

Deteksi Brucellosis Sapi Perah di Kecamatan Turen Kabupaten Malang dengan Metode *Rose Bengal Test* (RBT) dan *Complement Fixation Test* (CFT)

Detection of Brucellosis in Dairy Cattle in Turen District Malang Regency using Rose Bengal Test (RBT) and Complement Fixation Test (CFT) Methods

Imbi Kusumastuti^{1*}, Wiwiek Tyasningsih², Ratih Novita Praja², Suwarno², Maya Nurwartanti Yunita³, Aditya Yudhana⁴

¹Bachelor of Veterinary Medicine, ²Department of Microbiology, ³Department of Pathology, ⁴Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga,

Unair-C Campus Mulyorejo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia,

*Corresponding author: imbi.kusumastuti-2016@fkh.unair.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya Brucellosis pada sapi perah betina di Kecamatan Turen, Kabupaten Malang. Total 78 sampel digunakan dalam penelitian ini yang diambil dari 351 total populasi sapi perah betina yang telah dihitung berdasarkan rumus slovin. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *Rose Bengal Test* (RBT) sebagai *screening test* dan dilanjutkan dengan metode *Complement Fixation Test* (CFT) sebagai uji konfirmasi. Hasil RBT dari penelitian ini menunjukkan hasil positif pada 10 sampel dan dikonfirmasi menggunakan CFT sebagai uji diagnosis akhir Brucellosis. CFT menunjukkan hasil positif pada 9 sampel dan negatif pada 1 sampel. Persentase kejadian Brucellosis di Kecamatan Turen tercatat sebesar 11,5%, yang menunjukkan Kecamatan Turen menjadi daerah dengan kejadian Brucellosis yang tinggi (> 2%).

Kata kunci: Brucellosis, sapi perah, *Rose Bengal Test*, *Complement Fixation Test*, Malang

Abstract

The purpose of this research was to detect Brucellosis in female dairy cattle in Turen District, Malang Regency. A total of 78 samples were used in this research taken from 351 total population of female dairy cattle that have been calculated based on the slovin formula. The methods used in this research were *Rose Bengal Test* (RBT) for the screening test and continued with *Complement Fixation Test* (CFT) for the confirmation test. The results RBT of this research clearly showed that positive results from 10 samples were confirmed as a final diagnostic test of Brucellosis using CFT. CFT showed a positive result from 9 samples and negative in 1 sample. The percentage of Brucellosis occurrence in the Turen District was recorded at 11.5%. Moreover, Turen District also became an area with a high Brucellosis occurrence (>2%).

Keywords: Brucellosis, dairy cows, *Rose Bengal Test*, *Complement Fixation Test*, Malang

Received: 20 Maret 2020

Revised: 17 April 2020

Accepted: 16 Mei 2020

PENDAHULUAN

Brucellosis merupakan penyakit infeksius yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif dari genus *Brucella* yang bersifat patogen pada berbagai spesies hewan serta dapat dengan mudah ditularkan ke manusia atau zoonosis (BB Litvet, 2016). Menurut keputusan Menteri Pertanian nomor 4026/Kpts./OT.140/3/2013 penyakit Brucellosis termasuk Penyakit Hewan

Menular Strategis (PHMS) (Kepmentan, 2013). Penyakit Brucellosis sendiri merupakan salah satu penyakit yang masih menjadi kendala utama dalam usaha pengembangan sektor peternakan di Indonesia. Kerugian ekonomi yang diakibatkan pada ternak ruminansia besar di Indonesia diperkirakan mencapai Rp. 3,6 trilyun per tahun atau setara 1,8% dari nilai total aset ternak di Indonesia (Basri dan Sumiarso, 2017).



Data BBVet Wates pada tahun 2018 menyebutkan bahwa sampel sapi yang diteliti Brucellosis dari Provinsi DIY, Jawa Tengah dan Jawa Timur menunjukkan hasil positif sebanyak 285 ekor sapi. Hasil positif terbanyak ditemukan di Provinsi Jawa Timur yaitu 231 ekor. Kabupaten Malang merupakan salah satu daerah di Jawa Timur yang memiliki populasi sapi perah terbesar dan menjadi kawasan potensial unggulan dengan total populasi 85.529 ekor (Disnak dan Keswan Kab. Malang, 2019).

Kabupaten Malang pernah dilaporkan menjadi daerah ditemukannya kasus penyakit Brucellosis pertama kali di Jawa Timur, yang terjadi di KUD SAE Pujon dan menyerang 6 ekor sapi perah (Disnak Jatim, 2008). Tahun 2018 pada bulan Oktober di Kecamatan Jabung, Kabupaten Malang di temukan hasil positif Brucellosis pada 6 ekor sapi, sedangkan di Kecamatan Pakis pada bulan Juli sebanyak 34 ekor sapi dan November sebanyak 112 ekor sapi (BBVet Wates, 2018). Kecamatan yang belum pernah dilaporkan ditemukan penyakit Brucellosis salah satunya adalah Kecamatan Turen. Kecamatan Turen merupakan daerah di Kabupaten Malang yang menjadi sentra peternakan sapi perah yang mulai berkembang dan berpotensi dengan populasi mencapai 413 ekor yang meliputi jantan 62 ekor dan betina 351 ekor (Disnak dan Keswan Kab. Malang, 2019).

Berdasarkan kondisi dan fakta tersebut maka perlu dilakukan deteksi apakah terjadi penyebaran pada daerah yang belum pernah dilaporkan positif Brucellosis. Langkah yang dilakukan yaitu dengan mendeteksi apakah ditemukan antibodi *Brucella abortus* menggunakan metode *Rose Bengal Test* (RBT) yang merupakan *screening test* cepat dan mudah yang direkomendasikan untuk mendeteksi sebagian besar hewan yang terinfeksi *Brucella*. Uji positif RBT perlu dilakukan uji konfirmasi spesifik untuk menentukan diagnosis akhir yang akan dibuat. Uji konfirmasi dilakukan dengan metode *Complement Fixation Test* (CFT) yaitu melihat reaksi ikatan komplemen (Corbel, 2006).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dimulai dengan pengambilan sampel darah sapi perah betina di 10 desa pada 11 peternakan di Kecamatan Turen, Kabupaten Malang sebesar 78 sampel dari total keseluruhan populasi sapi perah betina 351 ekor. Besar sampel diperoleh dari hasil perhitungan menggunakan rumus dari Slovin (Sujarweni dan Endrayanto, 2012) dibawah ini :

$$n = \frac{N}{1 + N(e)^2}$$

Keterangan:

n = Ukuran sampel/jumlah responden

N = Ukuran populasi

e = Persentase kesalahan (error) sebesar 10% = 0,1

78 sampel uji diambil dari beberapa desa yang tiap desanya mendapatkan proporsi pengambilan sampel yang berbeda tergantung pada total sampel di masing-masing desa. Proporsi jumlah pengambilan sampel pada tiap desa dihitung menggunakan rumus perbandingan, yaitu [(total sampel tiap desa x total sampel uji) x ukuran populasi⁻¹].

Alat yang digunakan untuk uji metode RBT adalah tabung *vakutainer* non EDTA 5 ml (sebagai tempat penampungan sampel darah), jarum *venoject 21 G*, *disposable syringe* 1 ml, RBT *Plate*, *mikropipet*, *yellow tip*, *mikrotube*, kertas label, *board marker*, *cool box*, *ice gell*. Uji CFT membutuhkan alat inkubator, refrigerator, bak pemanas, *microshaker*, *erlenmeyer*, *plate* WHO 80 lubang, *plate mikrotiter* bentuk U 96 lubang, *multichanel* pipet, *single* pipet dan tip.

Bahan yang digunakan pada uji RBT adalah sampel serum darah sapi perah betina, kapas, alkohol, antigen RBT (PUSVETMA) D.06121530, serum kontrol positif dan kontrol negatif (PUSVETMA). Uji CFT membutuhkan serum positif hasil uji RBT, serum kontrol positif dan kontrol negatif, CFT *buffer*, antigen (Ag), komplemen, hemolisin, eritrosit domba 3%.

Sampel darah yang telah didapatkan kemudian ditunggu hingga mengeluarkan serum untuk selanjutnya dilakukan uji serologis dengan metode RBT di UPTD Pusat Kesehatan Hewan Turen (Puskeswan Turen). Hasil uji RBT positif kemudian dilakukan pengoleksian serum darah

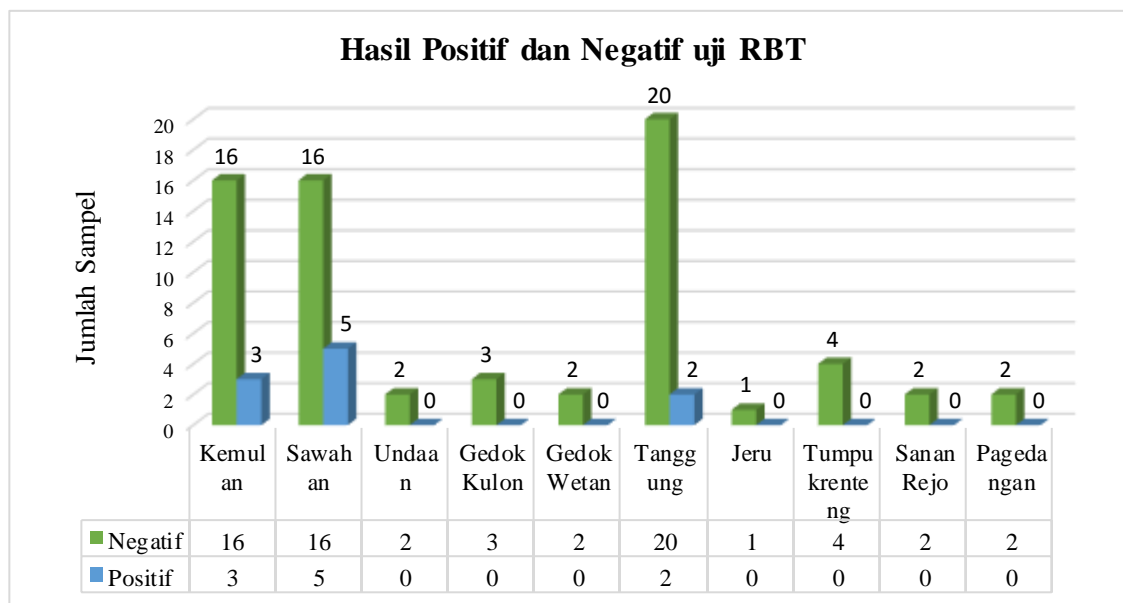
dengan pendinginan selama satu malam pada suhu ruang agar terjadi proses koagulasi atau pembekuan darah. Pada hari berikutnya serum di koleksi dari bekuan darah untuk dipindahkan pada mikrotube dan disimpan dalam suhu -20°C sampai dilakukan uji konfirmasi dengan metode CFT yang dilakukan di Balai Besar Veteriner Denpasar (Fikri *et al.*, 2018; Wassie, 2019).

Prinsip langkah uji RBT adalah dengan mereaksikan sampel serum darah sapi perah dengan antigen RBT yang di homogenkan selama 4 menit untuk mengetahui hasil tes apakah menunjukkan aglutinasi atau tidak (OIE, 2018). Uji CFT memiliki prinsip uji yaitu

dengan melihat reaksi ikatan komplemen (Corbel, 2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji RBT pada 78 sampel serum darah sapi perah betina yang diambil dari peternakan di Kecamatan Turen, Kabupaten Malang menunjukkan hasil positif sebanyak 10 sampel. Hasil ditemukan di desa Kemulan sebanyak tiga sampel kode nomor 40, 41 dan 43. Desa Sawahan lima sampel kode nomor 2, 4, 15, 18 dan 19 serta Desa Tanggung dua sampel positif kode nomor 24 dan 35. Pada Gambar 1 dapat dilihat hasil positif dan negatif uji RBT.

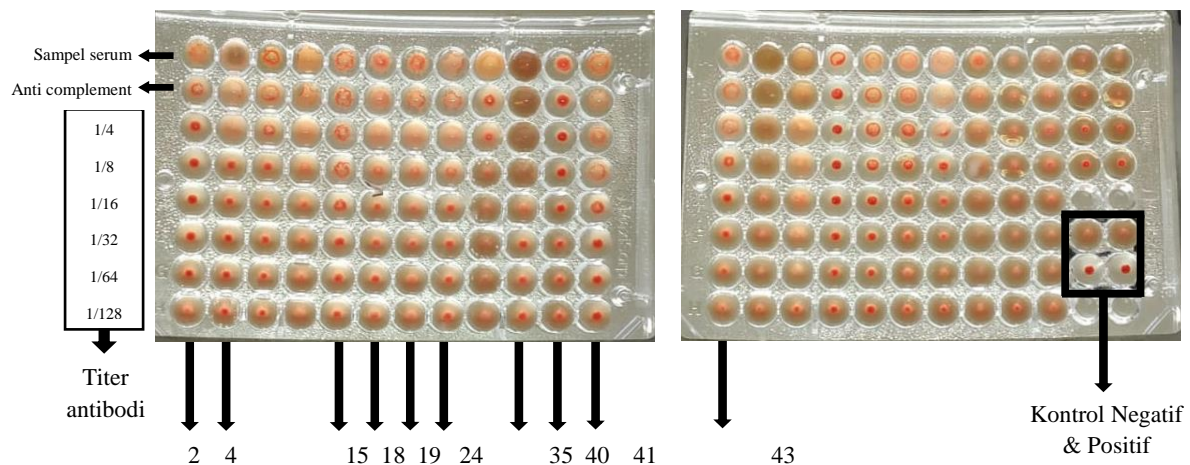


Gambar 1. Hasil positif dan negatif uji RBT

Penetapan hasil positif Brucella didasarkan pada hasil uji sampel yang menunjukkan terjadinya aglutinasi yang jelas (OIE, 2018). Hasil sampel positif pada penelitian ini menunjukkan tujuh sampel positif 3 (+++) yang ditandai dengan adanya aglutinasi sempurna cairan jernih dan tampak jelas dan 3 sampel positif 2 (++) yang ditunjukkan dengan adanya aglutinasi berupa pasir halus dengan cairan agak jernih dan batas jelas (OIE, 2009). Uji RBT digunakan suspensi antigen Brucella yang memiliki koloni smooth diwarnai dengan *Rose Bengal* dan menggunakan larutan penyangga pH rendah 3,65 yang akan mencegah terjadinya

aglutinasi dengan antibodi IgM dan hanya mengukur IgG₁ (Kaltungo *et al.*, 2014; Dwi *et al.*, 2018).

Uji RBT memiliki sensitifitas uji yang tinggi (Kaltungo *et al.*, 2014) atau merupakan uji yang dapat mendeteksi adanya positif Brucellosis (Ghurafa *et al.*, 2019). Hasil positif uji RBT kemudian dilakukan uji CFT yang merupakan test konfirmasi Brucellosis yang memiliki tingkat spesifisitas uji tinggi (OIE, 2018). Spesifisitas merupakan kemampuan uji untuk mendeteksi adanya negatif Brucellosis. Penggunaan uji RBT yang memiliki sensitifitas tinggi dengan uji CFT yang memiliki spesifisitas



Gambar 2. Hasil uji CFT

tinggi cukup ideal sebagai diagnosis Brucellosis (Ghurafa et al., 2019).

Uji CFT memiliki prinsip uji pengikatan komplemen yang digunakan untuk mengetahui keberadaan antibodi dengan mengukur titer antibodi (OIE, 2018). Metode uji CFT yaitu dengan melihat reaksi ikatan komplemen dengan antigen dan antibodi yang hasilnya dapat diketahui dengan penambahan eritrosit domba dan hemolisin (hemolitik sistem) (Poester et al., 2010). Pada uji CFT IgM akan mengalami inaktivasi pada suhu 56-58⁰C selama 30 menit (Kaltungo et al., 2014) sehingga hanya IgG₁ yang diukur dan membuat spesifitas uji sangat tinggi (Nielsen and Yu, 2010; Pradika et al., 2019). Hasil uji CFT menunjukkan hasil satu sampel negatif kode sampel nomor 35 dan sembilan sampel lainnya kode sampel nomor 2, 4, 15, 18, 19, 24, 40, 41 dan 43 positif. Pada Gambar 2 dapat dilihat hasil uji CFT.

Hasil titrasi CFT pada sampel uji negatif kode sampel nomor 35 tidak menunjukkan hasil sedangkan pada sampel uji positif kode sampel nomor 2, 4, 15, 18, 24, 40 dan 41 menunjukkan titer 1/128, kode sampel nomor 19 menunjukkan titer 1/32 dan kode sampel nomor 43 menunjukkan titer 1/64.

Presentase Brucellosis pada sapi perah betina di Kecamatan Turen, Kabupaten Malang yang telah diteliti menggunakan metode RBT sebagai *screening test* dan uji konfirmasi menggunakan metode CFT mendapatkan hasil presentase Brucellosis 11,5% atau 9 sampel positif dari total 78 sampel yang telah diambil.

Dapat dilihat hasil presentase Brucellosis pada sapi perah betina di Kecamatan Turen, Kabupaten Malang.

Tindakan yang perlu dilakukan mengingat Kecamatan Turen memiliki presentase Brucellosis <2% dan menjadikannya daerah tertular tinggi adalah dengan program vaksinasi (Kartini et al., 2017). Tindakan pengendalian lain seperti desinfeksi kandang tertular dan edukasi kepada peternak melalui sosialisasi dan *workshop* tentang manajemen *good breeding practises* termasuk *hygiene* sanitasi kandang, peningkatan biosekuriti dan *biosafety* serta pelaporan kasus keguguran pada sapi sesegera mungkin. Selain itu pembelian ternak juga perlu disertai SKKH (Kristiyanti dan Apriliana, 2018).

KESIMPULAN

Antibodi Brucella pada sapi perah betina di Kecamatan Turen, Kabupaten Malang yang diuji dengan metode RBT ditemukan 10 sampel uji positif. Persentase ternak sapi perah betina Brucellosis di Kecamatan Turen, Kabupaten Malang yang diuji menggunakan metode RBT sebagai *screening test* dan CFT sebagai uji konfirmasi didapatkan hasil sebesar 11,5% atau 9 sampel positif dari total 78 sampel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada peternak sapi perah di Kecamatan Turen Kabupaten Malang, Dinas Kesehatan Hewan

Kabupaten Malang dan Balai Besar Veteriner Denpasar atas izin dan bantuan yang diberikan untuk terlaksanakannya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Allan, G. S., Chappel, R. J., Williamson, P., & McNaught, D. J. (1976). A quantitative comparison of the sensitivity of serological tests for bovine brucellosis to different antibody classes. *Epidemiology & Infection*, 76(2), 287-298.
- Astarina, D. K., Pribadi, E. S., & Pasaribu, F. H. (2016). Penggunaan Immunostik sebagai Uji Serologi untuk Deteksi *Brucella abortus* pada Sapi (Application Immunostick Assay For Serological Test Brucella Abortus In Bovine). *Jurnal Veteriner*, 19(2), 169-176.
- Balai Besar Penelitian Veteriner (BB Litvet). (2016). Laporan Bulanan September 2016. Bogor.
- Balai Besar Veteriner (BBVet) Wates. (2018). Isi Peta Penyakit Hewan. Yogyakarta.
- Basri, C., & Sumiarto, B. (2017). Taksiran Kerugian Ekonomi Penyakit Kluron Menular (Brucellosis) pada Populasi Ternak di Indonesia. *Jurnal Veteriner*, 18(4), 547-556.
- Corbel, M. J. (2006). Brucellosis in Human and animal. World Health Organization Press. Geneva.
- Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Kabupaten Malang (Disnak and Keswan Kab. Malang). (2019). Rekap Populasi Ternak Per Wilayah (Ekor).
- Dinas Peternakan Provinsi Jawa Timur (Disnak Jatim). (2008). Jawa Timur awasi dan kendalikan penyakit Hewan. <https://disnak.jatimprov.go.id/web/beritautama/read/66/jawa-timur-awasi-dan-kendalikan-penyakit-hewan>. [28 September 2019]
- Dwi, W. K., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Hamid, I. S., Sarudji, S., & Purnama, M. T. E. (2018). Deteksi Antibodi Brucella pada Sapi Perah di Kecamatan Purwoharjo Kabupaten Banyuwangi dengan Metode Rose Bengal Test (RBT). *Jurnal Medik Veteriner*, 1(3), 142-147.
- Fikri, F., Purnama, M. T. E., Saputro, A. L., & Hamid, I. S. (2018). Identifikasi *Escherichia coli* dan *Salmonella spp* pada Karkas Sapi di Rumah Potong Hewan di Banyuwangi dan Resistensi Terhadap Antibiotika. *Jurnal Sain Veteriner*, 36(1), 123-128.
- Ghurafa, R., Lukman, D. W., & Latif, H. (2019). I Indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay Sebagai Metode untuk Melacak Bruselosis pada Sapi Perah (Indirect Enzyme Immunosorbent Assay (I-Elisa) As Method For Detect Brucellosis In Dairy Cow). *Jurnal Veteriner*, 20(1), 30-37.
- Kaltungo, B. Y., Saidu, S. N. A., Sackey, A. K. B., & Kazeem, H. M. 2014. A review on diagnostic techniques for brucellosis. *African Journal of Biotechnology*, 13(1), 1-10.
- Kartini, D., Noor, S. M., & Pasaribu, F. H. 2017. Deteksi Brucellosis pada Babi secara Serologi dan Molekuler di Rumah Potong Hewan Kapuk, Jakarta dan Ciroyom, Bandung. *Acta Veterinaria Indonesiana*, 5(2), 66-73.
- Keputusan Menteri Pertanian (Kepmentan). (2013). Nomor 4026/Kpts./OT.140/3/2013. Penetapan Jenis Penyakit Hewan Menular Strategis
- Kristiyanti, F., & Apriliana, U. I. (2018). AEVI-13 Investigasi Outbreak Bovine Brucellosis di Desa Hargobinangun Kecamatan Pakem

- Kabupaten Sleman Tahun 2017. *Hemera Zoa*, 426-428.
- Nielsen, K., & Yu, W. L. (2010). Serological diagnosis of brucellosis. *Prilozi*, 31(1), 65-89.
- Office International des Epizooties (OIE). (2009). Bovine Brucellosis. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals in Paris. 564–567.
- Office International des Epizooties (OIE). 2018. Brucellosis (*Brucella abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*) (Infection with *Brucella abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*). Chapter 3.1.4: 355-398.
- Poester, P. F., Nielsen, K., Ernesto Samartino, L., & Ling, Y. W. (2010). Diagnosis of brucellosis. *The Open Veterinary Science Journal*, 4(1), 46-60.
- Pradika, A. Y., Chusniati, S., Purnama, M. T. E., Effendi, M. H., Yudhana, A., & Wibawati, P. A. (2019). Uji Total *Escherichia coli* pada Susu Sapi Segar di Koperasi Peternak Sapi Perah (KPSP) Karyo Ngremboko Kecamatan Purwoharjo Kabupaten Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1), 1-6.
- Sujarweni, V. W., & Endrayanto, P. (2012). Statistika untuk penelitian. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Wassie, K. B. (2019). A Sero-Prevalence Study of Bovine Brucellosis. Ethiopia. *Internasional Journal Agriculture and Agribusiness*, 3(2), 219–226.
