

Deteksi Patogen Zoonosis Q Fever pada Ternak Ruminansia di Aceh

(Detection of Zoonosis Pathogen Q Fever in Ruminant Livestock in Aceh)

Adi Firmansyah^{1*}, Agus Setiyono^{2*}, Mawar Subangkit², Hapsari Mahatmi³

¹Program Pascasarjana Ilmu Biomedis Hewan, Divisi Patologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University

²Divisi Patologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University

³Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana

*Penulis untuk korespondensi: agusse@apps.ipb.ac.id

Diterima: 29 Desember 2024, Disetujui: 12 September 2024

ABSTRAK

Coxiella burnetii merupakan agen infeksius yang dapat menyebabkan penyakit Query fever (Q fever). Q fever merupakan penyakit yang bersifat zoonosis yaitu penyakit yang dapat ditularkan dari hewan ke manusia ataupun sebaliknya. Reservoir utama kasus Q fever yang terjadi pada manusia adalah hewan ruminansia. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan *C. burnetii* sebagai penyebab Q fever serta karakterisasi perubahan jaringan akibat infeksi *C. burnetii* melalui analisa molekuler dan histopatologi pada ternak ruminansia di Provinsi Aceh. Sampel yang dikoleksi adalah organ hati, paru, limpa dan ginjal sapi dan kambing dari wilayah Banda Aceh dan Aceh Besar sejumlah 100 sampel sapi dan 15 sampel kambing. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah nested-PCR dan pemeriksaan histopatologi menggunakan pewarnaan Haematoxylin Eosin (HE). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa telah terdeteksi *C. burnetii* pada 2 individu sampel sapi (2%) dari organ paru, hati, limpa dan ginjal yang berasal dari Rumah Potong Hewan (RPH) Banda Aceh, Provinsi Aceh. *C. burnetii* tidak terdeteksi pada sampel organ kambing.

Kata kunci: Q fever, *Coxiella burnetii*, Hewan Ruminansia

ABSTRACT

Coxiella burnetii is an infectious agent that can cause Query fever (Q fever). Q fever is a zoonotic disease, namely a disease that can be transmitted from animals to humans or vice versa. The main reservoir for Q fever cases that occur in humans is ruminants. This study aims to detect the presence of *C. burnetii* as a cause of Q fever and to characterize tissue changes due to *C. burnetii* infection through molecular and histopathological analysis in ruminants in Aceh Province. The samples collected were liver, lungs, spleen and kidneys of cows and goats from the Banda Aceh and Aceh Besar areas, totaling 100 cow samples and 15 goat samples. The method used in this research was nested-PCR and histopathological examination using Haematoxylin Eosin (HE) staining. The results of this study showed that *C. burnetii* had been detected in 2 individual cattle samples (2%) from the lungs, liver, spleen and kidneys originating from the Banda Aceh Slaughterhouse, Aceh Province. *C. burnetii* was not detected in the goat samples examined

Keywords: Q fever, *Coxiella burnetii*, Ruminants

PENDAHULUAN

Coxiella burnetii adalah agen infeksius yang dapat menyebabkan *Query fever* (Q fever). Q fever merupakan penyakit yang bersifat zoonosis yaitu dapat ditularkan dari hewan ke manusia atau pun sebaliknya (Martens dan Samuel 2007). Q fever dapat menular baik secara aerosol, per oral, maupun via vektor, dengan rute penularan utama adalah aerosol (Angelakis dan Raoult 2010). Reservoir utama kasus Q fever yang terjadi pada manusia adalah melalui hewan ruminansia (sapi, kambing dan domba) (Maurin dan Raoult 1999; Astobiza 2012). Infeksi *C. burnetii* pada hewan umumnya tidak menunjukkan gejala (*asimtomatik*). Sapi yang terinfeksi *C. burnetii* dapat mengalami *abortus*, *subfertilitas* dan *metritis* (Porter et al. 2011). Pada kambing dan domba, infeksi *C. burnetii* dapat menyebabkan *abortus*, *stillbirth* dan *infertilitas*.

Q fever terdapat hampir di seluruh dunia (Angelakis dan Raoult 2011). Kejadian Q fever di Indonesia pertama kali ditemukan pada tahun 1955 dengan adanya 188 serum sapi yang positif mengandung antibodi terhadap *C. burnetii* (Kaplan dan Bertagna 1955). Kejadian Q fever pada ruminansia kembali dilaporkan pada tahun 2006 pada sapi Bali yang berasal dari pulau Bali, serta domba dan sapi brahman cross yang berasal dari Bogor, Jawa Barat (Mahatmi 2007). Wilayah lain di Indonesia yang sudah dilaporkan adanya kasus Q fever pada hewan ruminansia yaitu di Sumatera Utara. Hasil pemeriksaan imunohistokimia (IHK) menunjukkan bahwa sebanyak 38.3% (62/162) sapi imunoreaktif terhadap *C. burnetii* dari Rumah Potong Hewan (RPH) Kota Medan dan Kabupaten Deli Serdang (Nasution et al. 2015). Penelitian terbaru terkait kasus Q fever di Indonesia dilaporkan oleh Nugroho et al. (2021) dengan hasil pemeriksaan imunohistokimia (IHK) menunjukkan bahwa sebanyak 4% (4/100) sapi lokal (ras simental) di Kabupaten Boyolali imunoreaktif terhadap *C. burnetii*.

Aceh merupakan salah satu Provinsi yang memiliki kekayaan plasma nutfah berupa sapi Aceh. Sapi Aceh ditetapkan sebagai rumpun sapi asli Indonesia pada tahun 2011 oleh Menteri Pertanian RI melalui Keputusan Menteri Pertanian Nomor 2907/Kpts/OT.140/6/2011. Sampai saat ini belum ada laporan terkait kasus Q fever yang terjadi di Aceh. Salah satu permasalahan reproduksi yang sering terjadi pada sapi Aceh adalah rendahnya efisiensi reproduksi. Rendahnya efisiensi reproduksi pada sapi Aceh mengindikasikan adanya gangguan reproduksi seperti endometritis, anestrus dan *repeat breeding* (RB) (Thasmi et al. 2016). Kejadian RB pada sapi Aceh telah dilaporkan sekitar 53,8% (Rafika et al. 2020). Salah satu penyebab RB adalah infeksi bakteri patogen.

Sahidi (2018) mengungkapkan bahwa adanya kasus keguguran pada sapi Aceh sebanyak 55 kasus yang terdiri dari 20 kasus pada tahun 2016, 20 kasus pada tahun 2017 dan 15 kasus pada tahun 2018 yang terjadi di Desa Lamtamot, Kecamatan Lembah Seulawah, Aceh. Adanya informasi terkait gangguan reproduksi yang terjadi pada hewan ternak di Aceh khususnya pada sapi Aceh memunculkan kemungkinan adanya infeksi *C. burnetii* penyebab Q fever pada hewan ternak yang ada di Aceh. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan *C. burnetii* sebagai penyebab Q fever pada ternak ruminansia di Provinsi Aceh, serta karakterisasi perubahan jaringan akibat infeksi *C. burnetii* melalui analisa histopatologi dan molekuler.

METODE

Pengambilan Sampel Organ

Sampel organ yang dikoleksi adalah hati, paru, limpa, dan ginjal sapi dan kambing kurban (Idul Adha) tahun 2021 dari wilayah Banda Aceh dan Aceh Besar sejumlah 50 sampel sapi dan 15 sampel kambing, serta 50 sampel sapi yang diperoleh dari RPH Kota Banda Aceh dan Aceh Besar. Organ dikoleksi dengan ukuran sebesar ± 1 cm, yang selanjutnya dimasukkan ke dalam *buffered neutral formalin* (BNF) 10%. Sampel *fresh organ* juga dikoleksi dengan dibungkus menggunakan plastik *sheet* dan disimpan dalam *coolbox* untuk analisa molekuler menggunakan PCR.

Uji Penapisan (Screening)

Uji penapisan (*Screening*) awal dilakukan pada 115 sampel secara *pooling*. sebanyak 50 sampel sapi yang berasal dari RPH Banda Aceh dan Aceh Besar dilakukan *pooling* sebanyak 6 tahap, sedangkan 50 sampel sapi yang diambil dari pematangan hewan kurban dilakukan *pooling* sebanyak 7 tahap serta sampel kambing dilakukan *pooling* sebanyak 1 tahap. Masing-masing *pooling* terdiri dari 7 sampai dengan 8 individu sampel. Terhadap sampel *pooling* selanjutnya dilakukan proses ekstraksi DNA sampel dilakukan dengan menggunakan *DNA Purification Kit* (*Puregene*). Sampel campuran potongan organ diambil kira-kira 0,55 gram lalu dihaluskan secara aseptis dan ditambahkan *cell lysis solution* (*Puregene*) serta dihomogenisasi dalam tabung mikro sampai terbentuk suspensi. Proteinase K ditambahkan ke dalam suspensi kemudian diinkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam. Sampel kemudian didinginkan pada suhu kamar, tambahkan *precipitation solution* (*Puregene*) 100 μ l, *vortex*, dan sentrifugasi dengan kecepatan 15000 x G selama 5 menit pada suhu 4°C. Supernatan diambil dan disimpan dalam tabung mikro baru.

Campuran selanjutnya ditambahkan isopropanol lalu vortex dan sentrifugasi ulang. Supernatan dibuang, sedangkan pelet DNA yang mengendap di dasar tabung dicuci dengan etanol 70% lalu sentrifugasi kembali. Supernatan dibuang kemudian alkohol yang tersisa dibiarkan menguap dalam *cleanbench* selama 1 jam. *Dehydration solution* ditambahkan ke dalam endapan pelet DNA, kemudian inkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam. DNA yang diperoleh disimpan pada suhu 4°C untuk preparasi PCR pada tahap selanjutnya (Detha 2014; Mahatmi et al. 2007).

Nested-PCR

Nested-PCR dipilih karena spesifitasnya lebih tinggi dibandingkan dengan metode PCR konvensional (Ogawa et al. 2004). Primer yang digunakan pada *nested-PCR* adalah *Outer Membrane Protein* (OMP) masing-masing dengan urutan OMP-1 dan OMP-2 sebagai primer eksternal (*first-round PCR*) serta OMP-3 dan OMP-4 sebagai primer internal (*nested-PCR*). *First-round PCR* dilakukan dengan membuat *PCR mixtures* yang terdiri dari sampel DNA yang akan diuji, primer eksternal (*outer membrane protein gene* (OMP-1) dan OMP-2), akuabidestilata bebas DNA, *deoxyribose nucleotide triphosphate* (dNTP), *Taq buffer* dan *Taq polimerase* (Takara Shizo, Shiga, Japan). Kontrol positif yang digunakan ialah DNA *C. burnetii* strain *Nine Mile-2* (ATCC). Amplifikasi DNA sampel menggunakan mesin *thermal cycler* (*Perkin-Elmer Gene Amp PCR systems 9600*) dengan pengaturan program sebanyak 35 siklus. Proses dimulai dengan denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, *annealing* pada suhu 54°C selama 1 menit, *extension* pada suhu 72°C selama 2 menit, dan pendinginan pada suhu 4°C. Setelah proses amplifikasi selesai, dilanjutkan dengan *nested-PCR* (Detha 2014; Mahatmi et al. 2007). Primer yang digunakan pada *nested-PCR* adalah OMP-3 dan OMP-4 (primer internal). *PCR mixtures* pada proses ini berisikan primer, DNA template sampel dari *first-round PCR*, *taq buffer* dan *taq polimerase* (Takara Shizo, Shiga, Japan), dNTP, dan akuabidestilata bebas DNA yang dicampurkan dalam tabung mikro. Proses amplifikasi DNA dilakukan dengan mesin *thermal cycler* (*Perkin-Elmer Gene Amp PCR systems 9600*) dengan program yang sama seperti proses *first-round PCR*. Produk yang diharapkan dari *nested-PCR* adalah ampikon DNA sebesar 437 bp. (Detha 2014; Mahatmi et al. 2007).

Hasil amplifikasi pada mesin PCR dielektroforesis dengan gel agarose 1.5% dalam larutan 1x *Tris Acetate Ethylen Diamine Tetra Acetic Acid* (EDTA). Mesin elektroforesis diatur dengan tegangan 100 Volt dan frekuensi 50 Hz selama 30 menit kemudian sampel

DNA (*nested-PCR*) dicampurkan dengan *loading dye* dan dimasukkan ke dalam sumuran pada gel dalam tangki mesin elektroforesis. Mesin dimatikan ketika molekul DNA sudah mencapai batas 3 garis dari bawah. Gel diangkat dari tangki mesin elektroforesis, dibilas dengan aquades lalu larutan pewarna *ethyidium bromide* ditambahkan pada gel selama 20 menit. Pita DNA khas *C. burnetii* dapat dilihat di bawah sinar *Ultra Violet* (*UV illuminator*) (Detha 2014; Mahatmi et al. 2007). Pewarnaan HE digunakan untuk menguji sampel yang sama dari uji penapisan yang menunjukkan hasil positif (OIE 2010; Nugroho et al. 2021).

Pembuatan Blok Paraffin

Potongan (*trimming*) masing-masing sampel organ dengan ketebalan 5 mm dimasukkan ke dalam *tissue cassette*, selanjutnya dimasukkan ke dalam *automatic tissue processor* untuk dilakukan proses dehidrasi menggunakan etanol bertingkat 70%, 80%, 90%, 96% dan etanol absolut sebanyak tiga kali ulangan. *Clearing* dengan menggunakan silol sebanyak dua kali ulangan. Infiltrasi menggunakan paraffin cair sebanyak dua kali ulangan. Seluruh proses tersebut membutuhkan waktu 24 jam. Selanjutnya dilakukan *embedding* menggunakan alat *paraffin embedding console* dengan memindahkan jaringan yang berada di dalam *cassette* ke dalam cetakan yang berisi paraffin cair. *Sectioning* blok *paraffin* dengan ketebalan 3-5 µm menggunakan *rotary microtome*. Sayatan jaringan diapungkan pada akuades dalam *waterbath* 45°C dan dilekatkan pada *object glass* berperekat *poly-L-Lysine* 1%. Sayatan jaringan yang telah dilekatkan pada *object glass*, dimasukkan ke dalam inkubator selama 1 malam dengan suhu 50-60°C untuk kemudian dilakukan pewarnaan HE.

Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin

Pewarnaan hematoksilin dan eosin (HE) mengacu pada prosedur standar Mohammadamin dan Qubih (2011). Pewarnaan dimulai dengan proses deparafinisasi menggunakan silol I selama 5 menit dan silol II selama 2 menit. Kemudian dilanjutkan dengan proses rehidrasi dengan alkohol menurun dimulai dari alkohol absolut I dan II, alkohol 96% I dan II, alkohol 90% masing-masing selama 2 menit, selanjutnya *slide* jaringan dimasukkan ke dalam air mengalir. Proses selanjutnya adalah merendam *slide* jaringan di dalam pewarna *Mayer's haematoxyllin* selama 5 menit, kemudian *slide* jaringan dimasukkan ke dalam air mengalir. Setelah itu, *slide* jaringan tersebut dimasukkan ke dalam *lithium carbonat* satu kali celup dan kemudian dimasukkan air. *Slide* jaringan kemudian

dimasukkan ke dalam pewarna Eosin selama 5 menit. Kemudian dilakukan proses dehidrasi kembali dengan alkohol 96% I dan II, absolut I dan II masing masing dua kali celup. Setelah itu dilakukan proses *clearing* dengan silol I, II, dan III masing-masing selama 3 menit, lalu dilakukan *mounting* dengan entelan dan ditutup dengan *cover glass*. Jaringan yang sudah terwarnai siap diperiksa di bawah mikroskop cahaya.

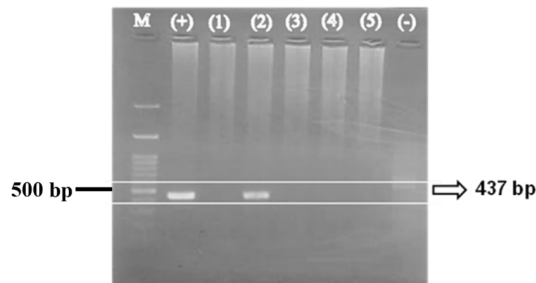
Analisis Data

Analisa kuantifikasi dan pengukuran mikro dilakukan dengan imageJ (NIH, US). Hasil pengolahan data disajikan melalui gambar hasil pengujian *nested-PCR* serta gambar deskripsi kualitatif lesio pada pembacaan sediaan histopatologi organ hati, paru, limpa, ginjal dengan pewarnaan HE.

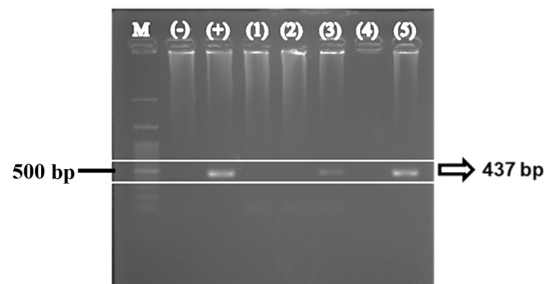
HASIL

Analisis Molekuler

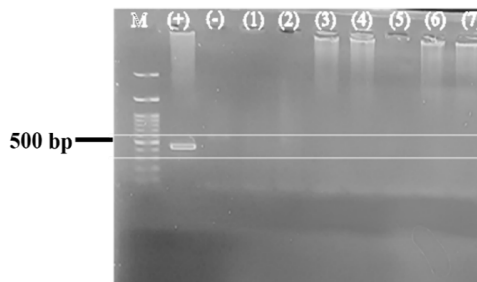
Screening awal metode *nested-PCR* secara *pooling* menggunakan primer OMP menunjukkan hasil positif pada sumuran nomor 2 dari total 50 sampel organ sapi yang diperoleh dari RPH kota Banda Aceh dan RPH Aceh Besar (Gambar 1a). Sampel *pooling* yang terkonfirmasi positif pada *screening* awal kemudian dilakukan analisis individu menggunakan metode *nested-PCR* dan didapatkan hasil positif pada 2 individu sampel sapi yang berasal dari RPH kota Banda Aceh (sumuran nomor 3 dan 5). (Gambar 1b). Uji *screening* selanjutnya dilakukan pada 50 sampel organ sapi dan 15 sampel organ kambing yang diperoleh dari tempat pematongan hewan kurban tidak didapatkan hasil positif (Gambar 1c).



Gambar 1a. Hasil *nested PCR* (*pooling*) dengan primer OMP pada 437 bp. Hasil positif terhadap *C. burnetii* ditunjukkan dengan pita tebal pada kelompok sumuran nomer 2 yang menandakan tingginya konsentrasi bakteri pada sampel organ.



Gambar 1b. Hasil *nested PCR* (analisis individu) dengan primer OMP pada 437 bp. Hasil positif terhadap *C. burnetii* ditunjukkan dengan pita tebal pada 2 individu sampel sapi pada sumuran 3 dan 5 yang berasal dari RPH Banda Aceh.



Gambar 1c. Hasil *nested PCR* (*pooling*) dengan primer OMP pada 437 bp. Hasil negatif terhadap *C. burnetii* ditunjukkan dengan tidak adanya pita tebal pada semua kelompok sumuran sampel organ sapi dan kambing yang diperoleh dari tempat pematongan hewan kurban.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya keberadaan *C. burnetii* pada 2 individu sampel sapi terdiri dari organ paru, hati, limpa dan ginjal yang berasal dari RPH Banda Aceh, Provinsi Aceh. Temuan ini secara epidemiologi memiliki arti penting, dikarenakan berdasarkan data yang diperoleh di RPH, diketahui bahwa sampel organ yang dikumpulkan berasal dari sapi eks impor dengan jenis kelamin Jantan, ras sapi Brahman Cross (BX).

Pewarnaan Histopatologi

Perubahan jaringan secara histopatologi pada berbagai organ dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil pengamatan histopatologi menunjukkan bahwa secara umum tidak ada perbedaan yang signifikan dan spesifik antara sampel positif terhadap infeksi *C. burnetii* dengan dengan sampel negatif terhadap infeksi *C. burnetii*. Hasil pengamatan histopatologi dapat dilihat pada gambar 2, gambar 3, gambar 4 dan gambar 5.

Secara umum tidak ada perubahan signifikan pada jaringan organ paru. Infiltrasi sel radang dalam jumlah rendah di jaringan paru tidak dapat dijadikan acuan akibat adanya paparan *C. burnetii*. Lesio yang terlihat pada paru antara lain emfisema alveolar,

penebalan septa intra alveolaris, infiltrasi sel radang dalam jumlah rendah dan adanya edema pulmonum (gambar 2). Perubahan lesio patologi yang terjadi pada pengamatan organ hati berupa pelebaran vena sentralis, kongesti dalam jumlah rendah, edema dan disosiasi hepatosit fibrosis serta nekrosis (kariolisis) sel hepatosit (Gambar 3). Pembacaan sediaan hati tidak ditemukan adanya lesio granuloma. Evaluasi terhadap organ limpa menunjukkan adanya infiltrasi sel radang neutrophil sehingga dapat dikatakan terjadi peradangan limpa yang bersifat kronik aktif (gambar 4). Perubahan histopatologis yang terjadi pada ginjal berupa adanya fokus sel-sel inflamasi pada daerah interstitial tubulus ginjal, nekrosa sel-sel tubulus dan glomerulonefritis (gambar 5).

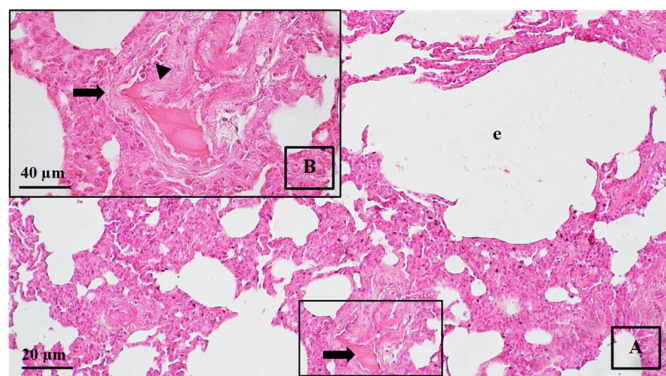
PEMBAHASAN

Analisis Molekuler

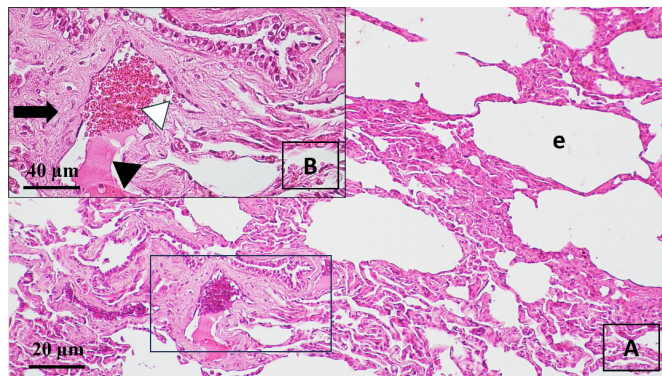
Penelitian ini menggunakan sampel dari beberapa organ hewan ruminansia yaitu sapi dan kambing. Sampel tersebut diperoleh dari RPH yang berada di Kota Banda Aceh dan Aceh Besar serta tempat pemotongan hewan Qurban yang ada di Kota Banda Aceh dan Aceh Besar, berjumlah 100 ekor sapi dan

Tabel 1. Perubahan jaringan pada berbagai organ yang terpapar *C. burnetii*.

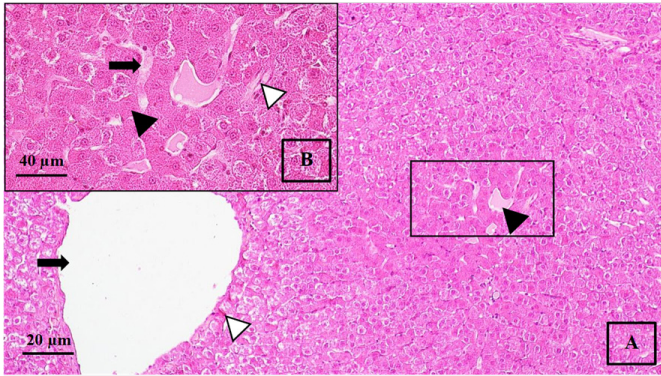
Organ	Perubahan Jaringan
Paru	Emfisema alveolar, penebalan pada septa intra alveolaris, infiltrasi sel radang (neutrophil) dalam jumlah rendah dan adanya edema pulmonum
Hati	Pelebaran vena sentralis, disosiasi hepatosit, kongesti ringan, nekrosis sel hepatosit (kariolisis), fibrosis dan adanya edema
Limpa	Splenitis, infiltrasi sel-sel neutrofil pada pulpa merah, deplesi sel-sel limfoid
Ginjal	Adanya fokus sel-sel nekrosis, glomerulonephritis, dan terjadi nekrosis



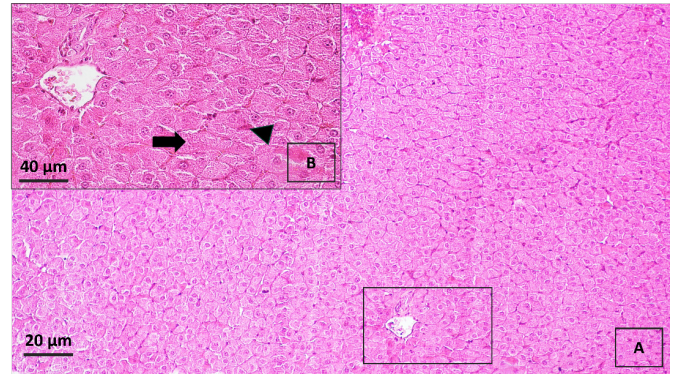
Gambar 2a. Pewarnaan HE organ Paru positif terhadap infeksi *C. burnetii* A. Emfisema alveolar dan edema pulmonum (panah). B. Inset gambar A, penebalan septa intra alveolaris (panah) dan infiltrasi sel radang dalam jumlah rendah (kepala panah).



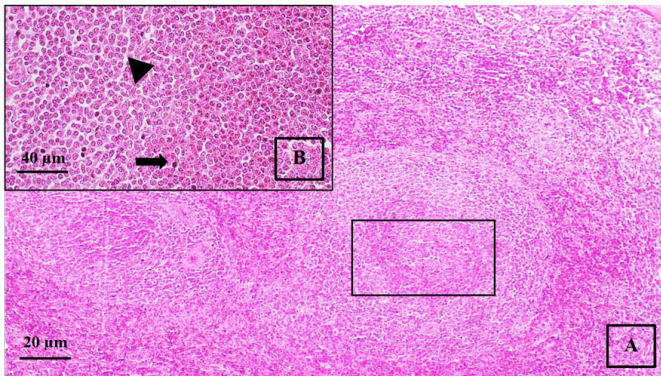
Gambar 2b. Pewarnaan HE organ Paru negatif terhadap infeksi *C. burnetii* A. Emfisema alveolar (e) dan edema pulmonum (panah). B. Inset gambar A, penebalan septa intra alveolaris (panah) dan kongesti (kepala panah putih).



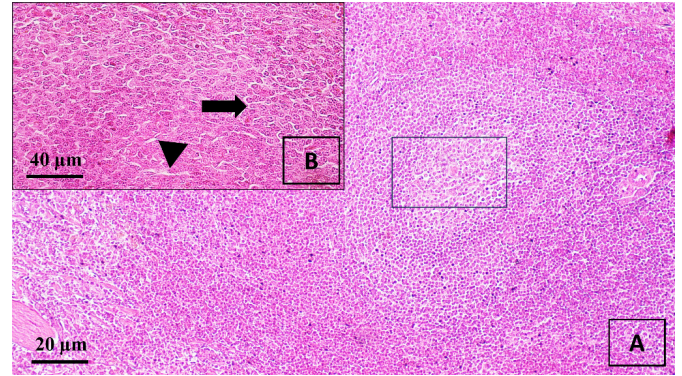
Gambar 3a. Pewarnaan HE organ Hati positif terhadap infeksi *C. burnetii*. A. Pelebaran vena sentralis (panah), kongesti ringan (kepala panah putih) dan adanya edema (kepala panah hitam). B. Disosiasi hepatosit (panah), fibrosis (kepala panah putih) dan nekrosis (kariolisis) sel hepatosit (kepala panah hitam).



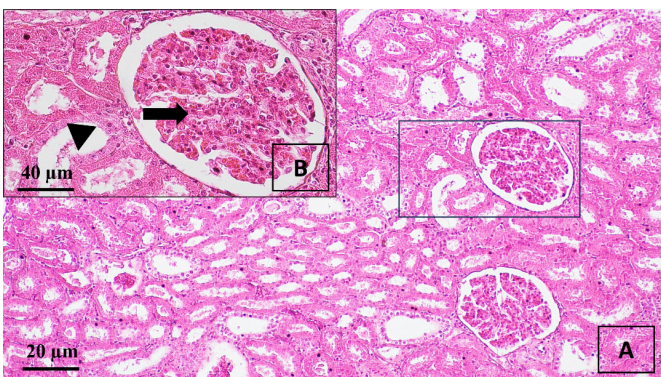
Gambar 3b. Pewarnaan HE organ Hati negatif terhadap infeksi *C. burnetii*. A. Kongesti ringan B. Nekrosis (kariolisis) sel hepatosit (panah).



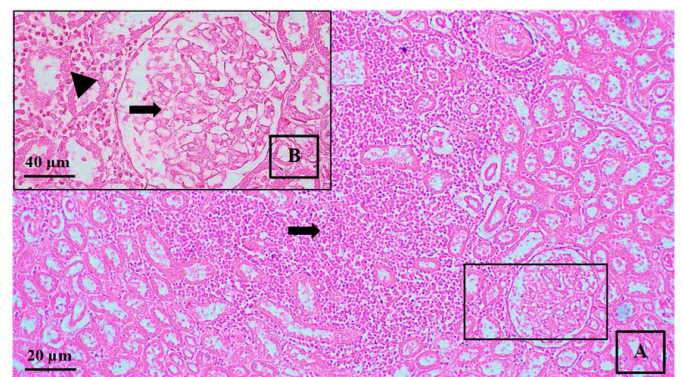
Gambar 4a. Pewarnaan HE organ Limpa positif terhadap infeksi *C. burnetii*. A. Splenitis. B. inset gambar A, splenitis, ditandai dengan adanya infiltrasi sel-sel neutrophil (panah) dan deplesi sel-sel limfoid (kepala panah).



Gambar 4b. Pewarnaan HE organ Limpa negatif terhadap infeksi *C. burnetii*. A. Splenitis. B. inset gambar A, splenitis, ditandai dengan adanya infiltrasi sel-sel neutrophil (panah) dan deplesi sel-sel limfoid (kepala panah).



Gambar 5b. Pewarnaan HE organ Ginjal negatif terhadap infeksi *C. burnetii*. A. fokus sel-sel nekrosis. B. inset gambar A, terjadi glomerulonephritis (panah) dan nekrosis sel-sel tubulus (kepala panah)



Gambar 5a. Pewarnaan HE organ Ginjal positif terhadap infeksi *C. burnetii*. A. fokus sel-sel nekrosis. B. inset gambar A, terjadi glomerulonephritis (panah) dan nekrosis sel-sel tubulus (kepala panah)

15 ekor kambing. Semua sampel dilakukan *screening* menggunakan metode *nested* PCR (primer OMP). Jumlah sampel tiap RPH dan tempat pemotongan hewan qurban dapat dilihat pada tabel 2 dan tabel 3. Metode *Nested* PCR merupakan modifikasi teknik PCR konvensional dengan menggunakan dua primer yang berbeda (Carr et al. 2010). Metode *nested*-PCR 50 kali lebih sensitif dibandingkan dengan PCR konvensional dengan limit deteksi mencapai 300 pg/ μ l (Purnawarman et al. 2012). PCR konvensional hanya dapat mendeteksi infeksi aktif dari *C. burnetii* (Kirkan et al. 2008).

Sampai saat ini Indonesia masih melakukan impor sapi hidup, terutama sapi bakalan untuk tujuan penggemukan. Sapi yang dipotong di RPH Banda Aceh tersebut berasal dari *feedlot* yang berada di Sumatera Utara. Hal ini selaras dengan kasus yang dilaporkan oleh Nasution et al. (2015) di Sumatera Utara yang juga didapatkan hasil positif sapi terpapar *C. burnetii*. Adanya temuan materi genetik patogen *C. burnetii* pada 2 individu sapi di RPH Banda Aceh, berpotensi terjadi penularan pada hewan ruminansia lain dan juga manusia terutama pekerja di area peternakan (*feedlot*) dan pekerja di sekitar RPH. Ancaman zoonosis ini dapat dijadikan kewaspadaan terhadap pekerja di area peternakan dan RPH untuk lebih meningkatkan *biosafety* dan *biosecurity*.

Adanya temuan materi genetik patogen *C. burnetii* pada 2 individu sapi eks impor yang dikumpulkan dari RPH Banda Aceh, akan meningkatkan risiko penularan pada populasi ternak ruminansia yang ada di Provinsi Aceh. Populasi ternak ruminansia di Provinsi Aceh mencapai 1.302.827 ekor yang tersebar di 23 kabupaten kota, terdiri atas sapi potong 452.284 ekor, sapi perah

28 ekor dan kerbau 104.706 ekor serta ternak kecil seperti kambing 642.191 ekor, kambing perah 735 ekor dan domba 102.883 ekor (Disnak Aceh, 2022). Populasi ini dapat dianggap sebagai populasi beresiko tinggi terhadap infeksi *C. burnetii*.

Pencegahan penularan penyakit Q fever dari individu ternak terinfeksi ke populasi ternak dan wilayah yang belum terinfeksi perlu dilakukan. Usaha tersebut antara lain melalui kebijakan impor hewan hidup yang lebih ketat, pengawasan transportasi hewan dari daerah terinfeksi ke daerah yang masih bebas dan pengobatan hewan yang sudah terinfeksi (Nasution et al. 2015). Hal lain yang perlu dilakukan adalah analisa risiko importasi hewan berdasarkan status penyakit tertentu baik di Indonesia maupun di negara asal hewan.

Pewarnaan Histopatologi

Pewarnaan HE merupakan pewarnaan standar sebagai pendekatan melihat lesio yang mungkin ditemukan pada organ yang bertujuan untuk memberikan informasi mengenai struktur umum sel dan jaringan serta perubahan yang disebabkan oleh *C. burnetii*. Organ yang diambil untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi adalah paru, hati, limpa dan ginjal. Pemilihan organ-organ tersebut dikarenakan rute utama infeksi *C. burnetii* adalah melalui inhalasi (aerosol) dan mampu menyebar ke berbagai organ melalui jalur hematogen, dimana target sel infeksi *C. burnetii* adalah sel-sel monosit/makrofag yang tersebar pada berbagai organ tubuh seperti paru, hati, limpa, ginjal, sumsum tulang dan saluran reproduksi. (Shannon dan Heinzen, 2009; Angelakis dan Raoult 2010).

Tabel 2. Data karakteristik sampel hewan yang digunakan dalam penelitian

Tempat Pengambilan Sampel	Jumlah (Ekor)	Jenis Hewan		Ras Sapi			Ras Kambing		Jenis Kelamin
		Sapi	Kambing	BX	Simental	Aceh	Kacang	PE	
RPH Banda Aceh	25	25	-	22	3	-	-	-	Jantan
RPH Aceh Besar	25	25	-	19	6	-	-	-	Jantan
Tempat Pemotongan Hewan Qurban	65	50	15	-	-	50	4	11	Jantan
Total	115	100	15	41	9	50	4	11	Jantan

Tabel 3. Hasil PCR dan elektroforesis sampel *pooling* individu sapi dan kambing terhadap paparan *C. burnetii*

Tempat Pengambilan Sampel	Pooling	First PCR	Nested PCR	Jumlah positif
RPH Banda Aceh	3	(-)	(+)	2
RPH Aceh Besar	3	(-)	(-)	0
Tempat Pemotongan Hewan Hewan Qurban	7	(-)	(-)	0

Pemeriksaan histopatologi organ paru, hati, limpa dan ginjal juga mengacu pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nasution *et al.* (2015) menunjukkan bahwa 152 dari 197 ekor Kambing Boer positif terhadap *C. burnetii*, dengan keberadaan antigen tersebut dapat ditemukan pada plasenta, limpa, hati, jantung, paru-paru dan ginjal. Lesio yang terlihat pada pengamatan organ paru dalam penelitian ini antara lain emfisema alveolar, penebalan septa intra alveolaris, infiltrasi sel radang dalam jumlah rendah dan adanya edema pulmonum. Emfisema adalah kelebihan udara dalam alveol paru yang dapat menyebabkan distensi alveol. Perubahan lesio patologis organ paru yang biasa ditemukan pada kasus Q fever berupa pneumonia interstitialis yang mana dapat ditemukan adanya infiltrasi sel-sel radang terutama makrofag, limfosit dan sedikit neutrofil serta eksudat pada alveol (Maurin dan Raoult, 1999). Edema pada organ paru dapat terjadi akibat pengeluaran cairan dari pembuluh darah ke inderstitium melebihi kemampuan sistem limfatik dan alveol untuk mengambil kembali cairan tersebut.

Indikasi adanya paparan *C. burnetii* pada hati umumnya ditandai dengan adanya lesio granulomatosa, hiperplasia sel Kuffer, degenerasi lemak, infiltrasi sel radang yang terdiri dari makrofag, limfosit dan neutrophil serta nekrosis sel hepatosit yang bersifat fokal (Maurin dan Raoult 1999). Lebih lanjut Angelakis dan Roul (2010) mengungkapkan perubahan histopatologi yang lebih khas ditunjukkan dengan adanya ruangan kosong (*central clear space*) dan cincin fibrin yang terdapat diantara granuloma atau di pinggir granuloma yang disebut dengan *doughnut granuloma*. Pembacaan sediaan hati tidak ditemukan adanya lesio granuloma. Hal ini dapat disebabkan oleh infeksi yang berlangsung secara kronis. Lesio granuloma sangat jarang ditemukan pada kasus infeksi *C. burnetii* yang bersifat kronis, hal ini kemungkinan disebabkan oleh lemahnya respon imun oleh sel T (Maurin dan Raoult, 1999).

Depleksi folikel limfoid dapat diketahui dengan mengamati kerapatan sel pada bagian pulpa putih limpa. Pulpa putih yang mengalami depleksi memiliki folikel limfoid dengan kerapatan sel yang lebih rendah dibanding folikel normal. Depleksi folikel limfoid terjadi karena sel-sel limfoid mengalami sitolisis (Fry dan McGavin 2006). Vally (2007) mengungkapkan pada kondisi peradangan sistemik akan terjadi akumulasi sel-sel radang neutrofil pada *marginal zone* di area sekitar sinus limpa. Di daerah inilah berlangsung destruksi bakteri dan pengolahan antigen disertai oleh sebuah pola migrasi, dimana benda asing dipindahkan dengan makrofag khusus menuju *marginal zone* dan kemudian disusul limfosit kecil mencapai *germinal center*.

Perubahan histopatologis yang terjadi pada ginjal

berupa adanya fokus sel-sel inflamasi pada daerah interstitial tubulus ginjal, nekrosa sel-sel tubulus dan glomerulonefritis. Perubahan ini menyerupai gambaran lesi patologis yang didapatkan pada ginjal fetus sapi abortus yang terdeteksi positif terhadap *C. burnetii* di Turki yaitu tampak adanya nefritis interstitial dan nekrosis tubulus (Ozkaraca *et al.* 2016). Glomerulonefritis dan nefritis interstitial tubulus yang terjadi sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan pada sampel organ ginjal kambing Boer di Malaysia dimana didapatkan adanya infiltrasi sel radang mononuklear dan neutrofil di ruang inderstitial serta tubulonefritis (Norina *et al.* 2011).

Sapi yang terdeteksi positif terhadap *C. burnetii* tidak menunjukkan gejala klinis. Hal ini dikarenakan reaksi jaringan yang muncul sebagai akibat infeksi dari bakteri *C. burnetii* menyerupai reaksi jaringan pada paparan antigen pada umumnya dan sulit untuk dibedakan. Kerusakan jaringan yang tampak pada gambaran histopatologi tidak menunjukkan respon imun yang masif. Hal ini dapat terjadi karena multiplikasi intraseluler dari *C. burnetii* ini relatif lambat, dengan waktu multiplikasi menyerupai waktu pembelahan sel inang secara normal (Maurin dan Raoult 1999). Meskipun infeksi berjalan sangat lama namun kerusakan sel yang ditimbulkan sangat minim dan memunculkan gejala klinis yang asimtomatik pada ruminansia. Kemampuan *C. burnetii* untuk menghindari dari respon imun serta kecepatan multiplikasi yang lambat juga dapat menjelaskan rendahnya tingkat kerusakan sel meskipun infeksi berjalan lama (Maurin dan Raoult 1999).

Materi genetik bakteri *C. burnetii* terdeteksi pada 2 sampel sapi jenis Brahman Cross (BX) dengan pemeriksaan *nested-PCR* di RPH Banda Aceh, Provinsi Aceh. Hasil pewarnaan HE organ paru, hati, limpa dan ginjal tidak menunjukkan adanya perubahan yang signifikan dan lesi patognomonis akibat paparan *C. burnetii*. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya potensi distribusi *C. burnetii* pada wilayah yang lebih luas.

Pengujian menggunakan metode konfirmatif lainnya untuk membuktikan keberadaan antigen *C. burnetii* seperti pewarnaan imunohistokimia serta *sequencing* antigen yang ditemukan untuk mempelajari strain *Coxiella burnetii* yang ada di Indonesia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat terlaksana berkat dukungan dari Kementerian Riset dan Teknologi; Badan Riset dan Inovasi Nasional Nomor: 077/SP2H/LT/DRPM/2021 tanggal 18 Maret 2021 dalam program World Class Research (WCR).

“Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak terkait dalam penelitian ini”

DAFTAR PUSTAKA

- Angelakis E dan Raoult D. 2010. Q Fever. *Vet Microbiol.*140:297–309.
- Angelakis E dan Raoult D. 2011. Emergence of Q Fever. *Iranian J Publ Health.* 40 (3):1-18.
- Astobiza I, Tilburg JJHC, Pinero A, Hurtado A, Garcia-Perez AL, Franssen MHN, Klaassen CHW. 2012. Genotyping of *Coxiella burnetii* from domestic ruminants in northern Spain. *BMC Vet Res.* 8(241):1-8.
- Detha, A. 2014. Identifikasi *Coxiella brunetii* Menggunakan Pengujian Polymerase Chain Reaction pada Kambing Di Kota Kupang. *Jurnal Kajian Veteriner.* 2(1):103-110.
- [Disnak Aceh] Dinas Peternakan Aceh 2022. Data Populasi Ternak Aceh 2022. Aceh (ID): Disnak Aceh.
- Fry MM, McGavin MD. 2006. *Bone Marrow, Bood Cells, and Lymphatic System.* Di dalam: *Pathologic Basis of Veterinary Disease.* Ed ke-4. McGavin MD.
- Kaplan MM, Bertagna P. 1955. The Geographical Distribution of Q Fever. *Bull. Wld Hlth Org.* 13:829-860.
- Kirkan S, Kaya O, Tekbiyik S, Parin U. 2008. Detection of *Coxiella burnetii* in cattle by PCR. *Turk J Vet Anim Sci.* 32(3):2015–220
- Mahatmi H, Setiyono A, Soejoedono RD, Pasaribu FH. 2007. Deteksi *Coxiella burnetii* Penyebab Q Fever pada Sapi, Domba dan Kambing di Bogor dan Bali. *J Vet.* 8(4):180-187.
- Mertens K, Samuel JE. 2007. Bacteriology of *Coxiella*: Rickettsial diseases. 257–270.
- Maurin M. Raoult D. 1999. Q Fever. *Clin Microbiol Rev.* 12(4): 518–553.
- Nasution SS, Setiyono A, & Handharyani E. 2015. Deteksi imunohistokimia antigen *Coxiella burnetii* sebagai penyebab Q fever pada sapi. *Jurnal Kedokteran Hewan.* 9(2):147-151.
- Nugroho EP, Setiyono A, Hadi U.K, Winarsih W, Astuti D. 2021. Deteksi Antigen *Coxiella burnetii* Secara Imunohistokimia pada Organ Limpa Sapi dari Rumah Potong Hewan Ampel, Kabupaten Boyolali. *Jurnal Medik Veteriner.* 4(1):48-55.
- Porter SR, Czaplicki G, Mainil J, Guatteo R, Saegerman C. 2011. Q Fever: Current State of Knowledge and Perspectives of Research of a Neglected Zoonosis. *Int J Microbiol.* 1-22. doi:10.1155/2011/248418.
- Purnawarman T, Wibawan IWT, Pasaribu FH, Saepulloh M. 2012. Sensitivitas dan spesifisitas nested polymerase chain reaction untuk mendeteksi dna *Coxiella burnetii*. *J Vet.* 13(1):51–56
- Rafika I, Thasmi CN, Herrialfian, Rosmaidar, Hafizuddin. 2020. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif pada Uterus Sapi Aceh yang Mengalami Repeat Breeding. *Jurnal Agripet.* 20(2):187-192.
- Rini EP, Setiyono A, Astuti D, Wibawan IWT, Juniantito V. 2019. Detection of *Coxiella burnetii* Infection in Various Organs from Beef Cattle in Depok, West Java, Indonesia. *Advances in Health Sciences Research.* 19: 67-70.
- Rumawas I, Sandjaja W. 1977. Kemungkinan Q fever di Indonesia. *Media Vet.* 1:22–29.
- Sahidi. 2018. Investigasi Outbreak Keguguran di Desa Lamtamot Kecamatan Lembah Seulawah Kabupaten Aceh Besar Tahun 2018. Proc. of the 20th FAVA CONGRESS & The 15th KIVNAS PDHI, Bali Nov 1-3.
- Setiyono A, Subangkit M. 2014. Immunohistochemical Detection of *Coxiella burnetii* in Ruminants: A Case Study of Q fever in Indonesia. *Glob Vet.*12(6):865–868.
- Shannon JG, Heinzen RA. 2009. Adaptive Immunity to the Obligate Intracellular Pathogen *Coxiella burnetii*. *Immunol Res.* 43(1-3):138-148.
- Thasmi CN, Siregar TN, Wahyuni S, Aliza D, Hamdan H, Panjaitan B, Asmilia N, Husnurrijal H. 2017. Estrus performance and steroid level of repeat breeding aceh cattle synchronized with Pgf2 alfa. *Veterinaria* 66(1): 36-41.
- Untari H, Setiyono A, Handharyani E, Padaga, Masdiana C, Astuti, Dwi, Sasaki, Michihito, Sawa, Hirofumi. 2020. The Occurance of *Coxiella Burnetii* Infection in Local Goat in Malang, East Java, Indonesia: A First Report. *Veterinary Practitioner* 21(6): 488-493.
- Vally VEO. 2007. *Hematopoietic System.* Di dalam: *Pathology of Domestic Animals.* Ed ke-5. Maxie MG, editor. Philadelphia (US): Saunders Elsevier.hlm 107-324.