

Velabo

ISSN : 1411-9161

BULETIN LABORATORIUM VETERINER



EDISI

01

VOLUME 55

JULI 2026

Kementerian Pertanian

Balai Veteriner Lampung

Jl. Untung Suropati No. 2 Labuhan Ratu
Kedaton - Bandar Lampung 35142

☎ (0721) 701851 / 772894 📠 (0721) 772894

✉ bvetlampung@pertanian.go.id

Call Center 0813 7954 8117

FIND US ONLINE :

<http://bvetlampung.ditjennak.pertanian.go.id>



Kata Pengantar

Puji Syukur kita panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena Berkat karunia-Nya Buletin Laboratorium Veteriner (VELABO) Velabo 55 Edisi Juli 2026, dapat diterbitkan kembali ke hadapan pembaca sekalian

Pada Velabo ini pembaca dapat mengupas tentang Peneguhan Diagnosis Kucing Suspect Terinfeksi Feline Infectious Peritonitis dengan Teknik Real Time Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction, Penelusuran Epidemiologi dan Investigasi Klinis Keberadaan Virus Avian Influenza (AI) pada Peternakan Ayam di Desa Kibang Tri Jaya, Tulang Bawang Barat, Studi Komparasi Dua Kit Elisa Komersial dalam Mendeteksi Titer Antibodi Post Vaksinasi Rabies pada Kucing, Gambaran Histopatologi Feline Infectious Peritonitis pada Kucing Domestik, Analisis Biaya Manfaat dan Strategi Penanganan Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) Pada Sapi di Kabupaten Bangka Tengah, Provinsi Bangka Belitung, Gambaran Patologis Ko-Infeksi Avian Influenza dan Newcastle Disease pada Ayam Buras dan Konfirmasi Molekuler Dugaan Mycobacterium tuberculosis Pada Sapi dengan Metode Sekuensing DNA.

Harapan Kami sajian Velabo ini dapat bermanfaat untuk pembaca.

Selamat membaca

Redaksi

Velabo

**BULETIN
LABORATORIUM
VETERINER**

Di Terbitkan
2 kali setahun

**BALAI VETERINER LAMPUNG
DIREKTORAT JENDRAL PETERNAKAN DAN KESEHATAN HEWAN
KEMENTERIAN PERTANIAN**

PENANGGUNG JAWAB

Kepala Balai Veteriner Lampung
drh Suryantana, M.Si

SEKERTARIAT REDAKSI

Alim Santoso
Ferro Safryl, A.Md

PENANGGUNG JAWAB

Pimpinan Redaksi:
drh Tri Guntoro, MP

TELP / FAX

Telp. 0721 701851 / 772894
Fax. 0721 772894

EDITOR

drh Eko Agus S, M.Sc
drh Ari Khoiriah
drh Eva Yulianti, M.Sc
Dr drh Liza Angeliya, M.Sc

[HTTP:// BVETLAMPUNG.DITJENNAK.PERTANIAN.GO.ID](http://BVETLAMPUNG.DITJENNAK.PERTANIAN.GO.ID)

Table Of CONTENTS

03

Peneguhan Diagnosis Kucing Suspect Terinfeksi Feline Infectious Peritonitis dengan Teknik Real Time Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction,

08

Penelusuran Epidemiologi dan Investigasi Klinis Keberadaan Virus Avian Influenza (AI) pada Peternakan Ayam di Desa Kibang Tri Jaya, Tulang Bawang Barat

15

Studi Komparasi Dua Kit Elisa Komersial dalam Mendeteksi Titer Antibodi Post Vaksinasi Rabies pada Kucing,

22

Gambaran Histopatologi Feline Infectious Peritonitis pada Kucing Domestik,

31

Analisis Biaya Manfaat dan Strategi Penanganan Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) Pada Sapi di Kabupaten Bangka Tengah, Provinsi Bangka Belitung,

41

Gambaran Patologis Ko-Infeksi Avian Influenza dan Newcastle Disease pada Ayam Buras

51

Konfirmasi Molekuler Dugaan Mycobacterium tuberculosis Pada Sapi dengan Metode Sekuensing DNA

62

Template Judul Naskah/Artikel VELABO



**Take us
Anywhere**

<http://bvetlampung.ditjenak.pertanian.go.id>



bvetlampung
@pertanian.co.id



Call Center
081379230195



@bvetlampung



@bvetlampung



Balai Veteriner

Peneguhan Diagnosis Kucing Suspect Terinfeksi Feline Infectious Peritonitis dengan Teknik Real Time Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

Srihanto, E.A⁽¹⁾, Anggy, F.P⁽¹⁾, Febriyani, D.A⁽¹⁾

Putri, A.J⁽¹⁾ dan Avrilianti, N.A⁽²⁾

⁽¹⁾Laboratorium Bioteknologi, Balai Veteriner Lampung

⁽²⁾Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Email : aguseko.dvmmsc@gmail.com

ABSTRAK

Feline Infectious Peritonitis (FIP) merupakan penyakit fatal yang terjadi pada kucing domestik dan liar di seluruh dunia. Agen penyebabnya adalah *Feline coronavirus* (FCoV). *Prevalensi feline enteric coronavirus* (FECV) di lingkungan sangat tinggi dan sangat menular hampir di 100% kucing yang kontak dengan FECV dari feses kucing yang mengeluarkan virus. Penelitian ini bertujuan untuk meneguhkan diagnosis dan konfirmasi secara laboratoris terhadap agen penyebab kematian kucing. Sampel dikoleksi dari hasil nekropsi pada seekor kucing dengan temuan adanya cairan di rongga peritoneum. Temuan patologi anatomi lainnya berupa adanya pneumonia dan pembengkakan pada hati. Sampel uji berupa cairan peritoneum. Cairan bersifat *serous-purulen* dengan warna kekuningan. Peneguhan uji dengan menggunakan teknik *realtime reverse transcriptase polymerase chain reaction*. Hasil uji menunjukkan sampel terdeteksi positif virus *feline infectious peritonitis*. Hasil laboratorium dapat digunakan sebagai data pendukung dalam rangka pengobatan terhadap infeksi virus *feline infectious peritonitis*.

Kata kunci: *Feline infectious peritonitis*, peneguhan diagnosis, *real time reverse transcriptase polymerase chain reaction*

Pendahuluan

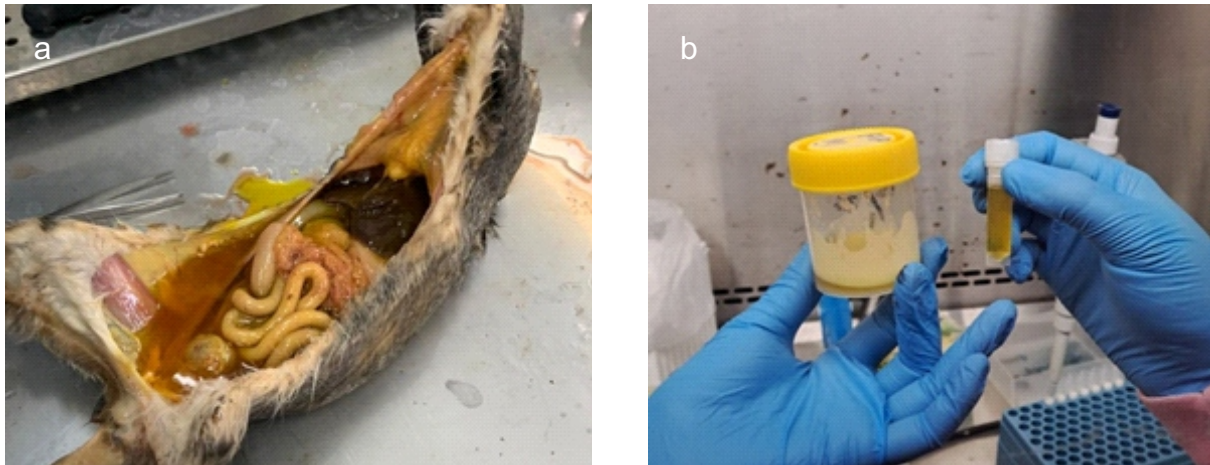
Feline Infectious Peritonitis (FIP) merupakan penyakit fatal yang terjadi pada kucing domestik dan liar di seluruh dunia. Agen penyebabnya adalah Feline coronavirus (FCoV). Prevalensi feline enteric coronavirus (FECV) di lingkungan sangat tinggi dan sangat menular hampir di 100% kucing yang kontak dengan FECV dari feses kucing yang mengeluarkan virus. Infeksi sebagian besar bersifat asimtomatik atau hanya menyebabkan diare ringan dan sementara. Penularan FIPV tidak melalui jalur fekal-oral, tetapi muncul melalui mutasi dari avirulen FECV yang yang menginfeksi sebagian kecil kucing dan kemudian menyebabkan penyakit fatal peritonitis infeksius kucing (FIP) (Vennema et al., 1998; Pedersen et al., 1981a; Pedersen et al., 1981b). Masih belum diketahui gen mana yang tepat mengandung mutasi yang menyebabkan perkembangan FIPV. FIP paling sering terjadi pada kucing muda di bawah usia dua tahun

(Riemer et al., 2016). Kucing jantan (Riemer et al., 2016) dan ras tertentu diperkirakan lebih sering terkena (Pesteanu-Somogyi et al., 2006; Pedersen et al., 2004; Rohrbach, 2001). Tanda-tanda klinis, seperti anoreksia, lesu, penurunan berat badan, demam, tanda-tanda okular dan neurologis seperti kelainan gaya berjalan atau gangguan mental, bersifat non-spesifik (Riemer et al., 2016; Giori et al., 2011; Pedersen, 2009; Kipar and Meli, 2014; Singh et al., 2005). Hal yang sama berlaku untuk kelainan klinikopatologis. Pada saat yang sama, diagnosis pasti sulit dilakukan, karena sebagian besar tes diagnostik yang ada tidak dapat membedakan antara FECV dengan FIPV dan terutama pada kucing tanpa efusi rongga tubuh, seringkali sulit untuk mencapai diagnosis pasti sebelum kematian. Penelitian ini dilakukan sebagai peneguhan diagnosis terhadap kematian kucing. Diagnosis yang tepat diperlukan sebagai dasar pemberia obat antiviral yang tepat.

MATERI DAN METODE

Materi

Sampel uji berupa cairan peritoneum. Cairan peritoneum dikoleksi dari bangkai kucing pada saat nekropsi. Cairan peritoneum bersifat seropurulent dengan warna kekuningan. Materi uji untuk ekstraksi digunakan QiAmp Viral RNA minikit (Lot.no. 1720.37949). Amplifikasi DNA menggunakan kit SensiFast One Step Kit (cat. No. BIO-78005).



Gambar 1. Akumulasi cairan peritoneum (a); Koleksi sampel uji (b)

Metode

Ekstraksi RNA sampel

Ekstraksi RNA sampel digunakan kit QiAmp Viral RNA mini kit (cat.no. 52906). Sebanyak 140 µl sampel dilisiskan dan dilakukan proses diinaktivasi virus. Pengikatan RNA terjadi di membran silika. Proses pencucian dengan menggunakan wash buffer dilakukan 2 kali dan dilanjutkan dengan proses elusi dengan menggunakan buffer AVE. Sebanyak 60 µl RNA didapatkan dan dilanjutkan dengan proses pengujian.

Real time RT-PCR

Deteksi FIP virus menggunakan metode real time reverse transkriptase PCR. SensiFast One Step Kit (cat. No. BIO-78005) digunakan untuk amplifikasi RNA. RNA template (3 µl) ditambahkan pada 10 µl PCR 2x Mix, 0,2 µl RT Mix, 0,4 µl RNA inhibitor, 4 µl RNase-free water dan 2,4 µl primer probe mix. Konsentrasi primer yang digunakan 20 pmol dan konsentrasi probe 5 pmol. TaqMan probe dilabel 5'FAM/3'BHQ-1. Primer yang digunakan untuk mengamplifikasi menargetkan pada gen 3'UTR. Primer probe yang digunakan berdasarkan desain dari Gut el.al (1999). Sekuens primer probe ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Sekuens primer probe FIP

Primer	Sekuens
Forward	GAT TTG ATT TGG CAA TGC TAG ATT T
Reverse	AAC AAT CAC TAG ATC CAG ACG TTA GCT
Probe	TCC ATT GTT GGC TCG TCA TAG CGG A

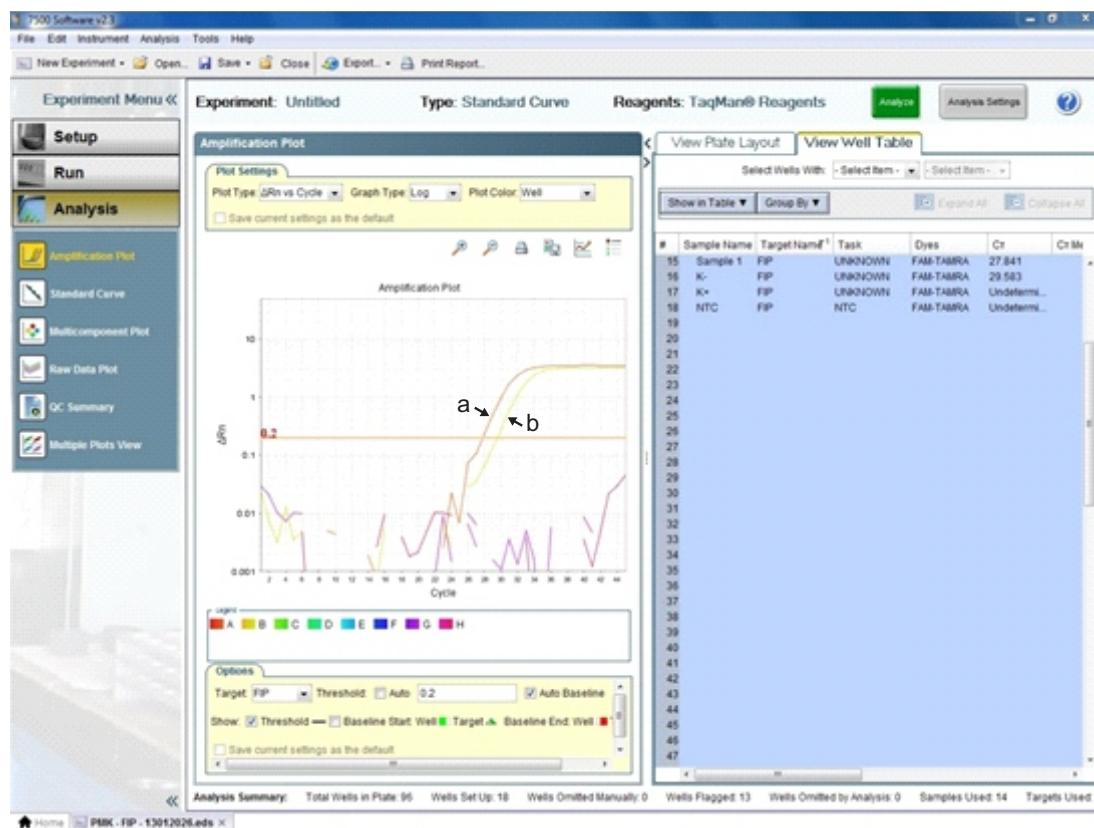
Amplifikasi RNA : reverse transcription pada 450C selama 10 menit, denaturasi awal pada 950C selama 2 menit, 45 siklus untuk denaturasi pada 950C selama 15 detik dan annealing-elongasi pada 600 C selama 45 detik.

Analisis data

Analisis data dilakukan secara deskriptif yang didasarkan pada nilai Ct yang dihasilkan dari perpotongan garis threshold dengan siklus. Nilai threshold digunakan 0,05. Sebagai *quality assurance* digunakan kontrol negatif dan kontrol reagen (*no template control*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pengujian didapatkan sampel terkonfirmasi positif terhadap virus FIP. Nilai Ct yang didapatkan adalah 27,84. Hal ini menandakan bahwa kematian kucing disebabkan oleh infeksi virus FIP.



Gambar 2. Kurva hasil uji sampel terkonfirmasi positif FIPV. Sampel lapang (a); Kontrol positif (b)

Diagnosis ante mortem FIP sangat sulit dilakukan pada kucing terutama pada kucing yang tanpa cairan abnormal yang signifikan. Beberapa penyakit yang mirip seperti gagal jantung congestive, penyakit hati yang menyebabkan ascites, gagal ginjal, bacterial peritonitis, toxoplasmosis dan limfoma dapat menunjukkan adanya gejala klinis yang sama. Diagnosis pasti tidak dapat dibuat hanya berdasarkan anamnesa, riwayat penyakit dan tanda klinis serta hasil laboratorium. Parameter-parameter ini harus selalu dievaluasi sebagai suatu kesatuan dan berpotensi bersamaan dengan parameter lain seperti hasil tes molekuler atau bahkan tes diagnostik yang lebih invasif. Untuk menghindari kesalahan diagnosis FIP pada kucing yang tidak terinfeksi, spesifisitas selalu menjadi nilai diagnostik terpenting yang perlu dipertimbangkan.

Tes diagnostik yang sering digunakan meliputi deteksi anti FCoV-antibody, deteksi antibody kompleks (Elisa), deteksi antigen FCoV pada makrofag dengan Immunostaining dan pengujian dengan NAAT (nucleic acid amplification test). Sampel yang digunakan meliputi darah, cairan serebrospinal, cairan peritoneum, jaringan (Igl. mesenterika, omentum, limpa). Secara umum, tes menggunakan efusi memiliki nilai prediksi yang jauh lebih baik dibandingkan tes menggunakan darah pada pengujian NAAT. Berbagai macam sampel secara umum dapat digunakan untuk memperkuat tes diagnostik terhadap infeksi FIPV (Stranieri et al., 218; Hartmann et al., 2003). Beberapa penelitian melaporkan sampel yang paling direkomendasikan untuk pengujian FIP adalah cairan efusi yang berasal dari peritoneum (Simon et al., 2005; Hartmann et al, 2003; Herrewegh et al, 1995). Hasil uji dari sampel tersebut dilaporkan memiliki sensitifitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel lain seperti PBMC atau serum. Dengan diagnosis laboratorium yang tepat, hasil uji dapat digunakan sebagai pendukung diagnosi definitif untuk memastikan agen penyebab dan memastikan perbedaan dengan penyakit lain yang memiliki gejala klinis yang hamper sama. Diagnosis yang tepat dapat membantu penanganan dalam terapi dan pemberian obat yang tepat bagi kucing yang terinfeksi.

Kesimpulan

Dari hasil pengujian sampel cairan peritoneum dikonfirmasi positif FIPV. Sampel cairan peritoneum merupakan sampel yang direkomendasikan untuk kasus FIP tipe basah. Sedangkan jaringan dari Igl. mesenterika dan limpa dapat digunakan sebagai sampel uji pada kasus FIP tipe kering.

Daftar Pustaka

- Giori, L., Giordano, A., Giudice, C., Grieco, V. and Paltrinieri, S. 2011, Performances of different diagnostic tests for feline infectious peritonitis in challenging clinical cases. *J. Small Anim. Pract.* 52, 152–157
- Gut, M., Leutenegger, C.M. and Huder, J.B. 1999. One-tube fluorogenic reverse transcription-polymerase chain reaction for the quantitation of feline coronaviruses. *J Virology Meth*; 77: 37–46
- Hartmann, K., Binder, C., Hirschberger, J., Cole, D., Reinacher, M., Schroo, S., Frost, J., Egberink, H., Lutz, H. and Hermanns, W. 2003. Comparison of different tests to diagnose feline infectious peritonitis. *J. Vet. Intern. Med.* 17, 781–790
- Herrewegh, A.A., de Groot, R.J. and Cepica A. 1995. Detection of feline coronavirus RNA in feces, tissues, and body fluids of naturally infected cats by reverse transcriptase PCR. *J Clin Microbiol*; 33: 684–689
- Kipar, A. and Meli, M.L. 2014, Feline infectious peritonitis: Still an enigma? *Vet. Pathol.* 51, 505–526.
- Pedersen, N.C. 2009, A review of feline infectious peritonitis virus infection : 1963–2008. *J. Feline Med. Surg.* 11, 225–258
- Pedersen, N.C., Sato, R., Foley, J.E. and Poland, A.M. 2004. Common virus infections in cats, before and after being placed in shelters, with emphasis on feline enteric coronavirus. *J. Feline Med. Surg.* 6, 83–88
- Pedersen, N.C., Boyle, J.F. and Floyd, K. 1981, Infection studies in kittens, using feline infectious peritonitis virus propagated in cell culture. *Am. J. Vet. Res.* 42, 363–367
- Pedersen, N.C., Boyle, J.F., Floyd, K., Fudge, A. and Barker, J. 1981, An enteric coronavirus infection of cats and its relationship to feline infectious peritonitis. *Am. J. Vet. Res.* 42, 368–377

- Pesteanu-Somogyi, L.D., Radzai, C. and Pressler, B.M. 2006, Prevalence of feline infectious peritonitis in specific cat breeds. *J. Feline Med. Surg.* 8, 1–5.
- Riemer, F., Kuehner, K.A., Ritz, S., Sauter-Louis, C. and Hartmann, K. Clinical and laboratory features of cats with feline infectious peritonitis-a retrospective study of 231 confirmed cases (2000–2010). *J. Feline Med. Surg.* 2016, 18, 348–356
- Rohrbach, B.W., Legendre, A.M., Baldwin, C.A., Lein, D.H., Reed, W.M. and Wilson, R.B. 2001, Epidemiology of feline infectious peritonitis among cats examined at veterinary medical teaching hospitals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218, 1111–1115
- Singh, M., Foster, D.J., Child, G. and Lamb, W.A. 2005, Inflammatory cerebrospinal fluid analysis in cats: Clinical diagnosis and outcome. *J. Feline Med. Surg.* 7, 77–93
- Simons, F.A., Vennema, H. and Rofina, J.E. 2005. A mRNA PCR for the diagnosis of feline infectious peritonitis. *J Virol Methods*; 124: 111–116.
- Stranieri, A., Giordano, A., Paltrinieri, S., Giudice, C., Cannito, V. and Lauzi, S. 2018. Comparison of the performance of laboratory tests in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *J. Vet. Diagn. Investig.*, 30, 459–463.
- Vennema, H., Poland, A., Foley, J. and Pedersen, N.C. 1998, Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses. *Virology.* 243, 150–157

Penelusuran Epidemiologi dan Investigasi Klinis Keberadaan Virus *Avian Influenza* (AI) pada Peternakan Ayam di Desa Kibang Tri Jaya, Tulang Bawang Barat

Valinata Sisca⁽¹⁾, Saswiyanti Enny⁽¹⁾

⁽¹⁾Balai Veteriner Lampung/ Lampung Distric Investigation Center, Jalan Untung Suropati No.2
Bandar Lampung
Email : valinata.official@gmail.com

ABSTRACT

This investigation aimed to verify a suspected case of Avian Influenza (AI) in a poultry farm worker in Lampung Province to identify potential zoonotic transmission and the virological status of the associated farms. A descriptive study and field investigation were conducted after the patient was referred to Imanuel Hospital on February 9, 2026, presenting with dyspnea and a history of close poultry contact. Retrospective tracing included the patient's medical history, contact tracing, and environmental inspections at three closed-house broiler farms in West Tulang Bawang Regency. Biological sampling consisted of patient swabs, poultry cloacal swabs, and environmental/water samples for AI-specific PCR testing. The patient exhibited fluctuating symptoms since December 2025, with various differential diagnoses (dyspepsia, DHF, typhoid). The patient had been temporarily deployed to Riyanti B Farm, which experienced gradual mortality in November 2025 due to Colibacillosis. All close contacts remained healthy. Investigations across the three farms showed stable poultry performance with low mortality rates (2%–3.6%). On February 24, 2026, PCR laboratory testing confirmed that all samples from the patient, poultry, and the environment were negative for Avian Influenza. However, a critical biosecurity loophole was identified regarding carcass collection by third parties for animal feed. The suspected AI case was laboratory-confirmed negative, with no evidence of virus circulation in the poultry or farm environment. While the closed-house system effectively mitigates disease exposure, strict biosecurity enforcement regarding carcass waste management is crucial.

Keywords: *Avian Influenza; Biosecurity; Closed House; Epidemiological Investigation; Poultry Worker.*

ABSTRAK

Investigasi dilakukan untuk menidentifikasi kasus suspect Avian Influenza (AI) pada seorang pekerja kandang di Provinsi Lampung guna mengidentifikasi potensi penularan zoonosis dan status virologis peternakan terkait. Studi deskriptif dan investigasi lapangan dilakukan setelah pasien dirujuk ke RS Imanuel pada 9 Februari 2026 dengan gejala sesak napas dan riwayat kontak erat dengan unggas. Penelusuran retrospektif mencakup riwayat kesehatan pasien, pelacakan kontak erat, serta inspeksi lingkungan pada tiga peternakan ayam pedaging sistem closed house di Kabupaten Tulang Bawang Barat tempat pasien beraktivitas. Pengambilan sampel biologis meliputi swab kloaka unggas dan lingkungan untuk uji PCR AI. Pasien mengalami gejala klinis fluktuatif sejak Desember 2025 dengan beragam diagnosis banding (maag, DBD, tifus). Pasien sempat diperbantukan di Kandang RB yang mengalami mortalitas bertahap pada November 2025 dengan diagnosa Colibacillosis. Seluruh kontak erat pasien terpantau sehat. Investigasi pada tiga peternakan terkait menunjukkan performa unggas yang sangat stabil dengan angka mortalitas rendah (2%–3,6%). Hasil uji laboratorium PCR pada 24 Februari 2026 menyatakan sampel pasien, unggas, dan lingkungan peternakan seluruhnya negatif Avian Influenza. Namun, ditemukan celah biosekuriti kritis berupa praktik pengumpulan bangkai ayam oleh pihak ketiga untuk pakan lele/babi.

Kasus suspect AI pada pekerja kandang ini terbukti negatif secara laboratoris, dan tidak ditemukan sirkulasi virus AI pada unggas maupun lingkungan peternakan. Sistem closed house dinilai efektif mencegah paparan penyakit, tetapi pengetatan biosekuriti pada manajemen limbah bangkai unggas mutlak diperlukan.

Kata kunci: Avian Influenza; Biosekuriti; Closed House; Investigasi Epidemiologi; Pekerja Kandang.

Pendahuluan

Penyakit Avian Influenza (AI) yang disebabkan oleh virus Influenza A subtipe H5N1 yang merupakan salah satu tantangan zoonosis paling serius di sektor kesehatan masyarakat dan dinamika peternakan global (Peiris et al., 2007). Sejak pertama kali diidentifikasi menyerang industri peternakan di Indonesia pada Desember 2003, virus ini menunjukkan pola penyebaran yang sangat cepat dan masif (Sedyaningsih et al., 2007). Wabah Avian Influenza segera meluas dari peternakan sektor industri hingga ke sistem peternakan rakyat (backyard poultry) di wilayah pedesaan (Sedyaningsih et al., 2007).

Ancaman utama dari tingginya sirkulasi virus AI pada populasi unggas adalah virus AI bersifat zoonosis terutama pada kelompok populasi yang memiliki risiko paparan tinggi (high-risk population) karena kontak harian yang erat dengan aerosol, debu kandang, feses, dan sekret unggas (Bridges et al., 2002; Peiris et al., 2007). Data epidemiologi menunjukkan bahwa kasus konfirmasi H5N1 pertama pada manusia di Indonesia yang tercatat pada Juli 2005 di Jawa Barat mengawali

rantai manifestasi klinis dengan tingkat fatalitas yang mengkhawatirkan (Kandun et al., 2006; Sedyaningsih et al., 2007). Pada periode Juli 2005 hingga Juni 2006, Indonesia mencatat angka fatalitas kasus (case-fatality proportion) mencapai 76%, di mana sebagian besar korbannya merupakan individu yang memiliki riwayat kesehatan baik sebelum terinfeksi (Sedyaningsih et al., 2007). Informasi mengenai kasus AI pada manusia menjadi isu yang sangat penting. Penanganan yang cepat dan tepat dapat mencegah penyebaran kasus yang semakin luas. Penanganan yang tepat, harus mengkonfirmasi keberadaan virus avian influenza baik pada manusia, hewan dan juga lingkungan dimana suspect kasus terjadi. Tujuan dari kajian ini adalah untuk mengkonfirmasi apakah ada kematian pada unggas di peternakan ayam di Desa Kibang Tri Jaya Kecamatan Lambu Kibang Kabupaten Tulang Bawang Barat, memastikan keberadaan virus AI melalui uji klinis, menelusuri asal-usul masuknya virus ke dalam peternakan serta menyusun rekomendasi pengendalian seperti panduan langkah depopulasi (pemusnahan terbatas), desinfeksi total, serta evaluasi prosedur biosekuriti bagi pemilik peternakan.

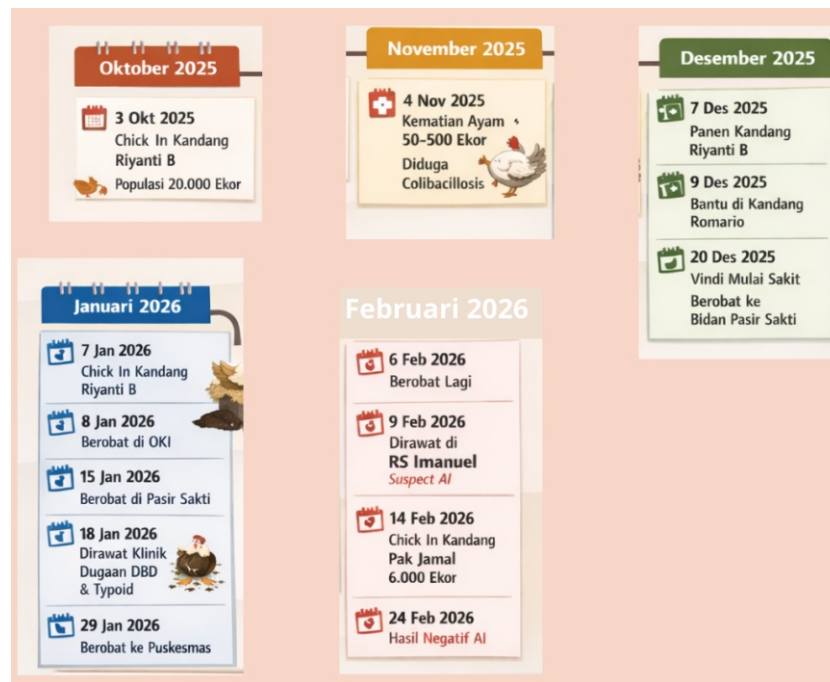
Materi dan Metode

Kajian ini dirancang sebagai sebuah studi investigasi epidemiologi deskriptif lapangan dengan pendekatan penelusuran retrospektif terhadap laporan kasus suspect Avian Influenza (AI) pada manusia. Penelusuran dilakukan dengan metode wawancara terhadap petugas kandang dan juga dilakukan pengambilan sampel lingkungan dan swab kloaka unggas yang selanjutnya akan diuji PCR AI di Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung.

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan pelacakan epidemiologi retrospektif, Saudara EVR (seorang anak kandang) mulai merasakan gejala sakit pada tanggal 20 Desember 2025. Manifestasi klinis awal yang muncul tidak spesifik dan menyerupai gangguan lambung (sakit maag), sehingga pasien hanya menjalani pengobatan jalan di bidan praktek swasta di Pasir Sakti, Lampung Timur. Selama periode sakitnya yang fluktuatif, pasien melakukan perjalanan antar provinsi ke kediaman orang tuanya di Kabupaten Ogan Komering Ilir (OKI), Sumatera Selatan, dan sempat berobat ke bidan setempat pada 8 Januari 2026.

Pasien tercatat mengalami beberapa kali perpindahan fasilitas kesehatan akibat kondisi yang tidak kunjung membaik. Pasien mendapatkan beragam diagnosis banding dari praktisi medis, mulai dari dugaan Demam Berdarah Dengue (DBD) hingga Demam Tifoid (Tifus), yang berujung pada rawat inap di Klinik Ahmad Yani dan Klinik Klimer, Lampung Timur pada pertengahan Januari 2026. Karena timbul gejala respirasi akut berupa sesak napas (dyspnea) disertai riwayat pekerjaan berisiko, pasien akhirnya dirujuk ke RS Imanuel Bandar Lampung pada 9 Februari 2026 dengan status suspect Avian Influenza (AI). Di bawah ini adalah timeline saudara EVR mengalami sakit, suspect AI, hingga diagnosa negatif AI.

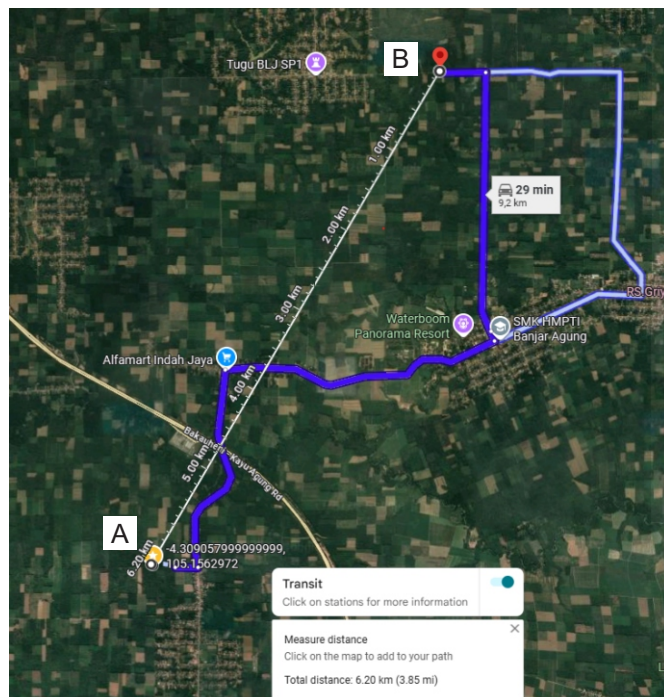


Gambar 1. Timeline kejadian saudara EVR sakit, didiagnosa suspet AI, hingga keluar hasil uji.

Unit kerja utama EVR adalah Kandang Romario yang berlokasi di Desa Mercubuana, Kecamatan Way Kenanga, Kabupaten Tulang Bawang Barat. Namun, pada periode Oktober hingga Desember 2025, EVR sempat diperbantukan di Kandang Riyanti B yang berjarak 6,2 km jika ditarik garis lurus dari kandang utama (Gambar 2). Hasil rekonstruksi data performa flock pada peternakan-peternakan terkait menunjukkan kondisi sebagai berikut:

- Kandang Riyanti B (Desa Kibang Trijaya): Mengalami lonjakan kematian unggas secara bertahap berkisar antara 50 hingga 500 ekor per hari pada awal November 2025. Total mortalitas akumulatif hingga masa panen (7 Desember 2025) mencapai 10%. Investigasi teknis oleh Technical Service (TS) kemitraan mengindikasikan bahwa mortalitas tersebut disebabkan oleh infeksi bakteri Colibacillosis. Siklus pemeliharaan berikutnya (chick in 7 Januari 2026) berjalan normal dengan angka kematian rendah sebesar 3%.
- Kandang Pak Jamal: Berlokasi tepat di sebelah Kandang Riyanti B (jarak radius 50 meter) dengan kapasitas 6.000 ekor. Sejak chick in pada 14 Februari 2026, kondisi flock terpantau sangat sehat dengan angka kematian hanya 2% pada fase awal.
- Kandang Romario (Desa Mercubuana): Populasi ayam pedaging aktif sebanyak 24.000 ekor berumur 28 hari (siklus chick in 27 Januari 2026) berada dalam kondisi sangat stabil. Pada siklus pemeliharaan sebelumnya, angka kematian tercatat sebesar 3,6% (di bawah standar batas maksimal industri sebesar 4%), yang didominasi oleh proses seleksi alami pada minggu pertama. Pasien EVR tidak terlibat dalam operasional siklus berjalan ini karena kondisi kesehatannya.

Pelacakan kontak erat (contact tracing) dilakukan terhadap dua rekan kerja pasien di Kandang Riyanti B serta seluruh anggota tim pemanen ayam Pak Romario. Hasil pemantauan klinis menegaskan bahwa seluruh kontak erat tersebut berada dalam kondisi sehat tanpa gangguan respirasi.



Gambar 2. Jarak kandang Riyanti B (A), dengan kandang milik Romario (B)



Gambar 2. Jarak kandang Riyanti B (a) dengan kandang Jamal (B)

Berdasarkan hasil investigasi pada kandang Jamal yang letaknya berdekatan maupun kandang Romario yang berjarak lebih dari 6 km tidak ditemukan adanya kematian unggas yang tinggi. Kematian masih di bawah 5% dan mayoritas berasal dari seleksi ayam <7 hari. Berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium dari sampel swab kloaka dan swab lingkungan kandang juga tidak ditemukan adanya virus AI yang beredar (Tabel 1). Kandang Riyanti B baru saja panen ayam, sehingga kondisi kandang sedang kosong. Oleh karena itu pengambilan sampel berupa swab lingkungan kandang.

Tabel 1. Hasil Uji Laboratorium Kasus Suspect AI di Kabupaten Tulang Bawang Barat

Jenis Sampel	Asal Sampel/ Lokasi	Metode Uji	Hasil Uji
Swab kloaka Unggas	Kandang Romario (populasi 24.000 ekor)	RT-PCR	Negatif AI
Swab lingkungan kandang	Kandang RB (Pasca Panen)	RT-PCR	Negatif AI

Pada tanggal 24 Februari, hasil pengujian sampel suspect AI pada saudara EVR juga dinyatakan negatif. Hal tersebut sejalan dengan hasil pengujian laboratorium pada kandang dan unggasnya. Hasil negatif dari pengujian RT-PCR pada sampel swab pasien EVR menggugurkan status suspect Avian Influenza dan memastikan bahwa gangguan kesehatan yang dialami bukan disebabkan oleh infeksi virus H5N1.

Gejala awal pasien yang menyerupai sakit maag (nyeri epigastrium) sejalan dengan laporan Sedyaningsih et al., (2007) yang menyatakan bahwa infeksi H5N1 pada manusia dapat memicu gejala non-respiratori, termasuk manifestasi gastrointestinal. Ketidakspesifikan gejala awal ini, digabungkan dengan awamnya kemampuan faskes memicu terjadi misdiagnosis dari DBD, tifus, hingga suspect Avian Influenza.

Lonjakan mortalitas unggas yang terjadi di Kandang Riyanti B pada bulan November 2025 (mencapai 10%) sempat memicu kekhawatiran terkait sirkulasi virus AI patogenik tinggi (HPAI). Namun, analisa pola epidemiologi menunjukkan bahwa kematian tersebut terjadi secara bertahap (50–500 ekor/hari), berbeda dengan karakteristik khas wabah HPAI yang umumnya memicu kematian massal mendadak dengan mortalitas mendekati 100% dalam waktu 24–48 jam (Hewajuli dan Dharmayanti, 2008).

Berdasarkan informasi, hasil diagnosis teknis lapangan kematian ayam pada bulan November di Kandang Riyanti B disebabkan oleh infeksi Colibacillosis. Hasil pengujian PCR lingkungan di kandang tersebut juga dinyatakan Negatif AI. Menurut Peiris et al., (2007), di daerah endemis, fluktuasi kematian unggas di peternakan komersial tidak selalu disebabkan oleh H5N1, melainkan sering kali dipicu atau diperparah oleh infeksi sekunder bakteri oportunistik seperti *Escherichia coli*.

Stabilitas performa ternak yang sangat baik pada ketiga peternakan yang diinvestigasi, ditunjukkan dengan angka mortalitas rendah berkisar antara 2% hingga 3,6%. Ketiga kandang tersebut telah menerapkan closed house system. Penggunaan dinding selulosa (cooling pad) dan sistem ventilasi mekanis (blower) pada ketiga kandang terbukti efektif meminimalkan risiko introduksi agen penyakit dari luar. Hal tersebut mencegah terjadinya kontak langsung maupun tidak langsung dengan burung liar (wild birds) yang bertindak sebagai reservoir alami dan vektor utama penyebaran virus AI di alam bebas. Meskipun closed house mampu meminimalkan agen biologis luar, mobilitas pekerja antar-kandang tanpa prosedur biosekuriti yang ketat dapat bertindak sebagai penyebar mekanis. Kenyataan bahwa Kandang Romario yang berjarak 6,2 km tetap bebas dari penularan mengindikasikan bahwa kepatuhan peternak dalam menerapkan prosedur sanitasi dasar saat perpindahan personel (seperti kewajiban mandi dan mengganti pakaian) telah berjalan dengan cukup baik.

Titik kritis biosekuriti di ketiga peternakan ini adalah adanya praktik pengumpulan bangkai ayam oleh pihak ketiga untuk dialokasikan sebagai pakan alternatif lele atau babi. Bangkai unggas dari peternakan komersial yang tidak dimusnahkan langsung di tempat (on-site disposal) berpotensi besar menjadi media penyebar patogen. Proses pengangkutan bangkai keluar dari area peternakan menggunakan kendaraan pihak ketiga berisiko menyebarkan material infeksius di sepanjang jalur transportasi melalui droplet maupun rute mekanis seperti alat dan rodentia. Sebaiknya bangkai unggas dimusnahkan dengan pembakaran (incineration) atau penguburan bangkai yang aman.

Pelacakan kontak erat terhadap rekan kerja di sekitar peternakan dilakukan meskipun kondisi mereka terpantau sehat, mengingat banyaknya kasus paparan virus AI pada pekerja peternakan yang bersifat subklinis atau tanpa gejala klinis yang nyata (Bridges et al., 2002). Oleh karena itu, munculnya satu kasus suspect AI pada pekerja peternakan dengan riwayat kontak erat unggas wajib disikapi secara cepat melalui investigasi epidemiologi lapangan dengan pendekatan penelusuran retrospektif (Areechokchai et al., 2006; Sedyaningsih et al., 2007). Menurut (Areechokchai et al., 2006) setiap pekerja kandang yang menunjukkan gejala respirasi akut wajib segera diinvestigasi secara retrospektif guna mencegah terjadinya lonjakan zoonosis di masyarakat.

Hal yang perlu dilakukan guna mencegah penyebaran kasus antara lain melakukan kegiatan komunikasi, informasi dan edukasi (KIE) kepada peternak untuk meningkatkan biosecurity terutama penanganan limbah (bangkai ayam mati) agar dibakar atau dikubur dalam lubang minimal sedalam 1,5 meter. Prosedur bioscurity personal penting diterapkan seperti wajib penggantian pakaian serta desinfeksi kendaraan jika berpindah dari kandang satu ke kandang lainnya. Jika terdapat hasil konfirmasi positif AI, maka harus dilakukan pemusnahan terbatas pada flock yang terinfeksi dan pengetatan restricted area di radius 1 km. Selain itu, peternak perlu memperketat pengawasan kesehatan harian dan melaporkan segera jika mortalitas harian melebihi 10%.

Kesimpulan

Status kesehatan saudara EVR dinyatakan Negatif Human Avian Influenza. Kematian unggas pada Kandang Riyanti B (Desa Kibang Tri Jaya) pada November 2025 sebesar 10% diduga kuat akibat infeksi bakteri (Colibacillosis), bukan serangan virus AI yang bersifat akut dan masif, hasil uji laboratorium sampel ayam dan lingkungan dengan uji Real Time PCR diperoleh hasil negatif Avian Influenza.

Ucapan Terimakasih

Terima kasih kepada tim dari Dinas Tulang Bawang Barat yang membantu dalam proses investigasi.

Daftar Pustaka

- Areechokchai, D., Jiraphongsa, C., Laosiritaworn, Y., Hanshaoworakul, W., & O'Reilly, M. (2006). Investigation of avian influenza (H5N1) outbreak in humans—Thailand, 2004. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, 55(Suppl 1), 3–6.
- Bridges, C. B., Lim, W., Hu-Primmer, J., Sims, L., Fukuda, K., Mak, K. H., Rowe, T., Thompson, W. W., Conn, L., Lu, X., Cox, N. J., & Katz, J. M. (2002). Risk of influenza A (H5N1) infection among poultry workers, Hong Kong, 1997–1998. *The Journal of Infectious Diseases*, 185(8), 1005–1010. <https://doi.org/10.1086/339882>
- Hewajuli DA, Dharmayanti, NLPI. 2008. Karakterisasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza (AI). *Wartazoa*.18(2):86-100.
- Kandun, I. N., Wibisono, H., Sedyaningsih, E. R., Yushimenko, I., Wardoyo, S., Purba, C., Soemoarto, W., Sepandu, S., Sinto, R., & Shin, S. (2006). Clustering of human H5N1 cases in Indonesia, 2005. *The New England Journal of Medicine*, 355(21), 2186–2194. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa060934>

- Peiris, J. S. M., de Jong, M. D., & Guan, Y. (2007). Avian influenza virus (H5N1): a threat to human health. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(2), 243–267. <https://doi.org/10.1128/cmr.00037-06>
- Sedyaningsih, E. R., Isfandari, S., Setiawaty, V., Rifati, L., Harun, S., Purba, W., Imari, S., Giriputra, S., Blair, P. J., Putnam, S. D., Uyeki, T. M., & Soendoro, T. (2007). Epidemiology of cases of H5N1 virus infection in Indonesia, July 2005–June 2006. *The Journal of Infectious Diseases*, 196(4), 522–527. <https://doi.org/10.1086/519692> [File: [196-4-522.pdf](#)]

Studi Komparasi Dua Kit Elisa Komersial dalam Mendeteksi Titer Antibodi Post Vaksinasi Rabies pada Kucing

Ramadhani, F. S., Rumpaka, R., Astuti, D. W., Ajwa, W. I., Hidayah, T., Angeliya, L., Alawiah, S

Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung

Email : ramadhanisari5@gmail.com

ABSTRACT

Rabies is vaccine preventable zoonotic disease, making the evaluation of vaccination efficacy an essential component of rabies control program. Measurement of post vaccination antibody titers is important for evaluating vaccination success, surveillance, and animal movement requirement for rabies transmitting animal. This study aimed to compare antibody titers measured using two different Elisa kits, namely Pusvetma Rabies Elisa kit and Xema Canin-Feline Rabies Elisa kit. The sample consist of blood serum collected from four cats vaccinated with an inactivated rabies vaccines produced by Pusvetma. Sample collected at the 2nd, 4th, 6th, and 8th weeks post vaccination. Testing procedures were performed according to each kit manual. The result showed that Pusvetma kit produced higher antibody titer value compared to Xema Canin-Feline kit. All samples measure using Pusvetma kit, demonstrated protective antibody titers starting from the 2nd week post vaccination, with peak antibody level at 4th weeks. In contrast, most samples tested using Xema Canin-Feline kit, showed antibody titers below the protective threshold throughout the observation period. Differences in test result may be influenced by differences in coated antigen, kit sensitivity dan specificity, differences in the type of antibody detected, and other factor such as antibody affinity and serum matrix effects may also affect Elisa results

Key words : Antibody titer; Cats; Commercial kit Elisa; ELISA; Rabies; Vaccination

ABSTRAK

Rabies merupakan penyakit zoonosis yang dapat dicegah melalui vaksinasi, sehingga evaluasi keberhasilan vaksinasi menjadi bagian penting dalam program pengendalian penyakit. Pengukuran titer antibodi pasca vaksinasi sangat penting untuk mengevaluasi berhasil atau tidak nya program vaksinasi, surveilans, dan untuk keperluan lalu lintas hewan penular rabies. Studi ini bertujuan untuk membandingkan nilai titer antibodi yang diukur dengan dua kit elisa yang berbeda yaitu Kit Elisa Rabies Pusvetma dan Kit Elisa Rabies Xema Canin-Feline. Adapun sampel yang diuji yaitu sampel serum dari empat ekor kucing yang divaksin dengan vaksin inaktif produksi pusvetma. Sampel dikoleksi pada minggu ke-2, ke-4, ke-6, dan ke-8 pasca vaksinasi. Prosedur pengujian dilakukan sesuai dengan prosedur dari masing-masing kit. Hasil menunjukan serum yang diuji dengan kit Elisa Rabies Pusvetma memiliki nilai titer lebih tinggi daripada kit Elisa Rabies Xema Canin-Felin. Seluruh sampel yang diuji dengan Kit Elisa Pusvetma menunjukkan hasil protektif sejak minggu ke-2 pasca vaksinasi, dan mencapai puncaknya pada minggu ke-4. Sebaliknya hampir seluruh sampel yang diuji dengan Kit Elisa Rabies Xema Canin-Feline menunjukan titer dibawah ambang batas protektif selama periode pengamatan. Perbedaan hasil ini dapat disebabkan oleh beberapa factor seperti perbedaan coating antigen, sensitivitas dan spesifisitas masing-masing kit, perbedaan antibodi yang dideteksi serta faktor lain seperti afinitas antibodi dan matriks serum efek, yang juga dapat mempengaruhi hasil dari Elisa

Kata kunci : ELISA; kit ELISA komersial; kucing; rabies; titer antibodi; vaksinasi

Pendahuluan

Rabies merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus neurotropik dari genus *Lyssavirus* dari famili *Rhabdoviridae*, yang dapat ditularkan ke seluruh mamalia (WOAH, 2008). Penularan rabies terjadi melalui gigitan oleh hewan tertular, dimana saliva yang mengandung virus akan masuk kedalam jaringan subkutan dan muskulus melalui luka dari gigitan tersebut. Virus rabies akan berikatan dengan reseptor nicotinic acetylcholine pada neuromuscular junction, kemudian berjalan menuju sistem saraf pusat dengan kecepatan 12-100 mm per hari (Jackson et al., 2010). Masa inkubasi virus rabies bervariasi, mulai dari tujuh hingga satu tahun, tergantung jumlah virus yang masuk, keparahan luka gigitan, lokasi gigitan, persarafan daerah luka gigitan, dan sistem kekebalan tubuh atau antibodi (Lanniari et al., 2024).

Antibodi merupakan protein-protein yang terbentuk sebagai respon sistem imun tubuh terhadap antigen yang masuk (Prasetyo et al., 2021). Salah satu upaya pengendalian rabies adalah dengan melakukan peningkatan antibodi melalui vaksinasi pada hewan penular rabies. Vaksinasi diharapkan dapat menstimulasi sistem imun tubuh hewan untuk membentuk antibodi, sehingga tercapai titer antibodi yang protektif terhadap virus rabies.

Untuk menghitung titer antibodi yang terbentuk, dapat dilakukan pemeriksaan jumlah titer antibodi pasca vaksinasi dengan uji elisa. Elisa merupakan metode uji serologis yang telah digunakan secara luas, karena hasil yang cukup akurat serta efisien waktu untuk analisis berkapasitas tinggi (Bastit et al., 2025). Dengan banyaknya kit elisa rabies, maka penulis melakukan uji yang bertujuan untuk mengevaluasi dan membandingkan kemampuan dua kit ELISA untuk mendeteksi titer antibodi rabies pada serum sampel hewan penular rabies.

Materi

Sampel yang digunakan adalah serum darah dari empat ekor kucing yang telah divaksin rabies pada tanggal 13 Oktober 2025, menggunakan vaksin rabies inaktif produksi pusvetma yang diinjeksikan secara subkutan. Pengambilan sampel dilakukan pada minggu ke-2, ke-4, ke-6, dan minggu ke-8 pasca vaksinasi. Serum darah dikoleksi dan disimpan pada freezer suhu -20°C. Titer antibodi diukur menggunakan metode Indirect Elisa dari dua kit berbeda yakni kit elisa rabies PUSVETMA dan kit elisa rabies canin-feline XEMA. Pengujian dilakukan sesuai prosedur elisa dari masing-masing kit.

Metode

Pusvetma

PBS-T dibuat menjadi larutan kerja 1 kali dengan aquades (pH 7,2 – 7,4). Pengenceran kontrol positif dilakukan secara bertingkat sebagai berikut, 10 µl Kontrol positif diencerkan kedalam 990 µl PBST sebagai K 4 EU dan dihomogenkan. 500 µl K 4 EU ditambahkan kedalam 500 µl PBST sebagai K 2 EU. 500 µl K 2 EU ditambahkan kedalam 500 µl PBST sebagai K 1 EU. Hal yang sama dilakukan untuk K 0,5 EU; K 0,25 EU dan K 0,125 EU. Kontrol ST 1 EU diencerkan dengan menambahkan 2,5 µl kontrol ST 1 EU kedalam 247,5 µl PBST, kemudian campuran dihomogenkan. Kontrol Negatif dibuat dengan cara mencampurkan 2,5 µl Kontrol Negatif dan 247,5 µl PBST kemudian campuran dihomogenkan. Sampel 2,5 µl dicampurkan kedalam 247,5 µl PBST. Konjugat Protein A, dibuat dengan mengencerkan 2 µl konjugat ke dalam 32 ml PBST. Serum kontrol positif K 4 EU; K 2 EU; K 1 EU; K 0,5 EU; K 0,25 EU dan K 0,125 EU; serum kontrol ST 1 EU, serum kontrol Negatif dan serum sampel yang sudah diencerkan dimasukkan kedalam sumuran mikrotiter sebanyak 100 µl (duplo) sesuai urutan. Pada sumuran H11 dan H12 ditambahkan 100 µl PBST sebagai blank. Mikrotiter kemudian ditutup dengan plastik adsorben dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit.

Tutup plastik adsorben dibuka, kemudian cairan dalam mikrolat dibuang dan dicuci dengan 200 µl PBST sebanyak 4-5 kali dan ditapping sehingga tidak ada gelembung udara dalam sumuran. Konjugat protein A pengenceran 1:16000, ditambahkan sebanyak 100 µl pada semua sumuran mikrolat. Mikrolat ditutup dengan plastik adsorban dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Tutup plastik adsorben dibuka, kemudian cairan pada mikrolat dibuang. Mikroplate dicuci dengan 200 µl PBST sebanyak 4-5 kali dan ditapping hingga tidak ada gelembung udara didalam sumuran. Larutan substrat ditambahkan sebanyak 100 µl pada setiap sumuran dan diinkubasi di tempat gelap selama 10 menit (waktu dapat diperpanjang jika reaksi lambat). Larutan stopper ditambahkan 100 µl pada setiap sumuran kemudian dibaca dengan alat ELISA Reader dengan panjang gelombang 405 nm

Jumlah titer antibodi ditentukan berdasarkan formula yang disediakan pada prosedur uji kit, dimana kriteria awal yang diterima jika OD maximum (OD K4 EU) = 1.5 EU ≤ OD K4 EU ≤ 2.5 EU, nilai R² = 0.9 - 1, OD kontrol Negatif < OD K 0.5 EU dan OD PBST Blank ≤ 0.1. Interpretasi hasil EU sampel ≥ 0.5 EU nilai titer antibodi rabies cukup maka hasil positif. EU sampel < 0.5 EU, nilai titer antibodi tidak cukup maka hasil negative

Xema

Kontrol positif dibuat dengan melakukan pengenceran sebagai berikut: Tujuh tube steril diberi label dengan 4 IU, 2 IU, 1 IU, 0,5 IU, 0,25 IU, 0,125 IU serta 0 IU. Tube berlabel 2 IU, 1 IU, 0,25 IU dan 0,125 IU diisi dengan 150 µl Buffer EIA. Tube dengan label 4 IU, diisi dengan mengambil 300 µl dari CAL 3 (4 IU/ml). 150 µl CAL 4 yang ada di tube 4 IU ditambahkan ke dalam tube 2 IU, kemudian di vortex hingga homogen. 150 µl larutan dari tube 2 IU dipindahkan ke dalam tube 1 IU, kemudian dihomogenkan. Tube 0,5 IU diisi dengan larutan CAL 2 (0,5 IU/ml) sebanyak 300 µl. 150 µl larutan dari tube 0,5 IU dimasukkan ke dalam tube 0,25 IU, kemudian dihomogenkan. 150 µl larutan dari tube 0,25 IU, dimasukkan ke dalam tube 0,125 IU, di vortex sampai homogen. Tube dengan label 0 IU diisi dengan larutan CAL 1 (0 IU/ml) sebanyak 300 µl. Sampel dilakukan pre-dilusi pada plate kosong: DIL SPE (EIA Buffer) 50x contoh: 10 µl:490 µl, kemudian larutan tersebut dimasukkan ke setiap well sebanyak 100 µl dari masing masing tube kontrol dan sampel yang telah di predilusi. Mikroplate berisi kontrol dan sampel tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Well dikosongkan dan dicuci dengan wash solution 250 µl sebanyak 3 kali. 100 µl Konjugat Ready to use (Conjugate HRP) ditambahkan ke dalam sumuran, dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Well dikosongkan dan masing-masing well dicuci dengan wash solution 250 µl sebanyak 5 kali. Larutan substrat/ Substrate TMB ditambahkan ke dalam masing-masing well sebanyak 100 µl kemudian diinkubasi selama 10-20 menit, pada suhu 18-25°C. Larutan stop/ Stop solution ditambahkan ke dalam masing-masing well sebanyak 100 µl, kemudian dibaca menggunakan elisa reader dengan OD 450 nm.

Jumlah titer antibodi ditentukan berdasarkan formula yang disediakan pada prosedur uji kit, dimana hasil pengujian valid jika OD CAL 1 < 0.25, OD CAL 2 (0.5 IU/ml) berkisar Antara 0.2 - 0.9, dan OD CAL 3 (4 IU/ml) berada pada kisaran 1 - 3. Interpretasi hasil, tingkat antibodi tinggi jika OD sampel > OD CAL 3, memadai jika OD CAL 2 ≤ OD sampel ≤ OD cal 3 dan tidak cukup jika OD sampel < OD CAL 2

Hasil dan Pembahasan

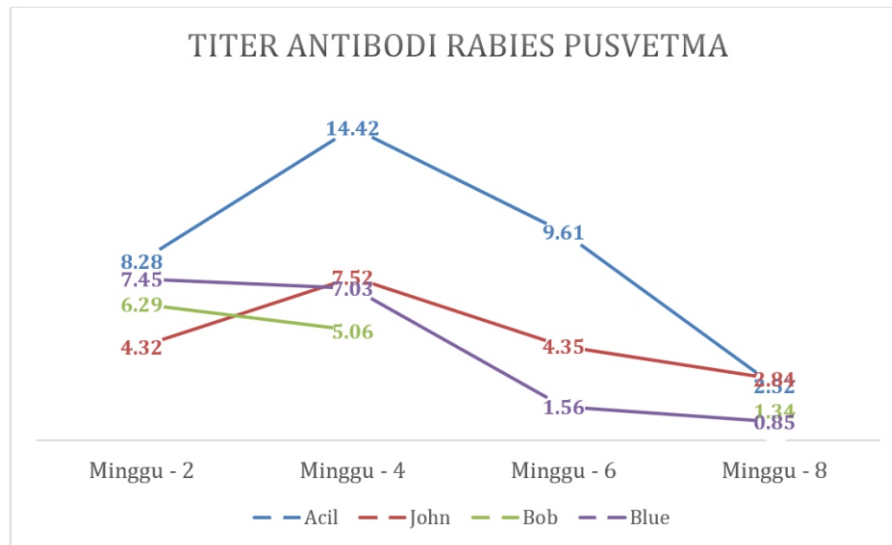
Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) merupakan pengujian imunologikal biokemikal yang digunakan untuk mendeteksi dan mengukur kadar antibodi, antigen, peptida, protein, glikoprotein, dan hormon di dalam sampel biologis (Zubair et al., 2026). Prinsip kerjanya yaitu dengan mendeteksi interaksi antigen-antibodi dengan menggunakan konjugat berlabel enzim dan substrat yang menghasilkan perubahan warna (Aydin et al., 2025). Pada uji Elisa, antigen atau antibodi yang menjadi target menempel pada media plastik (plate). Antigen yang dikenali oleh antibodi spesifik dari serum, akan berikatan dengan antibodi ke dua yang berkaitan dengan enzim. Enzim kemudian akan bereaksi dengan substrat akan menghasilkan warna yang dapat diukur. (Aydin et al., 2025; Lequin et al., 2005)

Tabel 1. Perbandingan Titer Antibodi kit Elisa PUSVETMA dan Xema

Koleksi Sampel	Nama Hewan	Titer Antibodi			
		Pusvetma	Interpretasi	Xema C-F	Interpretasi
Minggu-2	Acil	8.28	protektif	0.28	Non-protektif
	John	4.32	protektif	0.40	Non-protektif
	Bob	6.29	protektif	0.11	Non-protektif
	Blue	7.45	protektif	1.1	protektif
Minggu-4	Acil	14.42	protektif	0.32	Non-protektif
	John	7.52	protektif	0.28	Non-protektif
	Bob	5.06	protektif	0.23	Non-protektif
	Blue	7.03	protektif	0.47	Non-protektif
Minggu-6	Acil	9.61	protektif	0.43	Non-protektif
	John	4.35	protektif	0.21	Non-protektif
	Bob	-	-	-	-
	Blue	1.56	protektif	0.55	Non-protektif
Minggu-8	Acil	2.52	protektif	0.28	Non-protektif
	John	2.84	protektif	0.18	Non-protektif
	Bob	1.34	protektif	0.09	Non-protektif
	Blue	0.85	protektif	< min*	Non-protektif

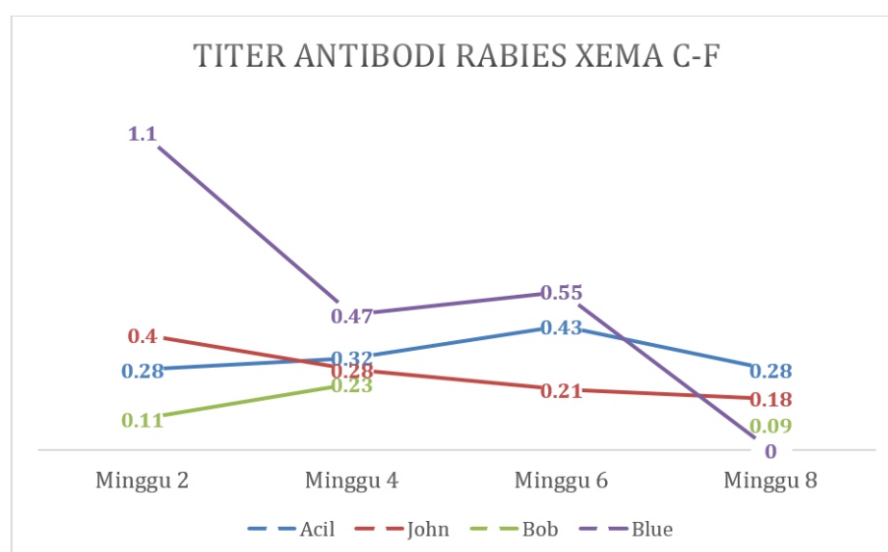
*Pada kit Xema titer antibodi yang terlalu rendah akan ditunjukkan dengan <min, dan titer antibody yang terlalu tinggi akan di tunjukkan dengan >max

Berdasarkan data pada tabel satu, terlihat ada perbedaan yang nyata antara hasil pengukuran titer antibodi menggunakan kit elisa Pusvetma dan Xema C-F. Kit elisa pusvetma menunjukkan bahwa hampir seluruh sampel memiliki titer antibodi protektif di setiap waktu pengambilan sampel. Berbanding terbalik dengan kit elisa Pusvetma, Xema C-F menginterpretasikan hampir seluruh sample sebagai non-protektif. Selain itu, pada koleksi sampel minggu ke-8, hasil pemeriksaan sampel kucing Blue dengan kit Xema C-F ditunjukkan sabagai <min, yang mengindikasikan bahwa kadar antibodi berada dibawah batas deteksi kit tersebut.



Gambar 1. Nilai Titer Antibodi Rabies Menggunakan Kit Elisa Pusvetma

Berdasarkan grafik diatas, terlihat bahwa pada minggu ke-2 titer antibodi rabies yang diperiksa menggunakan kit elisa rabies Pusvetma, sudah mulai terlihat (protektif) dan meningkat pada minggu ke-4. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian yang menyatakan bahwa, titer antibodi pasca vaksinasi mulai terbentuk pada hari ke-14 (minggu ke-2) pasca vaksin (Dodds et al., 2020; Fitria et al., 2016). Menurut Shiraishi et al., 2014, setelah vaksinasi titer antibodi tertinggi akan terbentuk pada minggu ketiga dan bertahan hingga minggu keempat, kemudian mengalami penurunan pada minggu-minggu berikutnya. Hasil dari grafik, juga dapat menjadi acuan waktu terbaik pengambilan sampel untuk pemeriksaan titer antibodi pasca vaksinasi rabies untuk surveilans dan keperluan lalulintas HPR. Hal ini karena pada periode tersebut, antibodi telah terbentuk secara maksimal, sehingga pengujian lebih representatif dalam menggambarkan keberhasilan vaksinasi dan status kekebalan hewan. Untuk keperluan lalulintas hewan, pengambilan sampel terlalu awal beresiko menghasilkan titer antibody yang masih rendah, sedangkan jika terlalu lama, dapat menunjukkan penurunan titer antibodi sehingga berpotensi tidak memenuhi syarat batas nilai protektif yang dipersyaratkan.



Gambar 2. Nilai Titer Antibodi Rabies Menggunakan Kit Elisa Xema C-F

Hal yang berbeda terlihat dari grafik titer antibodi rabies yang di periksa menggunakan kit elisa rabies Xema Canin-Feline. Meskipun terdapat peningkatan nilai titer pada minggu ke-4 dan minggu ke-6, namun nilai titer antibodi semua individu relative rendah, dan berada dibawah batas protektif (0,5 IU/ml) sepanjang periode pengamatan. Perbedaan hasil uji ini dapat terjadi karena beberapa faktor seperti perbedaan cut off pada kit dan perbedaan coated antigen pada dasar plate juga dapat mempengaruhi perbedaan hasil uji (Bastit et al., 2025). Dimana kit elisa rabies pusvetma menggunakan virus utuh (Whole Virus) virus rabies strain Pasteur 35321 untuk mengembangkan produknya. Sedangkan pada kit elisa rabies Xema tidak dijelaskan dengan rinci coating plate yang digunakan. Sensitivitas dan spesifisitas kit juga dapat mempengaruhi perbedaan hasil uji. Sensitivitas mengacu pada kemampuan tes kit mengidentifikasi sampel positif sebagai positif. sedangkan spesifitas mengacu pada kemampuan tes kit dalam mengidentifikasi sampel negatif sebagai negatif secara tepat (Aydin et al., 2025).

Perbedaan afinitas antibodi sekunder yang digunakan pada kit terhadap target antibodi, juga dapat mempengaruhi hasil elisa. Antibodi sekunder yang dikonjugasikan dengan enzim berfungsi mendeteksi antibodi spesifik yang telah berikatan dengan antigen pada permukaan mikroplat. Antibodi sekunder poliklonal, mampu mengenali beberapa epitop pada antibodi primer sehingga menghasilkan sinyal (warna) yang lebih tinggi (Walter et al., 2023). ELISA umumnya mengukur antibodi berdasarkan kemampuan pengikatan antibodi dan antigen (binding antibody-antigen), namun hal ini tidak secara langsung mengukur antibodi penetral (neutralizing antibody) yang berperan dalam proteksi terhadap infeksi (Walker et al., 2020; Zubair et al., 2026) sehingga perbedaan target pada tiap kit elisa juga dapat mempengaruhi hasil uji. Faktor lain seperti afinitas antibodi dan efek matriks serum juga dapat mempengaruhi interaksi antigen-antibodi.

Afinitas antibodi adalah kekuatan ikatan molekul antibodi dan epitope. Afinitas antibodi mempengaruhi hasil Elisa karena antibodi dengan afinitas tinggi akan menempel kuat dan lebih stabil sedangkan antibodi dengan afinitas rendah mudah lepas, sehingga mempengaruhi stabilitas kompleks antigen-antibodi dan mempengaruhi intensitas sinyal yang dihasilkan. Afinitas antibodi juga menentukan jumlah epitop virus yang dapat terikat. Antibody dengan afinitas tinggi, umumnya terbentuk setelah proses maturasi imun, namun tidak semua kit Elisa memiliki kemampuan yang sama dalam mendeteksinya. (Dowd et al., 2011; Ronderos et al., 2013).

Selain itu, adanya matrix effect dari serum, dapat mengganggu interaksi antigen-antibodi. Sampel serum atau plasma adalah senyawa kompleks yang terdiri dari lipid, protein, karbohidrat, garam, dan air. Seluruh komponen kecuali analit yang akan dideteksi, disebut sebagai efek matriks. Komponen serum lain (efek matriks) memiliki afinitas yang rendah, sehingga komponen ini menyebabkan tidak terjadi reaksi ikatan antigen antibodi sehingga berpotensi mempengaruhi akurasi dan sensitivitas, serta menyebabkan variasi hasil antar metode (Dodig, 2008).

Kesimpulan dan Saran

Hasil pengujian menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kit elisa Pusvetma dan Xema Canine-Feline dalam mendeteksi titer antibodi rabies. Pengujian menggunakan kit Elisa Pusvetma menunjukkan nilai titer antibodi yang lebih tinggi dibandingkan kit Elisa Xema yang menunjukkan nilai titer antibodi yang relatif rendah di sepanjang periode pengamatan. Perbedaan dapat disebabkan oleh faktor seperti perbedaan coating plate, perbedaan afinitas antibodi sekunder yang digunakan pada kit terhadap target antibodi, sensitivitas tiap kit, serta factor seperti afinitas antibodi dan matriks efek. Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan, beberapa saran yang dapat dilakukan antara lain, untuk melakukan uji konfirmasi seperti Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT) atau Fluorescent Antibody Virus

Neutralization (FAVN) untuk menentukan status protektif antibody rabies.

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar, serta membandingkan hasil Elisa dengan uji netralisasi.

Daftar Pustaka

- Aydin, S., Emre, E., Ugur, K., Aydin, M. A., Sahin, I., Cinar, V., & Akbulut, T. 2025. An Overview of ELISA: a Review and Update on Best Laboratory Practice for Quantifying Peptides and Proteins in Biological Fluids. *Journal of International Medical Research*, 53(2), 1-18
- Bastit, L. F., Marfil, S., Pradenas, E., Blanco, J., Alert, J. V., & Segales, J. 2025. Comparison of Three Commercial ELISA Kits for Detection of Antibodies Against SARS-CoV-2 in Serum Samples from Different Animal Species. *Viruses*, 17, 716
- Dodds, W. J., Larson, L. J., Christine K. L., & Schultz, R. D. 2020. Duration of Immunity After Rabies Vaccination in Dogs: The Rabies Challenge Fund Research Study. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 84, 153-158
- Dodig, S. 2008. Interferences in Quantitative Immunochemical Methods. *Biochemia Medica*, 19(1), 50-62
- Dowd K. A. & Pierson, T. 2011. Antibody-Mediated Neutralization of Flaviviruses: A Reductionist View. *Virology*, 411, 306-315
- Fitria, Y., Febrianto, N., Putri, R. E., & Subekti, D. T. 2016. Perbandingan Titer Antibodi Rabies Empat Vaksin Rabies pada Kelinci Dengan Metoda ELISA (Enzym Linked Immuno Assay) dan RFFIT (Rapid Fluorescent Ficus Inhibition Test). *Buletin Informasi Kesehatan Hewan*, 18, 92
- Jackson, A. C. 2010. Rabies Pathogenesis Update. *Rev Pan-Amaz Saude*, 1(1), 167-172
- Lanniari, N. 2024. Rabies. Balai Besar Pelatihan Kesehatan Hewan Cinagara : Bogor
- Lequin, R. M. 2005. Enzyme Immunoassay (EIA)/ Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Clinical Chemistry*, 51(12), 2415-2418
- Prasetyo, D., Santosa, P. E., Hartono, M., & Sirat, M. M. P. 2021. Pengaruh Pemberian Imunomodulator Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Titer Antibodi Avian Influenza dan Newcastle Disease pada Broiler Jantan. *Jurnal Riset dan Inovasi Peternakan*, 5(1), 37-42
- Ronderos, P. Q., Arango, M. T., Castiblanco, J., Correa, N. E., & Ortiz, G.M. 2013. Analysis of Proteins and Antibodies. *Autoimmunity from Bench to Bedside*, Section V, Chapter 48
- Shiraishi, R., Nishimura, M., Nakashima, R., Enta, C., & Hirayama, N. 2014. Neutralizing Antibody Respons in Dog and Cats Inoculated With Commercial Inactivated Rabies Vaccines. *J. Vet. Med. Sci*, 76(4), 605-609
- Walker, S. N., Chokkalingam, N., Reuschel, E. L., Purwar, M., Xu, Z., Gary, E. N., Kim, K. Y., Helble, M., Schulteis, K., Walters, J., Ramos, S., Muthumani, K., Smith, T. R. F., Broderick, K. E., Tebas, P., Patel, A., Weiner, D. B., & Kulp, D. W. 2020. SARS-CoV-2 Assays to Detect Functional Antibody Responses that Block ACE2 Recognition in Vaccinated Animals and Infected Patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(11)
- Walter, J., Eludin, Z., Drabovich, A. P. 2023. Redefining Serological Diagnostics with Immunoaffinity proteomics. *Clinical Proteomics*, 20:42
- WOAH. 2008. Rabies. *OIE Terrestrial Manual*. Ch. 2.1.13
- Zubair M, Singh C, Farhana A. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) [Updated 2026 Feb 20]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555922/>

Gambaran Histopatologi Feline Infectious Peritonitis pada Kucing Domestik

Gultom, C. R. P., Tinasari, Y., Sipayung, F.
Lab. Patologi, Balai Veteriner Lampung
Email : catrinerelia@gmail.com

ABSTRACT

Feline Infectious Peritonitis (FIP) is an infectious disease that has a high mortality rate in cats. This study aims to provide a histopathological description of cat deaths suspected FIP. The Pathology department of Disease Investigation Centre Lampung received a sample of feline cadaver with epidemiology code AR187101260011 from Bandar Lampung. The cadaver was necropsied and macroscopic changes were observed. Necroption finding was the accumulation of exudative and yellowish effusion fluid in abdominal cavity approximately 500 ml. The visceral organs in abdominal cavity as stomach, intestines, liver, kidney, and spleen showed swelling in the serosa, were covered by fibrin, observed granuloma nodules and jaundice. Effusion fluid samples conducting to Polymerase Chain Reaction (PCR) for FIP diagnosing. Organ samples including heart, lung, stomach, intestines, liver, kidney, and spleen were processed for histopathological using hematoxyline eosin staining. Histopathological finding in this study showed serositis, pyogranulomatous inflammation characterized by multinuclear giant cells, and vasculitis in heart, lung, stomach, intestines, liver, kidney, and spleen. Multifocal coalescing filled by macrophages, neutrophils, lymphocytes, cell debris, and plasma cells in heart, lung, stomach, intestines, liver, kidney, and spleen. Histopathological finding were serositis, vasculitis, pyogranulomatous nodules, and multifocal coalescing in liver, kidney, spleen, stomach, and intestines. Based on the necroption and histopathological finding, the cat death was caused by efusif form of FIP.

Keywords: *effusion fluid, Feline Infectious Peritonitis, histopathology*

ABSTRAK

Feline Infectious Peritonitis (FIP) adalah salah satu penyakit infeksius yang memiliki tingkat mortalitas tinggi pada kucing. Penelitian ini bertujuan untuk memberikan gambaran histopatologi pada kasus kematian kucing yang diduga FIP. Laboratorium Patologi menerima sampel berupa bangkai kucing domestik dengan nomor agenda epidemiologi AR187101260011 berasal dari Bandar Lampung. Bangkai tersebut kemudian dilakukan nekropsi dan diamati perubahan makroskopik. Hasil pemeriksaan bedah bangkai / nekropsi yang paling menciri adalah akumulasi cairan efusi sekitar 500 ml pada rongga abdomen dengan warna kekuningan dan konsistensi kental. Organ-organ visceral yang di rongga abdomen yaitu lambung, usus, hati, ginjal dan limpa mengalami pembengkakan di bagian serosa, terlapisi fibrin, terdapat nodul granuloma, serta terlihat jaundice. Sampel organ berupa jantung, paru, hati, limpa, ginjal, lambung, dan usus diproses untuk pengujian histopatologi dengan pewarnaan hematoxylin eosin (HE). Hasil pemeriksaan histopatologi pada penelitian ini menunjukkan serositis, peradangan pyogranulomatosa ditandai dengan multinuclear giant cell, vasculitis pada organ jantung, limpa, ginjal, hati, paru, lambung dan usus. Multifocal coalescing yang terisi oleh makrofag, neutrofil, limfosit, sel sel debris, dan plasma sel juga ditemukan pada organ jantung, limpa, ginjal, hati, paru, lambung dan usus. Gambaran umum histopatologi pada kasus kematian kucing tersebut adalah terjadinya serositis, vasculitis, pyogranulomatosa dan multifocal coalescing di organ-organ visceral, yaitu paru, hati, ginjal, limpa, lambung, dan usus. Berdasarkan hasil bedah bangkai dan gambaran histopatologi penyebab kematian kucing adalah Feline Infectious Peritonitis (FIP) tipe efusif.

Kata kunci: cairan efusi, Feline Infectious Peritonitis, histopatologi

Pendahuluan

Kucing merupakan salah satu hewan kesayangan yang memiliki populasi tinggi dan interaksi erat dengan manusia. Kucing memiliki risiko tinggi terhadap berbagai penyakit infeksius seiring dengan meningkatnya populasi. Salah satu penyakit infeksius yang memiliki tingkat mortalitas tinggi pada kucing adalah Feline Infectious Peritonitis (FIP). Penyakit ini dikenal sebagai salah satu penyakit sistemik yang bersifat fatal pada kucing dengan manifestasi klinis yang beragam. FIP merupakan penyakit yang disebabkan oleh Feline coronavirus (FCoV), menyerang kucing domestik dan liar di seluruh dunia (Pedersen, 2009). FCoV merupakan virus RNA rantai tunggal tidak bersegmen dari ordo Nidovirales, famili Coronaviridae, subfamili Coronavirinae, genus Alphacoronavirus 1. Partikel virus berbentuk bulat atau polimorfik dengan bentuk heliks simetris dan diameter 80-120 nm. FCoV merupakan virus beramplop dengan panjang spike 15-20 nm (Jaimes and Whittaker, 2018).

Infeksi FCoV pada kucing umumnya tidak menunjukkan gejala spesifik, tetapi pada manifestasi pencernaan gejala klinis teramati jelas yaitu diare dan muntah. Terdapat dua bentuk klinis FIP yaitu: bentuk 'basah' atau efusif dan bentuk 'kering' atau non-efusif (Solikhah, 2024; Taharaguchi, 2012). Gejala klinis yang umum pada kedua tipe FIP adalah anoreksia, lemah, dehidrasi, ikterus, dan adanya gejala saraf seperti kejang, inkoordinasi dan lemah otot (Solikhah, 2024; Tekelioglu, 2015; Riemer, 2016). Gejala klinis FIP menunjukkan perbedaan nyata antara tipe efusif dan tipe non-efusif. gejala saraf lebih sering dijumpai pada FIP tipe non-efusif (Tasker, 2023). Tanda klinis lain seperti demam, penurunan berat badan, diare, lesi okular dan kerusakan ginjal lebih banyak terlihat pada FIP tipe non-efusif FIP. FIP tipe efusif sangat menciri dengan distensi abdomen, asites, cairan efusi pada pleura dan pericardium, serta sesak nafas merupakan gejala klinis utama tipe ini (Moyadee, 2024; Tasker, 2023).

Prevalensi infeksi FCoV dapat mencapai 90% di lingkungan padat populasi kucing dan 10%–60% terjadi pada kucing rumahan di seluruh dunia (Ozturk, 2025). Infeksi FCoV primer terjadi pada enterosit dan menyebar ke darah melalui monosit menyebabkan viremia (Solikhah, 2024; Muz, 2023).

Sebanyak 20% kucing yang terinfeksi Feline Enteritic Corona Virus (FCoV tipe pencernaan) mengalami mutasi virus, namun hanya 12%–13% dari kasus ini yang berkembang menjadi FIP. Perkembangan ini bergantung pada faktor-faktor utama inang dan virus, termasuk virulensi virus dan reaksi imun seluler (Addie, 2009). Perkembangan FIP sangat berkorelasi dengan beberapa faktor risiko termasuk stres, infeksi kompleks, imunitas, dan kepadatan populasi yang tinggi. Prevalensi penyakit ini lebih tinggi pada kucing muda berusia 3–16 bulan. Hal ini terjadi karena perlindungan antibodi maternal melemah dan menghasilkan penurunan sistem kekebalan tubuh (Voge, 2010; Addie, 2009).

Penyakit ini memiliki lesi makroskopis yang menciri meliputi granuloma di berbagai organ, poliseritis, akumulasi cairan efusif tinggi protein, dan lymphadenomegaly mesenterika (Ozturk, 2025). FIP non-efusif ditandai dengan pembentukan granuloma yang melibatkan sistem saraf pusat, mata dan organ di rongga perut (terutama ginjal, hati, kelenjar getah bening mesenterika dan dinding usus), dan tidak menghasilkan efusi rongga tubuh (Solikhah, 2024; Moyadee, 2024). Lesi menciri pada FIP meliputi fibrinous serositis, peradangan pyogranulomatosa, vasculitis/ perivasculitis, serta multifocal coalescing pada ginjal, hati, paru, otak dan usus (Cannon, 2005; Kipar, 2014; Ozturk, 2025). Fibrinous serositis dan granuloma paling sering terdeteksi di hati, ginjal dan usus. Perivasculitis secara umum terlihat di hati, paru-paru, otak, dan ginjal (Stranieri, 2020; Felten, 2017; Murphy, 2024). Gambaran histopatologi pada rongga dada menunjukkan lesi utama pada pleura dan parenkim paru terdistribusi multifokal hingga masif. Lesi menciri pada organ pernapasan meliputi pleuritis, pleuritis dan vasculitis parenkim paru, pleuritis dan pneumonia, vasculitis tanpa pleuritis, dan pneumonia tanpa pleuritis. Virus FIP terdeteksi di pleura dan parenkim paru terutama pada makrofag perivaskuler dan peribronchial, bronchial-associated lymphoid tissue (BALT) dan area nekrosa (Slaverio, 2024). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penyebab kematian kucing dengan melakukan bedah bangkai, pengujian molekuler, dan histopatologi serta memberikan gambaran histopatologi pada kasus kematian kucing yang diduga FIP.

Materi dan Metode

Alat dan bahan

Laboratorium Patologi menerima sampel berupa bangkai kucing dengan nomor agenda epidemiologi AR187101260011 berasal dari Bandar Lampung. Alat dan bahan yang digunakan untuk nekropsi meliputi seperangkat gunting, pinset, pisau bedah, hand gloves, masker, PPE, dan sample container. Beberapa peralatan yang digunakan untuk pengujian histopatologi antara lain tissue processor, tissue embedding, mikrotom, pisau mikrotom disposable, inkubator (38-42oC), flotation bath, hot plate, object glass, cover glass, mikroskop binokuler, pensil kaca, pinset, skalpel no.22, dan satu set jar (embedding cassette). Beberapa bahan yang digunakan untuk pengujian histopatologi antara lain buffer neutral formalin 10%, alkohol absolut, aquadest, xylene, parafin, hematoxyline, dan eosin. Bangkai tersebut kemudian dilakukan nekropsi dan diamati perubahan makroskopik. Sampel organ yang mengalami perubahan makroskopik menciri dikirim ke laboratorium bioteknologi dan patologi. Sampel organ lainnya diproses untuk pengujian histopatologi.

Metode Pengujian histopatologi

Pembuatan preparat histopatologi dari sampel organ kucing melalui tahap fiksasi, dehidrasi, embedding, parafin blok, pemotongan, pewarnaan dan mounting. Fiksasi dilakukan dengan menyimpan potongan jaringan ke dalam buffered neutral formalin 10% selama 24 jam. Jaringan didehidrasi menggunakan tissue processor yang di dalamnya terdapat ethanol bertingkat 70%, 80%, dan 90%, absolut I, absolut II, absolut III, masing-masing dilakukan selama 60 menit. Setelah dehidrasi selesai kemudian dilakukan penjernihan dengan menggunakan xylol I, xylol II dan xylol III. Jaringan selanjutnya diinfiltrasi parafin cair 2 kali masing-masing 1 jam, dicetak, kemudian dipotong dengan mikrotom 3-5 mikron (Suvana et al., 2013).

Pewarnaan HE dimulai dengan deparafinisasi menggunakan xylol I, xylol II dan xylol III masing-masing dilakukan selama 5 menit. Preparat dimasukkan ke dalam ethanol absolut I, absolut II, absolut III, ethanol 90%, ethanol 80% dan ethanol 70% masing-masing selama 5 menit. Preparat selanjutnya dibilas dengan aquadest dan direndam dalam Hematoxilin selama 5 menit, kemudian dibilas kembali menggunakan air mengalir selama 5 menit, selanjutnya direndam dalam Eosin selama 3-5 menit. Preparat direndam ke dalam ethanol 70%, ethanol 80%, ethanol 90%, absolut I, absolut II dan absolut III masing-masing selama 3 menit, xylol I, xylol II dan xylol III masing-masing 5 menit. Tahap terakhir ditutup dengan entelan dan gelas penutup serta dilanjutkan dengan pembacaan menggunakan mikroskop (Suvana et al., 2013).

Hasil dan Pembahasan

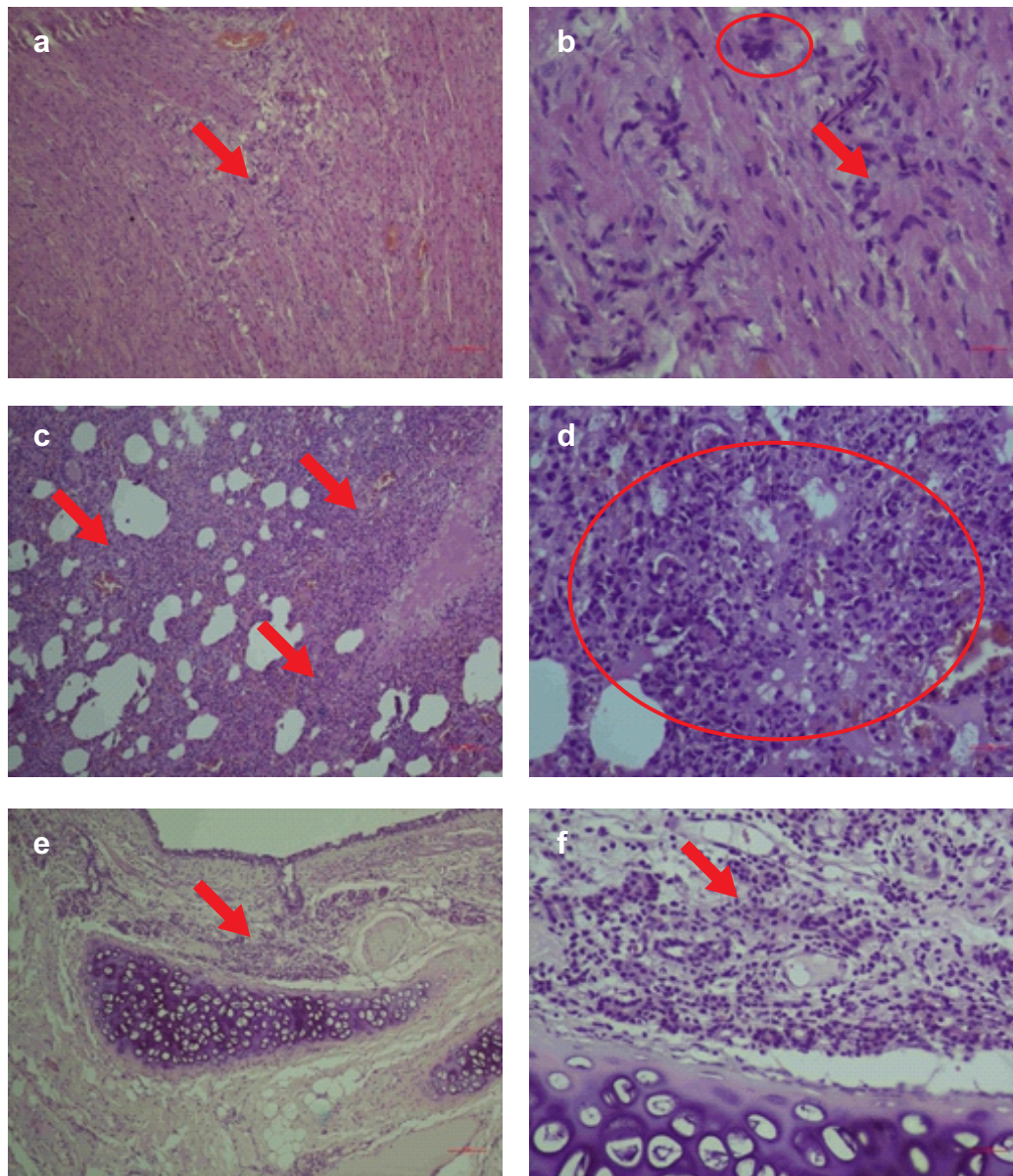
Kucing ditemukan dalam kondisi mati, tampak kurus, bulu kusam, dan adanya distensi abdomen. Mukosa mata dan mulut kucing terlihat jaundice. Hasil pemeriksaan bedah bangkai/nekropsi yang paling menciri adalah akumulasi cairan efusi sekitar 500 ml pada rongga abdomen dengan warna kekuningan dan konsistensi kental (Gambar 1). Hal ini sesuai dengan Ozturk, (2025) yang menyatakan bahwa pada FIP tipe efusif ditandai dengan adanya akumulasi cairan efusif. Organ-organ visceral yang di rongga abdomen terlapisi fibrin dan jaundice. Gambaran makroskopik pada organ hati menunjukkan adanya pembesaran pada sebagian lobus hati, serta teraba keras dengan tepi tumpul. Jantung, limpa dan kedua ginjal kucing tersebut mengalami pembekakan. Area serosa lambung dan usus terdapat nodul granuloma, hal ini sesuai dengan temuan penelitian sebelumnya (Ozturk, 2025). Mukosa usus dan lumen usus berisi eksudat kataralis berwarna abu-abu disertai hemoragi pada mukosa usus.



Gambar 1. Akumulasi cairan efusi pada rongga abdomen

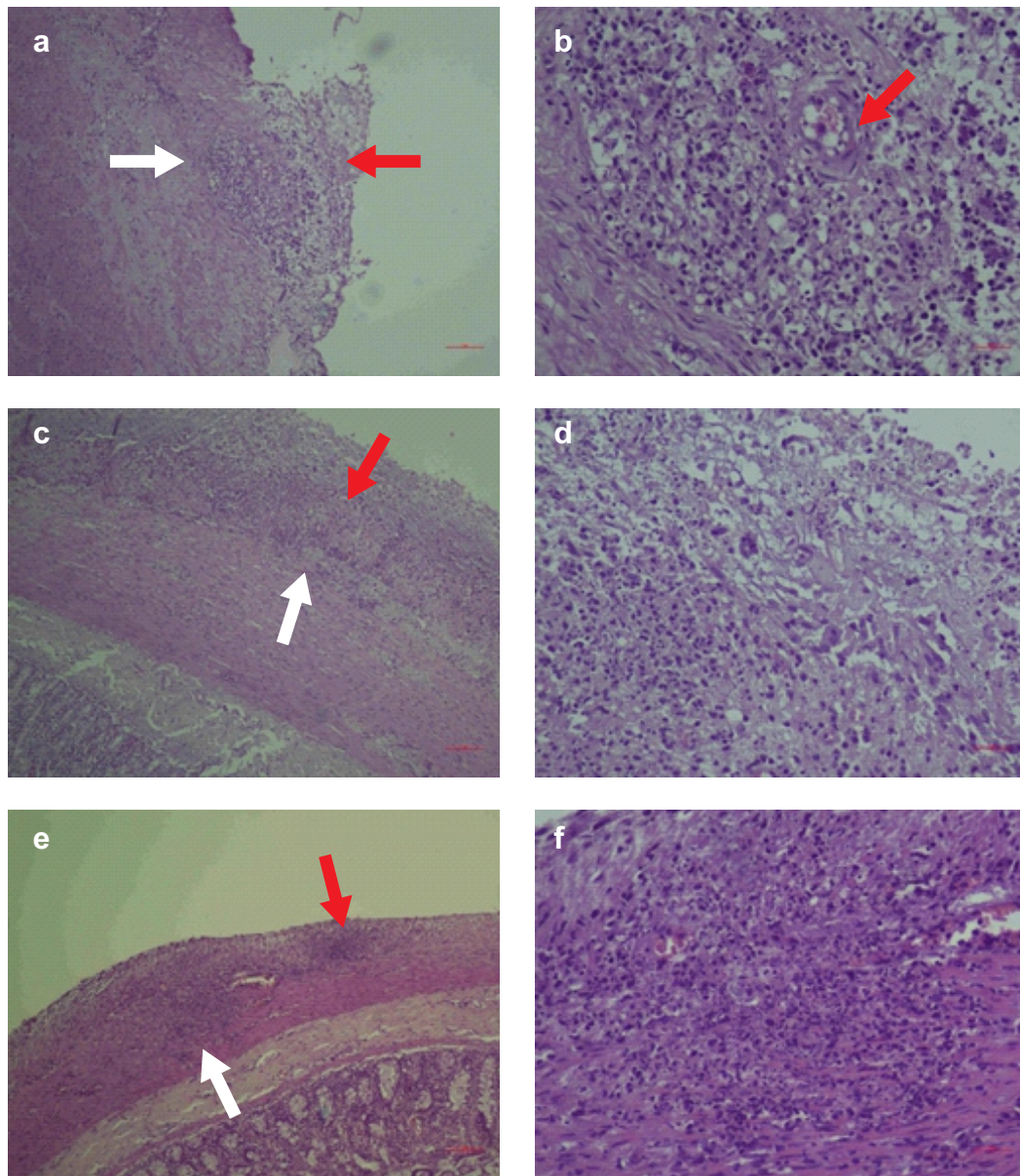
Pemeriksaan histopatologi dilakukan pada organ-organ yang ada di rongga dada yaitu paru dan jantung, serta organ-organ yang ada di rongga abdomen meliputi lambung, usus, hati, ginjal, dan limpa. Hasil pemeriksaan histopatologi pada penelitian ini menunjukkan serositis, peradangan pyogranulomatosa ditandai dengan multinuclear giant cell, vasculitis pada organ jantung, limpa, ginjal, hati, paru, lambung dan usus. Multifocal coalescing yang terisi oleh makrofag, neutrofil, limfosit, sel sel debris, dan plasma sel juga ditemukan pada organ jantung, limpa, ginjal, hati, paru, lambung dan usus. Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya, lesi berupa fibrinous serositis, peradangan pyogranulomatosa, vasculitis/perivasculitis, serta multifocal coalescing pada ginjal, hati, paru, otak dan usus sangat menciri pada FIP (Cannon, 2005; Kipar, 2014; Ozturk, 2025).

Myocardium jantung mengalami infiltrasi limfosit dan multinuclear giant cell serta terjadi degenerasi hidropik multifokal pada endokardium jantung (Gambar 2.a dan 2.b). Penebalan dinding septa alveoli terjadi secara masif (Gambar 2.c). Alveoli juga mengalami multifocal necrosis (coalescing) yang terisi oleh makrofag, neutrofil, limfosit, sel sel debris, plasma sel, dan beberapa multinuclear giant cell (Gambar 2.d). Lumen alveoli terisi oleh masa eosinofilik multifokal. Hiperplasia Broncho Associated Lymphoid Tissue (BALT) ringan terjadi pada bronkus dan bronkiolus (Gambar 2.e dan 2.f). Vaskulitis multifokal ringan terjadi pada pembuluh darah serta lumen pembuluh darah terisi oleh masa eosinofilik, neutrofil, dan monosit. Gambaran histopatologi organ pada rongga dada di penelitian ini sesuai dengan temuan Slaverio (2024).



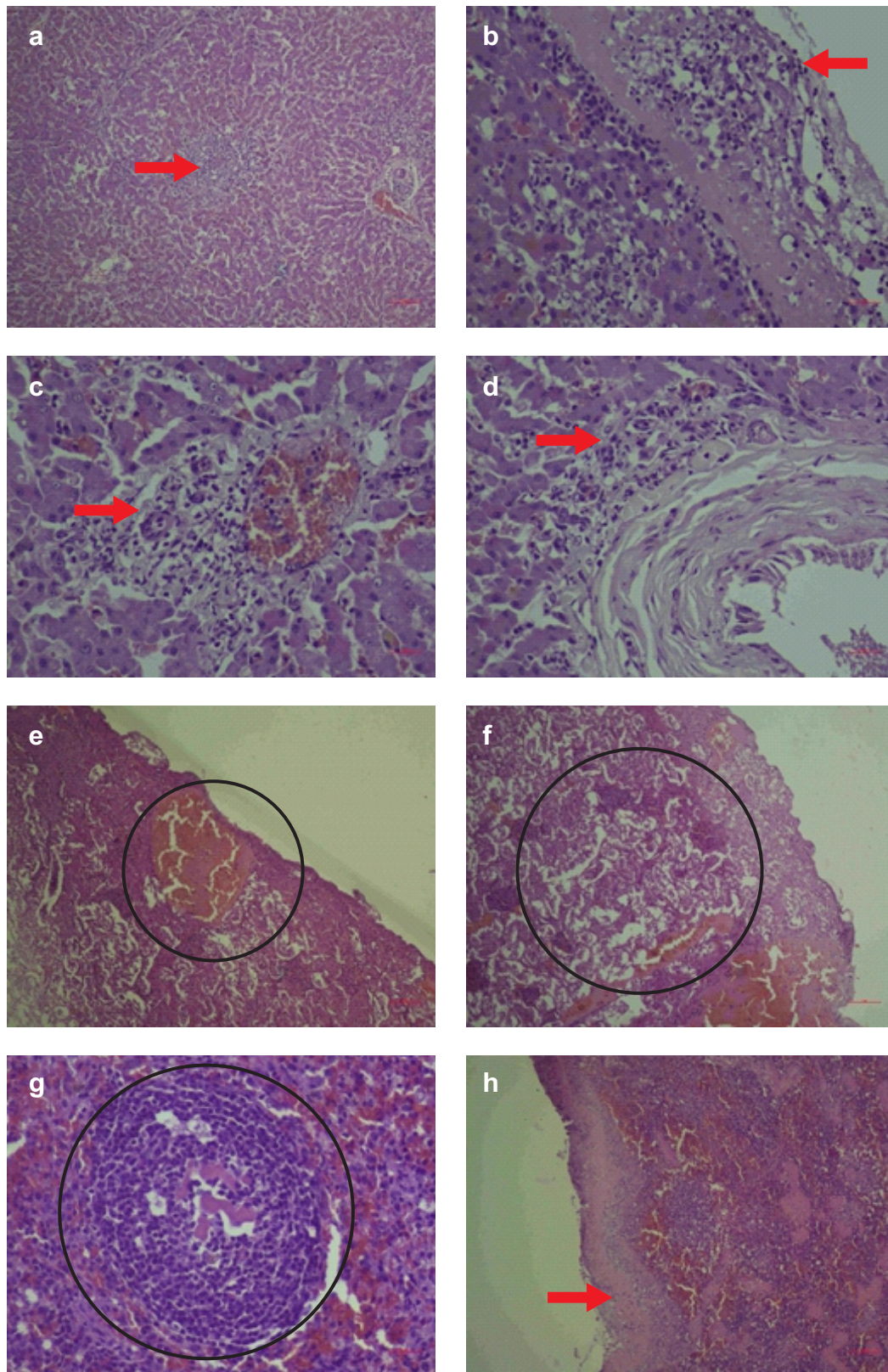
Gambar 2. a. Infiltrasi limfosit (tanda panah) pada myocardium jantung (HE 10x); b. Infiltrasi limfosit (tanda panah) dan multinuclear giant cell (lingkaran) pada myocardium (HE 40x); c. Penebalan dinding septa alveoli (tanda panah) secara masif (HE 10x); d. alveoli mengalami multifocal necrosis coalescing (lingkaran) terisi oleh makrofag, neutrofil, limfosit, sel-sel debris, plasma sel, dan multinuclear giant cell (HE 40x); e. hiperplasia Broncho Associated Lymphoid Tissue (BALT) ringan (tanda panah) pada bronkus (HE 10x); f. perbesaran lebih kuat dari gambar e (HE 40x)

Lapisan serosa dan muskularis lambung dan usus mengalami multifocal coalescing oleh fibrin, makrofag, multinuclear giant cell, sel-sel debris, limfosit, neutrofil, dan koloni bakteri (Gambar 3). Gambaran histopatologi ini menunjukkan bahwa lambung dan usus yang berada di rongga abdomen dalam kondisi terendam oleh cairan efusif. Cairan efusif sebagai representasi virus FIP dan produk metabolitnya mengalami kontak langsung dengan bagian serosa lambung dan usus. Kondisi ini menyebabkan masuknya virus ke bagian serosa yang menyebabkan respon peradangan pada serosa. Hal ini sesuai dengan temuan Ozturk(2025) bahwa gambaran patologis FIP pada usus ditandai dengan fibrinous serositis, peradangan pyogranulomatosa, dan *multifocal coalescing*.



Gambar 3. (a) Lapisan serosa (panah merah) dan muskularis (panah putih) lambung mengalami multifocal coalescing oleh fibrin, makrofag, multinuclear giant cell, sel-sel debris, limfosit, neutrofil, dan koloni bakteri (HE 10x); (b) perbesaran lebih kuat dari gambar a (HE 40x); Lapisan serosa (panah merah) dan muskularis (panah putih) mengalami multifocal coalescing oleh fibrin, makrofag, multinuclear giant cell, sel-sel debris, limfosit, neutrofil, dan koloni bakteri pada duodenum (c), colon (e), HE 10x; (d) perbesaran kuat dari area coalescing lapisan serosa pada gambar (c), HE 40x; (f) perbesaran kuat dari area coalescing lapisan muskularis pada gambar (e), HE 40x

Lobus-lobus hati mengalami multifocal necroza (coalescing) terisi oleh makrofag, sel debris, neutrofil, plasma cell, multinuclear giant cell, dan limfosit (Gambar 4a). Porta hepatica mengalami vasculitis (Gambar 4c) dan cholangitis (Gambar 4d) multifokal. Capsula hepatis mengalami penebalan dan nekroza terisi oleh fibrin, sel debris, dan makrofag (Gambar 4b). Area korteks ginjal terlihat area infark multifokal dengan ukuran bervariasi (Gambar 4e). Tubulus ginjal mengalami kerusakan masif ditandai dengan vakuolisasi diikuti oleh infiltrasi sel-sel limfosit, makrofag, dan multinuclear giant cell (Gambar 4f). Pulpa putih limpa mengalami deplesi multifokal diikuti oleh bentukan granuloma dengan sentra granuloma terisi oleh massa eosinofilik (Gambar 4g). Kapsula limpa terlihat multifocal coalescing terisi oleh makrofag, sel debris, neutrofil, plasma cell, dan limfosit (Gambar 4h).



Gambar 4. multifocal necrosa coalescing (tanda panah) pada lobus (a) dan kapsula (b) hati terisi oleh makrofag, sel debris, neutrofil, plasma cell, multinuclear giant cell, dan limfosit (HE 10x); (c) terlihat vasculitis pada area porta hepatica (tanda panah), HE 40x; (d) infiltrasi sel-sel radang di sekitar ductus biliverus (tanda panah), HE 40x; (e) terjadi infark (lingkaran) pada lapisan korteks ginjal (HE 10x); (f) Tubulus ginjal mengalami kerusakan masif ditandai dengan vakuolisasi, infiltrasi sel-sel limfosit, makrofag, dan multinuclear giant cell (HE 10x); (g) Pulpa putih mengalami deplesi, terlihat bentukan granuloma dengan sentra granuloma terisi oleh massa eosinofilik (lingkaran), HE 40x; (h) multifocal coalescing oleh makrofag, sel debris, neutrofil, plasma cell, dan limfosit pada kapsula limpa (tanda panah), HE 40x

Kesimpulan

Berdasarkan hasil bedah bangkai dan gambaran histopatologi penyebab kematian kucing adalah Feline Infectious Peritonitis (FIP) tipe efusif. Gambaran umum histopatologi pada kasus kematian kucing tersebut adalah terjadinya multifocal coalescing di organ-organ visceral, yaitu paru, hati, ginjal, limpa, lambung, dan usus.

Daftar Pustaka

- Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., et al. Feline infectious peritonitis. 2009. ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg.* 11:594–604. doi: 10.1016/j.jfms.2009.05.008
- Cannon, M.J., Silkstone, M.A., Kipar, A.M. 2005. Cutaneous lesions associated with coronavirus-induced vasculitis in a cat with feline infectious peritonitis and concurrent feline immunodeficiency virus infection. *J Feline Med Surg.* 7:233–236. doi: 10.1016/j.jfms.2004.12.001.
- Felten, S., Leutenegger, C.M., Balzer, H.J., Pantchev, N., Matiassek, K., Wess, G. et al. 2017. Sensitivity and specificity of a real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction detecting feline coronavirus mutations in effusion and serum/plasma of cats to diagnose feline infectious peritonitis. *BMC Vet Res.* 13:1–11. doi: 10.1186/s12917-017-1147-8
- Jaimes, J.A., Whittaker, G.R. 2018. Feline coronavirus: Insights into viral pathogenesis based on the spike protein structure and function. *Virology* 517, 108–121, 10.1016/j.virol.2017.1012.1027.
- Kipar, A., Meli, M.L. 2014. Feline infectious peritonitis: Still an enigma? *Vet Pathol.* 51:505–526. doi: 10.1177/0300985814522077.
- Moyadee, W., Sunpongsri, S., Choowongkamon, K., Roytrakul, S., Rattanasrisomporn, A., Tansakul, N., et al. 2024. Feline infectious peritonitis: a comprehensive evaluation of clinical manifestations, laboratory diagnosis, and therapeutic approaches. *J Adv Vet Anim Res.* 11:19–26. doi: 10.5455/javar.2024.k742
- Moyadee, W., Sunpongsri, S., Choowongkamon, K., Roytrakul, S., Rattanasrisomporn, A., Tansakul, N., et al. 2024. Feline infectious peritonitis: a comprehensive evaluation of clinical manifestations, laboratory diagnosis, and therapeutic approaches. *J Adv Vet Anim Res.* 11:19–26. doi: 10.5455/javar.2024.k742
- Murphy, B.G., Castillo, D., Neely, N.E., Kol, A., Brostoff, T., Grant, C.K., et al. 2024. Serologic, Virologic and pathologic features of cats with naturally occurring feline infectious peritonitis enrolled in antiviral clinical trials. *Viruses.* 16:462. doi: 10.3390/v16030462
- Muz, D., Muz, M.N. 2023. Detection of feline coronavirus, feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus, and other pathogen genetic material in whole blood from domestic cats in Türkiye. *Acta Vet Eurasia.* 49:141–8. doi: 10.5152/actavet.2023.23017
- Ozturk, G.Y., Kayar, A., Bamac, O.E., Tali, H.E., Ozkan, I.E., Umar, S., Aydin, A. 2025. Phylogenetic, clinical, pathological and epidemiological characterization of feline coronavirus infections in cats, in Istanbul. *Front. Vet. Sci.*, 10 October 2025; Sec. Veterinary Epidemiology and <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1645884>
- Pedersen, N.C. 2009. A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963–2008. *J Feline Med Surg.* 11(4):225–258. doi:10.1016/j.jfms.2008.09.008
- Riemer, F., Kuehner, K.A., Ritz, S., Sauter-Louis, C., Hartmann, K. 2016. Clinical and laboratory features of cats with feline infectious peritonitis-a retrospective study of 231 confirmed cases (2000–2010). *J. Feline Med. Surg.* 18, 348–356.

- Slaviero, M, Cony, F.G., da Silva, R, De Lorenzo, C., de Almeida, B.A., Bertolini, M., [Driemeier, D., Pavarini, S.P., Sonne, L. 2024. Pathological findings and patterns of feline infectious peritonitis in the respiratory tract of cats. Journal of Comparative Pathology. Volume 210, April 2024, Pages 15-24](#)
- Solikhah, T.I., Agustin, Q.A.D., Damaratri, R.A., Siwi, D.A.F., Rafi'uttaqi, G.N., Hartadi, V.A., et al. 2024. A review of feline infectious peritonitis virus infection. Vet World. 17:2417–32. doi: 10.14202/vetworld.2024.2417-2432
- Stranieri, A., Scavone, D., Paltrinieri, S., Giordano, A., Bonsembiante, F., Ferro, S., et al. 2020. Concordance between histology, immunohistochemistry, and RT-PCR in the diagnosis of feline infectious peritonitis. Pathogens. 9:852. doi: 10.3390/pathogens91008
- Taharaguchi, S., Soma, T., Hara, M. 2012. Prevalence of feline coronavirus antibodies in Japanese domestic cats during the past decade. J Vet Med Sci. 74:1355–8. doi: 10.1292/jvms.11-0577
- Tasker, S., Addie, D.D., Egberink, H., Hofmann-Lehmann, R., Hosie, M.J., Truyen, U., et al. 2023. Feline infectious peritonitis: European advisory board on cat diseases guidelines. Viruses. 15:1847. doi: 10.3390/v15091847
- Tekelioglu, B.K., Berriatua, E., Turan, N., Helps, C.R., Kocak, M., Yilmaz, H. 2015. A retrospective clinical and epidemiological study on feline coronavirus (FCoV) in cats in Istanbul, Turkey. Prev Vet Med. 119:41–7. doi: 10.1016/j.prevetmed.2015.01.017
- Vogel, L., Van der Lubben, M., te Lintelo, E.G., Bekker, C.P., Geerts, T., Schuijff, L.S., et al. 2010. Pathogenic characteristics of persistent feline enteric coronavirus infection in cats. Vet Res. 41:71. doi: 10.1051/vetres/2010043

Analisis Biaya Manfaat dan Strategi Penanganan Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) Pada Sapi di Kabupaten Bangka Tengah, Provinsi Bangka Belitung

Guntoro, Tri⁽¹⁾ dan Rahmawati⁽²⁾

⁽¹⁾Bagian Epidemiologi, Balai Veteriner Lampung

⁽²⁾Dinas Pertanian dan Ketahanan Pangan Kabupaten Bangka Tengah

Email : guntoros2_2005@yahoo.co.id

ABSTRACT

Foot and Mouth Disease (FMD) is a strategic transboundary animal disease characterized by its rapid transmission and substantial economic losses to the livestock sector. This study aimed to analyze the economic impact of FMD and evaluate the feasibility of a vaccination-based control program for cattle in Central Bangka Regency, Bangka Belitung Province. Data were collected using purposive random sampling from three farmers affected by the FMD outbreak. The data consisted of primary data obtained through interviews and secondary data on livestock population, control costs, treatment costs, and the economic value of livestock. A Cost-Benefit Analysis (CBA) approach was employed using Net Present Value (NPV), Benefit-Cost Ratio (BCR), and Internal Rate of Return (IRR) indicators over a three-year period with a discount rate of 5%. The results showed that, out of a population of 6,529 cattle, the morbidity rate reached 20% and the mortality rate was 0.29%, resulting in a total economic loss of IDR 5,224,056,210, comprising direct losses of IDR 576,510,700 and indirect losses of IDR 4,647,545,510. The vaccination-based control program required a total cost of IDR 1,015,216,530 over three years and generated economic benefits amounting to IDR 8,186,060,200. The analysis yielded an NPV of IDR 6,300,875,331, a BCR of 7.84, and an IRR of 955.04%. These findings indicate that FMD control through vaccination is highly feasible and provides substantial economic returns. Therefore, the continuous implementation of vaccination programs should be prioritized as an FMD control policy to protect animal health and ensure the sustainability of livestock production.

Keywords: cost-benefit analysis, economic impact, cattle, Central Bangka. Foot and Mouth Disease

ABSTRAK

Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) merupakan penyakit hewan menular strategis yang memiliki tingkat penyebaran sangat cepat dan menimbulkan kerugian ekonomi yang besar pada sektor peternakan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis dampak ekonomi PMK serta mengevaluasi kelayakan program pengendalian melalui vaksinasi pada ternak sapi di Kabupaten Bangka Tengah, Provinsi Bangka Belitung. Pengambilan data dilakukan secara purposive random sampling terhadap tiga peternak yang terdampak wabah PMK. Data yang digunakan meliputi data primer hasil wawancara dan data sekunder berupa populasi ternak, biaya pengendalian, biaya pengobatan, serta nilai ekonomi ternak. Analisis dilakukan menggunakan pendekatan Cost Benefit Analysis (CBA) dengan indikator Net Present Value (NPV), Benefit Cost Ratio (BCR), dan Internal Rate of Return (IRR) selama periode tiga tahun dengan tingkat diskonto 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari populasi 6.529 ekor sapi, angka kesakitan mencapai 20% dan angka kematian sebesar 0,29%, dengan total kerugian ekonomi sebesar Rp5.224.056.210, yang terdiri atas kerugian langsung sebesar Rp576.510.700 dan kerugian tidak langsung sebesar Rp4.647.545.510. Program pengendalian melalui vaksinasi membutuhkan biaya sebesar Rp1.015.216.530 selama tiga tahun dan menghasilkan manfaat ekonomi sebesar Rp8.186.060.200. Hasil analisis menunjukkan nilai NPV sebesar Rp6.300.875.331, nilai BCR sebesar 7,84, dan nilai IRR sebesar 955,04%. Temuan ini menunjukkan bahwa strategi pengendalian PMK melalui vaksinasi sangat layak dan memberikan keuntungan ekonomi yang tinggi. Oleh karena itu, penerapan program vaksinasi secara berkelanjutan perlu diprioritaskan sebagai kebijakan pengendalian PMK untuk melindungi kesehatan ternak dan menjaga keberlanjutan usaha peternakan.

Kata kunci: Analisa biaya manfaat, bangka tengah, dampak ekonomi, penyakit mulut dan kuku, sapi

Pendahuluan

Ternak seperti sapi, kerbau, domba, kambing, kuda, babi, dan unggas merupakan bagian penting dalam kehidupan masyarakat agraris karena memberikan berbagai manfaat ekonomi dan sosial. Namun, keberadaan ternak juga dapat menimbulkan kerugian besar apabila terjadi wabah penyakit hewan menular. Penularan penyakit dari hewan ke manusia tidak hanya terjadi melalui kontak dengan ternak, tetapi juga dapat berasal dari hewan kesayangan maupun satwa liar (Suradi, 2004). Salah satu penyakit hewan yang perlu mendapat perhatian serius adalah Penyakit Mulut dan Kuku (PMK).

Setelah Indonesia dinyatakan bebas PMK selama 32 tahun, Pusat Veteriner Farma (PUSVETMA) Surabaya melalui surat Nomor 05001/PK.310/F4.H/05/2022 tanggal 5 Mei 2022 serta surat Nomor 06001/PK.310/F4.H/05/2022 dan 06002/PK.310/F4.H/05/2022 tanggal 6 Mei 2022 melaporkan kembali adanya kejadian PMK di beberapa wilayah, antara lain Kabupaten Gresik, Lamongan, Mojokerto, dan Sidoarjo di Provinsi Jawa Timur, serta dugaan kasus di Kabupaten Aceh Tamiang, Provinsi Aceh. Berdasarkan informasi tersebut, pemerintah mengeluarkan peringatan mengenai potensi dampak yang dapat ditimbulkan terhadap sektor peternakan nasional.

Penyakit Mulut dan Kuku disebabkan oleh virus Foot and Mouth Disease Virus (FMDV) (MacLachlan dan Dubovi, 2017; Carter dan Saunders, 2013). Penyakit ini menyerang hewan berkuku belah (cloven-hoofed animals), seperti sapi potong, sapi perah, kerbau, domba, kambing, dan babi. Secara klinis, hewan yang terinfeksi menunjukkan gejala berupa demam hingga mencapai 41°C, hipersalivasi, penurunan nafsu makan, kelemahan, enggan berdiri, pincang, penurunan bobot badan, serta berkurangnya produksi susu pada ternak perah. Tingkat morbiditas penyakit ini dapat mencapai hampir 100% (Adjid, 2020; Balai Penelitian Veteriner, 2000).

Virus PMK memiliki kemampuan penyebaran yang sangat cepat. Penularan dapat terjadi melalui udara, di mana virus dapat terbawa angin tenang sejauh 2–3 mil dan bahkan lebih dari 10 mil pada kondisi angin yang kuat. Virus juga masih mampu

menyebabkan infeksi meskipun telah berada di udara selama hingga 14 hari (Syamsudin, 2001). Dengan karakteristik tersebut, PMK berpotensi menyebar secara luas ke berbagai wilayah di Indonesia dalam waktu relatif singkat dan dapat menimbulkan dampak ekonomi yang signifikan (USDA, 2007).

Kerugian ekonomi akibat PMK telah banyak dilaporkan di berbagai negara. Inggris mengalami kerugian sekitar £2,7 miliar akibat wabah PMK pada tahun 2001 (Davies, 2002). Selain itu, Taiwan pada tahun 1997 mengalami kerugian sebesar USD 6,617 miliar, Uruguay pada tahun 2001 sebesar USD 0,08 miliar, Jepang pada tahun 2010 sebesar USD 0,55 miliar, serta Korea Selatan pada periode 2010–2011 sebesar USD 2,8 miliar (Ruston dan Knight, 2015). Secara global, dampak ekonomi tahunan yang ditimbulkan oleh PMK diperkirakan berkisar antara USD 6,5 miliar hingga USD 21 miliar (Naipospos dan Suseno, 2017).

Menurut Knight et al. (2015), dampak PMK dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Balai Penelitian Veteriner (2000) melaporkan bahwa kerugian akibat PMK meliputi penurunan produksi susu hingga 25% per tahun, perlambatan pertumbuhan sapi potong sehingga waktu mencapai dewasa menjadi 10–20% lebih lama, kehilangan tenaga kerja ternak sebesar 60–70% pada bulan pertama pasca-infeksi, penurunan fertilitas dengan tingkat abortus mencapai 10%, peningkatan mortalitas pada anak domba dan babi sebesar 20–40%, pemusnahan ternak yang mengalami infeksi kronis, terganggunya perdagangan dan manajemen peternakan, hilangnya peluang ekspor, serta tingginya biaya yang diperlukan untuk kegiatan eradikasi penyakit.

Munculnya kembali PMK di Indonesia menunjukkan adanya ancaman serius terhadap keberlanjutan sektor peternakan dan perekonomian nasional. Oleh karena itu, kajian ini bertujuan untuk: (1) mengetahui mekanisme penularan Penyakit Mulut dan Kuku pada ternak sapi dan kerbau, serta (2) menganalisis dampak ekonomi yang ditimbulkan oleh penyakit tersebut pada usaha peternakan sapi dan kerbau.

Diketahui bahwasannya Kabupaten Bangka Tengah dari awal Mei sampai 14 September 2022. Hasilnya prevalensi kasus PMK di kecamatan Pangkalan Baru 44.60%, kecamatan Simpang Katis 49.70%,

kecamatan Namang 6.10%, kecamatan Koba 6.80% dan kecamatan Sungai selan 0.54% (Wulandani, 2022). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi pemerintah daerah dalam mengambil kebijakan dalam menentukan program pengendalian yang paling tepat untuk dijalankan berdasarkan skala prioritas dan

bentuk strategi yang paling menguntungkan. Dengan populasi di Kabupaten Bangka Tengah 6529 ekor (data dari dinas Peternakan Bangka Tengah) perlu dilakukan kajian ekonomi veteriner dalam hal ini adalah Cost Benefit Analisis/ Analisis Biaya Manfaat (CBA) dengan alternatif vaksinasi PMK.

Materi dan Metode

Penentuan Contoh dan Pengambilan Data

Penentuan contoh dan pengambilan data responden dilakukan di Kabupaten Bangka Tengah dengan pertimbangan daerah tersebut merupakan daerah yang terjadi outbreak/ wabah PMK. Metode pengambilan sampel adalah secara purposive random sampling dengan memodifikasi teknik yang dilakukan oleh Dhand et al. (2005). Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer dan data sekunder. Data primer berupa input dan output usaha peternakan yang diperoleh dari wawancara terhadap peternak sapi terkena dampak dari PMK. Total responden sebanyak 3 orang. Data sekunder meliputi data populasi ternak, biaya investigasi, biaya pengobatan, biaya pengangkutan, biaya pencarian vaksin dan harga ternak serta data lainnya yang berkaitan dengan penelitian ini.

Analisis Data

Analisis biaya manfaat dilakukan dengan tahapan sebagai berikut, (1) penetapan laba kotor (gross margin) saat ini dengan adanya kasus PMK, (2) penyusunan variabel yang memengaruhi gross margin, dengan adanya program pengendalian PMK, (3) penentuan biaya variabel yang diperlukan untuk melaksanakan program pengendalian kejadian PMK, (4) penentuan lamanya waktu dari manfaat dan biaya serta tahun yang manfaat sepenuhnya bisa dirasakan, (5) penyusunan daftar biaya awal (biaya investasi) yang akan diperlukan dan tetapkan kapan biaya tersebut disertakan, (6) penetapan besarnya area yang akan dianalisis, misalnya jumlah ternak yang akan diikuti sertakan dalam program, (7) pembuatan arus kas tiga tahunan untuk skenario "dengan" dan "tanpa" pengendalian, (8) penentuan diskonto yang berlaku, dan (9) membandingkan alternatif pengendalian dengan menggunakan kriteria nilai keuntungan (net present value, NPV), rasio manfaat/biaya (benefit/cost ratio, BCR) dan internal rate of return (IRR). Data biaya manfaat dianalisis untuk ruang lingkup ekonomi veteriner dan strategi pengendalian (Kusbianto, et al. 2012).

Hasil dan Pembahasan

Sebanyak 3 responden yang diwawancarai berasal dari Kabupaten Bangka Tengah. Berdasarkan kejadian PMK yang terjadi di peternakan, dari hasil diskusi dengan responden didapatkan data sebagai berikut:

Tabel 1. Informasi dari responden yang ada di Kabupaten Bangka Tengah

No	Parameter	Nilai
1	Populasi sapi di Kabupaten Bangka Tengah (2022)	6529 ekor
2	Angka Kematian (Mortality Rate)	0,29%
3	Angka Kesakitan (Morbidity Rate)	20%
4	Harga Sapi	Rp 30.000.000,00
5	Total kerugian secara langsung	Rp 576.510.700,00

No	Parameter	Nilai
6	Kerugian akibat penutupan daerah	Rp 4.309.140.000,00
7	Biaya pengendalian PMK	Rp 338.405.510,00
8	Total kerugian tidak langsung	Rp 4.647.545.510,00
9	Nilai Diskont	5 %
10	Waktu	3 tahun
	Total Kerugian dalam tahun pertama	Rp 202.180.000,00

Tabel 2. Rincian biaya dan manfaat dalam setahun

Dampak Ekonomi PMK		
Populasi Sapi		6.529,00
A. Kerugian Langsung		
Angka Kesakitan		20,00%
Angka Kematian		0,29%
Jumlah Sapi yang mati		19
Jumlah Hewan yang sakit		1306
Biaya Pengobatan		Rp6.500,00
Harga Sapi tanpa PMK		Rp30.000.000,00
Kerugian karena kematian sapi		Rp568.023.000,00
Total biaya pengobatan		Rp8.487.700,00
Total kerugian langsung		Rp576.510.700,00
B.Kerugian tidak langsung		
B.1. Kerugian karena sapi di karantina		
B.1.1. Peternak		
Prosentase menurunnya harga sapi		50%
Prosentase sapi yang tidak terjual		20%
Kerugian Peternak		Rp3.917.400.000,00

B.1.2. Pedagang

Prosentase sapi yang tidak terjual ke luar Kabupaten Bangka Tengah 20%

Jumlah yang harusnya keluar 1.305,80

Keuntungan yang harusnya didapat Pedagang Rp150.000,00

Kehilangan penghasilan pedagang Rp195.870.000,00

B.1.3. Bisnis transportasi

Biaya transportasi kirim keluar Bangka Tengah Rp150.000,00

Kehilangan dari Bisnis transportasi **Rp195.870.000,00**

Total kerugian Bisnis Transportasi Rp4.309.140.000,00

B.2. Biaya Kontrol PMK

B.2.1. Biaya Investigasi

Jumlah Personil 4

Biaya Harian Rp380.000,00

Akomodasi Rp550.000,00

Unit Akomodasi 2

Jumlah hari 3

Biaya Rp1.500.000,00

Investigation days 4

stationaries Rp250.000,00

materials and equipment Rp500.000,00

investigation costs Rp16.130.000,00

B.2.2. Laboratory costs

Cost of PCR Rp500.000,00

Number of PCR samples 40

ELISA Rp80.000,00

sample submission costs Rp100.000,00

Laboratory costs Rp20.100.000,00

B.2.3. Vaccination costs

Coverage	70%
dosages	6000
Vaccine price	Rp3.700,00
transportation of vaccines	Rp8.000,00
vaccinators	15
operational needs	10.000
materials	Rp3.000.000,00
vaccination costs	Rp102.175.510,00

B.2.4. vector eradication costs

insecticides+Sprayer+Premix+Mineral	Rp200.000.000,00
PMK control costs	Rp338.405.510,00
Indirect loss	Rp4.647.545.510,00
PMK total loss	Rp5.224.056.210,00

Tabel 3. Penghitungan Analisis Biaya dan Manfaat dengan tingkat diskonto 5 % selama 3 tahun

Item	Year				Total
	0	1	2	3	
Change of Jembrana levels		0%	85%	100%	
Costs					
Capital					
Recurrent costs					
Investigation costs		16.130.000	16.130.000	16.130.000	48.390.000

Item	Year				Total
	0	1	2	3	
Laboratory costs		20.100.000	20.100.000	20.100.000	60.300.000
Vaccination costs		102.175.510	102.175.510	102.175.510	306.526.530
Vector eradication+Premix+Mineral		200.000.000	200.000.000	200.000.000	600.000.000
					0
Total costs	0	338.405.510	338.405.510	338.405.510	1.015.216.530
Benefits					
Losses of animals and treatments		0		576.510.700	576.510.700
General economy		0	3.496.279.500	4.113.270.000	7.609.549.500
					0
Total benefits	0	0	3.496.279.500	4.689.780.700	8.186.060.200
Undiscounted benefits minus costs	0	-338.405.510	3.157.873.990	4.351.375.190	7.170.843.670
Discounted costs	0	322.290.962	306.943.773	292.327.403	921.562.138
Discounted benefits	0	0	3.171.228.571	4.051.208.898	7.222.437.469
Discounted benefits minus costs	0	-322.290.962	2.864.284.798	3.758.881.494	6.300.875.331
NPV	6.300.875.331				
BCR	7,84				
IRR	955,04%				
Item	Year				
	0	1	2	3	
Cumulative benefits minus costs	0	-338.405.510	2.819.468.480	7.170.843.670	

Tingkat penularan PMK dikenal dengan “angka reproduksi” atau R_0 , yaitu jumlah infeksi baru yang timbul dari satu infeksi dan estimasi R_0 sangat penting dalam pemahaman wabah PMK dan potensi bahaya penularannya (Heffernan et al, 2005). Selanjutnya, disebutkan bahwa apabila $R_0 < 1$, artinya setiap individu yang terinfeksi menghasilkan rata-rata kurang dari satu individu baru yang terinfeksi. Jika $R_0 > 1$, maka patogen dapat menyerang populasi yang rentan. Hal ini adalah aspek yang paling penting dan berguna dari konsep R_0 . Kejadian PMK dapat dikatakan kejadian luar biasa (outbreak) hanya dapat terjadi jika $R_0 > 1$ (Perez et al., 2004).

Sejak diumumkannya kejadian PMK oleh pemerintah, yaitu pada tanggal 6 Mei 2022 sampai dengan tanggal 20 Mei 2022, terjadi penularan PMK yang cukup pesat. Terhitung hanya dalam jangka waktu 2 minggu sejak tanggal 6 Mei 2022, jumlah kabupaten yang terkena dampak PMK tanggal 6 Mei 2022 sebanyak 5 kabupaten melonjak menjadi 62 kabupaten/kota di tanggal 20 Mei 2022 (Gambar 2). Populasi sapi dan kerbau yang terdampak di tanggal 6 Mei 2022 sebanyak 2.447 ekor menjadi 4,63 juta ekor dalam kurun waktu 2 minggu. Ternak yang mati pun melonjak dari 49 ekor menjadi 133 ekor. Hal ini mengindikasikan, penularan PMK ini telah menjadi kejadian luar biasa (KLB) yang perlu penanganan yang tepat.

Berdasarkan perhitungan tingkat penularan PMK, dengan memperhatikan tingkat laju kelahiran (sapi dan kerbau), laju populasi rentan, laju populasi terpapar positif, laju populasi terinfeksi yang diisolasi, laju kematian, dan laju populasi terpapar yang diisolasi menunjukkan bahwa nilai R_0 yang dihasilkan selama 2 minggu adalah $R_0 = 2,85$. Artinya, setiap satu ternak yang tertular virus PMK memiliki daya tular terhadap 3 ekor ternak sapi dan kerbau.

Nilai kerugian ekonomi pada waktu penanggulangan PMK masih bersifat rutin dengan dana yang terbatas pada periode tahun 1963 – 1978 yaitu berjumlah Rp 135 milyar atau Rp 6,75 trilyun nilai sekarang. Pada waktu wabah PMK tahun 1983, dana yang disediakan pemerintah untuk pemberantasan mencapai Rp 3 milyar termasuk bantuan Pemerintah Australia sebesar A AUD\$ 8 juta (Rp 45 milyar nilai sekarang). Nilai kerugian ekonomi wabah tahun 1983 adalah sebesar 12 milyar, sedangkan besarnya kerugian apabila tidak dilakukan pengendalian mencapai Rp. 55 milyar atau Rp. 1,1 trilyun nilai sekarang.

Melalui program pemberian vaksinasi sesuai dengan SOP diasumsikan akan terjadi penurunan kematian ternak karena kejadian PMK, perbaikan ini mendapatkan penurunan prevalensi atau angka kejadian hingga 0% di tahun ke tiga (Tabel 3). Analisis biaya manfaat ini memberikan gambaran pilihan terhadap kebijakan dengan melakukan pendekatan ekonomi veteriner yang ditunjukkan melalui Tabel 3 (Tingkat diskonto 5%). Untuk dapat membandingkan biaya dan manfaat yang terjadi pada tahun berbeda, kita perlu mengonversi nilai-nilainya ke nilai kini. Hal ini dilakukan dengan menggunakan teknik yang dikenal sebagai discounting. Discounting membutuhkan suatu tingkat suku bunga yang dikenal sebagai tingkat diskonto. Tingkat diskonto tidak harus sama dengan suku bunga perbankan. Rumus discounting adalah sebagai berikut:

$$\text{Nilai kini (Present Value atau PV)} = \frac{X_t}{(1+r)^t}$$

dengan **PV** adalah nilai kini

X_t adalah jumlah uang dalam tahun t ,

r adalah tingkat diskonto (dituliskan sebagai suatu proporsi: yakni 5 % = 0,05), dan

t adalah jumlah tahun dari tanggal kini.

Analisis biaya manfaat vaksinasi pada ternak sapi dilakukan dengan membuat perhitungan arus kas untuk jangka waktu selama 3 tahun dan menggunakan data input yang ada di dalam tabel-tabel tersebut.

Dari data arus kas, maka dapat dihitung tiga parameter pengendalian, yaitu nilai NPV, rasio B/C dan internal rate of return (IRR) seperti yang disajikan di dalam Tabel 2 dan 3. Berdasarkan nilai NPV yang diperoleh, manajemen vaksinasi PMK memberikan keuntungan sebesar Rp 6.300.875.330.72 dengan nilai BCR 7,84 hal ini menggambarkan program ini sangat menguntungkan, karena jika tidak dilakukan upaya ini dimungkinkan peternak dengan skala kepemilikan yang sedikit akan terus mendapatkan kerugian.

Penelitian ini memiliki keterbatasan yaitu nilai angka kesembuhan berdasarkan judgement (wawancara) bukan berdasarkan pada pengujian ataupun studi literatur.

Kesimpulan

Manajemen (pengaturan) vaksin PMK akan lebih menguntungkan dengan nilai NPV sebesar **Rp 6.300.875.330.72** selama 3 tahun dan nilai BCR lebih dari 0 yakni 7,84.

Saran

Analisa biaya dan manfaat sangat bermanfaat untuk memandu pengambil kebijakan apabila ukuran yang diperhitungkan adalah berapa besar tingkat efisiensi yang ditimbulkan, dengan perkataan lain, analisa biaya-manfaat ini sangat memperhitungkan untung rugi melalui ukuran nilai uang, oleh karenanya memerlukan kecermatan dan tingkat berfikir yang sangat rasional.

Ucapan Terima Kasih

Penghargaan dan ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Dinas Pertanian dan Peternakan Kabupaten Bangka Tengah yang bersedia dijadikan tempat penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Adjid RMA. 2020. Penyakit Mulut dan Kuku pada Hewan Rentan. Bogor (ID): Pusat Penelitian Veteriner.
- Balai Penelitian Veteriner. 2000. Penyakit Mulut dan Kuku dan Dampak Ekonominya. Bogor (ID): Balai Penelitian Veteriner.
- Carter GR, Saunders VA. 2013. Virology: Principles and Applications. Ed ke-2. Chichester (UK): John Wiley & Sons.
- Davies G. 2002. The Foot and Mouth Disease epidemic in the United Kingdom 2001. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 25(5-6):331-343.
- Dhand NK, Gumber S, Singh BB, Aradhana, Bal MS, Kumar H, Sharma DR, Singh J, Sandhu KS. 2005. A study on the epidemiology of brucellosis in Punjab (India) using Survey Toolbox. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*. 24(3):879-885.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2022. Foot-and-mouth disease emergency response in Indonesia. Rome (IT): FAO.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2025. Foot-and-mouth disease. Rome (IT): FoodAgriculture Organization.
- Heffernan JM, Smith RJ, Wahl LM. 2005. Perspectives on the basic reproductive ratio. *J R Soc Interface*. 2(4):281-293.
- Knight J, Rushton J, Yadav S, Bellet C. 2015. The Economic Impacts of Foot and Mouth Disease. Rome (IT): Food and Agriculture Organization.
- Kusbianto E, Pribadi ES, Siregar AA. 2012. Analisis biaya manfaat dan strategi pengendalian penyakit anthrax di Pulau Sumbawa Provinsi Nusa Tenggara Barat. *J Veteriner*. 13(4):456-464.
- MacLachlan NJ, Dubovi EJ. 2017. Fenner's Veterinary Virology. Ed ke-5. London (UK): Academic Press.

- Naipospos TSP, Suseno PP. 2017. Dampak ekonomi penyakit mulut dan kuku dan strategi pengendaliannya di Indonesia. Dalam: Materi Workshop Ekonomi Veteriner. Bogor (ID).
- Perez AM, Ward MP, Carpenter TE, Thurmond MC. 2004. Simulation model of within-herd transmission of foot-and-mouth disease in cattle under intensive production systems. *Prev Vet Med*. 63(1-2):65-79.
- Pusat Veteriner Farma (PUSVETMA). 2022. Surat Nomor 05001/PK.310/F4.H/05/2022 tanggal 5 Mei 2022 tentang laporan kejadian Penyakit Mulut dan Kuku di Indonesia. Surabaya (ID): PUSVETMA.
- Pusat Veteriner Farma (PUSVETMA). 2022. Surat Nomor 06001/PK.310/F4.H/05/2022 dan 06002/PK.310/F4.H/05/2022 tanggal 6 Mei 2022 tentang laporan dugaan kasus Penyakit Mulut dan Kuku di Indonesia. Surabaya (ID): PUSVETMA.
- Rushton J. 2017. Materi Workshop Ekonomi Veteriner. Liverpool (UK): University of Liverpool.
- Rushton J, Knight J. 2015. The economics of Foot-and-Mouth Disease. Rome (IT): Food and Agriculture Organization.
- Suradi. 2004. Penyakit Zoonosis pada Hewan dan Manusia. Jakarta (ID): Penebar Swadaya.
- Syamsudin. 2001. Penyakit Mulut dan Kuku: Epidemiologi dan Pengendaliannya. Bogor (ID): Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan.
- USDA. 2007. Foot-and-Mouth Disease. Washington DC (US): United States Department of Agriculture.
- Wulandani. 2022. Laporan Kejadian Penyakit Mulut dan Kuku di Kabupaten Bangka Tengah Periode Mei–September 2022. Bangka Tengah (ID): Dinas Pertanian dan Peternakan Kabupaten Bangka Tengah.

Gambaran Patologis Ko-Infeksi Avian Influenza dan Newcastle Disease pada Ayam Buras

Susilo, J., Wibowo, B.T, and Gultom, C.R.P.

Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung

Email : jokosusilobvet@gmail.com

ABSTRACT

Avian influenza (AI) and Newcastle disease (ND) are acute viral diseases in poultry that cause high morbidity and mortality. Co-infection between AI and ND has been widely reported in commercial and domestic poultry, especially on farm with low levels of biosecurity. This study aims to determine the cause domestic poultry death by necropsy, histopathology, immunohistochemistry, and providing histopathological description of AI and ND co-infection. The Pathology department of Disease Investigation Centre Lampung received a sample of domestic poultry cadaver with epidemiology code AR187101260087 from Metro District of Lampung. Confirmation of the diagnosis is carried out by necropsy and followed by histopathology finding. Immunohistochemical (IHC) techniques were carried out to determine the distribution of Avian influenza and Newcastle disease virus agents. IHC for Avian Influenza and Newcastle Disease was performed on the proventriculus, pancreas, duodenum, tonsils, lungs, brain and ovaries. Necropsy results showed cyanosis area on comb, head area appeared congestive and hemorrhagic. Congestion and hemorrhage occur in multiorgan including the trachea, lungs, heart, liver, kidneys, spleen, brain, ovaries, and digestive tract. Histopathological finding were congested, hemorrhage, focal or multifocal necrosis in acinar cell and the islets of langerhans. The submucosal glands and mucosa of proventriculus showed hemorrhage and infiltration of lymphocytes and heterophils. The cecal tonsils showed congestion, massive hemorrhage, and lymphoid hyperplasia in mucosal tonsil. Intrafollicular and perifollicular ovaries showed congestion and massive hemorrhage. The result of IHC for AI and ND showed immunopositive reactions colored brown in multiorgan. The antigen-antibody binding of AI and ND were expressed clearly in the submucosal glands of proventriculus, parabronchus of lungs, pancreas, duodenum, cecal tonsils, encephalon, intrafollicular and parafollicular ovaries. Based on pathological finding, mortality case in domestic poultry caused by Avian Influenza and Newcastle Disease co-infection.

Keywords: Co-infection, Avian Influenza, Newcastle Disease, Histopathology, Immunohistochemistry

ABSTRAK

Avian influenza (AI) dan Newcastle disease (ND) merupakan penyakit viral akut pada unggas yang menimbulkan morbiditas dan mortalitas tinggi pada perunggasan. Ko-infeksi antara virus AI dan ND banyak dilaporkan pada unggas komersial dan ayam buras, terutama pada peternakan dengan tingkat biosekuriti rendah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penyebab kematian ayam buras dengan melakukan bedah bangkai, pengujian histopatologi dan imunohistokimia serta memberikan gambaran histopatologi pada kasus ko-infeksi Avian Influenza dan Newcastle Disease. Laboratorium Patologi menerima sampel berupa bangkai ayam buras dengan nomor agenda epidemiologi AR187101260087 berasal dari Kota Metro, Lampung. Peneguhan diagnosa dilakukan dengan nekropsi, dilanjutkan dengan pengamatan mikroskopik pengujian histopatologi terhadap semua organ yang mengalami perubahan makroskopis. Teknik pengujian imunohistokimia (IHK) dilakukan untuk mengetahui distribusi agen virus Avian Influenza dan Newcastle Disease. Pengujian IHK terhadap Avian Influenza dan Newcastle Disease dilakukan pada proventrikulus, pankreas, duodenum, seka tonsil, paru, otak dan ovarium. Hasil nekropsi menunjukkan area cyanosis pada pial dan area mulut terlihat kongestif dan hemoragi. Kongestif dan hemoragi terjadi pada keseluruhan organ yaitu trakea, paru, jantung, hati, ginjal, limpa, otak, ovarium serta saluran pencernaan. Gambaran histopatologi menunjukkan pankreas terlihat kongesti, perdarahan masif, serta nekrosis pada sel-sel asinar fokal atau multifokal dan pada pulau Langerhans serta perdarahan mukosa duodenum. Glandula submukosa proventrikulus dan mukosa mengalami perdarahan dan infiltrasi limfosit dan heterofil.

ABSTRAK

Seka tonsil mengalami kongesti, perdarahan masif, serta hiperplasia jaringan limfoid pada lapisan mukosa. Intrafolikuler dan perifolikuler ovarium terlihat area kongesti dan perdarahan masif. Hasil IHK terhadap AI dan ND menunjukkan beberapa organ menunjukkan reaksi imunopositif berwarna coklat. Ikatan antigen-antibodi AI dan ND terekspressikan sangat jelas pada glandula submukosa proventrikulus, parabronchus paru, pankreas, duodenum, seka tonsil, encephalon, serta intrafolikuler dan parafolikuler ovarium. Gambaran patologi menunjukkan bahwa penyebab kematian ayam buras adalah ko-infeksi Avian Influenza dan Newcastle Disease.

Kata kunci: Ko-infeksi, Avian Influenza, Newcastle Disease, Histopatologi, Imunohistokimia

Pendahuluan

Avian influenza (AI) atau dikenal sebagai flu burung merupakan penyakit viral akut pada unggas yang disebabkan oleh virus influenza tipe A subtype H5 dan H7 (Adlhoch, 2020). Spesies rentan terhadap virus AI adalah burung liar, itik, burung puyuh, babi, kucing, kuda, ayam petelur, ayam pedaging, ayam kampung, entok, angsa, kalkun, burung unta, burung merpati, burung merak putih, burung perkutut (OIE, 2021). Penyakit ini bersifat zoonosis dan angka kematian sangat tinggi dapat mencapai 100% (WHO, 2022). Penyebab Avian influenza (AI) merupakan virus ss-RNA yang tergolong famili Orthomyxoviridae, dengan diameter 80-120 nm dan panjang 200-300 nm. Sifat alami agen virus AI mudah mati oleh panas, sinar matahari, dan desinfektan seperti deterjen, amonium kuarterner, formalin 2-5%, iodium kompleks, senyawa fenol, serta natrium/alium hipoklorit (Lee et al., 2017). Media pembawa virus berasal dari ayam sakit, burung, serta peralatan yang tercemar, seperti kotoran ayam, pupuk, alat transportasi, dan rak telur (egg tray). Virus tersebut dapat bertahan di air selama 4 hari pada suhu 22°C dan lebih dari 30 hari pada 0°C (Adlhoch, 2020).

Sifat penyakit berdasarkan patotipenya, virus AI dibedakan menjadi Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) atau tipe ganas dan Low Pathogenic Avian Influenza (LPAI) atau tipe kurang ganas. HPAI ditandai dengan tingkat kematian tinggi yang mencapai 100% (Verhagen, 2021). High Pathogenic Avian Influenza (HPAI) secara umum menimbulkan kematian akut. Gejala klinis yang terlihat pada ayam penderita HPAI antara lain terlihat berwarna biru keunguan pada jengger, pial, kelopak mata, telapak kaki, dan adanya perdarahan pada kaki berupa bintik-bintik merah (ptekhie).

Gejala lainnya yaitu keluarnya cairan dari mata dan hidung, pembengkakan pada muka dan kepala, diare, batuk, bersin dan gangguan pernafasan (Lee et al., 2017). Ayam menunjukkan penurunan nafsu makan, penurunan produksi telur, kerabang telur lembek, adanya gangguan syaraf seperti tortikolis, lumpuh dan gemeteran. Strain yang sangat ganas (virulen) dan menyebabkan avian influenza adalah subtype A H5N1 (WHO, 2022). Low Pathogenic Avian Influenza (LPAI) pada umumnya tidak menunjukkan gejala klinis (WOAH, 2021).

Newcastle disease (ND) merupakan penyakit yang sangat patogen pada unggas. Penyakit ini memiliki morbiditas dan mortalitas yang tinggi dengan penyebaran yang cepat (WOAH, 2021). Newcastle disease dapat menginfeksi berbagai jenis unggas, seperti ayam, bebek, angsa, merpati, dan beberapa unggas lainnya (Zhang et al., 2011). Bebek dan angsa bertindak sebagai reservoir alami yang tidak menunjukkan gejala klinis tetapi dapat menularkan penyakit tersebut ke ayam. Newcastle disease (ND) disebabkan oleh strains virulen dari Avian orthoavulavirus 1 dari genus Orthoavulavirus subfamili Avulavirinae famili Paramyxoviridae (Amarasinghe et al., 2019; ICTV 2019). Strain APMV-1 dikelompokkan menjadi 5 pathotype berdasarkan gejala klinis yang teramati, yaitu viscerotropic, neurotropic, mesogenic, lentogenic, dan subclinis (WOAH, 2021).

Secara klinis dan patologis, infeksi ND dapat menimbulkan berbagai infeksi penyakit yang melibatkan sistem respirasi, pencernaan, dan saraf. Selain itu, ND juga dapat menginfeksi berbagai organ lain seperti limpa, pankreas, dan jaringan limfoid yang berperan penting dalam respon imun unggas. Gejala klinis yang menciri pada ND meliputi depresi, anoreksia,

diare putih-kehijauan, tortikolis, pada semua ras dan umur unggas (Etriwati, 2017). Kerusakan jaringan yang terjadi akibat infeksi virus ini sering kali berkaitan dengan replikasi virus di berbagai jaringan target serta respon imun inang terhadap infeksi tersebut (Etriwati, 2023). Newcastle disease telah dilaporkan terjadi di banyak negara dan masih bersifat endemik di berbagai wilayah, khususnya di negara berkembang yang memiliki sistem produksi unggas dengan tingkat biosekuriti yang bervariasi. Program vaksinasi telah diterapkan secara luas sebagai upaya pengendalian penyakit, namun kejadian ND masih sering dilaporkan ditingkat peternak komersial dan sektor IV. Hal ini disebabkan adanya variasi genotipe virus yang beredar serta perbedaan tingkat perlindungan vaksin terhadap strain virus yang berbeda.

Deteksi dan identifikasi virus secara akurat menjadi aspek penting dalam mendukung kegiatan diagnosis, surveilans epidemiologi, serta pengendalian penyakit di lapangan (Sallam, 2024).

Kondisi lapangan saat ini masih banyak ditemukan ayam terinfeksi lebih dari satu agen patogen secara bersamaan. Fenomena ini dikenal sebagai ko-infeksi, yaitu infeksi simultan oleh dua atau lebih

patogen dalam satu inang. Ko-infeksi antara virus AI dan ND telah banyak dilaporkan pada unggas komersial dan ayam buras, terutama pada peternakan dengan tingkat biosekuriti rendah (Ekaningtias et al., 2015). Ko-infeksi AI dan ND menjadi perhatian penting karena dapat memperparah tingkat keparahan penyakit. Interaksi antar virus dalam satu inang dapat bersifat sinergis, sehingga meningkatkan replikasi virus, memperparah kerusakan jaringan, dan mempertinggi tingkat mortalitas dibandingkan infeksi tunggal. Ko-infeksi juga dapat mempengaruhi respons imun inang, termasuk menurunkan efektivitas vaksinasi dan menyebabkan variasi titer antibodi yang tidak optimal. Hal ini diperkuat oleh temuan bahwa tingkat imunitas terhadap AI dan ND pada ayam dapat bervariasi tergantung umur, status vaksinasi, dan kondisi fisiologis, yang pada akhirnya mempengaruhi kerentanan terhadap infeksi ganda (Santosa et al., 2025). Kedua virus ini memiliki tropisme jaringan yang relatif mirip dan dapat menyerang sistem pernapasan serta organ internal lainnya, sehingga sering menimbulkan gejala klinis yang sulit dibedakan secara klinis tanpa pemeriksaan laboratorium (Ekaningtias et al., 2015).

Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penyebab kematian ayam dengan melakukan bedah bangkai, pengujian histopatologi dan imunohistokimia serta memberikan gambaran histopatologi pada kasus ko-infeksi Avian Influenza dan Newcastle Disease.

Materi Metode

Laboratorium Patologi menerima sampel berupa bangkai ayam dengan nomor agenda epidemiologi AR187101260087 berasal dari Metro. Alat dan bahan yang digunakan untuk nekropsi meliputi seperangkat gunting, pinset, pisau bedah, hand gloves, masker, PPE, dan sample container. Bangkai tersebut kemudian dilakukan nekropsi dan diamati perubahan makroskopik. Sampel organ yang mengalami perubahan makroskopik mencari dikirim ke laboratorium patologi dan diproses untuk pengujian histopatologi dan imunohistokimia.

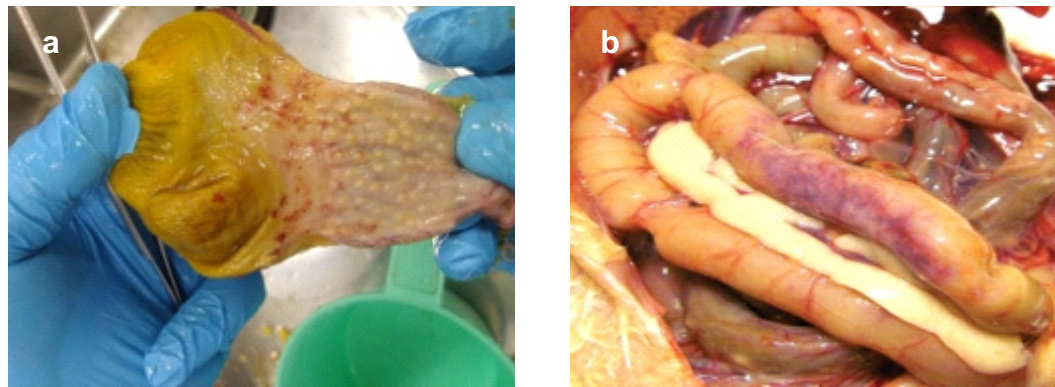
Pembuatan preparat histopatologi dari sampel organ ayam melalui tahap fiksasi, dehidrasi, embedding, parafin blok, pemotongan, pewarnaan dan mounting. Fiksasi dilakukan dengan menyimpan potongan jaringan ke dalam *buffered neutral formalin* 10% selama 24 jam. Jaringan didehidrasi menggunakan tissue processor yang di dalamnya terdapat ethanol bertingkat 70%, 80%, dan 90%, absolut I, absolut II, absolut III, masing-masing dilakukan selama 60 menit. Setelah dehidrasi selesai kemudian dilakukan penjernihan dengan menggunakan xylol I, xylol II dan xylol III. Jaringan selanjutnya diinfiltrasi parafin cair 2 kali masing-masing 1 jam, dicetak, kemudian dipotong dengan mikrotom 3-5 mikron (Suvana et al., 2013).

Pewarnaan HE dimulai dengan deparafinisasi menggunakan xylol I, xylol II dan xylol III masing-masing dilakukan selama 5 menit. Preparat dimasukkan ke dalam ethanol absolut I, absolut II, absolut III, ethanol 90%, ethanol 80% dan ethanol 70% masing-masing selama 5 menit. Preparat selanjutnya dibilas dengan aquadest dan direndam dalam Hematoxilin selama 5 menit, kemudian dibilas kembali menggunakan air mengalir selama 5 menit, selanjutnya direndam dalam Eosin selama 3-5 menit. Preparat direndam ke dalam ethanol 70%, ethanol 80%, ethanol 90%, absolut I, absolut II dan absolut III masing-masing selama 3 menit, xylol I, xylol II dan xylol III masing-masing 5 menit. Tahap terakhir ditutup dengan entelan dan gelas penutup serta dilanjutkan dengan pembacaan menggunakan mikroskop (Suvarna et al., 2013).

Teknik pewarnaan imunohistokimia mengacu pada sistem deteksi polimer. Paraffin block masing-masing organ dipotong secara serial section sebanyak 2 slide untuk pengujian AI dan ND. Slide kontrol positif dan negatif AI dan ND dipersiapkan masing-masing 2 slide. Slide jaringan dideparafinisasi pada xylene 1, 2, 3 masing masing 5 menit. Rehidrasi dilakukan pada ethanol absolut 3 kali masing masing 5 menit, ethanol 90%, 80% 70% masing masing 2 menit. Slide dicuci dengan aquadest 5 menit. Aktivitas endogenous peroxidase dan alkaline phospatase dihambat dengan peroxide block selama 10 menit dilanjutkan dengan 2 kali pencucian pada buffer. Pembukaan epitop (retrieval antigen) dengan digestive enzyme atau EDTA pada microwave sebanyak 2 kali masing masing selama 5 menit dilanjutkan dengan 4 kali pencucian pada buffer. Slide digenangi dengan super block selama 5 menit pada suhu ruang untuk mengurangi warna yang tidak spesifik pada background dilanjutkan dengan satu kali pencucian pada buffer. Slide digenangi dengan monoklonal antibodi (H5N1 GeneTex GTX632358) terhadap Avian influenza atau monoklonal antibodi (GeneTex GTX57234) terhadap Newcastle disease yang diencerkan dengan PBS dengan pengenceran 1: 500 selama 60 menit pada suhu ruang dilanjutkan dengan 4 kali pencucian pada buffer. Slide digenangi dengan Anti-Polyvalent selama 10 menit pada suhu ruang dilanjutkan dengan pencucian 4 kali dengan buffer. Slide digenangi dengan HRP selama 10 menit pada suhu ruang dilanjutkan dengan pencucian 3 kali dengan buffer dan dicuci dengan aquadest satu kali. Campurkan 40-50 ul DAB chromogen pada 1 ml DAB substrate high contrast dan ditunggu selama 5 menit. Slide digenangi dengan campuran DAB chromogen/substrate selama 5 menit dilanjutkan dengan 3 kali pencucian pada aquadest. Slide digenangi dengan Hematoxylin selama 1-2 menit dilanjutkan dengan 3 kali pencucian pada aquadest. Slide digenangi dengan bluing reagent selama 5-10 detik dan segera dicuci dengan aquadest. Slide didehidrasi, clearing pada xylene dan cover slide.

Hasil dan Pembahasan

Hasil nekropsi menunjukkan area kepala ayam terlihat cyanosis pada pial, area mulut terlihat kongestif dan hemoragi terisi oleh massa keruh dengan konsistensi kental. Organ-organ seperti otak, ginjal, limpa, dan ovarium terlihat kongestif dan hemoragi. Organ limpa, hati, dan ginjal mengalami pembesaran. Rongga pericardium terisi oleh akumulasi cairan dan fibrin berwarna kekuningan. Air sac terlihat keruh kekuningan dan trakea terlihat hemoragi pada mukosa. Paru mengalami perlekatan pada rongga dada, terlihat hemoragi dan berbusa. Organ pencernaan mengalami kongestif dan perdarahan masif pada mukosa esofagus, proventrikulus, ventrikulus, duodenum, jejunum, ileum, seka tonsil, dan sekum. Lumen usus terisi oleh eksudat berwarna kuning pekat pada duodenum, hijau pekat pada jejunum dan ileum, serta kecoklatan pada sekum. Perubahan makroskopik tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa lesi tersebut mencari pada penyakit ND (Etriwati, 2017; Rinle, 2019) dan penyakit AI (Kapczynski, 2012; Isihak, 2020; Caliendo, 2020)



Gambar 1. Gambaran makroskopis menunjukkan (a) perdarahan pada mukosa proventrikulus dan (b) nekrosa pankreas

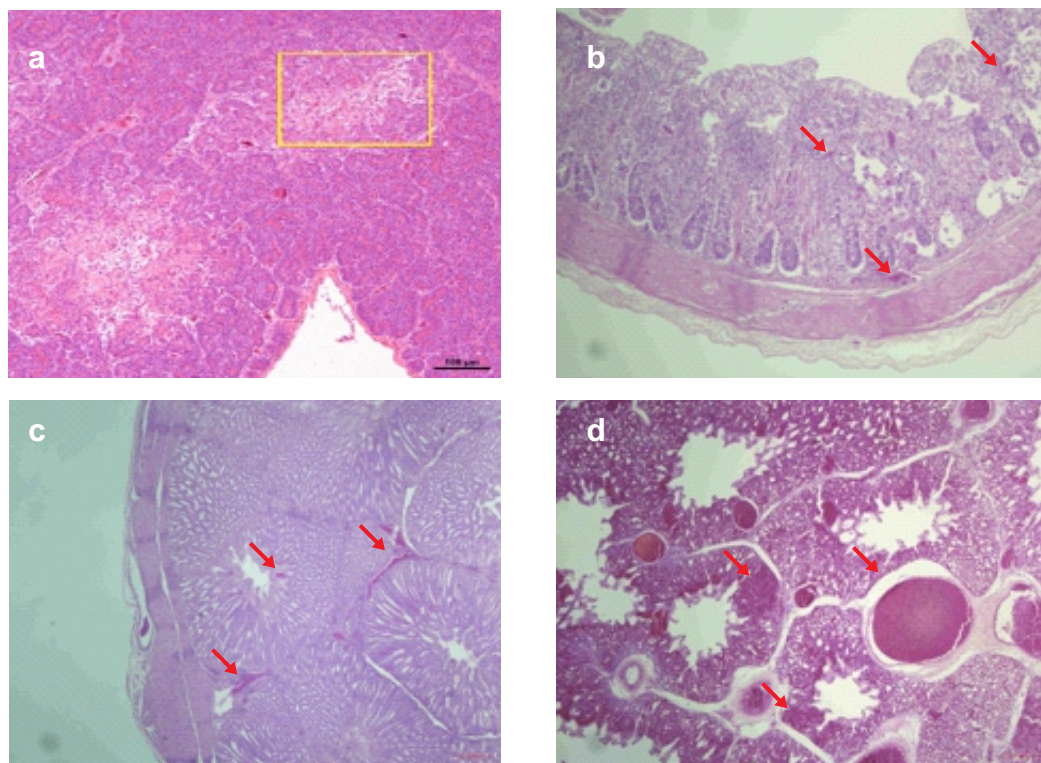
Gambaran histopatologi menunjukkan organ pencernaan mengalami kongesti dan perdarahan masif di lapisan mukosa dan submukosa esofagus, proventrikulus, ventrikulus, duodenum, jejunum, ileum, seka tonsil, dan sekum. Organ pencernaan tersebut juga mengalami nekrosa pada lapisan mukosa, hiperplasia jaringan limfoid, serta infiltrasi limfosit, makrofag, dan plasma sel. Pankreas mengalami kongesti, perdarahan, serta nekrosa fokal dan akumulasi limfosit pada sel-sel asinar. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan Lesi pada organ digestif unggas terinfeksi AI menciri pada mucosal lymphoid-associated tissues pada esophageal-proventricular junction, seka tonsil, mukosa sekum dan jejunum, serta peyer's patches pada usus halus. Lamina propria proventrikulus terjadi infiltrasi limfosit, makrofag, plasma sel dan heterofil diikuti nekrosa multifokal. Sel-sel asinar pankreas mengalami degenerasi dan infiltrasi limfosit (Kapczynski, 2012; Caliendo, 2020). Nandita (2025) menyatakan bahwa unggas terinfeksi AI menunjukkan hemoragi, kongesti, serta infiltrasi limfosit dan heterofil pada banyak organ. Pengamatan histopatologi dengan haematoxylin-eosin (HE) menunjukkan necrotic proventriculitis, pancreatitis, dan enteritis.

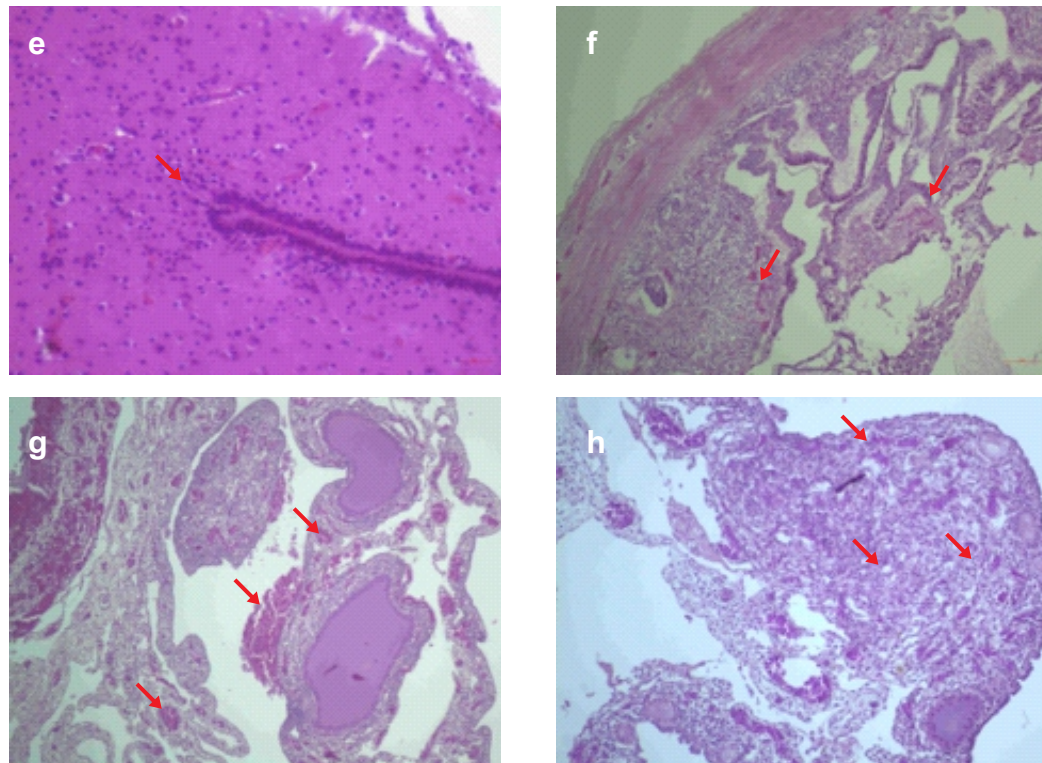
Gambaran histopatologi menunjukkan adanya dugaan ko-infeksi AI dan ND yang menciri pada beberapa organ tertentu. Lesi histopatologi yang menciri pada AI yaitu pankreas terlihat kongesti, perdarahan masif, serta nekrosa pada sel-sel asinar fokal atau mulifokal dan pada pulau Langerhans (gambar 2a). Lesi menciri lainnya yaitu terlihat infiltrasi limfosit pada sel-sel asinar fokal atau mulifokal dan pada pulau langerhans (gambar 2a) serta perdarahan mukosa duodenum (gambar 2b). Lesi menciri pada ND tipe syaraf adalah terlihat kongesti, perdarahan masif, dan vasculitis atau perivascular cuffing pada encephalon (gambar 2e). Lesi menciri pada ND tipe pencernaan adalah kongesti, perdarahan masif pada mukosa seka sonsil, serta terjadi hiperplasia jaringan limfoid pada lapisan mukosa (gambar 2e). Gambaran histopatologi organ visceral lainnya memiliki kemiripan antara AI dan ND yaitu terjadi kongesti, perdarahan masif serta infiltrasi atau akumulasi sel sel limfosit. Gambaran lesi histopatologi AI dan ND menunjukkan beberapa kesamaan yaitu lesi perdarahan pada glandula submukosa proventrikulus (gambar 2c) serta kongesti dan perdarahan parabronchus paru (gambar 2d) yang menciri pada penyakit AI dan ND. Area kongesti dan perdarahan masif terlihat pada intrafolikuler dan perifolikuler ovarium (gambar 2g). Akumulasi sel-sel limfosit dan heterofil terlihat pada granulosa cell layer (gambar 2h). Organ hati, jantung, limpa, ginjal, otak, dan ovarium mengalami kongesti dan perdarahan masif, serta infiltrasi limfosit dan heterofil pada miokardium, endokardium, sel-sel hepatosit, tubulus, glomerulus dan encephalon. Limpa juga mengalami deplesi pulpa putih secara masif. Folikel ovarium mengalami nekrosa multifokal serta infiltrasi sel radang mononuklear dan heterofil. Unggas terinfeksi AI menunjukkan encephalitis, pericarditis, dan myocarditis, (Nandita, 2025). Hati mengalami multifocal fibrinoid necrosis ringan hingga sedang, infiltrasi limfosit, makrofag, plasma sel dan heterofil. Jantung mengalami multifokal nekrosa diikuti pericarditis dan endocarditis. Otak mengalami nekrosa neuron dan gliosis.

Ginjal mengalami nekrosis multifokal pada tubulus dan glomerulus. Limpa mengalami nekrosis multifokal sel sel limfoid, deplesi pulpa putih, dan kongesti masif (Caliendo, 2020; Isihak, 2020; Kapczynski, 2012). Gambaran histopatologi ovarium yang terinfeksi AI menunjukkan kongesti dan hemoragi intrafolikuler dan perifolikuler diikuti infiltrasi limfosit dan heterofil (Silva, 2013).

Penyakit ini secara umum menimbulkan kerusakan pada saluran pernapasan yaitu trakea dan paru. Trakea mengalami erosi epitel mukosa dan lepasnya sel-sel silia. Paru mengalami perdarahan dan kongesti masif diikuti infiltrasi sel-sel limfosit dan makrofag multifokal serta nekrosis alveoli. Unggas terinfeksi AI menunjukkan bronchopneumonia (Nandita, 2025). Gambaran histopatologi trakea terinfeksi AI menunjukkan deskuamasi epitel diikuti erosi silia, hemoragi masif dan infiltrasi makrofag, limfosit dan plasma sel diikuti dengan kongesti pada lamina propia pembuluh darah. Paru menunjukkan perdarahan, kongesti serta kerusakan alveolar masif. Dinding septa alveoli mengalami penebalan oleh jaringan ikat diikuti akumulasi cairan edema pada rongga alveoli. Septa dan lumen alveoli mengalami infiltrasi limfosit, makrofag dan heterofil (Caliendo, 2020; Isihak, 2020; Kapczynski, 2012).

Rinle et al., (2019) menyatakan bahwa lesi mikroskopik pada infeksi ND utamanya terlihat kongesti dan hemoragi berbagai organ seperti paru, hati, usus, trakea, dan limpa. Temuan histopatologi lainnya terjadi severe broncho-interstitial pneumoni multifocal. Infeksi ND pada beberapa unggas menunjukkan lumen alveoli terisi oleh cairan edema berwarna eosinofilik, makrofag, eritrosit, dan necrotic debris. Sel-sel endotel parabronkus dan lumen terisi oleh hancuran sel epitel dan campuran cellular debris dengan heterofil dan makrofag. Neuron mengalami vakuolisasi, hemoragi, terlihat intracytoplasmic inclusion bodies dan perivascular cuffing. Jantung mengalami miokarditis dan limpa terlihat hemoragi serta deplesi pulpa putih secara masif. Ginjal mengalami interstitial nephritis, edema, hemoragi dan kongesti. Infiltrasi sel-sel mononuklear terutama limfosit terjadi pada rongga intertubularis (Rinle, 2019). Gambaran histopatologi unggas terinfeksi ND serupa juga ditunjukkan oleh peneliti lainya (Etriwati, 2017; Etriwati, 2023).



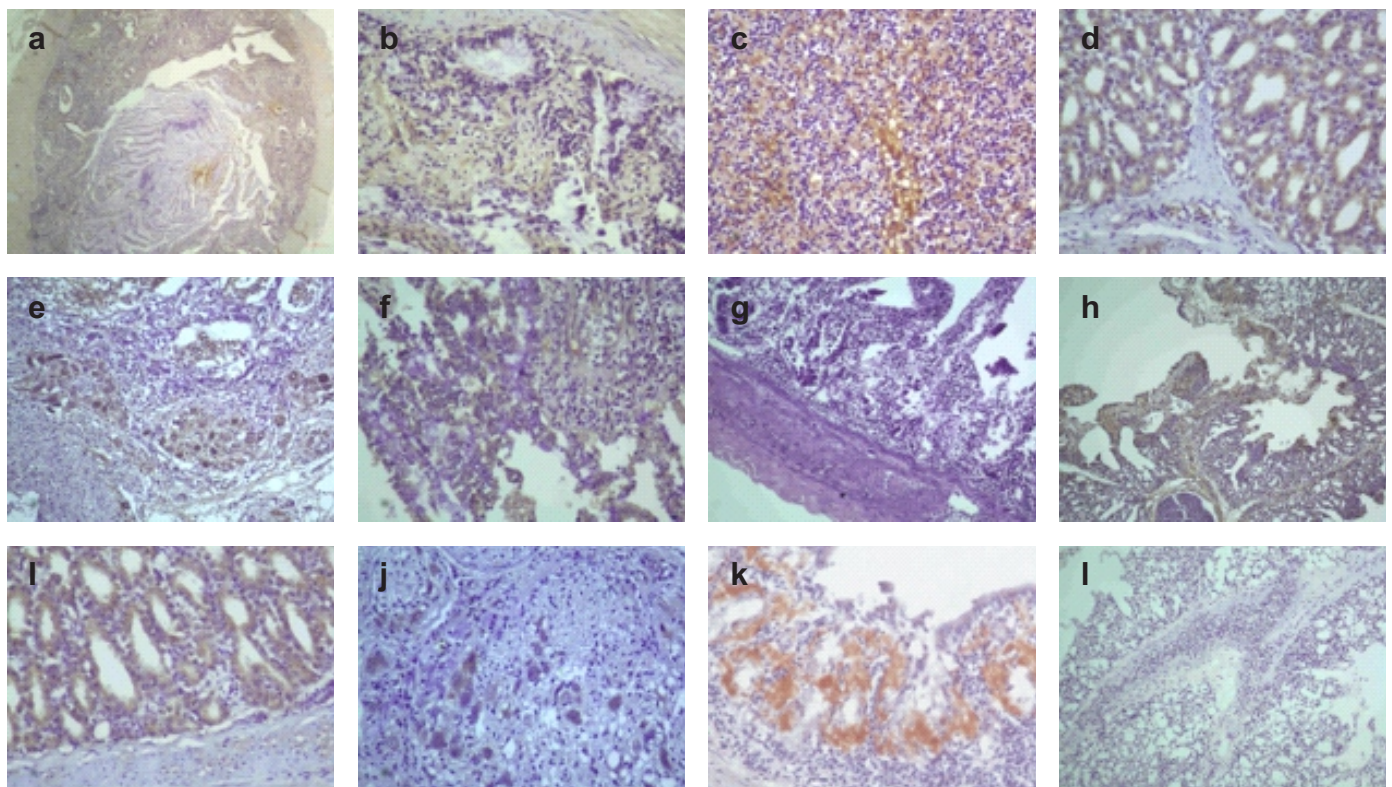


Gambar 2. Terlihat lesi nekrosis pankreas (a) dan perdarahan mukosa duodenum (b) yang menciri pada penyakit AI. Terlihat lesi perdarahan (tanda panah) pada glandula submukosa proventrikulus (c) serta kongesti dan perdarahan (tanda panah) parabronkus paru (d) yang menciri pada penyakit AI dan ND. Terlihat lesi perivascular cuffing (tanda panah) pada encephalon (e) serta perdarahan dan infiltrasi limfosit (tanda panah) pada mukosa seka tonsil (f) yang menciri pada penyakit ND (HE 10x). Terlihat area perdarahan masif perifolikuler (g) HE 10x dan akumulasi sel-sel limfosit dan heterofil pada granulosa cell layer (h) HE 40x.

Hasil pengujian IHK terhadap ND menunjukkan reaksi imunopositif beberapa organ terwarnai coklat. Ikatan antigen-antibodi pada ND juga terekspresikan sangat jelas pada mukosa dan lumen seka tonsil (gambar 3a), mukosa seka tonsil (gambar 3b), encephalon (gambar 3c); glandula submukosa proventrikulus (gambar 3d), intrafolikuler dan parafolikuler (gambar 3e), serta parabronkus paru. Antigen virus ND terdistribusi multifocal hingga diffuse pada berbagai jaringan tersebut. Gambaran imunopositif tersebut sesuai dengan peneliti sebelumnya (Etriwati, 2023), menyebutkan bahwa unggas domestik terinfeksi ND menunjukkan imunopositif moderate hingga severe pada trakea, paru, jantung, proventrikulus, duodenum, seka tonsil, ginjal, timus, limpa, bursa fabrisius dan otak 5 – 7 hari setelah infeksi. Reaksi imunopositif tersebut menunjukkan bahwa antigen virus spesifik ND terdeteksi intraseluler pada beberapa organ karena replikasi virus terjadi pada sitoplasma sel terinfeksi (Yamamoto et al., 2019). Peneliti lain menyebutkan bahwa reaksi imunopositif unggas domestik terinfeksi ND terjadi pada proventrikulus, limpa, otak, trakea, seka tonsil, ginjal dan paru (Rinle, 2019)

Hasil pengujian IHK terhadap AI menunjukkan reaksi imunopositif beberapa organ terwarnai coklat. Ikatan antigen-antibodi pada AI terekspresikan pada sel-sel asinar pankreas, parabronkus dan lumen alveoli (gambar 3f), glandula submukosa dan lapisan mukosa proventrikulus (gambar 3g), serta intrafolikuler dan parafolikuler (gambar 3h). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan unggas terinfeksi AI menunjukkan antigen virus nukleoprotein terdeteksi pada lesi histopatologi yaitu area degeneratif dan area nekrosis, sel-sel endotelial di seluruh organ dan juga pada infiltrasi sel radang.

Ekspresi antigen viral juga terdeteksi di cardiomyocytes, sel-sel epitel tubular ginjal, epitelium usus, lamina propria, dan sel-sel epitelial timus lapisan medula (Nishiura, 2024). Hasil penelitian Caliendo et al., (2020) menunjukkan bahwa reaksi imunopositif AI terekspresikan pada saluran pencernaan (duodenum, jejunum, ileum, kolon) dan saluran pernafasan (trakea, bronkus primer, bronkus sekunder, parabronkus, lumen alveoli dan air sac). Virus AI dan ND berasal dari famili virus yang berbeda dan memiliki struktur protein serta epitop antigenik yang berbeda sehingga kemungkinan reaksi silang antara kedua antigen relatif kecil. Antibodi primer yang digunakan pada pemeriksaan imunohistokimia dirancang untuk mengenali epitop spesifik sehingga memiliki spesifisitas yang tinggi (Yamamoto et al., 2019).



Gambar 1. Hasil pengujian imunohistokimia terhadap ND terlihat ikatan antigen – antibodi terwarnai coklat pada: (a) mukosa dan lumen seka tonsil (10x); (b) mukosa seka tonsil (40x); (c) encephalon (40x); (d) glandula submukosa proventrikulus; (e) ovarium dan oviduk (40x); (f) kontrol positif ND; (g) kontrol negatif ND tidak menunjukkan ikatan antigen – antibodi.

Hasil pengujian imunohistokimia terhadap AI terlihat ikatan antigen – antibodi terwarnai coklat pada: (h) parabronchus paru (40x); (i) glandula submukosa proventrikulus; (j) ovarium dan oviduk (40x); (k) kontrol positif AI; (l) kontrol negatif AI tidak menunjukkan ikatan antigen – antibodi.

Kesimpulan

Hasil bedah bangkai dan gambaran histopatologi pada ayam buras menunjukkan adanya lesi multi organ yang sangat menciri terhadap penyakit Avian influenza dan Newcastle disease. Hasil pengujian imunohistokimia menunjukkan terjadinya ko-infeksi Avian influenza dan Newcastle disease sebagai penyebab kematian ayam buras. Hasil positif Avian influenza terkonfirmasi dengan qRT-PCR. Virus AI dan ND terdistribusi moderate hingga severe pada proventrikulus, pankreas, duodenum, seka tonsil, paru, otak dan ovarium.

Daftar Pustaka

- Adlhoch, C., Fusaro, A., Gonzales, J.L., Kuiken, T., Marangon, S., Niqueux, É., Smietanka, K., Staubach, C., Terregino, C., Van der Stede, Y., Aznar, I., Baldinelli, F. 2020. Scientific report: Avian influenza overview – update on 19 November 2020 EU/EEA and the UK. EFSAJ 18(11):6341
- Amarasinghe, G.K., Ayllón, M.A., Bào, Y., Basler, C.F., Bavari, S., Blasdel, K.R., Briese, T., et al. 2019. Taxonomy of the Order Mononegavirales: Update 2019. Arch. Virol., 164, 1967–1980.
- Caliendo, V., Leijten, L., Begeman, L., Poen, M.J., Fouchier, R.A.M., Beerens, N., Kuiken, T. 2020. Enterotropism of highly pathogenic avian influenza virus H5N8 from the 2016/2017 epidemic in some wild bird species. Vet Res (2020) 51:117. <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00841-6>
- Ekaningtias, M., Wasito, R., Wuryastuty, H. 2015. Pendekatan Diagnosis Immunologis dan Molekuler Avian Influenza Virus dan Newcastle Disease Virus pada Kasus Lapangan. Tesis S2 Bioteknologi Universitas Gadjah Mada.
- Etriwati, E., Ratih, D., Handharyani, E. and Setyaningsih, S. 2017. Pathology and immunohistochemistry study of Newcastle disease field case in chicken in Indonesia. Vet. World. 10, 1066–1071.
- Etriwati, E., Agungpriyono, D.A., Setyaningsih, S., Darniati, Daud, M. A., Erwin and Handharyani, E. 2022. Comparative pathology and immunohistochemistry of Newcastle disease in domestic chicken (*Gallus-gallus domesticus*) and Alabio duck (*Anas platyrhynchos* Borneo). Open Veterinary Journal, (2023), Vol. 13(4): 433–442. DOI: 10.5455/OVJ.2023.v13.i4.5
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). 2019. Orthomyxoviridae. Virus Taxonomy: Release. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/negative-sense-rna-viruses-2011/w/negrna_viruses/209/orthomyxoviridae. Accessed 8 June 2021.
- Isihak, F.A., Ismail, H.Kh. and Wahid, A.A. 2020. Diagnosis and histopathological study of avian influenza virus-H5 (AIV-H5) in broiler farms. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, Vol. 34, No. 1, 2020 (101-107) (Trachea, pulmo, spleen)
- Kapczynski, D.R., Pantin-Jackwood, M., Guzman, S.G., Ricardez, Y., Spackman, E., Bertran, K., Suarez, D.L., Swayne, D.E. 2012. Characterization of the 2012 Highly Pathogenic Avian Influenza H7N3 Virus Isolated from Poultry in an Outbreak in Mexico: Pathobiology and Vaccine Protection. Journal of Virology p. 9086 –9096 August 2013 Volume 87 Number 16 (all organ)
- Lee, D.H.; Bertran, K.; Kwon, J.H.; Swayne, D.E. 2017. Evolution, global spread, and pathogenicity of highly pathogenic avian influenza H5Nx clade 2.3.4.4. J. Vet. Sci. 18, 269–280.
- Nandita, I.L., Sari, T.K., Winaya, I.B.O., Utami, Y.M., Septianingsih, N.L.P.D. 2025. Co-Infection of Avian Influenza H5n1 and Coccidiosis In A 25- Day-Old Broiler: A Case Report. Bul. Vet. Udayana. 17(6): 1906-1920. DOI: <https://doi.org/10.24843/bulvet.2025.v17.i06.p14>
- Nishiura, H., Kumagai, A., Mine, J., Takadate, Y., Sakuma, S., Tsunekuni, R., Uchida, Y., Miyazawa, K. 2024. Phylogenetic and Pathogenic Analysis of H5N1 and H5N6 High Pathogenicity Avian Influenza Virus Isolated from Poultry Farms (Layer and Broiler Chickens) in Japan in the 2023/2024 Season. Viruses 2024, 16, 1956. <https://doi.org/10.3390/v16121956>
- Rinle, K.P., Blessing, O.S., Nelson, E.K.A., Giginya, N.D., Saidu, A.D. 2019. Clinico-pathological and Immunohistochemistry of Newcastle Disease in Indigenous Chickens and Some Wild Birds in Plateau State, Nigeria. Journal of Advances in Microbiology 16(4): 1-15; Article no.JAMB.49616

- Sallam, H. M. 2024. Newcastle Disease: A Review. *Egyptian Journal of Animal Health* 4 (3): 250-267.
- Santosa, P. E., Ermawati, R., Sirat, M. M. P. 2025. Evaluasi Titer Antibodi Newcastle Disease dan Avian Influenza pada Broiler yang Disuplementasi Vitamin E, Selenium, dan Zinc Melalui Air Minum. *Wahana Peternakan* 9 (2): 357-369.
- Silva, M. S., Rissi, D.R., Pantin-Jackwood, M., Swayne, D.E. 2013. High-Pathogenicity Avian Influenza Virus in the Reproductive Tract of Chicken. *Veterinary Pathology* 50(6): 956-960.
- Suvarna, S.K., Layton, C., Bancroft, J.D. 2018. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*, 8th edition. Queen s Medical Centre, Nottingham, UK
- Verhagen, J.H., Fouchier, R.A.M., Lewis, N. 2021. Highly pathogenic avian influenza viruses at the wild-domestic bird interface in Europe: future directions for research and surveillance. *Viruses* 13(2):212
- WHO (World Health Organization). 2022. Avian Influenza: Assessing the Pandemic Threat. Retrieved from https://www.who.int/influenza/human_animal_interface/avian_influenza/en/.
- WOAH (World Organisation for Animal Health). (2021). Newcastle disease (Infection with Newcastle disease Viruses). Terrestrial Animal Health Code.
- Yamamoto, Y., Shimizu, S., Hirota, J., Kurokawa, A., Mase, M. 2019. Development of a Monoclonal Antibody-based Immunohistochemical Method for Detecting Newcastle Disease Virus. *JARQ* 53 (2): 135-141.
- Zhang, S., Wang, X., Zhao, C., Liu, D., Hu, Y., Zhao, J. and Zhang, G. 2011. Phylogenetic and pathotypical analysis of two virulent Newcastle disease viruses isolated from domestic ducks in China. *PLoS One* 6, e25000.

Konfirmasi Molekuler Dugaan *Mycobacterium tuberculosis* Pada Sapi dengan Metode Sekuensing DNA

Anggy, F.P.⁽¹⁾, Srihanto, E.A.⁽¹⁾, Firwantoni⁽¹⁾, Febriyani, D.A.⁽¹⁾, dan Putri, A.J.⁽¹⁾

⁽¹⁾Laboratorium Bioteknologi, Balai Veteriner Lampung

Email : fransiskapanasea@gmail.com

ABSTRACT

Mycobacterium tuberculosis is a member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) that classically infects humans; however, several studies have shown that this bacterium can also be detected in cattle as a result of reverse zoonosis. This study aimed to confirm the molecular identity of cattle samples suspected to be positive for *M. tuberculosis* based on conventional Polymerase Chain Reaction (PCR) results using DNA sequencing. A total of 40 bovine nasal swab samples collected during a surveillance program were examined using conventional PCR with HT1 and HT2 primers targeting MTBC members. Three samples produced DNA bands at the expected target size of approximately 123 bp and were subsequently subjected to Sanger sequencing for confirmation. Sequence data were analyzed through quality control, consensus sequence assembly, and identification using the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Sequencing results revealed that none of the three samples showed the highest similarity to *M. tuberculosis*. Instead, the sequences exhibited the greatest similarity to bacteria belonging to the genus *Klebsiella*, namely *Klebsiella variicola*, *Klebsiella quasipneumoniae*, and *Klebsiella pneumoniae*, with percent identity values ranging from 88.74% to 97.32% and query coverage ranging from 91% to 100%. These findings indicate that the presence of a DNA band at the expected target size does not necessarily reflect successful amplification of the intended target sequence. The results were likely caused by non-specific amplification resulting from primer binding to non-target sequences with partial similarity to the target region. This study highlights the importance of DNA sequencing as a confirmatory method for PCR results, particularly in the detection of pathogens with significant implications for animal and public health. Confirmation through DNA sequencing and bioinformatics analysis is essential to improve the validity of molecular diagnoses and to reduce the likelihood of false-positive interpretations in *M. tuberculosis* testing.

Keywords: BLAST; *Mycobacterium tuberculosis*; DNA Sequencing

ABSTRAK

Mycobacterium tuberculosis merupakan anggota *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) yang secara klasik menginfeksi manusia, namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa bakteri ini juga dapat ditemukan pada sapi akibat fenomena reverse zoonosis. Penelitian ini bertujuan mengonfirmasi identitas molekuler sampel sapi yang terduga positif *M. tuberculosis* berdasarkan hasil Polymerase Chain Reaction (PCR) konvensional menggunakan metode sekuensing DNA. Sebanyak 40 sampel swab nasal sapi yang dikoleksi dalam kegiatan surveilans diperiksa menggunakan PCR konvensional dengan primer HT1 dan HT2 yang menargetkan anggota MTBC. Tiga sampel menunjukkan pita DNA pada ukuran target sekitar 123 bp dan selanjutnya dikonfirmasi melalui sekuensing Sanger. Data sekuens dianalisis melalui tahapan quality control, penyusunan sekuens konsensus, dan identifikasi menggunakan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Hasil sekuensing menunjukkan bahwa ketiga sampel tidak memiliki kemiripan dengan *M. tuberculosis*, melainkan dengan bakteri genus *Klebsiella*, yaitu *Klebsiella variicola*, *Klebsiella quasipneumoniae*, dan *Klebsiella pneumoniae*, dengan nilai percent identity berkisar antara 88,74–97,32% dan query coverage sebesar 91–100%. Temuan ini menunjukkan bahwa keberadaan pita DNA pada ukuran target tidak selalu mencerminkan keberhasilan amplifikasi target yang spesifik. Hasil tersebut diduga disebabkan oleh amplifikasi non-spesifik akibat ikatan primer pada sekuens non-target yang memiliki kemiripan parsial dengan target amplifikasi. Penelitian ini menegaskan pentingnya penggunaan sekuensing DNA sebagai metode konfirmasi terhadap hasil PCR, khususnya pada deteksi agen penyakit yang memiliki implikasi penting terhadap kesehatan hewan dan kesehatan masyarakat. Konfirmasi melalui

ABSTRAK

sekuensing dan analisis bioinformatika diperlukan untuk meningkatkan validitas diagnosis molekuler dan mengurangi kemungkinan interpretasi positif palsu pada pengujian *M. tuberculosis*.

Kata kunci: BLAST; *Mycobacterium tuberculosis*; Sekuensing DNA.

Pendahuluan

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi kronis yang disebabkan oleh bakteri anggota *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC), termasuk *Mycobacterium tuberculosis* dan *Mycobacterium bovis*, yang memiliki tingkat kesamaan genetik sangat tinggi (Goig et al., 2025). Pada sapi, tuberkulosis umumnya disebabkan oleh *M. bovis* dan dikenal sebagai bovine tuberkulosis (bTB), namun berbagai penelitian menunjukkan bahwa *M. tuberculosis*, yang secara klasik merupakan penyebab utama TB pada manusia, juga dapat menginfeksi sapi melalui penularan dari manusia ke hewan (reverse zoonosis) terutama di wilayah dengan prevalensi TB manusia yang tinggi (Szacawa, et al., 2025; Vaishnavi, et al., 2026). Keberadaan *M. tuberculosis* pada sapi menjadi perhatian karena dapat mempersulit program surveilans dan pengendalian tuberkulosis akibat tingginya kemiripan genetik antaranggota MTBC, sehingga identifikasi spesies penyebab infeksi memerlukan metode molekuler yang spesifik dan akurat untuk mendukung pemahaman epidemiologi serta strategi pengendalian penyakit dalam pendekatan One Health (Goig et al., 2025; Szacawa, et al., 2025).

Tim surveilan Balai Veteriner Lampung melakukan pengambilan sampel di UPTD Campang sebanyak 40 sampel nasal. Sampel tersebut digunakan untuk mendeteksi adanya bakteri *M. tuberculosis* dengan metode konvensional PCR. Hasil pengujian konvensional PCR menunjukkan adanya tiga sampel yang mempunyai band DNA. Ketiga sampel tersebut dilanjutkan dengan sekuensing untuk konfirmasi adanya bakteri *M. tuberculosis*. Konfirmasi sampel terduga *Mycobacterium tuberculosis* pada sapi menggunakan metode sekuensing menjadi sangat penting untuk memastikan identitas agen infeksi, terutama pada kasus-kasus yang menunjukkan hasil positif berdasarkan pemeriksaan molekuler awal atau temuan lesi yang mengarah pada tuberkulosis. Informasi yang diperoleh dari konfirmasi tersebut dapat memberikan data ilmiah yang lebih kuat mengenai keberadaan *M. tuberculosis* pada populasi sapi, memperjelas kemungkinan jalur transmisi antarspesies, serta mendukung penyusunan strategi pengendalian tuberkulosis yang lebih efektif dan berbasis bukti. Selain itu, teknologi sekuensing juga berperan penting dalam studi epidemiologi molekuler, penelusuran sumber infeksi, dan pemantauan variasi genetik agen penyakit.

Materi dan Metode**1. Primer**

Primer yang digunakan untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis complex* adalah pasangan primer HT1 dan HT2 (Tabel 1). Ukuran yang diharapkan (expected result) dari pasangan primer ini adalah 123 base pair (Tanaka, et al., 2003).

Tabel 1. Pasangan primer yang digunakan untuk mendeteksi *M. tuberculosis complex*

Nama Primer	Sequence
HT1	5'-CCTGCGAGCGTAGGCGTC-3'G
HT2	5'-CTCGTCCAGCGCCGCTTC-3'G

2. Pengujian Konvensional Polymerase Chain Reaction

Reagen yang digunakan yaitu MyTaq™ Red Mix no catalog BIO-25043. Penghitungan master mix ditunjukkan pada Tabel 2 sedangkan program amplifikasinya ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 2. Reagen master mix PCR

Reagen	Konsentrasi per μl	Volume (μl)
<i>Nuclease Free Water</i>		10
MyTaq™ Red Mix		20
Primer HT1	20 pmol	1.5
Primer HT2	20 pmol	1.5
<i>DNA template</i>		7
Total volume		30

Tabel 3. Program PCR yang digunakan

Stage	Step	Suhu °C	Durasi	Jumlah siklus
I	<i>Predenaturation</i>	50	30 menit	1
II	<i>Initial Denaturation</i>	95	5 menit	1
	<i>Denaturation</i>	95	30 detik	
III	<i>Annealing</i>	55	45 detik	35
	<i>Extension</i>	72	1 menit	
IV	<i>Final Extension</i>	72	5 menit	1
V	<i>Hold</i>	4	hold	1

3. Sekuensing dan Analisa Bioinformatika

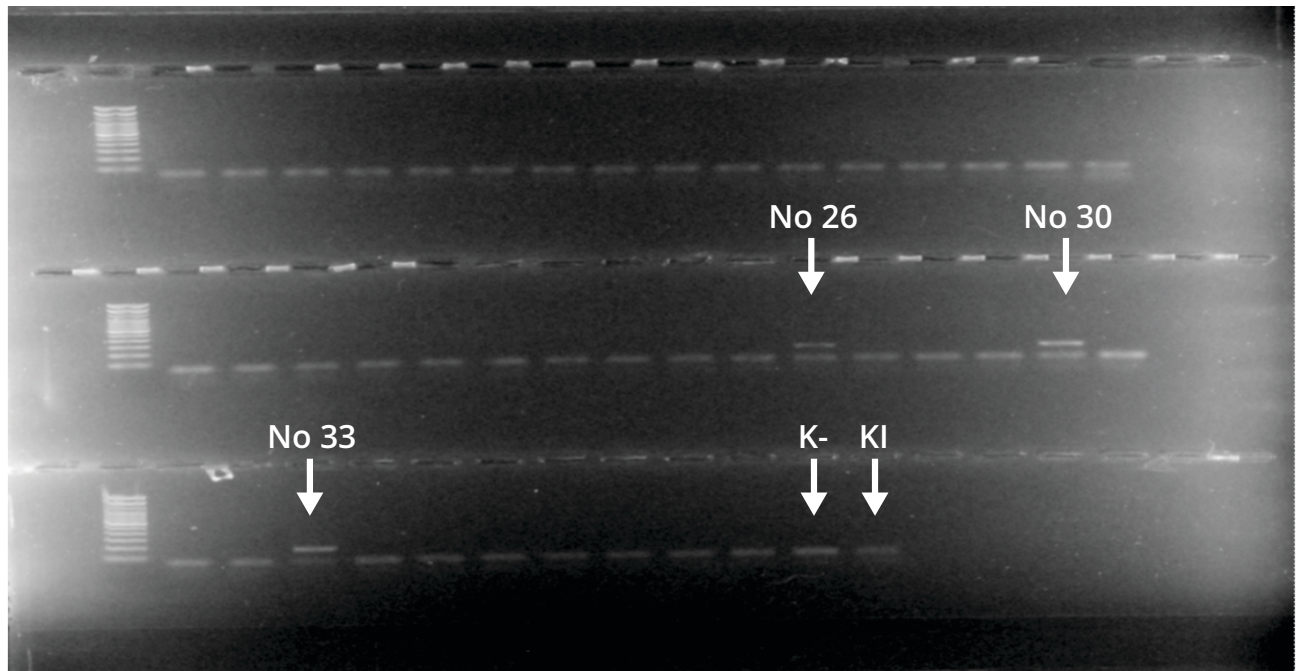
Tiga sampel positif dari pengujian konvensional PCR dilanjutkan dengan uji sekuensing. Sekuensing dilakukan dengan metode Sanger di PT. Genetika Science. Output yang diperoleh dari tahapan sekuensing yang file dengan ekstensi FASTQ. Pipeline analisa bioinformatika yang dilakukan yaitu: Quality Control Consensus Generate Blast.

Hasil dan Pembahasan

1. Hasil

1.1. Hasil Visualisasi Konvensional PCR

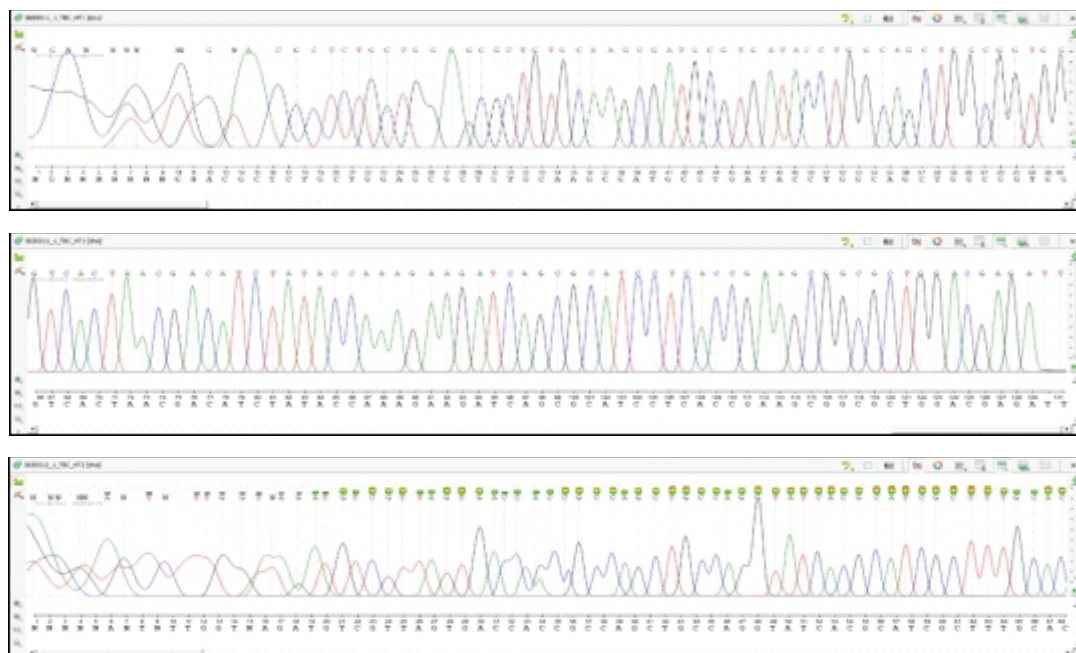
Hasil elektroforesis sampel swab menunjukkan adanya 3 sampel yang memiliki pita DNA pada posisi 123 Bp yaitu sampel no 26, 30 dan 33. Pita DNA ditunjukkan pada Gambar 1. Kontrol positif tidak digunakan dalam penelitian ini karena tidak tersedianya material kontrol positif yang tervalidasi sehingga perlu dilakukan sekuensing untuk mengonfirmasi sampel yang menunjukkan band DNA. Keandalan hasil tetap dijaga melalui penggunaan kontrol negatif untuk memantau kemungkinan kontaminasi selama proses amplifikasi, sedangkan spesifisitas produk amplifikasi dikonfirmasi melalui sekuensing DNA.

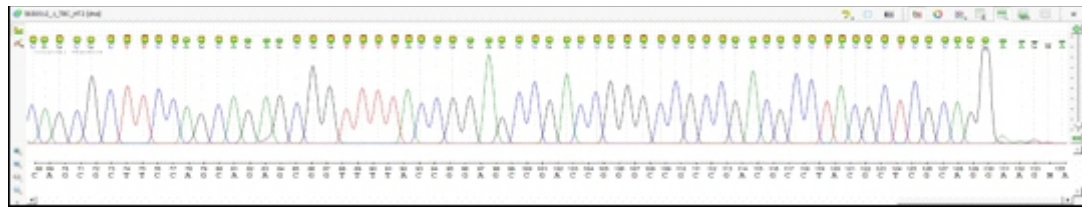


Gambar 1. Hasil elektroforesis menunjukkan adanya band pada posisi antara 100-200 bp pada sampel no 26, 30 dan 33.

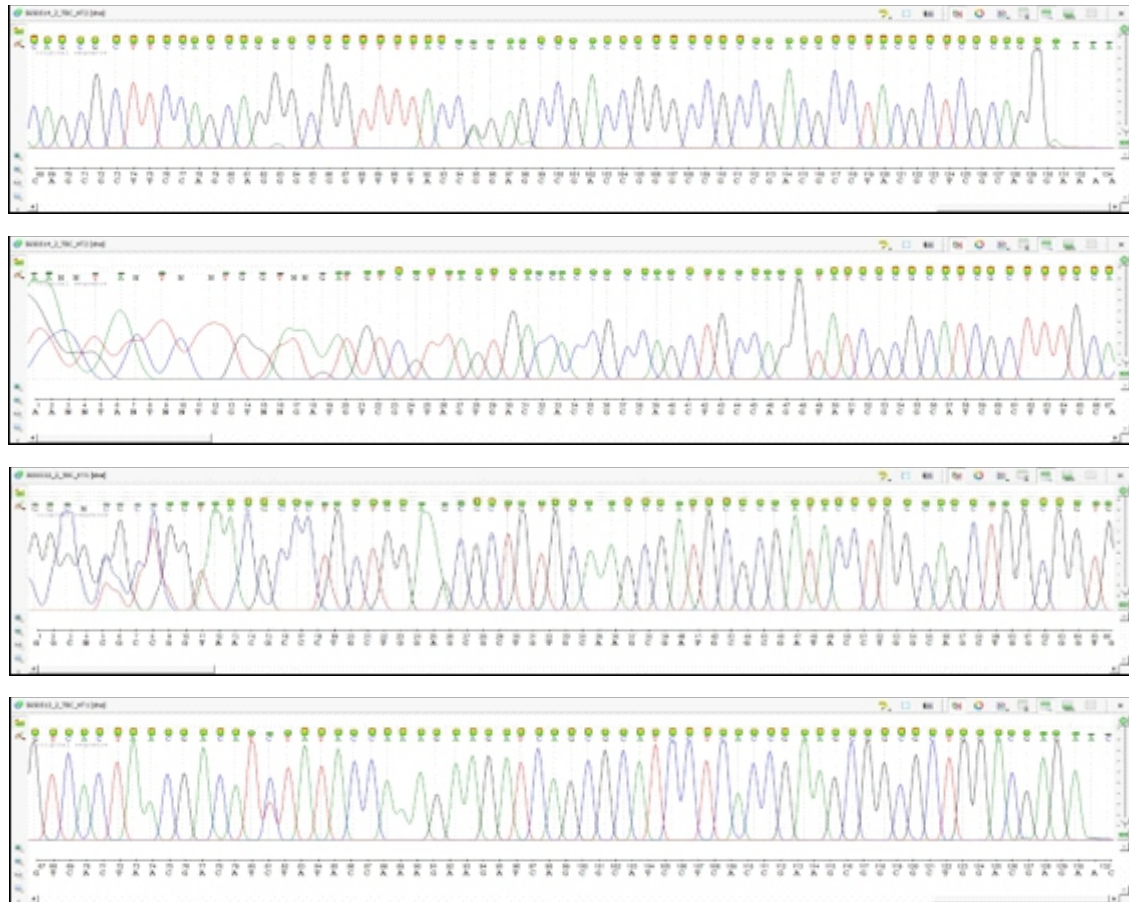
1.2. Hasil Elektroferogram

Hasil sekuensing berupa elektroferogram ditunjukkan pada Gambar 2, 3 dan 4 di bawah ini. Grafik elektroferogram perlu dilakukan pemeriksaan kualitasnya. Quality control adalah untuk memastikan bahwa data hasil sekuensing memiliki kualitas yang baik, akurat dan layak untuk analisis lebih lanjut. Tahapan ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menghilangkan sekuens berkualitas rendah, mendeteksi adanya kontaminasi, serta memastikan akurasi pembacaan nukleotida. Visualisasi grafik elektroferogram dan ekspor file dari ekstensi .ab1 ke ekstensi .fasta menggunakan perangkat lunak Ugene.

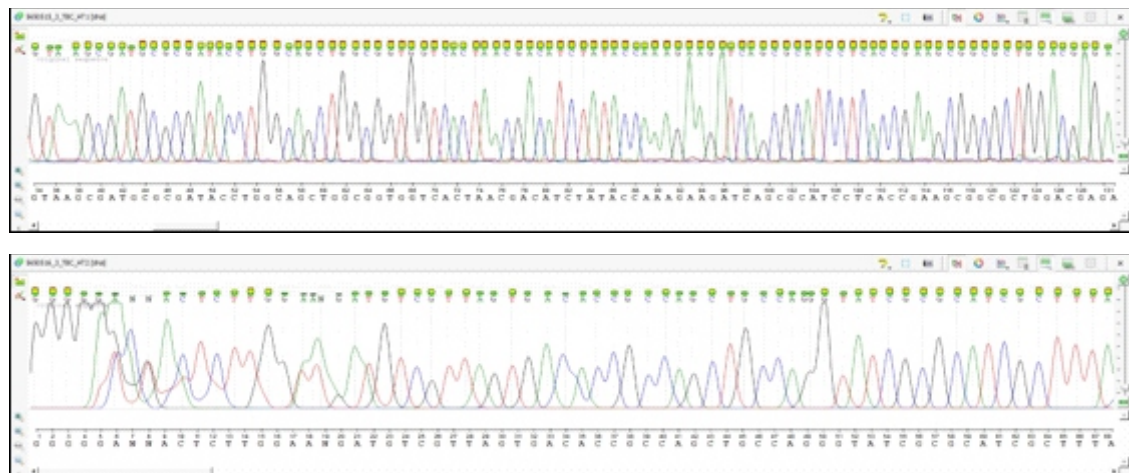


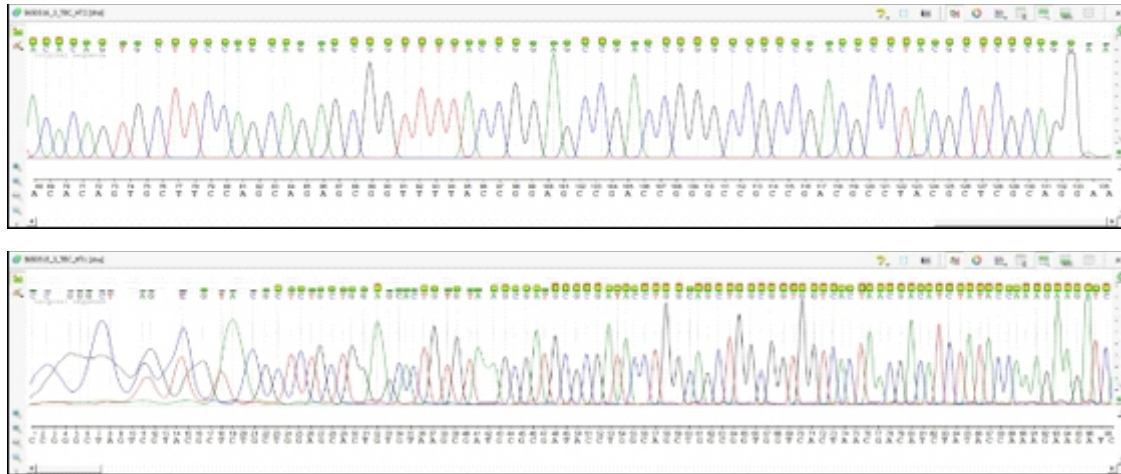


Gambar 1. Elektroferogram sampel no 26



Gambar 1. Elektroferogram sampel no 30





Gambar 1. Elektroferogram sampel no 33

1.3. Hasil Penyusunan Sekuens Konsensus

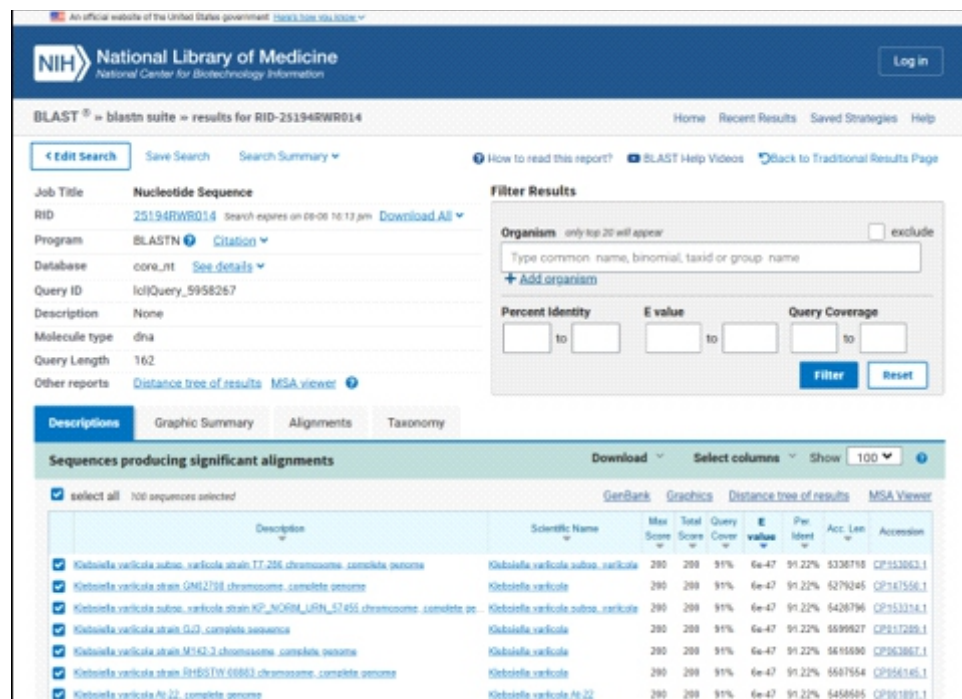
Penyusunan sekuens konsensus adalah proses menggabungkan hasil pembacaan sekuens dari arah forward dan reverse untuk menghasilkan satu urutan DNA yang paling akurat dan mewakili fragmen target. Dua file sekuens forward dan reverse di-alignment (penyelarasan sekuens) menggunakan perangkat lunak MEGA untuk mengidentifikasi daerah overlap dan ketidaksesuaian basa antar sekuens. Proses ini bertujuan menghasilkan sekuens konsensus yang memiliki tingkat akurasi lebih tinggi. Tahapan ini menghasilkan satu sekuens yang representatif untuk dilakukan analisis lebih lanjut. Hasil penyusunan sekuens konsensus ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Sekuens konsensus dari tiap sampel

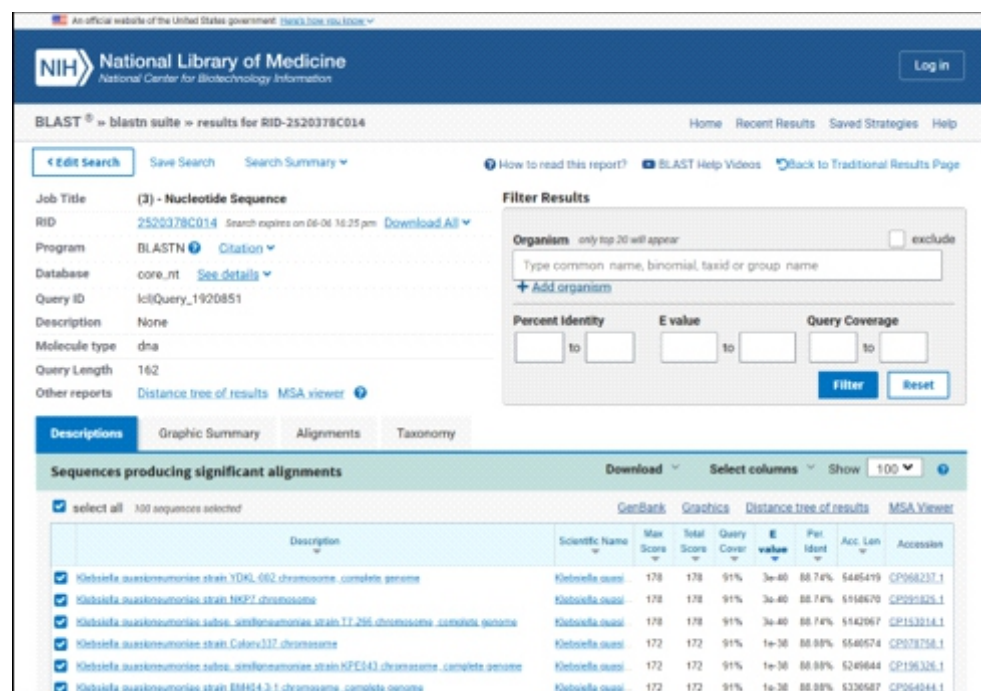
Kode Sampel	Konsensus Sekuens
26	CCTGCGAGCGTAGGCGTCGGCGGCCCGGTCGGCTCCGGTAAAACCGAG CTCCGCGAAACCCCGGGCAAAGCGATGCGTGATACCTGGCAGCTGGCG GTGGTCACTAACGACATCTAAACAAAGAAGATCAGCGCATCCTCACCG AAGCGGCGCTGGACGAG
30	CCTGCGAGCGTAGGCGTCGGCGGCCCGGTCGGCGCCGCGAAAACAACC CCCCGCGAAACCCCGGGCAAAGCGATGCGCGATACCTGGCAGCTGGCG GTGGTCACTAACGACATCTAAACAAAGAAGATCAGCGCATCCTCACCG AAGCGGCGCTGGACGAG
33	CCTGCGAGCGTAGGCGTCGGCGGCCCGGTCGGCTCCGGTAAAACCGCTC TGCTGGAAGCACTGTGTAAAGCGATGCGCGATACCTGGCAGCTGGCGG TGGTCACTAACGACATCTTTACCAAGAAGATCAGCGCATCCTCACCGAA GCGGCGCTGGACGAG

1.4. Hasil Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)

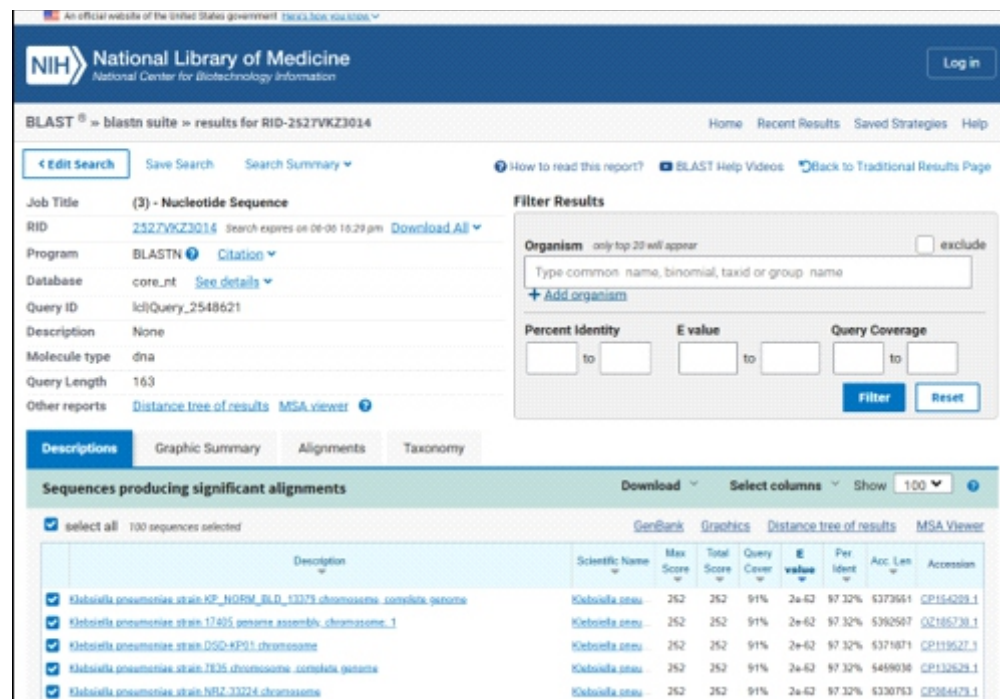
Sekuens konsensus dianalisis menggunakan program BLASTN pada basis data GenBank yang tersedia di National Center for Biotechnology Information (NCBI). Identifikasi spesies ditentukan berdasarkan nilai persentase identitas (percent identity), query coverage, dan E-value. Sekuens dianggap teridentifikasi apabila menunjukkan tingkat homologi tertinggi terhadap sekuens referensi yang tersedia dalam database. Hasil analisis BLAST ditunjukkan pada gambar 5, 6, dan 7.



Gambar 5. Hasil analisis BLAST dari sekuens kode sampel 26 menunjukkan bahwa sekuens yang dianalisis memiliki kemiripan tertinggi dengan beberapa strain bakteri *Klebsiella variicola*. Seluruh hit teratas menunjukkan nilai percent identity sebesar 90,98% dengan query coverage 100% dan E-value 1×10^{-36}



Gambar 6. Hasil analisis BLAST dari sekuens kode sampel 30 menunjukkan bahwa sekuens yang dianalisis memiliki kemiripan tertinggi dengan beberapa strain bakteri *Klebsiella quasipneumoniae*. Seluruh hit teratas menunjukkan nilai percent identity sebesar 88,74% dengan query coverage 91% dan E-value 3×10^{-40}



Gambar 7. Hasil analisis BLAST dari sekuens kode sampel 33 menunjukkan bahwa sekuens yang dianalisis memiliki kemiripan tertinggi dengan beberapa strain bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Seluruh hit teratas menunjukkan nilai percent identity sebesar 97.32% dengan query coverage 91% dan E-value 2×10^{-62}

1. Pembahasan

Hasil konfirmasi molekuler menunjukkan bahwa bakteri yang teridentifikasi merupakan genus *Klebsiella*, berbeda dengan hasil PCR konvensional yang sebelumnya mengindikasikan keberadaan *Mycobacterium tuberculosis*. PCR konvensional memiliki beberapa keterbatasan, yaitu hanya bersifat kualitatif, tidak mampu mengukur jumlah target secara akurat, serta bergantung pada interpretasi visual hasil elektroforesis gel agarosa. Posisi pita DNA yang diamati hanya memberikan estimasi ukuran fragmen karena dipengaruhi oleh kondisi elektroforesis dan resolusi gel, sedangkan ketebalan atau intensitas pita tidak dapat digunakan sebagai indikator kuantitatif yang akurat karena dipengaruhi oleh berbagai faktor teknis, seperti efisiensi amplifikasi, jumlah produk PCR, dan kondisi visualisasi gel. Meskipun amplifikasi PCR menghasilkan pita DNA dengan ukuran yang mendekati target, ukuran amplicon saja tidak dapat digunakan sebagai dasar identifikasi yang pasti karena primer dapat berikatan dengan sekuens non-target yang memiliki tingkat homologi tertentu sehingga menghasilkan amplifikasi non-spesifik (Qin, et al., 2023). Selain itu, berbagai faktor seperti mis-priming, kontaminasi DNA, pembentukan produk amplifikasi campuran, maupun artefak PCR lainnya dapat menyebabkan terbentuknya produk yang menyerupai target yang diharapkan (Qin, et al., 2023). Hasil analisis sekuensing dan pencocokan sekuens menggunakan BLAST yang menunjukkan kemiripan tertinggi dengan *Klebsiella variicola* mengindikasikan bahwa produk PCR yang diamplifikasi bukan berasal dari target *M. tuberculosis*. Temuan ini sejalan dengan laporan bahwa identifikasi spesies bakteri berdasarkan karakteristik fenotipik maupun ukuran produk PCR sering kali tidak cukup akurat untuk membedakan bakteri yang berkerabat dekat sehingga konfirmasi berbasis sekuensing DNA diperlukan untuk memperoleh identifikasi yang lebih spesifik dan andal (Ohama et al., 2022; Yang et al., 2024). Oleh karena itu, keberadaan pita PCR pada ukuran yang sesuai target harus diinterpretasikan secara hati-hati dan idealnya diverifikasi melalui analisis sekuensing untuk memastikan identitas agen yang sebenarnya (Ohama, et al., 2022).

Pada pengujian ini, amplifikasi DNA menggunakan primer HT1 dan HT2 menghasilkan pita DNA pada posisi yang sesuai dengan ukuran target yang diharapkan. Secara visual, keberadaan pita tersebut mengindikasikan bahwa proses amplifikasi berlangsung dengan baik dan menghasilkan produk PCR yang dapat dideteksi melalui elektroforesis gel agarose. Namun demikian, hasil konfirmasi menggunakan metode sekuensing menunjukkan temuan yang berbeda. Analisis BLAST terhadap sekuens hasil amplifikasi tidak mengidentifikasi sampel sebagai *Mycobacterium tuberculosis*, melainkan menunjukkan kemiripan tertinggi dengan *Klebsiella variicola* dengan nilai query coverage sebesar 91%, percent identity sebesar 91,22%, dan E-value sebesar 6×10^{-47} .

Meskipun primer HT1 dan HT2 dirancang untuk mendeteksi anggota *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC), kemungkinan terjadinya amplifikasi non-spesifik tetap dapat terjadi. Amplifikasi non-spesifik merupakan fenomena ketika primer berikatan pada daerah genom yang memiliki kemiripan parsial dengan target sehingga menghasilkan produk PCR selain target yang diharapkan (Chen, et al., 2023). Kondisi ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain desain primer, suhu annealing, konsentrasi primer, kualitas DNA template, serta keberadaan DNA non-target dalam jumlah yang lebih dominan dibandingkan DNA target (Chen, et al., 2023; Bustin, et al., 2024). Suhu annealing yang terlalu rendah dapat meningkatkan kemungkinan terbentuknya ikatan primer pada sekuens yang tidak sepenuhnya komplementer sehingga menghasilkan amplifikasi off-target dan pita DNA non-spesifik (Bustin, et al., 2024). Selain itu, primer yang memiliki spesifisitas rendah atau terdapat kesamaan sekuens dengan organisme lain juga dapat meningkatkan risiko terjadinya mis-priming selama reaksi PCR (Chen, et al., 2023). Pada sampel biologis yang berasal dari jaringan atau spesimen lapangan, keberadaan berbagai jenis mikroorganisme dan DNA non-target dalam jumlah yang lebih tinggi dibandingkan DNA target dapat meningkatkan peluang terjadinya amplifikasi non-spesifik maupun bias amplifikasi, terutama ketika target yang dicari berada pada konsentrasi rendah (Xu, et al., 2024; Rathod & Silverman, 2026). Oleh karena itu, hasil PCR positif yang hanya didasarkan pada keberadaan pita DNA dengan ukuran yang sesuai target sebaiknya dikonfirmasi menggunakan metode tambahan seperti sekuensing DNA untuk memastikan identitas amplicon yang diperoleh.

Analisis terhadap hasil sekuensing menunjukkan bahwa sekuens yang diperoleh memiliki panjang sekitar 162 bp dengan kandungan GC yang relatif tinggi. Kandungan GC yang tinggi merupakan karakteristik yang umum ditemukan pada anggota genus *Mycobacterium*. Namun demikian, karakteristik tersebut tidak dapat digunakan sebagai dasar identifikasi spesies karena beberapa bakteri lain juga memiliki daerah genom dengan kandungan GC yang tinggi. Identifikasi spesies harus didasarkan pada tingkat kesamaan urutan nukleotida terhadap sekuens referensi yang tersedia dalam basis data genetik.

Mycobacterium tuberculosis dan *Klebsiella variicola* merupakan bakteri yang berasal dari kelompok taksonomi yang sangat berbeda. *M. tuberculosis* termasuk dalam filum Actinobacteria, ordo Mycobacteriales, dan famili Mycobacteriaceae, sedangkan *K. variicola* merupakan anggota famili Enterobacteriaceae dalam kelompok Proteobacteria (Freschi, et al., 2021; NCBI Taxonomy, 2026). Perbedaan taksonomi yang jauh tersebut menunjukkan bahwa kedua bakteri tidak memiliki hubungan filogenetik yang dekat dan tidak diharapkan memiliki tingkat kesamaan genom secara keseluruhan yang tinggi. Analisis genomik menunjukkan bahwa konservasi sekuens yang tinggi pada *M. tuberculosis* umumnya ditemukan di antara spesies yang masih berada dalam genus *Mycobacterium* atau anggota *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC), sedangkan kesamaan tersebut menurun drastis pada bakteri yang berasal dari filum berbeda (Freschi, et al., 2021; Veyrier, et al., 2009). Oleh karena itu, kemunculan *K. variicola* sebagai hit terbaik pada analisis BLAST kemungkinan besar disebabkan oleh adanya kemiripan lokal (local sequence similarity) pada

fragmen DNA pendek yang dianalisis, bukan karena adanya kedekatan evolusioner atau homologi genom yang luas antara kedua spesies tersebut. Fenomena ini umum terjadi pada pencarian BLAST berbasis fragmen pendek karena algoritma BLAST mengidentifikasi kecocokan lokal terbaik (local alignment) tanpa mempertimbangkan keseluruhan hubungan filogenetik antarorganisme, sehingga sekuens pendek dari organisme yang tidak berkerabat pun dapat menghasilkan nilai kemiripan yang relatif tinggi pada daerah konservatif tertentu. Karena analisis BLAST dilakukan terhadap fragmen DNA yang relatif pendek, nilai persentase identitas yang tinggi tidak selalu mencerminkan hubungan kekerabatan genom secara keseluruhan. Pada fragmen pendek, kecocokan lokal dapat terjadi pada gen atau daerah konservatif yang dimiliki oleh berbagai bakteri, sehingga identifikasi harus diinterpretasikan berdasarkan kombinasi nilai query coverage, persentase identitas, E-value, serta konteks biologis dari target yang diamplifikasi.

Hasil quality control menunjukkan bahwa sekuens yang diperoleh memiliki kualitas pembacaan yang baik dan tidak mengandung banyak basa ambigu. Selain itu, urutan primer HT1 dan HT2 masih terdeteksi pada sekuens hasil amplifikasi. Temuan ini menunjukkan bahwa produk yang disekuensing memang berasal dari amplicon yang dihasilkan oleh primer tersebut dan bukan akibat kesalahan pelabelan sampel atau kegagalan proses sekuensing. Namun demikian, keberadaan primer pada kedua ujung amplicon tidak secara otomatis membuktikan bahwa fragmen yang diamplifikasi berasal dari *Mycobacterium tuberculosis*, karena primer masih dapat berikatan pada target non-spesifik yang memiliki kesesuaian parsial. Metode deteksi disarankan menggunakan primer PCR yang memiliki spesifisitas lebih tinggi terhadap *Mycobacterium tuberculosis*, seperti primer yang menargetkan daerah Regions of Difference (RD), mpb64, atau gen spesifik lainnya yang mampu membedakan *M. tuberculosis* dari anggota *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) maupun spesies *Mycobacterium* lainnya. Penggunaan primer yang lebih spesifik diharapkan dapat meningkatkan akurasi identifikasi molekuler, mengurangi potensi amplifikasi nonspesifik, serta meningkatkan validitas hasil deteksi, terutama pada sampel dengan konsentrasi DNA target yang rendah (Pérez-Osorio et al., 2012)

Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan seluruh hasil yang diperoleh, interpretasi yang paling rasional adalah bahwa produk PCR yang dihasilkan oleh primer HT1 dan HT2 pada sampel ini tidak dapat dikonfirmasi sebagai *Mycobacterium tuberculosis* melalui analisis sekuensing. Hasil BLAST juga belum cukup kuat untuk mengidentifikasi produk tersebut sebagai *Klebsiella variicola* karena tingkat homologi yang diperoleh masih rendah. Dengan demikian, temuan ini lebih mengarah pada kemungkinan terjadinya amplifikasi non-spesifik atau keterbatasan informasi genetik akibat panjang amplicon yang relatif pendek. Penelitian ini menunjukkan pentingnya penggunaan sekuensing sebagai metode konfirmasi terhadap hasil PCR, khususnya pada pengujian agen penyakit yang memiliki implikasi penting terhadap kesehatan hewan dan kesehatan masyarakat. Penggunaan kontrol positif yang sesuai dengan target gen juga penting untuk memastikan bahwa seluruh komponen dan proses PCR bekerja dengan baik dan menunjukkan bahwa primer yang digunakan masih mampu mengenali dan mengamplifikasi target secara spesifik. Keberadaan pita DNA pada ukuran target perlu diinterpretasikan secara hati-hati karena tidak selalu mencerminkan keberhasilan amplifikasi target yang spesifik. Oleh karena itu, penggunaan primer disarankan yang lebih spesifik terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Selain itu, konfirmasi melalui sekuensing dan analisis bioinformatika menjadi langkah yang sangat penting untuk meningkatkan validitas hasil diagnosis molekuler dan mengurangi kemungkinan terjadinya interpretasi positif palsu pada pengujian *Mycobacterium tuberculosis*.

Daftar Pustaka

- Bustin, S. A., Kirvell, S., Nolan, T., & Shipley, G. L. 2024. FlashPCR: Revolutionising qPCR by Accelerating Amplification through Low ΔT Protocols. *International Journal of Molecular Sciences*. 25(5):2773
- Chen, Z., Halford, N. G., & Liu, C. 2023. Real-Time Quantitative PCR: Primer Design, Reference Gene Selection, Calculations and Statistics. *Metabolites*. 13(7):806
- Freschi, L., Vargas, R., Husain, A. Kamal, S.M.M., Skrahina, A., Tahseen, S., Ismail, N., Barbova, A., Niemann, S., Cirilo, D.M., Dean, A.S., Zignol, M., & Farhat, M.R. 2021. Population structure, biogeography and transmissibility of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nature Communications*. 12(6099)
- Goig, G.A., Windels, E.M., Loiseau, C. et al. 2025. Ecology, global diversity and evolutionary mechanisms in the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Nature Reviews Microbiology*. 23:602–614
- Ohama, Y., Nomura, Y., Mizoguchi, M., Higurashi, Y., Okamoto, K., & Harada, S. 2022. Accurate Identification of *Klebsiella variicola* by MALDI-TOF Mass Spectrometry in Clinical Microbiology Laboratories. *Microbiology spectrum*. 10(5)
- Pérez-Osorio, A.C., Boyle, D.S., Ingham, Z.K., Ostash, A., Gautom, R.K., Colombel, C., Houze, Y., Leader, B.T. 2012. Rapid Identification of *Mycobacteria* and Drug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* by Use of a Single Multiplex PCR and DNA Sequencing. *Journal of Clinical Microbiology*. 50(2):326-336
- Qin, Y., Wu, L., Zhang, Q., Wen, C., Van Nostrand, J. D., Ning, D., Raskin, L., Pinto, A., & Zhou, J. 2023. Effects of error, chimera, bias, and GC content on the accuracy of amplicon sequencing. *mSystems*. 8(6)
- Rathod, D. R., & Silverman, J. D. 2026. PCR bias impacts microbiome ecological analyses. *PLoS computational biology*. 22(1)
- Szacawa, E., Radulski, Ł., Weiner, M., Szulowski, K., & Krajewska-Wędzina, M. 2025. *Mycobacterium tuberculosis* Complex Infections in Animals: A Comprehensive Review of Species Distribution and Laboratory Diagnostic Methods. *Pathogens*. 14(10):1004
- Tanaka, I. I., Anno, I. S., Leite, S. R., Cooksey, R. C., & Leite, C. Q. 2003. Comparison of a multiplex-PCR assay with mycolic acids analysis and conventional methods for the identification of mycobacteria. *Microbiology and immunology*. 47(5):307–312
- Vaishnavi, V., Arun K, Sindhu, H.D., Harini, R., Ranjani, S., & Kannan, P. 2026. Reverse zoonosis in bovine tuberculosis: The neglected threat of *Mycobacterium tuberculosis* infection in cattle. *Tuberculosis*. 157
- Veyrier, F., Pletzer, D., Turenne, C., & Behr, M. A. (009. Phylogenetic detection of horizontal gene transfer during the step-wise genesis of *Mycobacterium tuberculosis*. *BMC evolutionary biology*. 9(196)
- Xu, M. Q., Pan, F., Peng, L. H., & Yang, Y. S. 2024. Advances in the isolation, cultivation, and identification of gut microbes. *Military Medical Research*. 11(1):34
- Yang, F., Liu, F. Y., & Zhong, Y. M. 2024. Comparative Genomics Revealing the Genomic Characteristics of *Klebsiella variicola* Clinical Isolates in China. *Tropical medicine and infectious disease*. 9(8):180

Template Judul Naskah/Artikel VELABO dalam Bahasa Indonesia, Tidak Lebih dari 20 Kata (Times New Roman 14pt, Bold)

Manuscript Draft Title in English, Title No More than Twenty Words

Penulis Pertama^{1*}, Penulis Kedua², Penulis Ketiga³ (11pt, bold)

¹Afiliasi/Institusi Penulis Pertama, Alamat, Nama instansi/Lembaga, Kota

²Afiliasi/Institusi Penulis Kedua, Alamat, Nama instansi/Lembaga, Kota

³Afiliasi/Institusi Penulis Ketiga, Alamat, Nama instansi/Lembaga, Kota

Email : email corresponding author

Abstract

Abstract is written in English (12 pt) which composed of background, material and method, results, and conclusion. Number of words are 100-300 with a maximum of 5 keywords. Abstract is typed 1 space in one paragraph.

Keywords: 3-5 words in alphabetical order and separated by semicolon (;)

Abstrak

Abstrak ditulis dalam bahasa Indonesia (12 pt) yang terdiri dari latar belakang, materi dan metode, hasil, dan kesimpulan. Jumlah kata 100-300 dengan maksimum 5 kata kunci. Abstrak diketik satu spasi dalam satu paragraf.

Kata kunci: 3-5 kata berdasarkan urutan abjad, dipisahkan dengan semikolon (;)

Pendahuluan

Naskah ditulis dengan huruf Times New Roman 12 pt, spasi 2 (kecuali abstrak spasi 1). Artikel atau naskah terdiri dari 6-20 halaman dalam kertas ukuran A4. Penulis tidak boleh mengubah format dan layout template dokumen ini. Minimal terdapat 3 kalimat dalam 1 paragraf.

Pendahuluan berisi latar belakang yang memuat arti penting dan tujuan penelitian, serta manfaat penelitian yang telah dilakukan. Pendahuluan harus menunjukkan sitasi referensi pendukung dan penulisannya harus sesuai dengan aturan. Contoh penulisan sitasi jurnal ilmiah (Khoiriyah et al., 2024) dan apabila lebih dari satu sitasi dapat dituliskan sebagai berikut (Angeliya et al., 2022; Yulianti et al., 2023), prosiding, buku dan sumber online.

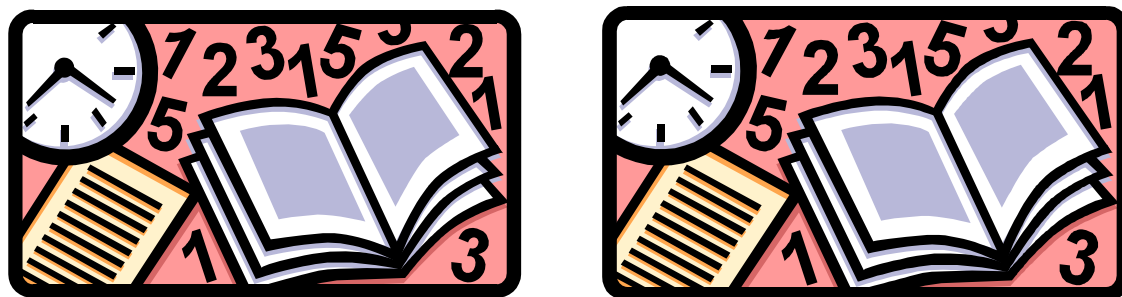
Materi dan Metode

Materi dan Metode harus dijelaskan dengan detail yang memadai agar orang lain dapat meniru dan mengembangkan hasil yang dipublikasikan. Materi terdiri dari Bahan dan peralatan dijelaskan tentang nama pabrik pembuat, nama kimia dan nama dagang, data, kode komputer, dan protokol yang terkait dengan publikasi tersedia untuk pembaca. Cara penelitian ditulis secara singkat dan disertai cara analisis.

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian dijabarkan secara urut, rinci dan jelas. Pembahasan hasil penelitian diuraikan secara ilmiah dan rasional dengan didukung oleh pustaka dan referensi ilmiah yang relevan. Temuan ilmiah yang harus dijelaskan secara ilmiah antara lain: Temuan ilmiah apa saja yang diperoleh? Mengapa itu bisa terjadi? Semua pertanyaan tersebut harus dijelaskan secara ilmiah, tidak hanya deskriptif, jika perlu didukung oleh fenomena ilmiah dasar yang memadai. Selain itu, perlu juga dilakukan perbandingan dengan hasil peneliti lain yang topiknya relevan.

Hasil penelitian sangat disarankan untuk disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Tabel dibuat dalam bentuk terbuka dan diberi judul diatas yang menggambarkan isi tabel seperti pada contoh (Tabel 1). Jumlah tabel dan gambar maksimal 6 (6 tabel atau 6 gambar atau 3 tabel 3 gambar), setiap tabel atau gambar harus diberi keterangan dengan huruf Times New Roman 9 pt, spasi 1, dan left justified. Gambar dalam manuskrip harus diberi nomor yang diikuti dengan keterangan gambar, dan dituliskan di bawah gambar (Gambar 1). Gambar harus dengan kualitas yang bagus. Gambar yang memerlukan resolusi tinggi harus dikirim dengan file terpisah JPEG atau TIFF dengan kepadatan gambar minimal 300 dpi.



Gambar 1. (a) gambar pertama; (b) gambar kedua. Simbol dan huruf dalam gambar harus dijelaskan, baik dalam caption atau legend yang merupakan bagian dari gambar. Jika cukup, dua gambar dapat diletakkan bersebelahan untuk menghemat ruang, atau boleh satu persatu (9 pt).

Tabel harus diberi nomor dan judul yang diletakkan di atas tabel. Gunakan hanya garis horisontal dalam tabel untuk membedakan judul kolom dari isi tabel. Tabel harus melekat dalam teks dan tidak terpisah. Tulis satuan dalam tanda kurung.

Tabel 1. Tabel harus diberi nomor dan judul yang diletakkan di atas tabel dengan huruf Times New Roman 9 pt, spasi 1 dan left justified. Beri jarak satu spasi antara judul dan tabel.

Judul Kolom	Parameter A (mg/ml)	Parameter B (mg/ml)
Perlakuan pertama	1	4
Perlakuan kedua	2	5
Perlakuan ketiga	3	6

Keterangan tabel dapat ditulis di bawah tabel dengan huruf 9 pt dan spasi 1

Kesimpulan

Kesimpulan hasil penelitian dinyatakan secara singkat, padat dan jelas. Kesimpulan menggambarkan jawaban hipotesis dan / atau tujuan penelitian atau temuan ilmiah yang diperoleh. Kesimpulan tidak berisi pengulangan hasil dan pembahasan, melainkan ringkasan temuan seperti yang diharapkan dalam tujuan atau hipotesis. Jika perlu, di akhir kesimpulan juga dapat ditulis hal-hal yang akan dilakukan terkait dengan gagasan selanjutnya dari penelitian tersebut atau saran.

Ucapan Terimakasih

Hanya dicantumkan untuk perseorangan dan institusi atau lembaga yang benar-benar membantu pelaksanaan penelitian seperti sumber dana dan Kerjasama penelitian atau kegiatan lapangan

Daftar Pustaka

Semua referensi di dalam teks artikel harus disebutkan di dalam Daftar Pustaka. Daftar Pustaka harus berisi pustaka-pustaka acuan yang berasal dari sumber primer seperti jurnal ilmiah dalam kurun waktu 10 tahun terakhir dan minimal 80% dari keseluruhan daftar pustaka. Setiap artikel minimal berisi 10 daftar pustaka acuan. Daftar Pustaka disusun menurut abjad tanpa menggunakan nomor urut, nama jurnal disingkat sesuai dengan aturan internasional yang berlaku. Contoh penulisan Daftar Pustaka seperti di bawah ini.

Culp, W.T.N. 2013. Surgical Treatment of Splenic Disease. In Small Animal Soft Tissue Surgery. Monnet, E. (Ed). 1st ed. Wiley-Blackwell, Iowa.

Angeliya, L., Kristianingrum, Y.P., Asmara, W., Wibowo, M.H. 2022. Genetic characterization and distribution of the virus in chicken embryo tissue infected with Newcastle disease virus isolated from commercial and native chickens in Indonesia. Veterinary World. 15(6): 14671480.

Srihanto, E.A., Angeliya, L., Guntoro, T., Dharmawan, R., Dibia, N., Juwita, R.P. 2019. Analisis Genetik Gen Fusion Isolat Newcastle Disease Virus yang Berasal dari Berbagai Wilayah Indonesia. Prosiding, Penyidikan Penyakit Hewan: 185-294. <http://repository.pertanian.go.id/handle/123456789/8995>.



FIND US ONLINE
<http://bvetlampung.ditjennak.pertanian.go.id>



KEMENTERIAN PERTANIAN
**BALAI VETERINER
LAMPUNG**



bvetlampung
@pertanian.co.id



Call Center
081379230195



@bvetlampung



@bvetlampung



Balai Veteriner