

## Skrining Susu terhadap *Mycobacterium bovis* pada Peternakan Sapi Perah di Wilayah Tengah dan Timur Pulau Jawa, Indonesia

### *Milk Screening Test for Mycobacterium bovis from Dairy Farms in Central and Eastern Java Island, Indonesia*

Andi Eka Putra<sup>1,2</sup>, Chaerul Basri<sup>3\*</sup>, Etih Sudarnika<sup>3</sup>, Santi Lestari<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Ilmu Biomedis Hewan, Sekolah Pascasarjana, IPB University, Bogor, Indonesia

<sup>2</sup>Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner, Kementerian Pertanian Republik Indonesia, Jakarta, Indonesia

<sup>3</sup>Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor, Indonesia

<sup>4</sup>Balai Besar Veteriner Wates, Yogyakarta, Indonesia

\*Corresponding author, Email: [chaerul@apps.ipb.ac.id](mailto:chaerul@apps.ipb.ac.id)

Naskah diterima: 4 Maret 2023, direvisi: 1 September 2023, disetujui: 9 September 2023

#### Abstract

Tuberculosis is a disease with high incidence rate of human cases in Indonesia. Bovine Tuberculosis in dairy cows is caused by *M. bovis*, suspected to play a role in causing tuberculosis cases in humans (zoonoses), for its ability to be transmitted to humans through milk consumption. The central and eastern regions of Java Island are the center of dairy farming in Indonesia that have high cases of tuberculosis in humans. Information regarding the presence of *M. bovis* in milk produced in those regions has never been reported. This study aims to detect *M. bovis* in milk on dairy farms in the central and eastern regions of Java Island. Milk samples were taken from 163 cows using the cluster random sampling method from 3 provinces: Central Java, Yogyakarta, and East Java. Milk samples were tested using multiplex RT-PCR testing to identify *M. bovis* and *M. tuberculosis*. Screening test with RT-PCR testing on 163 milk samples from dairy farms in the central and eastern regions of Java Island showed that the milk produced by dairy cows in these areas did not have *M. bovis* and *M. tuberculosis*. Screening results showed that there were no cases of bovine tuberculosis in the central and eastern regions of Java Island.

**Keywords:** bovine tuberculosis; *M. bovis*; milk, PCR; zoonoses

#### Abstrak

Tuberkulosis adalah penyakit dengan tingkat kejadian kasus tinggi pada manusia di Indonesia. *Bovine tuberculosis* pada sapi perah yang disebabkan oleh bakteri *M. bovis* diduga turut berperan dalam menyebabkan kasus tuberkulosis karena dapat menular ke manusia (zoonosis) melalui konsumsi susu. Wilayah tengah dan timur Pulau Jawa merupakan sentra peternakan sapi perah di Indonesia yang masih melaporkan tingginya kasus tuberkulosis pada manusia. Informasi mengenai keberadaan bakteri *M. bovis* pada susu yang dihasilkan di wilayah tersebut belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk skrining keberadaan *M. bovis* di susu pada peternakan sapi perah di wilayah tengah dan timur Pulau Jawa. Sampel susu diambil dari 163 ekor sapi menggunakan metode *cluster random sampling* dari 3 provinsi yaitu Jawa Tengah, Yogyakarta dan Jawa Timur. Sampel susu diuji menggunakan PCR konvensional dengan metode multiplex PCR untuk mengidentifikasi *M. bovis* dan *M. tuberculosis* dalam waktu bersamaan. Skrining dengan uji PCR terhadap 163 sampel susu dari peternakan sapi perah di wilayah tengah dan timur Pulau Jawa menunjukkan bahwa susu yang dihasilkan oleh sapi perah yang dipelihara di wilayah ini tidak mengandung bakteri *M. bovis* dan *M.*

*tuberculosis*. Hasil skrining menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya kasus kejadian *bovine tuberculosis* di wilayah tengah dan timur Pulau Jawa.

**Kata kunci:** *Bovine tuberculosis*; *M. bovis*; PCR; susu; zoonosis

## Pendahuluan

*Zoonotic tuberculosis* (TB) merupakan penyakit yang menyebar luas, menular, dan terus menjadi penyebab utama kematian. TB merupakan masalah kesehatan masyarakat yang dominan di dunia (Al-Thwani *et al.*, 2015). *Mycobacterium tuberculosis* adalah penyebab paling umum dari TB manusia dan *M. bovis* adalah agen penyebab penyakit TB pada sapi. Berdasarkan laporan *World Health Organization* (WHO) dan *Food and Agriculture Organization of the United Nation* (FAO) pada tahun 2000 perkembangan *Bovine tuberculosis* (BTB) atau tuberkulosis sapi di negara berkembang sudah mengkhawatirkan walaupun untuk mencari data konkrit masih sangat langka. BTB merupakan penyakit kronis yang melemahkan manusia dan hewan dengan potensi zoonosis yang tinggi (Basit *et al.*, 2018). *World Animal Health Information System* (WAHIS) melaporkan bahwa BTB ditemukan di sebagian besar wilayah di Asia. Beberapa negara seperti Australia dilaporkan bebas dari *M. bovis*, dan banyak negara seperti Jepang (2014), Mongolia (2012), Myanmar (2009), Singapura (1994) dan Thailand (2014) melaporkan telah berhasil mengurangi BTB dari ternak mereka dan menjaga agar penyakit tidak menyebar pada satu atau lebih zona (OIE, 2020).

*M. bovis* memiliki cakupan inang yang luas dan merupakan agen utama yang bertanggung jawab untuk tuberkulosis pada sapi, mamalia domestik dan liar. *M. bovis* juga menginfeksi manusia dan menyebabkan TB zoonosis melalui pencernaan, pernafasan dan melalui kontak dengan selaput lendir dan kulit yang rusak. TB zoonosis dulunya merupakan penyakit endemik, biasanya ditularkan ke manusia melalui konsumsi susu sapi mentah atau daging tidak dimasak sempurna. Gejala penyakit TB pada manusia dan sapi hampir sama yaitu menyerang paru-paru, kelenjar getah bening dan organ pencernaan. Sulit untuk membedakan secara klinis atau patologis TB yang disebabkan oleh *M. tuberculosis* atau *M. bovis* (Al-Saqr *et al.*, 2016).

Infeksi pada manusia akibat bakteri ini relatif kecil proporsinya. Diperkirakan *M. bovis* menyebabkan <2% dari jumlah total kasus penyakit TB di Amerika Serikat (CDC, 2011) dan <1,5% dari semua kasus TB di daerah di luar Afrika (Lan *et al.*, 2016). Secara keseluruhan proporsi *M. bovis* penyebab TB pada manusia sangat rendah jika dibandingkan dengan *M. tuberculosis*, namun dampak potensialnya pada kelompok populasi dengan risiko tinggi tidak boleh diabaikan. BTB juga memberikan dampak yang besar bagi ekonomi (Ereqat *et al.*, 2013). Paparan terhadap infeksi *M. bovis* melalui aerosol dari ternak banyak terjadi pada peternak, petugas pelayanan kesehatan hewan yang menangani kesehatan ternak, serta pekerja pedesaan dan rumah potong hewan (Michel *et al.*, 2010).

*M. bovis* telah diisolasi dari susu sapi mentah dalam banyak penelitian yang dilakukan di beberapa negara seperti Tanzania, Turki, Zambia, Tunisia dan Brazil (Bolaños *et al.*, 2017). Susu dan produk susu harus dipastikan bebas dari *M. bovis* untuk meminimalisasi masalah kesehatan pada masyarakat. Provinsi Jawa Timur, Jawa Tengah dan Yogyakarta merupakan provinsi penyumbang susu sapi terbesar di Indonesia dengan total produksi 651 ribu ton atau 67% dari produksi nasional tahun 2022 (BPS, 2022). Ketiga provinsi ini masuk ke dalam wilayah kerja Balai Besar Veteriner Wates dan berada di wilayah tengah dan timur Pulau Jawa. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi *M. bovis* pada susu sapi perah sebagai penyebab kejadian penyakit tuberkulosis pada sapi perah dengan metode uji *polymerase chain reaction* (PCR).

## Materi dan Metode

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu yang dikoleksi dari peternakan sapi perah di tiga provinsi (Jawa Tengah, Yogyakarta dan Jawa Timur). Teknik *cluster random sampling* digunakan untuk memilih perwakilan kabupaten/kota yang menjadi sentra peternakan sapi perah dari tiap provinsi yaitu Kabupaten

Boyolali (Jawa Tengah), Kabupaten Sleman (Yogyakarta), Kabupaten Malang dan Kota Batu (Jawa Timur). Setiap kabupaten/kota diambil sampel dengan *proportional allocation* (alokasi proporsional) berdasarkan jumlah populasi di wilayah tersebut, sehingga didapatkan besaran sampel untuk setiap kabupaten/kota seperti pada Tabel 1. Jumlah 163 sampel berdasarkan *quota sampling*, menyesuaikan dengan quorum yang diberikan untuk tiap kabupaten/kota. Kegiatan pengambilan sampel dilakukan pada pemerahan sore. Setiap sampel dilakukan pelabelan yang memuat informasi waktu pengambilan sampel, nama lokasi, identitas sapi dan identitas pemilik. Sampel ditransportasikan dengan sistem rantai dingin dalam waktu 2 x 24 jam menggunakan *coolbox* untuk dilakukan pemeriksaan PCR di Laboratorium BBVET Wates, Yogyakarta.

Isolat bakteri *M. bovis* yang digunakan untuk kontrol positif adalah isolat murni berbentuk kering beku milik Balai Besar Pengujian Standar Instrumen Veteriner (BBPSIV). Isolat bakteri *M. tuberculosis* yang digunakan untuk kontrol positif adalah isolat murni berbentuk kering beku milik BBPSIV. BBPSIV sebagai balai penelitian di Indonesia yang pernah melakukan pengujian terhadap *bovine tuberculosis* sehingga dijadikan acuan dan sumber isolat bakteri. Total DNA pada sampel susu diekstraksi menggunakan DNA minikit (Geneaid Biotech®, China), sesuai dengan instruksi manufaktur. Hasil ekstraksi DNA selanjutnya diamplifikasi menggunakan metode multipleks PCR. Target patogen yang dideteksi dalam penelitian ini yaitu keberadaan material genetik *M. tuberculosis* dan *M. bovis* pada sampel. Primer yang digunakan dalam pengujian ini adalah primer forward yang umum digunakan, yaitu CSB1 (5'-TTCCGAATCCCTTGTGA-3'), serta dua primer reverse, yaitu CSB2 (5'-GGAGAGCGCCGTTGTA-3') yang spesifik terhadap *M. bovis*, dan CSB3 (5'-AGTCGCGTGGCTTCTCTTTTA-3') yang spesifik terhadap *M. tuberculosis* (Daulay, 2015). Amplifikasi PCR terdiri dari 25 µl : 12.5 µl Bioline master mix (MyTaq HS Mix, USA), 1 ml masing-masing primer (10 pmol/ µl) 6.5 µl nuclease free water dan 3 µl sampel DNA. Tahapan amplifikasi DNA dilakukan pada mesin Thermal Cycler (PeqLab PeqSTAR, England).

Program PCR yang digunakan adalah 1 siklus pada 95 °C selama 3 menit untuk denaturasi awal, dilanjutkan dengan 35 siklus pada 95 °C selama 15 detik untuk denaturasi, 55 °C selama 15 detik untuk annealing, dan 72 °C selama 15 detik untuk ekstensi, kemudian dilanjutkan dengan 1 siklus pada 72 °C selama 5 menit untuk ekstensi akhir (Daulay, 2015). Produk PCR selanjutnya dielektroforesis menggunakan agarose 1.5% dan divisualisasi menggunakan UV transilluminator (Alpha Innotech, USA). Amplikon spesifik *M. bovis* yaitu 161 pb (pasangan basa) dan *M. tuberculosis* 261 pb (Bakshi *et al.*, 2005). Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif.

## Hasil dan Pembahasan

Diagnosa untuk mendeteksi keberadaan *M. bovis* dapat dilakukan dengan berbagai metode. Uji tuberkulosis pada sapi biasanya didiagnosis berdasarkan reaksi hipersensitivitas tertunda dalam uji tuberkulin. Tes tuberkulin yang dapat dengan mudah dilakukan pada sejumlah besar sapi telah digunakan secara tradisional di seluruh dunia untuk mendeteksi tuberkulosis sapi. Sapi yang positif uji tuberkulin kemudian dilakukan pengujian molekuler sampel susu untuk meneguhkan diagnosis, namun tidak semua sapi positif uji tuberkulin didapatkan hasil positif juga untuk uji molekulernya.

Diagnosa pada susu dapat dilakukan dengan diagnosa mikrobiologi dan molekuler. Kultur mikrobiologis menjadi tes standar untuk deteksi *Mycobacterium* sp. dalam sampel klinis karena sensitivitas dan spesifitasnya. Media selektif untuk isolasi spesies mikobakteri yang umum digunakan dalam mikrobiologi veteriner contohnya yaitu media kultur Lowenstein-Jensen (Bolaños *et al.*, 2017). Teknik identifikasi dengan cara kultur memiliki tingkat sensitif tinggi namun membutuhkan waktu yang lama yaitu 6-8 minggu (Simarmata, 2014).

Teknik molekuler yang sering digunakan yaitu *polymerase chain reaction* (PCR). *Deoxyribonucleic acid* (DNA) direplikasi secara enzimatik tanpa harus menggunakan organisme hidup, seperti bakteri atau ragi. Teknik ini memungkinkan amplifikasi ekstensif sejumlah kecil molekul DNA secara eksponensial. Amplifikasi DNA melalui teknik PCR telah

menjadi alat untuk studi epidemiologi penularan BTB dan memberikan keunggulan pada bidang penelitian modern. Kemampuan dan kecepatan dalam mendeteksi mikobakteri dapat menentukan spesies dan isolat yang berbeda dari spesies yang sama pada tingkat DNA (Ramos *et al.*, 2014). Uji PCR yang digunakan sebagai skrining susu terhadap keberadaan *M. bovis* pada penelitian ini dilakukan tanpa didahului dengan uji tuberkulin. Metode PCR digunakan untuk pemeriksaan pada sampel susu dikarenakan PCR menyediakan cara yang cepat, aman, dan andal untuk diagnosis tuberkulosis sapi di mana *Mycobacterium* spp. dapat diidentifikasi langsung dari sampel tanpa pembiakan (Nahar *et al.*, 2011).

Tabel 1. Hasil uji PCR sampel susu dari peternakan sapi perah pada masing-masing kabupaten/kota di wilayah tengah dan timur pulau jawa

Lokasi	Besaran Sampel (n=163)	Hasil
Kabupaten Sleman	56	Negatif
Kabupaten Boyolali	60	Negatif
Kabupaten Malang	26	Negatif
Kota Malang	21	Negatif

Pengujian PCR pada 163 sampel susu yang diambil dari peternakan sapi perah di wilayah tengah dan timur Pulau Jawa menunjukkan hasil negatif (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan bahwa tidak terdeteksi bakteri *M. bovis* pada sampel susu yang diperiksa dengan metode PCR. Hasil negatif diperoleh kemungkinan karena susu dihasilkan oleh sapi-sapi yang tidak terinfeksi oleh *M. bovis*. Secara umum peternak menerapkan praktik pemeliharaan dan biosekuriti yang baik. Biosekuriti yang baik dapat mengendalikan penularan dan penyebaran penyakit (Christi *et al.*, 2022). Praktik biosekuriti dapat dilakukan melalui sanitasi, isolasi, dan kontrol lalu lintas. Praktik pemeliharaan dan sanitasi yang baik mengurangi risiko susu tercemari oleh bakteri. Selain itu hasil ini juga dipengaruhi oleh keberadaan *M. bovis* dalam susu yang heterogen. Adanya variasi peluruhan *M. bovis* dengan perkembangan penyakit, imunitas yang diperantarai sel dan faktor epidemiologis seperti ketidakseimbangan metabolisme dan kondisi peripartum mengakibatkan tingkat yang berbeda dari patogen dalam cairan tubuh seperti susu (Jayasumana *et al.*, 2018).



Gambar 1. Deteksi *M. tuberculosis* dan *M. bovis* pada sampel susu di wilayah tengah dan timur Pulau Jawa. DNA marker (M). Elektroforegram representatif target gen. (Mt) kontrol positif *M. tuberculosis* dan (Mb) kontrol positif *M. bovis*, serta hasil negatif sampel (1-9)

Hasil pemeriksaan PCR terhadap sampel menggunakan primer CSB1, CSB2, CSB3 seperti pada Gambar 1. Hasil tersebut merupakan elektroforegram representatif pengujian PCR untuk keseluruhan sampel yang menunjukkan tidak adanya pita DNA target yang terbaca saat dibandingkan dengan pita DNA kontrol positif *M. bovis* dan *M. tuberculosis* pada setiap amplifikasi. Pengujian dengan hasil negatif ini sama dengan hasil penelitian Ereقات *et al.*, (2013) pada 30 sampel susu sapi di West Bank, Palestina yang menunjukkan hasil negatif pada uji PCR tanpa didahului dengan uji tuberkulin. Hasil yang berbeda didapatkan oleh Jayasumana *et al.* (2018) yang melakukan uji PCR untuk sampel susu dari 3 (tiga) peternakan besar di Sri Lanka dan didapatkan hasil negatif dari susu yang diambil dari sapi positif uji tuberkulin. Daulay (2015) juga melakukan pengujian pada 44 sampel susu sapi positif uji tuberkulin yang diperiksa dengan metode PCR dan hanya 9 sampel positif ditemukan *M. bovis*. Hasil ini kemungkinan didapat karena tidak semua sapi positif uji tuberkulin sudah mengalami infeksi sampai pada kelenjar susu. Bolaños *et al.*, (2017) dalam penelitiannya menyatakan, mikobakteri mencapai kelenjar susu melalui penyebaran sistemik kemungkinan setelah penyebaran infeksi primer melalui jalur pernapasan atau pencernaan. Terkadang infeksi dapat berasal dari lingkungan peternakan atau kontaminasi kanula yang digunakan dalam perawatan *intramammary*.

Hasil uji PCR pada 163 sampel susu juga tidak ditemukan bakteri *M. tuberculosis*. Penelitian di Indonesia oleh Daulay (2015) tidak ditemukan bakteri *M. tuberculosis* pada sampel susu. Basit *et al.*, (2018) melakukan uji pada 62 sampel susu sapi dan tidak ditemukan *M. tuberculosis*. Uji terhadap keberadaan *M. tuberculosis* dilakukan karena *M. tuberculosis* dan *M. bovis* adalah penyebab utama tuberkulosis yang sangat patogen, dapat menginfeksi banyak spesies hewan dan kemungkinan menjadi sumber infeksi tuberkulosis pada manusia (BhanuRekha *et al.*, 2015) dan juga ditemukan pada susu sapi. Meskipun *M. tuberculosis* menyebabkan penyakit yang tidak terlalu parah pada sapi dibandingkan penyakit yang disebabkan oleh *M. bovis* dan penemuan pada susu juga lebih sedikit, fakta bahwa *M. tuberculosis* dapat diisolasi dari sapi dan berpotensi untuk menular dari ternak ke manusia tidak dapat dihindarkan. Sebuah studi di India menunjukkan dari 768 sampel susu yang diuji, 40 dari isolat tersebut diidentifikasi sebagai *M. bovis* dan 14 sebagai *M. tuberculosis* (BhanuRekha *et al.*, 2015).

Penyakit bawaan makanan (*foodborne disease*) menjadi masalah kesehatan di seluruh dunia. Susu yang tidak dipasteurisasi dapat menjadi sarana penularan beberapa penyakit ke manusia. Pasteurisasi dilakukan untuk memastikan keamanan pangan dari cemaran mikroba, namun baru-baru ini pasteurisasi dianggap merusak manfaat gizi susu dan menyebabkan efek kesehatan yang merugikan. Persepsi ini dapat meningkatkan frekuensi gangguan kesehatan akibat mengonsumsi susu mentah (Bezerra *et al.*, 2015). *Bovine tuberculosis* adalah salah satu penyakit zoonotik yang dapat ditularkan melalui susu. *Bovine tuberculosis* juga dapat ditularkan melalui produk susu lain seperti keju dan yoghurt. Konsumsi susu dan produk turunannya yang terkontaminasi *M. bovis* merupakan jalur penularan utama tuberkulosis zoonosis pada manusia (Cezar *et al.*, 2016). Riwayat penularan *M. Bovis* dari hewan ke manusia dan kembali ke hewan (*reverse zoonosis*) pernah terjadi di mana tuberkulosis berkembang pada sapi setelah terpapar pasien yang terinfeksi *M. bovis*. Pasien tersebut dilaporkan telah terpapar dan terinfeksi selama masa kanak-kanak (BhanuRekha *et al.*, 2015).

Pengujian susu sapi perah di wilayah tengah dan timur pulau Jawa dilakukan sebagai upaya untuk deteksi dini penyakit *bovine tuberculosis*. Pengujian menggunakan metode PCR dipilih untuk menemukan metode yang paling cepat dan efektif dalam mendeteksi penyakit terutama penyakit bersumber pangan asal hewan. Meskipun tingkat konsumsi susu mentah pada peternak di wilayah tengah dan timur pulau Jawa masih rendah, namun ditemukan beberapa peternak yang mengonsumsi susu mentah. *World Health Organization* (WHO) menyatakan susu sapi dapat menjadi sumber dari sekitar 15 infeksi bakteri bawaan makanan. Hal ini menjadi faktor risiko penularan penyakit, tidak hanya penyakit *bovine tuberculosis* namun penyakit lainnya seperti brucellosis (Arenas *et al.*, 2017). Keberadaan bakteri patogen oportunistik dalam susu sapi muncul sebagai masalah kesehatan masyarakat, terutama di kalangan individu yang mengonsumsi susu mentah dan produk susu terkait (Franco *et al.*, 2013).

Prevalensi tuberkulosis manusia yang disebabkan oleh BTB tidak diketahui sedangkan prevalensi keberadaan *M. bovis* pada susu sebesar 5% (Collins *et al.*, 2022). Sebanyak 10 juta kasus TB aktif terjadi pada manusia secara global di tahun 2019 dengan 140.000 (kisaran 69.800–235.000) di antaranya diperkirakan sebagai kasus baru TB zoonosis (1,4%) dan sekitar 11.400 (8,1%, kisaran 4470–21.600) menyebabkan kematian (Kock *et al.*, 2021). Oleh karena itu, pemberantasan BTB penting dilakukan bagi manusia, ternak, dan populasi satwa liar di seluruh dunia. Penularan *M. bovis* pada manusia di Indonesia belum pernah dilaporkan, namun bukan berarti bahwa di negara ini tidak ada kasus tuberkulosis sapi yang menyerang manusia (Simarmata, 2014).

### Kesimpulan

Skrining dengan uji PCR terhadap 163 sampel susu dari peternakan sapi perah di wilayah tengah dan timur Pulau Jawa menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya kasus kejadian *bovine tuberculosis* di wilayah tengah dan timur Pulau Jawa. Susu yang dihasilkan oleh sapi perah yang dipelihara di wilayah ini tidak mengandung bakteri *M. bovis* dan *M. tuberculosis* sehingga aman dikonsumsi

dan tidak berpotensi untuk menularkan penyakit tuberkulosis pada masyarakat. Monitoring secara berkala dan berkelanjutan perlu dilakukan oleh pemerintah untuk menjaga keamanan dari susu sapi perah di wilayahnya.

### Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didukung oleh Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner dan Balai Besar Veteriner Wates. Peneliti berterimakasih kepada BBVET Wates serta dinas yang membidangi peternakan di Kabupaten Sleman, Kabupaten Boyolali, Kabupaten Malang dan Kota Batu.

### Daftar Pustaka

- Al-Thwani, A.N., Al-Saqur, I.M., and Al-Attar, I.M. (2015). Comparative study between routine and molecular diagnosis of *Mycobacterium* species isolated from humans and bovines. *International Journal of Mycobacteriology*. 4: 141–142.
- AL-Saqur, I. M., AL-Thwani, A. N., AL-Attar, I. M., and AL-Mashhadani, M. S. (2016). Evaluation the virulence of *Mycobacterium bovis* isolated from milk samples through histopathological study in laboratory animals. *International Journal of Mycobacteriology*. 5: S90–S91.
- Arenas, N.E., Abril, D.A., Valencia, P., Khandige, S., Soto, C.Y., and Moreno-Melo, V. (2017). Screening food-borne and zoonotic pathogens associated with livestock practices in the Sumapaz region, Cundinamarca, Colombia. *Tropical Animal Health and Production*. 49 (4): 739–745.
- Badan Pusat Statistik. (2022). Produksi susu segar menurut provinsi 2020-2022. Retrieved March 02, 2023, from <https://www.bps.go.id/indicator/24/493/1/produksi-susu-segar-menurut-provinsi.html>.
- Bakshi, C.S., Shah, D.H., Verma, R., Singh, R.K., Malik, M. 2005. Rapid differentiation of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium tuberculosis* based on a 12.7- kb fragment by a single tube multiplex-PCR. *Veterinary Microbiology*. 109:211–216.
- Basit, A., Hussain, M., Shahid, M., Ayaz, S., Rahim, K., Ahmad, I., Rehman, A.U., Hassan, M.F., and Ali, T. (2018). Occurrence and risk factors associated with *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* in milk samples from North East of Pakistan. *Pakistan Veterinary Journal*. 38 (2): 199–203.
- BhanuRekha, V., Gunaseelan, L., Pawar, G., Nassiri, R., and Bharathy, S. (2015). Molecular detection of *Mycobacterium tuberculosis* from bovine milk samples. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*. 2 (1): 80–83.
- Bezerra, A.V.A., Dos Reis, E.M., Rodrigues, R.O., Cenci, A., Cerva, C., and Mayer, F.Q. (2015). Detection of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* complexes by real-time PCR in bovine milk from Brazilian dairy farms. *Journal of Food Protection*. 78 (5): 1037–1042.
- Bolaños, C. A. D., de Paula, C.L., Guerra, S.T., Franco, M. M. J., Ribeiro, M. G. (2017). Diagnosis of mycobacteria in bovine milk: An overview. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 59:1–13.
- Center for Disease Control and Prevention. (2011). Bovine TB in Human Fact Sheet. Retrieved March 02, 2023, from <https://www.cdc.gov/tb/publications/factsheets/general/mbovis.htm>
- Cezar, R.D.S., Lucena-Silva, N., Borges, J.M., Santana V.L.A., and Pnheiro Junior, J.W. (2016). Detection of *Mycobacterium bovis* in artisanal cheese in the state of Pernambuco, Brazil. *International Journal of Mycobacteriology*. 5 (3): 269–272.
- Christi, F.R., Salman, L.B., and Sudrajat, A. (2022). Manajemen penerapan konsep biosecurity di peternakan sapi perah Kecamatan Sukalarang kabupaten sukabumi jawa barat. *Farmers: Journal of Community Services*. 03 (2): 19–23.
- Collins, B., Floyd, S., Gordon, S.V., and More, S.J. (2022). Prevalence of *Mycobacterium bovis* in milk on dairy cattle farms: An international systematic literature review

- and meta-analysis. *Tuberculosis*. 132: 102166.
- Daulay, M.U. (2015). Kajian Prevalensi Dan Faktor Risiko Penyakit Tuberculosis Pada Sapi Perah di Wilayah Bogor Serta Pengembangan Media Kultur Mycobacterium Bovis. *Dissertation*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ereqat, S., Nasereddin, A., Levine, H., Azmi, K., Al-Jawabreh, A., Greenblatt, C.L., Abdeen, Z., and Bar-Gal, G.K. (2013). First-time detection of Mycobacterium bovis in livestock tissues and milk in the West Bank, Palestinian Territories. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 7 (9).
- Franco, M.M.J., Paes, A.C., Ribeiro, M.G., de Figueiredo Pantoja, J.C.A., Santos C.B., Miyata, M., Leite, C.Q.F., Motta, R.G., and Listoni, F.J.P. (2013). Occurrence of mycobacteria in bovine milk samples from both individual and collective bulk tanks at farms and informal markets in the southeast region of Sao Paulo, Brazil. *BMC Veterinary Research*. 9.
- Jayasumana, M.T.L.K., Galappaththi, T.I., Pushpakumara, P.G.A., Gamage, C.D., Smith, N.H., and Jinadasa, H.R.N. (2018). Screening milk for bovine tuberculosis in dairy farms in Central Province, Sri Lanka. *Tropical Agriculture Research*. 30: 12–8.
- Kock, R., Michel, A.L., Yeboah-Manu, D., Azhar, E. I., Torrelles, J. B., Cadmus, S. I., Brunton, L., Chakaya, J. M., Marais, B., Mboera, L., Rahim, Z., Haider, N., and Zumla, A. (2021). Zoonotic tuberculosis – the changing landscape. *International Journal of Infectious Diseases*. 113: S68–S72.
- Lan, Z., Bastos, M., and Menzies, D. (2016). Treatment of human disease due to Mycobacterium bovis: A systematic review. *European Respiratory Journal*. 48(5): 1500–1503.
- Michel, A.L., Müller, B., and van Helden, P.D. (2010). Mycobacterium bovis at the animal–human interface: A problem, or not. *Veterinary Microbiology*. 140:371–381.
- Nahar, Q., Pervin, M., Islam, M., and Khan, M. (2011). Application of PCR for the detection of bovine tuberculosis in cattle. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*. 9: 73-78.
- Office International des Epizooties. (2020). Bovine Tuberculosis. OIE Terrestrial Manual. Retrieved January 22, 2023, from <https://rr-asia.oie.int/en/projects/bovine-tuberculosis/>.
- Ramos D.F., Tavares L, da Silva P.E., Dellagostin O.A. (2014). Molecular typing of Mycobacterium bovis isolates: a review. *Brazilian Journal of Microbiology*. 45(3):65–72.
- Simarmata, Y. T. (2014). Identifikasi isolat Mycobacterium bovis dengan konsentrasi DNA bertingkat menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Kajian Veteriner*. 2(2): 167–173.
- World Health Organization. (2020). World Health Organisation. Global tuberculosis report 2020. Retrieved January 28, 2023, from <https://www.who.int/publications/item/9789240013131>.