

Penelitian

Deteksi Brucellosis pada Babi secara Serologis dan Molekuler di Rumah Potong Hewan Kapuk, Jakarta dan Ciroyom, Bandung

(Serological and Molecular Detection of Brucellosis in Swine at Slaughterhouse in Kapuk, Jakarta and Ciroyom, Bandung)

Dina Kartini^{1,2*}, Susan Maphilindawati Noor³, Fachriyan Hasmi Pasaribu⁴

¹Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan

²Program Studi Mikrobiologi Medik, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

³Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor

⁴Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

*Penulis untuk korespondensi: dinaku_2005@yahoo.com

Diterima 19 Agustus 2016, Disetujui 25 November 2016

ABSTRAK

Brucellosis pada babi merupakan penyakit zoonosis yang disebabkan oleh bakteri *Brucella suis*. Penyakit ini telah terdeteksi di Indonesia, namun belum banyak diteliti. Pada penelitian ini dilakukan deteksi brucellosis pada babi secara serologis menggunakan metode *Rose Bengal Test (RBT)* dan *Complement Fixation Test (CFT)* serta secara molekuler menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction (PCR)* AMOS untuk mengetahui spesies *Brucella* yang menginfeksi babi. Sampel penelitian berupa serum dan limfonodus dikoleksi dari 2 Rumah Potong Hewan Kapuk, Jakarta dan Ciroyom, Bandung. Hasil pengujian secara serologis menunjukkan bahwa brucellosis tidak ditemukan pada sampel babi dari Rumah Potong Hewan Kapuk, Jakarta. Sementara hasil pengujian secara serologis dari Rumah Potong Hewan Ciroyom, Bandung menunjukkan 2,5% (1/40) positif dan 7,5% (3/40) positif PCR. Hasil PCR positif menunjukkan terdeteksi 2 spesies *Brucella* (*B. abortus* dan *B. suis*) pada 2 sampel organ limfonodus dan *Brucella suis* pada satu sampel limfonodus, sedangkan dari organ limpa terdeteksi dua sampel positif *Brucella suis*. Hal ini menunjukkan bahwa selain *Brucella suis*, *Brucella abortus* juga menginfeksi babi pada penelitian ini.

Kata kunci : *Brucella suis*, RBT, CFT, PCR

ABSTRACT

Swine brucellosis is a zoonotic disease caused by *Brucella suis*. The disease had been detected in Indonesia but research on this topic is limited. This study was aimed to detect *Brucella* species causing swine brucellosis by serological test using *Rose Bengal Test (RBT)* and *Complement Fixation Test (CFT)* and by molecular test using AMOS *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Serum, limphonodus, and spleen samples were collected from swine slaughterhouse in Kapuk, Jakarta and Ciroyom, Bandung. Serological test result showed that no brucellosis detected in samples from swine slaughterhouse in Kapuk-Jakarta. Meanwhile samples from swine slaughterhouse in Ciroyom, Bandung showed 2.5% (1/40) was positive by serological test and 7.5% (3/40) was positive by PCR test. The positive results by PCR detected two *Brucella* species (*B. abortus* and *B. suis*) on two limphonodus samples and *Brucella suis* on one limphonodus sample, and also detected *Brucella suis* on two spleen samples. Overall results showed that swine brucellosis was caused by *Brucella suis* and also *B. abortus*.

Keywords : *Brucella suis*, RBT, CFT, PCR

PENDAHULUAN

Brucellosis adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri genus *Brucella* yang merupakan mikroorganisme intraseluler dan bersifat zoonosis. Pada hewan, brucellosis menyebabkan gangguan reproduksi, seperti infertilitas, aborsi, orchitis, dan epididymitis. Pada manusia, penyakit ini dikarakterisasi dengan adanya kelemahan, demam intermiten, mengigil, berkeringat, sakit pada persendian, sakit kepala, dan sakit pada seluruh tubuh (Priadi, 1992). Berdasarkan induk semang spesifik, *Brucella* dikelompokkan sebagai *Brucella abortus* (sapi), *B. canis* (anjing), *B. melitensis* (kambing), *B. neomatae* (rodensia), *B. ovis* (domba), dan *B. suis* (babi).

Brucellosis pada babi disebabkan oleh *B. suis* yang memiliki isolat yang lebih beragam dibandingkan spesies *Brucella* lainnya. Ada lima biovar *Brucella suis*, namun Biovar 1, 2 dan 3 merupakan *Brucella* yang sering menginfeksi babi. Spesies *B. melitensis* dan *B. abortus* dapat juga menginfeksi babi, sebaliknya *B. suis* juga dapat menginfeksi sapi, anjing, kuda, dan manusia (OIE, 2009).

Brucellosis pada babi sulit didiagnosis secara klinis karena memiliki gejala yang hampir sama dengan penyakit reproduksi pada babi yang disebabkan oleh mikroorganisme lainnya. Pemilihan metode diagnostik yang andal dan sensitif sangatlah penting untuk mendiagnosis brucellosis. Isolasi bakteri yang berasal dari darah atau jaringan masih merupakan "gold standard" atau standar baku pengujian brucellosis, namun metode ini menunjukkan sensitivitas yang rendah, yang memerlukan waktu yang cukup lama dan dapat menimbulkan risiko infeksi bagi penguji. Kultur bakteri juga memerlukan lingkungan dan peralatan laboratorium yang khusus dengan keterampilan petugas laboratorium yang tinggi.

Pada umumnya, diagnosis brucellosis dilakukan berdasarkan uji serologis untuk mendeteksi antibodi spesifik terhadap antigen polisakarida dinding sel spesies *Brucella* tertentu (Bundle et al., 1989). Pengujian secara serologis dapat digunakan secara rutin terhadap individu atau kelompok hewan sebagai pengujian awal brucellosis. Beberapa pengujian serologik yang dapat dilakukan di antaranya adalah *Rapid aglutinasi test* (RAT), *Rose Bengal Test* (RBT), *Complement fixation test* (CFT), dan *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA).

Pengujian RBT merupakan uji awal brucellosis menggunakan prinsip aglutinasi antara antigen-antibodi. Antigen yang mengandung sel utuh *B.*

abortus biasa digunakan untuk mendiagnosis infeksi *B. suis* karena bakteri ini memiliki permukaan LPS (Lipopolisakarida) yang sama. Masalah utama dari pengujian ini adalah reaksi silang antara spesies *Brucella* dan bakteri Gram-negatif lainnya, seperti *Yersinia enterocolitica* O:9, *Francisella tularensis*, *Escherichia coli* O: 157, *Vibrio cholerae*, dan *Stenotrophomonas maltophilia* (Kittelberger et al. 1995; Munoz et al. 2005). Hal tersebut disebabkan oleh rantai O dari smooth lipopolisakarida (O-LPS) yang terdapat pada permukaan bakteri *Brucella* sangat mirip dengan yang dimiliki oleh bakteri-bakteri tersebut (Kittelberger et al. 1995; Munoz et al. 2005; Hinic et al. 2009). Uji CFT merupakan uji untuk peneguhan diagnosis pada uji RBT yang positif, yang bertujuan mengetahui keberadaan antibodi terhadap *Brucella* dan dapat diukur kadarnya (titer antibodi). Uji ini menggunakan prinsip reaksi kompleks antibodi dan antigen yang homolog dan menarik komplemen untuk berikatan dengan bagian Fc dari antibodi sehingga dapat melisis sel darah merah. Metode CFT mewakili metode serologis yang paling sensitif (Dewi, 2009).

Pengujian serologis tidak dapat menentukan spesies *Brucella* yang menginfeksi pada individu hewan, sehingga diperlukan pengujian lain di antaranya dengan pemeriksaan biologis dengan mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri, atau menggunakan uji secara molekuler. Pemeriksaan bakteriologis merupakan standar pengujian dalam mendiagnosis *Brucella*, namun dalam pengujian ini memerlukan fasilitas dan keterampilan yang khusus mengingat *World Health Organization* (WHO) mengkategorikan *Brucella* sebagai mikroorganisme *risk group III* (OIE, 2009). *Brucella* termasuk bakteri yang sulit diisolasi dan membutuhkan waktu yang cukup lama untuk mengisolasinya, sehingga pemeriksaan brucellosis secara bakteriologis kurang efektif untuk pengujian dengan jumlah sampel yang banyak.

Pengujian brucellosis secara molekuler dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dapat dilakukan dalam diagnosis brucellosis. Metode ini dilakukan karena pengujian dengan menggunakan PCR mudah untuk dilakukan dan juga memiliki spesifitas yang cukup tinggi dalam mengidentifikasi genus *Brucella* (Hinic et al., 2008). Namun pengujian dengan metode ini memerlukan standarisasi dan evaluasi lebih lanjut (Matar et al., 1996).

Infeksi *B. suis* menjadi masalah di banyak negara di dunia, baik karena dampak kerugian ekonomi maupun dampak kesehatan veteriner. Infeksi *B. suis* di Indonesia pada manusia dilaporkan oleh Priadi et

al. pada tahun 1992. Data prevalensi brucellosis pada babi di Indonesia belum banyak dilaporkan namun penelitian secara serologis pada babi menunjukkan tingginya angka reaktor brucellosis di Indonesia. Menurut Sapardi et al. pada tahun 2004, brucellosis pada babi masih merupakan masalah di Jawa Tengah, Jawa Timur, dan Jawa Barat.

Berdasarkan pertimbangan tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi brucellosis pada babi secara serologik dan molekuler menggunakan PCR yang dilakukan pada babi yang ada di Rumah Potong Hewan (RPH) yang ada di Jakarta dan Bandung untuk mengetahui sejauh mana tingkat infeksi brucellosis pada babi. Serum darah dari setiap individu diuji secara serologik, sedangkan sampel yang digunakan untuk pengujian menggunakan PCR adalah jaringan dari limfonodus dan limpa dari tiap individu sebagai uji identifikasi jenis *Brucella* yang menginfeksi.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2015 sampai Mei 2016. Pengambilan sampel serum darah, limfonodus, dan limpa dilakukan di Rumah Potong Hewan (RPH) Kapuk, Jakarta dan Ciroyom, Bandung. Pengujian brucellosis secara serologis dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, Balai Besar Penelitian Veteriner (BB LITVET) Bogor dan pengujian brucellosis secara molekuler dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPM SOH) Gunung Sindur Bogor.

Pengambilan Sampel Serum dan Limfonodus

Pengambilan sampel dari RPH Kapuk, Jakarta dilakukan sebanyak satu kali dengan populasi hewan yang dipotong setiap harinya rata-rata 300-500 ekor. Pengambilan sampel dilakukan dengan penghitungan jumlah menggunakan rumus *detect disease* (Martin et al. 1987), dengan asumsi pada saat pengambilan sampel jumlah babi yang dipotong sebanyak 500 ekor, prevalensi dugaan 5% dan tingkat kepercayaan 95%. Mengacu pada rumus tersebut, jumlah sampel yang diambil adalah minimal 56 sampel. Pengambilan sampel dengan jumlah sampel yang telah dihitung dilakukan secara acak.

Pengambilan sampel dari RPH Ciroyom, Bandung dilakukan sebanyak satu kali dengan asumsi populasi hewan yang dipotong setiap harinya 40 ekor, maka pengambilan sampel dilakukan pada setiap ekor babi

yang dipotong. Setiap individu babi yang terpilih tersebut, diambil darah, limfonodus, dan organ limpanya sebagai sampel yang akan diuji di laboratorium. Serum darah yang diambil diuji terhadap brucellosis secara serologik menggunakan metode RBT dan CFT, sedangkan limfonodus dan jaringan limpa yang diambil diuji terhadap keberadaan *Brucella* secara molekuler menggunakan PCR.

Pengujian Serologik

Preparasi Serum Darah

Darah yang diambil dari tiap individu babi dipisahkan serumnya. Masing-masing serum diberi identitas yang jelas.

Metode RBT (Rose Bengal Test)

Pengujian serologik dengan metode ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan antibodi (Ab) *Brucella* dalam serum yang diperiksa. Sebanyak 25 µL serum sampel diteteskan pada sumur cawan/cawan gelas aglutinasi kemudian ditambahkan 25 µL antigen (Ag) RBT pada sumur yang sama. Serum dan antigen dicampurkan dengan menggunakan stik gelas. Sumur cawan digoyangkan selama ± 4 menit agar serum dan Ag tercampur dengan baik. Hasil uji RBT positif ditandai dengan adanya reaksi aglutinasi antara serum dan antigen. Dalam pengujian ini antigen yang digunakan adalah antigen RBT berupa antigen *Brucella abortus* S99 yang berasal dari BB LITVET. Serum yang menunjukkan hasil positif akan dikonfirmasi dengan uji CFT.

Metode CFT (Complement Fixation Test)

Pengujian serologik dengan metode CFT bertujuan untuk mengetahui keberadaan antibodi (Ab) *Brucella* dalam serum dengan mengukur titer antibodi. Uji CFT dilakukan dengan menggunakan *microplate* 96 well dengan dasar U. Pada baris A1-10 *microplate* diisi 50 µL serum sampel, pada baris A11 ditambahkan kontrol serum positif, pada baris A12 ditambahkan kontrol serum negatif. Serum diinaktivasikan pada suhu 58°C selama 30 menit. Pada semua sumur (kecuali baris A) diisi *veronal buffer* sebanyak 25 µL. Pengenceran seri dilakukan dengan mengambil 25 µL serum dari baris A, dipindahkan ke baris B, dan dikocok beberapa kali. Seterusnya dilakukan sampai pada baris H sehingga diperoleh pengenceran serum 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, dan seterusnya. Pada semua sumur di baris C-H diisi Antigen sebanyak 25 µL. Setelah itu ditambahkan 25 µL komplemen pada semua sumur (baris B-H),

kemudian ditambahkan 25 µL veronal buffer pada semua sumur baris B (sebagai kontrol positif aktivitas antikomplemen). Campuran inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Sebanyak 25 µL RBC yang disensitisasi dengan hemolisin ditambahkan pada semua sumur (baris B–H). Campuran inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit sambil dikocok dengan *shaker*. *Microplate* didiamkan pada suhu 4°C selama satu malam, selanjutnya dibaca hasil pengujian. Hasil reaksi CFT dibaca :

- Negatif :terjadi hemolisis sempurna, cairan dalam sumur akan berwarna merah, dan tidak ada endapan eritrosit di dasar sumur
- Positif :tidak terjadi hemolisis/terjadi hemolisis tidak sempurna dengan adanya endapan eritrosit di dasar sumur

Interpretasi hasil uji pengikatan komplemen didasarkan pada terjadinya 50% hemolisis pada pengenceran serum tertinggi. Serum dengan titer CFT 1:4 (1/4) atau lebih dikategorikan positif brucellosis.

Konfirmasi keberadaan Ag *Brucella* dengan Metode PCR

Ekstraksi DNA

DNA sampel diekstraksi dengan menggunakan *DNeasy Blood and Tissue Kit* (Qiagen, Cat#69504) dengan menggunakan jaringan limfonodus dan limpa sebagai sampel. Prosedur kerja dalam ekstraksi DNA ini meliputi :

1. Proses dirupsi dan homogenisasi sebanyak 25-30 mg sampel ditempatkan pada tabung 2 mL, ditambahkan 200 µL buffer ATL, lalu digerus menggunakan pinset. Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi dan purifikasi DNA dengan menggunakan *DNeasy Blood and Tissue Kit* secara manual
2. Proses ekstraksi dan purifikasi DNA Prosedur ekstraksi dan purifikasi DNA dilakukan sesuai dengan prosedur *DNeasy Blood and Tissue Kit* (Qiagen, Cat#69504) untuk sampel jaringan.

Tabel 1 Primer yang digunakan dalam penelitian

Nama PCR	Primer	Sequence (5'→3')	Target DNA	Amplikon (bp)	Konsentrasi (µM)
	BA	GAC GAA CGG AAT TTT TCC AAT CCC		498	0.1
	BM	AAA TCG CGT CCT TGC TGG TCT GA		731	0.1
AMOS	BO	CGG GTT CTG GCA CCA TCG TCG	IS711	976	0.1
	BS	GCG CGG TTT TCT GAA GGT TCA GG		285	0.1
	IS711	TGC CGA TCA CTT AAG GGC CTT CAT			0.2

(Bricker dan Halling 1994)

Primer

Pada penelitian ini, dilakukan identifikasi *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. ovis*, dan *B. suis* berdasarkan adanya polimorfisme lokasi *species-specific* dengan menyisipkan sekuens kromosom *brucella* IS711 (AMOS)-PCR dengan menggunakan lima primer oligonukleotida. Primer yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Amplifikasi PCR

Proses amplifikasi DNA hasil ekstraksi menggunakan *HotStar Taq DNA Polymerase kit* (Qiagen, Cat#200203). Setiap target diamplifikasi dalam volume sebanyak 50 µL/reaksi yang terdiri atas : 5 µL PCR buffer 10x; 1 µL dNTP mix (@10 mM); 0.2 µM primer *forward*, dan *reverse*; 0.25 µL *Hot Start*; 10 µL *Q Solution 50X*; 2 µL *Template DNA*; *Rnase-free water* sampai dengan volume total 50 µL. Kondisi siklus PCR adalah sebagai berikut : denaturasi selama 2 menit pada suhu 95°C, diikuti dengan *annealing* selama 2 menit pada suhu 57.5°C , *extension* selama 2 menit pada suhu 72°C, sebanyak 35 siklus dan tahap *extension* akhir selama 5 menit pada suhu 72°C. Produk PCR dianalisis melalui elektroforesis gel agarose 1.5% yang mengandung *syber safe* dan divisualisasi menggunakan transluminator UV.

Analisis Data

Semua data yang diperoleh dari penelitian ini dibuat dalam bentuk Tabel dan Gambar serta dianalisis secara deskriptif.

HASIL

Deteksi brucellosis pada babi di RPH Kapuk, Jakarta dan RPH Ciroyom, Bandung dilakukan secara serologis (RBT dan CFT) dan molekuler (AMOS-PCR).

Pengujian serologis dalam penelitian ini dilakukan pada 140 sampel serum yang terdiri atas 100 sampel

PEMBAHASAN

serum asal RPH Kapuk, Jakarta dan 40 sampel serum asal RPH Ciroyom, Bandung. Hasil pengujian serologis serum babi yang dilakukan dengan metode RBT dan CFT tercantum pada Tabel 2 dan Tabel 3. Berdasarkan hasil pengujian sampel serum yang berasal dari RPH Kapuk, Jakarta menggunakan metode RBT diperoleh hasil 3 dari 100 sampel (3%) menunjukkan positif, namun setelah dikonfirmasi lebih lanjut dengan menggunakan metode CFT semua sampel menunjukkan hasil yang negatif. Hasil tersebut menunjukkan bahwa sampel serum yang dikoleksi dari babi di RPH Kapuk negatif brucellosis.

Serum babi yang berasal dari RPH Ciroyom, Bandung menunjukkan hasil positif sebanyak 8 dari 40 sampel (20%) dengan menggunakan metode RBT dan setelah dikonfirmasi dengan menggunakan metode CFT didapatkan hasil satu sampel positif brucellosis (D1) (2.5%) dengan titer antibodi 1/16.

Hasil pengujian molekuler PCR seperti tercantum pada Tabel 3. Uji PCR pada semua sampel limfonodus yang berasal dari RPH Kapuk, Jakarta menunjukkan hasil negatif, sedangkan sampel yang berasal dari RPH Ciroyom, Bandung menunjukkan hasil positif sebanyak tiga dari 40 sampel (7.5%). Untuk sampel jaringan limpa, yang dapat diuji hanya dari RPH Ciroyom, Bandung dan menunjukkan hasil positif sebanyak dua dari 40 sampel (5%).

Berdasarkan hasil uji AMOS-PCR terdeteksi adanya *Brucella abortus* dan *B. suis* pada organ limfonodus sebanyak dua sampel (D1 dan M39), dan *Brucella suis* pada satu sampel limfonodus (D6). Pada organ limpa terdapat dua sampel yang positif terhadap *B. Suis* (D1 dan D6) sesuai dengan Gambar 1. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa selain *B. suis*, babi juga dapat terinfeksi oleh *Brucella abortus*.

Berdasarkan hasil pengujian sampel serum dengan RBT dan dikonfirmasi dengan CFT menunjukkan bahwa sampel serum yang berasal dari RPH Kapuk, Jakarta negatif brucellosis, sedangkan sampel serum yang berasal dari RPH Ciroyom, Bandung didapat hasil 1 dari 40 sampel (2,5%) menunjukkan hasil positif. Pengujian RBT merupakan standar pengujian untuk skrining brucellosis, pengerjaan uji ini sangat simpel dan memiliki tingkat sensitivitas yang tinggi, namun spesifitas yang rendah karena antigen *Brucella* yang digunakan dapat berikatan dengan antibodi terhadap bakteri lain yang memiliki LPS yang sama, di antaranya *Yersinia enterocolitica* O:9. Untuk menghindari adanya hasil positif palsu dari pengujian RBT, dilakukan pengujian lanjut dengan menggunakan metode CFT.

Prinsip pengujian CFT adalah adanya ikatan penambahan komplemen spesifik *Brucella* untuk menarik ikatan Ag-Ab kompleks sehingga tidak melisis eritrosit. Jika terdapat antibodi dalam serum, maka komplemen akan berikatan dengan Ag-Ab kompleks, kerja sama antara komplemen dan Ab akan melisis sel Ag sehingga eritrosit tidak lisis. Jika dalam serum tidak terdapat Ab, maka komplemen tidak dapat berikatan dengan kompleks Ag-Ab sehingga eritrosit akan mengalami lisis.

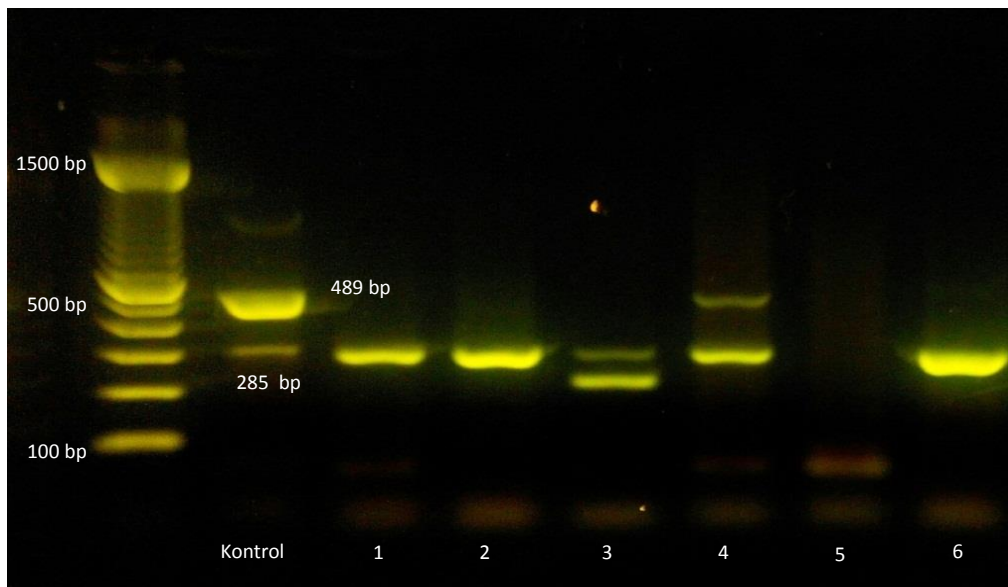
Berdasarkan hasil pengujian serologis tersebut dapat disimpulkan bahwa semua sampel dari RPH Kapuk, Jakarta menunjukkan hasil negatif yang berarti semua individu babi yang mewakili populasi babi yang dipotong saat pengambilan sampel tidak terdeteksi brucellosis secara serologis. Hasil pengujian ini menunjukkan penurunan angka kejadian brucellosis jika dibandingkan dengan hasil

Tabel 2 Hasil pengujian serologis dengan metode RBT dan CFT

Asal Sampel	Jumlah Sampel	Metode Uji			
		RBT		CFT	
		Positif	Negatif	Positif	Negatif
Rumah Potong Babi Kapuk, Jakarta	100	3	97	0	100
Rumah Potong Babi Ciroyom, Bandung	40	8	32	1 (D1)	39

Tabel 3 Hasil pengujian PCR dengan Primer AMOS

Asal Sampel	Jumlah Sampel	Jenis Sampel	Positif	Negatif
Rumah Potong Babi Kapuk, Jakarta	100	Limfonodus	0	100
Rumah Potong Babi Ciroyom, Bandung	40	Limfonodus	3	37
	40	Limpa	2	38



Gambar 1 Hasil elektroforesis sampel PCR. Keterangan : 1. Sampel limpa D1; 2. Sampel limpa D6; 3. Sampel limfonodus D6; 4. Sampel limfonodus D1; 5. Sampel limfonodus MP47; 6. Sampel limfonodus M39

penelitian yang dilakukan oleh Sudibyo (1998) yang menyatakan bahwa 18% dari 100 sampel serum babi yang berasal dari RPH Kapuk positif brucellosis. Sementara sampel dari RPH Ciroyom, Bandung menunjukkan hasil positif sebanyak 2,5% babi yang dipotong. Perbedaan hasil pengujian ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan asal babi yang dipotong di kedua RPH tersebut. Babi yang dipotong di RPH Kapuk, Jakarta berasal dari beberapa peternakan babi yang berasal dari sentra peternakan babi di Sumatera Utara dan beberapa peternakan di Solo, Jawa Tengah sementara babi yang dipotong di RPH Ciroyom, Bandung berasal dari beberapa peternakan di Kuningan, Jawa Barat dan Solo, Jawa Tengah.

Uji molekuler AMOS-PCR dilakukan untuk mengetahui spesies *Brucella* yang menginfeksi babi tersebut mengingat *Brucella* merupakan bakteri yang multihospes. Teknik PCR merupakan salah satu teknik pengujian yang digunakan dalam diagnosis penyakit termasuk brucellosis. Selain waktu pengujian yang cepat, pengujian dengan PCR juga lebih spesifik. Hasil pengujian PCR pada semua sampel limfonodus yang berasal dari RPH Kapuk, Jakarta menunjukkan hasil yang negatif. Hal ini memperkuat uji serologis bahwa tidak ada infeksi brucellosis pada sampel babi di RPH Kapuk. Pengujian sampel dari RPH Ciroyom, Bandung dengan uji PCR tiga individu terdeteksi brucellosis pada organ limfonodus/limpa. Dari ketiga individu

tersebut, satu individu secara serologis menunjukkan hasil yang positif dan dua individu yang terdeteksi menunjukkan hasil serologis yang negatif. Hasil ini menunjukkan bahwa hasil negatif pada uji serologi belum dapat menunjukkan individu tersebut bebas brucellosis. Hal ini kemungkinan dapat terjadi jika antibodi yang terkandung dalam darah masih di bawah limit deteksi. Peran kekebalan humoral terhadap bakteri intraselluler sangat terbatas dan kurang protektif. Antibodi berperan sebagai opsonin yang memfasilitasi fagositosis bakteri oleh makrofag, netrofil, dan sel NK.

Brucella merupakan bakteri dengan multihospes. Meskipun pengujian deteksi brucellosis pada babi menunjukkan hasil yang positif, perlu dilakukan identifikasi spesies maupun galur *Brucella*. Pengujian untuk menentukan spesies *Brucella* dapat menggunakan *multiplex PCR species-specific assay* yang pertama kali dikembangkan oleh Bricker dan Halling (1994). Metode yang digunakan berdasarkan pengamatan elemen genetik IS711 yang unik untuk tiap spesies *Brucella*. Lokasi dari elemen IS711 yang unik ini merupakan acuan dasar dalam pembacaan hasil diagnosis ini. DNA dari spesies *Brucella* teramplifikasi pada 498 bp untuk *B. abortus* bv. 1,2 dan 4; 731 bp untuk *B. melitensis* bv.1,2, dan 3; 976 bp untuk *B. suis* dan 285bp untuk *B. suis* bv. 1. Pengujian dengan PCR untuk brucellosis telah digunakan secara luas di banyak negara untuk mendeteksi brucellosis pada satu populasi ternak dan mengidentifikasi

spesies dan strain epizootik *Brucella* dalam suatu kelompok ternak yang bertujuan untuk membantu pakar epidemiologi melakukan penelusuran infeksi dari sumbernya (Bricker *et al.*, 2003).

Hasil uji identifikasi spesies *Brucella* dengan PCR yang dilakukan pada sampel dari RPH Ciroyom, Bandung, menunjukkan terdeteksi adanya *Brucella abortus* dan *Brucella suis* pada organ limfonodus sebanyak dua sampel, *Brucella suis* pada satu sampel limfonodus. Sementara itu pada organ limpa terdapat dua sampel yang positif terhadap *Brucella suis* sesuai dengan Gambar 1. Berdasarkan hasil penelitian ini selain *Brucella suis* yang dapat menginfeksi babi, *Brucella abortus* juga dapat menginfeksi babi yang dibuktikan secara AMOS-PCR.

Infeksi silang dapat terjadi dalam hal ini kemungkinan karena di Pulau Jawa brucellosis pada sapi yang disebabkan oleh *Brucella abortus* masih endemis sehingga ada kemungkinan dapat menginfeksi hewan lainnya. Spesies *Brucella* walaupun terkait dengan hospesnya namun dapat terjadi infeksi silang dengan hospes lainnya. Beberapa penelitian menunjukkan anjing dapat terinfeksi dengan *Brucella abortus* karena banyak digunakan untuk penjaga peternakan sapi atau dipakai sebagai pemburu hewan liar (Sheela *et al.*, 2011)

Penelitian pada hewan percobaan menunjukkan bahwa *Brucella* yang masuk ke dalam tubuh akan secara cepat difagositosis oleh leukosit *polymorphonuclear. Brucellae* dapat bertahan hidup dan berkembang biak dalam sel fagosit karena memiliki 5'guanosine monofosfat (Canning *et al.*, 1986). Bakteriemia muncul dalam waktu 1-3 minggu setelah infeksi apabila sistem pertahanan tubuh tidak dapat mengatasinya (Noor, 2006). Dalam penyebarannya secara sistemik, tidak jelas cara bakteri ditransportasikan, mungkin dalam netrofil dan makrofag atau dalam aliran darah di luar sel. Tetapi mikroorganisme dapat menyebar secara luas dari jaringan limfoid regional sesuai dengan tempat masuknya dan dapat berlokalisasi dalam target organ tertentu seperti kelenjar limfe, limpa, hati, sumsum tulang, dan organ reproduksi (terutama pada hewan). Pada infeksi yang kronis, bakteri dapat ditemukan pada limpa, ginjal, dan otak (Enright, 1990). Pola infeksi umum brucellosis babi adalah terjadinya infeksi kelenjar limfe pada tempat awal masuknya kuman. Empat sampai enam minggu setelah infeksi buatan, *Brucella suis* akan terdistribusi pada kelenjar limfe retroparingalis, submaksila, femoralis, suprascapularis, supramammaris, dan limpa (Sudibyo, 1998). Pada infeksi alam 74% isolat *B. suis* dapat diisolasi dari kelenjar limfe retroparingalis

dan submaksila (Priadi *et al.*, 1985). Hal ini sesuai dengan hasil pengujian sampel yang berasal dari RPH Ciroyom, Bandung, bakteri *brucella* terdeteksi dengan PCR pada limfonodus dan limpa babi.

Pada penelitian ini, babi yang berasal dari RPH Kapuk, Jakarta menunjukkan hasil negatif brucellosis secara serologis maupun molekuler, sedangkan babi yang berasal dari RPH Ciroyom, Bandung menunjukkan hasil positif brucellosis secara serologis dan molekuler. Spesies *Brucella* yang menginfeksi babi dari RPH Ciroyom, Bandung selain *Brucella suis*, juga terdeteksi adanya *Brucella abortus*. Hasil deteksi brucellosis positif pada babi di RPH Ciroyom, Bandung merupakan indikasi keberadaan penyakit brucellosis sehingga perlu dilakukan pengujian terhadap brucellosis pada babi di wilayah asal. Hal tersebut dilakukan untuk mencegah penularan brucellosis baik pada babi dan hewan lain di sekitar wilayah tersebut sekaligus mencegah penularan ke manusia.

"Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini".

DAFTAR PUSTAKA

- Bricker BJ, and Halling SM.. 1994. Differentiation of *Brucella abortus* bv 1, 2, and 4, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis*, and *Brucella suis* bv. 1 by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 32:2660-2666.
- Bricker BJ, Ewalt DR, Olsen SC, Jensen AE. 2003. Evaluation of the *Brucella abortus* species-specific polymerase chain reaction assay, an improved version of the *Brucella* AMOS polymerase chain reaction assay for cattle. *J. Vet Diagn Invest* 15 : 374-378.
- Bundle DR, Perry MB, Cherwonogrodzky. 1989. Monoclonal antibodies in the identification and characterization of *Brucella* species. In Swaminathan and Prakash: Nucleic acid monoclonal antibody probes. Marcel Dekker Inc. New York and Basel
- Corbel MJ, Bracewell CD, Thomas EL, Gill KPW. 1979. Techniques in the identification of *Brucella* species. In : Identification Methods for Microbiologist, Second Edition. Skinner F.A. & Lovelock D.W., eds. Academic Press, London, UK and New York, USA, 86-89.
- Canning PC, Roth JA, Deyoe BL. 1986 . Release of 5-guanosine monophosphate and adenin by *Brucella abortus* and their role in the intracellular survival of the bacteria. *J. Infect. Dis.* 154 : 467 - 470.

- Dewi AK. 2009. Kajian Brucellosis pada Sapid dan Kambing Potong yang Dilalulintaskan di Penyeberangan Merak Banten [Tesis]. Bogor (ID). Institut Pertanian Bogor.
- Enright FM, 1990. The pathogenesis and pathobiology of *brucella* infection in domestic animals. In: Animal Brucellosis . Nielson, K . and Duncan J .R. (Eds.). Boca Raton . Florida, CRC Press Pp . 301 - 320.
- Hinic V, Brodardi I, Thomanna A, Cvetnic Z, Frey J, Abril C. 2008. Novel identification and differentiation of *Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis* , *B. canis* and *B. neotomae* suitable for both conventional and real-time PCR systems. *J. Microbiol Methods*, 75:375-378.
- Hinic V, Brodardi I, Thomanna A, Holub M, Miserez R, Abril C. 2009. IS711-based real-time PCR assay as a tool for detection of *Brucella* spp. In wild boars and comparison with bacterial isolation and serology. *BMC Veterinary Research* 5:22.
- Kittelberger R, Hilbink F, Hansen MF, Ross GP, Joyce MA, Fenwick S, Heesemann J, Wolf-Watz H, Nielsen K. 1995. Serological crossreactivity between *Brucella abortus* and *Yersinia enterocolitica* 0:9 – II the use of *Yersinia* outer proteins for the specific detection of *Yersinia enterocolitica* infections in ruminants. *Vet Microbiol* 47:271-280.
- Martin SW, Meek AH, Willeberg P. 1987. Veterinary Epidemiology Principles and Methods. Iowa State University Press : 35-38.
- Matar FM, Khreissir IA, Abdonoor AM. 1996. Rapid laboratory confirmation of human brucellosis by PCR analysis of a target sequence on the 31-kilodalton *Brucella* antigen DNA. *J. Clin. Microbiol.* 34 :477 - 478.
- Munoz PM, Marín CM, Monreal D, Gonzzlez D, Garin-Bastuji B, Díaz R, Mainar-Jaime RC, Moriyon I, Blasco JM. 2005. Efficacy of several serological tests and antigens for diagnosis of bovine brucellosis in the presence of false-positive serological results due to *Yersinia enterocolitica* O:9. *Clinic and Diagnostic Laboratory Immunology* 12:141-151.
- Noor SM. 2006. Brucellosis : Penyakit Zoonosis yang Belum Banyak Dikenal Di Indonesia. *Wartazoa* 16(1) :31-39
- OIE. 2009 . Manual standards for diagnostic test and vaccines for terrestrial animals : Bovine Brucellosis [Internet]. [Diunduh 2014 Januari 11]. Tersedia pada : <http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/a/summry.htm> .
- Priadi A. 1992. *Brucella suis* infection as a zoonosis in Java. *Penyakit Hewan* 24(44):110- 112.
- Priadi A, Hirst RG, Chasanah U, Nurhadi A, Emmins J J, Darodjat M dan Soeroso M. 1985. Animal brucellosis in Indonesia – *Brucella suis* infection detected by an enzymelinked immunosorbent assay. Proc. The 3rd AAAP Animal Science Congress, Seoul, Korea, vol. 1: 507-509.
- Sapardi M, Purmadjaja B, Usman TB, Sulaiman I. 2004. Monitoring *Brucella suis* pada Babi di Jawa Tahun 2002-2003. *Bulletin Veteriner III(1)* : 1-6.
- Sheela R., Moges W, Alan L, Ron Sr, Robert Cb, and Sreekumari R. 2011. *Brucella suis* Infection in Dogs, Georgia, USA. *Emerging Infectious Diseases* 17 (12): 2386-2387.
- Sudiby A. 1998. Studi patogenesis *Brucella suis* isolat lapang dan kemampuan penularannya dari babi ke manusia. *JITV.* 3(4):257-263.