

Deteksi Antigen *Coxiella burnetii* Secara Imunohistokimia pada Organ Limpa Sapi dari Rumah Potong Hewan Ampel, Kabupaten Boyolali

Immunohistochemical Detection of Coxiella burnetii in Cattle Spleen Organs from Ampel Slaughterhouse, Boyolali Regency

Eko Prasetyo Nugroho¹, Agus Setiyono², Upik Kesumawati Hadi³, Wiwin Winarsih²,
Dwi Astuti⁴

¹Sekolah Pascasarjana IPB, Program Studi Ilmu Biomedis Hewan,

²Laboratorium Patologi, Divisi Patologi Veteriner IPB,

³Laboratorium Entomologi, Divisi Parasitologi dan Entomologi Veteriner IPB,

⁴Pusat Penelitian Biologi, Divisi Zoologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Bogor,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor,

Jl. Agatis, Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680,

*Corresponding author: drh.koko@gmail.com

Abstrak

Q-fever merupakan penyakit bakterial yang bersifat zoonosis. *Q-fever* disebabkan oleh *Coxiella burnetii*, bakteri gram negatif dan bersifat intraseluler obligat. Studi ini dilakukan untuk mendeteksi keberadaan agen *C. burnetii* pada organ limpa, jantung, paru-paru, hati dan ginjal dari 100 ekor sapi dari rumah potong hewan (RPH) Ampel, Kabupaten Boyolali. Sampel diuji dengan metode imunohistokimia (IHK) menggunakan antibodi poliklonal anti- *C. burnetii*. Hasil pemeriksaan IHK ditemukan keberadaan *C. burnetii* di sitoplasma sel makrofag warna coklat spesifik hanya pada organ limpa sebanyak 4 dari 100 sapi imunoreaktif (4%). Empat sampel individu tersebut berasal dari sapi lokal ras Simental. Temuan ini mengindikasikan bahwa kejadian *Q-fever* sudah terjadi pada sapi lokal di Kabupaten Boyolali.

Kata kunci: *Coxiella burnetii*, imunohistokimia, sapi, Boyolali

Abstract

Q-fever is a zoonotic bacterial disease that caused by *Coxiella burnetii*. These microorganism are gram negative and obligate intracellular bacteria. This study was conducted to detect *C. burnetii* in cattle organs which collected from Ampel slaughterhouse Boyolali Regency. In this study, spleen, heart, lung, liver and kidney were collected from 100 cattle. The samples were tested by immunohistochemical (IHC) method using polyclonal anti- *C. burnetii* antibodies. Immunohistochemical examination found the presence of *C. burnetii* in the cytoplasm of macrophage cells with specific brown color only in the spleen as many as 4 out of 100 cattle showing immunoreactive (4%). The four positive individual samples were from Simental cattle. These results indicate that *Q-fever* was found in local cattle in Boyolali Regency.

Keywords: *Coxiella burnetii*, immunohistochemical, cattle, Boyolali

Received: 25 Agustus 2020

Revised: 26 Oktober 2020

Accepted: 4 Desember 2020

PENDAHULUAN

Berbagai penyakit dapat mengganggu produktivitas hewan ternak. Satu diantara penyakit tersebut adalah *Q-fever*. *Q-fever* merupakan penyakit zoonosis disebabkan oleh bakteri *Coxiella burnetii* (OIE 2010; Eldin *et al.*,

2017). Bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif dan bersifat obligat intraseluler (Maurin & Raoult 1999; Eldin *et al.*, 2017). Reservoir utama penyakit ini pada hewan yaitu sapi, kambing dan domba (Fournier *et al.*, 1998; Maurin & Raoult, 1999). Penularan *Q-fever* dapat terjadi melalui kontak langsung dengan

hewan terinfeksi maupun oleh partikel debu yang terkontaminasi agen penyebab. Penyakit ini juga dapat ditularkan melalui vektor (*vector borne disease*). Gejala pada hewan secara umum bersifat subklinis. Gejala yang muncul di antaranya adalah penurunan nafsu makan, gangguan pernapasan dan gangguan reproduksi. Kejadian abortus pada trimester ketiga kebuntingan pada ternak sering dikelirukan dengan kejadian Brucellosis (Fournier *et al.*, 1998). Gejala klinis penyakit ini pada manusia sering digambarkan sebagai gejala *flu-like-symptom* (Porter *et al.*, 2011).

Kasus *Q-fever* terdapat hampir di seluruh dunia termasuk di Indonesia (Angelakis & Raoult 2010). Penyakit ini tidak hanya dapat menginfeksi sapi, kambing dan domba tetapi juga dapat menginfeksi unta arab (Browne *et al.*, 2017), kijang (Garcia *et al.*, 2017) dan kuda (Desjardins *et al.*, 2018). Australia merupakan negara pengekspor sapi BX terbesar ke Indonesia yang statusnya masih belum bebas dari penyakit ini. Cooper *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa sebanyak 16.8% sampel serum sapi potong yang berasal dari Queensland, Australia seropositif terhadap *C. burnetii*.

Kaplan & Bertagna (1955) pertama kali melaporkan kejadian *Q-fever* di Indonesia yaitu sebanyak 189 serum sapi positif terhadap antibodi *C. burnetii* menggunakan metode *capillary tube agglutination test* (CAT). Mahatmi (2006) melaporkan bahwa sebesar 31.88% domba dan 20.29% kambing seropositif *Q-fever* menggunakan metode *indirect immunofluorescence assay* (IFA). Berdasarkan pengujian *nested-PCR* di Bali dan Bogor, ditemukan sebanyak 6.12% sapi Bali dan *Brahman Cross* (BX) serta 3.64% pada kambing dan domba positif DNA *C. burnetii* (Mahatmi, 2006). Hasil pemeriksaan imunohistokimia (IHK) menunjukkan sebanyak 62/162 (38.3%) sapi imunoreaktif terhadap *C. burnetii* dari Rumah Potong Hewan (RPH) Kota Medan dan Kabupaten Deli Serdang (Nasution *et al.*, 2015).

Kejadian *Q-fever* pada hewan yang cenderung bersifat subklinis membutuhkan upaya untuk mendeteksi agen penyebab, sehingga diperlukan metode uji yang dapat

membuktikan keberadaan agen tersebut. Imunohistokimia (IHK) merupakan salah satu metode uji yang dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan agen tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan agen *C. burnetii* menggunakan teknik IHK pada organ limpa, jantung, paru-paru, hati dan ginjal dari 100 ekor sapi di rumah potong hewan (RPH) Ampel, Kabupaten Boyolali.

METODE PENELITIAN

Sampel dan Bahan Penelitian

Sampel yang digunakan untuk pemeriksaan IHK adalah organ limpa, paru-paru, hati, ginjal dan jantung. Organ tersebut dikumpulkan dari 100 ekor sapi Peranakan Ongole, Simental, Brahman dan Fresian Holstein di RPH Ampel, Kabupaten Boyolali pada tanggal 19-21 Juni 2017. Organ dikoleksi dengan ukuran sebesar ± 1 cm³, yang selanjutnya dimasukkan ke dalam BNF 10%. Sampel *fresh* organ juga dikoleksi dengan dibungkus dalam aluminium foil dan disimpan dalam *coolbox* untuk menjaga kondisi sampel. Bahan digunakan dalam penelitian ini adalah kit IHK (LSAB Kit DAKO) dan antibodi poliklonal anti-*C. burnetii* (Herlina *et al.*, 2019). Alat yang dipakai yaitu *tissue processor* (Sakura®), *waterbath* (Taitec®), gelas objek, dan lain-lain.

Uji Penapisan (*Screening*)

Uji penapisan (*Screening*) awal dilakukan pada 100 sampel sapi secara *pooling* sebanyak 5 tahap dengan menggunakan metode *Nested-PCR* (Ogawa *et al.*, 2004; Mahatmi *et al.*, 2007). Pewarnaan IHK dan Haematoksilin-Eosin (HE) digunakan sebagai konfirmasi untuk menguji sampel yang sama dari uji penapisan yang menunjukkan hasil positif (OIE 2010). Sampel organ dievaluasi secara IHK dengan metode streptavidin peroksidase. Sampel organ yang imunoreaktif pada pemeriksaan IHK kemudian diwarnai dengan pewarnaan HE.

Imunohistokimia

Pewarnaan IHK digunakan untuk mendeteksi keberadaan antigen *C. burnetii* pada

5 jenis sampel organ yang sudah dikoleksi. Keberadaan antigen akan digambarkan dengan warna coklat ketika terdapat ikatan spesifik antara antibodi dengan antigen *C. burnetii*. Blok parafin sampel organ dipotong dengan ketebalan 5 µm dan diletakkan pada gelas obyek yang telah dilapisi dengan *poly l lysine* 1%. Deparafinasi preparat dilakukan menggunakan *xylene* serta rehidrasi dengan alkohol konsentrasi bertingkat dan aquades. Preparat yang sudah direhidrasi kemudian dipanaskan dalam larutan *buffer* sitrat menggunakan *microwave* selama lima menit. Preparat dicuci dengan *phosphate buffered saline tween 20* (PBST) sebanyak tiga kali masing-masing selama lima menit untuk tujuan *antigen retrieval*. Proses *blocking endogenous peroxidase* dengan H₂O₂ 3% dilakukan selama 30 menit, kemudian dicuci dengan PBST sebanyak tiga kali masing-masing selama lima menit.

Blocking ikatan nonspesifik berikutnya dilakukan dengan memberikan *fetal bovine serum* (FBS) 1% dengan cara ditetaskan dan didiamkan selama 30 menit, lalu dicuci dengan PBST sebanyak tiga kali masing-masing selama lima menit. Preparat selanjutnya ditetesi dengan antibodi primer (antibodi poliklonal, *rabbit anti-C. burnetii* FKH-IPB) dan inkubasi satu malam pada suhu 4°C. Preparat dicuci kembali dengan PBST sebanyak tiga kali masing-masing selama lima menit. Preparat selanjutnya ditetesi dengan antibodi sekunder (*biotinilated link universal*) selama 30 menit setelah pencucian, dan dilanjutkan dengan pencucian menggunakan PBST sebanyak tiga kali masing-masing selama lima menit. Preparat kemudian ditetesi dengan streptavidin HRP selama 30 menit dan dicuci lagi dengan PBST sebanyak tiga kali masing-masing selama lima menit. *Chromogen 3,3'-diaminobenzidine* (DAB) ditetesi pada preparat dan didiamkan selama maksimal 15 detik. Preparat direndam pada aquades sesaat setelah pemberian DAB dan dilanjutkan dengan pemberian *counterstain* menggunakan Mayer's hematoksilin selama 25 detik. Preparat dicuci dengan aquades dan dilanjutkan dengan proses dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat dan *clearing* dengan xilol. Preparat selanjutnya di-

mounting dengan *permount* dan dilapisi *cover glass*.

Pemeriksaan IHK dilakukan untuk menemukan keberadaan suatu antigen dalam jaringan oleh antibodi yang spesifik. Ikatan antigen dan antibodi spesifik ini ditandai dengan sebuah reaksi warna histokimia (Ramos-Vara 2005). Pada metode uji yang dilakukan, ikatan tersebut ditunjukkan dengan menggunakan *chromogen* DAB, sehingga dapat terlihat warna coklat spesifik pada organ imunoreaktif dengan mikroskop cahaya biasa (Nasution et al., 2015).

Analisis Data

Data diolah menggunakan *microsoft excel* dan disajikan dalam bentuk tabel yang menunjukkan data sapi imunoreaktif. Penyajian data hasil pemeriksaan IHK dan HE dideskripsikan dalam bentuk gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini telah diuji secara IHK dan HE beberapa organ antara lain limpa, paru-paru, hati, jantung dan ginjal dari 100 ekor sapi. Uji penapisan awal didapatkan hasil positif hanya pada *pooling* ke 5 (10 ekor sapi) (Tabel 1). Hasil pemeriksaan IHK dari 10 sapi (dari *pooling* ke 5) tersebut menunjukkan sebanyak 4 ekor sapi yang imunoreaktif (Tabel 2). Oleh karena itu, sapi yang positif *Q-fever* di Kabupaten Boyolali adalah sebanyak 4% (4/100).

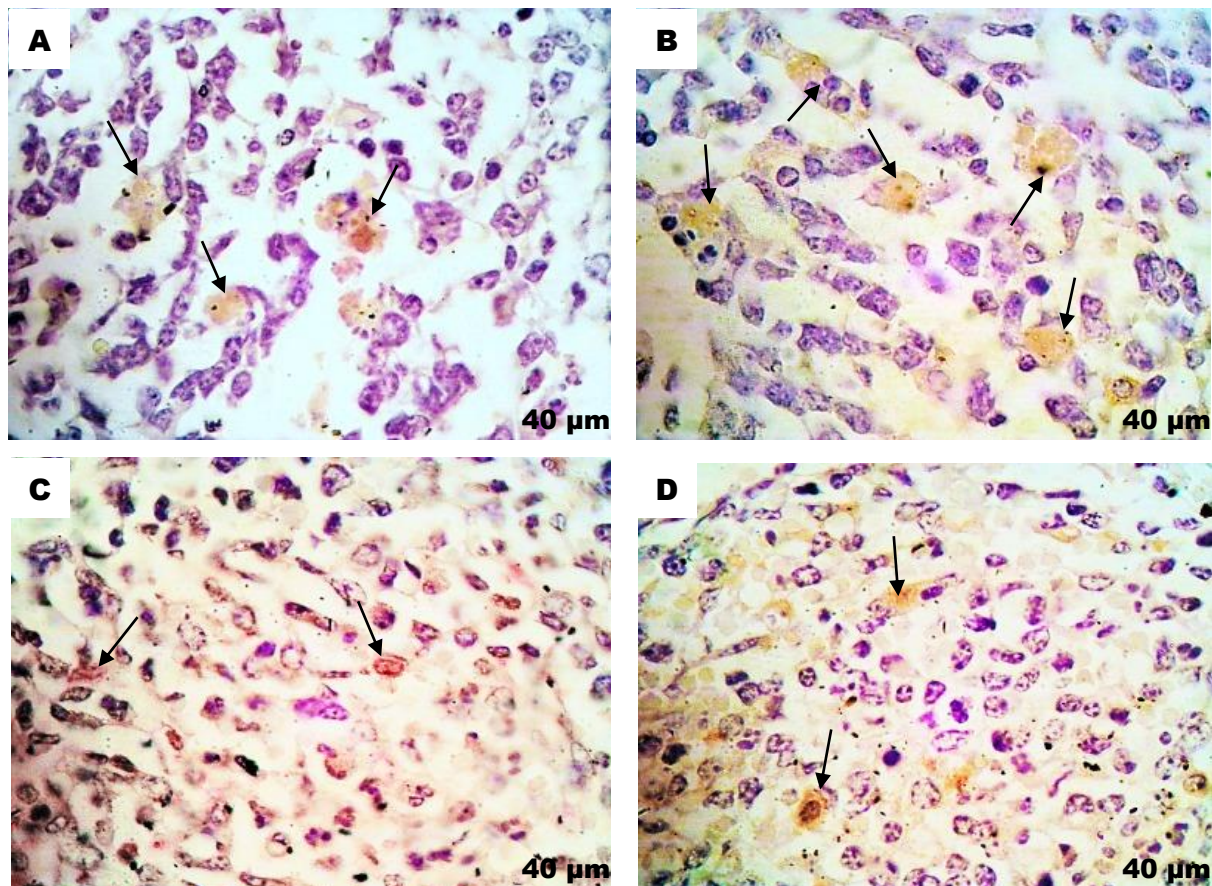
C. burnetii ditemukan pada sapi yang positif hanya di organ limpa, sementara pada organ lain tidak ditemukan keberadaan antigen tersebut. Organ limpa yang positif ditunjukkan dengan adanya warna coklat spesifik pada sitoplasma sel makrofag dan sebagian besar terdapat di daerah pulpa merah (Gambar 1A,B,C,D). Pada pemeriksaan dengan pewarnaan HE, organ limpa yang imunoreaktif terlihat adanya populasi sel radang makrofag dan neutrofil pada pulpa merah, kongesti serta deplesi folikel limfoid (Gambar 2A,B,C,D). Lesi yang ditemukan tersebut secara umum tidak konsisten pada semua organ imunoreaktif yang diperiksa.

Tabel 1. Hasil uji penapisan (*Nested-PCR*) pada 100 ekor sapi

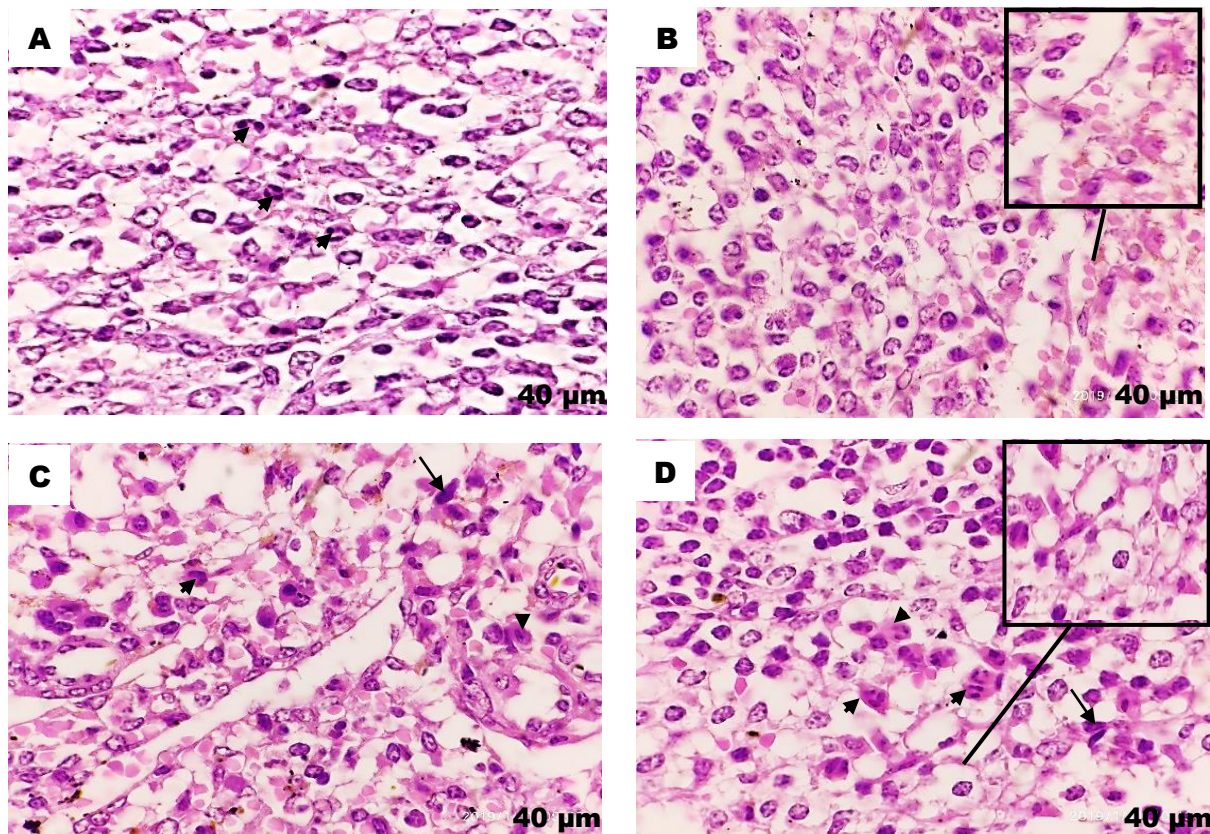
<i>Pooling ke-</i>	Jumlah sapi	Hasil
1	25	Negatif
2	20	Negatif
3	25	Negatif
4	20	Negatif
5	10	Positif

Tabel 2. Hasil pemeriksaan IHK pada 10 ekor sapi dari hasil uji tapis

Sapi Ke-	Kode Sampel	Jenis Sapi	Jenis Organ				
			Jantung	Paru-Paru	Ginjal	Limpa	Hati
1	BYL-QF-S2	PO	-	-	-	-	-
2	BYL-QF-S10	Simental	-	-	-	-	-
3	BYL-QF-S11	Simental	-	-	-	+	-
4	BYL-QF-S20	Simental	-	-	-	-	-
5	BYL-QF-S21	Simental	-	-	-	-	-
6	BYL-QF-S23	Simental	-	-	-	-	-
7	BYL-QF-S25	Simental	-	-	-	+	-
8	BYL-QF-S28	Simental	-	-	-	+	-
9	BYL-QF-S29	Simental	-	-	-	+	-
10	BYL-QF-S30	Simental	-	-	-	-	-



Gambar 1. Hasil pewarnaan IHK. Warna coklat menunjukkan hasil imunoreaktif pada sel-sel makrofag (tanda panah). (A) Sapi ke-3; (B) Sapi ke-7; (C) Sapi ke-8; (D) Sapi ke-9. Perbesaran 400x.



Gambar 2. Hasil pewarnaan HE. (A) Organ limpa menunjukkan adanya sel neutrofil pada pulpa merah (kepala panah); (B) Organ limpa menunjukkan adanya kongesti (gambar *insert*); (C) Organ limpa menunjukkan adanya sel neutrofil (kepala panah) dan sel makrofag (panah); (D) Organ limpa menunjukkan adanya deplesi sel limfoid (gambar *insert*), sel neutrofil (kepala panah) dan makrofag (panah). Perbesaran 400x.

Doughnut granuloma merupakan lesi khas penyakit *Q-fever* berupa ruang kosong (*central clear space*) dan cincin fibrin yang terdapat di sekitar granuloma atau di pinggir granuloma (Maurin dan Raoult, 1999; Eldin *et al.*, 2017). Lesi granuloma tersebut sering ditemukan pada kasus akut dan jarang pada kasus kronis. Hal tersebut dikarenakan lemahnya respons imun oleh sel T (Nasution *et al.*, 2015). Norina *et al.*, (2011) menemukan lesi *doughnut granuloma* pada organ limpa dan hati kambing yang positif *Q-fever* pada pemeriksaan HE. Akumulasi sel radang pada organ yang positif *Q-fever* umum ditemukan, seperti sel raksasa, sel plasma, dan sel neutrofil (Norina *et al.*, 2011, Nasution *et al.* 2015). Pada penelitian ini, organ yang imunoreaktif tidak ditemukan lesi granuloma. Temuan tersebut diduga karena infeksi yang terjadi sudah berjalan secara kronis (Norina *et al.*, 2011; Eldin *et al.*, 2017). Metode IHK untuk

mengonfirmasi keberadaan agen pada organ apabila belum ditemukan kelainan patognomonis pada pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan HE.

Aerosol adalah rute infeksi utama dari *C. burnetii* (Eldin *et al.*, 2017). Bakteri ini memiliki dosis infeksi yang sangat rendah dimana hanya dengan satu sel bakteri dapat menyebabkan sakit (Woldehiwet, 2004). Target sel dari infeksi *C. burnetii* adalah sel monosit/makrofag (Shannon dan Heinzen, 2009; Angelakis dan Raoult, 2010; Eldin *et al.*, 2017). Berdasarkan pemeriksaan IHK yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa kehadiran antigen *C. burnetii* pada organ yang imunoreaktif ditemukan pada sel-sel makrofag. Bakteri intraseluler obligat seperti *C. burnetii* secara IHK dapat ditemukan di dalam makrofag seperti pada kasus endokarditis (Eldin *et al.*, 2017). Hasil pemeriksaan IHK juga ditemukan antigen tersebut dalam sel makrofag

pada kasus hepatitis kronis akibat *Q-fever* (Lepidi *et al.*, 2009). Nasution *et al.* (2015) juga mendapatkan hasil serupa yaitu *C. burnetii* ditemukan pada makrofag di organ limpa, paru dan hati. Norina *et al.*, (2011) melaporkan bahwa *C. burnetii* ditemukan pada makrofag di beberapa organ seperti limpa, paru-paru, plasenta, hati, dan ginjal.

Perbedaan jumlah dan jenis organ yang imunoreaktif berhubungan dengan rute dan tahap infeksi pada setiap individu sapi. Keempat individu yang positif *Q-fever*, *C. burnetii* ditemukan hanya pada organ limpa yang kaitannya dengan fungsi limpa sebagai organ pertahanan. Fungsi limpa antara lain menyaring partikel asing, mikroorganisme patogen, tempat cadangan darah serta degradasi eritrosit yang tua dan rusak. Proses ini terjadi pada bagian pulpa merah dari limpa (Fry dan McGavin 2006). Faktor yang menyebabkan tidak ditemukannya agen pada organ lain selain limpa yaitu pada bagian organ (potongan kecil organ) yang diperiksa diduga tidak terdapat agen target sehingga non imunoreaktif, serta diduga penyakit sudah berjalan kronis dan perbedaan respon individu yang menyebabkan beberapa individu hewan mampu mengatasi infeksi (Maurin & Raoult 1999; Porter *et al.*, 2011; Eldin *et al.*, 2017). Sapi yang disembelih di RPH Ampel adalah hewan jantan yang ketika terinfeksi menunjukkan gejala ringan bahkan cenderung subklinis, tidak seperti hewan betina yang dapat menyebabkan infeksi laten dan agen terakumulasi pada kelenjar mammae dan uterus sehingga dapat tereaktivasi selama kebuntingan dan dapat menyebabkan abortus (Fournier *et al.*, 1998; Alemneh & Ayelign, 2018). Sapi yang ditemukan positif *Q-fever* secara klinis tidak menunjukkan sakit dan organ yang dikoleksi juga tidak terdapat kelainan patologis. Penyakit *Q-fever* pada hewan terbukti sering tidak menunjukkan gejala klinis yang jelas atau bersifat subklinis.

Agen *C. burnetii* dapat menginfeksi berbagai jenis hewan mulai dari ternak ruminansia, hewan peliharaan, dan hewan liar dengan dengan cakupan spesies yang beragam

(Maurin & Raoult 1999; Eldin *et al.*, 2017). Hasil penelitian ini mengindikasikan adanya kejadian penyakit *Q-fever* pada sapi lokal (ras Simental) di Kabupaten Boyolali. Di Indonesia, laporan kejadian *Q-fever* pada ternak lokal belum banyak dilaporkan. Mahatmi *et al.*, (2007) menemukan sebanyak 3 ekor (4.29%) sapi Bali yang positif terinfeksi *C. Burnetii*. Tindakan pencegahan dan pengendalian penyakit ini perlu dilakukan agar tidak menyebar lebih luas lagi pada populasi sapi di wilayah tersebut. Upaya yang dapat dilakukan diantaranya memperketat aturan lalu lintas ternak antar wilayah, melakukan sosialisasi kepada masyarakat dan meningkatkan sistem kesehatan serta manajemen pemeliharaan ternak.

KESIMPULAN

Antigen *C. burnetii* sebagai penyebab *Q-fever* telah dapat dideteksi pada organ limpa sapi menggunakan metode IHK. Sapi yang positif *Q-fever* pada penelitian ini merupakan sapi lokal ras Simental. Temuan ini mengindikasikan telah adanya penyakit *Q-fever* pada sapi lokal di Kabupaten Boyolali.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi (Kemendikbud) -- Kemendikbud yang telah memberikan beasiswa PMDSU. Peneliti juga mengucapkan terima kasih kepada Dinas Perikanan dan Peternakan Kabupaten Boyolali atas dukungan izin penelitian serta Laboratorium Patologi dan Laboratorium Entomologi Kesehatan, Fakultas Kedokteran Hewan IPB yang telah membantu penyediaan bahan dan fasilitas penelitian, sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.

DAFTAR PUSTAKA

Alemneh, T., & Ayelign, M. (2018). Q fever (coxiellosis) in animals and humans. *Poultry Dairy and Veterinary Science*, 5(4), 1-9.

- Angelakis, E., & Raoult, D. (2010). Review *Q fever*. *Journal of Veterinary Microbiology*, 140, 297-309.
- Browne, A. S., Fevre, E. M., Kinnaird, M., Muloi, D. M., Wang, C. A., Larsen, P. S., O'Brien, T., & Deem, S. L. (2017). Serosurvey of *Coxiella burnetii* (*Q fever*) in Dromedary Camels (*Camelus dromedarius*) in Laikipia Country, Kenya. *Zoonosis and Public Health*.
- Cooper, A., Hedlefs, R., McGowan, M., Ketheesan, N., & Govan, B. (2011). Serological evidence of *Coxiella burnetii* infection in beef cattle in Queensland. *Austria Veterinary Journal*, 8(7), 260-2644.
- Desjardins, I., Joulie, A., Pradier, S., Lecollinet, S., Beck, C., Vial, L., Dufour, P., Gasqui, P., Legrand, L., Edouard, S., Sidi-Boumedine, K., Rousset, E., Jourdain, E., & Leblond, A. (2018). Seroprevalence of horses to *Coxiella burnetii* in an *Q fever* endemic area. *Journal of Veterinary Microbiology*, 215, 49-56.
- Eldin, C., Melenotte, C., Mediannikov, O., Ghigo, E., Million, M., Edouard, S., Mege, J. L., Maurin, M., & Raoult, D. (2017). From *Q fever* to *Coxiella burnetii* infection: a paradigm change. *Clinical Microbiology Review, American Society for Microbiology*, 30(1), 116-190.
- Fournier, P. E., Thomas, J. M., & Raoult, D. (1998). Minireview: diagnosis of *Q fever*. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(7), 1823-1834.
- Fry, M. M., & McGavin, M. D. (2006). Bone Marrow, Blood Cells, and Lymphatic System. In *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. McGavin M.D. and J.F. Zachary (Eds.). 4th ed. Academic Press, Elsevier, Mosby, St Louis. pp: 780-788.
- Garcia, E., Espeno, G., Fernandez, R., Gomez-Martin, A., Rodriguez-Linde, J. M., & De la Fe, C. (2017). *Coxiella burnetii* detected in three species of endangered North African gazelles that recently aborted. *Theriogenology*. Manuscript.
- Herlina, N., Setiyono, A., Juniantito, V., & Said, S. (2019). Induksi dan purifikasi antibodi anti-*Coxiella burnetii* untuk deteksi post mortem *Q fever* pada Ruminansia. *Acta Veterinaria Indonesiana*, 7(1), 1-10.
- Kaplan, M. M., & Bertagna, P. (1955). The Geographical Distribution of *Q fever* in Bull. WHO, 13, 829-860.
- Lepidi, H., Gouriet, F. & Raoult, D. (2009). Immunohistochemical detection of *Coxiella burnetii* in chronic *Q fever* hepatitis. *Journal of European Society Clinical Microbiology Infectious Disease*, 15(2), 169-170.
- Mahatmi, H. (2006). Studi *Q fever* pada Ruminansia di Wilayah Bogor dan Provinsi Bali Menggunakan Metode *Nested-Polymerase Chain Reaction* dan Uji *Indirect Immunofluorescent Antibody* [disertasi]. Bogor (ID): Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. *Applied and Environmental Microbiology*. 64, 4234-4237.
- Mahatmi, H., Setiyono, A., Damayanti, R.S., & Pasaribu, F. H. (2007). Deteksi *Coxiella burnetii* penyebab *Q fever* pada sapi, domba dan kambing di Bogor dan Bali. *Jurnal Veteriner*, 180-187.
- Maurin, M., & Raoult, D. (1999). *Q fever*. *Journal of Clinical Microbiology Review*, 12(4), 518-533.
- Nasution, S. S., Setiyono, A., & Handharyani, E. (2015). Deteksi imunohistokimia antigen *Coxiella burnetii* sebagai penyebab *Q fever*

- pada sapi. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 9(2), 147-151.
- Norina, L., Sabri, Y., Goh, M. Y., Zamri-Saad, M., Sarenasulastri, A. B., Latifah, H., Jamilah, J., & Noordin, M. M. (2011). Immunohistological localisation of *Coxiella burnetii* in various organs of naturally *Q* fever infected goats. *Journal of Tropical Agricultural Science*, 34(1), 167-173.
- [OIE] Office International des Epizootics. (2010). *Q fever* [internet]. [diunduh 2 Maret 2020]. Tersedia pada: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.12_Q-FEVER.pdf
- Ogawa, M., Setiyono, A., Sato, K., Cai, Y., Shiga, S., & Kishimoto, T. (2004). Evaluation of PCR Assays currently used for Detection of *Coxiella burnetii* in Japan. *Southeast Asian Journal Tropical Medical Public Health*, 35(4), 151 -154.
- Porter, S. R., Czaplicki, G., Mainil, J., Guatteo, R., & Saegerman, C. (2011). *Q fever*: Current state of knowledge and perspectives of research of a neglected zoonosis. *International Journal of Microbiology*, 18, 1-22.
- Ramos-Vara, J. A. (2005). Technical aspects of immunohistochemistry. *Journal of Veterinary Pathology*, 42, 405-426.
- Shannon, J. G., & Heinzen, R. A. (2009). Adaptive immunity to the obligate intracellular pathogen *Coxiella burnetii*. *Immunology Research*, 43(1-3), 138-148.
- Woldehiwet, Z. (2004). *Q fever* (coxiellosis): Epidemiology and pathogenesis. *Research in Veterinary Science*, 77, 93-100.
