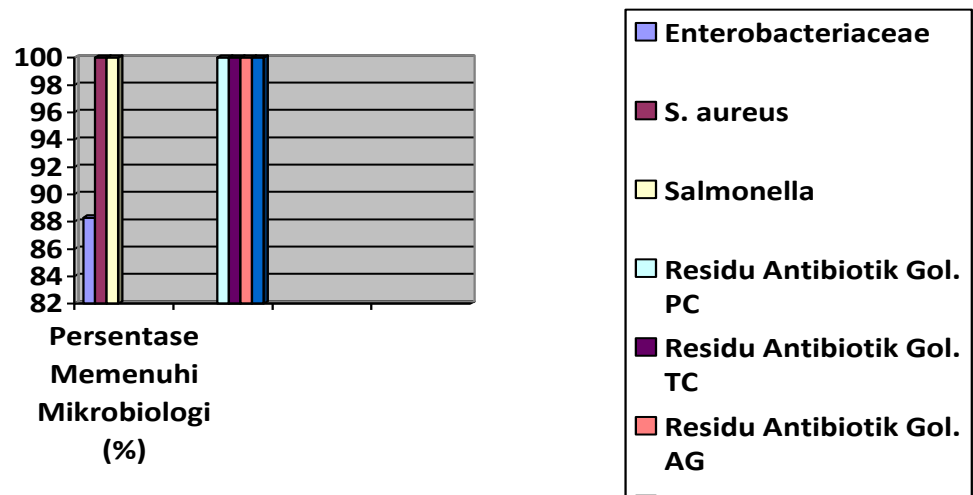
sedangkan parameter *S.aureus* dan *Salmonella spp* dan residu antibiotika 100% memenuhi kriteria mikrobiologi.



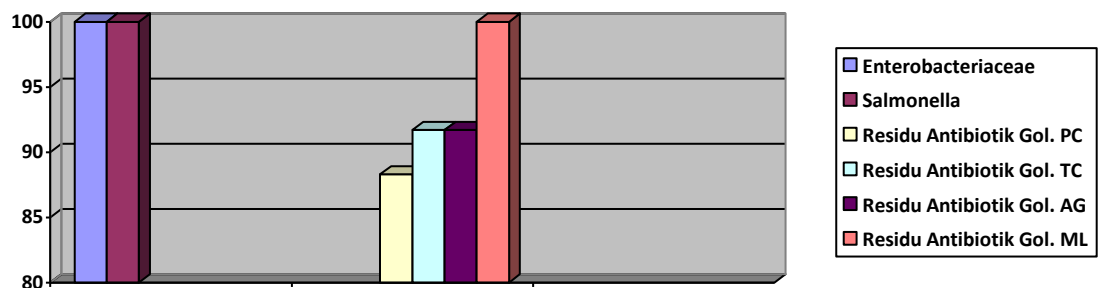
Gambar 2. Pengujian Produk Hewan pada Sampel dari Unit Usaha RPH Ruminansia

Sama halnya dengan unit usaha *Cold Storage*, unit usaha RPH Ruminansia, Ritel dan RPH Unggas sebesar 94,2%, 88,3% dan 80% memenuhi kriteria mikrobiologi sedangkan parameter *S.aureus* dan *Salmonella spp* dan residu antibiotika 100% memenuhi Rote (Kota Kupang)

kriteria mikrobiologi. Nama unit usaha yang sampel ujinya tidak memenuhi kriteria mikrobiologi (*Enterobacteriaceae*) adalah : PT. Matahari Putra Prima Tbk. (Mataram, NTB), PT Matahari Putra Prima (Denpasar, Bali), Daging Sei Opa Rote (Kota Kupang)



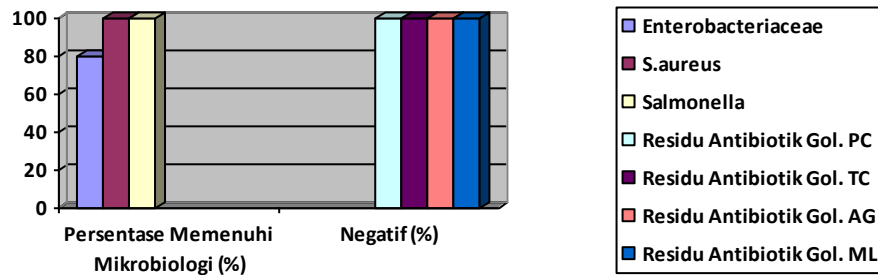
Gambar 3. Grafik Pengujian Produk Hewan pada Sampel dari Unit Usaha Ritel



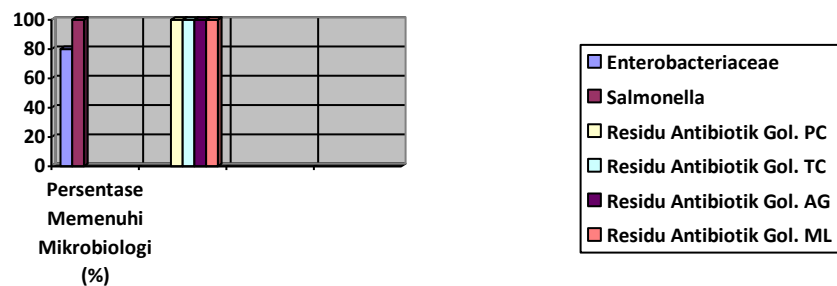
Gambar 4. Grafik Pengujian Produk Hewan pada Sampel dari Unit Usaha PPTK

Hasil pengujian sampel telur dari unit usaha PPTK 100% memenuhi kriteria mikrobiologi *Enterobacteriaceae* dan *Salmonella*, namun hasil uji residu antibiotika masing masing golongan penisilin (11,7%), tetrasiklin dan aminoglikosida (8,3%) positif. Adapun nama-

nama unit usaha PPTK yang positif residu antibiotika yaitu PT. Samawa Gemilang Perkasa (Sumbawa, NTB), Star Jaya (Karangasem, Bali), UD Bala Bala (Karangasem, Bali) dan CV. Unggas Timor Mandiri (Kab. Kupang, NTT).



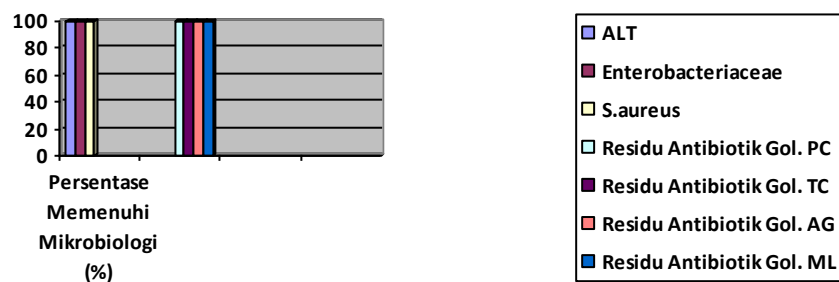
Gambar 5. Pengujian Produk Hewan pada Sampel dari Unit Usaha RPH Unggas



Gambar 6. Pengujian Produk Hewan pada Sampel dari Unit Usaha Tempat Pengolahan Daging

Hasil pengujian di unit usaha Tempat Pengolahan Daging (TPD) hampir sama dengan unit usaha RPH Ruminansia, RPH

Unggas, Ritel dan *Cold Storage*, kriteria mikrobiologi yang tidak memenuhi persyaratan adalah parameter *Enterobacteriaceae* (20%).



Gambar 7. Pengujian Produk Hewan pada Sampel dari Unit Usaha Tempat Penampungan Susu

Hasil pengujian produk dari unit usaha tempat penampungan susu

menunjukkan semua sampel yang diuji memenuhi kriteria

mikrobiologi dan negatif residu empat golongan antibiotika (penisilin, tetrasiklin, aminoglikosida, makrolida).

IV. PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengujian keamanan produk yang diambil dari unit usaha di wilayah kerja BBVet Denpasar seperti telah diuraikan diatas, hal tersebut menunjukkan bahwa unit usaha RPH unggas, RPH ruminansia, ditemukan produk hewan yang tidak memenuhi persyaratan keamanan, maka perlu direkomendasikan serta dilakukan tindak lanjut oleh dinas terkait (pengawas kesmavet) seperti mereview prosedur dan praktik hygiene sanitasi yang meliputi kualitas air, sanitasi lantai, kebersihan peralatan dan praktik hygiene personal terutama praktik cuci tangan personel yang bekerja kontak langsung dengan produk, penetapan kendali kualitas penerapan hygiene sanitasi misalnya pemeriksaan terhadap formular kendali kualitas (QC form

yang dilakukan oleh personel RPH.

Sedangkan kondisi unit usaha *Cold storage*, ritel yang tidak memenuhi kriteria mikrobiologi hal ini menunjukkan bahwa praktik hygiene dan sanitasi yang buruk pada unit usaha tersebut direkomendasikan unit usaha *tersebut* untuk melakukan review terhadap prosedur dan praktik hygiene sanitasi yang meliputi kualitas air, sanitasi lantai, kebersihan peralatan dan praktik hygiene personal terutama praktik cuci tangan personel yang bekerja kontak langsung dengan produk, validasi suhu pada gudang pendingin (pemeriksaan suhu ruangan, pengecekan status kalibrasi pengukur suhu/thermometer), review penerapan rantai dingin pada proses pengiriman produk, penelusuran produk mulai dari unit usaha produksi, distribusi dan selama pengiriman, evaluasi terhadap penentuan pengelola jasa pengiriman produk, penelusuran produk mulai dari unit usaha produksi, distribusi dan selama pengiriman, evaluasi

terhadap penentuan pengelola jasa pengiriman produk, thawing dilakukan pada suhu 0-4°C dengan kondisi produk tetap dalam kemasan. Rekomendasi serta saran sehubungan dengan hasil pengujian keamanan produk hewan yang tidak memenuhi persyaratan, perlu dilakukan tindak lanjut oleh Dinas yang membidangi fungsi Kesehatan Masyarakat Veteriner di Provinsi/Kabupaten/Kota sebagai upaya pembinaan.

Analisa hasil pengujian residu antibiotika pada produk hewan (telur) yang diambil dari unit usaha PPTK, menunjukkan bahwa penggunaan antibiotika pada usaha peternakan khususnya ternak unggas (ayam broiler) di masyarakat kebanyakan tidak memperhatikan penggunaan dosis dan masa henti obat, yang dapat menimbulkan residu antibiotika pada produk pangan hewan.

Residu antibiotika merupakan zat antibiotika termasuk metabolitnya yang terkandung dalam daging, telur dan susu, baik sebagai akibat langsung maupun

tidak langsung dari penggunaan antibiotika (SNI 7424: 2008). Penggunaan antibiotika yang tidak memperhatikan masa henti obat, akan menimbulkan residu antibiotika pada produk pangan hewan. Semakin berkembangnya jenis antibiotika dalam bidang peternakan, yang berguna untuk meningkatkan produksi peternakan, maka para peternak menggunakan berbagai cara termasuk dengan memberikan antibiotik dengan tujuan untuk pengobatan sehingga mengurangi resiko kematian dan mengembalikan kondisi ternak yang dapat berproduksi kembali (normal), juga mencegah tersebarnya mikroorganisme patogen keternak lainnya, untuk memacu pertumbuhan (*growth promotor*), sehingga dapat mempercepat pertumbuhan atau meningkatkan produksi hasil ternak serta mengurangi biaya pakan. Untuk memacu pertumbuhan biasanya antibiotika ditambahkan sebagai imbuhan pakan (*feed additive*) yang secara umum bermanfaat karena secara

tidak langsung berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroorganisme perusak zat-zat gizi dalam pakan dan merangsang pertumbuhan mikroorganisme pembentukan asam amino.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil pengujian produk hewan dari unit usaha di wilayah kerja BBVet Denpasar (Bali, NTB dan NTT) adalah : masih terdapat unit usaha (*cold storage*, ritel, RPH-U, RPH-R, dan TPD) yang tidak memenuhi persyaratan keamanan dari kriteria mikrobiologi (*Enterobacteriaceae*), serta residu antibiotika (golongan Penisilin, tetrasiklin dan aminoglikosida) dari pengumpul telur konsumsi.

1.2. Saran

Agar produk hewan yang beredar di masyarakat aman bagi konsumen, disarankan kepada dinas yang membidangi fungsi Kesehatan Masyarakat Veteriner di wilayah Provinsi/Kabupaten/Kota lokasi

unit usaha yang tidak memenuhi persyaratan untuk menindaklanjuti dengan melakukan pembinaan kepada unit usaha tersebut agar dapat memenuhi syarat keamanan mikrobiologi dan bebas residu antibiotika.

DAFTAR PUSTAKA

Anonimus. 2002. Feed Additive Compendium. Vol. 41. The Miller Publishing Company. Minnoseta. USA.

Anonimus, 2004. Panduan Pelaksanaan Kegiatan Kesehatan Masyarakat Veteriner. Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner, Direktorat Jenderal Bina Produksi Peternakan. Departemen Pertanian, <http://www.deptan.go.id>.

Anonimus, 2013. Kumpulan Peraturan menteri Pertanian Bidang Kesehatan Masyarakat Veteriner dan Pasca Panen. Direktorat Kesmavet dan Pasca Panen, Direktorat jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian

Anonimus, 2005. Foodborne Disease Salmonellosis. Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner. Direktorat Jenderal Bina Produksi Peternakan. Departemen Pertanian.

Anonimus, 2009. Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan. SNI 7388 :2000. Standar Nasional Indonesia. Badan Standardisasi Nasional.

Bailey, J.S. 1993. Control of Salmonella and Campylobacter in Poultry Production. A Summary of Work at Research Center. Poult. Sci. 72: 1169–1173.

ICMSF (International Commision on Microbiological Spesification for Foods). 2018. Microorganisms in Foods 7 : Microbiological Testing in Food Safety Management 2nd Edition. Springer.

Matsunaga T, Chikuni K, Tanabe R, Muroya S, Shibata K, Yamada J and Shinmura Y. 1999. A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay. *Meat Science* 51: 143-48.

Murdiati, T.B., and S.Bahri, 1991. Pola Penggunaan Antibiotika Dalam Peternakan Ayam Di Jawa Barat, Kemungkinan Hubungan Dengan Masalah Residu. Preceeding Kongres Ilmiah ke-8 ISFI. Jakarta

Mitchell J, Griffiths MW, McEwen SA, McNabWB, Yee AJ. 1998. Antimicrobial

Drug Residues In Milk and Meat: Causes, Concerns, Prevalence,

Supardi, I. dan Sukamto, 1999. Mikroorganisme Penyebab Penyakit Menular. *Dalam Mikrobiologi Dalam Pengolahan Dan Keamanan Pangan*. Edisi Pertama, Yayasan Adikarya IKAPI dengan The Ford Foundation. Hal. 157-173

Schlundt, J., H. Toyofuku, J. Jansen dan S.A. Herbst (2004). Emerging Food-Borne Zoonoses. *Rev.Sci.Tech.Off.Int.Epiz* 23(2): 512-515, 522-527.

Winarno, F.G. (1997). Keamanan Pangan. Naskah Akademis. Institut Pertanian Bogor.

SEROSURVEILANS BRUCELLOSIS DI PROVINSI BALI, NUSA TENGGARA BARAT DAN NUSA TENGGARA TIMUR TAHUN 2023

*(Brucellosis Serosurveillance in The Provinces of Bali, West Nusa
Tenggara and East Nusa Tenggara in 2023)*

Dewi, A.A.S. ; A.A G. Semara Putra, A.A.G.S ; Narcana I.K;

Rohmanto M.; Saputro R.C

Balai Besar Veteriner Denpasar

ABSTRAK

Brucellosis adalah salah satu penyakit reproduksi yang menyerang ternak sapi dan kerbau. Penyakit ini bersifat zoonosis yang hampir selalu ditularkan melalui kontak langsung atau tidak langsung dengan hewan yang terinfeksi atau melalui produk hewan. Brucellosis pada ternak sapi disebabkan oleh bakteri *Brucella abortus* yang mengakibatkan terjadinya keguguran pada umur kebuntingan 6 bulan atau lebih sehingga menimbulkan kerugian ekonomi yang cukup besar. Situasi Brucellosis pada sapi dan kerbau di wilayah kerja Balai Besar Veteriner Denpasar (BB-Vet) bervariasi diantara provinsi yang ada. Provinsi Bali dan NTB sudah dinyatakan bebas Brucellosis. Namun khusus di Provinsi NTT, baru Pulau Sumba dan Pulau Semaui yang dinyatakan bebas Brucellosis. Surveilans yang berkelanjutan dilakukan sebagai langkah deteksi dini dalam upaya tetap dapat menjaga sebagai daerah bebas Brucellosis dan memonitor kemungkinan masuknya/munculnya reaktor baru di wilayah tersebut. Surveilans serologis penyakit Brucellosis tahun 2023 dilaksanakan dengan melakukan pengambilan sampel serum sapi di Provinsi Bali sebanyak 1.515 sampel, Provinsi NTB sebanyak 1.125 sampel dan Provinsi NTT sebanyak 1.248 sampel. Total jumlah sampel serum yang diperiksa tahun 2023 sebanyak 3.888 sampel. Hasil pemeriksaan antibodi Brucellosis menunjukkan semua sampel negatif antibodi Brucellosis, kecuali 3 sampel asal Kabupaten Belu (NTT) menunjukkan hasil positif. Pengendalian Brucellosis di Kabupaten Belu dilakukan dengan vaksinasi. Namun cakupan vaksinasinya belum memadai (<70%). Hasil pemeriksaan ini juga mengindikasikan bahwa Provinsi Bali, NTB dan NTT khususnya Pulau Sumba dan Pulau Semaui yang merupakan wilayah Kabupaten Kupang masih tetap dapat dipertahankan sebagai daerah bebas penyakit Brucellosis

Kata Kunci : Brucellosis, Bali, NTB. NTT.

ABSTRACT

Brucellosis is a reproductive disease that attacks cattle and buffalo. This disease is zoonotic and is almost always transmitted through direct or indirect contact with infected animals or through animal products. Brucellosis in cattle is caused by the bacterium *Brucella abortus* which causes miscarriage at 6 months of pregnancy or more, causing significant economic losses. The condition of Brucellosis in cattle and buffalo in the Denpasar Veterinary Center (BB-Vet) work area varies between provinces. The provinces of Bali and NTB have been declared free of Brucellosis. However, specifically in NTT Province, only Sumba Island and Semaui Island were declared free of Brucellosis. Continuous surveillance is carried out as an early detection step in an effort to maintain the area free of Brucellosis and monitor the possibility of the entry/emergence of new reactors in the area. Serosurveillance of Brucellosis disease in 2023 will be carried out by taking

1,515 samples of bovine serum in Bali Province, 1,125 samples in NTB Province and 1,248 samples in NTT Province. The total number of serum samples examined in 2023 will be 3,888 samples. The results of the Brucellosis antibody examination showed that all samples were negative for Brucellosis antibodies, except for 3 samples from Belu Regency (NTT) which showed positive results. Brucellosis control in Belu Regency is carried out by vaccination. However, vaccination coverage is not adequate (<70%). The results of this examination also show that the provinces of Bali, NTB and NTT especially Sumba Island and Sema Island which are areas of Kupang Regency, can still be maintained as areas free from Brucellosis disease.

Keywords: *Brucellosis, Bali, NTB, NTT*

I. PENDAHULUAN

Brucellosis adalah salah satu penyakit reproduksi yang menyerang ternak sapi dan kerbau. Brucellosis dikenal juga sebagai penyakit Kluron atau Bang. Brucellosis pada manusia menyebabkan demam yang bersifat undulans dan disebut Demam Malta. Kerugian ekonomi yang diakibatkan oleh penyakit Brucellosis sangat besar, walaupun mortalitasnya kecil. Pada ternak kerugian dapat berupa kluron, anak ternak yang dilahirkan lemah, kemudian mati, terjadi gangguan alat-alat reproduksi yang mengakibatkan kemajiran temporer atau permanen. Kerugian pada sapi perah berupa turunnya produksi air susu.

Brucellosis adalah penyakit bakterial yang disebabkan oleh berbagai spesies *Brucella* yang terutama menyerang sapi, babi, kambing dan domba. Penyakit ini bersifat zoonosis yang hampir selalu ditularkan melalui kontak langsung atau tidak langsung dengan hewan yang terinfeksi atau melalui produk hewan. Meskipun telah ada kemajuan besar dalam mengendalikan penyakit di banyak negara, masih ada daerah dimana infeksi tersebut berlanjut pada hewan peliharaan dan akibatnya sering terjadi penularan ke manusia (OIE, 2012). Brucellosis pada ternak sapi dan kerbau disebabkan oleh bakteri *Brucella* abortus yang mengakibatkan terjadinya keguguran pada umur kebuntingan 6 bulan atau lebih sehingga menimbulkan kerugian ekonomi yang cukup besar. Hewan yang lahir dari induk

penderita akan menjadi karier laten. Hewan karier laten (sapi dara) ini sangat sulit dideteksi secara serologis

Brucellosis secara konsisten masuk ke dalam peringkat atas di antara zoonosis yang paling penting secara ekonomi di seluruh dunia dengan dampak ekonomi yang berlipat pada manusia, ternak dan penyakit satwa liar (Perry dan Grace, 2009; Mc Dermott et al., 2013). Di Indonesia brucellosis merupakan salah satu dari 22 penyakit hewan menular strategis dan merupakan penyakit yang sulit diobati. Program pengendalian menuju pemberantasan brucellosis di Indonesia menurut Putra (2013) sebenarnya sudah dimulai sejak 1996/1997 melalui program vaksinasi dan potong bersyarat (test and slaughter). Meskipun berjalan lambat akan tetapi sampai saat ini sudah 14 provinsi yang memiliki tingkat prevalensi sangat rendah dan sudah dinyatakan bebas brucellosis (Naipospos et al, 2014). Provinsi Bali telah dinyatakan sebagai daerah bebas brucellosis oleh

Menteri Pertanian Republik Indonesia dengan SK Mentan No. 443/Kpts/TN.540/7/2002.

Provinsi NTB yaitu Pulau Lombok dan Sumbawa juga dinyatakan sebagai daerah bebas brucellosis. Pernyataan bebas Brucellosis untuk Pulau Lombok yaitu berdasarkan SK Mentan No. 444/Kpts/TN.540/7/2002 dan SK Mentan No. 97/Kpts/PO.660/2/2006 untuk Pulau Sumbawa. Sedangkan Provinsi NTT, baru Pulau Sumba yang dinyatakan bebas brucellosis berdasarkan SK Mentan No.52/Kpts/PD.630/1/2015.

Program pemberantasan penyakit Pulau per pulau terus berlanjut dan Pulau Semau yang merupakan wilayah Kabupaten Kupang dicanangkan bebas Brucellosis dimana program pembebasan Brucellosis telah dimulai dari tahun 2020. Setelah melalui kajian oleh tim ahli akhirnya Pulau Semau dinyatakan bebas Brucellosis berdasarkan Kepmentan No. 120/KPTS/PK.300/M/03/2023 tanggal 10 maret 2023.

Tindakan yang dilakukan sebagai langkah deteksi dini dalam upaya tetap menjaga daerah yang bebas brucellosis dan memonitor kemungkinan

masuknya/munculnya reaktor baru di daerah tersebut yaitu dengan melakukan surveilans yang berkelanjutan. Untuk itu Balai Besar Veteriner Denpasar tahun 2023 melakukan surveilans serologis Brucellosis di wilayah kerja yaitu Provinsi Bali, NTB dan NTT dengan melakukan pengambilan sampel serum sapi.

II. MATERI DAN METODE

2.1 Materi

Sampel yang diperiksa adalah serum sapi dengan total sampel sebanyak 3.888 sampel yang berasal dari : Provinsi Bali (1.515 sampel), NTB (1.125 sampel) dan NTT (1.248 sampel). Reagen yang dipergunakan antara lain antigen Brucella abortus RBT dan CFT, hemolisin, komplemen, cell darah domba dan CFT buffer. Sedangkan peralatan yang dipergunakan antara lain WHO

plat, mikropelat, mikropipet, rotary agglutinator dan inkubator.

2.2 Metode

2.2.1 Lokasi sampling

Pengambilan sampel dilakukan di beberapa kelompok ternak sapi di wilayah Provinsi Bal, NTB dan NTT. Di Provinsi Bali pengambilan sampel dilakukan di 9 (sembilan) Kabupaten/Kota yaitu Badung, Gianyar, Klungkung, Bangli, Karangasem, Buleleng, Jembrana, Tabanan dan Denpasar.

Di Provinsi NTB dilakukan di 10 (sepuluh) Kabupaten/Kota yaitu : Lombok Barat, Lombok Tengah, Lombok Utara, Lombok Timur, Kota Mataram, Sumbawa, Sumbawa Barat, Bima, Dompu dan Kota Bima.

Sementara itu, pengambilan sampel di Provinsi NTT dilakukan di 13 (tiga belas) Kabupaten/Kota yaitu Sumba Timur, Sumba Tengah, Sumba Barat Daya, Flores Timur, Sikka, Manggarai, Manggarai Barat, Ngada, Rotendao, Kupang, Timor Tengah

Selatan (TTS), Timor Tengah Utara (TTU) dan Belu.

2.2.2 Metode Uji

Sampel serum sapi diuji dengan menggunakan metode uji Rose Bengal Test (RBT), apabila positif dilanjutkan dengan uji Complemen Fixation Test (CFT) (OIE, 2012).

Prosedur uji RBT Brucellosis sebagai berikut :

- a. Sampel serum dikeluarkan dari freezer dan antigen brucella RBT dikeluarkan dari kulkas dan biarkan beberapa menit pada suhu kamar.
- b. Serum yang akan diuji diambil dengan 25 ul dan ditetaskan pada WHO plat (80 lubang), pada lubang nomor 1 sampai nomor 78 untuk serum yang diuji. Kontrol serum negatif ditetaskan pada lubang nomor 79 dan serum kontrol positif ditetaskan pada lubang nomor 80, setelah itu ditetaskan antigen brucella RBT (25 µl) sama banyak pada semua lubang.
- c. Kocok selama 4 menit sampai homogen menggunakan

rotary agglutinator dan dilakukan pembacaan hasil

Interpretasi hasil :

Hasil uji RBT	Interpretasi
Aglutinasi < 4 menit	Antibodi (+)
Tidak aglutinasi > 4 menit	Antibodi (-)

Prosedur Uji CFT sebagai berikut :

- a. Sampel serum diinaktifkan selama 30 menit pada suhu 56°C untuk menghindari terjadinya antikomplemen. Masukkan 50 µl sampel serum pada lubang plat mikrotiter mulai deret lubang A1-A10, lubang A11 sebagai kontrol serum positif dan lubang A12 kontrol negatif.
- b. Tambahkan 25 µl CFT buffer pada semua lubang plat, kecuali lubang A1-A12. Lakukan pengenceran secara seri dengan mengambil 25 µl dari lubang A dipindahkan ke lubang B dan kocok

beberapa kali dan seterusnya ke lubang C sampai lubang H dan terakhir 25 µl dibuang.

- c. Tambahkan 25 µl antigen (1:100) pada deret lubang C-H, setelah itu ditambahkan 25 µl komplemen pada semua lubang plat. Tambahkan 25 µl pelarut CFT buffer pada lubang A dan B.
- d. Plat ditutup dengan sellotape, selanjutnya inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit.
- e. Tutup dibuka, kemudian ditambahkan 25 sel yang disensitisasi pada semua lubang, kocok pada mikrosaker selama 45 menit, dan reaksi dibaca.
- f. Interpretasi hasil :

Hasil uji CFT	Interpretasi
Warna merah	Antibodi (-)

muda homogeny	
Terbentuk endapan merah dengan cairan sekitarnya berwarna jernih	Antibodi (+)

Pembacaan positif dimulai dari pengenceran tertinggi yang menunjukkan reaksi positif yaitu titer 1:8.

II. HASIL

Hasil pemeriksaan antibodi Brucellosis dengan metode Rose Bengal Test (RBT) terhadap total 3.888 sampel serum sapi asal Provinsi Bal (1.515 sampel), NTB (1.125 sampel) dan NTT (1.248 sampel) disajikan dalam tabel 1. Hasil pemeriksaan menunjukkan sebanyak 3 sampel (0,24 %) asal NTT positif antibodi Brucellosis, sedangkan sampel Bali dan NTB negatif antibodi Brucellosis.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan antibodi Brucellosis sampel serum sapi asal Provinsi Bali, NTB dan NTT tahun 2023

Provinsi	Jumlah Sampel	Antibodi Brucellosis		
		Negatif	Positif	Prosentase positif
Bali	1.515	1.515	0	0,0%
NTB	1.125	1.125	0	0,0%
NTT	1.248	1.245	3	0,24%

Hasil pemeriksaan secara rinci dari masing-masing Provinsi (Bali, NTB dan NTT) disajikan dalam

tabel 2, 3 dan 4. Dalam tabel 2 disajikan hasil uji terhadap 270 sampel serum asal Provinsi Bali.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan antibodi Brucellosis sampel serum sapi asal Provinsi Bali Tahun 2023

Provinsi	Kabupaten/Kota	Jumlah Sampel	Antibodi Brucellosis		
			Negatif	Positif	Prosentase positif
Bali	Badung	205	205	0	0,0%
	Gianyar	145	145	0	0,0%
	Bangli	150	150	0	0,0%
	Klungkung	210	210	0	0,0%
	Karangasem	85	85	0	0,0%
	Buleleng	210	210	0	0,0%
	Tabanan	180	180	0	0,0%
	Jembrana	120	120	0	0,0%
	Denpasar	210	210	0	0,0%
Jumlah		1.515	1.515	0	0,0%

Dalam tabel 3 di bawah ini antibodi Brucellosis terhadap disajikan hasil pemeriksaan 1.125 sampel serum asal NTB.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan antibodi Brucellosis sampel serum sapi asal Provinsi NTB Tahun 2023

Provinsi	Kabupaten/Kota	Jumlah Sampel	Antibodi Brucellosis		
			Negatif	Positif	Prosentase Positif
NTB	Lombok Barat	80	80	0	0,0%
	Lombok Tengah	80	80	0	0,0%
	Lombok Timur	160	160	0	0,0%
	Lombok Utara	80	80	0	0,0%
	Kota Mataram	80	80	0	0,0%
	Sumbawa	163	163	0	0,0%
	Sumbawa Barat	80	80	0	0,0%
	Bima	80	80	0	0,0%
	Kota Bima	160	160	0	0,0%
	Dompu	162	162	0	0,0%
Jumlah		1.125	1.125	0	0,0%

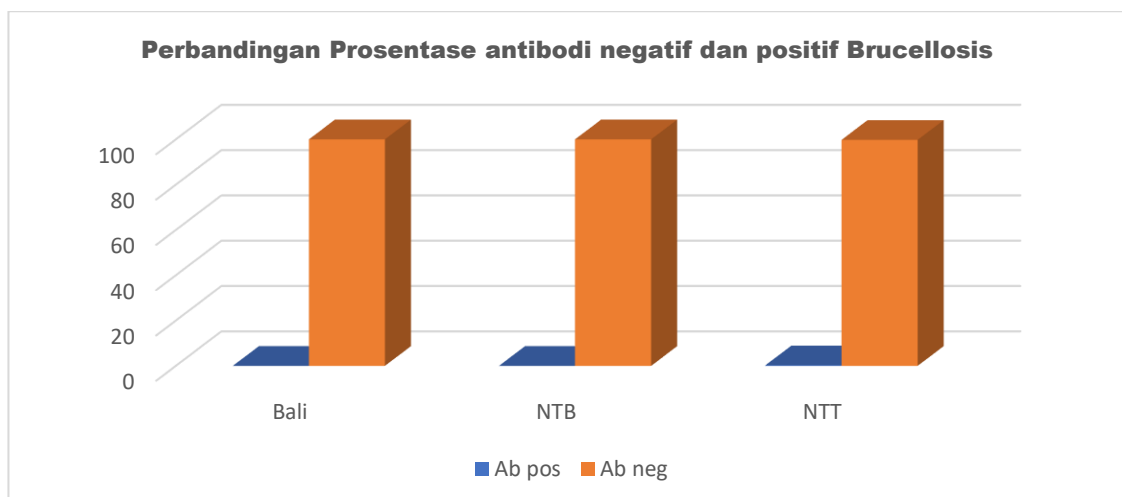
Sementara itu, hasil uji terhadap bawah ini. Sebanyak 3 sampel 1.248 sampel serum asal Provinsi (0,24%) positif antibodi NTT disajikan dalam tabel 4 di Brucellosis.

Tabel 4. Hasil pemeriksaan antibodi Brucellosis sampel serum sapi asal Provinsi NTT Tahun 2023

Provinsi	Kabupaten/Kota	Jumlah Sampel	Antibodi Brucellosis		
			Negatif	Positif	Prosentase Positif
	Sumba Timur	80	80	0	0,0%

NTT	Sumba Tengah	80	80	0	0,0%
	Sumba Barat Daya	80	80	0	0,0%
	Flores Timur	80	80	0	0,0%
	Sikka	80	80	0	0,0%
	Manggarai	80	80	0	0,0%
	Manggarai Barat	88	88	0	0,0%
	Ngada	80	80	0	0,0%
	Rotendao	80	80	0	0,0%
	Kupang	280	280	0	0,0%
	TTS	80	80	0	0,0%
	TTU	80	80	0	0,0%
	Belu	80	77	3	3,75%
Jumlah		1.248	1.245	3	0,24%

Dalam gambar 1 di bawah ini disajikan secara ringkas gambaran perbandingan prosentase antibodi negatif dan positif Brucellosis.



Gambar 1. Prosentase antibodi positif dan negatif Brucellosis sampel serum asal Provinsi Bali, NTB dan NTT tahun 2023

IV. PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan antibodi Brucellosis sebanyak 1.515 sampel serum sapi asal Provinsi Bali tahun 2023 menunjukkan semua sampel negatif antibodi Brucellosis. Demikian juga untuk Provinsi Nusa Tenggara Barat (NTB), sebanyak 1.125 sampel menunjukkan semua sampel negatif antibodi Brucellosis. Hasil pemeriksaan ini mengindikasikan bahwa Provinsi Bali dan NTB sampai saat ini tetap bisa mempertahankan wilayahnya sebagai daerah bebas brucellosis.

Pulau Bali sudah dinyatakan sebagai daerah bebas Brucellosis berdasarkan Surat Keputusan Menteri Pertanian Nomor 443/Kpts/TN.540/7/2022.

Demikian juga halnya dengan Provinsi NTB yaitu Pulau Lombok dan Pulau Sumbawa. Pulau Lombok berhasil dibebaskan dari Brucellosis sejak tahun 2002 (Surat Keputusan Menteri Pertanian Nomor 444/Kpts/TN.540/7/2002) melalui surveilans secara massal selama tiga tahun. Kemudian disusul dengan dibebaskannya Pulau

Sumbawa pada tahun 2006 (Surat Keputusan Menteri Pertanian Nomor : 97/Kpts/PO.660/2/2006), dengan pola pembebasan yang sama dengan Pulau Lombok (Putra,dkk., 2006). Semua reaktor yang ditemukan dalam periode waktu pembebasan telah dimusnahkan atau di potong paksa.

Hasil pemeriksaan sampel serum sebanyak 1.248 asal Provinsi NTT menunjukkan sebanyak 3 sampel asal Kabupaten Belu positif antibodi Brucellosis. Sampel serum asal Pulau Sumba semuanya negatif antibodi Brucellosis. Hasil pemeriksaan ini sesuai dengan status Pulau Sumba yang merupakan daerah bebas penyakit Brucellosis. Pulau Sumba dinyatakan bebas Brucellosis berdasarkan keputusan Menteri Pertanian Nomor 52/Kpts/PD.630/1/2015 tanggal 19 Januari 2015. Wilayah-wilayah yang termasuk daratan Pulau Timor merupakan daerah yang belum bebas Brucellosis. Pengendalian Brucellosis di wilayah ini khususnya Kabupaten Malaka, TTU dan Belu dilakukan

dengan program vaksinasi. Namun cakupan vaksinasinya belum memadai karena berbagai faktor diantaranya ketersediaan vaksin yang terbatas.

Namun program pemberantasan Brucellosis telah dilaksanakan di Pulau Semaui yang merupakan salah satu wilayah Kabupaten Kupang. Pulau Semaui adalah sebuah pulau kecil yang terletak dibagian barat Pulau Timor. Program pemberantasan Brucellosis telah dicanangkan sejak tahun 2020 dan berakhir tahun 2022. Pulau Semaui memiliki potensi yang cukup besar terhadap kemungkinan bebas Brucellosis dengan mengkaji beberapa hal antara lain : a. Prevalensi reaktor Brucellosis tidak ada sehingga besar kemungkinan secara historis bebas Brucellosis ; b. Secara geografis hampir seluruh wilayah mudah dijangkau (transportasilancar) sehingga memudahkan operasional pemberantasan di lapangan. c. Tidak ada pemasukan ternak sapi dari daerah luar ke Pulau Semaui sehingga bisa dijaga P.Semaui

bebas Brucellosis ; d. Jumlah ternak sapi di P.Semaui relatif sedikit yaitu sekitar 15.526 ekor ; f. Adanya dukungan dari masyarakat, pemerintah daerah (Kabupaten Kupang dan Provinsi NTT).

Setelah dilakukan analisis terhadap semua sampel serum sapi asal Pulau Semaui yang menunjukkan semua sampel negatif antibodi Brucellosis maka tim dari komisi ahli Direktorat Jenderal peternakan dan Kesehatan Hewan melakukan kajian untuk merekomendasikan pengusulan Pulau Semaui mendapatkan predikat bebas Brucellosis. Dan akhirnya Pulau Semaui dinyatakan bebas penyakit Brucellosis berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian No. 120/KPTS/PK.300/M?03/2023 tanggal 10 Maret 2023.

Di wilayah kerja BB-Vet Denpasar, pulau yang sudah bebas penyakit Brucellosis diantaranya Pulau Bali, Pulau Lombok, Pulau Sumbawa, Pulau Sumba dan Pulau Semaui. Pola pemberantasan penyakit dengan sistem pemberantasan pulau per

pulau sangat efektif di lakukan di Indonesia. Hal ini bisa menjadi salah satu dasar untuk mempertimbangkan melaksanakan program pemberantasan penyakit khususnya penyakit Brucellosis di wilayah kerja BB-Vet Denpasar.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pemeriksaan sampel serum diatas dapat disimpulkan bahwa Wilayah yang dinyatakan bebas Brucellosis seperti Pulau Bali, Pulau Lombok (NTB), Pulau Sumbawa (NTB) Pulau Sumba (NTT) dan Pulau Semau (NTT) sampai saat ini masih terbukti merupakan daerah bebas penyakit Brucellosis.

5.2. Saran

Untuk mendapatkan data yang akurat terhadap status penyakit Brucellosis di suatu daerah maka perlu dilaksanakan surveilans yang berkelanjutan dengan melakukan pengambilan sampel yang representatif sesuai kaidah-kaidah epidemiologi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih yang sebesar-besarnya kami sampaikan kepada Dinas Peternakan atau Dinas yang membidangi fungsi peternakan dan kesehatan hewan di Provinsi Bali, NTB dan NTT yang telah membantu terselenggaranya surveilans ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Mc Dermott J, Grace D, Zinsstag J. 2013. Economics of brucellosis impact and control in low-income countries. *Rev sci tech Off int Epiz* 32(1): 249-261.
- Naipospos TP, Widiastuti MDW, Mardiatmi, Yupiana Y, Suseno PP, Ernawati, Hapold J, Weaver J, Allen J, Valeska, Daryono J. 2014. Roadmap Pemberantasan Brucellosis nasional di Indonesia. Jakarta. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementrian Pertanian Republik Indonesia.
- Office International des Epizooties (OIE). 2012. Bovine Brucellosis. Manual of Diagnosis Test and Vaccination for Terrestrial animals. Chapter 2.4.3.
- Perry B, Grace D. 2009. The impacts of livestock diseases and their control on growth and development processes that are pro-poor. *Phil Trans Roy Soc B: Biol Sci* 364: 2643-2655
- Putra AAG. 2013. Situasi Penyakit Hewan Menular Strategis pada Ruminansia Besar: Surveilans dan Monitoring. Lokakarya Nasional Ketersediaan IPTEK dalam Pengendalian Penyakit Stategis pada

Ternak Ruminansia Besar. <http://peternakan.litbang.pertanian.go.id/fullteks/lokakarya/lpeny06-4.pdf?secure=1>

OPTIMASI PRIMER DAN KONTROL SINTETIK UNTUK DETEKSI *STREPTOCOCUCCUS SUIIS* SEROTIPE 2 DENGAN METODE POLYMERASE CHAIN REACTION

(Optimization of Primers and Controls Synthetic for Detection of
Streptococcus suis Serotype 2 Using the Polymerase Chain Reaction
Method)

Dilasdita Kartika Pradana

Balai Besar Veteriner Denpasar

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk optimasi dan menguji sensitivitas dan spesifisitas primer gen *Capsular Polysaccharide tipe 2* (CPS2) dan kontrol sintetik pada *Streptococcus suis* serotipe 2. Dalam penelitian ini menggunakan data set primer gen CPS2 yang didesain dengan *software* Primer3. Penelitian ini menggunakan ukuran amplicon hasil amplifikasi CPS2 yaitu 356 bp. Penelitian ini sudah dilakukan optimasi kondisi PCR dan sensitivitas primer. Suhu annealing PCR yang digunakan adalah 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57° dengan menggunakan kontrol sintetik. Selanjutnya dilakukan uji sesitifitas dan spesifisitas dengan menggunakan isolate bakteri *Streptococcus suis* serotipe 2, *Streptococcus zooepidemicus*, *Pasturella multosida* tipe B2 dan *Stapylococcus*. Produk PCR kemudian di elektroforesis dan hasilnya dianalisis pada UV transilluminator. Hasil yang didapat dari penelitian ini yaitu suhu annealing yang optimal pada suhu 56°C dan mampu mendeteksi DNA CPS2 *S.suis*. Primer CPS2 yang didesain dalam penelitian ini memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang baik untuk mendeteksi *S.suis*. Diharapkan penelitian ini mampu memberikan referensi primer untuk deteksi *S.suis* berbasis PCR, sehingga mampu memberikan hasil optimal untuk deteksi *S.suis*.

Kata kunci: *S.suis*, gen CPS2, optimasi primer PCR

ABSTRACT

The aims of this study to optimize and test the sensitivity and specificity of Capsular Polysaccharide type 2 (CPS2) gene primers and synthetic controls on *Streptococcus suis* serotype 2. This study uses a data set of CPS2 gene primers designed with Primer3 software. This study used the amplicon size resulting from CPS2 amplification, namely 356 bp. This study has carried out optimization of PCR conditions and primer sensitivity. The PCR annealing temperatures used were 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57° using synthetic controls. Next, sensitivity and specificity tests were carried out using bacterial isolates of *Streptococcus suis* serotype 2, *Streptococcus zooepidemicus*, *Pasturella multosida* type B2 and *Stapylococcus*. The PCR product is then electrophoresed and the results analyzed on a UV transilluminator. The results obtained from this research were that the optimal annealing temperature was 56°C and was able to detect *S.suis* CPS2 DNA. The CPS2 primer designed in the study has good sensitivity and specificity in the detection of *S.suis*. It is hoped that this research will be able to provide a primer reference for PCR-based detection of *S.suis*, so that it can provide optimal results for *S.suis* detection.

Key words: *S.suis*, CPS2 gene, PCR primer optimization

I. PENDAHULUAN

Streptococcus suis merupakan bakteri Gram positif, berbentuk kokus, dengan koloni kecil, *colourless*, bersifat patogen, menyebabkan penyakit pada babi dengan gejala meningitis, bronkopneumonia, artritis, dan kematian terutama pada babi muda (Wisselink *et al.*, 2000; Gottschalk and Segura, 2000). Bakteri *S. suis* dapat ditemukan pada saluran pernafasan bagian atas, terutama pada tonsil dan rongga hidung, organ genitalia dan saluran pencernaan. Bakteri *S. suis* terdiri dari 35 serotipe (Higgins and Gottschalk, 2006), *S.suis* serotipe 2 yang paling virulen dan bersifat zoonosis (Higgins and Gottschalk, 1990; Wertheim *et al.*, 2009).

Pada tahun 2017, di Provinsi Bali ditemukan kasus meningitis pada manusia dengan jumlah 7 kasus. Setelah sampel darah pasien diambil dan diperiksa, didapatkan 2 sampel darah positif terinfeksi MSS (*Meningitis Streptococcus suis*). Pasien tersebut terinfeksi karena makan olahan daging babi mentah seperti komoh dan lawar

merah (Radar Bali, 2017). *S.suis* serotipe 2, merupakan agen penyebab penyakit zoonosis yang menginfeksi babi dan manusia (Fittipaldi *et al.*, 2012). Biasanya orang yang terinfeksi bakteri ini adalah orang yang kontak langsung dengan babi, seperti peternak babi, orang yang berkerja di pemotongan daging babi, pengawas daging dan pengonsumsi daging babi yang tidak matang (Zalas-Więcek *et al.*, 2013). Melihat kasus MSS endemis di Provinsi Bali, dan mengingat budaya untuk mengonsumsi daging babi tidak matang sangat tinggi sehingga diperlukan dalam pengembangan metode untuk diagnosa *S. suis* serotipe 2 secara molekuler sehingga pencegahan dan pengendalian dapat dilaksanakan dengan cepat dan tepat. Primer memegang peran penting dalam menjalankan proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Primer perlu dilakukan pengujian secara *in vitro*, sehingga dapat diketahui apakah primer spesifik dan sensitif terhadap bakteri *S.suis* serotipe 2. Penelitian ini bertujuan

untuk mengoptimasi dan menguji sensitifitas dan spesifisitas primer gen *Capsular Polysaccharide* tipe 2 (CPS2) pada *S.suis* serotipe 2 melalui teknik PCR. Juga bertujuan untuk mengetahui primer dan kontrol sintetik gen *Capsular Polysaccharide* (CPS2) dapat secara spesifik dan sensitif untuk mendiagnosa *S.suis* serotipe 2.

II. MATERI DAN METODE

2.1 Materi

Sampel Penelitian

Pengembangan metode ini menggunakan sampel sebanyak 4 isolat (*S. suis* serotipe 2, *S. zooepidemicus*, *Staphylococcus Sp*, *Pasturella multosida* Tipe B2) dan 1 kontrol positif sintetik

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, , Kit ekstraksi DNA dari Qiagen, GoTaq® Green Master Mix dari Promega (MgCl₂, 10 X *buffer reaction Taq DNA polymerase*, PCR *nucleotida mix*, *Taq DNA polymerase*), agarose dari Invitrogen, 1 x TBE (Tris-Borat EDTA), *Sybr Safe*, *Nuclease Free Water* (NFW), *blue loading dye*, kertas tisu, Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat *agarose gel 2%* diantaranya larutan 1 x TAE (Tris-Asetat-EDTA) 100 ml, agarose 2 gram, *marker 1 kb* (Invitrogen) dan Primer (Tabel 1).

Tabel 1. Primer yang dirancang untuk amplifikasi *S. suis* serotipe 2 dengan target gen *Capsular Polysaccharide* Tipe 2 (CPS2)

No	Nama Primer	Sekuen	Jumlah Nukleotida
1	CPS2F	GTGCGAGACTTAGGAAATGA	20 bp
2	CPS2R	ATATGCCACTGTAGCGTCTC	20 bp

Tabel 2. Kontrol Sintetik *S. suis* serotipe 2 dengan target gen *Capsular Polysaccharide* Tipe 2(CPS2)

No	Na ma Pri mer	Sekuen	Jumlah Nukleotida
1		<p>1 GATAAAAGAG GTGCGAGACT TAGGAAATGA AAATTTTCCA AATCATTAT</p> <p>A</p> <p>51 TGAGCGGTAT CTTTAATAGC CCTTGTTGCA AACTTTATAA GAATATATAT</p> <p>101 ATAAACAAAG GTTTTGACAC TGAACAGTGG TTAGGAGAGG ACTTATTA</p> <p>TT</p> <p>151 TAATCTAAAT TATTTAAAGA ATATAAAAAA AGTCAGCTAT GTAAACAGAA</p> <p>201 ATCTTTATTT TGCTAGAAGA GGTATACAAA GTACTACAAA TACGTTTAA</p> <p>A</p> <p>251 AAAGATGTTT TTATTCAATT AGAAAATTTA GAAGAAAAAA CTTTGTATT</p> <p>301 GTTTGTAAA ATATTTGGTG GACAATATGA ATTTCTGTT TTAAAGAGA</p> <p>351 CGCTACAGTG GCATATTATT TATTATAGCT TATTAATGTT CAAAAATGG</p> <p>A</p> <p>401 GATGAATCGC TTCCAAAGA</p>	419 bp

Alat

Alat yang digunakan meliputi sentrifus (Hettich), mikropipet ukuran 20 µl, 200 µl, 1000 µl, *tips* 20µl, 200 µl dan 1000 µl, tabung mikro 1.5 ml (Axygen), tabung PCR 0,1 ml, satu set alat elektroforesis horisontal dan *power supply* (Bio Rad), *microwave*, inkubator, *Applied Biosystem Veriti Thermal Cycler*, Gel Doc , gelas ukur, erlenmeyer,

tabung *venoject*, *vortex mixer* (Gemmy Industrial Corp), sarung tangan, penangas air (Haake), lemari pendingin suhu 4°C, *freezer* suhu -20°C, timbangan elektrik (Denver Instrument), satu set *tray* pencetak *gel*, *power supply* 100 volt, pipet mikro, tip, *beaker glass*, *microwave*, *stirrer*, dan UV *transilluminator*.

Metode

Prosedur Ekstraksi DNA dari Isolat Bakteri

Suspensi bakteri 10% disentrifus dengan kecepatan 6000 g / 8000 rpm selama 1 menit. Suspensi yang diperoleh selanjutnya diisolasi DNAny dengan mempergunakan QIAmp DNA Blood Kit (Qiagen) dengan cara sebagai berikut: 20 µl Proteinase K dimasukkan ke dalam tabung microfuge 1.5 ml selanjutnya sebanyak 200 µl sampel supernatan bakteri ditambahkan ke tabung microfuge. Selanjutnya 180 µl ATL ditambahkan dalam sampel dan dicampur dengan menggunakan vortex selama 15 detik. Sampel selanjutnya diinkubasi pada suhu 56° C selama 2 jam. Selanjutnya disentrifus sekitar 15 detik, lalu ditambahkan 200 µl Buffer AL ke dalam sampel. Kemudian ditambahkan etanol sebanyak 200 µl dan dikocok lagi dengan menggunakan vortex selama 15 detik. Microfuge disentrifuge kembali sekitar 2 detik. Dengan hati-hati campuran dimasukkan ke dalam QIAmp spin column (2ml

collection tube) tanpa membasahi dinding tube, tutup dan sentrifus dengan kecepatan 6000 g / 8000 rpm selama 1 menit. Tempatkan QIAamp spin column dalam 2 ml collection tube dan buang tube yang berisi filtrat. Tabung QIAamp spin column dibuka dan ditambahkan 500 µl buffer AW1 tanpa membasahi dinding tube. Tutup tabung dan centrifuge 6000 g / 8000 rpm selama 1 menit. Tempatkan QIAamp spin column dalam 2 ml collection tube dan tube yang berisi filtrate dibuang. Hati-hati buka tabung QIAamp spin column dan tambahkan buffer AW2 tanpa membasahi dinding. Tutup tabung dan centrifuge dengan kecepatan penuh 20.000 g / 14.000 rpm selama 3 menit. Tempatkan QIAamp spin column pada 1.5 ml tabung microcentrifuge yang bersih dan buang tabung yang mengandung filtrate. Pada tahap elution, tutup tube dibuka secara hati-hati dan ditambahkan 200 ul buffer AE atau aquadest. Inkubasi pada suhu kamar selama 1-5 menit dan kemudian disentrifuge dengan kecepatan 6000 g / 8000

rpm selama 1 menit, buang QIAmp spin column dan simpan supernatan yang mengandung DNA pada suhu -20°C .

Prosedur Perancangan Primer dan Kontrol Sintetik *S. suis* serotipe 2 Gen CPS2

Perancangan primer diawali dengan mengumpulkan informasi mengenai sekuen gen CPS2 dari beberapa isolat bakteri *S. suis* serotipe 2 yang telah dipublikasi pada database *GenBank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Primer dirancang sebanyak 1 pasang dengan menggunakan software Primer 3.

Penentuan Suhu *Annealing*

Melting temperature dihitung dengan rumus $T_m = \{(G+C) \times 4\} + \{(A+T) \times 2\}$. Suhu *annealing* primer CPS2 dihitung dengan 5°C dibawah T_m . Rincian lengkap *Melting Temperature* dan *Annealing* dapat dilihat pada Tabel 2. Optimasi suhu *annealing* (T_a) dilakukan dengan PCR menggunakan satu pasang primer CPS2 yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 3. Rincian *Melting Temperature* dan *Annealing Temperature* primer CPS2.

Primer	T_m	Optimasi T_a
CPS2	58°C	53°C
		54°C
		55°C
		56°C
		57°C
		58°C

Keterangan: T_m : *Melting Temperature*
 T_a : *Annealing Temperature*

Prosedur Uji PCR

Reaksi PCR digunakan $12,5\ \mu\text{L}$ Master Mix, $1\ \mu\text{L}$ primer CPS2r, $1\ \mu\text{L}$ primer CPS2f, $8,5\ \mu\text{L}$ *Nuclease Free Water* dan DNA template sebanyak $2\ \mu\text{L}$. Bahan-bahan tersebut kemudian dicampur ke dalam tabung eppendorf volume

$100\ \mu\text{L}$. Campuran tersebut diamplifikasi dengan thermocycler sebanyak 35 siklus dengan program suhu sebagai berikut: Step 1 (denaturasi) 95°C selama 5 menit, Step 2 (denaturasi) 95°C selama 10 detik dan (*annealing*) 53°C , 54°C , 55°C , 56°C , 57°C

selama 1 menit, Step 3 pemanjangan (ekstensi) 72°C selama 30 detik. Pada akhir siklus, ada program tambahan 72°C selama 7 menit untuk melengkapi pemanjangan DNA yang belum selesai, dan satu siklus untuk suhu penyimpanan 4 °C dengan waktu tak terbatas.

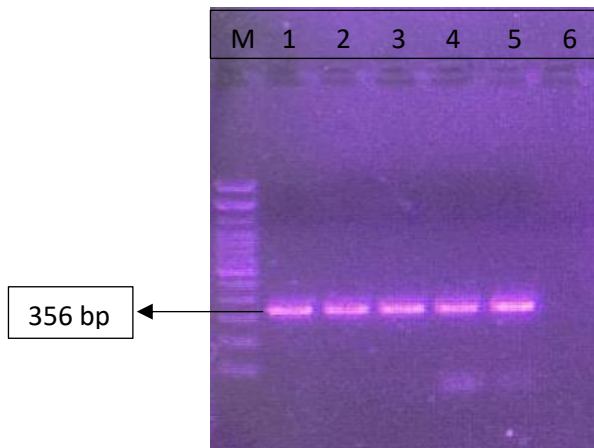
Analisa dan dokumentasi hasil PCR

Hasil PCR kemudian dielektroforesis dengan 2% gel agarose dengan pewarnaan Sybr Safe. Elektrophoresis dilakukan dengan voltase 100 volt selama 45 menit. Hasil PCR dalam gel kemudian divisualisasi dengan sinar UV pada alat UV transluminator dan dianalisa

dengan program *Gel Doc* untuk melihat adanya pita/band DNA dengan ukuran 356 bp

I. HASIL

Hasil elektroforesis optimasi primer CPS2 menggunakan sampel kontrol positif sintetis, menunjukkan adanya pita/band yang berhasil diamplifikasi pada suhu *annealing* 53 °C, 54 °C, 55 °C, 56 °C, 57 °C dengan ketebalan pita/band yang sama. Kontrol negatif tidak terbentuk pita/band menandakan sampel tersebut tidak terkontaminasi kontrol positif sintetis. Pita DNA hasil optimasi suhu *annealing* untuk primer CPS2 dapat dilihat pada gambar 1.

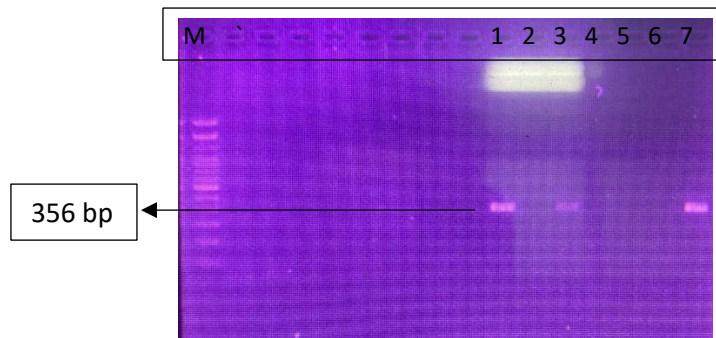


Gambar 1 Hasil Elektroforesis Optimasi *Anealing* PCR Kontrol Positif Sintetik *S.suis* serotipe 2

Keterangan :
 M= Marker;
 1= Anealing 53 °C
 2= Anealing 54 °C
 3= Anealing 55 °C
 4= Anealing 56 °C
 5= Anealing 57 °C
 6= Kontrol Negatif

Berdasarkan hasil kondisi optimasi tersebut maka dilakukan optimasi kembali pada suhu *annealing* yang sama dengan dengan menggunakan isolat *Streptococcus suis* serotipe 2, *Streptococcus zooepidemicus* dan *Stapylococcus* Sp. Hal ini digunakan untuk melihat sensitifitas dan spesifisitas primer CPS2. Dari lima gradien suhu optimasi menghasilkan pita, dilakukan pemilihan suhu

annealing optimum yang berdekatan dengan T_m primer. Berdasarkan primer3, T_m primer disebutkan pada suhu 56 °C dan 57 °C. Selain alasan tersebut pada suhu *annealing* 56 dan 57°C tidak menunjukkan adanya mispriming dan berdasarkan penelitian, T_m primer berkisar antara 50-65 °C (AbdElsalam, 2003; Borah, 2011; Handoyo dan Ari, 2000).



Gambar 2 Hasil Elektroforesis Optimasi PCR *Streptococcus Suis* serotipe 2 dengan suhu *Annealing* 56 °C

Keterangan :
 M= Marker
 1= Sintetik *Streptococcus Suis* Serotipe 2
 2= *Stapylococcus* Sp
 3= *Streptococcus Suis* Serotipe 2
 4= *Streptococcus Zooepidemicus*
 5= *Pasturella Multosida* Tipe B2
 6= Kontrol Negatif
 7= Kontrol Positif Sintetik

IV. PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil kondisi optimasi deteksi gen CPS2 *S.suis* serotipe 2 dengan teknik PCR dan elektroforesis gel agarosa 2% pada gradien suhu *annealing* (53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 56°C, dan 57°C), waktu *annealing* 30 menit, waktu ekstensi 1 menit, serta volume DNA sampel 2 µL pada formula PCR yang ditunjukkan oleh Gambar 1 menghasilkan pita yang sangat tebal pada kelima gradient suhu. Berdasarkan hal tersebut, dapat dikatakan bahwa suhu 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C masih dapat digunakan untuk deteksi gen CPS2 *S. suis* serotipe 2. Penentuan kondisi optimal dari

suhu *annealing* sangat penting, karena berkaitan dengan spesifitas dan sensifitas produk PCR. Dari lima gradien suhu optimasi yang menghasilkan pita, dilakukan pemilihan suhu *annealing* optimum yang berdekatan dengan T_m primer. Berdasarkan program Primer3, T_m primer disebutkan pada suhu 55 °C dan 56°C. Selain alasan tersebut, pada suhu *annealing* 56°C tidak menunjukkan adanya mispriming dan berdasarkan penelitian, T_m primer berkisar antara 50-65 °C (AbdElsalam, 2003; Borah, 2011; Handoyo dan Ari, 2000). Untuk meningkatkan produk amplifikasi, dilakukan pula penambahan waktu *annealing*

dan ekstensi dalam proses PCR. Pemilihan waktu yang optimum tergantung pada templat DNA yang digunakan. Penentuan waktu untuk proses annealing berkaitan dengan panjang primer sedangkan pemilihan waktu ekstensi primer tergantung pada panjang fragmen DNA yang akan diamplifikasi (Handoyo dan Ari, 2000). Namun, perlu ditekankan kembali bahwasanya penetapan suhu *annealing* yang tepat sangat mempengaruhi hasil PCR. Suhu annealing yang terlalu tinggi dapat menyebabkan amplifikasi tidak berhasil. Suhu annealing yang terlalu rendah juga akan menghasilkan produk dari amplifikasi yang tidak spesifik dikarenakan primer menempel pada sisi lain genom sehingga produk yang dihasilkan memiliki spesifitas yang rendah (Siswanto *et al.*, 2019). Keadaan ini didukung dengan hasil amplifikasi yang menunjukkan suhu *annealing* yang paling rendah dan tinggi menunjukkan pita DNA yang lebih tipis, ketebalannya yang kurang dan sedikit samar.

Hasil penelitian Park *et al.*, (2020) menyebutkan bahwa pentingnya proses validasi dan optimalisasi set primer yang digunakan untuk pengujian PCR. Optimasi memiliki peranan penting untuk primer baru. Pentingnya mengoptimasi primer adalah untuk mengetahui kondisi PCR yang sesuai sehingga mendapatkan hasil PCR yang optimal (Chan *et al.*, 2020). Optimasi selalu dilakukan untuk setiap gen yang akan dideteksi dengan PCR. Hal ini dikarenakan kondisi sampel, reagen, dan alat-alat yang ada pada setiap laboratorium berbeda-beda. Primer yang digunakan spesifik dan sensitive terhadap isolate Bakteri *S.suis* serotipe 2 hal ini terbukti dengan tidak adanya band pada isolat *S. zooepidemicus* dan *Stapylococcus Sp.*

V. KESIMPULAN

Optimasi primer dan kontrol positif sintetik gen *Capsular Polysaccharide S. suis* serotipe 2 menunjukkan primer dan kontrol positif sintetik optimal pada suhu annealing 56°C, waktu annealing 30 detik, dan waktu ekstensi 1

menit dan primer yang digunakan spesifik terhadap isolate *S.suis* serotipe 2 hal ini terbukti dengan tidak adanya band pada isolat *S. zooepidemicus*, *Stapylococcus* sp dan *Pasturella multosida* Tipe B2.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd-Elsalam, K.A. (2003). Bioinformatic Tools and Guideline for PCR Primer Design. African Journal of Biotechnology. pp. 91-95.
- Borah, P. (2011). Primer Designing for PCR. Sci. Vis. Vol. 11 (3). pp: 134-136.
- Chan, J. F.-W., Kok, K.-H., Zhu, Z., Chu, H., To, K. K.-W., Yuan, S., & Yuen, K.-Y. (2020). Genomic Characterization of the 2019 Novel Human-Pathogenic Coronavirus Isolated from a Patient with Atypical Pneumonia after Visiting Wuhan. Emerging Microbes & Infections, 9(1), 221–236.
- Fittipaldi N, Segura M, Grenier D, Gottschalk M. Virulence Factors Involved in the Pathogenesis of the Infection Caused by the Swine Pathogen and Zoonotic Agent *Streptococcus suis*. Future microbiology. 2012 Feb;7(2):259-79.
- Gottschalk M, Segura M. (2000). The Pathogenesis of the Meningitis Caused by *Streptococcus suis*: The Unresolved Questions. J Vet Microbiol 76: 259-272.
- Handoyo, D. dan Ari R. (2000). Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction (PCR). Unitas. 9:17-29.
- Higgins R and Gottschalk M. (1990). Review Article: An Update on *Streptococcus suis* Identification. J Vet Diagn Invest 2: 249-252.