

TESIS

**ANALISIS DISTRIBUSI INFEKSI *Mycobacterium bovis* DENGAN
TEKNIK KONVENSIONAL, POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)
DAN GEOGRAPHICAL INFORMATION SYSTEM (GIS) PADA TERNAK
SAPI PERAH DI KABUPATEN ENREKANG**

**THE ANALYSIS OF DISTRIBUTION OF *Mycobacterium bovis*
INFECTION WITH CONVENTIONAL TECHNIQUES, POLYMERASE
CHAIN REACTION (PCR) AND GEOGRAPHICAL INFORMATION
SYSTEM (GIS) IN DAIRY COW CATTLE IN ENREKANG REGENCY**

SARTIKA JUWITA



**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2013

**ANALISIS DISTRIBUSI INFEKSI *Mycobacterium bovis* DENGAN
TEKNIK KONVENSIONAL, POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)
DAN GEOGRAPHICAL INFORMATION SYSTEM (GIS) PADA
TERNAK SAPI PERAH DI KABUPATEN ENREKANG**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi
Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

SARTIKA JUWITA

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2013

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Sartika Juwita

Nomor Mahasiswa : P1506211006

Program Studi : Biomedik

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Juli 2013

Yang Menyatakan

Sartika Juwita

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan Rahmat dan KaruniaNya serta nikmat kesehatan sehingga penyusunan tesis ini dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan program Magister (S2) pada program studi Biomedik konsentrasi Mikrobiologi Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Gagasan yang melatari tajuk permasalahan ini timbul dari hasil studi pustaka penulis terhadap kasus Tuberkulosis (TB) di beberapa negara yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* dan *Mycobacterium bovis*. Penulis ingin mengetahui teknik pemeriksaan konvensional dan molekuler dalam mendeteksi *Mycobacterium bovis* pada ternak sapi perah di Kabupaten Enrekang dan mengetahui distribusi infeksi *Mycobacterium bovis* di lapangan.

Banyak kendala yang dihadapi oleh penulis dalam rangka penyusunan tesis ini, yang hanya berkat bantuan berbagai pihak, maka tesis ini selesai pada waktunya. Dalam kesempatan ini penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih kepada **Prof. dr. Moch. Hatta, Sp.MK, Ph.D** sebagai ketua komisi penasihat dan **Prof. Dr. drh. Lucia Muslimin, M.Sc** sebagai anggota komisi penasihat atas bantuan dan bimbingannya yang telah diberikan mulai dari pengembangan minat terhadap permasalahan penelitian ini, pelaksanaan penelitian sampai dengan penulisan tesis ini. Terima kasih kepada **Prof. Ahyar Ahmad, Ph.D, Dr.**

Rosana Agus, M.Si sebagai penguji yang banyak memberi masukan dan membantu dalam penulisan, serta **Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes** sebagai penguji.

Terima kasih kepada Kepala Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian Kementerian Pertanian Republik Indonesia, Ketua Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian (STPP) Gowa **Drs. H. Muh. Arby Hamire, M.Si** yang memberikan kesempatan untuk melanjutkan pendidikan program Magister.

Terima kasih yang tak terhingga kepada Kepala Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Enrekang **Ir. H. Yunus Abbas, M.Pd** dan seluruh staf kesehatan hewan **drh. Suhartila, drh. Desita Asra**, Yusril S.ST, dan Ridwan S.ST atas bantuan dan kerjasamanya di lapangan. Terima kasih kepada kepala Stasiun Karantina Pertanian Pare-Pare **drh. Muhlis Natsir M.Kes** dan stafnya atas bantuan dan dukungannya.

Terima kasih kepada suamiku tercinta **drh. Ahmad Nadif** atas kesabaran, cinta kasihnya, dan dukungannya yang luar biasa. Kepada kedua orang tuaku, ibu mertuaku, saudara-saudaraku mbak Ratna dan mas Anton serta seluruh keluarga atas segala doa dan dukungannya. Teman-teman S2 biomedik mikrobiologi angkatan 2011 kk Nor, kk Syam, kk Salsa, kk Arni, kk Anita, kk Celing, Uni, Tatia, Nawir, Andini, Waris, Fardi, Phia atas persahabatan yang luar biasa ini. Staf Laboratorium Mikrobiologi FK Unhas Pak Romy, Pak Mus, dan Pak Markus atas bantuan dan dukungannya dalam penyelesaian penelitian. Dosen dan staf

STPP gowa khususnya **drh. Purwanta, M.Kes** atas dukunganya dan seluruh pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan tesis ini masih jauh dari kesempurnaan oleh karena itu saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan. Semoga tesis ini bermanfaat bagi yang memerlukan.

Makassar, Juli 2013

Sartika Juwita

ABSTRAK

SARTIKA JUWITA. Analisis distribusi infeksi *Mycobacterium bovis* dengan teknik konvensional, *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan *Geographical Information System* (GIS) pada ternak sapi perah di Kabupaten Enrekang (Pembimbing **Mochammad Hatta** dan **Lucia Muslimin**).

Bovine tuberculosis adalah penyakit zoonosis penting yang tersebar di seluruh dunia. *Mycobacterium bovis* merupakan agen penyebab *bovine tuberculosis* pada ternak, hewan domestikasi lain dan satwa liar. *Mycobacterium bovis* berpotensi menyebabkan bahaya kesehatan baik pada hewan maupun manusia.

Penelitian ini bertujuan untuk (1) menganalisis kemampuan sejumlah tes untuk mendeteksi *Mycobacterium bovis* yaitu tes konvensional dengan pewarnaan basil tahan asam (BTA) dan kultur, serta tes molekuler dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR), (2) melihat distribusi infeksi *Mycobacterium bovis* di lapangan dengan teknik *Geographical Information System* (GIS).

Penelitian ini adalah penelitian eksploratif untuk menganalisis kemampuan sejumlah tes yang digunakan untuk mendeteksi *Mycobacterium bovis* dan untuk mengetahui distribusi infeksi *Mycobacterium bovis* di lapangan. Pengambilan sampel susu ternak sapi perah dilakukan secara acak dari dua kecamatan yang mewakili lokasi penelitian. Data dianalisis dengan menggunakan analisis statistik crosstabulation yang dilanjutkan dengan uji Chi-square.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 60 sampel susu ternak sapi perah yang dilakukan pewarnaan basil tahan asam (BTA) terhadap dekontaminasi susu terdapat 2 sampel (3,3 %) yang positif *Mycobacterium bovis*, 60 sampel susu (100%) negatif terhadap kultur bakteri dan 6 sampel (10%) dengan pengujian PCR positif *Mycobacterium bovis*. Sensitivitas pengujian PCR sebesar 100% dan spesifitas 93,1% dibandingkan dengan uji pewarnaan BTA dekontaminasi susu. Enam sampel positif pengujian PCR selanjutnya dengan menggunakan *Global Positioning System* (GPS) maka terlihat 2 sampel yang berkelompok (kluster) sedangkan empat sampel lain terlihat tersebar.

Kata Kunci : *Mycobacterium bovis*, Teknik Konvensional, PCR, Ternak Sapi Perah

ABSTRACT

SARTIKA JUWITA. The Analysis of distribution of *Mycobacterium bovis* infection with conventional techniques, Polymerase Chain Reaction (PCR) and Geographical Information System (GIS) in dairy cow cattle in Enrekang regency (Supervisor **Mochamman Hatta** and **Lucia Muslimin**).

Bovine tuberculosis is currently an important zoonosis worldwide, Mycobacterium bovis is the etiological agent of bovine tuberculosis has an extraordinarily broad mammalian host range that includes cattle, domestic livestock, and wildlife. *Mycobacterium bovis* pose a potential health to both animals and humans.

The aims of the research are to (1) analyze the ability of the number of test to detect *Mycobacterium bovis*, i.e conventional tests with staining acid-fast bacilli (AFB) and culture, and molecular tests with Polymerase Chain Reaction (PCR), (2) find out the distribution of *Mycobacterium bovis* infection in the field with Geographical Information System (GIS).

The research was an explorative study to analyze a number of tests used to detect *Mycobacterium bovis* and to find out the distribution of *Mycobacterium bovis* infection in the field. The sample was the milk of dairy cow cattle taken using random sampling method from two districts representing the research location. The data were analyzed using crosstabulation statistics continued with Chi-square test.

The results of the research indicate that of the 60 samples of milk of dairy cow cattle done by staining acid-fast bacilli (AFB) to milk decontamination there are 2 samples (3.3%) which are positive of *Mycobacterium bovis*, 60 samples (100%) are negative of bacterial culture and 6 samples (10%) with PCR test which are positive of *Mycobacterium bovis*. The sensitivity of PCR testing is 100% and the specificity is 93.1% compared to staining acid-fast bacilli (AFB) to milk decontamination. The next six samples are positive of PCR testing by using Global Positioning System (GPS), two samples are clustering samples, while the other four ones are spreading samples.

Keywords: *Mycobacterium bovis*, Conventional technique, PCR, Dairy Cow Cattle

DAFTAR ISI

	halaman
PRAKATA	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. <i>Bovine tuberculosis</i> (btb)	6
B. Tes laboratorium	23
C. Geographic Information System (GIS)	27
D. Kerangka Teori	28
E. Definisi Operasional	33
III. METODE PENELITIAN	35
A. Desain Penelitian	35

B. Tempat dan Waktu Penelitian	35
C. Populasi Penelitian	35
D. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel	36
E. Perkiraan Besar Sampel	36
F. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	36
G. Ijin Subyek Penelitian	36
H. Cara Kerja	37
I. Metode Analisis	44
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	45
A. Hasil	45
B. Pembahasan	54
V. PENUTUP	58
A. Kesimpulan	58
B. Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	60
Lampiran	65

DAFTAR TABEL

Nomor	halaman
1. Tingkat Kerentanan Berbagai Spesies Hewan Terhadap Berbagai-macam Tipe Basil Tuberkulosis	9
2. Perbandingan antara jumlah positif dan negatif hasil pengujian BTA dekontaminasi susu, kultur bakteri dan PCR	46
3. Sensitivitas dan Spesifitas pengujian molekuler dibandingkan dengan pewarnaan BTA dekontaminasi susu	49

DAFTAR GAMBAR

Nomor		halaman
1.	<i>Mycobacterium bovis</i>	7
2.	Pewarnaan BTA yang memberikan hasil positif	7
3.	Hasil biakan yang positif pada medium Lowenstein Jensen	8
4.	Penularan <i>Mycobacterium bovis</i>	17
5.	Kerangka Teori	31
6.	Kerangka Konsep	32
7.	Hasil pewarnaan BTA dekontaminasi susu	46
8.	Hasil PCR sampel susu no. 1 - 13	47
9.	Hasil PCR sampel susu no. 14 - 29	47
10.	Hasil PCR sampel susu no. 30 - 45	48
11.	Hasil PCR sampel susu no. 46 - 60	48
12.	Sampel susu positif PCR	50
13.	Kondisi ternak sapi perah di Kabupaten Enrekang	51
14.	Peta lokasi hasil PCR <i>Mycobacterium bovis</i>	52

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		halaman
1.	Daftar hasil pemeriksaan sampel susu ternak sapi perah	65
2.	Daftar lokasi peternak	67
3.	Perhitungan statistik	69
4.	Rekapitulasi populasi Ternak Kabupaten Enrekang	70
5.	Dokumentasi Penelitian	71

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/ singkatan	Arti dan Keterangan
BTB	<i>Bovine tuberculosis</i>
BTA	Basil Tahan Asam
CDC	Centers for Disease Control
DNA	Deoxyribonucleic Acid
GIS	Geographical Information System
GPS	Global Positioning System
LJ	Lowenstein Jensen
M. bovis	<i>Mycobacterium bovis</i>
NaOH	Natrium Hydroksida
OIE	Office International des Epizooties
PCR	Polymerase Chain Reaction
TB	Tuberkulosis
WHO	World Health Organization
ZN	Ziehl Neelsen

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bovine tuberculosis adalah penyakit zoonosis penting yang tersebar di seluruh dunia. *Mycobacterium bovis* merupakan agen penyebab *bovine tuberculosis* pada ternak, hewan domestikasi lain dan satwa liar. *Mycobacterium bovis* termasuk kelompok dari *Mycobacterium tuberculosis complex*, dimana anggota kelompok tersebut *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, dan *Mycobacterium microti* (Al-Saqr *et al*, 2009; OIE, 2009).

Negara Amerika Serikat sebagian besar kasus Tuberkulosis (TB) pada manusia disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. *Mycobacterium bovis* adalah Mikobakterium lain yang dapat menyebabkan penyakit TB pada manusia (CDC, 2011), selanjutnya vaksin live-attenuated strain *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette and Guerin (BCG) berasal dari isolat *Mycobacterium bovis* dan vaksin ini tersebar luas penggunaannya di dunia (Elizabeth *et al*, 1997). *Mycobacterium bovis* telah dilaporkan menyebabkan 6-30% kasus TB pada manusia di USA pada susu yang belum terpasteurisasi, di USA tahun 1995-2005 sekitar 1,4% kasus TB manusia disebabkan oleh *Mycobacterium bovis* dan di San Diego lebih dari 45% hasil kultur mengkonfirmasi kasus TB pada

manusia pada anak-anak dan 8% dari seluruh kasus TB pada manusia disebabkan oleh *Mycobacterium bovis*. Dilaporkan juga di Western Ireland bahwa *Mycobacterium bovis* menyebabkan 6.3% kasus TB manusia. Penelitian yang dilakukan di New Zealand menunjukkan peningkatan kasus *bovine tuberculosis* antara 1983 (3.7%) dan 1989 (14.6%). Disamping itu ternyata di beberapa daerah di Amerika latin diagnosis TB manusia yang masih berdasarkan pemeriksaan pewarnaan basil tahan asam, dilaporkan sekitar 7000 kasus TB manusia baru per tahun adalah disebabkan infeksi dari *Mycobacterium bovis* (Juan *et al*, 1995; Deepti *et al*, 2012). Di negara Inggris dilaporkan bahwa kejadian TB manusia yang disebabkan oleh *Mycobacterium bovis* mencapai angka kurang dari 1% dari total kasus TB manusia (Anonimus, 2009). *Mycobacterium bovis* bertanggung jawab sekitar 5% kasus TB pada manusia di Brazil dan dilaporkan prevalensi *bovine tuberculosis* (btb) pada ternak sapi di Brazil diperkirakan 1,3% dari tahun 1989-1999 (Cristina *et al*, 2005). Prevalensi btb ternak sapi perah di Central Ethiopia sekitar 50% (Firdessa *et al*, 2012), sedangkan di Southeast Ethiopia prevalensi btb pada ternak sapi sebesar 2% (Gumi *et al*, 2012).

Mycobacterium bovis dinyatakan sebagai agen patogen penyebab *bovine tuberculosis* yang menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan pada industri ternak sapi (Rose *et al*, 1999) dan industri ternak sapi perah (Tejeda *et al*, 2006).

Deteksi *Mycobacterium bovis* dari sampel ternak sapi sangat penting, susu dan daging adalah sumber utama protein dan nutrisi lain dapat terkontaminasi oleh agen patogen dan memiliki kemampuan sebagai penular penyakit TB pada manusia dan infeksi mycobacterium lain dari hewan kepada manusia. Hewan yang terinfeksi memiliki potensi besar untuk menginfeksi manusia (zoonosis tuberkulosis). Sehingga *Mycobacterium bovis* berpotensi menyebabkan bahaya kesehatan baik pada hewan maupun manusia (Al-Saqur *et al*, 2009).

Upaya mencegah penyakit zoonosis diperlukan langkah yang tepat untuk mengontrol dan membasmi infeksi *Mycobacterium bovis* pada ternak sapi. Deteksi lesi tuberkulosis di rumah potong hewan (RPH) harus diikuti dengan pemeriksaan pada daerah asal ternak sapi tersebut agar dapat mengidentifikasi kasus lebih lanjut (John *et al*, 2012).

Pemeriksaan yang bisa dilakukan untuk mengidentifikasi *Mycobacterium bovis* adalah pemeriksaan makroskopis lesi tuberkulosis di rumah potong hewan, pemeriksaan mikroskopis melalui pewarnaan basil tahan asam (BTA), kultur, PCR (Polymerase Chain Reaction) (John *et al*, 2012), pemeriksaan darah dengan ELISA (OIE, 2009) dan pembuatan preparat histologi (Chirtophe *et al*, 2000; Selwyn, 2002).

Data dari Office International des Epizooties (OIE) pada tahun 2010 menyebutkan bahwa di Indonesia termasuk Provinsi Sulawesi Selatan, secara klinis tidak pernah dilaporkan adanya kasus *bovine tuberculosis*. Pada tahun 2013 di Kabupaten Bangli Provinsi Bali dari hasil penelitian

dilaporkan bahwa seroprevalensi *bovine tuberculosis* adalah 2,22% (Putu, 2013). Sampai saat ini belum ditemukan laporan atau penelitian studi kasus penyebaran *bovine tuberculosis* pada ternak sapi perah di Kabupaten Enrekang berdasarkan informasi dari Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Enrekang Provinsi Sulawesi Selatan.

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk menganalisis sejumlah tes yang digunakan untuk mendeteksi *Mycobacterium bovis* yaitu pewarnaan basil tahan asam (BTA), kultur, dan PCR pada ternak sapi perah dan mengetahui distribusi infeksi *Mycobacterium bovis* di lapangan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang masalah, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut :

1. Bagaimana kemampuan sejumlah tes yaitu tes konvensional dengan pewarnaan basil tahan asam (BTA) dan kultur, serta tes molekuler melalui PCR dalam mendeteksi *Mycobacterium bovis* pada ternak sapi perah?
2. Bagaimana distribusi infeksi *Mycobacterium bovis* di lapangan dengan teknik *Geographical Information System* (GIS)?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Membandingkan tes konvensional dengan pewarnaan basil tahan asam (BTA), kultur dan tes molekuler dengan cara PCR dalam mendeteksi *Mycobacterium bovis* pada ternak sapi perah.
2. Melihat distribusi infeksi *Mycobacterium bovis* di lapangan dengan teknik *Geographical Information System* (GIS).

D. Manfaat Penelitian

1. Dalam mendeteksi *Mycobacterium bovis* untuk kepentingan epidemiologis, dapat dipilih tes dengan sensitivitas dan spesifitas yang cukup tinggi, cepat dan mudah diaplikasikan dimana saja.
2. Dengan melihat hasil analisis sejumlah tes untuk mendeteksi *Mycobacterium bovis* dapat diketahui tes yang lebih sensitif dan spesifik untuk diaplikasikan dalam klinis guna mendiagnosis *bovine tuberculosis* dan memonitor terapi.
3. Menambah khazanah informasi ilmiah mengenai tes untuk mendeteksi *Mycobacterium bovis* bagi pengembangan ilmu kedokteran hewan khususnya di bidang laboratorium mikrobiologi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Bovine Tuberculosis (btb)

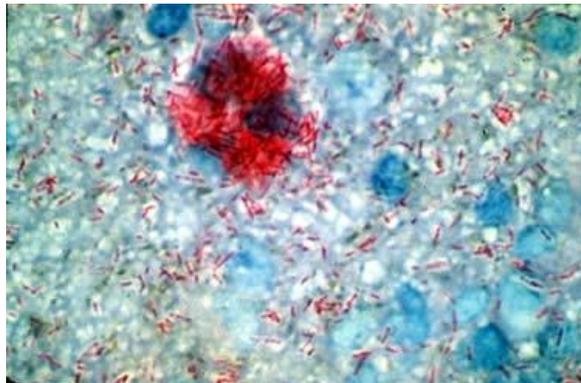
A.1. Definisi

Bovine tuberculosis (btb) merupakan penyakit bakteri yang bersifat kronis pada ternak sapi dan kadang-kadang menyerang spesies mamalia lainnya. Penyakit ini bersifat zoonosis (C. Allix *et al*, 2012) yang bisa menular ke manusia, penularan melalui inhalasi aerogen atau meminum susu yang tidak terpasteurisasi (Centre for Food Security and Publik Health, 2009).

Mycobacterium bovis merupakan agen etiologi dari *bovine tuberculosis* (btb) (Noel *et al*, 2007). Bakteri berbentuk batang langsing, lurus atau membentuk kurva, kadang-kadang berbentuk filamen atau bercabang membentuk huruf X, Y, atau V. Ukurannya 0,2 – 0,6 x 1,5 – 4,0 mikron. Kuman *Mycobacterium bovis* mempunyai granula metakromatik yang disebut granula much, tidak membentuk spora dan tidak bergerak, dinding selnya berlapis lilin. Pada pewarnaan Ziehl Neelsen kuman berwarna merah atau bersifat tahan asam (Hasutji dkk, 2004). Karakteristik koloni *Mycobacterium bovis* adalah datar, halus, berwarna putih, tak berwarna, lembab, koloni bersifat gembur/rapuh dan tumbuh lambat (tampak setelah 4 atau 5 minggu) (Sridhar, 2012; Hassanain *et al*, 2009).



Gambar 1. *Mycobacterium bovis*
(Sumber : <http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/M.bovis>)



Gambar 2. Pewarnaan BTA yang memberikan hasil positif
(Sumber : <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp>)



Gambar 3. Hasil biakan yang positif (ada pertumbuhan) pada medium Lowenstein Jensen
(Sumber : www.arc.agric.za)

A.2. Epidemiologi

Spesies mamalia yang paling banyak terserang oleh TB adalah sapi, babi dan manusia. Dalam suasana alami yang dimiliki, hewan-hewan liar jarang yang menderita TB. Meskipun demikian apabila mereka tertangkap oleh manusia, misalnya kera, beberapa telah menderita tuberkulosis. Diantara sapi-sapi, kejadian yang tertinggi terdapat pada sapi yang dipelihara secara bersama-sama, seperti halnya pada sapi perah. Sapi pedaging pun dapat memiliki angka kejadian yang tinggi bila hewan-hewan tersebut harus berdesak-desakan karena terbatasnya pakan dan minum yang disediakan. Kerbau juga sangat rentan terhadap infeksi mikobakterium. Babi biasanya menderita karena kerentanannya terhadap tipe human dan bovin. Spesies anjing, kucing dan kuda hanya kadang-kadang saja ditemukan menderita, sedangkan domba dan kambing sangat jarang

menderita infeksi kuman ini. Tingkat kerentanan berbagai spesies terhadap bermacam tipe mikobakterium dapat dilihat pada tabel 1 berikut (Subronto, 2003).

Tabel 1. Tingkat Kerentanan Berbagai Spesies Hewan Terhadap Bermacam-macam Tipe Basil Tuberkulosis.

Spesies Hewan	Tipe Basil Tuberkulosis		
	Bovin	Human	Avier
Marmot	++++	++++	0
Kelinci	++++	+	++++
Mencit*)	++++	++++	±
Hamster	++	+++	+
Kera	++++	++++	0
Kuda	++	0	++
Anjing	++	+	0
Sapi	++++	+	±
Babi	+++	+	++++
Bangsa Kakaktua	+++	++	++++
Unggas	0	0	++++

*) galur mencit tertentu saja.

Penyebaran penyakit tuberkulosis tergantung pada adanya kasus terbuka (*open case*) yang membebaskan basil-basil ke dalam sekreta dan ekskreta tubuh ke lingkungan sekitarnya. Kuman-kuman akan tinggal di tempat tersebut yang selanjutnya hewan-hewan sehat yang lain akan tertular baik melalui mulutnya atau melalui inhalasi. Meskipun jarang terjadi, namun infeksi secara kongenital dapat pula terjadi. Penempatan hewan-hewan yang berdesakan dan adanya stres mempermudah terjadinya penularan penyakit TB. Pada umumnya perawatan yang kurang baik, yang berlangsung dalam waktu lama, kurang begitu berpengaruh terhadap infeksi kuman tuberkulosis secara percobaan. Telah pula dibuktikan bahwa

kelaparan yang sebentar-sebentar ditimbulkan dapat mengakibatkan proses kejadian penyakit dipercepat. Kondisi tubuh yang baik terbukti tidak melindungi terhadap infeksi kuman TB. Faktor-faktor genetik mungkin mempunyai pengaruh atas kerentanan maupun ketahanan individu terhadap infeksi kuman (Subronto, 2003).

Beberapa galur kuman TB memiliki virulensi lebih besar daripada lainnya. Sebelum pengendalian terhadap tuberkulosis ternak biasa dijalankan, kelompok-kelompok sapi perah yang bereaksi positif dalam program vaksinasi dapat mencapai 100%, dan banyak dari mereka yang menunjukkan adanya lesi tersifat dalam pemeriksaan yang dilakukan di rumah potong. Hal demikian terjadi terutama karena dimasukkannya sapi perah yang belum pernah mengalami uji tuberkulinasi ke dalam suatu peternakan. Di Australia bagian utara yang beriklim tropis, sebelum adanya program pengendalian tuberkulosis, diketahui bahwa lebih dari 50% sapi-sapi yang berasal dari beberapa kelompok peternakan memperlihatkan lesi-lesi tersifat tuberkulosis waktu diperiksa di rumah potong. Hal yang demikian terjadi karena sapi-sapi potong terdapat bergerombol di sekitar tempat-tempat minum pada waktu musim kering, hingga penularan penyakit menjadi dipermudah karenanya. Di beberapa daerah diketahui bahwa kerbau-kerbau yang bertindak sebagai reaktor mencapai 13%. Di Australia Utara kejadian tuberkulosis pada waktu itu mencapai sekitar 0,2% (Subronto, 2003).

Air susu yang terinfeksi merupakan sumber penularan penyakit bagi pedet, babi dan manusia. Sekitar 5% dari sapi-sapi yang menderita infeksi menunjukkan radang ambing TB (Mastitis tuberkulosis) (Subronto, 2003).

A.3. Patogenesis

Basil TB mencapai selaput lendir melalui saluran pernafasan, pencernaan atau secara kontak. Kuman akan mengalami fagositosis oleh makrofag pada tempat kuman tersebut memasuki tubuh. Tempat masuk kuman yang paling banyak diketahui terdapat didalam paru-paru. Di tempat ini kuman akan memperbanyak diri hingga terjadi lesi yang dikenal sebagai fokus primer, yang berukuran kecil dan bersifat eksudatif (Subronto, 2003).

Di dalam saluran pencernaan juga dapat terbentuk lesi lokal, mungkin pula basilus diangkut ke dalam kelenjar limfe yang berdekatan hingga terbentuk lesi pada kelenjar tersebut. Lesi-lesi lokal yang mengenai kelenjar limfe yang terbentuk setelah terjadinya infeksi dikenal dengan sebutan kompleks primer. Pada beberapa spesies penyakit TB mungkin tidak berkembang lebih lanjut. Hal tersebut tergantung pada tipe kuman penyebab infeksi (Subronto, 2003).

Penyakit TB mungkin saja menunjukkan kesembuhan sempurna. Pada sapi hal tersebut jarang terjadi, dan reaksi positif pada uji

tuberkulosis biasanya menunjukkan adanya infeksi yang sebenarnya. Lesi penyakit mungkin bersifat statis untuk beberapa waktu, dan kemudian jadi progresif apabila kondisi jaringan tubuh bersifat mendukung untuk berkembangnya kuman tuberkulosis (Subronto, 2003).

Jumlah kuman yang menimbulkan infeksi, atau yang sering dikenal dengan *infecting dose*, merupakan hal yang penting dalam perkembangan penyakit. Jumlah kuman yang sangat kecil mungkin hanya mengakibatkan infeksi yang sifatnya non-progresif, atau kuman-kuman tersebut langsung ditampung oleh kelenjar limfe tanpa terbentuknya fokus primer. Jumlah kuman yang besar dapat mengakibatkan lesi primer yang luas dan kelenjar limfe regional juga akan terlibat dalam waktu yang pendek, dalam waktu beberapa minggu perluasan penyakit ke jaringan-jaringan lain akan terjadi, dan penderita dapat mengalami kematian, tanpa adanya kesempatan tubuh untuk menahannya agar proses infeksi dapat berlangsung lambat (Subronto, 2003).

Setelah infeksi terjadi dengan mantap, penyebaran penyakit dapat berlangsung dengan berbagai cara. Cara-cara penyebaran tersebut adalah sebagai berikut (Subronto, 2003) :

a. Penyebaran langsung atas lesi TB

Penyebaran dimulai dari lesi nekrotik sentral dari tuberkel, yang secara sentrifugal meluas ke jaringan-jaringan di sekitarnya,

yang selanjutnya akan membentuk tuberkel-tuberkel baru yang segar. Proses demikian terjadi berulang kali sehingga dari satu fokus primer dapat terbentuk masa tuberkulosis yang besar.

b. Penyebaran melalui saluran-saluran alami dalam tubuh

Dengan rusaknya dinding-dinding saluran, bahan yang terdapat di dalam tuberkel yang lunak akan terbebaskan dan masuk ke dalam saluran pernafasan, hingga penyebaran terjadi dari satu bagian paru-paru ke bagian yang lain, baik melalui proses batuk maupun aspirasi. Dahak mungkin dibatukkan untuk kemudian ditelan lagi, hingga terjadi penyebaran ke saluran pencernaan makanan. Infeksi terhadap ginjal dapat meluas, melalui saluran perkencingan, ke dalam kantong kemih.

c. Penyebaran melalui saluran limfe

Tuberkulosis pada awalnya merupakan infeksi jaringan limfoid. Perluasan basilus TB dihentikan di dalam folikel limfe dari selaput lendir (tekak, bronchi dan usus) atau di dalam kelenjar limfe yang terdapat di sekitar alat-alat tersebut. Apabila kuman tadi berhasil lolos dari jaringan-jaringan di muka, kuman akan tersebar luas meskipun masih ada di dalam arah aliran cairan limfe. Dengan melalui ductus thoracicus basil akan masuk ke dalam vena cava, yang selanjutnya dengan mengikuti aliran akan sampai di paru-paru. Dalam paru-paru kuman akan berhenti beredar dan membentuk fokus penyakit, yang kemudian

menyerang kelenjar bronchial, mungkin juga kuman terbawa lagi oleh aliran darah dari peredaran kecil (circulation parva) masuk ke dalam peredaran darah umum, hingga akhirnya mencapai alat-alat tubuh yang lain.

d. Penyebaran melalui peredaran darah

Bakteriemia atau basilemia tuberkulosis pada umumnya terjadi selama ada infeksi kuman TB. Pada waktu basil TB sampai di peredaran darah sistemik, kuman akan dibersihkan dari darah oleh fagosit dari sistem retikulo-endotelial. Selanjutnya lesi akan terbentuk di dalam paru-paru, hati, limpa dan alat-alat tubuh lainnya. Dalam keadaan demikian penyakit dikenal sebagai tuberkulosis yang meluas (*generalized tuberculosis*). Apabila jumlah kuman yang masuk peredaran darah sangat besar, di dalam berbagai alat tubuh akan segera terbentuk tuberkel-tuberkel yang berukuran kecil, yang dikenal sebagai TB-milier, dan biasanya merupakan hasil perkembangan tuberkel di dalam pembuluh darah. Oleh adanya tuberkel-tuberkel di berbagai alat tersebut akan terjadi infeksi akut yang dapat mengakibatkan kematian dalam waktu beberapa minggu. Pada kebanyakan kejadian tuberkulosis lesi tetap terlokalisasi pada satu alat tubuh dan tidak ada kuman yang dibebaskan ke dalam darah.

e. Penyebaran melalui permukaan serosa

Lesi TB yang terdapat di dalam paru-paru atau dinding usus kadang-kadang meluas dan mengenai dinding luar serosa dari alat-alat tubuh tersebut. Dengan gerak pernafasan atau gerak peristaltik usus kuman akan tersebar luas hingga terbentuk folikel-folikel baru pada membrana serosa.

Pada umumnya TB berkembang secara lambat, namun pada hewan-hewan muda dan anak-anak dapat berlangsung cepat serta bersifat fatal.

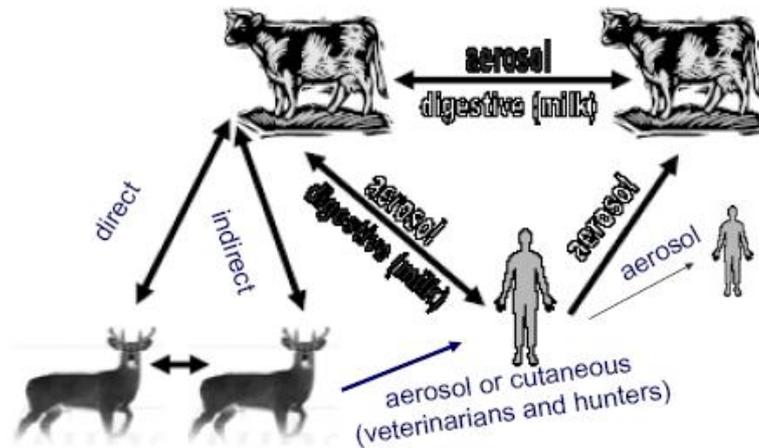
Lesi TB bersifat granulomatous dengan kecenderungan terjadinya pengkejuan serta keterlibatan kelenjar limfe. Sifat-sifat yang khas dalam histopatologi sangat membantu dalam mengenal jaringan yang menderita TB. Proses perkembangan penyakit bervariasi tergantung pada faktor-faktor seperti ketahanan intrinsik yang dimiliki, yang berbeda-beda pada berbagai spesies, maupun bangsa dan individu masing-masing hewan. Selain itu proses perkembangan penyakit juga tergantung pada pembentukan *cell mediated immunity* dari inang setelah berlangsungnya infeksi. Meskipun beberapa zat anti, antibodi, juga terbentuk namun hal tersebut rupanya tidak cukup kuat untuk melindungi tubuh. Dalam perkembangan selanjutnya adanya antibodi yang terbentuk dapat digunakan untuk mengenali infeksi kuman TB secara serologik.

Pada stadium awal infeksi basil-basil TB dapat hidup di dalam makrofag. Dengan makin teraktifkannya sel tersebut oleh respons kekebalan, basil tidak dapat bertahan dengan baik. Basil-basil di dalam lesi lebih banyak ditemukan di luar sel. "Cord factor" yang dimiliki oleh basil virulen memiliki efek sebagai detergen yang toksik pada membran sel mitokondria sel. Nekrosis yang seperti keju pada suatu tuberkel yang sudah terbentuk dapat melindungi basil dari obat-obatan yang diberikan untuk waktu yang panjang. Metabolisme basil aerob juga terhambat hingga daya hidupnya yang panjang menjadi terjamin, meskipun sebenarnya perkembangbiakan sel tersebut tidak besar.

Transmisi melalui aerogen, ingesif dan congenital. Organ yang terkena adalah paru-paru, hepar, limfoglandula, ginjal, otak dan mammae.

Kuman masuk ke dalam tubuh melalui aerogen dan akan menimbulkan lesi primer pada paru-paru berupa tuberkel yang mengkeju. Selanjutnya tuberkel ini dapat pecah dan eksudatnya akan dibatukkan keluar dan sebagian dari eksudat tadi ada yang masuk ke dalam saluran pencernaan. Di dalam saluran pencernaan kuman tadi akan diserap masuk dalam aliran darah dan selanjutnya dapat menyebar ke organ yang lain (Hasutji dkk, 2004).

A.4. Penularan



Gambar 4. Penularan *Mycobacterium bovis*
(Sumber : www.heartlandtbc.org)

Mycobacterium bovis bisa menyebabkan penyakit TB pada manusia yang dapat menyerang paru-paru, lymph nodes dan bagian tubuh lainnya. Tidak semua orang yang terinfeksi *Mycobacterium bovis* menjadi sakit. Orang yang terinfeksi tetapi tidak sakit disebut Infeksi TB laten. Orang yang menderita infeksi TB laten tidak merasa sakit, tidak memiliki gejala apapun dan tidak dapat menyebar TB kepada orang lain (CDC, 2011).

Manusia paling sering terinfeksi oleh *Mycobacterium bovis* melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi, produk susu yang tidak dipasteurisasi, kontak langsung dengan luka, atau dengan menghirup bakteri di udara yang dihembuskan oleh hewan yang terinfeksi *Mycobacterium bovis*. Penularan langsung dari hewan ke manusia melalui udara jarang terjadi, tetapi *Mycobacterium bovis* dapat

menyebarkan secara langsung dari orang ke orang ketika orang terinfeksi mengalami batuk atau bersin (CDC, 2011; Good, 2011).

Infeksi *Mycobacterium bovis* yang menyebar ke ternak terutama melalui aerosol baik dari batuk atau bersin hewan dengan TB terbuka atau dari partikel debu yang terinfeksi. Mengingat dominasi penularan secara aerosol, infeksi bisa menyebar lebih cepat pada peternakan sapi perah model intensive/dikandangkan. Penularan secara aerosol efektif hanya pada jarak lebih pendek (1-2 m) dan karenanya kepadatan ternak merupakan faktor signifikan dalam menentukan tingkat penularan. Akibatnya, pada peternakan dengan kepadatan ternak tinggi atau dalam sistem produksi ternak yang dikandangkan untuk waktu yang lama, tingkat transmisi antara hewan rentan mungkin sangat tinggi. Dalam kondisi kandang yang terinfeksi, tetesan dan partikel infeksius mungkin terus hadir di udara, menghadirkan bahaya bagi hewan rentan dan peternak (Cousins, 2001).

Penyebaran *Mycobacterium bovis* melalui konsumsi bahan infeksius juga telah dilaporkan yaitu dengan minum susu yang terinfeksi (Crofton *et al*, 2002) atau makan rumput atau melalui pakan yang terkontaminasi. Cutaneous, infeksi bawaan dan genital telah dicatat tetapi dianggap langka. Infeksi pencernaan dapat bersifat primer, seperti yang terjadi pada pedet yang minum susu sapi dengan mastitis tuberkulosis, atau mungkin sekunder dengan menelan

mikobakterium sarat eksudat dari paru-paru. Infeksi tonsil dengan sekunder keterlibatan kelenjar getah bening regional mungkin hasil dari konsumsi basil dalam makanan (Cousins, 2001).

A.5. Gejala Klinik

Pada sapi tidak ada tanda-tanda klinis pada stadium awal dari infeksi. Bila penyakit melanjut pada sapi terdapat batuk yang menetap, tidak ada nafsu makan dan kondisi badan sangat menurun disertai pembesaran lymphoglandula yang dapat diraba. Pengerasan pada ambing disebabkan oleh terbentuknya jaringan ikat sering ditemukan. Pada waktu itu kuman dapat diperlihatkan dalam sekreta dan eksreta (Hasutji dkk, 2004).

A.6. Kelainan Pasca Mati

Kelainan pasca mati dapat bervariasi mulai dari terbentuknya tuberkel kecil-kecil tunggal, banyak menyebar atau bergabung, baik pada lymphoglandula, paru-paru maupun alat-alat tubuh lainnya. Sifat khas dari tuberkel tersebut berupa sarang-sarang perkejuan atau perkapuran.

Sarang-sarang *bovine tuberculosis* pada sapi, terdapat pada paru-paru dan pleura, hati, limpa, peritoneum, lymphoglandula, kadang-kadang pada kulit dan tulang (OIE, 2009; Hasutji dkk, 2004).

Tuberkulosis ambing lebih sering diderita oleh sapi daripada spesies yang lain. Pada waktu kasus-kasus TB masih terdapat luas, di Eropa dan Amerika diketahui 5% dari sapi-sapi yang menderita infeksi TB menunjukkan adanya lesi pada ambingnya. Keempat (kwartir) ambing dapat menderita infeksi meskipun biasanya penyakit hanya bermula dari salah satu perempatan ambing belakang, pada bagian atasnya. Infeksi terjadi secara hematogen yang berasal dari satu fokus TB yang terdapat pada alat lain, atau karena masuknya kuman TB secara langsung dengan melalui alat-alat pemerahan, ke dalam ambing. Bentuk penyakit tuberkulosis ambing dapat bermacam-macam, mungkin berbentuk milier akut dengan pengkijuan atau berbentuk kronik dengan infiltrasi luas oleh fagosit mononuklear yang disertai dengan sedikit pengkijuan maupun pengapuran. Kelenjar limfe supramamer kebanyakan terlibat pada lesi yang berkijju, atau kadang hanya mengalami kebengkakan ringan saja. Proses penyakit di dalam ambing berlangsung lambat tanpa adanya gejala radang kelenjar susu yang akut.

Ukuran dan konsistensi ambing sedikit demi sedikit meningkat hingga pada suatu saat ukuran ambing jauh lebih besar dari normalnya dengan disertai indurasi jaringan yang sangat. Kalau ditekan, ambing yang menderita tersebut tidak terasa sakit ataupun menjadi lebih peka. Pada awal proses penyakit, meskipun mengandung kuman-kuman TB, secara fisik air susu nampak

normal. Perubahan selanjutnya meliputi perubahan warna, dan kualitasnya menurun. Air susu menjadi lebih encer dan tidak mengandung sir susu kelapa (krim). Bila dipusingkan dengan sentrifuge endapannya mengandung lekosit, dengan jumlah monosit yang sangat meningkat. Pada tingkat penyakit lebih lanjut air susu berubah secara nyata dengan adanya gumpalan-gumpalan yang sifatnya purulen. Basil TB pada akhirnya ditemukan dalam jumlah besar, mungkin sampai 500.000 sel per mililiter (Subronto, 2003).

A.7. Diagnosis

Diagnosis *bovine tuberculosis* (btb) dilaksanakan berdasarkan gejala klinis, isolasi dan identifikasi kuman (kultur dan pewarnaan basil tahan asam), tuberculin test, pemeriksaan darah {Gamma-Interferon assay (IFN γ assay), lymphocyte proliferation assay, dan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)}, serta pemeriksaan molekuler (PCR). Bahan pemeriksaan yang perlu diambil meliputi dahak, yang diambil probang, tinja dan atau air susu (OIE, 2009; Subronto, 2003).

A.8. Aspek Kesehatan Masyarakat Veteriner

Pertimbangan dari segi pemotongan hewan dan pemanfaatan daging bovine tuberculosis (btb) pada sapi, meliputi :

1. Di daerah pemberantasan btb

Reaktor (+) maka seluruh hewan diafkir (tidak dianjurkan untuk dipotong).

2. Pada saat akhir dari suatu tindakan pemberantasan

Reaktor (+), tanda-tanda lesi (-) maka diadakan perebusan terhadap karkas, viscera maupun organ lebih dahulu sebelum daging dimanfaatkan. Reaktor (+), terdapat lesi pada satu organ maka dilakukan perebusan lebih dahulu terhadap karkas dan viscera, sedang organ dan bagian karkas yang menyimpang diafkir. Reaktor (+), terdapat lesi pada lebih dari satu organ maka seluruh hewan diafkir.

3. Permulaan pemberantasan di daerah tertular

Reaktor (+), tanpa tanda-tanda lesi diijinkan untuk dijual dengan daerah distribusi terbatas (lulus bersyarat). Reaktor (+) terdapat lesi pada salah satu organ tanpa adanya lesi millier maka dilakukan perebusan lebih dahulu terhadap karkas dan viscera. Btb lokal pada ambing atau paru-paru maka afkir bagian kelenjar ambing atau paru-paru. Reaktor (+), terjadi lesi pada lebih dari satu organ tetapi tidak ada tanda-tanda infeksi umum maka afkir seluruh hewan atau dilakukan perebusan lebih dahulu terhadap karkas, sedang paru-paru dan bagian lain yang mengalami lesi diafkir (Hasutji dkk, 2004).

B. Tes Laboratorium

B.1. Tes Mikroskopik

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan cara pewarnaan basil tahan asam dengan metode pemanasan (Ziehl Neelsen) atau metode tanpa pemanasan (Gabbett's atau Kinyoun's). Pemeriksaan minimal 100 lapangan pandang sebelum menyatakan negatif pada hasil pemeriksaan (Sridhar, 2012).

Hasil pemeriksaan basil tahan asam (BTA) rekomendasi RNTCP tahun 1998 :

(3+) jika ditemukan lebih dari 10 BTA per lapangan pandang

(2+) jika ditemukan 1-10 BTA per lapangan pandang

(1+) jika ditemukan 10 – 99 BTA per 100 lapangan pandang.

B.2. Kultur (pembiakan)

Teknik kultur yang digunakan di laboratorium kedokteran hewan berbeda dengan laboratorium kedokteran. Strain *Mycobacterium bovis* tumbuh sedikit atau tidak semua tumbuh pada media Lowenstein Jensen (egg-based media) yang berisi glycerol yang biasa digunakan sebagai media untuk pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*, tetapi pertumbuhan *Mycobacterium bovis* bisa distimulasi dengan sodium pyruvat sebagai pengganti glycerol. Kultur *Mycobacterium bovis* juga bisa menggunakan media Stonebrink (Pyruvate-based medium) (John *et al*, 2012; Lisa *et al*, 2005).

B.3. Teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

PCR pertama kali ditemukan oleh Kary B. Mullis pada tahun 1985. PCR merupakan metode untuk mengamplifikasi/melipatgandakan fragmen DNA target secara invitro yang melibatkan banyak siklus, dimana setiap siklus masing-masing tiga tahap berulang mencakup denaturasi template, *annealing*, *elongating*. Pada akhir tiap siklus terjadi duplikasi fragmen DNA dengan menggunakan primer yang tepat (Maidin, 1997).

Di dalam proses PCR, denaturasi awal dilakukan sebelum enzim Taq polymerase ditambahkan di dalam tabung reaksi. Ini biasanya berlangsung sekitar 3 menit untuk meyakinkan bahwa molekul DNA yang ditargetkan ingin dilipatgandakan jumlahnya benar-benar telah terdenaturasi menjadi DNA untai tunggal. Untuk denaturasi berikutnya, waktu yang diperlukan hanya 30 detik pada suhu 95⁰C atau 15 detik pada suhu 97⁰C. Apabila DNA target mengandung banyak nukleotida G/C, suhu denaturasi dapat juga dinaikkan. Denaturasi yang tidak lengkap mengakibatkan DNA mengalami renaturasi (membentuk DNA untai ganda lagi) secara cepat, dan ini mengakibatkan gagalnya proses PCR. Adapun waktu denaturasi yang terlalu lama mungkin dapat mengurangi aktivitas enzim Taq polymerase. Aktivitas enzim tersebut mempunyai waktu paruh lebih dari 2 jam, 40 menit, 5 menit masing-masing pada suhu 92,5; 95; dan 97,5⁰C (Muladno, 2010).

Pada tahap penempelan primer (*Annealing*), temperatur yang digunakan biasanya 5⁰C di bawah T_m, dimana formula untuk menghitung $T_m = 4(G+C) + 2(A+T)$. Semakin panjang ukuran primer, semakin tinggi temperaturnya. Kisaran temperatur penempelan yang digunakan antara 36⁰C sampai dengan 72⁰C, namun suhu yang biasa digunakan antara 50 – 60⁰C (Muladno, 2010).

Selama tahap pemanjangan primer (*Extension*), *taq polymerase* memulai aktivitasnya memperpanjang DNA primer dari ujung 3'. Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim tersebut pada suhu 72⁰C diperkirakan antara 35 sampai 100 nukleotida per detik, bergantung pada bufer, pH, konsentrasi garam dan molekul DNA target. Dengan demikian, untuk produk PCR sepanjang 2000 pasang basa, waktu 1 menit sudah lebih dari cukup untuk tahap pemanjangan primer ini. Biasanya, di akhir siklus PCR, waktu yang digunakan untuk tahap ini diperpanjang sampai lima menit, sehingga seluruh produk PCR diharapkan berbentuk DNA untai ganda (Muladno, 2010).

Ada beberapa macam PCR, berdasarkan jenis dan kegunaannya yaitu (zulkifli, 2012) :

1. Long Distance PCR merupakan jenis PCR yang berguna untuk mengamplifikasi dan mendeteksi produk PCR dengan ukuran 50 kb atau lebih.

2. AP-PCR Genom merupakan jenis PCR yang dapat digunakan untuk mendeteksi polimorfisme sehubungan dengan pemetaan gen, filogenetik dan populasi biologi.
3. AP-PCR RNA merupakan PCR yang digunakan untuk mendeteksi ekspresi gen yang berbeda dan dapat langsung diklon dengan mengisolasi produk amplifikasi.
4. RT-PCR (Reverse Transcription-PCR/ Transkripsi Balik) berguna untuk mendeteksi dan mengamplifikasi RNA.
5. Multiplex PCR adalah PCR yang menggunakan dua atau lebih urutan DNA target yang spesifik dari spesimen yang sama dan kemudian diamplifikasi secara simultan. Umumnya digunakan dua set primer pertama digunakan untuk mengamplifikasi kontrol internal dan set primer kedua digunakan untuk mengamplifikasi urutan DNA target.
6. QC-PCR (Quantitative Comparative-PCR), menggunakan tambahan eksogen internal. Tambahan tersebut terdiri dari fragmen DNA di mana pada kedua sisinya terdapat urutan DNA target dan urutan primer spesifik.
7. RAPD-PCR (Random Amplified of polymorphic DNA) merupakan jenis PCR yang menggunakan primer oligonukleotida pendek dengan low-strigency PCR untuk mengamplifikasi fragmen DNA tertentu yang dapat digunakan sebagai marka molekuler.

8. RFLP-PCR (Restriction Fragment Length Polymorphism) merupakan jenis PCR yang mendeteksi mutasi yang terdapat pada genom DNA. RFLP-PCR ini mampu mengamplifikasi DNA termasuk urutan yang bermutasi dengan menggunakan apitan primer dan diikuti enzim restriksi terhadap produk PCR.
9. Nested PCR dibutuhkan dua amplifikasi secara terpisah dan menggunakan dua set primer amplifikasi. Satu set primer digunakan untuk mengamplifikasi produk amplifikasi dari satu set primer sebelumnya dan produk amplifikasi kedua lebih pendek dari produk amplifikasi pertama. Sensitivitas dan spesifitas nested PCR ini terletak pada primer yang hanya menempel pada amplicon sesuai dengan urutannya.

C. Geographic Information System (GIS)

Geographic Information System (GIS) merupakan komponen yang terdiri dari perangkat keras (*Hardware*), perangkat lunak (*Software*), data geografis dan sumber daya manusia yang bekerja bersama secara efektif untuk memasukkan, menyimpan, memperbaiki, memperbaharui, mengelola, memanipulasi, mengintegrasikan, menganalisis dan menampilkan data dalam suatu informasi berbasis geografis. Dalam ilmu kedokteran hewan GIS digunakan untuk pemetaan penyakit, analisis ekologi, surveilan epidemiologi dan GIS menjadi alat yang sangat

diperlukan untuk pengolahan, analisis dan visualisasi data spasial (Renaldi *et al*, 2006).

Data yang akan diolah pada GIS merupakan data spasial. Ini adalah data yang berorientasi geografis dan merupakan lokasi yang memiliki sistem koordinat tertentu, sebagai dasar referensinya. Sehingga aplikasi GIS dapat menjawab beberapa pertanyaan, seperti lokasi, kondisi, trend, pola dan pemodelan. Kemampuan inilah yang membedakan GIS dari sistem informasi lainnya. Untuk epidemiologi spasial GIS telah menjadi alat penting untuk merancang sebuah penelitian, sampel wilayah, dan menggambar peta (Renaldi *et al*, 2006).

Pemodelan data spasial bertujuan untuk menjelaskan atau memprediksi terjadinya penyakit. Data ini akan diubah menjadi pengetahuan dan menyajikan pengetahuan ini dalam berbagai format untuk tujuan mendukung keputusan (Martin *et al*. 2012).

D. Kerangka Teori

Beberapa hasil penelitian yang dapat mendukung kerangka teori penelitian dikemukakan secara berurutan sebagai berikut :

1. Abraham Mekibeb *et al*. 2012 (Ethiopia), meneliti prevalensi *bovine tuberculosis* dan karakterisasi molekuler pada agen penyebab btb di rumah potong hewan addis ababa municipal ethiopia pusat. Dari 500 sampel yang diperiksa 25 sampel menunjukkan lesi yang mengarah suspect TB dan hanya 7 sampel yang positif dengan teknik molekuler.

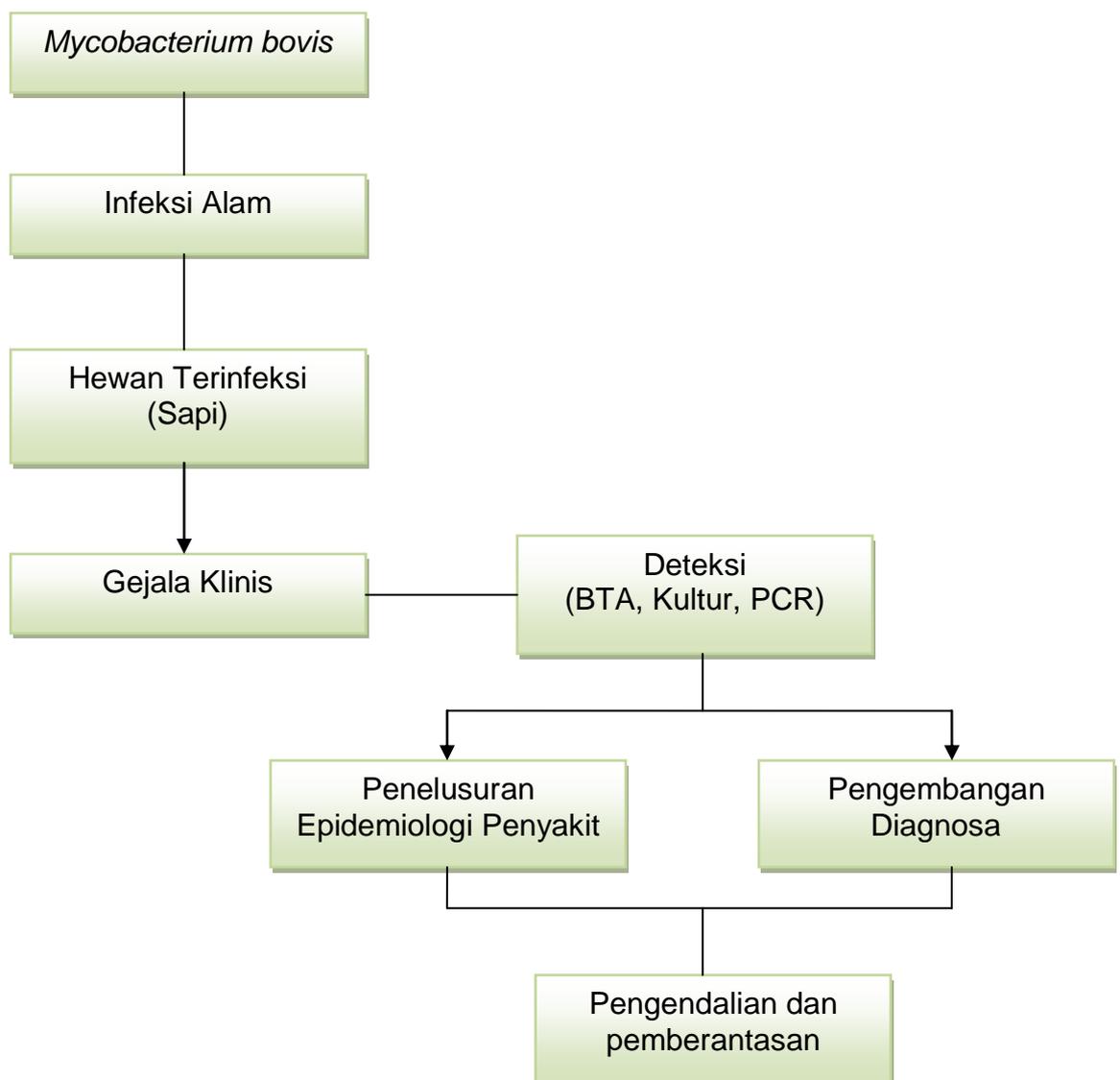
2. I.M Al-Saqur *et al.* 2009 (Iraq), mendeteksi *Mycobacterium spp* pada susu sapi dengan menggunakan metode konvensional dan PCR. Hasilnya dari 68 sampel susu ternyata 3 positif melalui pewarnaan BTA, 7 sampel positif dari kultur dan 7 sampel positif dari PCR.
3. Eduardo Eustaquio desouzaf *et al.* 2009 (Brazil), mengidentifikasi isolat *Mycobacterium bovis* dengan metode multiplex PCR. Hasil dari 34 sampel paru-paru dan limfa node 17 positif kultur dan 15 positif dengan teknik PCR.
4. Srivastava K *et al.* 2008 (India), melakukan isolasi *Mycobacterium bovis* dan *Mycobacterium tuberculosis* pada ternak sapi di beberapa peternakan di daerah India utara. 54 isolat M. tb complex yang didapat, 40 isolat teridentifikasi sebagai M. bovis dan 14 isolat teridentifikasi M.tb. Isolasi bakteri yang diambil dari prescapular lymph gland biopsy (PSLG) tumbuh M.bovis (19/40, 47,5%) dan M. tb (5/14, 35,7%), Isolasi dari darah tumbuh M. bovis (9/40, 22.5%) dan M.tb (4/14, 28,5%), Isolasi dari sampel susu tumbuh M. bovis (6/40, 15%) dan M. tb (4/14, 28,5%), Isolasi dari rectal pinch tumbuh M. bovis (3/40, 7,5%), swab pharyngeal (2/40, 5%), sampel feses tumbuh M.bovis (1/40, 2,5%), sedangkan 1/14 (7,1%) tumbuh M. tb dari swab pharyngeal.
5. Tejeda Aurora R *et al.* 2006 (Meksiko), konfirmasi *Mycobacterium bovis* dari eksudat hidung dengan menggunakan metode nested PCR

di peternakan sapi perah. Dari 25 reaktor tuberkulin 22 positif INF- γ , 9 positif pewarnaan ZN, dan 6 positif dengan teknik PCR.

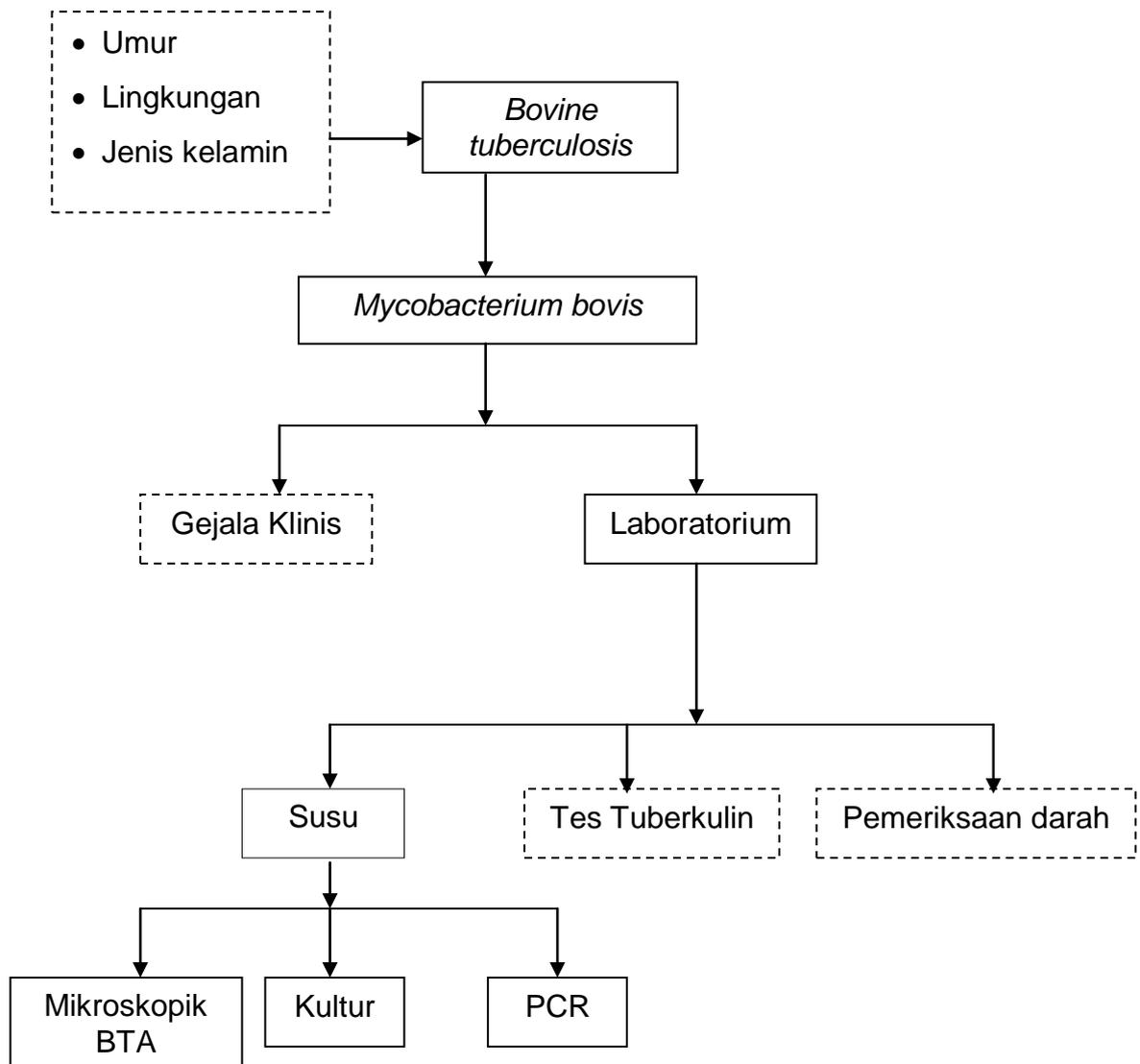
6. Shah, D.H *et al.* 2002 (India). Membedakan *Mycobacterium bovis* dan *Mycobacterium tuberculosis* dengan menggunakan teknik multiplex PCR. Dengan menggunakan metode ini dapat membedakan dua bakteri tersebut yang memiliki hubungan dekat dimana M. bovis terdeteksi pada panjang ampikon 500 bp dan M. tuberculosis pada panjang ampikon 185 bp.
7. Rosa E. Romero *et al.* 1999 (Colombia), mengidentifikasi *Mycobacterium bovis* pada sampel klinis ternak sapi dengan metode PCR-primer spesifik spesies. Hasilnya sampel dari Mucus hidung dengan teknik bacilloscopy 1 positif, 1 positif dengan kultur dan 16 positif dengan PCR. Sampel Darah 8 positif dengan teknik PCR sedangkan teknik bacilloscopy dan kultur negatif. Sampel Susu 4 positif dengan teknik PCR sedangkan teknik bacilloscopy dan kultur negatif.
8. Elizabeth A. Talbot *et al.* 1997 (Amerika), melakukan identifikasi teknik PCR untuk mendeteksi *Mycobacterium bovis* strain BCG dengan metode multiplex PCR. Hasil RD1 terhapus pada 23 dari 23 strain BCG, dan RD1 hadir pada 129 dari 129 strain *Mycobacterium tuberculosis* complex lainnya.

9. Juan G Rodriguez *et al.* 1995 (Colombia), melakukan identifikasi spesifik-spesies *Mycobacterium bovis* dengan PCR. Metode yang dipakai RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).

Untuk memudahkan pemahaman terhadap kerangka teori penelitian ini, maka akan diterangkan secara skematik sebagai berikut :



Gambar 5. Kerangka Teori



Keterangan :

= Variabel yang diteliti

= Variabel yang tidak diteliti

Gambar 6. Kerangka Konsep

D. Definisi Operasional

- *Bovine tuberculosis* (btb) merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Mycobacterium bovis*, bersifat kronis pada ternak sapi dan kadang-kadang menyerang spesies mamalia lainnya serta bersifat zoonosis.
- Susu (*Milk*) adalah sekresi dari kelenjar susu pada mamalia yang merupakan cairan kompleks yang mengandung komponen zat nutrisi, yang kandungan alaminya tidak dikurangi atau ditambah sesuatu apapun dan belum mendapat perlakuan apapun kecuali proses pendinginan.
- PCR (*Polymerase Chain Reaction*) adalah suatu metode enzimatik dengan melipatgandakan fragmen DNA secara eksponensial dengan cara invitro. Diagnosis btb untuk metode PCR bila terdapat pita sesuai target (500 bp) yang terlihat pada saat proses pembacaan gel agarosa hasil elektroforesis.
- LJ (*Lowenstein Jensen*) merupakan media padat mengandung telur yang digunakan untuk mengisolasi *Mycobacteria*.
- GIS (*Geographical Information System*) adalah komponen yang terdiri dari perangkat keras (Hardware), perangkat lunak (Software), data geografis dan sumberdaya manusia yang bekerja bersama secara efektif untuk memasukkan, menyimpan, memperbaiki, memperbaharui, mengelola, memanipulasi, mengintegrasikan,

menganalisis dan menampilkan data dalam suatu informasi berbasis geografis.