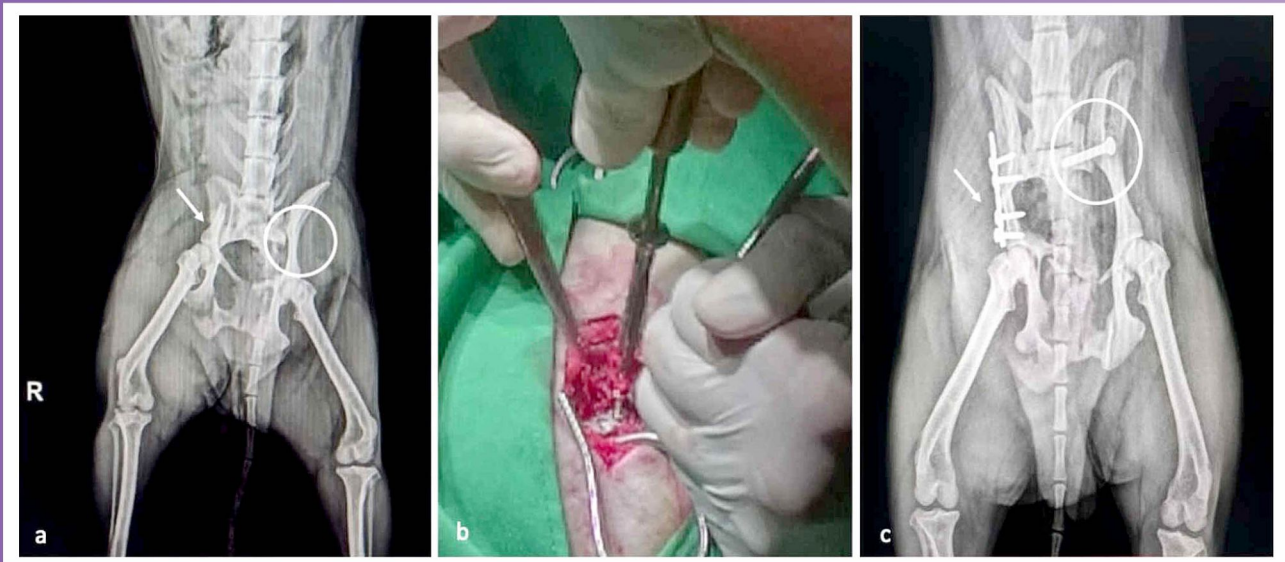


Jurnal Sain Veteriner



Terakreditasi Peringkat 2 oleh Kementerian Riset dan Teknologi/
Kepala Badan Riset Inovasi Nasional SK No. 85/M/KPT, tanggal 1 April 2020



FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN, UNIVERSITAS GADJAH MADA
BEKERJA SAMA DENGAN PERHIMPUNAN DOKTER HEWAN INDONESIA



JURNAL SAIN VETERINER

Ketua Dewan Penyunting

Agustina Dwi Wijayanti

Penyunting Pelaksana

Khrisdiana Putri

Yuli Purwandari Kristianingrum

Claude Mona Airin

Hevi Wihadmadyatami

Erif Maha Nugraha Setyawan

Konsultan Penyunting

Sentot Santoso (Justus-Liebig-University, Giessen, Jerman)

Hans-Dieter Gersner (Jerman)

Stepan Immenschuh (Leibniz University Hannover, Jerman)

Pelaksana Teknik

Endah Choiriyah

Surohmiatun

Mitra Bebestari

A.A.A.Mirah Adi(Universitas Udayana)

Andriyanto(Institut Pertanian Bogor)

Annytha I.R. Detha(Universitas Nusa Cendana Kupang)

Bambang Sektiari (Universitas Airlangga)

Budi Purwo Widiarso (Politeknik Pembangunan Pertanian Yogyakarta Magelang)

Desy Cahya Widianingrum(Universitas Jember)

Eko Sugeng Pribadi (Institut Pertanian Bogor)

Ida Ayu Pasti Apsari(Universitas Udayana)

Ida Bagus Komang Ardana(Universitas Udayana)

Ira Sari Yudaniayanti(Universitas Airlangga)

Iwan Sahrial Hamid (Universitas Airlangga)

Joko Daryatmo(Politeknik Pembangunan Pertanian Yogyakarta Magelang)

Min Rahminiwati (Institut Pertanian Bogor)

Miyayu Soneta Sofyan(Universitas Airlangga)

Ni Wayan Kurniani Karja (Institut Pertanian Bogor)

Okti Nadia Poetri(Institut Pertanian Bogor)

Sarasati Windria(Universitas Padjadjaran)

Tjokorda Gde Oka Pemayun (Universitas Udayana)

Wida Wahidah Mubarakah(Politeknik Pembangunan Pertanian Yogyakarta Magelang)

Wiwin Winarsih (Institut Pertanian Bogor)

Yulia Sistina (Universitas Jenderal Soedirman)

JSV terindeks oleh :



Dicetak oleh: Seri Offset

Kalangan Jl. Wonosari Km 6,5 Telp. 0895 1722 0848

email : syarif.sdms@gmail.com

PENGANTAR REDAKSI

Para pembaca JSV yang budiman dimanapun berada,

Assalamualaikum wr.wb.,

Salam sejahtera dan salam sehat. Puji syukur kita panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa atas segala nikmat dan karuniaNya sehingga JSV Volume 40, No. 3, Desember 2022 dapat terbit. Edisi ini menerbitkan 13 artikel di bidang veteriner. Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada para mitra, penulis dan reviewer atas kontribusi yang luar biasa dalam mendukung JSV.

Dengan tangan terbuka kami mengundang bapak/ibu/saudara penulis dan kontributor artikel ilmiah untuk mengirimkan manuskrip atau draft artikel ilmiah untuk dipublikasikan di JSV pada edisi yang akan datang. Proses submisi artikel dilakukan secara online melalui Open Journal System (OJS) pada web JSV. Pada situs tersebut, sudah tersedia *template* untuk artikel ilmiah yang akan disubmisikan, sehingga mempermudah proses, fleksibel dan dapat menyeragamkan format penulisan artikel ilmiah pada JSV. Kami juga mengharapkan kritik, saran dan masukan yang bersifat membangun untuk perbaikan pada masa mendatang. Semoga JSV semakin berkembang dalam mempublikasikan artikel-artikel ilmiah yang berkualitas di bidang veteriner.

Terimakasih atas perhatian dan kerjasamanya.

Wassalamualaikum wr. wb.

Ketua Dewan Penyunting JSV

Agustina Dwi Wijayanti

DAFTAR ISI

Efek Ekstrak Etanol Krokot (<i>Portulaca oleracea</i> L.) pada GDP dan α-Amylase Tikus (<i>Rattus novvergicus</i> L.) Hiperglikemik yang Diinduksi Aloksan <i>Anastasia Sylvianka Dwi Jayanti, Agung Janika Sitasawi, Sri Isdadiyanto</i>	237-243
Efek pemberian maserasi taoge (<i>Vigna radiata</i>) terhadap profil hematologi dan biokimia darah tikus betina <i>Andriyanto, Leliana Nugrahaning Widi, Rindy Fazni Nengsih, Hamdika Yendri Putra, Mawar Subangkit, Elpita Tarigan, Yusa Irirang, Aulia Andri Mustika, Lina Noviyanti Sutardi, Wasmen Manalu</i>	244-250
Fiksasi Sacroiliac Fraktur-Dislokasi menggunakan bone plate 2.0 dengan screw 2.0 mm cortical self-tapping dan 2.7 mm cortical non self-tapping <i>Erwin, Rusli, Amiruddin, Teuku Fadrial Karmil, Muhammad Fauzih Asjikin, Afif Yuda Kusuma</i>	251-255
Studi <i>In Vitro</i> Kombinasi Temulawak, Madu, dan Probiotik sebagai Kandidat <i>Growth Promoter</i> <i>Marlin Cindy Claudya Malelak, Agnesia Endang Tri Hastuti Wahyuni, Agustina Dwi Wijayanti Vinsa Cantya Prakasita</i>	256-267
Kajian Keragaman Genetik <i>Catfish</i> Asli Indonesia Berdasar Sekuen Nukleotida Gen ND1 <i>Rini Widayanti, Siti Qiorotun Naimah, Rahma Prihutami, Trini Susmiati</i>	268-275
Potensi Anestetika Ket-A-Xyl® pada Kucing Jantan Domestik di Yogyakarta Indonesia <i>Maria Angelica Maryatmo, Antasiswa Windraningtyas Rosetyadewi, Aria Ika Septana, Agustina Dwi Wijayanti</i>	276-283
Pendeteksian Secara Otomatis Telur Cacing <i>Haemonchus contortus</i> Menggunakan Algoritma YOLOv3 <i>Ridi Arif, Elok Budi Retnani, Fadjar Satrija, Rizky Diyu Purnama</i>	284-289
Diagnosis dan Pengobatan Babesiosis pada Anjing Shih-Tzu di Klinik Lilipoet, Yogyakarta, Indonesia <i>Nabilah Putroe Agung, Dwi Priyowidodo, Ida Tjahajati, Lily Gunawan</i>	290-297
Kontaminasi <i>Escherichia coli</i> O157:H7 Pada Daging Ayam di Pasar Tradisional Kota Pangkalpinang <i>Ahmad Nurhakim, Denny Widaya Lukman, Herwin Pisestyani</i>	298-306
Pengaruh Pemberian <i>Gonadotropin Releasing Hormone</i> (GnRH) terhadap Peningkatan Kualitas Spermatozoa Sapi Bali <i>Amalia Sutriana, Tongku Nizwan Siregar, Feby Claudia Sirait Juli Melia, Hafizuddin</i>	307-313
Isolasi <i>Salmonella</i> sp. dan Prevalensinya pada Tembolok (<i>Ingluviens</i>) Ayam Buras dan Ayam Ras di Pasar Ayam Penunayong Kota Banda Aceh <i>Sri Wahyuni, Erina, M. Daud AK, Fakhurrrazi, M. Jalaluddin, Teuku Zahrial Helmi</i>	314-322
Kadar Hormon Prolaktin Pada Kambing Peranakan Ettawa, Saper dan Saanen Pada Berbagai Status Fisiologi <i>Sarmin, Irkham Widiyono, Devita Anggraeni, Claude Mona Airin¹, Pudji Astuti</i>	323-328
Aktivitas Ekstrak Rimpang Kunyit (<i>Curcuma longa</i> L) pada Mencit Parkinson yang Diinduksi Haloperidol <i>Sapto Yulian, Moch. Saiful Bachri, Wahyu Widyaningsih Vivi Sofia, Dandy Annas Muttaqien Galuh Rista Putri, Nadia Selvia, Sofina Rahmadita, Intan Dwi Rahmita</i>	329-336
Tepung Bekicot (<i>Achatina Fulica</i>) sebagai Pakan Tambahan untuk Meningkatkan <i>Jayanti Berliana Dewi, Delvi Ramadayani, Marchellia Dhiafifah Wahyunandha, Melati Kusuma Bunda Pratiwi, Sri Gustari, Topas Wicaksono Priyo Jr.</i>	337-342
INDEKS PENULIS	343-346
INDEKS SUBYEK	347-351

Gambar Depan :

- (a) foto radiografi sacroiliac fraktur-dislokasi, fraktur tulang pelvis (tanda panah) dan dislokasi sacroiliac (lingkaran putih);
- (b) tindakan bedah pemasangan screw;
- (c) foto radiografi sacroiliac fraktur-dislokasi pasca bedah, pemasangan bone plate 2.0 veterinary cuttable plate (VCP) dengan screw 2.0 mm cortical self-tapping untuk fraktur pelvis (tanda panah) dan 2.7 mm cortical non self-tapping untuk dislokasi sacroiliac (lingkarang putih).

Efek Ekstrak Etanol Krokot (*Portulaca oleracea* L.) pada GDP dan α -Amylase Tikus (*Rattus novergicus* L.) Hiperglikemik yang Diinduksi Aloksan

Effect of Purslane (Portulaca oleracea L.) Ethanol Extract in Alloxan-induced Hyperglycemic Rats (Rattus novergicus L.) Blood Glucose Levels and α -Amylase

Anastasia Sylvianka Dwi Jayanti, Agung Janika Sitasiwi*, Sri Isdadiyanto

Laboratorium Biologi dan Struktur Hewan, Departemen Biologi
Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto, SH., Tembalang, Semarang, Jawa Tengah, 50275,
*Corresponding author: agssiwi@yahoo.co.id

Diterima: 7 Desember 2020, direvisi: 9 September 2022, disetujui: 7 November 2022

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a chronic condition which caused by insulin secretion disorder, insulin resistance or both. High number of diabetics per year has led many researchers to conduct research to find the most safe and effective medicine for DM treatment. Flavonoid are known to act as inhibitors of α -amylase as a parameter of pancreatic damage and help lower blood glucose levels. One source of flavonoids is purslane. The aim of this study was to examine the effect of purslane ethanol extract on glucose and α -amylase levels in rat. Twenty rats *Rattus novergicus* L. strain Wistar are divided into 5 groups; control, positive control, and three test groups, each was given purslane ethanol extract of 100 mg/kg BW, 200 mg/kg BW, and 300 mg/kg BW. Blood glucose and body weight were measured before alloxan induction, after induction, as well as day-7, 14, 21, and 28; while feed and drink consumption were measured everyday starting with the administration of purslane ethanol extract. Blood glucose were tested using strip glucometer method. The α -amylase test was carried out on the 28th day using enzymatic UV determination of degradation product of maltose and glucose method. The analysis result showed that rats blood glucose and α -amylase decreased in each group with purslane extract. The antioxidant content of flavonoids in purslane ethanol extract has been shown to have anti-diabetic effects by repairing pancreatic function.

Key words: Alloxan; anti-diabetes; Ethanol extract; flavonoid; *Portulaca oleracea* L.

Abstrak

Diabetes Mellitus (DM) merupakan kondisi kronis yang disebabkan oleh gangguan sekresi insulin, resistensi insulin atau keduanya. Tingginya penderita diabetes, mendorong peneliti melakukan penelitian untuk menemukan obat yang aman dan efektif untuk pengobatan DM. Flavonoid diketahui mampu menjadi inhibitor enzim digesti α -amylase sebagai parameter kerusakan pankreas dan membantu menurunkan kadar gula darah. Salah satu sumber flavonoid yang dapat dimanfaatkan adalah krokot. Penelitian ini bertujuan menguji efek ekstrak etanol krokot terhadap kadar glukosa dan α -amylase pada darah tikus. Dua puluh tikus *Rattus novergicus* strain Wistar dikelompokkan ke dalam 5 kelompok yaitu kontrol, kontrol positif, dan tiga kelompok uji diberi ekstrak etanol krokot sebanyak 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB. Glukosa darah dan berat badan diukur pra induksi, post induksi, serta hari ke-7, 14, 21, dan 28; konsumsi pakan dan minum diukur setiap hari bersamaan dengan pemberian ekstrak etanol krokot. Glukosa darah diukur menggunakan metode *strip glucometer*. α -amylase diuji pada hari ke-28 dengan metode enzimatik determinasi UV produk degradasi maltosa dan glukosa. Hasil analisis menunjukkan kadar gula darah tikus dan α -amylase mengalami penurunan pada kelompok perlakuan ekstrak krokot. Kandungan antioksidan flavonoid pada ekstrak etanol krokot terbukti memiliki efek anti-diabetik dengan cara memperbaiki fungsi pankreas.

Kata kunci: Aloksan; anti-diabetes; Ekstrak etanol; flavonoid; *Portulaca oleracea* L.

Pendahuluan

Diabetes atau lebih tepat disebut Diabetes Mellitus merupakan suatu kondisi kronis dimana terjadi peningkatan glukosa dalam darah atau disebut hiperglikemia. Ozougwu *et al.* (2013), menyatakan bahwa diabetes merupakan kelainan metabolik yang dihasilkan dari gangguan sekresi insulin, resistensi insulin atau keduanya. Gangguan tersebut terjadi karena pankreas tidak dapat menghasilkan insulin secara cukup untuk mengatur keseimbangan kadar glukosa dalam darah. Resistensi insulin dapat disebabkan oleh beberapa hal tergantung dari jenis atau tipe diabetes yang dialami. Berdasarkan pernyataan Ozougwu *et al.* (2013), resistensi insulin dapat disebabkan oleh obesitas, diabetes gestasional, *polycystic ovary disease* (PCOS), autoimun, mutasi reseptor insulin. Diabetes mellitus merupakan epidemik terbesar. Epidemik diabetes di Indonesia masih mengalami peningkatan. Berdasarkan data International Diabetes Federation (2017), tercatat Indonesia menduduki peringkat ke-6 di dunia setelah Cina, Amerika Serikat, India, Brazil dan Meksiko. Diabetes menjadi penyakit mematikan ketiga di Indonesia berdasarkan peningkatan penderita dari 6,9% pada tahun 2013 menjadi 8,5% atau sekitar 16 juta jiwa di tahun 2018 (Kemenkes, 2014).

Obat-obatan yang umum diberikan kepada penderita diabetes adalah metformin, glibenklamid, glimepirid, dan sulfonilurea. Berdasarkan Badan POM (2014), penggunaan obat-obatan diabetes oral dalam jangka panjang dapat menyebabkan gangguan kronis seperti gagal ginjal dan gangguan fungsi hati, sedangkan untuk gangguan akut meliputi gangguan gastrointestinal seperti muntah, mual, diare dan konstipasi.

Salah satu senyawa alternatif yang berperan sebagai agen antidiabetik adalah senyawa flavonoid. Flavonoid banyak ditemukan dalam buah-buahan dan sayur-sayuran berwarna cerah. Studi menyatakan bahwa flavonoid bekerja dengan mengganggu digesti glukosa kompleks dan absorpsi gula ke dalam tubuh (Hussain dan Marouf, 2013). Tumbuhan yang dapat dijadikan sumber flavonoid adalah krokot (*Portulaca oleracea* L.). Antioksidan yang terkandung di dalam krokot yaitu flavonoid, senyawa ini

dipercaya dapat digunakan sebagai anti diabetes. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Russo *et al.* (2019), flavonoid bekerja dengan cara menghambat protein tirosin phosphatase (PTP1B) dan translokasi glukosa transporter 4 (GLUT4) pada otot skeletal serta meningkatkan ekspresi reseptor substrat insulin 1 (IRS-1) yang menyebabkan sekresi insulin meningkat. Selain itu, flavonoid juga diketahui dapat menjadi inhibitor enzim α -amylase. Mahmood (2014) menyatakan, turunan polifenol meliputi quercetin, fisetin, dan quercetin yang tergabung dalam keluarga flavonoid efektif menghambat α -amylase mamalia normal maupun diabetes.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek ekstrak etanol krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap kadar glukosa dan α -amylase dalam darah tikus (*Rattus norvegicus* L.) hiperglikemik yang diinduksi aloksan. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat ekstrak etanol krokot pada kasus hiperglikemia dan diabetes.

Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol krokot (*Portulaca oleracea* L.), glibenklamid 5mg (©Indofarma) dan aloksan monohidrat (*Sigma Aldrich*®) serta hewan coba tikus (*Rattus norvegicus* L.) strain Wistar jantan berusia 2-3 bulan didapatkan dari peternakan tikus Starbio, Dusun Jaddan, Kecamatan Kasihan Bantul, Yogyakarta. Penelitian ini dilaksanakan dibawah izin dan pedoman Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro nomor: 105/EC/H/FK-UNDIP/X/2020.

Persiapan Kandang, Hewan Uji dan Aklimatisasi

Kandang yang digunakan merupakan kandang individu yang terbuat dari kotak plastik dan penutup kawat berjaring dengan alas *bedding* berupa sekam padi kering. Hewan uji yang dipergunakan dalam penelitian ini yaitu tikus (*Rattus norvegicus* L.) strain Wistar jantan berusia 2-3 bulan dari peternakan tikus Starbio, Dusun Jaddan, Kecamatan Kasihan Bantul, Yogyakarta. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dan diaklimatisasi selama kurang lebih 2 minggu.

Persiapan Ekstrak Etanol Krokot (*Portulaca oleracea* L.)

Tumbuhan krokot segar dikumpulkan dari Kopeng, Salatiga, Kabupaten Semarang. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro. Daun dikeringkan dengan oven 60°C selama \pm 3 jam, lalu daun dihaluskan dengan mortar dan pestel. Tahap selanjutnya, bubuk krokot di ekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% (Sudaryati *et al.*, 2017). Larutan hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring kemudian diuapkan hingga terbentuk ekstrak kental.

Pemberian Perlakuan

Pemberian perlakuan dilakukan selama 28 hari. Pemberian aloksan dilakukan setelah tikus berpuasa selama 10 jam dengan dosis sebanyak 150 mg/kg BB. Hal tersebut ditujukan supaya terjadi hiperglikemia yang mana sesuai dengan pernyataan Mourya *et al.* (2016). Satu jam setelah induksi aloksan tikus diberi pakan dan minum standar seperti awal aklimatisasi.

Tikus kembali dipuasakan 24 jam pasca pemberian aloksan. Tikus dipuasakan selama 12 jam lalu dilakukan pengambilan darah untuk dilakukan pemeriksaan dalam darah tikus. Apabila kadar glukosa dalam darah diatas 200 mg/dl maka tikus dinyatakan mengalami hiperglikemia. Tikus normal memiliki kadar glukosa sekitar 50-100 mg/dl pada kondisi puasa, sedangkan tikus asumsi hiperglikemia memiliki kadar glukosa darah mencapai 150-300 mg/dl sesuai pernyataan King (2012). Perlakuan selanjutnya setelah diinjeksi aloksan di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, masing-masing tikus pada P1 diberi Glibenklamid dengan dosis 0,45 mg/kg BB sekali sehari selama 28 hari. Lama penggunaan glibenklamid diberikan dengan dosis 5 mg per hari sesuai pedoman Badan POM (2014). Kelompok P2, P3 dan P4 berturut-turut diberi ekstrak etanol krokot dengan dosis masing-masing 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, dan 300 mg/kg BB selama 28 hari.

Samplng Darah dan Uji glukosa

Samplng darah dilakukan sebelum induksi aloksan, 36 jam pasca induksi aloksan, hari ke-7, hari ke-14, hari ke-21 dan hari ke-28. Pengambilan sampel darah berjarak 7 hari dilakukan dengan tujuan agar luka pada ekor tikus diharapkan sudah mengering. Sampel darah masing-masing perlakuan (Kontrol, P1, P2, P3 dan P4) diambil melalui vena lateralis lalu di uji dengan *glucometer* (Glucodr™) untuk mengetahui kadar glukosa darah pada tikus. Masing-masing mencit diambil 3 ekor dari setiap kelompok untuk mewakili setiap kelompok perlakuan.

Uji Kadar α -Amylase

Samplng darah akhir melalui jantung dilakukan pada hari ke-28 dengan prosedur pembedahan. Tikus dibius menggunakan kloroform hingga pingsan lalu proses pembedahan dilakukan. Darah diambil dari jantung tikus menggunakan *syringe* dan dimasukkan ke dalam tabung EDTA. Sampel tersebut dianalisis dengan uji α -*amylase* dilakukan di laboratorium klinik IBL Semarang dengan metode enzimatik menggunakan determinasi uv produk degradasi maltosa dan glukosa. Harley *et al.* (2020) menyatakan, uji α -*amylase* dilakukan dengan melarutkan bubuk 250 α -*amylase* dengan 500 ml 0,02 M bufer fosfat (pH 6.9) untuk digunakan sebagai kontrol uji. Larutan pati dimasukkan ke dalam sampel uji dan diinkubasi selama 10 menit 25°C. Tahap selanjutnya yaitu larutan enzim dimasukkan pada setiap sampel uji dan diinkubasi kembali selama 10 menit 25°C. 1.0 ml asam dinitrosalisilik (DNS) sebagai *colour reagent* dimasukkan pada masing-masing sampel dan perubahan warna pada larutan sampel diuji dengan spektrofotometer 540 nm. Masing-masing tikus diambil 3 ekor dari setiap kelompok untuk mewakili setiap kelompok perlakuan.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *One-way Anova*, lalu dilanjutkan *Post Hoc* dengan uji Duncan. Semua perhitungan analisis statistik dilakukan dengan bantuan *Software personal komputer Statistical Product and Service Solution (SPSS)* versi 22.0.

Hasil dan Pembahasan

Hasil rerata per minggu kadar glukosa darah puasa (GDP) tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) strain Wistar hiperglikemik yang diinduksi aloksan setelah pemberian ekstrak etanol krokot disajikan dalam Tabel 1.

Kadar Glukosa Darah

Data hasil penelitian menunjukkan, penurunan kadar glukosa darah puasa (GDP) terlihat pada kelompok kontrol positif (P1) sampai kelompok uji dosis 3 (P4), sedangkan kelompok kontrol normal (K0) mengalami peningkatan. Berdasarkan data hasil uji *Anova* di atas diketahui bahwa kelompok uji dosis 2 (P3) mengalami penurunan terbesar yaitu 196 mg/dl diikuti dengan kelompok uji dosis 3 (P4) dengan selisih 184.67 mg/dl.

Berdasarkan data 4 minggu sebagaimana dijelaskan pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa ekstrak krokot yang cukup konsisten dalam menurunkan kadar gula darah ada pada kelompok P3 dan P4. Penurunan kadar GDP diduga dipengaruhi oleh kandungan flavonoid quercetin dan rutin pada ekstrak etanol krokot yang dapat menjadi agen dalam menurunkan kadar GDP pada tikus uji. Flavonoid khususnya quercetin dapat berperan sebagai aktivator jalur *phosphoinositide* 3-kinase (PI3K). Berdasarkan pernyataan Russo *et al.* (2019), quercetin yang termasuk dalam kelas flavonol diketahui dapat meningkatkan sensitivitas insulin dengan mengembalikan ikatan antara reseptor insulin (IR) dengan substrat reseptor insulin (IRS1).

Ikatan antara IR dengan IRS menyebabkan jalur PI3K menjadi aktif sehingga hal tersebut menyebabkan translokasi GLUT 4 menjadi normal kembali dan membuat glukosa dalam darah menjadi stabil.

Mekanisme penurunan GDP terjadi karena flavonoid membantu memperbaiki struktur pankreas yang rusak akibat dari senyawa diabetogenik aloksan. Aloksan merupakan senyawa bersifat toksik yang dapat menyebabkan diabetes tipe 1. Menurut pernyataan Lenzen (2008), aloksan secara selektif dapat menghambat sekresi insulin dengan mempengaruhi sensor glukosa pada sel beta langerhans. Aloksan juga mempunyai kemampuan untuk membentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menghasilkan nekrosis selektif pada sel pankreas. Flavonoid melindungi sel pankreas dari nekrosis akibat ROS dengan mengurangi stres oksidatif. Studi oleh Russo *et al.* (2019) menyatakan bahwa quercetin, epicachetin, dan narigenin menurunkan tingkat ROS dan lemak peroksidan pada sel beta pankreas serta melindungi dari apoptosis sel. Menurut Bao *et al.* (2017), flavonoid melindungi sel dari apoptosis dengan meningkatkan kerja enzim tubuh yaitu superoksida dismutase (SOD) dan katalase (CAT) guna mengurangi stress oksidatif sehingga sel terhindar dari kerusakan.

Parameter lain yang diamati dalam penelitian ini adalah enzim α -amylase. Berdasarkan data hasil penelitian, data uji rerata enzim α -amylase disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Rerata Mingguan Kadar Glukosa Darah Tikus Uji

Variabel	Perlakuan	Lama Perlakuan					Selisih penurunan (mg/dl)
		Post Induksi	Minggu 1	Minggu2	Minggu 3	Minggu 4	
Gula Darah Puasa (mg/dl)	K0	112.67 ^a ±6.43	101.00 ^a ±11.27	110.33 ^a ±29.31	108.00 ^a ±9.17	116.00 ^a ±5.29	+3.33
	P1	248.33 ^a ±75.22	197.33 ^a ±122.66	87.00 ^a ±17.62	119.33 ^a ±10.07	150.67 ^{ab} ±32.32	97.66
	P2	275.67 ^a ±57.74	206.00 ^a ±180.71	264.67 ^{ab} ±251.02	248.00 ^a ±135.82	151.67 ^{ab} ±105.84	124
	P3	498.00 ^b ±163.85	252.00 ^a ±35.59	396.67 ^b ±42.44	462.00 ^b ±81.54	302.67 ^b ±155.77	196
	P4	495.00 ^b ±71.14	444.67 ^b ±50.50	349.00 ^b ±95.92	274.33 ^a ±159.40	310.33 ^b ±82.40	184.67

Keterangan: Tanda (+) menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah

Tabel 2. Rerata Hasil Uji Enzim α -amylase

Variabel	Perlakuan				
	Kontrol	P1	P2	P3	P4
α -Amylase	3016.0 ^b ± 136.9	3089.0 ^b ± 1042.9	1504.7 ^a ± 467.3	1521.7 ^a ± 537.1	1413.7 ^a ± 273.5

Keterangan: Superskrip huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$) antara kelompok perlakuan berdasarkan ANOVA dengan menggunakan uji Duncan sebagai uji beda.

Kadar Enzim α -Amylase

Data hasil penelitian menunjukkan nilai α -amylase terendah dimiliki oleh kelompok uji dosis 3 (P4) dan diikuti kelompok uji dosis 1 (P2). Nilai α -amylase tertinggi dimiliki oleh kontrol positif (P1). Analisis variansi (ANOVA) disajikan pada Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan signifikan ($P < 0,05$) terhadap kadar enzim α -amylase tikus putih hiperglikemik.

Penurunan *alpha amylase* penting untuk diamati karena enzim ini merupakan variabel yang digunakan untuk menentukan derajat kerusakan pankreas pada penderita pankreatitis akut. Menurut pernyataan Kaphalia (2014), α -amylase merupakan suatu enzim yang banyak digunakan untuk mengidentifikasi kerusakan yang terjadi pada pankreas khususnya pankreatitis akut dan trauma pada pankreas. Level α -amylase dapat dijadikan standar untuk mengetahui derajat kerusakan organ pankreas dilihat dari peningkatan jumlah serum α -amylase dalam darah, urin maupun saliva.

Berdasarkan data penelitian terlihat kadar α -amylase pada kelompok kontrol normal dan kontrol positif lebih tinggi dibandingkan perlakuan dengan ekstrak etanol krokot. Hal tersebut diduga senyawa obat glibenklamid dapat menurunkan GDP namun belum bisa memperbaiki kerusakan yang diakibatkan oleh agen diabetogenik aloksan, sedangkan pada kontrol normal mengalami peningkatan walaupun tanpa perlakuan diduga merupakan akibat dari kematian sel alami yang terjadi pada setiap sel di dalam tubuh khususnya sel pankreas sehingga enzim α -amylase selalu ada di dalam darah. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Schlesinger (2013), bahwa setiap sel mengalami kematian sel terprogram yang disebut sebagai apoptosis. Keadaan ini merupakan suatu mekanisme kematian sel yang dapat dipicu oleh faktor eksternal dan internal. Oleh karena itu, pada tikus normal serum

α -amylase meningkat sebagai akibat dari apoptosis pada sel pankreas secara alami. Menurut Kaphalia (2016), Kerusakan organ pankreas dikarenakan faktor eksternal maupun internal dapat berakibat pada peningkatan atau penurunan enzim α -amylase dikarenakan enzim tersebut merupakan parameter untuk pankreatitis akut. Berbeda dengan kedua kelompok sebelumnya, pada kelompok P2, P3, dan P4 terlihat penurunan kadar α -amylase yang diasumsikan sebagai akibat dari aktivitas flavonoid yang bekerja melindungi sel dari apoptosis. Hal tersebut dapat membantu dalam penekanan ROS dan membuat sel pankreas mampu menghasilkan insulin kembali. Hussain dan Marouf (2013) menyatakan, flavonoid khususnya quercetin dilaporkan mempunyai aktivitas antidiabetes yang dapat meningkatkan regenerasi sel pankreas dan kemungkinan meningkatkan produksi insulin pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin.

Kesimpulan

Ekstrak etanol krokot (*Portulaca oleracea* L.) menunjukkan efek penurunan kadar GDP dan kadar enzim α -amylase dalam darah tikus uji. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan antioksidan flavonoid pada ekstrak etanol krokot terbukti memiliki efek anti hiperglikemik dengan cara memperbaiki fungsi pankreas.

Daftar Pustaka

- Akash, M.S.H., Rehman, K., dan Chen, S. (2013). Role of inflammatory mechanisms in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J. Cell. Biochem.* 114, 525– 531.
- Bai, Yu., Zang, Zueli., Ma, Jinshu., dan Xu, Guangyu. (2016). Anti-Diabetic Effect of *Portulaca oleracea* L. Polysaccharide and its Mechanism in Diabetic Rats. *International Journal of Molecular Sciences.* 1201.
- Bao, Dengke., Wang, Jinkai., Pang, Xiaobin., and Liu, Hongliang. (2017). Protective

- Effect of Quercetin againsts Oxidative Stress-Induced Cytotoxicity in Rat Pheochromocytoma (PC-12) Cells. *Molecules*. Vol. 22: 1122.
- Forbes, Josephine M and Cooper, Mark E. (2013). Mechanism of Diabetic Complications. *Physiology review*. 93: 137-188.
- Harley, Benamin Kingsley., Dickson, Rita Akousua., Amponsah, Isaac Kingsley., Ben, Inemesit Okon., Adongo, Donatus Wewura., Fleischer, Theophilus Christian., and Habtemariam, Solomon. 2020. Flavonols and Triterpenoid from *Myrianthus arboreus* Ameliorate Hyperglycemia in Streptozotocin-induced Diabetic Rats Possibly Via Glucose Uptake Enhancement and α -Amylase Inhibition. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 132(2020): 110847
- Hill, Richard W., Wyse, Gordon A., dan Anderson, Margaret. (2012). *Animal Physiology Third Edition*. Sinauer Associates Inc, Massachusetts.
- Hussain, Saad Abdulrahman dan Marouf, Bushra Hasan. (2013). Flavonoids as Alternatives in Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Academia Journal of Medicinal Plant*. 1(2): 031-036.
- Kaku, K. (2010). Pathophysiology of Type 2 Diabetes and its Treatment Policy. *JMAJ*. 53(1): 41-46.
- Kaphalia, B S. (2014). Biomarkers Acute and Chronic Pancreatitis. *Biomarkers in Toxicology*, 279-289.
- King, Aileen JF. (2012). The Use of Animal Models in Diabetes Research. *British Journal of Pharmacology*. 166: 877-894.
- Macdonald I, Osasenaga., Mohammed A, Abiola., Adeboye A, Oluseyi. (2017). Alloxan-induced Diabetes, a Common Model for Evaluating the Glycemic-control Potential of Therapeutic Compounds and Plants Extracts in Experimental Studies. *Medicina*. 53: 365-374.
- Mahmood, N.A. (2014). A Review of α -Amylase Inhibitors on Weight Loss and Glycemic Control in Pathological State such as Obesity and Diabetes. *Comp Clin Pathol*. Page: 1-12.
- Nari, Anroop B dan Jacob, Shery. (2016). A Simple Practice Guide for Dose Conversion Between Animals and Human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. 7: 27-31.
- Ozougwu, JC., Obimba, KC., Belonwu, CD., dan Unakalamba, CB. (2013). The Pathogenesis and Pathophysiology of Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus. *Academic journal: Journal of Physiology and Pathophysiology*. Vol. 4(4): 46-57.
- Raju, SM., Raju, B. (2010). *Illustrated Medical Biochemistry 2nd Edition*. Jaypee Brothers Medical Publisher. New Delhi, India.
- Russo, Benedetta., Picconi, Fabiana., Malandrucchio, Ilaria., dan Frontoni, Simona. (2019). Flavonoids and Insulin-Resistance: From Molecular Evidences to Clinical Trials. *International Journal of Molecular Sciences*. 2061.
- Seino, Yutaka., Nanjo, Kishio., Tajima, Naoko., Kadowaki, Takashi., Kashiwagi, Atsunori., Araki, Eiichi., Ito, Chikako., Inagaki, Nobuya., Iwamoto, Yasuhiko., Kasuga, Masato., Hanafusa, Toshiaki., Haneda, Masakazu., dan Ueki, Kohjiro. (2010). Report of the Committee on the Classification and Diagnostic Criteria of Diabetes Mellitus. *Diabetol Intl*. 1: 2-20.
- Sudaryati., dan Nusandari, Rahma. (2017). Karakteristik Fitokimia dan Aktivitas Antimikroba Krokot (*Portulaca oleracea* L.). *Prosiding Seminar Nasional FKPT-TPI, Kendari*.
- Sundarram, Ajita., Khrisna Murthy, Thiupathihalli Pandurangappa. (2013). Alpha-Amylase Production and Application: A Review. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*. 2(4), pp 166-175.
- Turner, Patricia V., Brabb, Thea., Pekow, Cynthia., and Vasbinder, Mary Ann. (2011). Administration of Substance to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider.

- Journal of the American Association for Laboratory Animal Science. American Association for Laboratory Animal Science, USA.
- Uddin, Kamal., Juraimi, Abdul Shukor., Hossain, Sabir., Un Nahar, Most Altaf., Ali, Equb., and Rahman, MM. (2013). Purslane Weed (*Portulaca oleracea* L.): A Prospective Plant Source of Nutrition, Omega-3 Fatty Acid, and Antioxidants Attributes. *The Scientific World Journal*. Vol.2014, pp. 1-6.
- Wainstein, J., Landau, Z., Dayan, YB., Jakubowica, D., Grothe, T., Perrinjaquet-Mocetti, T., Boaz, M. (2016). Purslane Extract and Glucose Homeostasis in Adults with Type 2 Diabetes: a double-blind, placebo-controlled Clinical Trial of Efficacy and Safety. *J Med Food*. 19(2): 133-140.
- Wolfensohn, S., dan Lloyd, M. (2013). *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. Willey-Blackwell, West Sussex.
- Xu, Dong., Hu, Meng-Jiao., Wang, Yan-Qiu., & Cui, Yuan-Lu. (2019). Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medical Application. *Molecules*. Vol 24 (6): 1123.
- Zhou, Yan-Xi., Xin, Hai-Lang., Rahman, Khalid., Wang, Su-Jan., Peng, Cheng and Zhang, Hong. (2015). *Portulaca oleracea* L. : A Review of Phytochemistry and Pharmacological Effects. *BioMed Research International*. Volume 2015 p. 11.

Efek pemberian maserasi taoge (*Vigna radiata*) terhadap profil hematologi dan biokimia darah tikus betina

*The effect of the administration of mung bean sprouts (*Vigna radiata*) to the hematological and biochemistry profile in female rat*

Andriyanto^{1*}, Leliana Nugrahaning Widi¹, Rindy Fazni Nengsih¹, Hamdika Yendri Putra¹, Mawar Subangkit², Elpita Tarigan³, Yusa Irarang³, Aulia Andri Mustika¹, Lina Noviyanti Sutardi², Wasmen Manalu¹

¹Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan
Jl. Agatis, Kampus IPB Dramaga, 16680, IPB University, Bogor

²Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan
Jl. Agatis, Kampus IPB Dramaga, 16680, IPB University, Bogor

³Fakultas Kedokteran Hewan, Jl. Agatis, Kampus IPB Dramaga, 16680, IPB University, Bogor

*Email: andriyanto@apps.ipb.ac.id

Diterima: 1 Maret 2022, direvisi: 27 April 2022, disetujui: 18 Juli 2022

Abstract

Mung bean sprouts have various pharmacological benefits that are highly potential to improve health. This study was conducted to explore the safety of the administration of mung bean sprouts maceration through determination of hematological profile and biochemistry. A total of 15 female Sprague Dawley rats, aged 8-week old, weighed 220-230 g, and had never been pregnant were randomly assigned to 3 treatment group (n=5 rats), i.e control group (administered with mineral water); mung bean sprouts 1%; and mung bean sprouts 5%. Maceration was given through drinking water and administered for 20 days. The results showed that the mung bean sprouts maceration did not have a significant effect ($P>0.05$) on the hematological and biochemical profiles of experimental rats. There was a significant increase ($P>0.05$) in hemoglobin level in the 1% mung bean sprout maceration group compared to the control, which was higher than normal value. Similar finding also observed in the neutrophil count which was higher than the normal value but not significantly different compared to the control ($p>0.05$). Meanwhile, all parameters showed values non-significant different values compared to the control group and were in the normal range. This findings indicates that the administration of mung bean sprouts maceration at doses of 1 and 5% did not have a negative and toxic effect on the blood profile and liver function and kidney.

Key words: body; health; herbs; mung bean sprouts.

Abstrak

Taoge memiliki berbagai manfaat farmakologis yang berpotensi besar untuk meningkatkan kesehatan. Penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi keamanan dari konsumsi maserasi taoge melalui pengamatan terhadap profil hematologi dan biokimia darah. Sebanyak 15 ekor tikus betina galur *Sprague Dawley* berumur 8 minggu, memiliki bobot badan 220-230 g, dan belum pernah bunting dikelompokkan secara acak ke dalam 3 kelompok perlakuan (n=5 tikus), yaitu kelompok kontrol (diberi air mineral); kelompok maserasi taoge 1%; dan kelompok maserasi taoge 5%. Pemberian maserasi dilakukan melalui air minum dan dilaksanakan selama 20 hari. Hasil menunjukkan bahwa secara umum perlakuan maserasi taoge tidak memberikan pengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap profil hematologi dan biokimia darah tikus percobaan. Terdapat peningkatan signifikan ($P>0,05$) pada kadar hemoglobin pada kelompok maserasi taoge 1% dibandingkan dengan kontrol yang lebih tinggi dari nilai normal. Hal yang serupa juga terjadi pada nilai neutrofil yang lebih tinggi dari nilai normal namun tidak berbeda nyata dengan kontrol ($p>0,05$). Selain keduanya, semua parameter menunjukkan nilai

yang tidak berbeda nyata dibandingkan dengan kelompok kontrol dan berada pada rentang nilai normal.. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian maserasi taoge tidak memberikan pengaruh toksik pada dosis 1 dan 5% terhadap profil darah serta fungsi organ hati dan ginjal.

Kata kunci: herbal; jamu; kesehatan; tubuh.

Pendahuluan

Tumbuhan dan produk tumbuhan telah dimanfaatkan sejak lama sebagai alternatif untuk meningkatkan kesehatan karena kandungan antioksidannya yang tinggi (Li *et al.*, 2013; Manikandaselvi *et al.*, 2015). Menurut WHO (2010), tanaman obat memiliki kontribusi yang signifikan terhadap kesehatan manusia yang bersifat promotif, kuratif dan rehabilitatif, serta dalam pencegahan penyakit. Taoge atau kecambah dari kacang hijau (*Vigna radiata* L.) telah banyak dikonsumsi oleh masyarakat karena kandungan nutrisinya yang tinggi seperti protein, asam amino esensial, serat, dan vitamin terutama vitamin C dan E (Ganesan dan Xu 2018). Selain itu, diketahui juga bahwa taoge mengandung lebih banyak kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, asam fenolat, sterol, triterpenoid, dan aldehida yang berfungsi sebagai antioksidan yang poten, dibandingkan dengan kacang hijau dalam bentuk biji (Jom *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2014; Wongsiri *et al.*, 2015). Khasiat farmakologis lain dari taoge juga telah banyak dilaporkan, yaitu sebagai hepatoprotektor (Wu *et al.* 2001; Lopes *et al.*, 2018), antiinflamasi (Kang *et al.*, 2015; Venkateshwarlu *et al.*, 2016), antimikroba (Wang *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2009), dan antidiabetes (Yao *et al.*, 2008; Yeap *et al.*, 2012). Berdasarkan kandungan senyawa bioaktif yang dimilikinya, taoge sangat potensial untuk dimanfaatkan sebagai bahan alami untuk alternatif pengobatan dan perbaikan kesehatan.

Penggunaan hewan coba seperti tikus penting dilakukan untuk meneliti keamanan maupun toksisitas dari sediaan obat termasuk yang berasal dari bahan alam. Salah satu parameter yang digunakan untuk mengetahui informasi mengenai respon tubuh terhadap sebuah perlakuan adalah nilai hematologi dan biokimia darah (Delwatta *et al.*, 2018). Selain penting untuk studi toksisitas, pemeriksaan hematologi dan biokimia darah juga dapat digunakan untuk menilai keadaan kesehatan dan penyakit yang terkait dengan diagnosis kelainan

darah, penyakit menular, sistem kekebalan, serta fungsi hati dan ginjal (He *et al.*, 2017). Nilai yang tidak normal dari parameter-parameter tersebut dapat menandakan bahwa terjadi keadaan yang mengarah ke kondisi patologis di dalam tubuh (Everds 2015).

Penelitian ini dilakukan sebagai kajian dasar untuk mengetahui keamanan dari pemberian sediaan maserasi taoge yang dinilai dari profil hematologi serta biokimia darah yang berkaitan dengan fungsi hati dan ginjal dari tikus betina.

Materi dan Metode

Sebanyak 15 ekor tikus betina galur Sprague Dawley yang sudah dewasa kelamin, berumur 8 minggu, memiliki bobot badan 220-230 g, dan belum pernah bunting diperoleh dari iRatco Veterinary Laboratory Services, Bogor. Hewan yang digunakan berjenis kelamin betina karena lebih sensitif terhadap perlakuan. Tikus percobaan ditempatkan di dalam kandang berupa *box* plastik berukuran 30x40 cm, yang dilengkapi dengan *bedding* berupa serbuk gergaji yang telah dioven. Tikus diberi pakan standar dengan total energi 3000-3100 kkal/kg secara *ad libitum*. Semua perlakuan terhadap hewan coba dalam penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor dengan nomor 007/KEH/SKE/I/2020.

Sediaan maserasi taoge dibuat dengan cara menggerus kasar taoge segar di dalam mortar. Gerusan taoge tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam air mendidih (100°C) dan diaduk sampai tercampur sempurna. Sediaan maserasi kemudian didinginkan di suhu ruang selama satu jam dan selanjutnya disaring menggunakan saringan 100 µm mesh untuk mendapatkan larutan stok. Larutan stok tersebut kemudian dicampurkan ke dalam air minum untuk mendapatkan dosis larutan maserasi taoge 1% dan 5%. Sediaan maserasi disimpan dalam botol dan dimasukkan ke dalam kulkas (suhu 4°C). Sediaan dibuat setiap 3 hari sekali. Tikus

percobaan diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari, dan selanjutnya dikelompokkan secara acak ke dalam tiga kelompok (n=5 tikus), yaitu kelompok kontrol yang diberikan air mineral, kelompok maserasi taoge 1%, dan kelompok maserasi taoge 5%. Maserasi taoge diberikan melalui air minum yang diganti setiap 12 jam sekali. Pemberian maserasi taoge dilakukan selama 20 hari.

Tikus dieutanasi di akhir perlakuan menggunakan ketamin (100 mg/kg BB) dan xylazin (3 mg/kg BB) dengan diadministrasikan secara intrapertitoneal. Pengambilan darah dilakukan secara intrakardial untuk mendapatkan jumlah darah yang optimal. Pertama, darah diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung EDTA untuk uji hematologi. Selanjutnya, sebanyak 3 ml darah diambil dan disimpan ke dalam tabung *plain* (Onehealth Medica Indonesia). Tabung tersebut didiamkan selama 1 jam di suhu ruang, dan selanjutnya disentrifugasi (1500g selama 20 menit) untuk mendapatkan serum darah yang selanjutnya dipanen untuk uji biokimia darah.

Uji hematologi dilakukan menggunakan Mindray BC-2800 *hematology analyzer* (PT. Mindray Medical Indonesia) sesuai dengan petunjuk penggunaan alat. Parameter hematologi yang diuji yaitu meliputi jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, nilai hematokrit, total leukosit, dan diferensial leukosit (limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, dan basofil). Parameter biokimia darah yang diuji meliputi *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT), *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT), ureum dan kreatinin. Uji biokimia darah

Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT), *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT), ureum dan kreatinin dilakukan dengan metode spektrofotometer UV (Arkray Spotchem TM EZ 4430).

Data hasil penelitian yang telah didapatkan kemudian dianalisis menggunakan uji statistik ragam satu arah (*One way*) ANOVA pada taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$) dengan uji lanjutan Tukey untuk melihat perbedaan antar perlakuan. Pengujian statistik dilakukan menggunakan aplikasi *Microsoft Excel 2019* dan *Minitab 16*.

Hasil dan Pembahasan

Hasil uji statistik terhadap pemberian perlakuan maserasi taoge 1% dan 5% ke dalam air minum tikus terhadap profil hematologi tikus betina disajikan dalam Tabel 1. Uji statistik menunjukkan bahwa pemberian sediaan maserasi taoge pada dosis 1% dan 5% tidak memberikan pengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap jumlah eritrosit dan nilai hematokrit tikus percobaan dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan maserasi taoge 1% cenderung meningkatkan jumlah eritrosit, namun menurunkan nilai hematokrit tikus (Tabel 1). Sementara itu, pemberian maserasi taoge dosis 5% cenderung menurunkan baik jumlah eritrosit maupun nilai hematokrit dibandingkan dengan kontrol. Jumlah eritrosit dan nilai hematokrit yang didapatkan dalam penelitian ini berada di bawah rentang normal menurut referensi yang ditentukan oleh Delwatta *et al.*, (2018) dan He *et al.*, (2017) yaitu berturut-turut sebesar $2,9-6,8 \times 10^6/\mu\text{L}$ dan 40-46%.

Tabel 1. Profil hematologi tikus betina setelah pemberian perlakuan maserasi taoge 1% dan 5% selama 20 hari

Parameter	Referensi*	Kontrol	Taoge 1%	Taoge 5%
Jumlah eritrosit ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	2,9-6,8	5,38 \pm 1,22 ^a	5,91 \pm 1,07 ^a	4,86 \pm 0,50 ^a
Hematokrit (%)	10-47	44,41 \pm 2,96 ^a	42,62 \pm 3,30 ^a	43,27 \pm 2,41 ^a
Hemoglobin (g/dL)	8,6-15,38	14,36 \pm 2,52 ^b	17,97 \pm 0,68 ^a	13,87 \pm 1,98 ^b
Jumlah leukosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	3,6-14,5	3,96 \pm 1,61 ^a	3,01 \pm 2,62 ^a	2,64 \pm 0,88 ^a
Limfosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	2,45-7,66	3,70 \pm 1,33 ^a	3,57 \pm 1,99 ^a	3,22 \pm 1,70 ^a
Monosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,17-0,76	0,02 \pm 0,01 ^a	0,03 \pm 0,03 ^a	0,03 \pm 0,02 ^a
Neutrofil ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,19-0,91	1,28 \pm 0,64 ^a	1,30 \pm 0,30 ^a	0,62 \pm 0,42 ^a
Eosinofil ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,03-0,21	0,10 \pm 0,03 ^a	0,12 \pm 0,08 ^a	0,11 \pm 0,07 ^a
Basofil ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,0-0,02	0,00 \pm 0,00 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a

Keterangan: superskrip huruf a,b yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$)

* He *et al.* 2017, Qili *et al.* 2018

Berbeda halnya pada parameter kadar hemoglobin, tikus yang diberi perlakuan maserasi taoge dosis 1% mengalami peningkatan kadar hemoglobin yang berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap kontrol, yaitu dengan rata-rata senilai 17,9 g/dL. Angka tersebut berada sedikit di atas rentang normal kadar hemoglobin pada tikus betina dara yaitu 12,9-15,4 g/dL (He *et al.*, 2017).

Kenaikan nilai hemoglobin pada tikus yang diberi perlakuan maserasi taoge dosis 1% ini diduga dipicu oleh adanya kenaikan produksi eritrosit dengan kemampuan pengangkutan oksigen yang lebih tinggi. Penelitian sebelumnya telah mendemonstrasikan khasiat dari simplisia taoge yang dapat mempertahankan nilai hematologi dan mencegah anemia dari tikus yang diinduksi fenil hidrazin, dengan cara mencegah hemolisis akibat lipid peroksidase dan memicu eritropoiesis (Manikandaselvi *et al.*, 2015). Selain itu, penelitian yang dilaksanakan oleh Wijayanti *et al.*, (2017) juga menyatakan bahwa suplementasi ekstrak kacang hijau dapat meningkatkan kadar hemoglobin dan Ferritin pada tikus yang diberi diet rendah Fe. Hal ini menandakan bahwa suplementasi maserasi taoge dapat meningkatkan asupan Fe bagi tubuh sehingga kadar hemoglobin meningkat. Zat besi merupakan komponen penting yang dibutuhkan untuk pembentukan hemoglobin sehingga fungsi hemoglobin dalam transport oksigen dapat optimal (McDowell 2003).

Selanjutnya, uji statistik pada jumlah leukosit (Tabel 1) tidak menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p > 0,05$) antara kelompok maserasi taoge 1% dan 5% dan kelompok kontrol. Jumlah leukosit justru mengalami penurunan pada pemberian maserasi taoge 1% dan 5%, meskipun nilai tersebut masih berada pada rentang normal menurut He *et al.*, (2017) yaitu $2,58-7,34 \times 10^3/\mu\text{L}$, yang menandakan bahwa pemberian maserasi taoge tidak menurunkan

imunitas dari tikus karena kandungan dalam taoge seperti genistein, vitexin, dan isovitexin yang berfungsi sebagai imunomodulator (Cherng *et al.*, 2007). Hasil yang serupa juga dapat diamati pada parameter diferensial leukosit. Kadar limfosit teramati lebih rendah pada tikus yang diberi perlakuan maserasi taoge 1 dan 5% terhadap kontrol meskipun tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dan nilainya masih berada dalam rentang normal yaitu $2,09-6,39 \times 10^3/\mu\text{L}$ (He *et al.*, 2017).

Pemberian maserasi taoge 1% dan 5% juga tidak memberikan pengaruh nyata terhadap kadar monosit, neutrofil, dan eosinofil dibandingkan dengan kontrol ($p > 0,05$). Namun, terjadi peningkatan yang cukup besar pada kadar neutrofil tikus terhadap pemberian maserasi taoge 1% yang bahkan sampai melewati rentang normal nilai neutrofil yaitu sebesar $0,19-0,91 \times 10^3/\mu\text{L}$ (He *et al.*, 2017). Peningkatan nilai neutrofil ini diduga berkaitan dengan asupan Fe yang tinggi. Kelebihan Fe dalam tubuh dapat memicu adanya pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang toksik melalui reaksi Fenton, yang dapat menyebabkan kerusakan sel-sel dalam tubuh (Bystrom *et al.*, 2014). Adanya kerusakan sel kemudian memicu pembentukan neutrofil yang berfungsi untuk memfagosit sel-sel yang rusak tersebut (Filep dan Ariel 2020). Kerusakan sel yang terjadi pada tikus kelompok maserasi taoge 1% lebih besar dibandingkan dua kelompok lainnya namun tidak signifikan sehingga tidak terjadi peningkatan kadar komponen-komponen leukosit lain dan total leukosit. Selain itu, tidak terdapat efek pemberian maserasi taoge 1% dan 5% terhadap kadar basofil tikus.

Telah dijelaskan sebelumnya bahwa pemeriksaan biokimia darah umum dilakukan untuk mengetahui apakah ada efek toksik dari sebuah perlakuan terhadap subjek penelitian yang dapat diketahui dari pemeriksaan fungsi hati dan

Tabel 2. Biokimia darah tikus betina setelah pemberian perlakuan maserasi taoge 1% dan 5% selama 20 hari

Parameter	Referensi*	Kontrol	Taoge 1%	Taoge 5%
SGPT (Unit/L)	14-30	19,20±5,40 ^a	23,60±4,98 ^a	23,80±3,96 ^a
SGOT (Unit/L)	60-139	104,80±11,82 ^a	104,60±15,66 ^a	91,40±16,47 ^a
Ureum (mmol/L)	12,33-77,6	10,96±1,43 ^a	8,16±1,96 ^a	9,47±1,41 ^a
Kreatinin ($\mu\text{mol/L}$)	39,41-59,67	44,46±5,67 ^a	42,60±6,54 ^a	45,64±9,04 ^a

Keterangan: superskrip huruf a,b yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$)

* He *et al.* 2017

ginjal. Parameter biokimia darah yang umum diuji yaitu SGPT dan SGOT untuk pemeriksaan terhadap fungsi hati, sedangkan parameter ureum dan kreatinin digunakan untuk pemeriksaan terhadap fungsi ginjal. Hasil uji statistik efek pemberian maserasi taoge terhadap biokimia darah tikus betina disajikan pada Tabel 2

Hasil menunjukkan bahwa pemberian sediaan maserasi taoge tidak berpengaruh nyata ($p>0,05$) terhadap SGOT dan SGPT, serta ureum dan kreatinin dibandingkan dengan kontrol. Terjadi kenaikan pada nilai SGPT tikus yang diberi sediaan maserasi taoge 1% dan 5%, sedangkan nilai SGOT cenderung mendekati kontrol. Hal yang serupa juga teramati pada nilai ureum dan kreatinin yang tidak berbeda jauh dibandingkan kontrol, bahkan nilai keduanya cenderung menurun pada pemberian maserasi taoge terutama pada dosis 1% meskipun tidak berbeda nyata ($p>0,05$). Semua nilai parameter biokimia darah yang diuji pada penelitian ini berada dalam rentang nilai normal yaitu 14-30 U/L untuk SGPT, 60-139 U/L untuk SGOT, 5,56-12,67 mmol/L untuk ureum, dan 34,91-59,67 μ mol/L untuk kreatinin (He *et al.* 2017).

SGPT dan SGOT umum dikenal dan digunakan sebagai marker terhadap fungsi dan integritas sel hati. Peningkatan di atas normal dari level kedua enzim ini menandakan bahwa terjadi kerusakan pada sel-sel hati (Rivadeneira-Dominguez *et al.*, 2018). Suplementasi maserasi taoge 1% dan 5% ke dalam air minum tikus tidak menyebabkan kerusakan hati tikus percobaan. Selain itu, kandungan antioksidan yang dimiliki oleh taoge berfungsi sebagai hepatoprotektor yang dapat melindungi fungsi hati dan mempertahankan nilai SGPT dan SGOT pada tikus yang telah diinduksi oleh sediaan toksik berupa parasetamol (Wu *et al.*, 2001).

Ureum dan kreatinin merupakan dua produk ekskresi ginjal yang digunakan untuk mengetahui adanya kerusakan sel-sel ginjal. Ginjal yang rusak tidak dapat mengekskresikan keduanya keluar dari tubuh secara optimal, sehingga sirkulasinya di dalam darah akan lebih tinggi dari normal (Rivadeneira-Dominguez *et al.*, 2018). Pemberian maserasi taoge pada dosis 1% dan 5% tidak memberikan efek toksik pada ginjal sehingga tidak terjadi kerusakan

pada ginjal dan nilai ureum serta kreatinin tidak melebihi batas normal. Hal tersebut juga didukung oleh kandungan antioksidan yang terdapat dalam taoge (Yeap *et al.*, 2014) sehingga memungkinkan bagi taoge untuk memiliki efek nefroprotektif bagi tikus.

Kesimpulan

Pemberian sediaan maserasi taoge 1% dan 5% ke dalam air tidak memberikan efek toksik bagi tikus yang ditunjukkan dengan profil darah merah, diferensial darah putih, maupun nilai SGPT, SGOT, ureum, dan kreatinin yang berada dalam rentang normal. Dosis maserasi taoge 1% meningkatkan kadar hemoglobin secara nyata dibandingkan dengan dosis 5%.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Unit Pengelola Hewan Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan IPB dan Laboratorium Farmakologi yang telah memberikan fasilitas pada penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Bystrom, L.M., Guzman, M.L. dan Rivella, S. (2014). Iron and reactive oxygen species: friends or foes of cancer cells? *Antioxidants & Redox Signaling*. 20 (12): 1917-1924.
- Cherng, J.M, Chiang, W. dan Chiang, L.C. (2007). Immunomodulatory activities of edible beans and related constituents from soybean. *Food Chemistry*. 104 (2007): 613-618.
- Delwatta, S.L., Gunatilake, M., Baumans, V., Seneviratne, M.D., Dissanayaka, M.L.B., Batagoda, S.S., Udagedara, A.H. dan Walpola, P.B. (2018). Reference values for selected hematological, biochemical and physiological parameters of Sprague-Dawley rats at the Animal House, Faculty of Medicine, University of Colombo, Sri Lanka. *Animal Model and Experimental Medicine*. 1(4): 250-254.
- Everds, N.E. (2015). Evaluation of clinical pathology data: correlating changes with other study data. *Toxicologic Pathology*. 43 (1): 90-97.

- Filep, J. G. dan Ariel A. (2020). Neutrophil heterogeneity and fate in inflamed tissues: implications for the resolution of inflammation. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 319 (3): C510-C532.
- Ganesan, K. and Baojun, X. (2018). A critical review on phytochemical profile and health promoting effects of mung bean (*Vigna radiata*). *Food Science and Human Wellness*. 7 (1): 11-33.
- He, Q., Su, G., Liu, K., Zhang, F., Jiang, Y., Gao, J., Liu, L., Jiang, Z., Jin, M. dan Xie, H. (2017). Sex-specific reference intervals of hematologic and biochemical analytes in Sprague-Dawley rats using the nonparametric rank percentile method. *PLoS One*. 12 (12): e0189837.
- Huang, X., Cai, W. dan Xu, B. (2014). Kinetic changes of nutrients and antioxidant capacities of germinated soybean (*Glycine max* L.) and mung bean (*Vigna radiata* L.) with germination time. *Food Chemistry*. 143 (2014): 268-276.
- Jom, K.N., Frank, T. dan Engel, K.H. (2011). A metabolite profiling approach to follow the sprouting process of mung beans (*Vigna radiata*). *Metabolomics* 7: 102-117.
- Kang, I., Choi, S., Ha, T.J., Choi, M., Wi, H.R., Lee, B.W. dan Lee, M. (2015). Effects of mung bean (*Vigna radiata* L.) ethanol extracts decrease proinflammatory cytokine-induced lipogenesis in the KK-Ay diabetes mouse model. *Journal of Medicinal Food*. 18 (8): 841-849.
- Li, S., Li, S., Gan, R., Song, F., Kuang, L. dan Li, H. (2013). Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants. *Industrial Crops and Products*. 51 : 289-298.
- Lopes, L.A.R., Martins, M.D.C.C.E., Farias, L.M., Brito, A.K.D.S., Lima, G.M., Carvalho, V.B.L., Pereira, C.F.C., Conde Júnior, A.M., Saldanha, T., Arêas, J.A.G., Silva, K.J.D.E. dan Frota, K.M.G. (2018). Cholesterol-lowering and liver-protective effects of cooked and germinated mung beans (*Vigna radiata* L.). *Nutrients*. 10 (7): 821.
- Manikandaselvi, S., David Raj, C., Aravind, S., Ravikumar, R., Thina-garbabu, R. dan Nandhini, S. (2015). Anti-anemic activity of sprouts of *Vigna radiata* L. in male albino rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7 (2015): 237-263.
- McDowell, L.R. (2003). *Minerals in Animal And Human Nutrition*. 2nd ed. Elsevier Science, Amsterdam.
- Rivadeneira-Domínguez, E., Becerra-Contreras, Y., Vázquez-Luna, A., Díaz-Sobac, R. dan Rodríguez-Landa, J.F. (2018). Alterations of blood chemistry, hepatic and renal function, and blood cytometry in acrylamide-treated rats. *Toxicology Reports*. 5: 1124-1128.
- Venkateshwarlu, E., Reddy, K.P. dan Dilip, D. (2016). Potential of *Vigna radiata* (L.) sprouts in the management of inflammation and arthritis in rats: Possible biochemical alterations. *Indian Journal of Experimental Biology*. 54 (1): 37-43.
- Wang, P.F., Ye, S.Y. dan Rao, X.Y. (2004). Research progress on the biological activities and functions of mung beans. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*. 1: 26.
- Wang, S., Rao, P. dan Ye, X. (2009). Isolation and biochemical characterization of a novel leguminous defense peptide with antifungal and antiproliferative potency. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 82 (1): 79-86.
- WHO. (2010). Traditional herbal remedies for primary health care. Retrieved January 23, 2022, from <http://apps.who.int/iris/handle/10665/206024>.
- Wijayanti, H., Nasihun, T. dan Husaana A. (2017). Administration of mung bean extract (*Phaseolus radiatus*) in increasing Hb and Ferritin level and decreasing malondyaldehyde (MDA) level in anaemic rats. *Sains Medika*. 8 (2): 54-60

- Wongsiri, S., Ohshima, T. dan Duangmal, K. (2015). Chemical composition: aminoacid profile and antioxidant activities of germinated mung beans (*Vigna radiata*), *Journal of Food Processing and Preservation*. 39 (2015): 1956-1964.
- Wu, S.J., Wang, J.S., Lin, C.C. dan Chang, C.H. (2001). Evaluation of hepatoprotective activity of legumes. *Phytomedicine*. 8: 213-219.
- Yao, Y., Chen, F., Wang, M., Wang, J. dan Ren, G. (2008). Antidiabetic activity of Mung bean extracts in diabetic KK-Ay mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56 (19): 8869-8873.
- Yeap, S.K., Beh, B.K., Ali, N.M., Mohd Yusof, H., Ho, W.Y., Koh, S.P., Alitheen, N.B. dan Long, K. (2014). In vivo anti-stress and antioxidant effects of fermented and germinated mung bean. *Biomed Research International*. 2014: 694842.
- Yeap, S.K., Mohd Ali, N., Mohd Yusof, H., Alitheen, N.B., Beh, B.K., Ho, W.Y., Koh, S.P. dan Long, K. (2012). Antihyperglycemic effects of fermented and nonfermented mung bean extracts on alloxan-induced-diabetic mice. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012: 285430.

Fiksasi *Sacroiliac Fraktur-Dislokasi menggunakan bone plate 2.0 dengan screw 2.0 mm cortical self-tapping dan 2.7 mm cortical non self-tapping*

Fixation of Sacroiliac Fraktur-Luxation Using Plate 2.0 with screw 2.0 mm cortical self-tapping and 2.7 mm cortical non self-tapping

Erwin Erwin^{1*}, Rusli Rusli¹, Amiruddin Amiruddin¹, Teuku Fadrial Karmil¹, Muhammad Fauzih Asjikin², Afif Yuda Kusuma³

¹Laboratorium Klinik dan Bedah, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

²Pendidikan Profesi Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

³Klinik Hewan Anugerah Satwa, Bumi Serpong Damai, Tangerang, Indonesia
Email: erwin2102@unsyiah.ac.id

Diterima: 3 Maret 2020 direvisi: 28 Juli 2022, disetujui: 4 Oktober 2022

Abstract

The Mixed Shih-Tzu dog, 3 years old and 4.3 kg body weight, had clinical signs of unable to stand, both rear limbs suffer from diplegic lameness so that they are only able to rely on both forelimbs. The owner said that her dog is traumatized by a four-wheeled vehicle. The results of blood profile before surgery showed physiological, only an increase in leukocyte cells $18.83 \times 10^3/\mu\text{L}$. The radiographic examination with a ventral-dorsal position shows oblique fractures in the pelvic dexter and dislocation of the pelvic sacroiliac sinister bone. The method of handling using a 2.0 veterinary cuttable plate (VCP) bone plate with a 2.0 mm cortical self-tapping screw for pelvic fractures and 2.7 mm cortical non-self-tapping for sacroiliac dislocations. The dog walked and showed a good progress in one week after, based on clinical and post-operative radiographic examinations, sacroiliac fracture-dislocation fixation using VCP with 2.0 mm self-tapping screw cortical for pelvic fracture and 2.7 mm non self-tapping for sacroiliac dislocation provides excellent stabilization and no visible complications.

Key words: *Bone plate; fraktur; luxation; screw*

Abstrak

Anjing Mixed Shih-Tzu yang berumur 3 tahun dengan berat badan 4,3 kg memperlihatkan gejala klinis tidak mampu untuk berdiri, kedua ekstremitas kaudalis mengalami *diplegic lameness* sehingga hanya mampu bertumpu dengan kedua ekstremitas kranialis. Pemilik hewan mengatakan anjingnya mengalami trauma akibat tergilas kendaraan roda empat. Pemeriksaan profil darah sebelum tindakan bedah menunjukkan kondisi fisiologis, hanya peningkatan sel leukosit mencapai $18,83 \times 10^3/\mu\text{L}$. Pemeriksaan radiografi dengan posisi ventro-dorsal menunjukkan fraktur *oblique* pada bagian *dexter pelvis* dan dislokasi *sacroiliac sinister* tulang pelvis. Penanganan menggunakan *bone plate 2.0 veterinary cuttable plate (VCP)* dengan *screw 2.0 mm cortical self-tapping* untuk fraktur pelvis dan *2.7 mm cortical non self-tapping* untuk dislokasi *sacroiliac*. Satu minggu setelah tindakan anjing menunjukkan perkembangan yang baik, mampu berdiri dan mulai berjalan. Berdasarkan pemeriksaan klinis dan radiografi pasca bedah, fiksasi *sacroiliac* fraktur-dislokasi menggunakan VCP dengan *screw cortical 2.0 mm self-tapping* untuk fraktur pelvis dan *2.7 mm non self-tapping* untuk dislokasi *sacroiliac* memberikan stabilisasi sangat baik dan tidak menunjukkan komplikasi.

Kata kunci: *Bone plate; fraktur; luxation; screw*

Pendahuluan

Fraktur keadaan patahnya bagian tulang atau kartilago yang disebabkan oleh trauma atau penyakit. Tulang pelvis terdiri dari tulang ilium, ischium dan pubis. Ketiga tulang tersebut digabungkan oleh ligamentum *sacroiliac* yang merupakan struktur bantalan panggul. Anjing sering mengalami fraktur pelvis (Cabassu, 2005) dengan tingkat kejadian 21 % dari seluruh kejadian fraktur (Ergin *et al.*, 2016) dan 45 % kasus ilium dari semua fraktur pelvis (DeCamp, 2005). Hewan yang terlindas dari arah kaudal tubuh, umumnya memperlihatkan kombinasi fraktur dan dislokasi pada satu bagian atau kedua sendi *sacroiliac* (Averill *et al.*, 1997). Fraktur ilium paling sering ditemukan dengan presentasi kejadiannya mencapai 46% dari keseluruhan kejadian fraktur pelvis (DeCamp, 2005; Shales *et al.*, 2009). Dislokasi *sacroiliac* merupakan dislokasi sendi yang terjadi akibat pergeseran pelvis dari sakrum dan biasanya kejadian dislokasi *sacroiliac* selalu disertai dengan cedera ortopedi berat lainnya (Fischer *et al.*, 2012).

Pemilihan alat fiksasi harus mampu menstabilkan kedua fragmen dan menimbulkan trauma seminimal mungkin untuk rehabilitasi yang baik, dan rehabilitasi dilakukan secepat mungkin setelah tindakan bedah (Stiffler, 2004; Tercanlioglu & Sarierler, 2009). Fiksasi fraktur *Sacroiliac Fraktur-Dislokasi* sangat ditentukan oleh kestabilan antara fragmen fraktur, disamping itu penggunaan alat fiksasi juga membantu proses kesembuhan (Erwin *et al.*, 2019). Artikel ini bertujuan melaporkan pemilihan fiksasi *vet-erinary cuttable plate* (VCP) *bone plate* 2.0 mm dengan *screw* 2.0 mm dengan panjang 10 mm *self-tapping* untuk fraktur pelvis dan 2.7 mm *cortical non self-tapping* dengan panjang 26 mm untuk dislokasi *sacroiliac*.

Metode Penelitian

Gejala Klinis

Anjing yang dilaporkan dalam artikel ini adalah pasien Klinik Hewan Anugerah Satwa, Bumi Serpong Damai, Tangerang, Indonesia pada bulan November 2020. Seekor anjing mixed Shit-zu yang berjenis kelamin betina bernama Coco, berwarna hitam, dengan berat

badan 4,2 kg dengan umur \pm 3 tahun. Pemilik anjing mengatakan anjing mengalami trauma akibat tertabrak kendaraan bermotor. Anjing menunjukkan gejala klinis tidak bisa berjalan (*diplegic lameness*) pada kedua ekstremitas kaudalis dan respon nyeri di area tulang pelvis.

Pemeriksaan klinis diawali dengan observasi pada sikap tubuh serta pengamatan pada bagian kranial hingga kaudal tubuh yang meliputi pemeriksaan mata, hidung, mulut, telinga, kelenjar limfe, ekstremitas kranial dan kaudal, saluran respirasi, saluran kardiovaskular, saluran pencernaan, saluran urinaria, dan saluran reproduksi serta memeriksa status hidrasi dan nutrisi sebelum tindakan bedah.

Pemeriksaan profil darah menunjukkan peningkatan sel leukosit mencapai $18,93 \times 10^3 /\mu\text{L}$, sedangkan parameter darah lainnya dalam angka normal. Pemeriksaan radiografi dengan posisi ventro-dorsal menunjukkan dislokasi dan fraktur tulang pelvis area *sacroiliac* yang disajikan pada Gambar 1a.

Prosedur Bedah

Anjing di anastesi menggunakan zolazepam-tiletamin (Zoletil® 50, Virbac, New Zealand) dosis 30 mg/kg bobot badan secara im dan selanjutnya dipertahankan dengan pemberian anastesi inhalasi sevofluran dosis 0,5-2 % dengan udara dorong menggunakan oksigen tunggal sesuai volum tidal (Erwin, 2019). Anjing diberikan infus larutan asering untuk menggantikan cairan yang hilang selama tindakan bedah. Tindakan bedah pertama, hewan diposisikan *left lateral recumbency* untuk penanganan fraktur illium. Area bedah di disinfeksi menggunakan povidone iodine dan dilanjutkan dengan melakukan insisi area pelvis mengikuti sumbu panjang tulang *ilium* kira-kira 5-7 cm, jaringan subkutan dan fascia disayat dan dikuakkan dan dijepit menggunakan *allis tissue forceps*. *Musculus gluteus medius* dan *musculus tensor fascia lata* sampai *musculus biceps femoris* dikuakkan menggunakan retraktor sampai terlihat tulang *ilium* yang mengalami fraktur. Bagian fragmen tulang fraktur direposisi ke posisi semula, selanjutnya difiksasi menggunakan *bone plate* 2.0 VCP (sesuaikan kontur *plate* dengan permukaan *lateral* tulang) dan dilubangi menggunakan bor tulang untuk

pemasangan *screw* 2.0 mm *cortical self-tapping* yang disajikan pada Gambar 1b (Erwin *et al.*, 2019).

Tindakan bedah kedua untuk penanganan dislokasi *sacroiliac* dengan posisi hewan right lateral recumbency. Selanjutnya melakukan insisi kulit dimulai dari krista iliaca dorsal dan memanjang sejajar ke arah kaudal tulang vertebrae untuk memisahkan otot tensor fascia lata dan *musculus gluteus medius*, serta *musculus gluteus superficialis*. Selanjutnya retraksi otot menggunakan retraktor untuk pemasangan *screw*. Reduksi dengan *bone holding forceps*, fiksasi area yang mengalami dislokasi dengan cara mengebor bagian persendian *sacroiliac* untuk memasang *screw* *cortical* 2.7 mm non *self-tapping* yang merekatkan kedua fragmen. Foto radiografi pasca bedah menunjukkan kedua segmen fraktur terfiksasi dengan baik yang disajikan pada Gambar 1c.

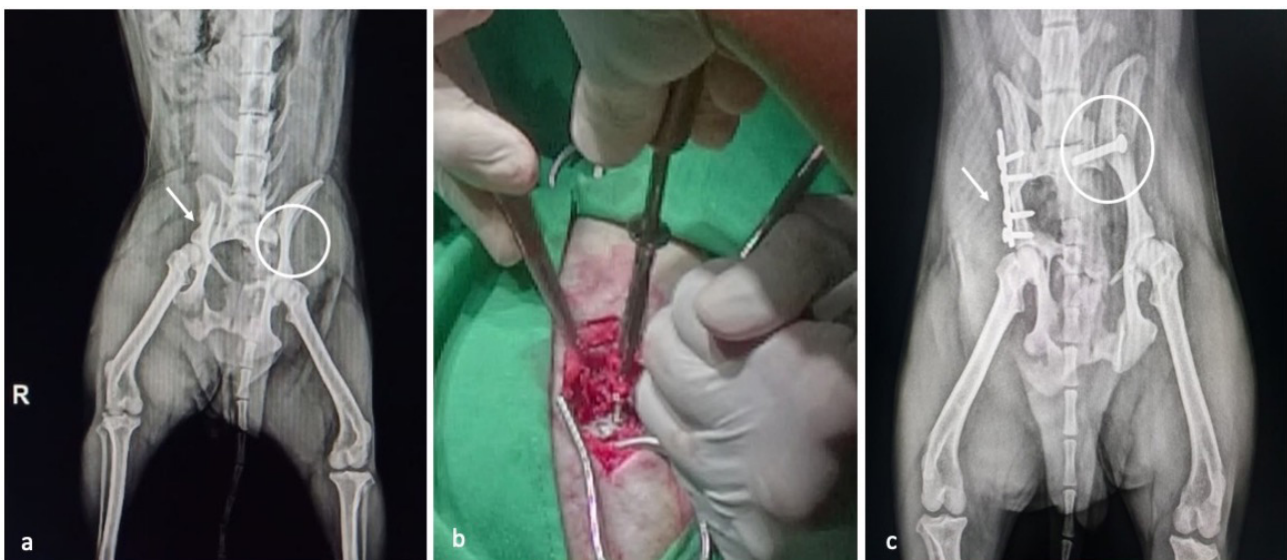
Area luka dibersihkan dengan larutan antiseptik *chlorhexidine*, muskulus (*simple interrupted pattern*) dan *fascia lata* (*simple continuous pattern*) menggunakan benang *polyglactin polyglycolic acid* 3/0 HR 22 (Safil[®], B Braun, Indonesia). Jaringan subkutis (*simple continuous pattern*) dijahit dengan benang *polyglycolic acid* 3/0 HR 22 (Safil[®], B Braun, Indonesia) dan kulit (*simple interrupted pattern*) menggunakan benang sutera 3/0 (Silkam[®], BRAUN, Indonesia).

Perawatan luka bedah menggunakan salep gentamisin sulfat (Genoint[®], Erela, Semarang, Indonesia) dan dibalut dengan kasa dengan pemasangan *tubular bandage* untuk mencegah perban dikedua sisi tubuh terbuka. Perawatan pasca bedah dengan pemberian antibiotik amoxicillin dan clavulanic acid 10 mg/kg BB (Claneksi[®], Sanbe Farma, Indonesian) dan karprofen (Rimadyl[®], Pfizer/Zoetis, USA) 2,2 mg/kg BB secara PO selama 12 hari sebanyak 2 kali sehari.

Hasil dan Pembahasan

Dislokasi dan fraktur *sacroiliac* adalah trauma umum yang sangat sering terjadi pada anjing dan kucing. Terapi konservatif sering dilakukan untuk penanganan dislokasi dan fraktur, namun sering berakhir dengan komplikasi berupa konstipasi yang parah (obstipasi). Anjing dan kucing terlihat sembuh secara klinis setelah terapi konservatif, namun gangguan persendian *sacroiliac* dan perubahan degeneratif pada persendian *lumbosacral* dapat terlihat. Disisi lain, manajemen bedah dan pemilihan alat fiksasi untuk stabilisasi dislokasi dan fraktur *sacroiliac* memungkinkan pengembalian yang cepat dan mencegah terjadinya konstipasi (Ergin *et al.*, 2016).

Fraktur pelvis (ilium, ischium dan pubis) hampir selalu diakibatkan dari trauma besar dan berakibat fatal bila tidak ditangani dengan baik



Gambar 1. (a) foto radiografi *sacroiliac* fraktur-dislokasi, fraktur tulang pelvis (tanda panah) dan dislokasi *sacroiliac* (lingkaran putih); (b) tindakan bedah pemasangan *screw*; (c) foto radiografi *sacroiliac* fraktur-dislokasi pasca bedah, pemasangan *bone plate* 2.0 *veterinary cuttable plate* (VCP) dengan *screw* 2.0 mm *cortical self-tapping* untuk fraktur pelvis (tanda panah) dan 2.7 mm *cortical non self-tapping* untuk dislokasi *sacroiliac* (lingkaran putih).

(Erwin *et al.*, 2019). Hewan yang terlindas dari arah kaudal tubuh umumnya memiliki kombinasi trauma yaitu dislokasi sendi *sacroiliac* bilateral atau unilateral yang berasosiasi dengan kejadian fraktur pelvis. Fraktur *oblique* bilateral atau unilateral ilium dan beberapa jenis fraktur lainnya yang diakibatkan oleh kekuatan geseran yang kuat dari ligamentum *sacroiliac* (Sing *et al.*, 2016). Fraktur pada *body of ilium* selalu menunjukkan patahan yang miring (*oblique*), dengan fragmen kaudal mengalami pergeseran ke-arah kranial dan medial (Shales *et al.*, 2010).

Dislokasi dan fraktur *sacroiliac* nyeri yang hebat, instabilitas, dan paling umum disertai gangguan saraf (Piermattei *et al.*, 2006). Dislokasi dan fraktur *sacroiliac* menyebabkan perpindahan kraniodorsal ilium. Reposisi secara terbuka dengan tindakan bedah pemasangan *plate* dan *screw* yang tepat menghasilkan stabilisasi yang baik. Apabila alat fiksasi fraktur pelvis tidak menghasilkan stabilisasi yang baik, maka berpotensi menyebabkan penyempitan saluran pelvis bagian kaudal yang diikuti dengan gangguan saluran urinaria, usus besar dan *plexus lumbo-sakralis* sebagai tempat cabang saraf sciatic yang menginervasi kaki belakang (Harasen, 2007).

Tindakan bedah ortopedik merupakan alternatif terbaik penanganan *sacroiliac fraktur-dislokasi*. Tindakan bedah ortopedik dengan pemasangan *bone plate* adalah cara paling umum dilakukan dengan tingkat keberhasilan yang baik (DeCamp, 2005; Shales *et al.*, 2010) dan sangat membantu pada kejadian fraktur pelvis karena memiliki stabilitas yang sangat baik sebagai fiksasi dan sangat membantu hewan untuk lebih cepat dalam mempertahankan bobot tubuhnya (Denny, 1978). Penanganan fraktur pelvis yang bersifat tertutup menggunakan metode ORIF (*Open Reduction Internal Fixation*) merupakan reposisi secara terbuka (invasif) yang diikuti dengan fiksasi interna. Metode ORIF memiliki keuntungan berupa fiksasi yang kokoh sehingga pemasangan gips tidak lagi diperlukan pasca pembedahan, dan mobilisasi bisa dilakukan untuk pemulihan (Déjardin *et al.*, 2016). Penanganan *sacroiliac fraktur-dislokasi* dapat diperbaiki dengan melakukan pemasangan *screw* atau *bone plate* dengan mempertimbangkan bentuk fragmen

patahan (Shales *et al.*, 2010). Keberhasilan suatu penanganan *sacroiliac fraktur-dislokasi* sangat bergantung dari kedalaman *screw*, bentuk *screw* dan ukuran ulir (*cancellous*) yang berdampak terhadap kerugian berupa risiko infeksi pada tulang (Sing *et al.*, 2016).

Kesimpulan

Pemilihan fiksasi *bone plate 2,0 veterinary cuttable plate* (VCP) dan *screw cortical 2,0 mm self-tapping* untuk fraktur pelvis dan *2,7 mm non self-tapping* untuk dislokasi *sacroiliac* dalam penanganan *sacroiliac fraktur-dislokasi* menghasilkan stabilisasi sangat baik dan tidak menimbulkan komplikasi berdasarkan pemeriksaan klinis dan radiografi pasca bedah.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Klinik Hewan Anugerah Satwa, Bumi Serpong Damai, Tangerang, Indonesia yang telah membantu pelaksanaan program Pendidikan Profesi Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala.

Daftar Pustaka

- Averill, S.M., Johnson, A.L. and Schaeffer, D.J. (1997). Risk factors associated with the development of pelvic canal stenosis secondary to sacroiliac separation: 84 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 211: 75-78.
- Cabassu, P. (2005). Pelvic fractures-sacroiliac fractures/ luxations. Proceeding of the North American Veterinary Conference Jan. 8-12-2005, Orlando, Florida.
- DeCamp, C.E. (2005). Frakturs of the pelvis. In: Johnson, A.L., Houlton, J.E.F., Vannini, R., Principles of Fraktur Management in the Dog and Cat, Thieme Medical Publishers, New York. pp. 161–199.
- Déjardin, L.M., Marturello, D.M., Guiot, L.P., Guillou, R.P. and DeCamp, C.E. (2016). Comparison of open reduction versus minimally invasive surgical approaches on screw position in canine sacroiliac lag-screw fixation. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* 29 (4): 290-297.
- Denny, H.R. (1978). Pelvic frakturs in the dog: a review of 123 cases. *J. Small. Anim. Pract.* 19: 151-166.

- Ergin, I., Senel, O.O., Ozdemir, O., Uluhan, S. and Bilgili, H. (2016). Evaluation and surgical treatment of sacroiliac fraktur-luxations in 28 cats and 25 dogs. Ankara. *Üniv. Vet. Fak. Derg.* 63: 127-136.
- Erwin. (2019). Ilmu Bedah pada Hewan Kecil. Syiah Kuala University Press. Banda Aceh, Indonesia.
- Erwin, E., Amiruddin, A., Rusli R., Etriwati, E., Sabri, M., Adam, M., Ramadhana, C.E. and Kusuma, A.Y. (2019). Open reduction internal fixation of bilateral pelvis fracture in dog: A case study. *Acta. Vet. Indones.* 7 (1); 23-28.
- Erwin, Gunanti, Handharyani, E. and Noviana, D. (2017). Blood profile of domestic cat (*Felis catus*) during skin graft recovery with different period. *J. Vet.* 18(1): 31-37.
- Fischer, A., Binder, E., Reif, U., Biel, M., Bokemeyer, J. and Kramer, M. (2012). Closed reduction and percutaneous fixation of sacroiliac luxations in cats using 2.4 mm cannulated screws; a cadaveric study. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol*, 25(1): 22–27.
- Harasen, G. (2007). Pelvic Fractures. *The Canadian veterinary journal*, 48(4), 427–428.
- Piermattei, D.L., Flo, G.L., DeCamp, C.E. (2006). *Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair*, 4th ed. St. Louis: Saunders, pp. 433–460.
- Shales, C., Moores, A., Kulendra, E., Whire, C., Toscano, M. and Langley-Hobbs, S. (2010). Stabilization of sacroiliac luxation in 40 cats using screws inserted in lag fashion. *Vet. Surg.* 39(6): 696–700.
- Shales, C.J., White, L. and Langley-Hobbs, S.J. (2009). Sacroiliac luxation in the cat: defining a safe corridor in the dorsoventral plane for screw insertion in lag fashion. *Vet. Surg.* 38(3): 343–348.
- Singh, H., Kowaleski, M.P., McCarthy, R.J. and Boudrieau, R.J. (2016). A comparative study of the dorsolateral and ventrolateral approaches for repair of canine sacroiliac luxation. *Vet. Comp. Orthopaed.* 29(1): 53-60.
- Stiffler, K.S. (2004). Internal fracture fixation. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 19 (3): 105-113.
- Tercanlioglu, H. and Sarierler, M. (2009). Femur fractures and treatment options in dogs which brought our clinics. *Lucrări științifice medicină veterinară.* 13 (2): 98-101.

Studi *In Vitro* Kombinasi Temulawak, Madu, dan Probiotik sebagai Kandidat *Growth Promoter*

Combination of Wild ginger, Honey, and Probiotics as Growth Promoter Candidates: An in Vitro Study

Marlin Cindy Claudya Malelak¹, Agnesia Endang Tri Hastuti Wahyuni^{2*}, Agustina Dwi Wijayanti³,
Vinsa Cantya Prakasita⁴

¹Program Studi Sains Veteriner, Sekolah Pascasarjana Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

³Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

⁴Departemen Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta

*Corresponding author; email: wahyuni_aeth@mail.ugm.ac.id

Diterima: 8 Januari 2020 direvisi: 10 Agustus 2022 disetujui: 24 Oktober 2022

Abstract

Growth Promoter Antibiotics are used to prevent disease and promote growth and production in poultry. Repeated administration of feed can have a microorganism resistance effect, accumulation of antibiotic residues in animal and environmental products and imbalance of normal microflora in the intestine. The antibacterial and carbohydrate content of some natural ingredients can be potential as a replacement candidate for AGP. This study aims to determine the role of a combination of wild ginger, honey, and probiotics (*Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*) as AGP candidate in Vitro. The antibacterial activity of the combination of wild ginger and honey against pathogens (*E. coli*) and their use against probiotics was tested by disk diffusion method, while the calculation of optical density values to determine the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration was carried out on *E. coli*. The ability of inhibition of probiotics against pathogens is also done by the disk diffusion method. The disk diffusion test results showed the best combination was extract of 25% wild ginger aquades + 100% Lombok honey with inhibition zone diameter (8,53 ± 0,03). Optical density values indicate this combination is able to inhibit and kill *E. coli* (DO 0,00 ± 0,002) and support *B. subtilis* (DO 0,18 ± 0,002) and *L. acidophilus* (DO 0,25 ± 0,005) significantly better than positive control. MIC value of wild ginger aquades extract and honey combination against *E. coli* is wild ginger aquades extract 3.13% + Lombok honey 25%, while MBC value is wild ginger aquades extract 6,25% + Lombok honey 25%. The combination of *B. subtilis* and *L. acidophilus* showed the largest inhibitory zone diameter against *E. coli* (7,30 ± 0,02 mm) compared to individual colonies. The combination of wild ginger and honey, in addition to inhibiting also able to kill pathogens and support the growth of probiotics, so this formula can be used as one of the replacement candidates for AGP.

Key words: antibiotic growth promoter; *E. coli*; honey; probiotics; wild ginger

Abstrak

Antibiotik *Growth Promoter* digunakan untuk mencegah penyakit serta pemacu pertumbuhan dan produksi pada unggas. Pemberian berulang pada pakan dapat memberikan efek resistensi mikroorganisme, akumulasi residu antibiotik pada produk hewani dan lingkungan serta ketidakseimbangan mikroflora normal pada usus. Kandungan antibakteri dan karbohidrat pada beberapa bahan alami dapat berpotensi sebagai kandidat pengganti AGP. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran kombinasi temulawak, madu, dan probiotik (*Bacillus subtilis* dan *Lactobacillus acidophilus*) sebagai kandidat AGP secara *in Vitro*. Aktivitas antibakteri kombinasi temulawak dan madu terhadap patogen (*E. coli*) serta pemanfaatannya terhadap probiotik diuji dengan metode difusi *disk*, sedangkan perhitungan nilai densitas optikal untuk menentukan *minimum inhibitory concentration*

dan *minimum bactericidal concentration* dilakukan terhadap *E. coli*. Kemampuan daya hambat probiotik terhadap patogen juga dilakukan dengan metode difusi *disk*. Hasil uji difusi *disk* menunjukkan kombinasi terbaik adalah ekstrak aquades temulawak 25% + madu Lombok 100% dengan diameter zona hambat (8,53,03). Nilai densitas optikal menunjukkan kombinasi ini mampu menghambat dan membunuh *E. coli* (DO 0,00,002) serta mendukung *B. subtilis* (DO 0,18,002) dan *L. acidophilus* (DO 0,25,005) signifikan lebih baik dari kontrol positif. Nilai MIC kombinasi ekstrak aquades temulawak dan madu terhadap *E. coli* adalah ekstrak aquades temulawak 3,13% + madu Lombok 25%, sedangkan nilai MBC adalah ekstrak aquades temulawak 6,25% + madu Lombok 25%. Kombinasi *B. subtilis* dan *L. acidophilus* menunjukkan diameter zona hambat terbesar terhadap *E. coli* (7,30,02 mm) dibandingkan koloni individu. Kombinasi temulawak dan madu, selain menghambat juga mampu membunuh patogen serta mendukung pertumbuhan probiotik, sehingga formula ini dapat digunakan sebagai salah satu kandidat pengganti AGP.

Kata kunci: antibiotik *growth promoter*; *E. coli*; madu; probiotik; temulawak

Pendahuluan

Antibiotik digunakan dengan tujuan meningkatkan pertumbuhan dan produksi serta mencegah penyakit pada unggas. Efek positif tersebut dapat berubah fungsinya saat penggunaan antibiotik sudah tidak sesuai anjuran dan dosis yang ditetapkan (Bahri *et al.*, 2005) sehingga dapat memberikan efek negatif seperti resistensi mikroorganisme, pengurangan bakteri baik pada usus, serta residu antibiotik pada produk hewani dan lingkungan. Food and Agriculture Organization menyatakan bahwa kejadian resistensi antibiotik baik pada manusia maupun hewan telah mencapai tingkat mengkhawatirkan di sebagian besar belahan dunia dan kini telah diakui sebagai ancaman yang muncul secara signifikan terhadap kesehatan masyarakat global dan keamanan pangan (Food and Agriculture Organization, 2016). Solusi alternatif yang dilakukan saat ini ialah eksplorasi berbagai bahan alami untuk memanfaatkan kemampuan aktivitas antibakteri serta meningkatkan produktivitas ternak. Penelitian mengenai kombinasi jamu lengkuas, jahe, temulawak dan madu dengan berbagai konsentrasi terbukti dapat meningkatkan produktivitas dan berat karkas ayam broiler (Kusuma, 2018). Suplementasi pakan dengan probiotik *Lactobacillus*, *Bacillus*, dan *Clostridium* dapat meningkatkan pertumbuhan (Deniz *et al.*, 2011), pencernaan nutrisi (Mountzouris *et al.*, 2010), dan kekebalan humoral (Yang *et al.*, 2012). Penelitian ini dirancang untuk membentuk formula kombinasi temulawak dan madu serta probiotik yang belum pernah dilakukan sebelumnya. Tujuan dari penelitian ini

untuk mengetahui peran kombinasi temulawak, madu, dan probiotik (*Bacillus subtilis* dan *Lactobacillus acidophilus*) sebagai kandidat pengganti AGP secara *in Vitro*.

Materi dan Metode

Materi berupa alat yang digunakan adalah cawan petri, tabung reaksi, spatula, konikel, *autoclave*, *incubator*, refrigerator, pinset, ose, bunsen, mikroskop, spuit, *microplate*, *microplate reader*, jangka sorong digital, *centrifuge*, dan *vortex*. Bahan yang digunakan adalah *Escherichia coli* ATCC® 11775 (patogen) dan *Bacillus subtilis* ATCC® 6633 (probiotik) yang diperoleh dari Balai Veteriner (BVET), serta *Lactobacillus acidophilus* (probiotik) yang diperoleh dari koleksi Pusat Antar Universitas (PAU) UGM, Yogyakarta, Indonesia, *Broth Heart Infusion* (BHI, Merck™), *phosphate buffered saline* (pH 7.4, Sigma™), *Mueller Hilton agar* (MHA, Merck™), ekstrak aquades temulawak (konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56%), madu Lombok (konsentrasi 100%), aquades, *blank disk* (Oxoid™), antibiotik *chloramphenicol disk* (C 30µg, Oxoid™).

Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri adalah difusi *disk* Kirby-bauer (Bauer *et al.* 1966) yaitu kultur bakteri patogen dan probiotik yang telah dikultur pada masing - masing media diresuspensi dengan *Phosphate Buffered Saline* (pH 7,4, Sigma™) sampai konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Niamsa dan Sittiwet, 2009). *Blank disk* (Oxoid™) diteteskan sebanyak 50 µl (Valgas *et al.*, 2007) kombinasi ekstrak aquades temulawak dan madu kemudian diletakkan pada permukaan media

MHA (Merck™) yang masing - masing telah dikultur *E. coli*, *B. subtilis*, dan *L. acidophilus*. *Chloramphenicol disk* (C 30µg, Oxoid™) digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan aquades steril *disk* digunakan sebagai kontrol negatif kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat serta zona pertumbuhan disekitar *disk*. Zona hambat (*clear zone*) yang mengelilingi *disk* menggambarkan adanya aktivitas antibakterial dari bahan alami terhadap patogen, sedangkan zona pertumbuhan di sekitar *disk* menunjukkan kemampuan bahan alami untuk mendukung pertumbuhan kandidat probiotik.

Metode selanjutnya berupa dilusi untuk menghitung nilai densitas optikal pada *microplate 96-well* dengan dasar *round* yang dijelaskan dalam *Clinical and Standard Institute M07-A9* dan *Clinical Institute Standard Institute M11-A8* {CLSI M07-A9, (2012); CLSI M11-A8, (2012); Prakasita et al. (2019). Ekstrak kombinasi dengan volume 25 µl (dalam 100 µl media *broth*, BHI untuk media kultur *E. coli* dan *B. subtilis* serta MRS *broth* untuk media kultur *L. acidophilus*) diletakkan pada sumuran pertama, kemudian dilakukan pengenceran dua kali lipat pada setiap sumuran berikutnya hingga konsentrasi terendah 1,56%. Sepuluh mikroliter masing - masing suspensi bakteri dengan konsentrasi 1,5 x 10⁸ CFU/mL ditambahkan pada tiap sumuran. Media *broth* yang ditambahkan ekstrak herbal berbagai konsentrasi digunakan sebagai kontrol negatif, sedangkan media *broth* yang dikultur dengan masing - masing bakteri dengan konsentrasi 1,5 x 10⁸ CFU/mL digunakan sebagai kontrol positif. *Microplate* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian nilai densitas optikal media kultur dibaca pada *microplate reader* dengan panjang gelombang 570 nm. Penentuan MIC merupakan hasil pengenceran empat kali dari konsentrasi awal ekstrak kombinasi terpilih yang dihitung nilai densitas optikalnya. Nilai densitas optikal yang menunjukkan angka 0,00 nm terhadap *E. coli* selanjutnya dikultur pada media MHA (Merck™) untuk menentukan MBC. Penentuan MBC dilakukan dengan teknik *lawning* (metode sebar) (Hacek et al., 1999). Larutan ekstrak kombinasi terpilih berdasarkan

hasil uji MIC diambil dari sumur plat mikrodilusi sebanyak 100 µl kemudian disebar pada 15 ml media MHA (Merck™) yang telah dipersiapkan kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Media agar yang tidak ditumbuhi bakteri ditetapkan sebagai MBC.

Pengujian antagonis probiotik terhadap patogen juga dilakukan dengan metode difusi *disk* (Son et al., 2017 ; Prakasita et al., 2019). Isolat kandidat probiotik yang sebelumnya telah dikultur pada media *broth* (Merck™) kemudian diresuspensi hingga konsentrasi 1,5 x 10⁸ cfu/ml, kemudian dikultur pada media MHA (Merck™) dengan metode agar tuang. Sebanyak 20 µl suspensi *B. subtilis*, *L. acidophilus* dan kombinasinya dengan konsentrasi 1 x 10⁶ cfu/ml diteteskan pada *blank disk* (Oxoid™). Kontrol positif yang digunakan adalah *Chloramphenicol disk* (C 30µg, Oxoid™) sedangkan *disk* yang diteteskan PBS sebagai pelarut suspensi dijadikan kontrol negatif. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan dilakukan pengukuran diameter zona hambat (mm). Semua metode pengujian dilakukan sebanyak tiga kali ulangan untuk meminimalisir hasil yang bias (Prakasita et al., 2019).

Hasil dan Pembahasan

Ekstrak aquades temulawak dengan berbagai konsentrasi dikombinasikan dengan madu Lombok. Kombinasi ini diharapkan dapat menghasilkan formulasi kombinasi ekstrak yang bekerja sinergis agar mampu menghasilkan efek terbaik terhadap pertumbuhan bakteri. Kombinasi ekstrak terbagi atas 5 kelompok yaitu, kombinasi ekstrak 1: ekstrak aquades 25% + madu Lombok; kombinasi ekstrak 2: ekstrak aquades 12,5% + madu Lombok; kombinasi ekstrak 3: ekstrak aquades 6,25% + madu Lombok; kombinasi ekstrak 4: ekstrak aquades 3,13% + madu Lombok; kombinasi ekstrak 5: ekstrak aquades 1,56% + madu Lombok. Hasil pengujian terhadap pertumbuhan ketiga bakteri disajikan pada Tabel 1, 2, 3.

Kombinasi ekstrak aquades temulawak konsentrasi 25% + madu Lombok konsentrasi 100% menunjukkan adanya zona hambat terbesar terhadap *E. coli* (Gambar 1) serta adanya zona pertumbuhan terhadap *B. subtilis* (Gambar 2A) dan *L. acidophilus* (Gambar 2B) yang lebih baik

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak aquades temulawak dan madu terhadap *E. coli*

Kombinasi ekstrak	Konsentrasi ekstrak aquades	Diameter zona hambat terhadap <i>E. coli</i> (mm)	
		Madu Lombok (100%)	
Temulawak	25 %	8,53,03	
	12,5 %	7,34,02	
	6,25%	6,65,02	
	3,13%	6,95,04	
	1,56%	6,96,03	

Tabel 2. Hasil uji difusi *disk* kombinasi aquades temulawak dan madu terhadap *B. subtilis*

Kombinasi ekstrak	Konsentrasi ekstrak aquades	Diameter zona hambat terhadap <i>B. subtilis</i> (mm)	
		Madu Lombok	
Temulawak	25%	<6	
	12,5 %	<6	
	6,25%	6,94,02	
	3,13%	7,03,02	
	1,56%	7,06,02	

Ket : <6 = zona hambat tidak terbentuk disekitar *disk*

Tabel 3. Hasil uji difusi *disk* kombinasi ekstrak aquades temulawak dan madu terhadap *L. acidophilus*

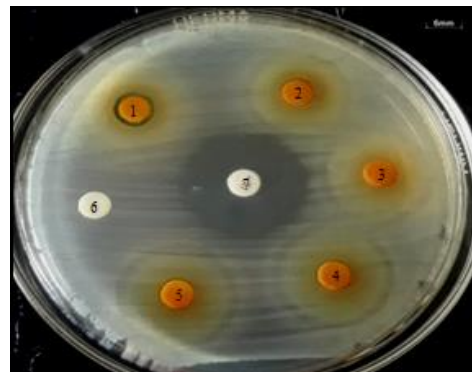
Kombinasi ekstrak	Konsentrasi ekstrak aquades	Diameter zona hambat terhadap <i>L. acidophilus</i> (mm)	
		Madu Lombok	
Temulawak	25%	< 6	
	12,5 %	< 6	
	6,25%	< 6	
	3,13%	< 6	
	1,56%	< 6	

Ket : <6 = zona hambat tidak terbentuk disekitar *disk*

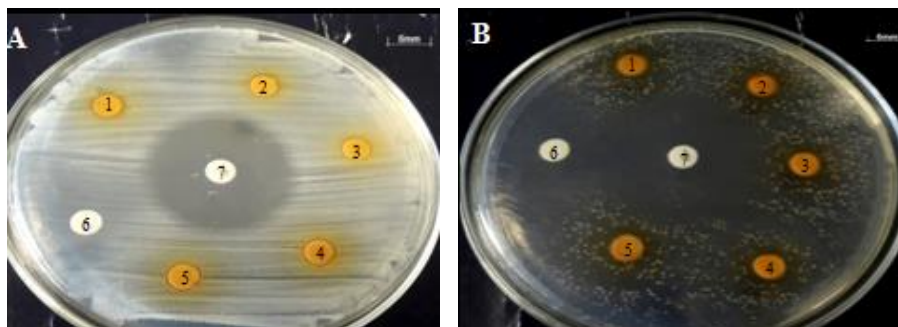
dan berbeda secara signifikan dengan kontrol positif ($P < 0,05$). Kombinasi yang menunjukkan diameter terbesar terhadap pertumbuhan *E. coli* serta mendukung pertumbuhan *B. subtilis* dan *L. acidophilus* dipilih untuk sebagai kombinasi ekstrak yang akan dihitung nilai densitas optikal untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (MIC) dan konsentrasi bunuh minimum (MBC) terhadap pertumbuhan *E. coli* serta untuk melihat kemampuan maksimal dari ekstrak kombinasi untuk mendukung pertumbuhan *B. subtilis* dan *L. acidophilus*

..Nilai densitas optikal ditentukan dari selisih nilai densitas optikal kombinasi ekstrak terpilih dengan nilai densitas optikal kontrol negatif (kombinasi ekstrak + media *broth* sesuai jenis bakteri). Hasil perhitungan nilai densitas optikal yang didapatkan merupakan hasil empat kali pengenceran dari konsentrasi awal ekstrak

kombinasi terpilih (25% dan 12,5% untuk ekstrak aquades temulawak dan 100% untuk madu). Data hasil pengujian disajikan pada Tabel 4.



Gambar 1. Hasil uji difusi *disk* kombinasi ekstrak aquades temulawak + madu Lombok dengan konsentrasi kombinasi ekstrak 1 (1), kombinasi ekstrak 2 (2), kombinasi ekstrak 3 (3), kombinasi ekstrak 4 (4), kombinasi ekstrak 5 (5), kontrol negatif (6), kontrol positif (7) terhadap *E. coli*.



Gambar 2. Hasil uji difusi disk kombinasi ekstrak aquades temulawak + madu Lombok dengan konsentrasi kombinasi ekstrak 1 (1), kombinasi ekstrak 2 (2), kombinasi ekstrak 3 (3), kombinasi ekstrak 4 (4), kombinasi ekstrak 5 (5), kontrol negatif (6), kontrol positif (7) terhadap *B. subtilis* (A) dan *L. acidophilus* (B).

Tabel 4. Nilai densitas optikal pada media yang diperkaya ekstrak aquades temulawak dan madu terhadap bakteri

Kombinasi ekstrak (konsentrasi sebelum pengenceran)	Nilai denistas optikal terhadap bakteri (nm)		
	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>L. acidophilus</i>
Madu Lombok + ekstrak aquades temulawak 25%	0,00,002	0,18,002	0,25,005
Madu Lombok + ekstrak aquades temulawak 12,5%	0,01,005	0,16,004	0,25,006
Kontrol positif	0,15,005	0,11,004	0,14,004

Secara umum, nilai densitas optikal kombinasi ekstrak aquades temulawak dengan madu yang dianalisis dengan statistik *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney* menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) dengan kontrol positif. Hasil kombinasi ekstrak aquades temulawak 12,5% (diencerkan empat kali menjadi 3,13%) dengan madu Lombok 100% (diencerkan menjadi 25%) menunjukkan adanya penambahan nilai densitas optikal (0,01,005) yang dapat diinterpretasikan bahwa kombinasi ekstrak ini mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* namun belum mampu membunuh bakteri tersebut. Hasil berbeda ditunjukkan oleh kombinasi ekstrak aquades temulawak 25% (diencerkan empat kali menjadi 6,25%) dengan madu Lombok 100% (diencerkan menjadi 25%) yaitu tidak adanya penambahan nilai densitas optikal (0,00,002) yang dapat diinterpretasikan bahwa efek bakterisidal bekerja maksimal terhadap pertumbuhan *E. coli* sehingga bakteri ini tidak dapat bertumbuh dan berkembang dengan baik. Berdasarkan nilai densitas optikal yang didapatkan maka MIC kombinasi ekstrak aquades temulawak dan madu Lombok ialah kombinasi ekstrak aquades 3,13% + madu Lombok 25% dan MBC kombinasi ekstrak aquades temulawak dan madu Lombok adalah

kombinasi ekstrak aquades temulawak 6,25% + madu Lombok 25%. Pengujian lanjutan dilakukan untuk memastikan serta menentukan konsentrasi bunuh minimum (MBC) dengan metode sebar dilakukan pada larutan kombinasi ekstrak dari metode dilusi yang nilai densitas optikalnya 0,00. Hasil pengujian membuktikan bahwa kombinasi ekstrak aquades temulawak 25% (diencerkan empat kali menjadi 6,25%) dengan madu Lombok 100% (diencerkan menjadi 25%) mampu membunuh *E. coli* yang dibuktikan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media agar (MHA). Data hasil pengujian MIC dan MBC kombinasi ekstrak disajikan pada Tabel 5.

Perhitungan nilai denistas optikal dengan konsentrasi yang sama juga dilakukan pada kandidat probiotik. Nilai densitas optikal kedua kandidat probiotik yang dianalisis dengan statistik *Kruskal-Wallis* menunjukkan adanya

Tabel 5. MIC dan MBC ekstrak kombinasi terhadap *E. coli*

Bakteri	Kombinasi ekstrak aquades temulawak + madu (%)	
	MIC	MBC
<i>E. coli</i>	Ekstrak aquades temulawak 3,13 + madu Lombok 25	Ekstrak aquades temulawak 6,25 + madu Lombok 25

perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) dengan kontrol positif. Penambahan nilai densitas optikal ditunjukkan oleh kandidat probiotik *B. subtilis* dan *L. acidophilus*. Kombinasi ekstrak aquades temulawak 12,5% (diencerkan empat kali menjadi 3,13%) dengan madu Lombok 100% (diencerkan empat kali menjadi 25%) dan kombinasi ekstrak aquades temulawak 25% (diencerkan empat kali menjadi 6,25%) dengan madu Lombok 100% (diencerkan empat kali menjadi 25%) menggambarkan kemampuan kombinasi ekstrak aquades temulawak dan madu Lombok untuk mendukung pertumbuhan kandidat probiotik. Efek yang sinergis antara kedua bahan alami ini, menyebabkan kandidat probiotik *B. Subtilis* dan *L. acidophilus* dapat bertumbuh dengan maksimal yang dibuktikan dengan nilai densitas optikal lebih tinggi dari kontrol positif (*media broth*).

Formulasi kombinasi ekstrak terbaik ditetapkan berdasarkan metode difusi, perhitungan nilai densitas optikal, penentuan MIC dan penentuan MBC. Ekstrak aquades temulawak 6,25 % + madu Lombok 25% (konsentrasi setelah empat kali pengenceran pada metode dilusi) ditetapkan sebagai kombinasi terbaik yang mampu membunuh *E. coli* serta mendukung pertumbuhan *B. subtilis* dan *L. acidophilus* dengan maksimal secara *in vitro*. Berdasarkan data hasil perbandingan MIC dan MBC dapat dilihat bahwa ekstrak aquades temulawak dengan konsentrasi 0,39% (3,9 mg/ml) sudah cukup mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* sedangkan untuk madu Lombok dan madu komersial dibutuhkan 25% (250 mg/ml) untuk menghambat pertumbuhan *E. coli*. Ekstrak individu temulawak maupun madu belum mampu membunuh *E. coli* sehingga MBC ekstrak individu tidak bisa ditentukan. Perbandingan hasil ini menunjukkan secara nyata bahwa dibutuhkan kombinasi kombinasi ekstrak aquades temulawak 6,25% (6,25 mg/ml) dan madu Lombok 25% (250 mg/ml) untuk membunuh *E. coli*. Formulasi ekstrak individu maupun kombinasi ekstrak dengan konsentrasi ini juga mampu mendukung pertumbuhan *B. subtilis* dan *L. acidophilus* secara maksimal.

Perbedaan aktivitas antibakteri dari setiap bahan uji dapat dipengaruhi oleh 4 faktor yaitu, konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa

metabolit, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat (Jawetz *et al.*, 1996). Pelczar dan Chan (1988), menyatakan bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas bahan antimikroba, yaitu konsentrasi bahan antimikroba. Daya hambat yang dihasilkan oleh bahan antimikroba akan semakin tinggi apabila konsentrasinya juga tinggi (Amrie *et al.*, 2014). Faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil diameter zona hambat dengan metode Kirby-Bauer adalah kemampuan ekstrak untuk berdifusi kedalam kertas cakram. Ekstrak yang digunakan dalam uji ini termasuk dalam ekstrak kental. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin tinggi pula viskositasnya (Madan dan Singh, 2010). Menurut Priyatmoko (2008), semakin tinggi viskositas suatu ekstrak maka proses difusi suatu zat antibakteri kedalam media akan semakin rendah sehingga akan mempengaruhi hasil diameter zona hambat.

Rimpang temulawak memiliki senyawa utama antimikroba yang khas yaitu xanthorrhizol (XNT) dari golongan terpenoid yang lebih besar ($\geq 6\%$) dibandingkan pada kunyit ($\geq 3\%$). Temulawak secara umum mengandung senyawa antibakterial yang termasuk dalam golongan minyak atsiri (Sidik *et al.*, 1995 ; Hernani dan Haryani, 2001). Aktivitas antimikroba dari setiap jenis minyak atsiri dapat dipengaruhi oleh jenis dan jumlah komponen aktif yang dikandungnya, varietas atau kultivar, faktor iklim dan tanah tempat tumbuh/daerah asal, bentuk rimpang segar atau kering, serta metode ekstraksi dan jenis pelarut yang digunakan (Burt, 2004). Demikian pula untuk produksi bahan aktif lain seperti senyawa - senyawa terpenoid dalam minyak atsiri juga sangat dipengaruhi oleh kondisi geografis habitat tumbuhan serta faktor - faktor spesifik lain yang berpengaruh yang belum diketahui (Li *et al.*, 2011).

Menurut Hidayathulla *et al.* (2011), ekstraksi aquades, methanol, etil asetat, dan n-heksan akan menghasilkan larutan yang mengandung senyawa terpenoid, fenol dan alkaloid karena tingkat kepolaran pelarut yang digunakan sama, yaitu dari pelarut polar sampai semi polar atau non polar. Siswandono dan Soekardjo (1995), menyatakan bahwa turunan senyawa fenol akan berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses

adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen dan dapat merubah permeabilitas membran sel. Penetrasi fenol dengan kadar yang tinggi ke dalam sel dapat menyebabkan koagulasi protein dan lisis pada membran sel, sedangkan senyawa fenol dengan konsentrasi rendah dapat membentuk ikatan lemah dan mudah terurai sehingga apabila terjadi penetrasi fenol ke dalam sel dapat menyebabkan koagulasi protein dan lisis pada membran sel dapat terjadi (Parwata dan Dewi, 2008).

Mekanisme peran antibakteri lainnya dari unsur minyak atsiri yaitu terpenoid yang diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen - komponen lipofilik (Cowan, 1999) dan kurkumin yang memiliki efek fototoksik terhadap bakteri ketika terkena cahaya dengan memproduksi hidrogen peroksida yang dapat menyebabkan kerusakan membran sitoplasma (Dahl *et al.*, 1989). Terpenoid, phenol, dan hidrogen peroksida diduga bekerja pada bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma, hal ini mengakibatkan ion anorganik yang penting (trace element yaitu Fe, Cu, Zn), nukleotida, koenzim, dan asam amino merembes keluar sel, sertamencegahmasuknyabahan-bahanmakanan atau nutrisi yang diperlukan bakteri untuk menghasilkan energi (Volk dan Wheeler, 1993). Membran sitoplasma bertugas melaksanakan metabolisme energi dalam sel - sel prokariotik sehingga, jika membran sitoplasma rusak maka metabolisme energi tidak akan berlangsung. Hal inilah yang menyebabkan ketidakmampuan sel untuk tumbuh dan menyebabkan kematian sel. Ekstrak aquades jahe merah dan temulawak dengan masing - masing kosentrasi terbukti mampu menghambat *E. coli* yang dibuktikan dengan adanya penurunan nilai densitas optikal larutan berbagai konsentrasi ekstrak, jika dibandingkan dengan kontrol positif.

Beberapa studi menunjukkan bahwa umumnya minyak atsiri lebih aktif terhadap bakteri Gram positif dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Bisping dan Amtsberg (1988), menyatakan bahwa reaksi yang disebabkan oleh senyawa fenolik herbal akan berpengaruh terhadap dinding sel bakteri. Penyusunan dinding sel yang sederhana pada bakteri Gram positif dan tidak adanya selaput luar menyebabkan senyawa antibakteri dapat menembus dinding sel

serta mengganggu proses biosintesis dinding sel (Ajizah *et al.*, 2007). Penelitian sebelumnya terkait penggunaan temulawak sebagai bahan fitobiotik telah banyak dilakukan, namun kemampuannya untuk mengontrol pertumbuhan *E. coli* (APEC) masih jarang diteliti secara *in vitro*.

Zhou *et al.* (2016), menyatakan bahwa kandungan polifenol pada ekstrak herbal merupakan senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi untuk mengatasi radikal bebas dan berperan dalam mengatasi stres oksidatif yang dihasilkan oleh aktivitas metabolik dengan menyediakan lingkungan mikroaerofilik bagi probiotik. Kandungan minyak atsiri pada herbal juga mampu merangsang dan meningkatkan pertumbuhan bakteri menguntungkan (misalnya, *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria*) pada usus (Vidanarachchi *et al.*, 2006). Pendapat lain oleh Xue dan Meng (1996), menyatakan bahwa komponen polisakarida dianggap sebagai komponen aktif imun yang paling penting.

Penelitian sebelumnya mengenai kemampuan ekstrak kombinasi ekstrak temulawak dan ekstrak jahe merah untuk mendukung pertumbuhan *L. acidophilus* yang dilakukan oleh Prakasita *et al.* (2019), membuktikan bahwa kombinasi ekstrak etanol jahe merah maupun ekstrak aquades temulawak mampu mendukung pertumbuhan kandidat probiotik ini serta meningkatkan kemampuan adhesi yang lebih baik dari bakteri patogen pada sel epitel usus ayam. Penjelasan lain mengenai mekanisme senyawa pada herbal yang mendukung hasil penelitian ini disampaikan oleh Bisping dan Amtsberg (1988), bahwa perbedaan ketebalan dinding sel bakteri non patogen dan patogen berpengaruh terhadap reaksi yang disebabkan oleh senyawa fenolik. Dinding sel bakteri non patogen akan mengalami dehidrasi sehingga pori - pori akan mengecil sehingga menyebabkan daya rembes dinding sel dan fungsi membran menurun dan meminimalisir kerusakan dinding sel probiotik.

Aktivitas antibakteri madu dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kadar gula yang tinggi, kelembaban yang rendah, pH yang rendah, dan hidrogen peroksida (Kwakman dan Zaat, 2012). Pendapat lain oleh Aggad dan Guemour (2014), menyatakan bahwa aktivitas

antibakteri pada madu dipengaruhi oleh osmolaritas, pH, aktivitas senyawa peroksida dan non peroksida. Mekanisme aktivitas antibakteri yang berkaitan dengan osmolaritas madu diakibatkan daya osmosis madu yang tinggi, karena 84% komponen kandungan madu adalah glukosa dan fruktosa sedangkan air hanya berkisar 15 - 21% (Nadhilla, 2014). Osmolaritas menyebabkan interaksi kuat antara molekul gula dengan molekul air dan meninggalkan molekul air yang sedikit untuk bakteri, sehingga pertumbuhan bakteri sulit terjadi (Suranto 2004). Faktor lain berupa hidrogen peroksida yang terkandung dalam madu dihasilkan oleh proses glukosa oksidase merupakan komponen penting yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Molan, 2006). Madu juga mengandung senyawa flavonoid yang dapat merusak dinding sel bakteri yang bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga flavonoid dapat masuk ke dalam inti sel dan bereaksi dengan DNA dan menyebabkan bakteri lisis kemudian mati (Lingga dan Rustama, 2005). Hasil ini juga sesuai dengan penelitian Astrini *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa madu pahit memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji Gram negatif maupun Gram positif.

Madu mengandung karbohidrat sekitar 80% yang terdiri dari monosakarida, polisakarida (Landry *et al.*, 2016), dan oligosakarida (Karimah *et al.*, 2011). Kandungan oligosakarida telah banyak digunakan dalam berbagai produk makanan dengan tujuan sebagai sumber prebiotik yang merupakan komponen pangan yang tidak tercerna dan memberikan keuntungan melalui modulasi mikroba yang berguna bagi kesehatan usus besar (probiotik) (FAO 2007). Karimah (2010), menyatakan bahwa aktivitas prebiotik isolat oligosakarida madu lokal asal Sumbawa memiliki aktivitas prebiotik yang lebih tinggi dibanding dengan inulin yang merupakan prebiotik komersil. Rosendale *et al.* (2008), juga membuktikan adanya efek sinergis dari madu Manuka (UMF 20+) yang dapat meningkatkan pertumbuhan probiotik (*L. reuteri*, *L. rhamnosus*, dan *B. lactis*) dan menghambat patogen (*S. typhimurium*, dan *S. aureus*). Gibson dan Roberfroid (1995), juga menyatakan bahwa mikroflora normal seperti *Lactobacillus* dan *bifidobacteria* akan mem-

fermentasi oligosakarida pada madu yang tidak dapat dicerna, untuk kepentingan metabolisme bakteri tersebut sehingga dapat memberikan keuntungan bagi tubuh inang. Kandungan prebiotik pada madu juga dapat menjaga pertumbuhan dan stabilitas spesies (Gibson *et al.*, 2010).

Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Zhou *et al.* (2016) yang membuktikan bahwa pemberian formulasi kombinasi herbal pada ayam broiler berpotensi menjaga keseimbangan mikroflora normal pada saluran pencernaan. Kusuma (2018), juga menunjukkan bahwa pemberian kombinasi jamu lengkuas, jahe, temulawak, dan madu dengan berbagai konsentrasi terbukti dapat meningkatkan produktivitas, dan berat karkas ayam broiler. Peningkatan produktivitas ayam broiler paling baik ditunjukkan setelah pemberian kombinasi jamu selama 17 hari dengan konsentrasi 2,5%. Pendapat lain oleh Cavallini *et al.* (2009), menyatakan bahwa probiotik juga dapat menurunkan aktivitas acetyl coenzim A carboxylase yaitu enzim yang bertanggung jawab terhadap laju sintesis asam lemak, dengan cara menghasilkan statin sebagai inhibitor pembentukan lemak di dalam hati. Ashayerizadeh *et al.* (2011), menunjukkan penggunaan probiotik yang dilengkapi dengan prebiotik dapat meningkatkan efisiensi energi dan protein serta dapat menurunkan kandungan kolesterol darah daripada penggunaan probiotik dan prebiotik secara parsial. Penambahan probiotik dan prebiotik tidak berpengaruh negatif terhadap ayam broiler sehingga memiliki pertumbuhan yang sama dengan ayam yang diberi antibiotik, bahkan dapat meningkatkan aktivitas antioksidan sehingga oksidasi lemak dapat dihambat (Aristides *et al.*, 2012).

Pengujian sifat antagonis antara probiotik dan patogen dengan metode difusi Kirby - bauer dilakukan untuk mengetahui kemampuan *B. subtilis* dan *L. acidophilus* untuk menghambat pertumbuhan *E. coli* (Gambar 3). Data diameter zona hambat yang dihasilkan, dapat dilihat pada Tabel 6.

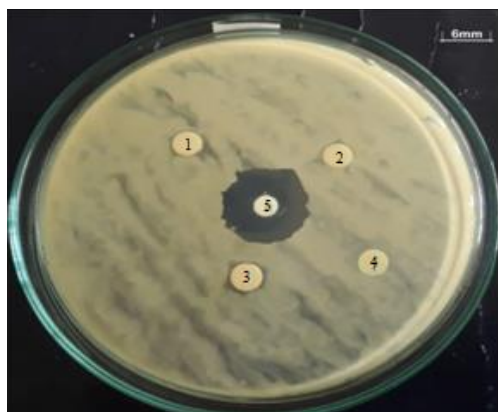
Kandidat probiotik *B. subtilis*, *L. acidophilus* dan kombinasinya menunjukkan adanya kemampuan menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan diameter zona hambat yang lebih dari 6 mm disekitar *disk* yang masing - masing me-

ngandung *B. subtilis*, *L. acidophilus*, kombinasi *B. subtilis* + *L. acidophilus*, dan kontrol positif (*Chloramphenicol*), sedangkan kontrol negatif (PBS) tidak menunjukkan adanya zona hambat disekitar *disk*. Hasil perhitungan diameter zona hambat yang dianalisis dengan statistik Anova *One way* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada masing - masing bakteri dan juga kombinasi kedua bakteri tersebut ($P < 0,05$). *B. subtilis* menunjukkan diameter zona hambat yang lebih besar (7,18,02) dibandingkan *L. acidophilus* (6,95,03), namun kombinasi kedua kandidat probiotik memiliki diameter zona hambat yang paling baik yaitu 7,30,02 dan signifikan berbeda ($P < 0,05$) dibandingkan dengan kandidat probiotik individu.

Tabel 6. Hasil uji difusi *disk B. subtilis, L. acidophilus* dan kombinasinya terhadap pertumbuhan *E. coli*

Kandidat probiotik	Diameter zona hambat kandidat probiotik terhadap <i>E. coli</i> (mm)
<i>B. subtilis</i>	7,18 ,02
<i>L. acidophilus</i>	6,95 ,03
Kombinasi	7,30 ,02

Aktivitas antibakteri oleh probiotik dipengaruhi oleh beberapa faktor penting. Sinha (1986), melaporkan bahwa metabolit utama bakteri asam ialah asam lemak rantai pendek dan asam laktat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen di usus seperti *E. coli*. *Lactobacillus acidophilus* menghasilkan dua komponen bacteriocin yaitu bacteriosin lactacin B, dan acidolin yang merupakan komponen ekstraseluler berupa peptida atau senyawa berupa protein antimikroba yang dapat membe-



Gambar 3. Hasil uji aktivitas antibakteri kandidat probiotik *B. subtilis* (1), *L. acidophilus* (2), kombinasi (3), kontrol negatif (4), kontrol positif (5) terhadap *E. coli*.

rikan respon antagonis dengan menghambat berkembangnya organisme patogen (Jagadesswari, 2010). Hal serupa juga ditunjukkan oleh mekanisme penghambatan *B. subtilis* yang menghasilkan antibiotik bersifat toksik terhadap mikroba lain seperti iturin A yang merupakan lipoprotein, subtilin yang merupakan senyawa peptida, dan basitrasin. Basitrasin merupakan polipeptida yang bekerja menghambat pembentukan dinding sel (Soesanto, 2008).

Probiotik dapat menjadi alternatif potensial pengganti antibiotik untuk menghambat pertumbuhan serta mengurangi kolonisasi patogen enterik pada usus unggas (FAO, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh El-Naggar (2004) menyatakan bahwa secara *in vitro* *B. subtilis* memiliki aktivitas antagonis terhadap patogen *E. coli* O157:H7 dan *S. thyphymurium* yang lebih baik dibandingkan dengan *Lactobacilli*. Manin (2009) juga menyatakan bahwa penggunaan probiotik seperti *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, dan *L. acidophilus* melalui air minum dilaporkan dapat menggantikan peran antibiotik, menjaga kesehatan saluran pencernaan ternak serta menurunkan jumlah *E. coli*. Pendapat lainya oleh Fuller (1989), menjelaskan bahwa konsentrasi $10^7 - 10^8$ CFU/g dari *Lactobacillus* efektif menekan pertumbuhan bakteri patogen secara signifikan karena penurunan keasaman atau pH dari produksi asam laktat.

Kesimpulan

Kombinasi ekstrak aquades temulawak dengan madu Lombok merupakan formulasi yang dapat dijadikan sebagai pengganti AGP. Pertumbuhan kombinasi probiotik *B. subtilis*, dan *L. acidophilus* efektif menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Daftar Pustaka

- Ajizah, A., Thihana., Mirhanuddin. (2007). Potensi Ekstrak Kayu Ulin (Euksideroxyton Zwageri) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus Secara In Vitro. Bioscientiae. 4 (1): 37-42.
- Amrie, A.G.A, Ivan., Anam, S., Ramadhanil. (2014). Uji Efektifitas Ekstrak Daun Dan Akar Harrisonia Perforata Merr. Terhadap

- Pertumbuhan Bakteri *Vibrio Cholerae*. *Jurnal Of Natural Science*. 3(3):331-340.
- Aristides, L. G. A., Paiao, F. G., Murate, L. S., Oba, A., dan Shimokomak, M. (2012). The effects of biotic additives on growth performance and meat qualities in broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 11(9): 599–604.
- Ashayerizadeh, A., Dabiri, N., Mirzadeh K., dan Ghorbani, M. (2011). Effect of dietary supplementation of probiotic and prebiotic on growth indices and serum biochemical parameters of broiler chickens. *J. Cell Anim. Biol*. 5: 152-156.
- Astrini, D., Wibowo, M.S., Nugrahani, I. (2014). Aktivitas Antibakteri Madu Terhadap Bakteri Gram Negatif Dan Gram Positif serta Potensinya Dibandingkan Terhadap Antibiotik Kloramfenikol, Oksitetrasiklin dan Gentamisin. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 39(3): 75.
- Bahri, S., Masbulan, E., Kusumaningsih, A. (2005). Proses Praproduksi Sebagai Faktor Penting Dalam Menghasilkan Produk Ternak Yang Aman Untuk Manusia. *J. Litbang Pertanian*, 24(1).
- Bisping, W., Amtsberg, G.A. (1988). *Color Atlas for The Diagnosis of Bacterial Pathogen in Animals*. Paul Parey Scientific Publishers. Berlin and Hamburg : 160-168.
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in food-a review. *International Journal of Food Microbiology* 94: 223-253.
- Cavallini, D. C. U., Bedani, R., Bomdespacho, L. Q., Vendramini, R. C., dan Rossi, E. A. (2009). Effects of probiotic bacteria, iso-flavones and simvastatin on lipid profile and atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits: a randomized double-blind study. *Lipids in Health and Disease*, 8(1): 1–8.
- Cowan, M.M. (1999). Plant Products As Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 564 – 582.
- Dahl, T.A., W.R. Midden., dan P.E. Hartman. (1989). Comparison Of Killing Of Gram-negatif And Gram-Positif Bacteria By Pure Singlet Oxygen. *J. Bacteriol*. 171: 2188-2194.
- Deniz, G., A. Orman, F. Cetinkaya, H. Gencoglu, Y. Meral, And I. I. Turkmen. (2011). Effects Of Probiotic (*Bacillus Subtilis* DSM 17299) Supplementation On The Caecal Microflora And Performance In Broiler Chickens. *Revue Méd. Vét*. 162: 538–545.
- El-Naggar Moustofa, Y.M. (2004). Comperative study of probiotic cultures to control the growth of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salonella typhimurium*. *Biotechnology*, 3 (2): 173-180.
- Food And Agriculture Organization Of The United Nations (FAO). (2016). *Probiotics In Animal Nutrition – Production, Impact And Regulation* By Yadav S. Bajagai, Athol V. Klieve, Peter J. Dart And Wayne L. Bryden. Editor Harinder P.S. Makkar. FAO Animal Production And Health Paper No. 179, Rome, 5: 15-31.
- FAO.(2007). FAO Technical Meeting On Prebiotics. ISBN 92-5-105513-0.
- Fuller, R. (1989). Probiotic in Man and Animals. *Journal of Applied Bacteriology*. 66: 365-378.
- Gibson, G.R., dan M.B. Roberfroid. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr*. 125: 1401-1412.
- Gibson, G. R., Scott, K.P., Rastall, R.A., Tuohy, K.M., Hotchkiss, A., Ferrandon, A.D., Gareau, M., Murphy, E.F., Saulnier, D., Loh, G., Macfarlane, S., Delzenne, N., Ringel, Y., Kozianowski, G., Dickmann, R., Wijnkoop, I. L., Walker, C., and Buddington, R. (2010). Dietary prebiotics: current status and new definition. *The Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 7: 1–19.
- Hacek, M.D., Dressel C.D., dan Peterson, R.L. (1999). Highly Reproducible Bactericidal Activity Test Results by Using a Modified National Committee for Clinical Laboratory Standards Broth Macrodilution Technique. *J Clin Microbiol*. 37(6): 1881–1884.

- Hernani dan Hayani, E. (2001). Identification of Chemical Components on Red Ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) by GC-MS. Proc. International Seminar on Natural Products Chemistry and Utilization of Natural Resources : 501-505.
- Hidayathulla, S., C.K. Keshava, dan K.R. Chandrashekar. (2011). Phytochemical Evaluation And Antibacterial Activity Of *Pterospermum Diversifolium* Blune. Int.J.Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences. 3(2): 165-167.
- Jagadesswari, S., Vidya, P. (2010). Isolation And Characterization Of Bacteriocin Producing *Lactobacillus* Sp. From Traditional Fermented Food. Electronic Journal Of Environmental Agricultural And Food Chemistry. 9(3):575-581.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. (1996). Mikrobiologi Kedokteran, edisi 20. EGC. Jakarta.
- Karimah U. (2010). Isolasi Oligosakarida Madu Lokal Dan Analisis Aktivitas Prebiotiknya. Skripsi. Bogor. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Karimah, U., Anggowo, Y.N., Falah, S., Suryani. (2011). Isolasi Oligosakarida Madu Lokal Dan Analisis Aktivitas Prebiotiknya. J Gizi Pangan. 6: 217–224.
- Kusuma, S.B. (2018). Pemanfaatan Kombinasi Jamu Lengkuas, Jahe, Temulawak Dan Madu Terhadap Produktivitas Ayam Broiler. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kwakman, P. H. S., dan Zaat, S. A. J. (2012). Antibacterial Components of Honey. IUBMB Life. 64(1): 48–55.
- Landry, B.K,U., Moumita, S., Jayabalan, R., François, Z.N. (2016). Honey, probiotics and prebiotics: Review. J Pharm Chem Biol Sci. 7: 24–28.
- Li, S., Yuan, W., Wang., P., Yang, P., Aggarwal, B. B. (2011). Chemical composition and product quality control of turmeric (*C. longa* L.). Pharm. crops. 2: 28-54.
- Lingga, M.E., dan Rustama, M.M. (2005). Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Air Dan Etanol Bawang Putih (*Allium Sativum* L.) Terhadap Bakteri Gram Negatif Dan Gram Positif Yang Diisolasi Dari Udang Dogol (*Metapenaeus Monoceros*), Udang Lobster (*Panulirus* Sp) Dan Udang Rebon (*Mysis* Dan *Acetes*). Jurnal Biotika. 5 (2).
- Madan, J., dan Singh, R. (2010). Formulation And Evaluation Of Aloe Vera Topical Gels, Int.J.Ph.Sci. 2 (2): 551-555.
- Manin, F. (2009). Potensi *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus fermentum* dari Saluran Pencernaan Ayam Buras Asal Lahan Gambut sebagai Sumber Probiotik. Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan. 8 (5): 221-228.
- Molan, P.C. (2006). Using Honey in Wound Care. International Journal of Clinical Aromatherapy France. 3(3): 21-24.
- Mountzouris, K. C., P. Tsitsrikos, I. Palamidi, A. Arvaniti, M. Mohnl, G. Schatzmayr, dan K. Fegeros. (2010). Effects Of Probiotic Inclusion Levels In Broiler Nutrition On Growth Performance, Nutrient Digestibility, Plasma Immunoglobulins, And Cecal Microflora Composition. Poult. Sci. 89: 58–67.
- Nadhilla, N.F. (2014). The Activity Of Antibacterial Agent Of Honey Against *Staphylococcus Aureus*. Jurnal Majority. 3(7): 96-98.
- Niamsa, N., dan Sittiwet C. (2009). Antimicrobial activity of curcuma longa aqueous extract. Journal of Pharmacology and Toxicology, 4: 173-177.
- Parwata, I.M., O.A., dan P.F.S. Dewi. (2008). Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dari Rimpang Lengkuas (*Alpina Galanga* L). J.Kimia. 2(2): 100-104.
- Pelczar, M.J., dan E.C.S. Chan. (1986). Dasar-dasar mikrobiologi 2. Universitas Indonesia. Jakarta: 489-522.
- Prakasita, V.C., Asmara, W., Widyarini, S., Wahyuni, A.E.T.H. (2019). Combinations Of Herbs And Probiotics As An Alternative

- Growth Promoter : An *In Vitro* Study. Veterinary World. EISSN : 2231-0916.
- Priyatmoko, W. (2008). Aktivitas Antibakteri Karang Lunak Hasil Transplantasi (*Sinularia* Sp.) Pada Dua Kedalaman Berbeda Di Perairan Pulau Pramuka Kepulauan Seribu, Dki Jakarta. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rosendale, D. I., Maddox, I. S., Miles, M. C., Rodier, M., Skinner, M., Sutherland, J. (2008). High-throughput microbial bioassays to screen potential New Zealand functional food ingredients intended to manage the growth of probiotic and pathogenic gut bacteria. *International Journal of Food Science and Technology*. 43: 2257–2267.
- Sidik, Mulayono, M.W., dan Muhtadi, A. (1995). *Temulawak (Curcums xanthorrhiza Roxb)*. Yayasan Pengembangan dan Pemanfaatan Obat Bahan Alam. Jakarta.
- Sinha, B. B., Sampath, K. T., Khan, M. Y. (1986). Effect of feeding heat treated groundnut cake on growth and certain blood constituents in crossbred calves. *Indian J. Nutr. Diet.* 23 (2): 45-50.
- Soesanto, L. (2008). Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman. PT, Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Suranto, A. (2004). Khasiat Dan Manfaat Madu Herbal. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Vidanarachchi, J. K. (2006). Regulation of intestinal microflora and productivity of broiler chickens by prebiotic and bioactive plant extracts. Thesis. Faculty of Science, University of New England Armidale. Australia.
- Volk, W.A., dan Wheeler, M.F. (1993). Mikrobiologi Dasar III. Erlangga. Jakarta.
- Yang, C. M., G. T. Cao, P. R. Ferket, T. T. Liu, L. Zhou, L. Zhang, Y. P. Xiao, dan A. G. Chen. (2012). Effects Of Probiotic, *Clostridium Butyricum*, On Growth Performance, Immune Function, And Cecal Microflora In Broiler Chickens. *Poult. Sci.* 91: 2121–2129.
- Zhou, Q., Wang, S., Yang, G., Zhao, W., dan Li, H.L. (2016). Development and Evaluation of Herbal Formulation with Antipathogenic Activities and Probiotics Stimulatory Effect. *Journal Integrative Agriculture*. 15 (5): 1103-1111.

Kajian Keragaman Genetik *Catfish* Asli Indonesia Berdasar Sekuen Nukleotida Gen ND1

Study of Genetic Diversity of Native Indonesian Catfish Based on Nucleotide Sequences of the ND1 Gene

Rini Widayanti^{1*}, Siti Qiorotun Naimah², Rahma Prihutami³, Trini Susmiati⁴

^{1,4}Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

^{2,3} Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

Jl. Fauna, Nomor 2, Karangmalang, Yogyakarta 55281, Indonesia

*Email: rini_widayanti@ugm.ac.id

Diterima: 31 Desember 2020, direvisi: 4 Oktober 2022, disetujui: 24 Oktober 2022

Abstract

One of the native catfish to Indonesia is the baung fish (*Hemibagrus*). Baung fish are found in rivers in Sumatra, Kalimantan and Java. The catfish population is declining, thus conservation is needed to prevent extinction. To conduct an effective conservation efforts, molecular studies are needed to confirm the fish species from the three islands. Mitochondrial DNA is one of the markers that is often used to see the lineage and kinship of animals for conservation purposes. The purpose of this study is to determine the genetic diversity of the NADH Dehydrogenase Subunit I (ND1) gene catfish from each of these locations, can be used as a genetic marker. Samples were obtained from their natural habitat, namely Magelang (5), Palembang (3), Riau (2), Samarinda (2), 2 from Sintang, and 3 from Banjarmasin. The DNA of the fish sample was then isolated and then used as a template for amplification of DNA fragments using PCR techniques. Amplikon (PCR product) was then purified by gel extraction and then sequenced to determine the DNA sequence. The potential of DNA sequences as catfish genetic markers was proven by analyzing genetic diversity between species using the MEGA version 7.0 program (Kumar et al., 2016). The sequencing results 972 nucleotides composing the ND gene, and found differences in 268 nucleotide sites and 47 amino acid sites. Based on the nucleotide sequence of the ND1 gene, catfish from the Progo river (Magelang, Central Java), the Musi river (Palembang, Sumatra), the Kampar river (Riau), the Kapuas river (Sintang, Kalimantan), the Martapura river (Banjarmasin), the Mahakam river (Kalimantan) is included in the *Hemibagrus* sp.; catfish from the Elo river (Magelang, Central Java) belongs to the genus *Mystus* sp.; catfish from the Bengawan Solo river (Bojonegoro, East Java) belongs to the *Pangasius* sp.

Key words: biodiversity; catfish; Indonesia; ND1; sequencing

Abstrak

Salah satu *catfish* yang merupakan ikan asli Indonesia adalah ikan baung (*Hemibagrus*). Ikan baung banyak terdapat di sungai di daerah Sumatra, Kalimantan, dan Jawa. *Catfish* tersebut sudah semakin sedikit populasinya sehingga diperlukan pelestarian untuk mencegah kepunahan. Agar upaya pelestarian berhasil guna maka diperlukan kajian molekuler untuk peneguhan dari spesies ikan dari ke tiga pulau tersebut. DNA mitokondria merupakan salah satu marker yang sering digunakan untuk melihat silsilah dan kekerabatan dari satwa-satwa untuk tujuan konservasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya keragaman genetik Gen NADH Dehydrogenase Subunit I (ND1) mitokondria *catfish* dari masing-masing lokasi tersebut dan diharapkan dapat dijadikan sebagai penanda genetik. Sampel diperoleh dari habitat aslinya, yaitu Magelang (5ekor), Palembang (3 ekor), Riau (2 ekor), Samarinda (2 ekor), 2 ekor dari Sintang, dan 3 ekor dari Banjarmasin. Sampel kemudian diisolasi DNANYa untuk selanjutnya digunakan sebagai cetakan untuk

amplifikasi fragmen DNA dengan teknik PCR. Amplikon (produk PCR) kemudian dimurnikan dengan ekstraksi gel dan selanjutnya disekuensing untuk menentukan sekuen DNANYa. Potensi sekuen DNA sebagai penanda genetik *catfish* dibuktikan dengan menganalisis keragaman genetik antar spesies menggunakan program MEGA versi 7.0 (Kumar *et al.*, 2016). Hasil sekuensing diperoleh 972 nukleotida penyusun gen ND, terdapat 268 situs nukleotida yang dan 47 situs asam amino yang berbeda. Berdasar sekuen nukleotida gen ND1, *catfish* asal sungai Progo (Magelang, Jawa Tengah), sungai Musi (Palembang, Sumatra), sungai Kampar (Riau), sungai Kapuas (Sintang, Kalimantan Barat), sungai Martapura (Banjarmasin), sungai Mahakam (Samarinda, Kalimantan Timur) adalah termasuk ke dalam *Hemibagrus nemurus*; *catfish* asal sungai Elo (Magelang, Jawa Tengah) termasuk ke dalam genus *Mystus sp.*; *catfish* asal sungai Bengawa Solo (Bojonegoro, Jawa Timur) termasuk ke dalam kelompok *Pangasius sp.*

Kata kunci: *catfish*; Indonesia; keragaman; ND1; sekuensing

Pendahuluan

Salah satu *catfish* yang merupakan ikan asli Indonesia adalah ikan baung (*Hemibagrus*). Ikan baung banyak terdapat di sungai di daerah Sumatra, Kalimantan, dan Jawa. Saat ini, jumlah ikan baung sudah semakin berkurang karena beberapa alasan, misalnya banyak diburu masyarakat karena memiliki citarasa yang enak, adanya ikan invasif maupun ikan invasif asing, berkurangnya ketersediaan pakan, atau adanya polusi pencemaran pada aliran sungai. Pelestarian *catfish* asli Indonesia ini sangat diperlukan untuk mencegah kepunahan. Agar upaya pelestarian berhasil guna maka diperlukan kajian molekuler dari ikan tersebut untuk peneguhan spesies ikan dari ke tiga pulau tersebut. DNA mitokondria merupakan salah satu marker yang sering digunakan untuk melihat silsilah dan kekerabatan hingga tingkat spesies dan bahkan dapat untuk menentukan keragaman genetik antar individu dalam suatu populasi. Hal ini karena DNA mitokondria (mtDNA) memiliki kemampuan mutasi yang lebih cepat dari DNA inti, hanya dapat diwariskan dari induk (*maternally inherited*), berukuran kecil (hanya sekitar 16.000 pasang basa), jumlahnya copy dalam sel banyak, dan tidak mengalami

rekombinasi (Kolesnikov and Gerasimov, 2012). Salah satu gen mtDNA yang dapat digunakan untuk melihat adanya keragaman genetik adalah gen *NADH dehydrogenase* subunit I (ND1). Menurut Kankilic *et al.* (2018) dengan menggunakan sekuen nukleotida gen ND1 dapat untuk identifikasi spesies *Dryomys nitedula* and *Dryomys laniger*. Penelitian Fukuyama *et al.* (2019) dengan melihat bentuk morfologi kadal scincid *Larutia Böhme* dan sekuen nukleotida gen ND1 dapat mendeteksi adanya spesies baru. Penelitian menggunakan gen ND1 pada *catfish* asli Indonesia belum pernah dilakukan, sehingga pada penelitian ini bertujuan untuk melihat adanya keragaman genetik gen ND1 pada *catfish* asli Indonesia dari beberapa daerah di Jawa, Sumatra, dan Kalimantan. Harapannya dengan diketahuinya secara pasti spesies *catfish* tersebut dapat membantu pelestarian plasma nutfah, serta keberhasilan budidaya *catfish* untuk pemenuhan protein hewani.

Materi dan Metode

Penelitian ini merupakan penelitian laboratorium, dengan tahapan sebagai berikut: Ekstraksi dan pemurnian DNA, amplifikasi gen ND1, sekuensing, dan analisis data.

Tabel 1. Daftar sampel *catfish*, asal sungai dan daerah asal

No.	Sungai	Daerah asal	Jumlah sampel
1	Progo	Magelang, Jawa Tengah	3
2	Elo	Magelang, Jawa Tengah	2
3	Bengawan Solo	Bojonegoro, Jawa Timur	3
4	Musi	Palembang, Sumatra Selatan	3
5	Kampar	Riau	2
6	Mahakam	Samarinda, Kalimantan Timur	2
7	Kapuas	Sintang, Kalimantan Barat	2
8	Martapura	Banjarmasin, Kalimantan Selatan	3

Koleksi sampel. Sampel jaringan *catfish* telah diambil sebanyak 20 dari habitat aslinya. Daftar sampel *catfish*, asal sungai dan daerah asal pengambilan sampel *catfish* disajikan pada Tabel 1. Pada penelitian ini hanya diambil 2 atau 3 sampel dari masing-masing sungai diharapkan sudah dapat mewakili karena sudah semakin langka di habitatnya dan belum ada ikan yang dibudidayakan.

Isolasi DNA Total. DNA total diekstraksi dari biopsi jaringan (30 mg). Isolasi dan purifikasi DNA menggunakan DNA Isolation Kit (Genaid). DNA hasil isolasi dideteksi dengan cara dimigrasikan pada gel agarosa 1% dengan menggunakan buffer 1xTBE dalam piranti *Submarine Electrophoresis* (Hofer, USA). Pengamatan dilakukan dengan bantuan sinar UV ($\lambda = 260\text{nm}$) setelah gel diwarnai dengan DNA staining (Genaid). DNA hasil isolasi kemudian disimpan pada suhu -20°C sebelum dipergunakan untuk tahap berikutnya.

Desain Primer. Primer didisain menggunakan Program primer 3 output (http://www-genome.wi.mit.edu/cgi.bin/primer3.cgi/results_from-primer3) berdasar data sekuen genom mitokondria *Hemibagrus nemurus* (Nomor akses KJ573466.1) dan *Mystus vittatus* (KX177968.1). Urutan basa primer untuk amplifikasi gen ND1 dari sampel *catfish* disajikan pada Tabel 2.

Amplifikasi gen ND1 dengan PCR. DNA total hasil ekstraksi digunakan sebagai DNA cetakan untuk proses amplifikasi. Amplifikasi DNA dengan PCR pada penelitian ini menggunakan mesin PCR (Infinigen). Amplifikasi gen ND1 masing-masing menggunakan sepasang primer yang telah didisain sendiri berdasar sekuen genom mitokondria mitokondria *Hemibagrus nemurus* (Nomor akses KJ573466.1) dan *Mystus vittatus* (KX177968.1) seperti terlihat pada Tabel 2. Amplifikasi DNA dilakukan dengan kondisi sebagai berikut: denaturasi awal selama 2 menit pada suhu 94°C selanjutnya diikuti dengan

94°C selama 30 detik untuk denaturasi, 51°C selama 45 detik untuk penempelan primer (*annealing*), 72°C selama 1 menit 30 detik untuk pemanjangan (*elongation*); amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus kemudian diakhiri 5 menit pada 72°C . Produk PCR dideteksi dengan cara dimigrasikan pada gel agarosa 1% dengan menggunakan buffer 1xTBE dalam piranti *Submarine Electrophoresis* (Hofer, USA). Pengamatan dilakukan dengan bantuan sinar UV ($\lambda = 260\text{nm}$) setelah gel diwarnai dengan DNA staining (Genaid). Penanda DNA dengan ukuran 1000 pb digunakan sebagai penunjuk berat molekul.

Sekuensing DNA. Produk PCR hasil amplifikasi dimurnikan dengan menggunakan *GFX Column purification kit*, selanjutnya dipergunakan sebagai DNA cetakan untuk reaksi sekuensing DNA. Masing-masing sampel dilakukan dua reaksi sekuensing yaitu menggunakan primer forward dan primer reverse. Sekuensing dilakukan pada semua produk PCR gen ND1. Hasil sekuensing yang bagus ditandai dengan grafik spektrofotogram yang *single peak*, tanpa adanya *noise*.

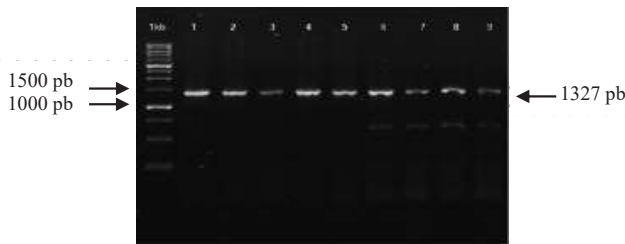
Analisis Data. Penjajaran berganda sekuen nukleotida gen ND1 dianalisis dengan bantuan perangkat lunak Clustal W (Thompson et al., 1994). Analisis hasil berdasarkan sekuen nukleotida gen ND1 dengan bantuan perangkat lunak MEGA versi 7.0. Jarak genetik dianalisis dengan metode Kimura dengan dua parameter (Kumar et al., 2006). Pohon filogenetik dianalisis berdasarkan sekuen nukleotida dengan metode *Neighbor joining* dengan nilai bootstrap 1000 x. *Catfish* yang digunakan sebagai pembandingan diambil dari data *Genbank* antara lain *Hemibagrus nemurus* (KJ573466.1), *Hemibagrus guttatus* (KJ458934.1), *Hemibagrus macropterus* (JF834542.1), *Hemibagrus* sp. (KM507291.1), *Hemibagrus spilopterus* (JQ343983.1), *Hemibagrus wyckioides* (KJ624624.1), *Mystus vittatus* (KX177968.1), *Mystus cavasius* (KU870465.1), *Mystus rhegma* (JQ343984.1), dan *Pelteobagrus eupogon* (JQ734476.1).

Tabel 2. Urutan basa primer untuk mengamplifikasi gen ND1

Nama primer	Target gen	Urutan basa	Tm ($^{\circ}\text{C}$)	Panjang produk
BaungND1F	ND1	5' TGATCTGAGTTCAGACCGGAG 3'	56,96	1327 pb
BaungND1R		5' CTCCAGAATATGGGTTTCGAGTC 3'	56,98	

Hasil dan Pembahasan

Sepasang primer pada penelitian ini didesain untuk mengamplifikasi gen *NADH Dehydrogenase Subunit 1* (ND1). Amplikon yang diperoleh dengan menggunakan primer BaungND1F dan BaungND1R adalah 1327 pasang basa (pb). Amplikon selanjutnya dimigrasikan pada elektroforesis gel agarose 1% yang telah diwarnai dengan DNA staining (Genaid) (Gambar 1).



Gambar 1. Amplikon gen ND1 beberapa sampel *catfish* menggunakan primer Baung ND1F dan BaungND1R pada gel agarose 1%.
Keterangan: 1-9 produk PCR dengan ukuran 1327 pb; 1kb adalah DNA Ladder ukuran 1kilo basepair

Berdasarkan sekuen genom DNA mitokondria *Hemibagrus nemurus* (NC_044863.1) fragmen DNA pada penelitian ini adalah 1327 pb, yang terletak pada urutan basa ke-2595 sampai

dengan ke-3921 (Wu et al., 2016). Amplikon pada penelitian ini setelah diplotkan dengan sekuen *Hemibagrus nemurus* (NC_044863.1) terdiri dari 174 pb fragmen gen 16SrRNA, 75 pb gen tRNA-Leu, 972 pb gen ND1, 1 pb intron, 72 pb gen tRNA-Ile, dan 34 pb fragmen gen tRNA-Gln (komplemen).

Analisis keragaman nukleotida dan asam amino dilakukan setelah dilakukan editing dan *multiple alignment* dengan data *catfish* yang diambil dari genbank. *Multiple alignment* menggunakan Clustal W yang ada di dalam MEGA versi 7.0 (Kumar et al., 2016). Hasil sekuensing sepanjang 1327 nukleotida (nt), selanjutnya dipilih 972nt yang merupakan sekuen nukleotida gen ND1 yang akan menyandi 324 asam amino. Hasil *multiple alignment* gen ND1 terlihat adanya mutasi dalam bentuk substitusi transisi dan transversi serta adanya mutasi dalam bentuk insersi dan delesi. Adanya delesi tiga nukleotida pada kelompok sampel *catfish* dari Magelang (Sungai Progo), Sumatra, dan Kalimantan apabila dibandingkan dengan sampel dari Sungai Elo (Magelang) dan sampel dari Bengawan Solo (Bojonegoro) mengakibatkan perbedaan satu asam amino penyusun protein ND1, yaitu

Situs ke-	1 1 1 1 1 1 1 1 1																								
	2 3 6 7 8 9 1 4 9 5 9 2 6 0 3 7 1 2 3 4 6 9 1 9 1																								
Kampar 1	M	S	I	I	Y	V	S	T	V	I	A	V	T	L	A	F	L	I	S	I	V	V	V	Q	F
Kampar 2	A	.	.	.	I
Musi 1	A	.	.	.	I
Musi 2	A	.	.	.	I
Musi 3	.	.	T	A	.	.	.	I
Kapuas 1
Kapuas 2
Mahakam1	T	I	I	.	.
Mahakam2	T	I	I	.	.
Martapura 1	I
Martapura 2	I	.	.	T
Martapura 3	I	.	.	T
Progo 1	N	A	I
Progo 2	N	A	I
Progo 3	N	A	I
Elo 1	.	Y	.	T	.	L	N	A	I	V	.	I	A	.	.	L	M	T	.	.	I	I	.	K	L
Elo 2	.	Y	.	T	.	L	N	A	I	V	.	I	.	.	.	L	M	T	.	.	I	I	.	K	L
B. Solo 3	I	T	V	T	H	.	N	A	I	V	.	M	.	M	.	I	V	T	A	L	I	I	.	.	.
B. Solo 1	I	T	V	T	H	.	N	A	I	V	.	M	.	M	.	I	V	T	A	L	I	I	.	.	.
B. Solo 2	I	T	V	T	H	.	N	A	I	V	.	M	.	M	.	I	V	T	A	L	I	I	.	.	.

Gambar 2. Situs asam amino beragam ke-2 sd. 171 sampel *catfish*

menjadi 323 asam amino. Delesi nukleotida berada di urutan nukleotida ke 763, 764 dan 765, sedangkan asam amino yang mengalami delesi ada di urutan asam amino ke-255. Hal ini berbeda dengan penelitian Widayanti et al. (2019) tentang keragaman genetik catfish asli Indonesia menggunakan gen COIII dan Megarani

et al. (2020) menggunakan gen Cytochrome B, disebutkan bahwa pada gen-gen tersebut hanya terjadi mutasi substitusi transisi dan transversi saja tanpa adanya delesi dan insersi.

Hasil analisis nukleotida antar sampel *catfish* pada penelitian ini terdapat 268 situs nukleotida yang berbeda dan terdapat 47 situs asam

Situs ke-	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3		
	7	7	7	7	8	8	8	2	2	4	5	5	5	5	5	5	6	6	9	0	0	1	1	1
	2	3	7	8	2	4	9	7	9	5	2	3	4	5	6	7	1	5	5	2	7	1	7	8
Kampar 1	N	M	T	M	I	A	T	A	F	T	A	H	N	-	M	F	V	I	V	L	I	V	F	A
Kampar 2	.	T	-	.	.	I
Musi 1	.	T	-	.	.	I	.	M
Musi 2	.	T	-	.	.	I
Musi 3	.	T	-	.	.	I
Kapuas 1	-
Kapuas 2	-
Mahakam 1	.	T	.	.	.	T	-	.	.	I	I	.	.
Mahakam 2	.	T	.	.	.	T	-	.	.	I	I	.	.
Martapura 1	.	T	T	-	.	.	I	.	M
Martapura 2	.	T	L	-	.	.	I
Martapura 3	.	T	L	-	.	.	I
Progo 1	.	T	-	.	.	I
Progo 2	.	T	-	.	.	I
Progo 3	.	T	-	.	.	I
Elo 1	S	.	A	V	L	.	A	.	.	A	T	Y	.	T	.	.	A	T	.	.	.	I	L	T
Elo 2	S	.	A	V	L	.	A	.	.	A	T	Y	.	T	.	.	A	T	.	.	.	I	L	T
B. Solo 3	.	.	.	I	F	.	A	.	.	.	T	Y	T	P	T	T	A	.	.	M	L	A	.	M
B. Solo 1	.	.	.	I	F	.	A	.	.	.	T	Y	T	P	T	T	A	.	.	M	L	A	.	M
B. Solo 2	.	.	.	I	F	.	A	.	.	.	T	Y	T	P	T	T	A	.	.	M	L	A	.	M

Gambar 2. Situs asam amino beragam ke-2 sd. 171 sampel catfish

Situs ke-	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3		
	7	7	7	7	8	8	8	2	2	4	5	5	5	5	5	5	6	6	9	0	0	1	1	1
	2	3	7	8	2	4	9	7	9	5	2	3	4	5	6	7	1	5	5	2	7	1	7	8
Kampar 1	N	M	T	M	I	A	T	A	F	T	A	H	N	-	M	F	V	I	V	L	I	V	F	A
Kampar 2	.	T	-	.	.	I
Musi 1	.	T	-	.	.	I	.	M
Musi 2	.	T	-	.	.	I
Musi 3	.	T	-	.	.	I
Kapuas 1	-
Kapuas 2	-
Mahakam 1	.	T	.	.	.	T	-	.	.	I	I	.	.
Mahakam 2	.	T	.	.	.	T	-	.	.	I	I	.	.
Martapura 1	.	T	T	-	.	.	I	.	M
Martapura 2	.	T	L	-	.	.	I
Martapura 3	.	T	L	-	.	.	I
Progo 1	.	T	-	.	.	I
Progo 2	.	T	-	.	.	I
Progo 3	.	T	-	.	.	I
Elo 1	S	.	A	V	L	.	A	.	.	A	T	Y	.	T	.	.	A	T	.	.	.	I	L	T
Elo 2	S	.	A	V	L	.	A	.	.	A	T	Y	.	T	.	.	A	T	.	.	.	I	L	T
B. Solo 3	.	.	.	I	F	.	A	.	.	.	T	Y	T	P	T	T	A	.	.	M	L	A	.	M
B. Solo 1	.	.	.	I	F	.	A	.	.	.	T	Y	T	P	T	T	A	.	.	M	L	A	.	M
B. Solo 2	.	.	.	I	F	.	A	.	.	.	T	Y	T	P	T	T	A	.	.	M	L	A	.	M

Gambar 3. Situs asam amino beragam ke-172 sd. 318 sampel catfish

Tabel 4. Matriks perbedaan nukleotida (972 nt) dan asam amino (324 aa) ND1 dari sampel *catfish* penelitian dengan pembandingan *catfish* dari Genbank

No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	Kampar_1		4	5	4	5	0	0	7	5	5	5	29	28	28	31	31	38
2	Kampar_2	42		1	0	1	4	4	5	3	1	3	28	27	27	31	31	36
3	Musi_1	45	3		1	2	5	5	6	2	2	4	29	28	28	32	32	37
4	Musi_2	42	0	3		1	4	4	5	3	1	3	28	27	27	31	31	36
5	Musi_3	44	2	3	2		5	5	6	4	2	4	29	28	28	31	31	36
6	Kapuas_1	1	41	44	41	43		0	7	5	5	5	29	28	28	31	31	38
7	Kapuas_2	2	40	43	40	42	1		7	5	5	5	29	28	28	31	31	38
8	Mahakam_1_2	47	21	24	21	23	46	45		6	6	8	31	30	28	35	35	40
9	Martapura_1	44	8	9	8	10	43	42	23		4	6	31	30	30	34	34	39
10	Progo_1_2_3	46	6	9	6	8	45	44	23	12		4	27	26	26	30	30	35
11	H_nemurus*	47	26	29	26	28	46	47	37	30	30		28	27	25	32	32	37
12	Elo_1	171	162	165	162	164	170	169	171	165	161	161		1	16	29	29	31
13	Elo_2	170	161	164	161	163	169	168	170	164	160	160	1		15	28	28	30
14	M_cavasius*	171	176	179	176	178	172	171	177	179	176	175	131	130		31	31	31
15	B._Solo_1	181	179	181	179	181	182	181	192	183	179	185	157	156	171		0	10
16	B._Solo_2_3	180	178	180	178	180	181	180	191	182	178	184	157	156	171	1		10
17	P_pangasius*	203	191	191	191	191	202	201	196	195	191	193	164	163	179	101	102	

*=*H_nemurus*_KJ573466.1; *M_cavasius*_KU870465.1; *P_pangasius*_KC572135.1

Kolom kiri bawah: matriks perbedaan nukleotida

Kolom kanan atas: matriks perbedaan asam amino

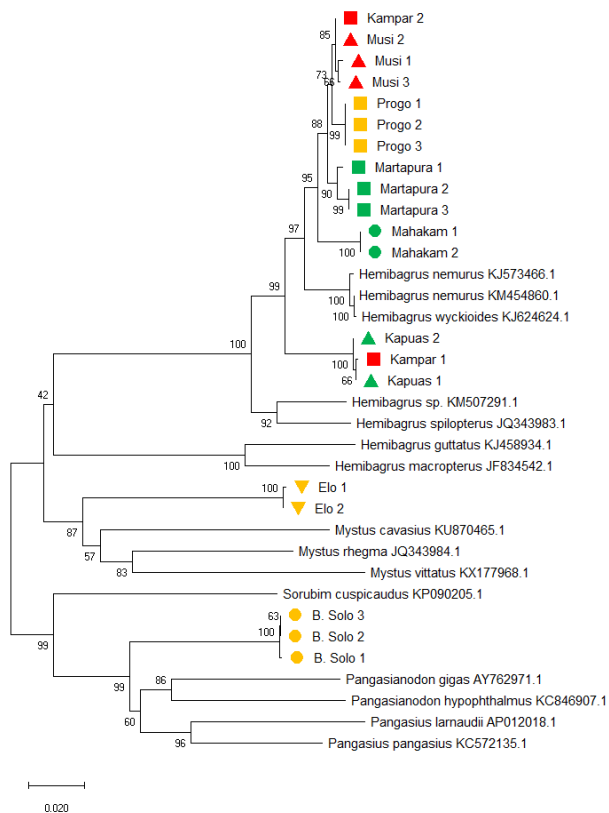
amino yang berbeda. Situs asam amino yang berbeda antar sampel *catfish* disajikan pada Gambar 2 dan 3. Tanda titik (.) pada Gambar 2 dan 3 menunjukkan sekuen asam amino yang sama (identik) dengan asam amino *catfish* Kampar 1.

Matriks perbedaan nukleotida dan asam amino ND1 dari sampel *catfish* pada penelitian ini disajikan pada Tabel 4. Sebagai pembandingan digunakan sekuen nukleotida dari Genbank yang mempunyai homologi paling besar dengan sampel *catfish* penelitian ini setelah dilakukan *alignment* dengan program BLAST pada situs NCBI. Sekuen nukleotida tersebut adalah *Hemibagrus nemurus* (KJ573466.1), *Mystus cavasius* (KU870465.1), dan *Pangasius pangasius* (KC572135.1).

Pada Tabel 4. Menunjukkan bahwa *catfish* dari sungai Kampar, Musi, Kapuas, Mahakam, Martapura, dan Progo memiliki perbedaan nukleotida dan asam amino paling sedikit apabila dibandingkan dengan *Hemibagrus nemurus* (KJ573466.1), yaitu 26-47 nukleotida dan 3-8 asam amino. Bila dibandingkan dengan *Mystus cavasius* (KU870465.1) *catfish* dari sungai Elo memiliki perbedaan yang paling sedikit, yaitu 130-131 nukleotida dan 15-16 asam amino,

sedangkan bila dibandingkan dengan *Pangasius pangasius* (KC572135.1) *catfish* dari sungai Bengawan Solo memiliki perbedaan nukleotida dan asam amino paling sedikit yaitu berturut-turut 101-102 nukleotida dan 10 asam amino. Hasil analisis ini sesuai dengan hasil penelitian Megarani et al. (2019) yang menyebutkan bahwa dengan menggunakan sekuen nukleotida gen Cyt B *catfish* asal sungai Kampar, Musi, Kapuas, Mahakam, Martapura, dan Progo memiliki kekerabatan paling dekat dengan *Hemibagrus*, *catfish* asal sungai Elo berkerabat dekat dengan *Mystus* dan *catfish* asal Bengawan Solo berkerabat dekat dengan *Pangasius*.

Keragaman nukleotida dan asam amino di antara sampel *catfish* pada penelitian ini dan terhadap data dari Genbank selanjutnya dibuat suatu filogram untuk menggambarkan pohon filogenetik (*phylogenetic tree*) atau kekerabatannya. Pohon filogenetik dibuat menggunakan metoda *Neighbour joining*, *bootstrap* 1000 kali pada software MEGA versi 7.0. (Kumar et al., 2016). Pohon filogenetik berdasar sekuen nukleotida gen ND1 *catfish* hasil penelitian dengan pembandingan beberapa *catfish* dari Genbank disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Pohon filogenetik berdasar sekuen nukleotida gen ND1(972 nt) *catfish* hasil penelitian dengan pembandingan beberapa *catfish* dari Genbank

Pohon filogenetik (Gambar 4) terlihat bahwa *catfish* asal sungai Kampar (Riau), sungai Musi (Palembang), sungai Progo (Magelang), sungai Martapura (Banjarmasin), sungai Kapuas (Sintang) berada dalam subcabang yang sama dengan *Hemibagrus*, menunjukkan bahwa *catfish* dari sungai-sungai tersebut digolongkan dalam genus *Hemibagrus*, dengan nilai *bootstrap* 100%. Hal ini didukung dengan perbedaan nukleotida yang hanya 26-47 nukleotida dan 3-8 asam amino. Hal serupa sama dengan penelitian Ng dan Dodson (1999) dengan melihat morfologi *catfish* dan deskripsi sekuen nukleotida gen Cyt B bahwa *catfish* yang berasal dari sungai Musi dan Kapuas adalah tergolong genus *Hemibagrus* (Gambar 5).

Catfish asal sungai Elo (Magelang) terlihat pada cabang yang sama dengan *Mystus* sp., dengan nilai *bootstrap* 87%, dan didukung dengan perbedaan nukleotida dan asam aminonya yaitu berturut-turut 130-131 nukleotida dan 15-16 asam amino. *Mystus* pada penelitian kemungkinan sekali berbeda dengan spesies *Mystus* yang ada di Genbank apabila melihat perbedaan jumlah nukleotida dan asam amino yang be-

sar, tidak seperti sampel yang termasuk dalam kelompok *Hemibagrus* yang perbedaan nukleotida dan asam aminonya sangat kecil. Hasil ini sesuai dengan yang dinyatakan Darshan et al. (2019) yaitu ditemukannya spesies *Mystus* prabini yang baru di India dengan jarak genetik 8,6-22,1% menggunakan gen COI. Ng (2002) juga telah melakukan penelitian tentang *Mystus nigriceps* di Asia Tenggara yang menyebutkan bahwa *Mystus* sp. juga ditemukan di Jawa dan Sumatra dengan ciri utama adanya sirip lemak yang panjang seperti sampel *catfish* yang berasal dari sungai Elo, Magelang, Jawa Tengah (Gambar 5). Vijayakrishnan dan Praveenraj (2022) berdasarkan morfologi telah menemukan spesies *Mystus* baru yaitu *Mystus irulu* di Western Ghats of Karnataka, India. Selanjutnya Esmaeili et al. (2022) berdasar morfologi dan molekuler menemukan spesies baru *Mystus cyrusi* di Timur Tengah. Demikian juga untuk *catfish* asal sungai Bengawan Solo (Bojonegoro) dikelompokkan dalam genus *Pangasius* karena perbedaan nukleotida dan asam amino berturut-turut 101-102 nukleotida dan 10 asam amino, dan didukung dengan nilai *bootstrap* 99%. Berdasar morfologi, menurut Dwivedi et al. (2017) bahwa *catfish* asal sungai Bengawan Solo masuk dalam kelompok *Pangasius* sp.

Kesimpulan

Berdasar sekuen nukleotida dan asam amino ND1:

1. *Catfish* asal sungai Progo (Magelang, Jawa Tengah), sungai Musi (Palembang, Sumatra), sungai Kampar (Riau), sungai Kapuas (Sintang, Kalimantan), sungai Martapura (Banjarmasin), sungai Mahakam (Kalimantan) adalah termasuk ke dalam *Hemibagrus* sp.
2. *Catfish* asal sungai Elo (Magelang, Jawa Tengah) termasuk ke dalam genus *Mystus* sp.
3. *Catfish* asal sungai Bengawa Solo (Bojonegoro, Jawa Timur) termasuk ke dalam kelompok *Pangasius* sp.
4. Gen ND1 dapat digunakan sebagai penanda genetik untuk tujuan konservasi dalam usaha membantu pelestarian plasma nutfah, serta keberhasilan budidaya *catfish* untuk pemenuhan protein hewani.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih penulis ucapkan kepada Fakultas Kedokteran Hewan UGM yang telah memberikan dana penelitian melalui Skema Penelitian Pengembangan Departemen Tahun 2020 dengan Perjanjian Pelaksanaan Kegiatan Nomor : 1352/UN1/FKH/HK4/2020 Tanggal 20 Mei 2020.

Daftar Pustaka

- Darshan, A., Abujam, S., Kumar, R., Parhi, J., Singh, Y.S., Vismanath, W., Das, D.N., Pandey, P.K. (2019). *Mystus prabini*, a new species of catfish (Siluriformes: Bagridae) from Arunachal Pradesh, north-eastern, India. *Zootaxa*. 4648(3). [Abstract].
- Dwivedi, A.K., Gupta, B.K., Singh, R.K., Mohindra, V., Chandra, S., Easawarn, S., Jena, J. and Lal, K.K. (2017). Cryptic Diversity in the Indian Clade of the Catfish Family Pangasiidae Resolved by the Description of A New Species. *Hydrobiologia*.797: 357-370.
- Esmaeili, H.R., Sayyadzadeh, G., Zarei, F., Eagderi, S., Mousavi-Sabet, H. (2022). *Mystus cyrusi*, a new species of bagrid catfish (Teleostei: Bagridae) from Middle East. *Zootaxa*. 5099(3):325-343.
- Fukuyama, I., Hikida, T., Hossman, M.Y., Nishikawa, K. (2019). A new species of the genus *Larutia* (Squamata: Scincidae) from Gunung Penrissen, Sarawak, Borneo. *Zootaxa*. 4661(3).[Abstract].
- Kankılıç, T., Seker, P.S., Erdik, A.C., Kankılıç, T., Selvi, E., Yigit, N., Çolak, E. (2018). Determination of genetic variations in the genus *Dryomys* Thomas, 1906 (Rodentia: Gliridae) distributed in Turkey using NADH dehydrogenase 1 (ND1) gene. *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal*. 29(6):933-942.
- Kolesnikov, A.A. and Gerasimov, E.S. (2012). Diversity of mitochondrial genome organization. *Biochemistry. Biokhimiia*.77(13): 1424–35.
- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 33(7):1870-1874.
- Megarani, D.V., Nugroho, H.A., Andarini, Z.P., Surbakti, Y.D.R.B.R. and Widayanti, R. (2020). Genetic characterization and phylogenetic study of Indonesian indigenous catfish based on mitochondrial cytochrome B gene. *Veterinary World*. 13(1): 96-103.
- Ng, H.H. (2002). The identity of *Mystus nigriceps* (Valenciennes in Cuvier & Valenciennes, 1840), with the description of a new bagrid catfish (TELEOSTEI: SILURIFORMES) from Southeast Asia. *The Raffles Bulletin of Zoology*. 50: 161-168.
- Ng, H.H. and Dodson, J.J. (1999). Morphological and genetic descriptions of a new species of catfish, *Hemibagrus chrysops*, from Sarawak, East Malaysia, with an assessment of phylogenetic relationships (Teleostei: Bagridae). *The Raffles Bulletin of Zoology*. 47(1): 45–57.
- Vijayakrishnan, B. dan Praveenraj, J. (2022). *Mystus irulu*, a new species of bagrid catfish from the Western Ghats of Karnataka, India (Teleostei: Bagridae). *Zootaxa*. 5120(3):443-448.
- Widayanti, R., Haryanto, A., Artama, W.T. and Pakpahan, S. (2019). Genetic variation and phylogenetic analysis of Indonesian indigenous catfish based on mitochondrial cytochrome oxidase subunit III gene. *Veterinary World*. 12(6): 896-900.
- Wu, Y.P., He, Q.S., Xie, J.L., Guo, X.F. and Li, H.Y. (2016). The complete mitochondrial genome sequence of *Hemibagrus nemurus* (Siluriformes: Bagridae). *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal*. 27(3): 1829-1830.

Potensi Anestetika Ket-A-Xyl® pada Kucing Jantan Domestik di Yogyakarta Indonesia

Ket-A-Xyl® Anesthesia Potential on Domestic Male Cats in Yogyakarta Indonesia

Maria Angelica Maryatmo, Antasiswa Windraningtyas Rosetyadewi, Aria Ika Septana,
Agustina Dwi Wijayanti*

Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

*Corresponding author, email: tinabdy@ugm.ac.id

Diterima: 7 Oktober 2021, direvisi: 29 Agustus 2022, disetujui: 24 Oktober 2022

Abstract

Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) is an anesthetic drug that has been widely marketed in Indonesia for induction of anesthesia in dogs. This study evaluated the use of the drug Ket-A-Xyl® for castration in cats. The purpose of this study was to determine the effect of giving Ket-A-Xyl® on physiological parameters in domestic male cats. A total of 53 domestic male cats weighing ranging from 1.5 to 5.68 kg were fasted for 8 hours and then weighed to determine the anesthetic dose. The cats were injected with the Ket-A-Xyl® preparation intramuscularly, then their physiological changes were observed and recorded. Likewise, the onset and duration of the drug were recorded when the cat entered the first stage of anesthesia until the recovery stage. Physiological parameter data analysis was performed using the SPSS application with paired sample t-test. The physiological data group of cats at the third stage of anesthesia was compared with the recovery stage using paired sample t-test. The results of data analysis showed that the Ket-A-Xyl® had a significant effect on respiratory rate ($p < 0.05$), but not on temperature and pulse frequency. The average onset and duration of the drug Ket-A-Xyl® showed a shorter time than previous studies using the drug combination atropine-ketamine-xylazine. Ket-A-Xyl® anesthetic preparation has the potential to be a good anesthetic drug in domestic cats because it is more efficient, has a short onset and duration, and does not cause a fatal physiological response during its use.

Key words: domestic cat; duration; Ket-A-Xyl®; onset; physiological parameters

Abstrak

Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) merupakan sediaan anestetika jadi yang telah banyak dipasarkan di Indonesia untuk induksi anestesi pada anjing. Studi ini menguji penggunaan obat Ket-A-Xyl® untuk kastrasi pada kucing. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi anestetika Ket-A-Xyl® terhadap parameter fisiologis kucing jantan domestik. Sebanyak 53 ekor kucing jantan domestik dengan berat badan berkisar 1,5 – 5,68 kg dipuasakan selama 8 jam kemudian ditimbang untuk menentukan dosis anestetika. Kucing diinjeksikan sediaan Ket-A-Xyl® secara intramuskular, kemudian diamati dan dicatat perubahan fisiologisnya. Demikian juga untuk onset dan durasi obat dicatat saat kucing memasuki stadium anestesi I hingga tahap *recovery*. Analisis data parameter fisiologis dilakukan menggunakan aplikasi SPSS dengan uji *paired sample t-test*. Kelompok yang dibandingkan dalam uji *paired sample t-test* tersebut adalah kelompok data fisiologis kucing pada tahap stadium III dengan tahap *recovery*. Hasil analisis data menunjukkan bahwa sediaan Ket-A-Xyl® menimbulkan efek yang signifikan terhadap frekuensi napas ($p < 0,05$), tetapi tidak pada suhu dan frekuensi pulsus. Rata-rata onset dan durasi obat Ket-A-Xyl® menunjukkan waktu yang lebih singkat dibanding studi sebelumnya yang menggunakan obat atropin-ketamin-xylazin. Sediaan anestesi Ket-A-Xyl® berpotensi sebagai obat anestetika yang baik pada kucing domestik karena tergolong efisien, onset dan durasi singkat, serta tidak menimbulkan respon fisiologis yang fatal selama penggunaannya.

Kata kunci: durasi; Ket-A-Xyl®; kucing domestik; onset; parameter fisiologis

Pendahuluan

Anestesi adalah keadaan tanpa rasa yang bersifat sementara dan dapat kembali kepada keadaan semula atau *reversible* (Sudisma, 2010). Kondisi anestesi juga diperlukan untuk menciptakan kondisi optimal pada tindakan pembedahan. Kondisi optimal ini meliputi beberapa komponen diantaranya menghilangkan nyeri, menghilangkan kesadaran, penghambatan refleks vegetatif, dan pelepasan otot (Lewar, 2015).

Anestetika adalah obat penghilang kesadaran dan atau rasa sakit pasien dalam tindakan operasi (Sudisma, 2010).

Menurut Rahardjo (2004), anestetika dibagi menjadi dua, yaitu anestetika lokal dan anestetika umum. Anestetika umum biasa digunakan pada tindakan pembedahan untuk mencapai keadaan tidak sadar, merintangangi rangsangan nyeri, memblokir reaksi refleks terhadap manipulasi pembedahan, dan menimbulkan relaksasi otot (Tjay & Rahardja, 2007). Anestetika umum merupakan obat yang dapat menghilangkan rasa nyeri dan menimbulkan hilangnya kesadaran, yang disebabkan oleh proses intoksikasi pada sistem syaraf pusat yang terkontrol dan reversibel (Rahardjo, 2004; Ross & Ross, 2008). Anestetika umum sendiri dibagi menjadi dua, volatil dan non-volatil. Anestetika non-volatil merupakan obat-obat anestetika yang pemberiannya bukan melalui inhalasi, namun melalui pembuluh darah. Beberapa contoh obat anestetika non-volatil adalah tiopental, diazepam dan midazolam, ketamin dan propofol (Tjay & Rahardja, 2007).

Sediaan anestetika umum menyebabkan keadaan anestesi yang dapat dibedakan menjadi empat stadium anestesi yaitu analgesia atau induksi atau eksitasi volunteer, delirium atau eksitasi involunteer, surgical anestesi, dan yang terakhir adalah paralisa medulla (Tjay dan Rahardja, 2007). Gambar 1 menunjukkan kondisi fisik dan fisiologis hewan pada stadium-stadium anestesi.

Stadium anestesi pertama ditandai dengan perubahan frekuensi pernapasan yang meningkat, dilatasi pupil, defekasi dan urinasi, terdapat refleks palpebrae dan kornea, tonus otot normal, dapat menelan dan batuk. Stadium

analgesia dapat disebut juga stadium induksi ataupun eksitasi volunteer (Ross & Ross, 2008). Stadium kedua anestesi ditandai dengan tingkat pernapasan yang meningkat dan bervariasi serta irreguler, yang bisa menyebabkan gangguan pernapasan. Tanda-tanda selanjutnya yaitu pupil dilatasi, gerakan inkoordinasi, peningkatan pergerakan tonus otot involunter, muntah, dan masih dijumpai refleks palpebrae dan kornea (Ross & Ross, 2008). Stadium surgical anaesthesia dibagi lagi menjadi empat plane yaitu plane 1, plane 2, plane 3, dan plane 4. Salah satu data penelitian parameter fisiologis kucing yang diambil adalah ketika memasuki Plane 1 atau *light surgical*, ditandai dengan respirasi yang teratur (reguler) dan dalam, berkurangnya pergerakan bola mata, ukuran pupil mengecil (konstriksi), refleks palpebrae dan kornea lemah, refleks konjungtiva dan menelan hilang, tonus otot berkurang karena stimulasi surgical Plane 2 atau *Moderate Surgical* ditandai dengan respirasi yang lebih dangkal, refleks kornea masih ada, refleks palpebrae dan menelan hilang, aktivitas bola mata terfiksasi (rotasi ventral), pupil melebar, lakrimasi okuler meningkat, dan tonus otot berkurang karena stimulasi surgical. Plane 3 atau *Deep Surgical/True Surgical Anaesthesia* ditandai dengan respirasi yang semakin dangkal, pupil bertambah lebar, aktivitas bola mata rotasi ventral, dan adanya kehilangan refleks palpebrae, kornea, dan menelan. Selain itu, tonus otot berkurang karena stimulasi surgical, serta relaksasi dari muskulus intercostal dan abdominal. Plane 4 atau *Excessive Surgical* ditandai dengan respirasi abdominal yang dangkal dan irreguler, paralisis diafragma seluruhnya sehingga menyebabkan apnea, semua refleks yang menurun, dan pupil dilatasi (Ross dan Ross, 2008)

Aplikasi obat anestetika pada kucing dapat digunakan pada prosedur bedah seperti ovariohisterektomi, kastrasi, *sectio caesaria*, laparotomi, pencabutan gigi serta operasi mata. (Rahmiati & Wira, 2019). Salah satu tindakan yang menggunakan obat anestetika adalah kastrasi pada kucing.

Kastrasi adalah operasi pengangkatan kedua buah testis yang sering dilakukan untuk mengontrol populasi kucing liar (Howe, 2006). Pemilihan obat-obat anestetika pada tindakan

operasi diambil berdasarkan spesies dan ras hewan, usia, keadaan fisik, pengobatan hewan yang dilakukan secara bersamaan, serta lama dan jenis operasi atau prosedur yang dilakukan. Obat-obatan anestetika dalam praktik kedokteran hewan sangat diperlukan karena membantu mengatasi kegelisahan hewan selama pemeriksaan, menjaga kedalaman anestesi, dan meningkatkan margin keamanan sehingga memudahkan dalam penanganan (Nesgash *et al.*, 2016) hematological, and anesthetic parameters and also to assess anesthetic complications and develop anesthetic protocol for dogs. The bitches were randomly assigned into Group I and Group II. Anesthetic protocol was achieved by administration of atropine (0.04 mg/kg BW, S.C.

Salah satu obat anestetika yang paling sering digunakan pada kastrasi kucing adalah kombinasi obat ketamin, xylazin, dan atropin digunakan karena memiliki sifat yang saling melengkapi antara efek analgesik dan relaksasi otot serta sangat baik dan efektif karena memiliki rentang keamanan yang lebar (Gaol *et al.*, 2016). Efek yang ditimbulkan ketamin menyebabkan pengaruh analgesik yang sangat kuat untuk sistem somatik, tetapi lemah untuk sistem viseral selebih itu juga dapat menimbulkan terjadinya relaksasi otot yang dapat berujung pada kekejangan ataupun depresi ringan pada saluran respirasi. Ketamin bersifat merangsang tetapi tidak menimbulkan perubahan yang signifikan terhadap refleks faring dan laring pada dosis yang tepat, sedangkan pada dosis yang tinggi ketamin akan menekan respirasi (Rianto *et al.*, 2009). *Balance* anestesi yaitu mengkombinasikan obat-obatan dapat dilakukan untuk mengambil kelebihan masing-masing sifat yang diharapkan dan mengurangi efek samping tidak diinginkan dari pemakaian obat anestetika tertentu. Penggunaan kombinasi sediaan ketamin dan xylazin dapat menimbulkan pengaruh yang cukup signifikan terhadap sistem kardiovaskular, seperti tekanan darah yang meningkat, kemudian diikuti dengan konstriksi pembuluh darah kapiler. Sebagai refleks normal terhadap peningkatan tekanan darah dan pemblokiran saraf simpatis, frekuensi denyut jantung akan menurun sehingga menimbulkan bradikardi dan tekanan darah menurun

mencapai level normal atau subnormal (Arieski *et al.*, 2018).

Obat anestetika kombinasi atropin-ketamin-xylazin tersedia dalam bentuk sediaan jadi bernama Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru). Sediaan tersebut mengandung ketamin HCl 100 mg, *atropin* 1 mg dan *xylazin* 20 mg HCl dalam setiap 1 ml. Produk ini diklaim mampu memberikan hasil anestesi yang lebih baik serta mengurangi efek samping pada saat prosedur bedah ovariohisterektomi, kastrasi, *sectio caesaria*, laparotomi, pencabutan gigi serta operasi mata dengan rentang dosis 0.5-1 ml/10 kg bobot badan dapat diberikan secara intramuskular (Rahmiati & Wira, 2019).

Penggunaan sediaan Ket-A-Xyl® pada kucing domestik menunjukkan waktu induksi yang cepat namun kurang dalam durasi anestesi (Aprilianti *et al.*, 2020). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi anestetika Ket-A-Xyl® pada kucing jantan domestik dan juga mengembangkan protokol anestesi untuk kucing. Efek sediaan anestetika yang akan dikaji adalah pengaruh dari sediaan anestetika Ket-A-Xyl® terhadap durasi, onset, dan parameter fisiologis kucing jantan domestik yaitu frekuensi denyut jantung, frekuensi pernapasan, dan suhu tubuh pada setiap stadium anestesi.

Materi dan Metode

Penelitian berlangsung pada bulan Agustus sampai dengan September 2020, bertempat di shelter kucing Oye, Sleman, Yogyakarta, Indonesia. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen, dengan *purposive sample*. Pada tahap persiapan, sebanyak 53 ekor kucing jantan domestik berat badan berkisar 3-5 kg, dibawa menggunakan kandang rio yang berisi satu kucing pada setiap kandangnya. Sampel yang digunakan dari penelitian ini adalah kucing jantan domestik di daerah Kota Yogyakarta, Indonesia. Sebelum diinduksi sediaan anestetika Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru), kucing dikandangkan dan dipuaskan terlebih dahulu selama 8 jam. Kucing dipuaskan selama 8 jam bertujuan untuk mencegah terjadinya gastroesophageal reflux (GER) dan aspirasi isi lambung. Selain itu, pemuasaan kucing sebelum operasi mengurangi risiko pneumonia. (Robertson *et al.*, 2018)

Pada pemeriksaan fisik preanestesi, dilakukan pengambilan data dengan cara penilaian variabel fisiologis kucing. Tujuannya adalah untuk mengetahui keadaan fisik hewan, perubahan yang terjadi dan evaluasi preanestesi. Semua kucing diperiksa suhu, berat badan, frekuensi denyut jantung, frekuensi pernapasan, serta kondisi mukosa sebelum dilakukan induksi anestesi. Pengukuran bobot badan menggunakan timbangan gantung digital yang dikaitkan dengan kandang kucing berukuran 60 x 49 x 41 cm, kemudian ditimbang berat badannya. Pengukuran suhu tubuh menggunakan termometer ABN (ABN, PT Abadinusa Usaha-semesta, Indonesia), perhitungan denyut jantung menggunakan stetoskop ABN (ABN, PT Abadinusa Usahasemesta, Indonesia), perhitungan frekuensi pernapasan dengan observasi manual dan *digital timer*. Pengecekan berat badan ditujukan untuk menentukan volume Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) yang akan diinjeksikan sesuai dosis. Dosis sediaan Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) yang digunakan pada penelitian ini adalah 0,1 ml/ kg BB dengan rute pemberian secara intramuskuler pada muskulus *semimembranosus* menggunakan *tubercle bacillus syringe* 1ml. Kucing kemudian dikastrasi menggunakan *surgical kit* setelah memasuki stadium III anestesi oleh dokter hewan.

Setelah pemeriksaan fisik preanestesi, kemudian dilakukan pencatatan data fisiologis. Data denyut jantung, frekuensi napas, dan suhu dicatat pada saat kucing memasuki stadium III dan *recovery*, sedangkan pencatatan onset dan durasi dilakukan setelah dilakukan injeksi

sediaan anestetika Ket-A-Xyl® memasuki stadium I, II, III dan *recovery*. Onset dan durasi serta pengamatan perubahan aktivitas dan pergerakan pada hewan diamati dan dicatat. Pengambilan data denyut jantung dan napas pada kucing dilakukan menggunakan stetoskop dan *timer*, sedangkan pengukuran berat badan menggunakan kandang dan timbangan gantung digital. Anestetika kemudian disuntikkan menggunakan spuit 1 ml setelah bagian yang ingin diinjeksi dibersihkan terlebih dahulu menggunakan kapas dan alkohol 70%. Anestetika disuntikkan pada *muskulus semimembranosus*. Penanganan pasca operasi dilakukan dengan injeksi anti inflamasi deksametason (Glucortin-20, Interchemie, Belanda) dan antibiotik amoksisilin (Betamox LA 150 mg/ml Injection 100 ml, Norbrook, Inggris) pada 12 kucing, tolfedin (Tolfedine CS Injection Tolfenamic acid 40mg/mL, Provetsa, Spanyol) dan antibiotik amoksisilin (Betamox LA 150 mg/ml Injection 100 ml, Norbrook, Inggris) pada 15 kucing, deksametason (Glucortin-20, Interchemie, Belanda) dan enrofloksasin (Baytril®, Bayer, Jerman) pada 12 kucing, tolfedin (Tolfedine CS Injection Tolfenamic acid 40mg/mL, Provetsa, Spanyol) dan enrofloksasin (Baytril®, Bayer, Jerman) pada 14 kucing.

Data ke-53 kucing dicatat dan diolah menggunakan program *Microsoft Excel*. Analisis data hasil pemeriksaan data parameter fisiologis kucing sampel dianalisis secara statistik dengan uji *paired sample t-test* menggunakan aplikasi SPSS. Analisis data onset dan durasi sampel dibandingkan dengan literatur.

Tabel 1. Definisi operasional variabel fisiologis kucing

Variabel	Definisi operasional
Kucing jantan domestik	Kucing jantan domestik yang berada di sekitar daerah Yogyakarta, Indonesia
Waktu induksi	Jumlah waktu yang dibutuhkan obat hingga menimbulkan keadaan anestesi dengan satuan menit
Durasi	Jumlah waktu total dari induksi hingga tahap <i>recovery</i> ditandai dengan adanya refleks pupil dengan satuan jam
Bobot badan	Massa kucing yang diukur dengan timbangan gantung digital sebelum dilakukan induksi anestetika dengan satuan kilogram
Suhu	Suhu yang diambil melalui rektal dengan termometer secara manual pada saat sebelum induksi, stadium I, stadium III dan tahap <i>recovery</i> dengan satuan celcius
Respirasi	Nilai frekuensi pernafasan yang didapatkan dengan pengamatan manual pada saat sebelum induksi, stadium I, stadium III dan tahap <i>recovery</i>
Denyut jantung	Nilai frekuensi detak jantung yang didapatkan dengan pengamatan manual menggunakan stetoskop pada saat sebelum induksi, stadium I, stadium III dan tahap <i>recovery</i>

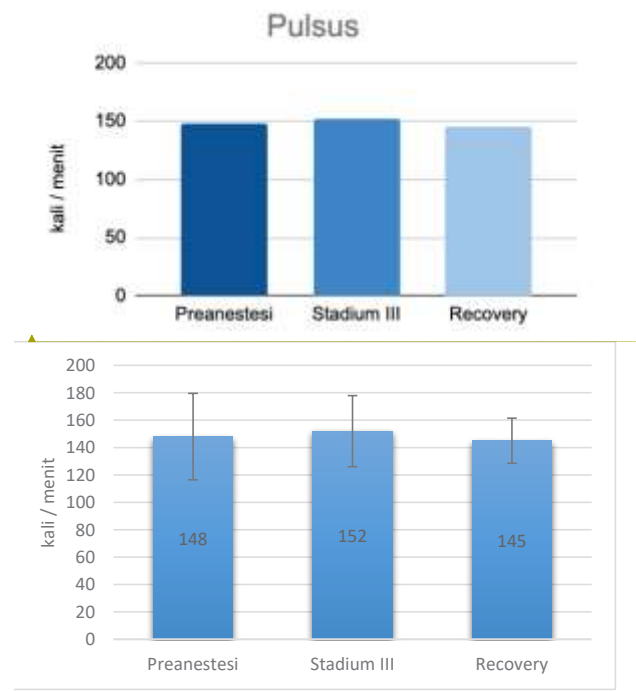
Hasil dan Pembahasan

Data hasil pemeriksaan fisik dan fisiologis terhadap 53 kucing jantan domestik dapat dilihat pada Tabel 1. Pencatatan waktu pada stadium I ditandai dengan adanya gejala dilatasi pupil, defekasi, dan urinasi. Stadium II dicatat ketika kucing menunjukkan gejala inkoordinasi dan pernapasan makin dalam. Pada penelitian ini stadium I dan II tidak teramati, menunjukkan bahwa anestetika memiliki kualitas yang baik. Stadium III diambil pada *plane* pertama yaitu ketika kucing mulai kehilangan kesadaran, pernapasan makin dalam dan refleks-refleks syaraf perifer menurun. Tahap *recovery* ditandai dengan kembalinya refleks khususnya refleks konjungtiva dan refleks pedal (Katzung, 2007; Ross & Ross, 2008). Durasi anestesi adalah waktu yang diukur ketika obat menimbulkan efek anestesi hingga kucing mencapai tahap *recovery*. Sedangkan onset anestesi adalah waktu yang diukur ketika anestetika diinduksikan hingga mulai menimbulkan efek anestesi stadium I (Aprilianti et al., 2020).

Kelompok data frekuensi denyut jantung kucing pada kondisi preanestesi dibandingkan dengan kelompok data frekuensi denyut jantung kucing pada stadium III. Hasil olah data menunjukkan bahwa nilai Sig. (*2-tailed*) atau nilai p sebesar 0,536, yang berarti bahwa nilai $p > 0,05$. Hasil analisis statistik ini menunjukkan pengaruh yang tidak signifikan, atau dengan kata lain tidak terdapat perbedaan yang berarti efek dari sediaan anestetika Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) terhadap denyut jantung (Gambar 1).

Frekuensi denyut jantung kucing setelah diberi anestetika Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl®

20 ml, AgroVet, Peru) menunjukkan nilai perubahan yang tidak seragam. Penggunaan anestetika menggunakan sediaan Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) memiliki perbedaan dengan hasil penggunaan anestetika sediaan kombinasi atropin-ketamin-xylazin oleh (Nesgash et al., 2016) hematological, and anesthetic parameters and also to assess anesthetic complications and develop anesthetic protocol for dogs. The bitches were randomly assigned into Group I and Group II. Anesthetic protocol was achieved by administration of atropine (0.04 mg/kg BW, S.C. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa rata-rata frekuensi jantung $161,2 \pm 26,9$ per menit (Arieski et al., 2018) dan selalu menunjukkan kenaikan



Gambar 1. Frekuensi denyut jantung pada kondisi preanestesi, stadium III dan tahap recovery

Tabel 2. Hasil pemeriksaan fisik dan fisiologis sampel 53 kucing jantan.

Parameter	Preanestesi	Stadium I	Stadium II	Stadium III	Recovery
Denyut Jantung (per menit)	148±31.57	-	-	152±26	145±16.51
Frekuensi napas (per menit)*	59±27.70	-	-	28±10.43	39±15.45
Suhu (°C)	38.14±1.51	-	-	38.59±0.67	37.66±0.78
Rata-rata Berat Badan (kg)	3.06 ± 0.92				
Onset (menit)*	2.39 ± 1.06				
Durasi (menit)*	42.56 ± 8.4				

Keterangan : *menunjukkan nilai yang signifikan

frekuensi denyut jantung di setiap stadium anestesi. Menurut Pirade (2015) indikasi status teranestesi pada tahap stadium III khususnya *plane* I oleh anestetika umum memiliki ciri-ciri denyut jantung kuat dengan frekuensi $>80x$ /menit.

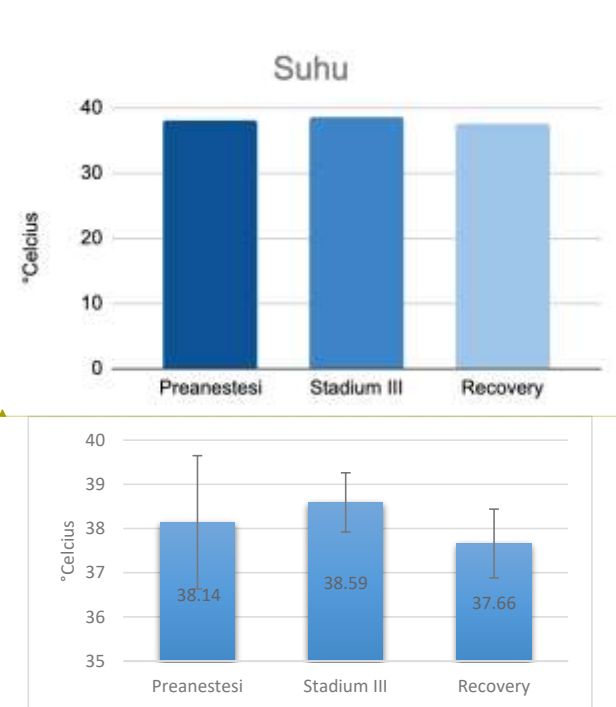
Analisis suhu kucing memperoleh hasil nilai Sig. (2-tailed) atau p sebesar 0,493 dan nilai $p>0,05$. Hasil analisis statistik ini menunjukkan pengaruh yang tidak signifikan, dengan kata lain tidak terdapat perbedaan yang berarti efek sediaan anestetika Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) terhadap suhu kucing (Gambar 2).

Rata-rata suhu kucing menunjukkan adanya sedikit kenaikan yang tidak signifikan dari kondisi preanestesi hingga memasuki stadium III setelah diinjeksi anestetika Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru), kemudian mengalami penurunan yang tidak signifikan dari stadium III ke tahap *recovery*. Kucing dengan keadaan fisik sehat memiliki suhu tubuh $38.1-39.2^{\circ}\text{C}$ (Aprilianti *et al.*, 2020).

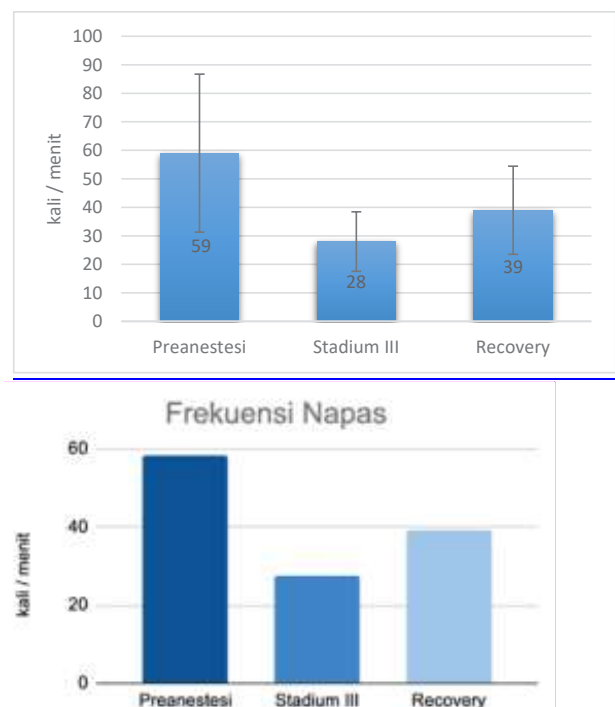
Analisis data frekuensi pernapasan didapatkan nilai Sig. (2-tailed) atau p sebesar 0,00, dan nilai $p<0,05$. Hasil analisis statistik menunjukkan pengaruh yang signifikan. Hal ini dikatakan terdapat perbedaan yang signifikan bahwa terdapat efek dari sediaan anestetika Ket-

A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) terhadap frekuensi napas (Gambar 3).

Rata-rata frekuensi napas kucing jantan domestik menunjukkan adanya penurunan yang signifikan dari kondisi preanestesi hingga memasuki stadium III setelah diinjeksi anestetika Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) kemudian mengalami kenaikan yang signifikan dari stadium III ke tahap *recovery*. Onset dan durasi rata-rata kucing yang diinjeksikan sediaan kombinasi ketamin, xylazin, dan atropin menurut Neshgash *et al.* (2016) secara berurutan adalah 9.67 ± 1.211 menit dan 59.17 ± 1.94 menit. Onset dan durasi rata-rata kucing yang diinjeksi sediaan jadi Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) pada penelitian ini menunjukkan hasil 2.39 ± 1.06 menit dan 42.56 ± 8.4 menit yang berarti sediaan kombinasi ketamin, xylazin, dan atropin memiliki onset dan durasi anestesi yang lebih lama dibanding onset dan durasi obat Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru). Suhu normal kucing berkisar $38.1-39.2^{\circ}\text{C}$, frekuensi denyut jantung yaitu 100-259 kali per menit, frekuensi pernapasan yaitu 20-30 kali per menit (Aprilianti *et al.*, 2020). Anestesi yang ideal adalah yang memiliki onset cepat dan durasi panjang (Aprilianti *et al.*, 2020). Hasil pengamatan onset dan durasi pada penelitian



Gambar 2. Suhu pada kondisi preanestesi, stadium III dan tahap *recovery*



Gambar 3. Frekuensi napas pada kondisi preanestesi, stadium III dan tahap *recovery*

sediaan kombinasi atropin, ketamin, dan xylazin maka sediaan Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) lebih baik dari segi onset tetapi tidak dari segi durasi. Hasil ini sesuai dengan penelitian (Aprilianti *et al.*, 2020) yang mengatakan bahwa penggunaan sediaan jadi berupa kombinasi ketamin hidroklorida, atropin sulfat, dan xylazin hidroklorida unggul dalam waktu induksinya yang cepat namun kurang dalam durasi anestesi. Namun demikian durasi anestesi yang pendek dibutuhkan pada operasi dan penanganan ringan seperti kastrasi atau tindakan luka dan trauma superfisial. Penggunaan kombinasi atropin-ketamin-xylazin memerlukan dua kali injeksi, yang pertama injeksi atropin baru kemudian injeksi kedua ketamine-xylazine 10-15 menit setelah injeksi pertama, sedangkan anestetika Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) hanya memerlukan satu kali injeksi saja. Pemberian sediaan anestetika Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) menyebabkan potensi anestetik pada kucing jantan domestik ditandai dengan adanya efek yang signifikan terhadap perubahan frekuensi pernapasan, tetapi tidak pada suhu dan denyut jantung kucing. Berdasarkan analisis data dapat ditarik kesimpulan bahwa penggunaan sediaan anestetika Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) memiliki onset yang lebih cepat dan durasi anestesi lebih singkat dari kombinasi atropin-ketamin-xylazin. Selain itu, dengan mempersingkat prosedur anestesi dari dua kali injeksi menjadi satu kali injeksi dapat meminimalkan penggunaan alat medis seperti spuit serta mengurangi rasa stres pada hewan.

Kesimpulan

Pemberian sediaan anestetika Ket-A-Xyl® (Ket-A-Xyl® 20 ml, AgroVet, Peru) memiliki potensi anestesi pada kucing jantan domestik ditandai dengan adanya efek yang signifikan terhadap perubahan frekuensi pernapasan, tetapi tidak pada suhu dan denyut jantung kucing. Sediaan anestesi Ket-A-Xyl® berpotensi sebagai obat anestetika yang baik pada kastrasi kucing domestik karena lebih efisien, onset cepat dan durasi singkat, serta tidak menimbulkan respon fisiologis yang fatal selama penggunaannya.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Yayuk sebagai pemilik Shelter Kucing Oye yang telah membantu dalam kerja sama pengambilan data sampel penelitian, penulis juga mengucapkan terima kasih kepada komunitas *Cat Lovers* Jogja yang turut berpartisipasi dalam kelancaran penelitian.

Daftar Pustaka

- Aprilianti, Y., Rahmianti, D. U., Setyowati, E. Y., & Dahlan, A. (2020). Potensi Anestetik Sediaan Jadi Kombinasi Ketamin Hidroklorida, Atropin Sulfat, Dan Xylazin Hidroklorida Pada Kucing Jantan Lokal. *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(3), 475–487. <https://doi.org/10.19087/Imv.2020.9.3.475>
- Arieski, Y., Roslizawaty, & Syafruddin. (2018). Pengaruh Ketamin – Xylazin Terhadap Peningkatan Frekuensi Jantung Dan Nafas Pada Kucing Lokal (*Felis Domestica*) Yang Diovariohisterektomi. *Jimvet*, 2(4), 593–598.
- Gaol, R. L., Sudisma, I. G. N., Ardana, Komang, I. B., & Sudimartini, L. M. (2016). Gambaran Darah Anjing Yang Diinjeksi Xilasin-Ketamin Secara Subkutan. *Buletin Veteriner Udayana*, 8(1), 99–105.
- Howe, L. M. (2006). Surgical Methods Of Contraception And Sterilization. *The-riogenology*, 66(3 Spec. Iss.), 500–509. <https://doi.org/10.1016/J.Theriogenology.2006.04.005>
- Katzung, B. G. (2007). *Farmakologi Dasar Dan Klinik*. Salemba Medika.
- Lewar, E. I. (2015). Terhadap Perubahan Frekuensi Nadi Intra Anestesi Di Kamar Operasi Rumah Sakit Umum Daerah. *Jurnal Info Kesehatan*, 14 No 2.
- Nesgash, A., Yaregal, B., Kindu, T., & Hailu, E. (2016). Evaluation Of General Anesthesia Using Xylazine-Ketamine Combination With And Without Diazepam For Ovariohysterectomy In Bitches. *Journal Of Veterinary Science & Technology*, 07(06). <https://doi.org/10.4172/2157-7579.1000376>

- Pirade, P. . (2015). Perbandingan Pengaruh Anestesi Ketamin-Xylazin Dan Ketamin-Zoletil Terhadap Fisiologis Kucing Lokal. *Skripsi*.
- Rahardjo, R. (2004). *Kumpulan Kuliah Farmakologi* (2nd Ed.). Egc. [https://Books.Google.Co.Id/Books?Id=Mvw2vcmxregc&Lpg=PP1&Hl=Id&Pg=Pp1#V=Onepage&Q&F=False](https://books.google.co.id/books?id=Mvw2vcmxregc&Lpg=PP1&Hl=Id&Pg=Pp1#V=Onepage&Q&F=False)
- Rahmiati, D. U., & Wira, D. W. (2019). Induksi Anastesi Menggunakan Ket-A-Xyl® Pada Kucing Domestik. *Arshi Veterinary Letters*, 3(3), 53–54. [https://Doi.Org/10.29244/Avl.3.3.53-54](https://doi.org/10.29244/Avl.3.3.53-54)
- Rianto, S. ., Gunawan, G. S., & Elysabeth. (2009). *Farmakologi Dan Terapi*. Departemen Farmakologi Dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Robertson, S. A., Gogolski, S M., Pascoe, P., Shafford, H. L., Grgginhagen, G. M. 2018. Feline Anesthesia Guidelines. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 20 : 602 - 634
- Ross, L., & Ross, B. (2008). *Anaesthetic And Sedative Techniques For*. [http://Scholar.Google.Com/Scholar?Hl=En&Btng=Search&Q=Intitle:Anaesthetic+And+Sedative+Techniques+For#0](http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnq=search&q=intitle:anaesthetic+and+sedative+techniques+for#0)
- Sudisma, I. G. N. (2010). *Analgesi Relaksasi Sedasi*. 8–26.
- Tjay, T. H., & Rahardja, K. (2007). *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan, Dan Efek-Efek Sampingnya* (6th Ed.). Pt Elex Media Komputindo. [https://Onesearch.Id/Record/Ios3443.Slims-3369](https://onesearch.id/record/ios3443.Slims-3369)

Pendeteksian aecara Otomatis Telur Cacing *Haemonchus contortus* menggunakan Algoritma YOLOv3

Automatic Detection of Haemonchus contortus Egg Using the YOLOv3 Algorithm

Ridi Arif^{1*}, Elok Budi Retnani¹, Fadjar Satrija¹, Rizky Diyu Purnama²

¹Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner,
sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis IPB University, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680
Program Pendidikan Dokter Hewan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis IPB University
Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

*Email: ridiarif88@apps.ipb.ac.id

Diterima: 5 Januari 2022, direvisi: 7 September 2022, disetujui: 24 Oktober 2022

Abstract

Haemonchus contortus infection or haemonchosis generally occurs in sheep. *Haemonchus contortus* is the most pathogenic species in small ruminants and lives in the abomasum. Animal infected by *H. contortus* will gradually suffer anemia due to the activity of this blood-sucking worms. In addition to causing anemia, sheep will also experience weight loss due to decreased digestibility. The infection can run acutely or chronically and under certain conditions can also cause death in animals. Therefore an effective and efficient smart device is needed to identify the presence of *Haemonchus contortus* egg as a fast detection tool for worm eggs. This study aim to make a smart device based on YOLOv3 algorithm that is able to quickly detect and identify the presence of *H. contortus* eggs. This study uses the You Only Look Once (YOLO) Algorithm version 3 which is an algorithm developed to help detect object in real time. The YOLO Algorithm used the anaconda application framework and choose pycharm and OPENCV. To identify *H. contortus* eggs it is necessary to tag the dataset to create weight training file for YOLO. The result of trials using a light microscope and smartphone show that the YOLOv3 Algorithm is able to identify *H. contortus* eggs with a average confidence value more than 90%. Meanwhile the result using Laptop and Dino-Lite[®] connected to a light microscope showed that Dino-Lite[®] was unable to identify *H. contortus* eggs because access was restricted. Automatic detection of *H. contortus* eggs can be done by utilizing the YOLOv3 algorithm which is assisted by hardware and has ability to identify with high level of accuracy.

Key words: egg worm; *Haemonchus contortus*; Smartphone; YOLOv3

Abstrak

Infeksi *Haemonchus contortus* atau haemonchosis umumnya terjadi pada ruminansia kecil seperti domba. Cacing parasit *H. contortus* adalah spesies yang paling patogenik pada ruminansia kecil dan berhabitat di abomasum. Hewan yang terinfeksi *H. contortus* secara berangsur-angsur akan mengalami anemia karena aktivitas cacing yang menghisap darah. Selain menimbulkan anemia, domba akan mengalami penurunan bobot badan akibat penurunan daya cerna. Infeksi tersebut dapat berjalan secara akut maupun kronis dan dalam kondisi tertentu dapat juga mengakibatkan kematian pada hewan. Oleh karena itu dibutuhkan perangkat yang efektif dan efisien untuk mengidentifikasi keberadaan telur cacing *H. contortus* sebagai alat deteksi cepat telur cacing. Tujuan penelitian ini adalah membuat perangkat cerdas berbasis algoritma YOLOv3 yang mampu mendeteksi dan mengidentifikasi telur cacing *H. contortus* secara cepat. Penelitian ini menggunakan algoritma *You Only Look Once* (YOLO) versi 3 yang merupakan algoritma yang dikembangkan untuk membantu mendeteksi objek secara realtime. Algoritma YOLO dijalankan dalam framework aplikasi anaconda dengan

menggunakan pycharm dan aplikasi OPENCV. Identifikasi telur *H. contortus* secara otomatis berhasil dilakukan dengan proses tagging pada dataset dan membuat file weight training bagi YOLO. Hasil uji coba menggunakan mikroskop cahaya dan *smartphone* menunjukkan bahwa bahwa Algoritma YOLO mampu mengidentifikasi telur *H. contortus* dengan nilai rata-rata akurasi lebih dari 90%. Penggunaan perangkat Dino-Lite® yang terhubung pada mikroskop cahaya menunjukkan algoritma YOLO tidak dapat berjalan karena adanya enkripsi pada perangkat tersebut. Otomatisasi pendeteksian telur *Haemonchus contortus* dapat dilakukan dengan memanfaatkan Algoritma YOLOv3 yang dibantu dengan hardware berupa laptop dan *smartphone* android serta memiliki kemampuan identifikasi dengan tingkat akurasi yang tinggi.

Kata kunci: *Haemonchus contortus*; *smartphone*; telur cacing; YOLOv3

Pendahuluan

Iklim Indonesia yang tropis menjadi tantangan tersendiri bagi peternak dalam mengelola kesehatan ternaknya. Dengan kondisi lingkungan yang mendukung, berbagai agen penyakit yang bersumber dari bakteri, virus, dan parasit dapat dengan mudah tumbuh dan berkembang. Penyakit parasitik seperti kecacingan menjadi permasalahan yang cukup populer pada ternak ruminansia. Pada kondisi iklim tropis, cacing parasit dapat melangsungkan siklus hidupnya sepanjang tahun. Hal inilah yang meningkatkan risiko terjadinya reinfeksi dan autoinfeksi pada ternak. Salah satu cacing parasit yang sering menyerang dan menimbulkan kerugian pada ternak ruminansia adalah cacing *Haemonchus contortus* (Ahmad et al. 2020)

Infeksi oleh *H. contortus* atau haemonchosis umumnya terjadi pada ruminansia kecil seperti kambing dan domba. *Haemonchus contortus* adalah spesies yang paling patogenik pada ruminansia kecil dan berhabitat di abomasum (Pathak et al. 2013; Basier et al. 2016). Spesies ini merupakan nematoda gastrointestinal penghisap darah (Selemon 2018). Hewan yang terinfeksi *Haemonchus contortus* secara berangsur-angsur akan mengalami anemia karena aktivitas cacing yang menghisap darah (Arsenopoulos 2021). Selain menimbulkan anemia, hewan juga akan mengalami hipoproteinemia dan kehilangan darah 200-600 ml per hari (Ehsan 2020). Ternak juga akan mengalami penurunan berat badan akibat penurunan daya cerna. Infeksi tersebut dapat berjalan secara akut maupun kronis dan dalam kondisi tertentu dapat juga mengakibatkan kematian pada hewan (Noviana et al. 2017). Hal tersebut menunjukkan bahwa haemonchosis secara langsung dapat menimbulkan kerugian ekonomi yang besar di sektor peternakan

(Roeber et al. 2013). Oleh karena itu deteksi cepat dan tepat keberadaan *H. contortus* pada ternak diperlukan sebagai langkah awal untuk menegakkan diagnosis sehingga terapi dapat diberikan secara tepat yang pada akhirnya dapat mencegah kerugian yang ditimbulkan.

Metode umum yang saat ini digunakan untuk mengetahui keberadaan cacing *H. contortus* adalah dengan mencari telur cacingnya yang keluar bersama feses. Identifikasi telur cacing ini dilakukan untuk mengetahui status dan derajat infeksi kecacingan pada hewan. Metode yang umum digunakan dalam hal ini adalah teknik pemeriksaan *McMaster*. Metode *McMaster* merupakan metode kuantitatif untuk menduga derajat infeksi kecacingan (Whary et al 2015). Pada pelaksanaannya, penggunaan metode *McMaster* memerlukan waktu yang lama dan teknisi laboratorium yang terampil serta terlatih sehingga metode ini kurang efisien jika digunakan untuk melakukan deteksi cepat keberadaan telur cacing pada hewan dengan jumlah sampel yang banyak. Pemanfaatan teknologi dapat digunakan sebagai terobosan baru untuk mengembangkan alat deteksi cepat keberadaan telur cacing berbasis kecerdasan buatan. Teknologi *computer vision* dengan target pendeteksian objek secara otomatis menjadi salah satu yang paling berkembang. Teknik ini dapat diimplementasikan melalui salah satu algoritma *Convolutional Neural Network* (CNN) yang paling banyak dikembangkan saat ini yaitu YOLO.

Algoritma *You Only Look Once* (YOLO) adalah metode yang dikembangkan oleh Joseph Redmond pada sekitar tahun 2015. Algoritma ini dikembangkan untuk mendapatkan proses identifikasi objek otomatis secara lebih cepat dan tepat dibandingkan CNN sehingga saat ini YOLO

banyak dikembangkan untuk mendeteksi objek secara *real time* (Fandisyah 2021). Penggunaan algoritma YOLO sebagai metode cepat untuk diagnostik parasit dapat dimanfaatkan sebagai metode yang efektif dan efisien untuk diagnosis kejadian infeksi oleh *H. contortus*.

Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan Algoritma *You Only Look Once* (YOLO) yang merupakan sebuah algoritma yang dikembangkan untuk membantu mendeteksi objek secara *realtime* (Fandisyah 2021). Versi yang digunakan dalam penelitian ini adalah YOLOv3 yang memiliki performa deteksi objek yang lebih cepat dibandingkan dengan algoritma CNN lainnya. Algoritma YOLO dijalankan menggunakan *framework* Anaconda melalui perangkat lunak PyCharm dan aplikasi OPENCV. Untuk dapat mengidentifikasi telur *H. contortus* dilakukan *tagging* pada *database* atau *dataset* untuk selanjutnya dihasilkan *file weight training* bagi YOLO. Pembuatan *file weight training* menggunakan aplikasi *Visual object tagging tool* (VoTT). *File weight training* dibuat dengan menginput data citra telur cacing *H. contortus* berupa foto telur cacing dan nama telur cacing yang diberikan. Pada tahap tersebut telah didapatkan data dasar untuk menjalankan proses pendeteksian telur cacing secara otomatis meliputi *file weights*, *cfg*, dan *names*. Target awal masih menggunakan satu *class* yang diujikan sebagai *dataset training* YOLOv3 pada penelitian ini.

Pembuatan sediaan telur cacing didapatkan dari awetan cacing dewasa agar mendapatkan telur *H. contortus* murni. Cacing dewasa *H. contortus* diletakkan dalam petri *disk* dengan media akuades. Cacing tersebut kemudian dibedah dan dikoleksi telur cacingnya. Telur yang telah dikoleksi digunakan sebagai objek uji coba untuk algoritma YOLO yang telah di-*training*. *Training* algoritma YOLOv3 dilakukan dengan mengumpulkan *image training* berupa foto telur *H. contortus* dengan berbagai variasi yang didapatkan dari internet dan dokumentasi pribadi sebanyak 100 buah untuk kemudian diekstraksi menjadi *file weight* dan *file cfg*. Nama yang diberikan untuk *tagging* berjumlah satu *class* dengan nama *strongyle*. Perangkat *hardware* sebagai model *prototipe* alat diagnostik parasit

dibuat dengan merangkaikan *webcam*, *smartphone*, Dino-Lite® dan mikroskop yang selanjutnya dihubungkan secara *wireless* pada laptop. Pengujian dilakukan terhadap 20 sampel telur untuk mendapatkan gambaran akurasi YOLOv3 dalam mendeteksi telur cacing *H. contortus*.

Hasil dan Pembahasan

Perkembangan alat diagnostik berbasis teknologi di bidang kedokteran hewan terus berkembang. Salah satunya adalah pemanfaatan algoritma YOLO dalam mengidentifikasi keberadaan telur cacing *H. contortus*. Algoritma YOLO saat ini terus dikembangkan untuk beragam keperluan dengan rata-rata target objek yang dideteksi berukuran makroskopis. Dengan memahami prinsip algoritma ini, maka dapat juga dikembangkan untuk pendeteksian otomatis pada benda yang berukuran mikro seperti telur cacing dengan bantuan mikroskop. Prinsip utama dari YOLO adalah melakukan prediksi objek target berdasarkan pola dengan memperhitungkan lebar dan tinggi pada *frame* prediksi. Melalui prinsip ini YOLO mampu melakukan identifikasi objek secara cepat (Zhao dan Li, 2020). Telur *H. contortus* yang merupakan tipe *strongyle* secara umum memiliki bentuk yang oval dan berbentuk relative sama di kedua kutubnya (Ahmad et al 2020). Selain itu gambaran telur dibawah mikroskop memperlihatkan dinding telur yang tipis dan adanya area transparan atau berongga diantara dinding telur dengan area *blastomere* (Supriadi et al 2020). Bagian ciri-ciri tersebut yang dapat dikenali oleh YOLO melalui bentuk polanya yang konsisten sehingga dapat dilakukan otomatisasi deteksinya. Untuk dapat melakukan identifikasi otomatis ini dilakukan dua proses utama yaitu pengembangan *script code* untuk algoritma YOLOv3 dan perangkaian *hardware* alat diagnosis nya. *Script code* yang dibuat merupakan penggabungan perintah dari algoritma YOLOv3 dalam mengenali objek dan perintah untuk mengakses komponen *hardware* yang digunakan. *Script code* yang dikembangkan dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 1.

Script code yang menjalankan algoritme YOLOv3 ditujukan untuk dapat mengenali objek berupa video. Uji coba sebelumnya

```

# Load Yolo
net = cv2.dnn.readNet("yolov3_training_final.weights", "yolov3_testing.cfg")
classes = []
with open("obj.names", "r") as f:
    classes = [line.strip() for line in f.readlines()]
layer_names = net.getLayerNames()
output_layers = [layer_names[i[0] - 1] for i in net.getConnectedOutLayers()]
colors = np.random.uniform(0, 255, size=(len(classes), 3))

# Loading image
cap = cv2.VideoCapture(1)

font = cv2.FONT_HERSHEY_PLAIN
starting_time = time.time()
frame_id = 0
while True:
    _, frame = cap.read()
    frame_id += 1

    height, width, channels = frame.shape
    # Detecting objects
    blob = cv2.dnn.blobFromImage(frame, 0.00392, (416, 416), (0, 0, 0), True, crop=False)
    net.setInput(blob)
    outs = net.forward(output_layers)
    # Showing informations on the screen
    class_ids = []
    confidences = []
    boxes = []
    for out in outs:
        for detection in out:
            scores = detection[5:]
            class_id = np.argmax(scores)
            confidence = scores[class_id]
            if confidence > 0.2:
                # Object detected
                center_x = int(detection[0] * width)
                center_y = int(detection[1] * height)
                w = int(detection[2] * width)
                h = int(detection[3] * height)
                # Rectangle coordinates
                x = int(center_x - w / 2)
                y = int(center_y - h / 2)
                boxes.append([x, y, w, h])
                confidences.append(float(confidence))
                class_ids.append(class_id)

    indexes = cv2.dnn.NMSBoxes(boxes, confidences, 0.8, 0.3)

    for i in range(len(boxes)):
        if i in indexes:
            x, y, w, h = boxes[i]
            label = str(classes[class_ids[i]])
            confidence = confidences[i]
            color = colors[class_ids[i]]
            cv2.rectangle(frame, (x, y), (x + w, y + h), color, 2)
            cv2.putText(frame, label + " " + str(round(confidence, 2)), (x, y + 30), font, 3, color, 3)

    elapsed_time = time.time() - starting_time
    fps = frame_id / elapsed_time
    cv2.putText(frame, "FPS: " + str(round(fps, 2)), (10, 50), font, 4, (0, 0, 0), 3)
    cv2.imshow("Image", frame)
    key = cv2.waitKey(1)
    if key == 27:
        break

cap.release()
cv2.destroyAllWindows()

```

Gambar 1 Script Code algoritma YOLOv3 untuk deteksi otomatis telur cacing *H. contortus*

yaitu data input berupa gambar dapat dengan mudah bagi YOLO untuk mengenali objek telur *H. contortus*. Pada script code YOLOv3 berupa input video, kecepatan deteksi dan nilai *confidence level* sistemnya dikonfigurasi pada nilai standar untuk menyesuaikan pada kepentingan penggunaannya. Kepentingan penggunaan perangkat ini adalah digunakan pada mikroskop untuk membantu deteksi otomatis telur strongyle sehingga tidak terlalu dibutuhkan nilai waktu kecepatan deteksi yang tinggi. Melalui konfigurasi tersebut, kecepatan standar dalam deteksi telur cacing telah memenuhi dan dengan tetap menjaga nilai *confidence level* sistemnya agar tetap memberikan hasil yang akurat. Melalui input data berupa video dalam menjalankan YOLO maka deteksi telur cacing dapat dilakukan secara *real time* dan hal ini sangat sesuai dengan penggunaan nantinya dimana proses pencarian telur cacing di bawah mikroskop pasti akan menggerakkan gelas objek.

Selanjutnya, script code untuk mengakses hardware diujicobakan pada tiga rangkaian hardware yang berbeda. Pertama, penggunaan

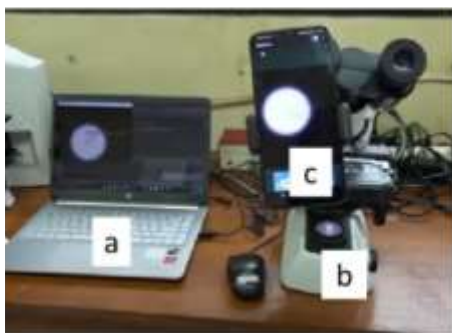
rangkaian laptop dengan webcam. Kedua, uji coba menggunakan rangkaian mikroskop cahaya, laptop, dan Dino-Lite®. Ketiga, uji coba menggunakan rangkaian mikroskop cahaya, laptop, dan smartphone. Uji coba pertama menggunakan rangkaian laptop dan webcam menunjukkan bahwa script code dapat mengakses perangkat hardware dengan baik. Pada percobaan ini digunakan print out gambar telur *H. contortus* sebagai objek uji cobanya dan terlihat bahwa algoritme YOLO dapat berjalan dengan baik dalam mendeteksi objek target. Hasil uji coba sebanyak tiga kali pada target berupa print out telur *H. contortus* disajikan pada Gambar 2.

Rangkaian hardware laptop dan webcam ini dapat menjalankan YOLO dan memberikan hasil yang baik dengan tingkat nilai *confidence level* sistem rata-rata adalah 96.7 ± 2.26 %. Tingginya nilai tersebut diikuti dengan kemampuannya mendeteksi seluruh telur tipe strongyle pada satu area yang diujikan. Gambar 2a juga menunjukkan kemampuan YOLO untuk mengenali telur strongyle diantara tipe telur lainnya. Hal tersebut ditunjukkan dari YOLO yang mampu mendeteksi telur tipe strongyle namun tidak mendeteksi telur tipe ascarid yang juga ada pada gambar tersebut. Pada algoritma ini, baru dikembangkan kemampuan YOLO untuk mengenali objek berupa telur strongyle dan belum dikembangkan kemampuan untuk menghitung jumlah telur yang terdeteksi. Perangkat webcam yang digunakan dapat berupa webcam yang sudah tersemat pada laptop maupun webcam eksternal dengan melakukan perubahan kode pada baris video capture dengan mengganti kodenya menjadi 1 atau 0.

Selanjutnya, pada rangkaian hardware berupa laptop dan Dino-Lite® yang terhubung pada mikroskop cahaya digunakan sediaan telur cacing *H. contortus* murni sebagai objek uji coba. Hasil pengujian memperlihatkan bahwa algoritme YOLO tidak dapat berjalan untuk mengidentifikasi telur cacing. Hal tersebut terjadi karena script code gagal untuk mengakses hardware Dino-Lite® yang kemungkinan besar karena adanya enkripsi pada perangkat tersebut. Gagalnya akses pada hardware menyebabkan tidak adanya input image yang dapat diproses oleh YOLO sehingga proses identifikasi tidak



Gambar 2 Algoritma YOLO dalam tiga kali pengujian (a, b, dan c) dapat mengenali objek telur *strongyle* dengan rangkaian perangkat laptop dan webcam



Gambar 3. Susunan perangkat laptop (a) dengan mikroskop cahaya (b) dirangkai dengan *smartphone* (c) yang terhubung secara *wireless*



Gambar 4. Hasil pengujian YOLO pada susunan perangkat laptop dan mikroskop cahaya dengan *smartphone* yang terhubung secara *wireless*

dapat terjadi. Pada uji coba ketiga, perangkat Dino-Lite diganti dengan *smartphone* berbasis android. Susunan perangkatnya adalah laptop dan mikroskop cahaya yang telah disambungkan dengan *smartphone* pada bagian lensa okulernya menggunakan *phone holder*. Susunan perangkat tersebut disajikan pada Gambar 3.

Pada pengujian ini digunakan preparat telur cacing *H. contortus* sebagai objek uji cobanya. Koneksi laptop dengan *smartphone* dilakukan secara *wireless* menggunakan aplikasi DroidCam yang sebelumnya telah diinstal di laptop dan *smartphone*. Hasil uji coba menggunakan perangkat ini menunjukkan bahwa Algoritma YOLO dapat dijalankan dan mampu mengidentifikasi telur *H. contortus* dengan nilai *confidence level* yang tinggi. Hasil identifikasi terhadap 10 telur di bawah

mikroskop didapatkan rata-rata 90.7 ± 3.26 %. Salah satu tangkapan layar hasil pengujian disajikan pada Gambar 4.

Koneksi secara *wireless* antara *smartphone* dengan laptop tidak memengaruhi jalannya YOLO dalam mendeteksi telur cacing. *Smartphone* yang terhubung dengan lensa okuler mikroskop secara *real time* dapat mengirimkan data tangkapan kamera ke laptop untuk kemudian YOLO dapat mengidentifikasi sebagai telur *strongyle*. Penggunaan algoritma YOLOv3 dalam pengujian ini memberikan hasil yang bagus karena YOLOv3 dikenal memiliki performa yang cukup baik dibandingkan metode deteksi objek lainnya dengan waktu cepat sehingga cocok untuk model deteksi secara *real time* (Fandisyah 2021). Pada penggunaan YOLOv3 untuk identifikasi objek berukuran makroskopis juga didapatkan hasil pengujian yang cepat secara *real time* dengan waktu interferensi yang singkat yaitu 0.9 detik (Liunanda et al. 2020). Dalam pengembangannya ke depan, *script code* dapat terus dimodifikasi pada versi YOLO yang terbaru sehingga didapatkan kemampuan dan kecepatan deteksi yang semakin baik. Selain itu, fungsi algoritma YOLO ini dapat dikemas dalam bentuk aplikasi terbuka berbasis android sehingga secara mudah dapat digunakan oleh praktisi di lapangan.

Kesimpulan

Deteksi otomatis telur tipe *strongyle* dari *Haemonchus contortus* dapat dilakukan secara *real time* dengan memanfaatkan algoritma YOLOv3. Susunan *hardware* yang dapat digunakan adalah laptop dan *smartphone* berbasis android yang terhubung melalui aplikasi DroidCam. Kemampuan deteksi YOLOv3 dalam mengenali telur *H. contortus* memiliki nilai *confidence level* pada sistem diatas 90% dengan waktu identifikasi yang baik.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) IPB yang telah memberikan pendanaan melalui skema penelitian Dosen Muda tahun 2021.

Daftar Pustaka

- Ahmad, R.Z., Tiffarent, R. (2020). Aspek patologi *Haemonchus* pada kambing dan domba. *WARTAZOA*. 30(2): 91-102.
- Arsenopoulos, K.V., Fthenakis, G.C., Katsarou, E.I., Papadopoulos E. (2021). Haemonchosis : A challenging parasitic infection of sheep and goats. *Animals*. (11) : 2-28
- Basier, R.B., Khan, L.P., Sargison, N.D., Van Wyk, J.A. (2016). The pathophysiology, ecology, and epidemiology of *Haemonchus contortus* in small ruminants. *Advances in Parasitology*. 93: 95-144.
- Ehsan, M., Hu, R.S, Liang, Q.S., Hou, J.L., Song, X., Yan, R., Zu, X.Q., Li, X. (2020). Advances in the development of anti-*Haemonchus contortus* vaccines challenges, opportunities and perspectives. *Vaccines*. 8(555) : 2-18
- Fandisyah, A.F., Iriawan, N., Winahju, W.S. (2021). Deteksi Kapal Laut di Indonesia Menggunakan YOLOv3. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 1(10) : 2337-2520.
- Liunanda, C.N., Rostianingsih, S., Purbowo, A.N. (2020). Implementasi algoritma YOLO pada aplikasi pendeteksi senjata tajam di android. *Jurnal Infra*. 8(2): 7
- Noviana, R., Anwar, C., Sunarso, A., Koesdarto, S., Mumpuni, S., Sahrial, I.H. (2017). Daya anthelmintika ekstrak etanol daun kemangi terhadap mortalitas cacing *Haemonchus contortus* secara in vitro. *Journal of Parasite Science*. 2(1) : 55-58.
- Pathak, A.K., Dutta, N., Banerjee, P.S., Pattanaik, A.K., Sharma, K. (2013). Influence of dietary supplementation of condensed tannins through leaf meal mixture on intake nutrient utilization and performance of *Haemonchus contortus* infected sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. (21) : 1446-1458.
- Roeber, F., Jex, A.R., Gasser, R.B. (2013). Impact of gastrointestinal parasitic nematodes of sheep, and the role of advanced molecular tools for exploring epidemiology and drug resistance—an Australian perspective. *Parasites and Vector*. 6, 153.
- Selemon, R. (2018). Review on control of *Haemonchus contortus* in sheep and goat. *Jorunal of Veterinary Medicine and Research*. 5: 1139.
- Supriadi, S., Kutbi, M.K., Nurmayani, S. (2020). Identifikasi parasit cacing nematoda gastrointestinal pada sapi bali (*Bos sondaicus*) di Desa Taman Ayu Kabupaten Lombok Barat. *Junal Ilmiah Biologi*. 8(1): 58-66.
- Whary, M.T., Baumgarth, N., Fox, J.G., Barthold, S.W. (2015). *Laboratory Animal Medicine* 3th ed. Elsevier Inc, California.
- Zhao, L., Li, Shuaiyang. (2020). Object Detection Algorithm based on Improved YOLOv3. *Electronics*. 9: 1-11.

Diagnosis dan Pengobatan Babesiosis pada Anjing Shih-Tzu di Klinik Lilipoet, Yogyakarta, Indonesia

Babesiosis Diagnosis and Treatment in Shih-Tzu Dogs at Lilipoet Clinic, Yogyakarta, Indonesia

Nabilah Putroe Agung¹, Dwi Priyowidodo², Ida Tjahajati³, Lily Gunawan⁴

¹Program Studi Sains Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

³Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran, Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

⁴Program Studi Sains Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

*Corresponding author, email: priyo@ugm.ac.id

Diterima: 19 April 2022, direvisi: 29 Juni 2022, disetujui: 18 Juli 2022

Abstract

Dogs are one of the pet animals that have a loyal nature and are widely cared for in the community. It is not uncommon for dogs to often play in parks or outdoor environments that are surrounded by grass to play with their owners. The grass is a breeding ground for ticks, which can be vectors of disease carriers for dogs. Babesiosis is a disease caused by *Babesia sp.* and is transmitted by tick vectors. In this paper, we will discuss the clinical condition, diagnosis, and treatment of one dog with babesiosis at the Lilipoet clinic, Yogyakarta. A Shih-Tzu dog has clinical symptoms of fever with a temperature of 39.9°C, decreased appetite, and has a history of yellow vomiting, and found one tick. Blood was collected for microscopic examination of blood smears, blood hematologic, and molecular examination. Hematologic examination of the blood showed the value of thrombocytopenia with a value of $32 \times 10^3/\mu\text{L}$. Molecular examination with Polymerase Chain Reaction (PCR) showed positive results of *Babesia sp.* with visible DNA bands at 490bp. Treatment was carried out by giving one dose of antiprotozoal diminazen aceturate 3.5 mg/kg BW and doxycycline 10mg/kg BW once a day for 14 days. Fourteen days after completion of treatment, She was declared cured by molecular examination.

Key words: *babesiosis; diminazen aceturate; dog; doxycycline; PCR*

Abstrak

Anjing merupakan salah satu hewan kesayangan yang memiliki sifat setia dan banyak diperlihara oleh masyarakat. Tidak jarang anjing sering bermain ke taman atau lingkungan luar rumah yang banyak dikelilingi oleh rumput untuk bermain dengan pemiliknya. Rumput menjadi salah satu tempat untuk perkembangbiakan caplak yang dapat menjadi vektor pembawa penyakit bagi anjing. Babesiosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Babesia sp.* dan ditularkan oleh vektor caplak. Pada penulisan ini akan membahas mengenai keadaan klinis, diagnosis, dan pengobatan pada salah satu anjing yang mengalami babesiosis di klinik Lilipoet Yogyakarta. Seekor anjing Shih-Tzu memiliki gejala klinis demam dengan suhu 39,9°C, nafsu makan berkurang, serta memiliki riwayat muntah kuning dan ditemukan satu ekor caplak. Darah dikoleksi untuk pemeriksaan mikroskopis apusan darah, hematologi darah, dan pemeriksaan molekuler. Pemeriksaan hematologi darah menunjukkan nilai trombositopenia dengan nilai $32 \times 10^3/\mu\text{L}$. Pemeriksaan molekuler dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menunjukkan hasil positif *Babesia sp.* dengan terlihatnya pita DNA pada 490bp.

Pengobatan dilakukan dengan pemberian sekali dosis antiprotozoal diminazen aceturate 3,5mg/kg BB dan doksisisiklin 10mg/kg BB satu kali sehari selama 14 hari. Empat belas hari setelah pengobatan selesai, anjing Shea dinyatakan sembuh dengan pemeriksaan molekuler.

Kata kunci: anjing; babesiosis; diminazen aceturate; doksisisiklin; PCR

Pendahuluan

Anjing adalah salah satu hewan kesayangan yang memiliki indra penciuman, pendengaran dan penglihatan yang sensitif. Anjing juga merupakan hewan yang setia dan sudah banyak dipelihara oleh masyarakat baik di dalam rumah maupun sebagai anjing penjaga. Masyarakat zaman sekarang sudah menganggap anjing seperti anggota keluarga sendiri, sehingga tidak jarang anjing diajak bermain ke taman atau lingkungan luar rumah. Keadaan tersebut dapat menjadi salah satu faktor terjadinya penyebaran penyakit yang dibawa oleh vektor apabila pemilik tidak membawa anjingnya untuk melakukan pemeriksaan kesehatan secara berkala. Ada beberapa penyakit pada anjing yang penyebarannya melalui vektor caplak. Salah satunya adalah babesiosis. Babesiosis disebabkan oleh protozoa darah *Babesia sp.* yang terdistribusi di dalam sirkulasi darah. *Babesia sp.* berdasarkan bentuk intraeritrositik, terbagi menjadi babesia kelompok besar dan kelompok kecil. Babesia kelompok besar terdiri dari *Babesia canis*, *Babesia vogeli*, dan *Babesia rossi* yang memiliki ukuran 3µm-7µm, sedangkan babesia kelompok kecil terdiri dari *Babesia gibsoni*, *Babesia vulpes*, dan *Babesia conradae* yang memiliki ukuran 1µm-3µm (Birkenhuer, 2013).

Infeksi akibat *Babesia sp.* dapat bersifat kronis dan akut, serta memiliki gejala yang klinis atau subklinis. Gejala klinis yang terlihat adalah anemia, anoreksia, demam, ikterus, pembengkakan limfonodus, splenomegaly, lethargi, dan rambut kasar (Banneth, 2018). Kasus babesiosis di Yogyakarta sudah pernah dilaporkan pada tahun 2018 (Priyowidodo dkk., 2018). Selain itu, di Indonesia babesiosis pada anjing juga sudah pernah dilaporkan di Bali (Paramita dan Widyastuti, 2019; Wira dkk., 2020; Septianingsih dkk., 2021). Pemeriksaan babesiosis dapat dilakukan secara mikroskopis, serologis, dan molekuler (Young dkk., 2019). Pemeriksaan mikroskopis dengan apusan

darah menjadi pemeriksaan awal yang paling umum dan mudah untuk dilakukan, namun metode tersebut memiliki sensitifitas yang rendah sehingga dapat menyebabkan hasil yang kurang akurat (Akbari, 2018). Pemeriksaan serologis dapat dilakukan dengan metode IFAT (*Indirect Fluorescent Antibody Test*) atau ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Metode tersebut dapat menentukan titer antibodi dari anjing, namun metode tersebut memiliki beberapa keterbatasan, seperti dapat terjadinya reaktivitas silang antar spesies dan tidak dapat membedakan antara infeksi akut atau paparan yang terjadi sebelumnya (Davitcov, 2015). Deteksi molekuler dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menjadi salah satu pilihan dalam mendeteksi protozoa, karena metode PCR memiliki sensitifitas yang lebih tinggi (Solano dkk., 2016).

Pengobatan untuk penyakit babesiosis dapat diberikan dengan terapi antiprotozoal untuk menghilangkan protozoa darah, transfusi darah apabila anjing memiliki gejala anemia yang sangat parah, dan terapi suportif untuk pengobatan komplikasi dan gangguan metabolisme. Beberapa obat antiprotozoal yang dapat digunakan adalah imidocarb dipropionate 6,6mg/kg, kombinasi azithromycin 10mg/kg dan atovaquone 13,5mg/kg, kombinasi azithromycin 10mg/kg dan buparvaquone 5mg/kg, serta diminazene aceturate 3,5-5mg/kg (Gallego dkk., 2016; Birkenhuer, 2013). Selain itu, pemberian antibiotik berspektrum luas yang berfungsi untuk menghambat aktifitas protozoa juga diperlukan. Antibiotik yang dapat diberikan adalah doxycycline 10mg/kg (Gallego dkk., 2016), clindamycin 25mg/kg, dan metronidazole 15mg/kg (Birkenhuer, 2013). Pengobatan yang tepat menjadi salah satu faktor tingkat kesembuhan yang lebih tinggi pada anjing yang menderita babesiosis.

Babesiosis menjadi salah satu penyakit yang harus diperhatikan dengan baik untuk pencegahan serta pengobatannya. Penyakit

babesiosis pada anjing yang memiliki infeksi subklinis menjadi salah satu kekhawatiran karena tidak terlihatnya gejala namun tetap dapat menjadi pembawa penyakit tersebut. Pemeriksaan dengan PCR menjadi metode yang sangat tepat dalam mengidentifikasi penyakit tersebut. Tulisan ini diharapkan bisa memberikan gambaran mengenai keadaan klinis, diagnosis serta pengobatan pada kasus babesiosis yang terjadi di Klinik Lilipoet Yogyakarta.

Materi dan Metode

Sampel yang digunakan untuk pemeriksaan merupakan sampel darah anjing Shih-Tzu betina bernama Shea berumur 2 tahun memiliki bobot badan 6,78kg. Sampel darah anjing didapatkan dari Lilipoet Klinik di Yogyakarta, Indonesia pada tanggal 6 Desember 2021. Sebelum dilakukan pengambilan darah dan pemeriksaan lanjut, dilakukan anamnesa kepada pemilik dan dilakukan pemeriksaan fisik terhadap anjing terlebih dahulu. Sebelum dilakukannya pemeriksaan fisik anjing dikonfirmasi terinfeksi caplak dan mengalami muntah berwarna kuning. Setelah itu, dilakukan pemeriksaan fisik meliputi suhu, turgor kulit, dan selaput lendir. Pemeriksaan fisik dilakukan untuk mengidentifikasi temuan klinis. Anjing tampak lesu, nafsu makan berkurang dan demam dengan suhu 39,9°C. Pengambilan darah dilakukan untuk pemeriksaan hematologi, mikroskopis dan molekuler. Sampel darah diambil dari vena chepalica sebanyak 2ml menggunakan spuid 3ml dan dimasukkan kedalam tabung EDTA 3ml.

Sampel darah yang diambil melalui vena chepalica kemudian diteteskan pada objek glass dan diapus menggunakan objek glass lainnya. Hasil apusan difiksasi menggunakan methanol absolute selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan pewarnaan Giemsa 10% selama 30 menit, lalu dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat hasil apusan ditetesi dengan minyak emersi dan diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x. Darah pada tabung EDTA (*Ethylene Diamine Tetraacetic Acid*) digunakan untuk pemeriksaan hematologi rutin meliputi hemoglobin, hematokrit, eritrosit, leukosit, trombosit, Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH),

Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC), dan diferensial leukosit meliputi neutrophil, basophil, eosinophil, limfosit serta monosit. Pemeriksaan hematologi dilakukan untuk melihat perubahan patologi klinis yang terjadi.

Sebelum dilakukannya pemeriksaan molekuler sampel darah diekstraksi DNA terlebih dahulu. Ekstraksi DNA menggunakan kit ekstraksi Purelink™ *genomic DNA mini kit* (Invitrogen). Amplifikasi DNA menggunakan primer dengan menargetkan gen 18S rRNA. Dengan urutan primer forward (5'-GGC TAC CAC ATC TAA GGA AG-3') dan primer reverse (5'-CTA AGA ATT TCA CCT CTG ACA G-3') (Priyowidodo dkk., 2018). Pengaturan suhu dan waktu yang digunakan untuk amplifikasi DNA adalah pre-denaturation dengan suhu 94oC selama 5 menit, denaturation 94oC selama 1 menit, annealing 56oC selama 30 detik, extention 72oC selama 30 detik, dan final extention 72oC selama 10 menit. Siklus dilakukan sebanyak 30 kali. Hasil Polymerase Chain Reaction (PCR) ditambahkan dengan loading dye buffer, lalu dimasukkan pada agarose gel 1,5% dan di elektroforesis pada tegangan 100 V selama 25 menit. Hasilnya divisualisasikan pada UV transilluminator.

Pengobatan yang diberikan berupa pemberian sekali dosis diminazen aceturate 3,5 mg/kg BB yang merupakan kelompok obat diamidin aromatik untuk pengobatan protozoa darah, dan pemberian antibiotik doksisisiklin 10mg/kg BB satu kali sehari selama 14 hari. Setelah pengobatan selama 14 hari selesai, dilakukan pemeriksaan molekuler kembali dan mendapatkan hasil yang negatif.

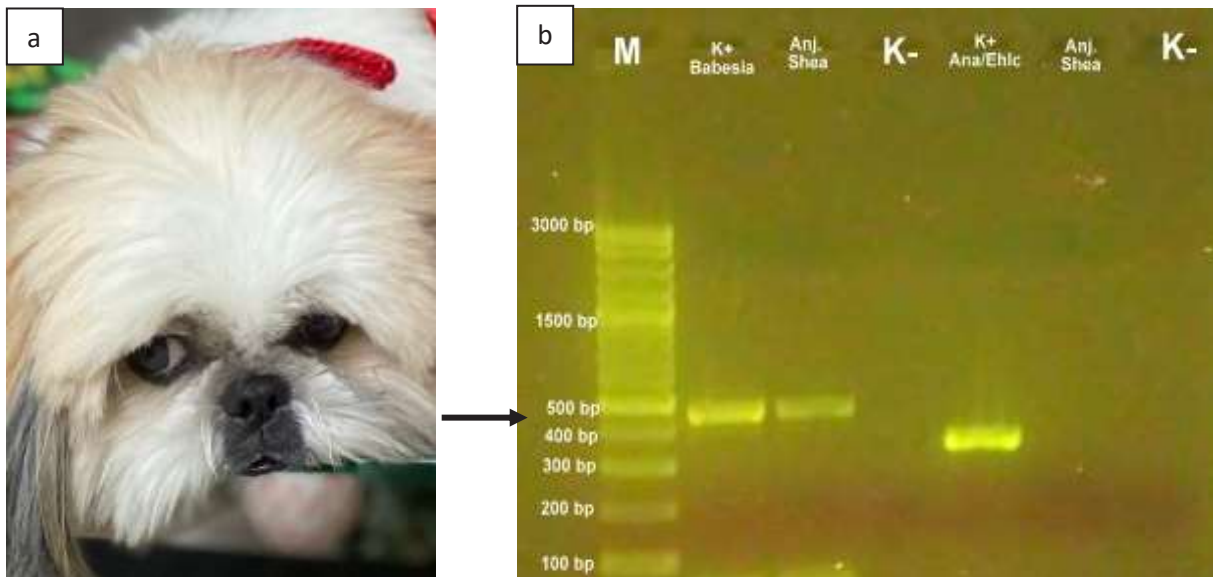
Hasil dan Pembahasan

Hasil anamnesa dan pemeriksaan fisik menunjukkan anjing tampak lesu (Gambar 1a), demam dengan suhu 39,9oC, nafsu makan berkurang, serta memiliki riwayat muntah kuning dan terdapat satu ekor caplak pada minggu sebelum dilakukan pemeriksaan. Hasil pemeriksaan hematologi menunjukkan bahwa anjing mengalami trombositopenia tanpa menunjukkan adanya anemia dengan nilai trombosit $32 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Tabel 1). Setelah pemeriksaan hematologi dilanjutkan dengan pemeriksaan mikroskopis. Hasil pemeriksaan

mikroskopis ulas darah tipis tidak ditemukan adanya protozoa darah *Babesia sp.*. Setelah dilakukan pemeriksaan molekuler dengan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)* didapatkan hasil yang positif dengan terlihatnya pita DNA *Babesia sp.* pada 490bp. Hasil PCR dapat dilihat pada Gambar 1b. Berdasarkan hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa anjing Shea menderita babesiosis. Anjing Shea diberikan pengobatan sekali dosis antiprotozoal diminazen aceturate dan antibiotik doksisisiklin selama 14 hari. Setelah pengobatan, anjing Shea dilakukan pemeriksaan hematologi dan PCR kembali untuk melihat perubahan yang terjadi. Hasil hematologi darah didapatkan peningkatan pada nilai trombosit menjadi $75 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Tabel

1), dan pada pemeriksaan molecular PCR didapatkan hasil yang negatif.

Infeksi *Babesia sp.* diakibatkan oleh adanya vektor caplak *Haemaphysalis elliptica* atau *Rhipicephalus sanguineus* yang terinfeksi oleh *Babesia sp.* Penularan yang terjadi dari caplak ke anjing membutuhkan waktu 24 jam, kemudian masa inkubasi *Babesia sp.* antara gigitan hingga timbulnya gejala klinis membutuhkan waktu selama 2 minggu (Taenzler dkk., 2015; Lobetti 2006). Sebagian besar kasus babesiosis terjadi pada musim kemarau yang bersamaan dengan terjadinya peningkatan populasi caplak. Gejala klinis yang ditunjukkan oleh anjing yang mengalami babesiosis adalah lemah, tidak nafsu makan, demam, anemia, anoreksia,



Gambar 1. (a) Anjing Shea tampak lesu; (b) Hasil positif Babesia sp. terdapat pita DNA pada 490bp (ditunjuk oleh tanda panah)

Tabel 1. Hasil pemeriksaan profil darah rutin anjing Shea

Parameter	Hasil ^a	Hasil ^b	Nilai Normal ^{**}	Satuan
WBC	11,16	9.79	5.0-14.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$
Limfosit	1,65	2.11	0.4-2.9	$\times 10^3/\mu\text{L}$
Monosit	0,29	0.26	0.1-1.4	$\times 10^3/\mu\text{L}$
Neutrofil	8,97	7.05	2.9-12.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$
Eosinofil	0,23	0.34	0-1.3	$\times 10^3/\mu\text{L}$
Basofil	0,01	0.03	0-0.14	$\times 10^3/\mu\text{L}$
RBC	7,05	6.83	4.95-7.87	$\times 10^6/\mu\text{L}$
Hemoglobin	16,6	14.3	11.9-18.9	g/dl
Hematokrit	47,63	45.77	35-57	%
MCV	68	67	66-77	g/dL
MCH	23,6	21	21.0-26.2	$\times 10^3/\mu\text{L}$
MCHC	34,9	31.3	31.0-36.3	fL
Trombosit	32 [*]	75 [*]	211-612	$\times 10^3/\mu\text{L}$

^a Hasil pemeriksaan sebelum pengobatan, ^bHasil pemeriksaan setelah pengobatan, ^{*}Dibawah nilai normal, ^{**}Sumber: Latimer, 2011; Weis dan Wardrop, 2010

pembengkakan limfonodus dan splenomegali. Gejala tersebut disertai dengan adanya infestasi caplak pada tubuh anjing (Ubah dkk., 2019). Namun, menurut Schoeman (2009), terdapat beberapa anjing yang menderita babesiosis akan tetapi tidak menunjukkan gejala klinis.

Infeksi *Babesia sp.* yang menyerang eritrosit akan memicu respon imun dari inang yang akan menyebabkan terjadinya peningkatan sitokin secara berlebihan. Sitokin yang dihasilkan akan melawan protozoa darah *Babesia sp.* dengan menimbulkan efek sebagai pirogen. Pirogen merupakan zat yang menyebabkan demam dengan tujuan untuk menciptakan kondisi lingkungan yang tidak sesuai bagi perkembangan mikroorganisme sehingga membantu efektifitas kerja respon imun dalam mengeliminasi protozoa darah tersebut (Septianingsih dkk., 2021). Menurut Wahyuni dkk. (2018), respon imun tidak mampu secara tuntas untuk mengeliminasi infeksi dari *Babesia sp.* sehingga hewan yang dinyatakan sembuh dari babesiosis bisa menjadi karier kronis.

Morfologi *Babesia sp.* jika diamati secara mikroskopis memiliki bentuk seperti buah pir (the pearshaped form) yang berada di dalam sel darah merah (intraerythrocytic) anjing yang terinfeksi (Septianingsih, 2021). Morfologi secara mikroskopis dapat dilihat dengan melakukan pemeriksaan ulas darah tipis. Pemeriksaan ulas darah tipis dijadikan sebagai skrining tes awal dan menjadi pemeriksaan yang paling sederhana, mudah untuk dilakukan, serta tidak membutuhkan biaya yang banyak. Akan tetapi, pemeriksaan ulas darah tipis memiliki spesifitas dan sensitivitas yang rendah (Solano dkk., 2016). Menurut Priyowidodo dkk. (2018), pemeriksaan ini tidak bisa dilakukan untuk mengidentifikasi spesies dari *Babesia sp.* tersebut. Selain itu, apabila tingkat parasitemia didalam darah masih rendah maka parasit darah tidak akan ditemukan pada pemeriksaan ini (Caccio dkk., 2002). Didalam kasus ini, pada pemeriksaan mikroskopis ulas darah tipis tidak ditemukan adanya protozoa darah *Babesia sp.*, hal tersebut dapat dikaitkan dengan tingkat parasitemia yang ada pada darah anjing memiliki nilai yang rendah.

Kelainan patologi klinis utama yang terjadi pada anjing yang menderita babesiosis

adalah trombositopenia, anemia non-regeneratif pada infeksi *Babesia sp.* kelompok besar, anemia regeneratif pada infeksi *Babesia sp.* kelompok kecil, hiperbilirubinaemia, bilirubinuria, leukositosis, leukopenia dan neutropenia (Gallego dan Baneth, 2016). Keadaan trombositopenia dapat terjadi pada kasus yang bersifat sedang hingga berat. Trombositopenia juga dapat terjadi tanpa adanya anemia (Barr dan Bowman, 2006). Hasil pemeriksaan hematologi anjing Shea hanya menunjukkan trombositopenia tanpa adanya anemia. Mekanisme trombositopenia belum sepenuhnya dipahami pada kasus babesiosis, namun tingkat keparahan dari trombositopenia berhubungan dengan spesies dari *Babesia sp.* yang menginfeksi anjing tersebut (Sivajothi dkk., 2014). Menurut Kettner dkk. (2003), keadaan trombositopenia juga dapat terjadi apabila adanya ko-infeksi dengan ehrlichiosis dan adanya immune-mediated hemolytic anemia (IMHA).

Pemeriksaan secara molekuler seperti Polymerase Chain Reaction (PCR) memiliki efisiensi dan sensitivitas yang lebih tinggi untuk mendeteksi dan mengidentifikasi *Babesia sp.* (Castro dkk., 2020). Pemeriksaan molekuler PCR memiliki teknik untuk membedakan spesies dari *Babesia sp.* dan menjadi pemeriksaan yang paling dapat dipercaya untuk mendeteksi DNA *Babesia sp.* pada darah dan jaringan (Khanmohammadi dkk., 2021), sehingga teknik ini menjadi sangat berguna dalam menentukan prognosis dan diagnosis yang lebih tepat serta dapat menentukan terapi yang lebih efektif terhadap jenis *Babesia sp.* yang menginfeksi anjing (Gallego dkk., 2016).

Pengobatan babesiosis dapat dilakukan dengan pemberian antiprotozoal diminazene aceturate dengan sekali dosis 3,5 mg/kg BB secara intramuscular (Church dkk., 2008; Sivajothi dkk., 2014; Davis dan Gookin, 2018; Swammy dkk., 2019). Pemberian pengobatan tunggal diminazene aceturate efektif untuk penyembuhan babesiosis pada anjing. Obat ini memungkinkan penyembuhan terhadap hemolitik akut dan gejala klinis yang ditimbulkan akibat babesia (Davis dan Gookin, 2018). Dimenazine aceturate dan imidocarb dipropionate adalah dua jenis babesiacides yang paling umum digunakan di seluruh dunia.

Komplikasi serius akibat pemberian obat ini sangatlah jarang (<0,1%) (Boozer dan Macintire, 2005). Namun, pemberian diminazene aceturate dengan dosis berlebih dapat memungkinkan terjadinya resistensi terhadap obat tersebut (Bhat dkk., 2019). Selain itu pemberian dosis berlebih dapat menyebabkan komplikasi saraf yang fatal setelah 24-48 jam. Tanda-tanda klinis yang terlihat akibat dari toksisitas diminazen adalah depresi atau pingsan, vokalisasi terus menerus, ataksia, opisthotonos, kekakuan ekstensor, nistagmus dan kejang (Vishwakarma dan Nandini, 2020). Diminazen aceturate termasuk kedalam golongan obat diamidin aromatik. Golongan ini menyebabkan disorganisasi struktural DNA superkoil kineoplast, menghambat replikasi, polimerisasi RNA dan sintesis protein dari protozoa (Church dkk., 2008).

Doksisiklin merupakan obat golongan tetrasiklin yang sering digunakan untuk terapi penyakit yang disebabkan oleh vektor caplak (Viviano, 2020). Pemberian antibiotik doksisiklin efektif mencegah manifestasi klinis infeksi *B. canis* jika diberikan dengan dosis 10 mg/kg BB dua kali sehari selama 11 hari (Davis dan Gookin, 2018). Menurut Gallego dkk. (2016), antibiotik bukanlah pengobatan pilihan untuk piroplasmosis. Akan tetapi, doksisiklin mampu mengurangi keparahan dari gejala klinis dan membuat penurunan morbiditas dan mortalitas dari infeksi *B. canis* dan *B. gibsoni* dengan dosis 10 mg/kg BB sehari sekali selama 30 hari.

Selain terapi dengan pemberian obat-obatan untuk mengeliminasi protozoa darah *Babesia sp.*, beberapa terapi lain yang dapat diberikan adalah terapi suportif pada anjing dengan gejala klinis yang parah, pemberian terapi cairan kristaloid intravena pada anjing yang mengalami dehidrasi atau hipovolemik, dikarenakan terapi cairan juga penting untuk pemeliharaan volume darah, diuresis dan pencegahan sludging sel darah merah di kapiler. Selain itu pada anjing yang memiliki anemia, transfusi sel darah merah juga dapat diberikan (Gallego dkk., 2016; Vishwakarma dan Nandini, 2020). Pemberian terapi, tetap direkomendasikan pada anjing yang terinfeksi babesiosis dan memiliki gejala subklinis (Boozer dan Macintire, 2005).

Anjing yang memiliki infestasi caplak dan tidak menunjukkan gejala klinis babesiosis sebaiknya dilakukan pemeriksaan hematologi rutin dan apusan darah untuk melihat tingkat infeksi dari *Babesia sp.* Anjing dewasa yang tidak menunjukkan gejala klinis dan memiliki tingkat parasitemia yang rendah akan sulit untuk dideteksi pada pemeriksaan ulas darah tipis, sehingga pemeriksaan PCR menjadi pilihan untuk mendeteksi *Babesia sp.* lebih akurat dan dapat mencegah terjadinya penularan dari anjing dewasa ke anak anjing (Priyowidodo, 2018). Diagnosis yang tepat serta pengobatan dini pada anjing yang mengalami babesiosis sangat diperlukan, sehingga akan mendapatkan prognosis yang lebih baik (Sivajothi dkk., 2014).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil pemeriksaan klinis, peneguhan diagnosa dengan pemeriksaan hematologi, dan pemeriksaan molekuler PCR, disimpulkan anjing Shea menderita Babesiosis. Terapi yang diberikan adalah antiprotozoal diminazen aceturate dan antibiotik doksisiklin selama 14 hari. Empat belas hari setelah pengobatan selesai, anjing Shea dinyatakan sembuh dengan pemeriksaan molekuler.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada para kolega dokter hewan di Lilipoet klinik, atas Kerjasama dan bantuannya dalam melakukan pemeriksaan dan koleksi sampel.

Daftar Pustaka

- Akbari, R.A., Tiuria, R., Wardhana, A.H. dan Savitri, D.H. (2018). Deteksi Parasit Darah pada Sapi Perah Berdasarkan Analisis Pcr Duplex. *Acta Veterinaria Indonesiana*. 6 (2): 48-55.
- Baneth, G. (2018). Antiprotozoal treatment of canine babesiosis. *Vet. Parasitol.* 254: 58-63.
- Barr, S.C., dan Bowman, D.D. (2006). *The 5 Minute Veterinary Consult Clinical Companion: Canine and Feline Infectious Diseases and Parasitology*. Australia: Blackwell Publishing.

- Bath, R.A., Yattoo, M.I., Muhee, A., Najar, I.M., Rehman, F. dan Nisar, Y. (2019). Diagnosis and treatment of canine babesiosis in dog. *J Dairy Vet Anim Res.* 8 (3):139-140.
- Birkenheuer, A.J. (2013). Babesiosis, dalam *Canine and Feline Infectious Disease*. 1st ed. Diedit oleh Sykes, J.E. USA: Saunders, 727-747.
- Boozer, L. dan Macintire D. (2005). *Babesia gibsoni*: An Emerging Pathogen in dogs. *Compendium.* 27 (1): 33-42.
- Caccio, S.M., Antunovic, B., Moretti, A., Mangili, V., Marinculic, A., Baric, R.R., Slemenda, S.B. dan Pieniazek, N.J. (2002). Molecular Characterization of *Babesia canis* and *Babesia canis vogeli* from Natural Infected European Dogs. *Veterinary Parasitology.* 106 (4): 285-292.
- Castro, V.V., Ayres, E.D.C.B.S., Canei, D.H., Pereira, M.E., Sousa, V.R.F., Chitarra, C.S., Dutra, V., Nakazato, L. dan Almeida, A.D.B.P.F.D. (2020). Molecular prevalence and factors associated with *Babesia vogeli* infection in dogs in the Cerrado Mato-Grossense region in Brazil. *Ciencia Rural.* 50 (2): 1-4.
- Church, D.B., Maddison, J.E. dan Page, S.W. (2008). *Small Animal Clinical Pharmacology*. Saunders. USA.
- Davis, J.L. dan Gookin, J.L. (2018). Anti-protozoan Drugs, dalam *Veterinary Pharmacology and Therapeutic*. 10th ed. Diedit oleh Riviere, J.E dan Papich, M.G. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc, 1128-1165.
- Davitkov, D., Vucicevic, M., Stevanovic, J., Krstic, V., Tomanovic, S., Glavinic, U. dan Stanimirovic, Z. (2015). Clinical babesiosis and molecular identification of *Babesia canis* and *Babesia gibsoni* infections in dogs from Serbia. *Acta Vet Hung.* 63 (2): 199-208.
- Gallego, L.S. dan Baneth, G. (2016). Diagnosis of protozoal and arthropod-borne diseases, dalam *BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology*. 3rd Ed. Diedit oleh Villiers, E. dan Ristic, J. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 549-566.
- Gallego, L.S., Sainz, A., Roura, X., Pena, A.E. dan Miro, G. (2016). A review of canine babesiosis: the European perspective. *Parasites and Vectors.* 9: 336.
- Kettner, F., Reyers, F. dan Miller, D. (2003). Thrombocytopenia in canine babesiosis and its clinical usefulness. *Jl.S.Afr.vet. Ass.* 74 (3): 63-68.
- Khanmohammadi, M., Zolfaghari-Emameh, R., Arshadi, Razmjou E. dan Karimi, P. (2021). Molecular identification and genotyping of *Babesia canis* in dogs from meshkin shahr country, northwestern iran. *J Arthropod-Borne.* 15 (1): 97-107.
- Latimer, K.S. (2011). *Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine Clinical Pathology*. 5th ed. Jon Wiley and Sons Ltd. Oxford, United Kingdom.
- Paramitha, N.M.D.P. dan Widyastuti, S.K. (2019). Studi kasus: babesiosis pada anjing persilangan. *Indonesia Medicus Veterinus.* 8 (1): 79-89.
- Priyowidodo, D., Nugraheni, Y.R., Rohayati, E.S. dan Prastowo, J. (2018). Babesiosis in a local dog in Yogyakarta, Indonesia, a case report. *Res. J. Parasitol.* 13 (1): 14-18.
- Septianingsih, N.L.P.D., Widyastuti, S.K dan Suartha I.N. (2021). Laporan Kasus: Babesiosis pada Anjing Pomeranian. *Indonesia Medicus Veterinus.* 10 (4): 622-632.
- Sivajothi, S., Reddy, B.S., Rayulu, V.C. dan Venkatasivakumar, R. (2014). Babesiosis in dogs: A report of two different cases. *Adv. Appl. Sci. Res.* 5 (3):276-279.
- Solano-Gallego, L., Sainz, A., Roura, X., Estrada-Pena, A. and Miro, G. (2016). A review of canine babesiosis: the European Prespective. *Parasites & Vectors.* 9: 1-18.
- Swammy, K.K.P., Mohanapriya, T., Enbavelan, P.A., Sundararajan, R.C., Saravanan, S. dan Ramprabhu, R. (2019). Triple

- Therapy in Canine Babesiosis - A Case Report. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 8 (12): 964-967.
- Taenzler, J., Liebenberg, J., Roepke, R.K.A. dan Heckeroth, A.R. (2015). Prevention of transmission of *Babesia canis* by *Dermacentor reticulatus* ticks to dogs treated orally with fluralaner chewable tablets (Bravecto™). *Parasit Vectors.* 8: 305.
- Vishwakarma, P. dan Nandini, M.K. (2020). Overview of Canine Babesiosis, dalam *Veterinary Medicine and Pharmaceuticals*. Diedit oleh Bekoe, S.O., Saravanan, M., Adosraku, R.K. dan Ramkumar, P.K. London: IntechOpen, 1-10.
- Viviano, K.R. (2020). Antimicrobial therapy in dogs and cats, dalam *Clinical Small Animal Internal Medicine*. Diedit oleh Bruyette, D. Hoboken NJ: John Wiley & Sons, Inc, 1041-1048.
- Wahyuni, Wirawan, H.P. dan Pitriani. (2018). Kasus babesiosis pada anjing. *Diagnosa Veteriner.* 17 (2):4-9.
- Weiss, D.J. dan Wardrop, K.J. (2010). *Schalm's Veterinary Hematology.* 6th ed. Wiley-Blackwell.
- Wira, A., Batan, I.W., Widyastuti, S.K. dan Sukoco, H. (2020). Studi Kasus: Babesiosis (Piroplasmosis) disertai Infestasi Caplak yang Berat pada Anjing Gembala Jerman. *Jurnal Sains dan Teknologi Peternakan.* 1 (2): 30-35.
- Young, K.M., Corrin, T., Wilhelm, B., Umland, C., Greig, J., Mascarenhas, M. dan Wadell, L.A. (2019). Zoonotic Babesia: A scoping review of the global evidence. *Plos one.* 14 (12): 1-31.

Kontaminasi *Escherichia coli* O157:H7 Pada Daging Ayam di Pasar Tradisional Kota Pangkalpinang

Escherichia coli O157:H7 Contamination in Chicken Meat at Traditional Markets in Pangkalpinang City

Ahmad Nurhakim^{1*}, Denny Widaya Lukman², Herwin Pisestyani²

¹Sekolah Pascasarjana, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan,
Institut Pertanian Bogor, Bogor

*Email: danhaz6anh@yahoo.com

Diterima: 13 Desember 2021, direvisi: 25 Mei 2022, disetujui: 14 Juni 2022

Abstract

The objective of this study was to determine the presence of *E. coli* O157:H7 and to analyze the association between factors and the occurrence of *E. coli* in chicken meat sold at Kaget Market, Pagi Market, and Pembangunan Market in Pangkalpinang City. A total of 30 chicken meat samples were collected proportionally using simple random sampling. A cross-sectional method was used for this study. The testing for *E. coli* was based on SNI 2897:2008 on the test method for microbial contamination in meat, eggs and milk and their processed products. The *E. coli* O157 was confirmed with O157 latex agglutination test and H7 antiserum test. The data were analyzed using a descriptive test and risk factors were analyzed using chi-square and odds ratio. The results showed that *E. coli* O157:H7 was found in 2 of 30 samples (6,7%) isolated from Traditional Market with MPN values of 1100 and >1100 MPN/g. The significant risk factors ($P < 0,005$) for the presence of *E. coli* were traders older than 45 years, kiosk distance of less than 5 meters from the highway, and washing hands using unclean water. The presence of *E. coli* O157:H7 poses a risk to consumer health.

Key words: chicken meat; *E. coli* O157:H7; risk factor

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan *E. coli* O157:H7 dan menganalisis hubungan faktor-faktor dengan kejadian *E. coli* pada daging ayam yang dijual di Pasar Kaget, Pasar Pagi, dan Pasar Pembangunan Kota Pangkalpinang. Sampel daging ayam diambil sebanyak 30 sampel secara proporsional menggunakan *simple random sampling*. Metode *cross sectional* digunakan untuk penelitian ini. Pengujian *E. coli* berdasarkan SNI 2897:2008 tentang Metode Pengujian Cemaran Mikroba dalam Daging, Telur, dan Susu serta Hasil Olahannya. *E. coli* O157 dikonfirmasi dengan uji aglutinasi lateks O157 dan uji antiserum H7. Analisa data menggunakan uji deskriptif dan analisa faktor risiko menggunakan *chi-square* dan *odds ratio*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *E. coli* O157:H7 ditemukan pada 2 dari 30 sampel (6,7%) yang diisolasi dari Pasar Tradisional dengan nilai MPN 1100 dan >1100 MPN/g. Faktor risiko yang signifikan ($P < 0,005$) terhadap keberadaan *E. coli* adalah pedagang yang berumur lebih dari 45 tahun, jarak kios kurang dari 5 m dari jalan raya, dan cuci tangan menggunakan air yang tidak bersih. Kehadiran *E. coli* O157:H7 menimbulkan risiko bagi kesehatan konsumen.

Kata kunci : daging ayam; *E. coli* O157:H7; faktor risiko

Pendahuluan

Bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) merupakan salah satu jenis bakteri yang secara normal hidup dalam saluran pencernaan baik manusia maupun hewan yang sehat. *E. coli* sering dijadikan sebagai bakteri indikator untuk memantau tingkat sanitasi dan higiene personal, kualitas produk pangan atau kemungkinan adanya cemaran feses pada tahapan produksinya (Susanto, 2014). *E. coli* dapat menjadi patogen, apabila jumlah dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus (Amyati, 2018). Keberadaan *E. coli* patogen pada karkas ayam dapat menjadi penyebab *foodborne disease* yang membahayakan kesehatan manusia (Ekawati *et al.*, 2017). *E. coli* patogen memiliki kemampuan untuk menempel pada usus halus dan menyebabkan diare, infeksi saluran kemih, sepsis serta meningitis bahkan bisa menyebabkan kematian (Viazis dan Gonzalez, 2011). *E. coli* patogen juga dapat menghasilkan toksin yang berisiko bagi kesehatan manusia (Seventer dan Hamer, 2017).

Escherichia coli O157:H7 merupakan salah satu serotype *E. coli* patogen yang menyebabkan diare dan kolitis berdarah pada manusia. Kolitis berdarah dapat berkembang menjadi *hemorrhagic colitis* (HC) dan *hemolytic-uremic syndrome* (HUS) (Feng *et al.*, 2011) yang dapat menyebabkan gagal ginjal dan kematian (CDC, 2021). Peluang infeksi kolitis menjadi HUS sebesar 10% (EFSA, 2013), dengan tingkat kematian berkisar antara 2–7% (WHO, 2011).

Balai Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Pangkalpinang melaporkan 3 kasus keracunan makanan dengan total jumlah penderita 154 orang pada tahun 2018 dan berdasarkan hasil pengujian mikrobiologi pada 11 sampel pangan yang diambil diperoleh semua sampel positif *E. coli* (BPOM, 2018). Kasus diare di Provinsi Bangka Belitung pada tahun 2019 tercatat sebanyak 18 ribu kasus (Dinkes Prov Bangka Belitung, 2019). Kasus diare menurut Setyarini *et al.* (2020), sebanyak 15% disebabkan oleh bakteri dengan penyebab paling umum adalah *E. coli*. Berdasarkan data yang diperoleh, pengujian tidak dilaksanakan sampai dengan identifikasi serotipe *E. coli*.

Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi keberadaan *E. coli* O157:H7 serta meng-

analisa hubungan antara faktor dan keberadaan *E. coli* O157:H7 pada daging ayam broiler yang dijual di Pasar Kaget, Pasar Pagi dan Pasar Pembangunan Kota Pangkalpinang, Provinsi Bangka Belitung, yang berpotensi menyebabkan *foodborne disease*.

Materi dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September sampai dengan November 2021. Pengambilan sampel dilaksanakan di Pasar Kaget, Pasar Pagi dan Pasar Pembangunan Kota Pangkalpinang. Pengujian sampel dilakukan di unit pelaksana teknis daerah (UPTD) Laboratorium Kesehatan Kota Pangkalpinang dan Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor.

Desain penelitian ini adalah kajian lintas sektional (*cross sectional study*). Ukuran sampel dihitung dengan menggunakan *software* WinEpiscope 2.0 asumsi tingkat kepercayaan 95%, prevalensi dugaan 10%, tingkat kesalahan 5%, sehingga diperoleh ukuran sampel sebanyak 30 sampel. Teknik pengambilan sampel secara proporsional di tiga lokasi pasar masing-masing 10 sampel menggunakan acak sederhana dengan cara menyusun *sampling frame* atau daftar yang memuat data seluruh pedagang yang terdapat pada populasi *sampling*, kemudian ditetapkan ukuran sampel yang akan diambil. Alat pemilihan sampel menggunakan daftar bilangan teracak. Pengambilan data menggunakan teknik wawancara dan observasi melalui lembar kuesioner terhadap pedagang daging ayam di Pasar Kaget, Pasar Pagi, dan Pasar Pembangunan.

Sebanyak 400 sampai 600 g sampel daging ayam diambil dari 30 kios penjual daging ayam yang telah ditentukan di Pasar Kaget, Pasar Pagi, dan Pasar Pembangunan. Sampel daging ayam berupa setengah bagian belakang tubuh ayam (paha dan *bursa fabricius* atau kloaka). Pengambilan sampel dimulai sejak pukul 06.00 sampai dengan 08.00 WIB, karena pedagang daging ayam mulai berjualan pada rentang waktu tersebut serta sampel daging masih segar. Sampel daging diambil secara aseptik dan dimasukkan ke dalam kantong plastik steril, diberi label sesuai lokasi pengambilan, lalu ditempatkan dalam *cool box* bersuhu 4-10 °C. Sampel langsung dibawa ke UPTD Laboratori-

um Kesehatan Kota Pangkalpinang untuk diuji *Most Probable Number* (MPN) *E. coli* berdasarkan SNI 2897:2008 tentang Metode Pengujian Cemar Mikroba Dalam Daging, Telur dan Susu, Serta Hasil Olahannya (BSN, 2008a).

Tahapan Tahapan pengujian dimulai dari penyiapan contoh yaitu daging ayam ditimbang sebanyak 25 g secara aseptik kemudian dimasukkan ke dalam wadah steril. Larutan *buffered peptone water* (BPW) 0,1% sebanyak 225 mL ditambahkan ke dalam kantong steril yang berisi contoh, kemudian dihomogenkan dengan *stomacher* selama satu menit. Larutan yang didapat berupa larutan dengan pengenceran 10^{-1} yang selanjutnya dilakukan pengujian dengan seri tiga tabung. Larutan pengenceran 10^{-1} dipindahkan sebanyak 1 mL dengan menggunakan pipet steril ke dalam larutan tabung yang berisi 9 mL BPW 0,1% untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Larutan pengenceran 10^{-2} kemudian diambil sebanyak 1 mL dan dipindahkan ke dalam larutan tabung yang berisi 9 mL BPW 0,1% untuk mendapatkan pengenceran 10^{-3} . Setiap tingkat pengenceran kemudian diambil menggunakan pipet masing-masing sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tiga seri tabung *lauryl sulfate tryptose broth* (LSTB) yang berisi tabung *Durham*. Tabung LSTB tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam sampai 48 jam. Hasil uji dinyatakan positif ditandai dengan terbentuknya gas di dalam tabung *Durham*.

Biakan positif pada tabung LSTB dari pengujian sebelumnya diambil menggunakan jarum inokulasi ke dalam tabung *Escherichia coli Broth* (ECB) yang berisi tabung *Durham* untuk dilakukan uji konfirmasi. Tabung ECB kemudian diinkubasi pada suhu 45,5 °C selama 24 jam, jika hasilnya negatif tabung ECB tersebut diinkubasikan kembali selama 48 jam. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas di dalam tabung *Durham*. Jumlah tabung ECB yang positif kemudian dicatat dan diinterpretasikan menggunakan tabel MPN.

Biakan positif dari tabung ECB kemudian digoreskan pada media *eosin methylene blue agar* (EMBA) dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 18 jam sampai 24 jam. Koloni *E. coli* berwarna hijau metalik dengan bagian pusat koloni berwarna hitam/gelap pada media

EMBA. Koloni terduga *E. coli* diinokulasi sebanyak dua kali untuk mendapatkan biakan murni pada media EMBA. Koloni terduga *E. coli* pada media EMBA dipindahkan ke dalam tabung berisi *nutrient agar* (NA) miring kemudian dilakukan uji biokimia dengan uji *indole*, *Voges-Proskauer*, *methyl red*, *citrate* (IMViC). Setelah bakteri diidentifikasi sebagai *E. coli*, kultur selanjutnya ditanam di *sorbitol Macconkey agar* (SMAC) di tambah *cefixime-tellurite* kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 16 sampai 20 jam untuk uji aglutinasi O157:H7 (Rachmawati dan Ariyanti, 2017).

Semua isolat *E. coli* ditumbuhkan pada media NA dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama ± 24 jam kemudian disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis dengan kekeruhan setara dengan *Mc Farland* No. 10. Suspensi bakteri dipanaskan sampai suhu 100 °C selama 2 jam atau pada 121 °C selama 1 jam, kemudian didinginkan dan diperiksa dengan antiserum O157 monospesifik. Tes aglutinasi dilakukan dengan menggunakan 20 μ L antigen *E. coli* (sampel) dicampur dengan 20 μ L antiserum O157 monospesifik. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gumpalan halus seperti pasir (presipitasi) setelah 1 sampai 3 menit pada kertas lateks sesuai dengan kontrol.

Semua isolat *E. coli* ditumbuhkan pada media semi padat dalam tabung dilengkapi dengan *craigic tube* dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama ± 24 jam. Sel bakteri tumbuh di luar *craigic tube* ditanam ke media NA dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama ± 24 jam. Kultur *E. coli* pada media NA diambil menggunakan öse dan diletakkan pada objek kaca, kemudian ditambahkan 20 μ L aquades steril dan campurkan dengan 20 μ L antiserum H7 monospesifik untuk uji aglutinasi. Aglutinasi terjadi dalam 1 sampai 3 menit.

Karakteristik penjual daging ayam diperoleh melalui kuesioner terstruktur dengan cara observasi dan wawancara untuk mengetahui faktor-faktor yang mendukung terhadap keberadaan *E. coli* O157:H7 pada daging ayam. Isi kuesioner terdiri atas data responden, karakteristik responden, kondisi kios, dan praktik pedagang serta penyuluhan.

Data yang diperoleh dari hasil penelitian di laboratorium dan kuesioner dianalisis secara

deskriptif dan analitik dan uji *chi-square* untuk melihat hubungan serta *odds ratio* antara variabel dan kejadian *E. coli* O157:H7 pada daging ayam yang dijual di Pasar Tradisional Kota Pangkalpinang.

Hasil dan Pembahasan

Keberadaan *Escherichia coli* O157:H7

Hasil pengujian MPN *E. coli* pada semua sampel di Pasar Kaget, Pasar Pagi, dan Pasar Pembangunan menunjukkan hasil 100% positif dengan level melampaui batas SNI 7388:2009 tentang Batas Maksimum Cemar Mikroba dalam pangan yaitu 1×10^1 MPN/g (BSN, 2008b). Jumlah MPN *E. coli* dalam daging ayam yang dijual di pasar tradisional Kota Pangkalpinang disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. MPN *E. coli* pada daging ayam di pasar tradisional Kota Pangkalpinang

MPN/g	Frekuensi
>1100	26
1100	1
240	1
26	1
23	1
Total	30

Hasil isolasi dan identifikasi *E. coli* menunjukkan 8 dari 30 sampel (26,67%) positif *E. coli*. Persentase *E. coli* di Pasar Kaget 3 dari 10 sampel (30%) dan Pasar Pembangunan 5 dari 10 sampel (50%), sedangkan di Pasar Pagi tidak ditemukan *E. coli* (Tabel 2). Studi ini mendapatkan 2 dari 30 sampel daging ayam mengandung *E. coli* serotipe O157:H7, yang hanya didapat dari sampel daging ayam yang diperoleh dari Pasar Kaget. Hasil isolasi dan identifikasi *E. coli* O157:H7 pada daging ayam di pasar tradisional Kota Pangkalpinang disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Keberadaan *Escherichia coli* O157:H7 pada daging ayam di pasar tradisional Kota Pangkalpinang

Nama Pasar	Besaran sampel	MPN <i>E. coli</i>			Hasil laboratorium		
		Dibawah SNI (%)	Diatas SNI (%)	Jumlah positif <i>E. coli</i>	%*	Jumlah positif <i>E. coli</i> O157:H7	%**
Kaget	10	0	100	3	30	2	66,7
Pagi	10	0	100	0	0	0	0
Pembangunan	10	0	100	5	50	0	0

* Persentase dari jumlah sampel

** Persentasi dari jumlah positif *E. coli*

Adanya kontaminasi *E. coli* pada daging terkait rendahnya sanitasi dalam proses penanganan daging. Kontaminasi bakteri pada daging di pasar dapat terjadi karena pengerjaan karkas yang tidak higienis, sumber air yang digunakan kotor dan tidak mengalir, dan kebersihan alat penyembelihan (Sugioto et al., 2015). Daging ayam yang dijual berdasarkan pengamatan di lapangan, masih berupa karkas utuh yang akan dipotong menjadi beberapa bagian serta dibersihkan dari jeroan dan kotoran, apabila ada yang membeli daging ayam. Hal ini menjadi risiko kontaminasi *E. coli* pada daging ayam di kios pedagang lebih besar dibandingkan dengan karkas ayam telah dibersihkan di tempat pemotongan unggas (Septiani et al., 2020).

Keberadaan *E. coli* O157:H7 pada daging ayam sangat berbahaya, terutama jika daging ayam dimasak tidak sempurna. Masalah keracunan makanan akibat mengonsumsi daging yang terkontaminasi *E. coli* O157:H7 merupakan cara transmisi pada sebagian kasus infeksi pada manusia (CFSPH, 2016). Keberadaan *E. coli* O157:H7 pada daging sapi ditemukan di Rumah Potong Hewan Lubuk Buaya Padang sebanyak 7 (70%) dari 10 sampel (Rananda et al., 2016) dan di pasar tradisional Denpasar, Badung dan Klungkung sebesar 25,6% (Purniawirathi, 2019).

Bakteri *E. coli* O157:H7 termasuk bakteri yang cukup tahan panas (Mercer et al., 2015) dan dapat mati dengan pemanasan pada suhu 60 °C selama 30 menit (Fikri et al., 2017). Daging yang terkontaminasi *E. coli* O157:H7 apabila dikonsumsi dapat menyebabkan *hemorrhagic colitis* (HC) dan *hemolytic uremic syndrome* (HUS) (Feng et al., 2011), penyebab penting dari gagal ginjal akut pada anak-anak dan kematian pada orang dewasa (Tafida et al., 2014). Bakteri ini hanya membutuhkan dosis infeksi yang rendah, yaitu 10 cfu/mL sehingga

paparan minimalpun dapat menyebabkan sakit dan menyebar secara cepat (Fedio, 2011; CFSPH, 2016). Infeksi berpeluang 10% menjadi HUS (EFSA, 2013), dengan tingkat kematian berkisar antara 2–7% (WHO, 2011).

Bakteri *E. coli* O157:H7 juga dapat menimbulkan kontaminasi lingkungan (Tao *et al.*, 2012), bertahan lama di lingkungan hingga berbulan-bulan (Daly *et al.*, 2017) sehingga diperlukan penanganan yang higienis dan sanitasi yang baik untuk meminimalkan kontaminasi bakteri pada daging selama proses penanganan daging (Fikri *et al.*, 2017). Masalah ini harus menjadi perhatian serius bagi pemerintah daerah mengingat kasus diare di Kota Pangkalpinang cukup tinggi yaitu sebesar 18 ribu kasus (Dinkes Prov Bangka Belitung, 2019) dan sebanyak 15% kasus diare disebabkan oleh *E. coli* (Setyarini *et al.*, 2020), sedangkan untuk kasus keracunan makanan sebanyak 3 kasus dengan total jumlah penderita 154 orang pada tahun 2018 dan berdasarkan hasil pengujian mikrobiologi pada 11 sampel pangan yang diambil diperoleh semua sampel positif *E. coli* (BPOM, 2018). Pencegahan penyebaran *E. coli* O157:H7 perlu dilakukan untuk meminimalkan terjadinya penyakit bawaan makanan pada manusia. Pengendalian dapat dilakukan sepanjang rantai distribusi dari peternakan sampai ke meja konsumen. Tindakan pencegahan yang paling efektif dengan menjaga

kesehatan ternak di peternakan. Hal ini terbukti intervensi yang paling efektif dalam menekan penyakit bawaan makanan pada manusia (Ayscue *et al.*, 2009).

Faktor-Faktor yang Memengaruhi Keberadaan *E. coli* pada Daging Ayam

Hasil analisis *E. coli* pada sampel daging ayam dan kuesioner diolah menggunakan program statistik. Kajian analisis data dihasilkan untuk mengetahui faktor-faktor terhadap kejadian *E. coli* pada daging ayam di pasar tradisional Kota Pangkalpinang dengan beberapa variabel disajikan pada Tabel 3.

Hasil pada Tabel 3 kemudian dilakukan kajian analisis untuk mengetahui hubungan karakteristik pedagang dan praktik berjualan yang berpengaruh terhadap keberadaan *E. coli* pada daging ayam di pasar tradisional Kota Pangkalpinang (Tabel 4 dan Tabel 5) dengan menggunakan uji *chi square* dan *odds ratio*.

Berdasarkan uji *odds ratio*, umur pedagang memiliki nilai *odds ratio* sebesar 7,5 yang berarti peluang kejadian *E. coli* pada daging ayam yang dijual oleh pedagang usia > 45 tahun 7,5 kali lebih berisiko daging ayamnya tercemar *E. coli* dibandingkan daging ayam yang dijual oleh pedagang usia ≤ 45 tahun. Umur pedagang berpengaruh nyata terhadap kontaminasi *E. coli* pada daging ayam ($P < 0,05$). Penularan *E. coli*

Tabel 3. Deskripsi data hasil identifikasi faktor-faktor risiko yang terkait dengan kejadian *E. coli* pada daging ayam di pasar tradisional Kota Pangkalpinang

No	Variabel	Identifikasi
1	Umur	> 45 tahun = 55,5% (5/9), ≤ 45 tahun = 14,2% (3/21)
2	Tingkat pendidikan	Tinggi = 20% (3/15), Rendah = 33,3% (5/15)
3	Bentuk kios	Permanen = 11,1% (1/9), Semi permanen = 33,3% (7/21)
4	Jarak kios dari jalan raya	≥ 5 meter = 0 (0/10), < 5 meter = 40% (8/20)
5	Ketersediaan sarana air bersih	Air kran mengalir = 0 (0/10), air bersih dan diganti jika sudah kotor = 40% (8/20)
6	Penggunaan celemek	Pakai = 27,8% (5/18), Tidak pakai = 25% (3/12)
7	Praktik cuci tangan	Cuci tangan = 55,6% (5/9), Tidak cuci tangan = 14,3% (3/21)
8	Ketersediaan lap tangan	Ada = 22,2% (6/27), Tidak ada = 66,7% (2/3)

Tabel 4. Hubungan karakteristik pedagang ayam terhadap keberadaan *Escherichia coli* pada daging ayam di pasar tradisional Kota Pangkalpinang

Peubah	Kategori	Positif <i>E. coli</i>		Negatif <i>E. coli</i>		<i>Chi-square</i>	Crude OR	SK 95%
		n	%	n	%			
Umur	> 45 tahun	5	16,7	4	13,3	0,032	7,5	1,246-45,153
	≤ 45 tahun	3	10	18	60			

Keterangan: n (jumlah sampel), OR (*odds ratio*), SK 95% (selang kepercayaan pada tingkat kepercayaan 95%)

dapat terjadi melalui tangan pedagang yang terkontaminasi (Rananda *et al.*, 2016) terutama pedagang-pedagang yang telah berusia lanjut (Daly *et al.*, 2017) sehingga rentan terkena *E. coli* patogen karena daya tahan tubuh pada usia tersebut sangat lemah, dan jika menderita sakit berpotensi menularkan *E. coli* patogen (Pitout, 2012). Penyuluhan kepada pedagang mengenai menjaga sanitasi dan higiene personal dan menjaga kesehatan pribadi dapat meminimalisir kemungkinan risiko pencemaran yang berasal dari manusia. Analisa kemudian dilanjutkan untuk melihat hubungan praktik berjualan pedagang ayam terhadap keberadaan *E. coli* pada daging ayam (Tabel 5).

Jarak kios dengan jalan raya memberikan peluang cemaran *E. coli* pada daging ayam dengan nilai *odds ratio* sebesar 1,7 yang berarti daging ayam yang dijual di kios dengan jarak < 5 meter 1,7 kali lebih tinggi berpeluang tercemar *E. coli* dibandingkan daging ayam yang dijual di kios dengan jarak \geq 5 meter. Jarak kios berpengaruh nyata terhadap kontaminasi *E. coli* pada daging ayam ($P < 0,05$). Menurut Haileselassie *et al.*, (2013) dan Selfiana *et al.*, (2017), tempat berjualan atau kios daging yang dekat dengan jalan raya dan kondisi terbuka berisiko meningkatkan cemaran bakteri pada daging karena terpapar debu. Debu tersebut dapat membawa bakteri dan diterbangkan oleh angin sehingga dapat menyebabkan kontaminasi pada daging dan mempengaruhi kualitas daging (Fernstrom dan Goldblatt, 2013; Nourmoradi *et al.*, 2015; Daly *et al.*, 2017). Pada satu percobaan *E. coli* O157:H7 dapat ditransmisikan melalui

aerosol pada jarak 3 meter (CFSPH, 2016). Hal ini menjadi masukan bagi pemerintah agar kios daging ayam direlokasi ke dalam pasar dan berada lebih dari 5 meter dari jalan raya.

Praktik cuci tangan memiliki nilai *odds ratio* sebesar 0,1 yang berarti tidak mencuci tangan mampu menekan 0,1 kali peluang kontaminasi *E. coli* pada daging ayam dibandingkan mencuci tangan. Praktik cuci tangan berpengaruh nyata terhadap kontaminasi *E. coli* ($P < 0,05$). Praktik cuci tangan menurut Daly *et al.* (2017) dapat menekan kejadian *E. coli* O157:H7. Namun berdasarkan penelitian didapat hasil sebaliknya yakni praktik mencuci tangan menjadi faktor risiko keberadaan *E. coli*. Hal ini dapat terjadi karena adanya variabel pengganggu (*confounding variable*) yaitu berupa sumber air yang digunakan untuk mencuci tangan yang ikut memengaruhi variabel dependen (Morabia, 2010; Vanderweele dan Shpitser, 2013; Lee, 2014) dengan nilai sebesar 60, menurut Howards (2018) jika hasilnya lebih dari 10 bisa dikatakan variabel tersebut adalah variabel pengganggu. Variabel pengganggu ini diketahui dengan metode stratifikasi Mantel-Haenzsel dengan cara memisahkan perkiraan efek *exposure* terhadap *outcome* untuk masing-masing strata *covariate* sehingga pada praktik mencuci tangan namun menggunakan air yang tidak bersih menjadi faktor risiko keberadaan *E. coli*. Berdasarkan observasi air yang digunakan untuk mencuci tangan berasal dari ember yang airnya juga digunakan untuk mencuci kotoran dan darah yang menempel pada daging ayam.

Tabel 5. Hubungan praktik berjualan pedagang ayam terhadap keberadaan *Escherichia coli* pada daging ayam di pasar tradisional Kota Pangkalpinang

Peubah	Kategori	Positif <i>E. coli</i>		Negatif <i>E. coli</i>		Chi-square	Crude OR	SK 95%
		n	%	n	%			
Jarak kios dengan jalan raya	< 5 meter	8	26,7	12	40	0,029	1,7	1,165-2,384
	\geq 5 meter	0	0	10	33,3			
Praktik cuci tangan	Tidak mencuci tangan, hanya dilap	3	10	18	60	0,032	0,1	0,022-0,803
	Mencuci tangan	5	16,7	4	13,3			
Ketersediaan sarana air bersih	Berasal dari air kran mengalir					0,029	1,7	1,165-2,384
	Berasal dari ember yang diisi air bersih kemudian diganti jika air sudah berwarna merah karena darah/kotor	0	0	10	33,3			
		8	26,7	12	40			

Keterangan: n (jumlah sampel), OR (*odds ratio*), SK 95% (selang kepercayaan pada tingkat kepercayaan 95%)

Berdasarkan data analisis pada Tabel 5 juga diketahui ketersediaan air bersih memberikan peluang terhadap cemaran *E. coli* pada daging ayam dengan nilai *odds ratio* sebesar 1,7 yang berarti air yang hanya diganti jika sudah kotor 1,7 kali lebih berpeluang daging ayamnya terkontaminasi *E. coli* dibandingkan daging ayam yang dijual di kios yang memiliki sarana air kran mengalir. Ketersediaan sarana air bersih berpengaruh nyata terhadap kontaminasi *E. coli* ($P < 0,05$). Hal ini juga didukung hasil penelitian dari Haileselassie *et al.*, (2013) yang menyatakan sumber cemaran *E. coli* dapat berasal dari sumber air yang digunakan untuk mencuci limbah kotoran ataupun darah yang menempel pada daging ayam. Praktik mencuci tangan dengan menggunakan air mengalir dapat menekan kejadian *E. coli*. Hal ini sesuai dengan penelitian dari Daly *et al.* (2017), yang menyatakan cuci tangan dengan air mengalir setelah kontak dengan hewan, lingkungan hewan atau kotoran hewan dapat mengurangi risiko kontaminasi *E. coli*. Hal ini menjadi masukan bagi pemerintah daerah untuk menyediakan fasilitas air bersih dan fasilitas cuci tangan di pasar-pasar tradisional khususnya untuk kios daging ayam karena pasar-pasar tradisional yang tidak memiliki fasilitas air kran mengalir seperti Pasar Pembangunan dan Pasar Kaget ditemukan keberadaan *E. coli* pada daging yang dijual dibandingkan Pasar Pagi yang memiliki fasilitas air kran mengalir di tiap kios daging ayam. Sumber air yang digunakan di Pasar Pembangunan berasal dari air bor yang dibeli pedagang per dirigen, sedangkan di Pasar Kaget berasal dari rumah warga di sekitar pasar. Hal ini yang menyebabkan pedagang tidak banyak menggunakan air dan hanya mengganti jika air sudah terlalu kotor.

Hasil pengujian menunjukkan hasil positif *E. coli* O157:H7 berada di Pasar Kaget, namun jika dianalisis khusus untuk serotipe O157:H7 tidak menunjukkan hubungan yang nyata antara faktor risiko dengan keberadaan serotipe O157:H7 pada daging. Setidaknya berdasarkan temuan serotipe O157:H7 ini menjadi informasi yang berharga bagi pemerintah daerah untuk membuat program pencegahan dan surveilans terhadap *E. coli* O157:H7 mengingat bahaya penyakit yang dapat ditimbulkan oleh *E. coli* O157:H7.

Kesimpulan

Keberadaan *E. coli* O157:H7 ditemukan pada 2 dari 30 sampel (6,7%), hanya didapat dari sampel daging ayam yang diperoleh dari Pasar Kaget. Faktor risiko yang nyata ($p < 0,05$) keberadaan *E. coli* adalah pedagang dengan usia di atas 45 tahun, jarak kios kurang dari 5 m dari jalan raya, mencuci tangan dengan air tidak bersih.

Daftar Pustaka

- Amyati. (2018). Kualitas air sumur gali ditinjau dari parameter mikrobiologis di tepi sungai gajah wong Yogyakarta. *JHeS*. 3(2):8-15. doi:10.31101/jhes.382.
- Aryanti, T., Maryam R. (2015). Deteksi *Escherichia coli* O157:H7 pada pangan asal ternak dan olahannya dengan teknik IDAS-ELISA. Noor SM, Handiwirawan E, Martindah E, Widiastuti R, Sianturi RG, Herawati T, Purba M, Anggraeny YN, Batubara A, editor. *Pros.Semn. TPV*. hlm 681-687. doi:10.14334/PROS.SEMNAS.TPV-2015-P.681-687.
- Ayscue, P., Lanzas, C., Ivanek, R., Gröhn, Y.T. (2009). Modeling on-farm *Escherichia coli* O157:H7 population dynamics. *Foodborne Pathog Dis*. 6(4):461-70. doi:10.1089/fpd.2008.0235.
- [BPOM] Balai Pengawas Obat dan Makanan. (2018). *Laporan Tahunan Balai POM di Pangkalpinang*. Pangkalpinang: BPOM.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. (2008a). *Metode Pengujian Cemaran Mikroba dalam Daging, Telur, dan Susu, serta Hasil Olahannya*. SNI No. 2897-2008. Jakarta: BSN.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. (2008b). *Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan*. SNI No. 7388-2009. Jakarta: BSN.
- [CDC] Centers for Disease Control and Prevention. (2021). *Escherichia coli (E. coli)*. [diunduh 2021 Sep 10]. <https://www.cdc.gov/ecoli/>
- [CFSPH] The Center for Food Security and Public Health. (2016). *Enterohemorrhagic*

- Escherichia coli* and Other *E. coli* Causing Hemolytic Uremic Syndrome. [diunduh 2021 Nov 21]. https://lib.dr.iastate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1060&context=cfsph_factsheets
- Daly, R.F., House, J., Stanek, D., Stobierski, M.G. (2017). Compendium of measures to prevent disease associated with animals in public settings. *J Am Vet Med Assoc.* 251(11):1268-1292. doi:10.2460/javma.251.11.1268.
- [Dinkes Prov Bangka Belitung] Dinas Kesehatan Provinsi Bangka Belitung. (2019). *Profil Kesehatan Provinsi Bangka Belitung Tahun 2019*. Pangkalpinang: Dinkes Prov Bangka Belitung.
- [EFSA] European Food Safety Authority. (2013). Scientific Opinion on VTEC-serovars and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. *EFSA J.* 11(4):3138. doi:10.2903/j.efs.2013.3138.
- Ekawati, E.R., Husnul, S.N., Hamidi, F.R. (2017). Deteksi *Escherichia coli* patogen pada pangan menggunakan metode konvensional dan metode multiplex PCR. *Jurnal SainHealth.* 1(2):75-82. doi:10.51804/jsh.v1i2.107.75-82.
- Fedio, W.M. (2011). Detection of *E. coli* O157:H7 in raw ground beef by Pathatrix (TM) immunomagnetic-separation, real-time PCR and cultural methods. *Int J Food Microbiol.* 148(2):87-92. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.005.
- Feng, P.C.H., Councill, T., Keys, C., Monday, S.R. (2011). Virulence characterization of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* isolates from wholesale produce. *Appl Environ Microbiol.* 77(1):343-345. doi: 10.1128/AEM.01872-10.
- Fernstrom, A., Goldblatt, M. (2013). Aerobiology and its role in the transmission of infectious diseases. *J Pathog.* 2013:1-13. doi:10.1155/2013/493960.
- Fikri, F., Hamid, I.S., Purnama, M.T.E. (2017). Uji organoleptis, pH, uji eber dan cemaran bakteri pada karkas yang diisolasi dari kios di Banyuwangi. *J Med Vet.* 1(1):23-27. doi:10.20473/jmv.vol1.iss1.2017.23-27.
- Haileselassie, M., Taddele, H., Adhana, K., Kalayou, S. (2013). Food safety knowledge and practices of abattoir and butchery shops and the microbial profile of meat in Mekelle City, Ethiopia. *Asian Pac J Trop Biomed.* 3(5):407-412. doi:10.1016/S2221-1691(13)60085-4.
- Howards, P.P. (2018). An overview of confounding. Part 1: the concept and how to address it. *AOGS.* 97:394-399. doi:10.1111/aogs.13295.
- Lee, P.H. (2014). Should we adjust for a confounder if empirical and theoretical criteria yield contradictory results? A simulation study. *Sci Rep.* 4:6085. doi: 10.1038/srep06085.
- Mercer, R.G., Zheng, J., Hernandez, R.G., Ruan, L., Gänzle, M.G., McMullen, L.M. (2015). Genetic determinants of heat resistance in *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* 6:932. doi:10.3389/fmicb.2015.00932.
- Morabia, A. (2010). History of the modern epidemiological concept of confounding. *JECH.* 65(4):297-300. doi:10.1136/jech.2010.112565.
- Nourmoradi, H., Moradnejadi, K., Moghadam, F.M., Khosravi, B., Hemati, L., Khoshniyat, R., Kazembeigi, F. (2015). The effect of dust storm on the microbial quality of ambient air in Sunandaj: a city located in the west of Iran. *Glob J Health Sci.* 7(7):114-119. doi:10.5539/gjhs.v7n7p114.
- Pitout, J.D.D. (2012). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: an update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 10(10):1165-1176. doi:10.1586/eri.12.110.
- Purniwirathi, N.W. (2019). Eliminasi *Escherichia coli* O157:H7 diisolasi dari daging dapi yang diperdagangkan di Bali [tesis]. Bali: Universitas Udayana.

- Rachmawati, F., Ariyanti, T. (2017). Contamination of *Escherichia coli* O157:H7 in Dairy Cow Farms. *JITV*. 22(4):205-211. doi:10.14334/jitv.v22i4.1674.
- Rananda, R.M., Djamal, A., Julizar, J. (2016). Identifikasi bakteri *Escherichia coli* O157:H7 dalam daging sapi yang berasal dari rumah potong hewan lubuk buaya. *JKA*. 5(3):614-618. doi:10.25077/jka.v5i3.586.
- Selfiana, D.R., Rastina, Ismali, Thasmi, C.N., Darniati, Muttaqien. (2017). Jumlah cemaran *Escherichia coli* pada daging ayam broiler di pasar rukoh, Banda Aceh. *JIMVET*. 1(2):148-154. doi:10.21157/JIM.
- Septiani, W., Pisestyani, H., Siahaan, R.I., Basri, C. (2020). Faktor risiko cemaran *Escherichia coli* pada daging kambing dan domba kurban di Provinsi DKI Jakarta. *JSV*. 38(3):237-244. doi:10.22146/jsv.54388.
- Setyarini, W., Raharjo, D., Arizandy, R.Y., Pamoengkas, Z., Sudarmo, S.M., Athiyah, A.F., Shirakawa, T. (2020). Molecular detection of a new pathotype enteroaggregative haemorrhagic *Escherichia coli* (EAHEC) in Indonesia, 2015. *Infect Dis Reports*. 2020. 12(s1):8745. doi:10.4081/idr.2020.8745.
- Seventer, J.M., Hamer, D.H. (2017). International encyclopedia of public health. Di dalam: Quah SR, editor. *Foodborne Diseases*. Singapore: Academic Pr. hlm 160-173. doi:10.1016/B978-0-12-803678-5.00162-4.
- Sugioto, Adhianto, K., Wanniatie, V. (2015). Kandungan mikroba pada daging sapi dari beberapa pasar tradisional di Bandar Lampung. *JIPT*. 3(2):27-30. doi:10.23960/jipt.v3i2.p%25p.
- Susanto, E. (2014). *Escherichia coli* yang resisten terhadap antibiotik yang diisolasi dari ayam broiler dan ayam lokal di Kabupaten Bogor [tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Tafida, S.Y., Kwaga, J.K.P., Bello, M., Kabir, J., Umoh, V.J., Yakubu, S.E., Nok, A.J. (2014). Occurrence of *Escherichia coli* O157 in retailed-beef and related meat products in Zaria, Nigeria. *FNS*. 5(6):481-487. doi:10.4236/fns.2014.56057.
- Tao, F., Peng, Y., Li, Y., Chao, K., Dhakal, S. (2012). Simultaneous determination of tenderness and *Escherichia coli* contamination of pork using hyperspectral scattering technique. *Meat Sci*. 90(3):851-857. doi:10.1016/j.meatsci.2011.11.028.
- Vanderweele, T.J., Shpitser, I. (2013). On the definition of a confounder. *Ann Stat*. 41(1):196-220. doi:10.1214/12-AOS1058.
- Viazis, S., Gonzalez, F.D. (2011). Enterohemorrhagic *Escherichia coli*: The Twentieth Century's Emerging Foodborne Pathogen: A Review. Di dalam: Sparks DL, editor. *Advances in Agronomy*. Minnesota (MN): Academic Pr. hlm 1-50. doi:10.1016/B978-0-12-387689-8.00006-0.
- [WHO] World Health Organization. (2011). Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). [diunduh 2020 Des 15]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/en/>

Pengaruh Pemberian *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) terhadap Peningkatan Kualitas Spermatozoa Sapi Bali

The Effect of Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) Administration on Increasing Spermatozoa Quality of Bali Cattle

Amalia Sutriana¹, Tongku Nizwan Siregar^{2*}, Feby Claudia Sirait³, Juli Melia², Hafizuddin²

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan,

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

*Corresponding author, email: siregar@unsyiah.ac.id

Diterima: 1 April 2021, direvisi: 15 Agustus 2022, disetujui: 24 Agustus 2022

Abstract

The aim of this study was to determine the effect of gonadotropin releasing hormone (GnRH) administration on increasing spermatozoa quality of Bali cattle. This research used two Bali cattle aged 2 and 4 years. This research was design using the Latin Square Design with 2 treatments and 2 activity time periods. The treatments applied were P1 (physiological NaCl) and P2 (100 µg GnRH) with interval period of one week. Semen samples were collected using artificial vagina 3 days after treatment. Data on the quality of Bali cattle spermatozoa examination were analyzed by Wilcoxon Signed Ranks Test. The results showed that the administration of 100 µg of GnRH had no significant effect ($P>0.05$) on color, pH, consistency, volume, concentration and motility of bali cattle spermatozoa. The color of the semen in both treatments were cream and milky white. The pH; consistency; volume of semen; concentration of spermatozoa ($10^6/ml$); and the motility of bali cattle spermatozoa (%) in P1 vs P2 were, 7.0 ± 0.0 vs 7.0 ± 0.0 ; 2.5 ± 0.71 vs 3.0 ± 0.0 ; 4.5 ± 2.8 vs 4.8 ± 2.8 ; 925 ± 106.07 vs 1210 ± 155.56 ; and 69.0 ± 1.41 vs 71.5 ± 0.7 , respectively ($P>0.05$). It can be concluded that the administration of 100 µg of GnRH did not affect the increasing bali cattle spermatozoa quality.

Key words: Bali cattle; GnRH; spermatozoa

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) terhadap peningkatan kualitas spermatozoa sapi bali. Dalam penelitian ini digunakan dua sapi bali berumur 2 dan 4 tahun. Rancangan yang digunakan adalah bujursangkar latin 2 perlakuan dan 2 periode perlakuan, yakni P1 (NaCl fisiologis) dan P2 (GnRH 100 µg) dengan interval periode waktu perlakuan adalah satu minggu. Sampel semen dikoleksi menggunakan vagina buatan tiga hari setelah perlakuan. Data hasil pemeriksaan kualitas spermatozoa sapi bali dianalisis dengan uji *Wilcoxon Signed Ranks Test*. Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa pemberian GnRH 100 µg tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap pemeriksaan warna, pH, konsistensi, volume, konsentrasi dan motilitas spermatozoa sapi bali. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa warna semen pada kedua perlakuan adalah krem dan putih susu. Derajat keasaman (pH); konsistensi; volume semen (ml); konsentrasi ($10^6/ml$); dan motilitas spermatozoa (%) sapi bali pada P1 vs P2 adalah $7,0\pm 0,0$ vs $7,0\pm 0,0$; $2,5\pm 0,71$ vs $3,0\pm 0,0$; $4,5\pm 2,8$ vs $4,8\pm 2,8$; $925\pm 106,07$ vs $1210\pm 155,56$; dan $69,0\pm 1,41$ vs $71,5\pm 0,71$ ($P>0,05$). Disimpulkan bahwa pemberian GnRH 100 µg tidak memengaruhi kualitas spermatozoa sapi bali.

Kata kunci: GnRH; sapi bali; spermatozoa

Pendahuluan

Sapi bali (*Bos sondaicus*) merupakan sapi asli Indonesia yang cukup penting karena mempunyai populasi yang cukup besar dan wilayah penyebarannya sangat luas di Indonesia. Beberapa kelebihan yang dimiliki sapi bali terutama kemampuan adaptasinya dalam lingkungan dengan ketersediaan pakan berkualitas rendah, namun masih dapat memperlihatkan fertilitas yang sangat baik (Handiwirawan dan Subandriyo, 2004). Keunggulan-keunggulan tersebut harus didorong dengan implementasi kemajuan teknologi khususnya teknologi reproduksi Inseminasi Buatan (IB). Inseminasi buatan bertujuan meningkatkan populasi dan mutu genetik ternak sehingga dapat meningkatkan efisiensi reproduksi ternak (Arifiantini, 2016). Keberhasilan IB ditentukan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah kualitas semen yang digunakan (Aisah et al., 2017).

Kualitas semen yang baik dimulai dari kualitas semen segar yang dihasilkan oleh pejantan hingga selanjutnya diproses menjadi semen beku. Semen beku yang baik merupakan salah satu faktor penting untuk keberhasilan program IB (Rahmawati et al., 2015). Kualitas semen yang baik harus melewati beberapa pemeriksaan antara lain pemeriksaan makroskopis dan pemeriksaan mikroskopis. Kualitas semen yang ditetapkan oleh Standar Nasional Indonesia (SNI) pada semen segar yang dapat dibekukan adalah persentase motilitas $\geq 70\%$ dan persentase gerakan massa $\geq 2+$. Feradis (2010) menyatakan bahwa volume sapi bali berkisar 5-8 ml. Semen sapi normal berwarna putih susu atau krem dengan pH sekitar 7,0 serta konsentrasi sekitar 800-2000 juta sel spermatozoa/ml.

Upaya memperbaiki dan meningkatkan performa reproduksi dapat dilakukan melalui pengaturan aktivitas hormon. Proses pembentukan sperma dan fungsi hormon steroid diatur oleh gonadotropin yang disekresi oleh sel *adenohipofisa* yang dikeluarkan secara pulsatif (Susilawati, 2011). Dalam rangka meningkatkan produktivitas ternak, *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) telah banyak digunakan untuk meningkatkan produksi testosteron (Syafuruddin et al., 2021; Armansyah et al., 2021), meningkatkan kualitas spermatozoa kambing Peranakan Ettawa (Hamdan, 1999),

dan meningkatkan kualitas spermatozoa pada domba (Azawi et al., 2012). Pemanfaatan GnRH untuk meningkatkan kualitas spermatozoa sudah pernah dilaporkan pada kerbau (Ansari et al., 2007), namun pengaruh GnRH terhadap kualitas spermatozoa sapi bali belum pernah dilaporkan.

Hormon GnRH adalah hormon peptida yang dihasilkan oleh hipotalamus, berfungsi untuk merangsang hipofisis bagian anterior untuk mengeluarkan *follicle stimulating hormone* (FSH) dan *luteinizing hormone* (LH) (Lehninger et al., 2005). *Follicle stimulating hormone* diketahui berperan dalam mengontrol proliferasi sel Sertoli yang mengakibatkan terjadinya peningkatan volume testis (Hasbi dan Gustina, 2018). Pada dasarnya LH tidak bekerja langsung pada proses spermatogenesis, namun merangsang sintesis dan pelepasan hormon testosteron dari sel Leydig. Testosteron berperan dalam memacu pertumbuhan dan menjaga kelangsungan fungsi kelenjar-kelenjar kelamin pelengkap untuk menghasilkan plasma sperma pada saat ejakulasi, memacu keinginan pejantan untuk kawin (Rachmadi, 2008) dan berperan dalam proses spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus (Susilawati, 2011). Oleh karena itu, pemberian GnRH eksogen mampu meningkatkan ketebalan epitel germinal testis dan kualitas semen (Herera-Baragan et al., 2020)

Materi dan Metode

Pada penelitian ini digunakan dua ekor sapi bali pejantan dalam kondisi sehat milik salah satu peternak di Kelurahan Teluk Sepang, Kecamatan Kampung Melayu Kota Bengkulu, masing-masing berumur 2 tahun dan 4 tahun dengan bobot badan 150 kg dan 250 kg. Sapi diberi pakan hijauan dan konsentrat. Perlakuan yang diberikan adalah penyuntikan GnRH sintetik (Fertagyl™, yang mengandung 105,08 gonadorelin acetate/ml) tiga hari secara intramuskulus. Pelaksanaan perlakuan dirancang dengan menggunakan pola bujur sangkar latin 2 X 2, sehingga setiap hewan percobaan akan diinjeksi NaCl fisiologis sebagai kontrol (P1), dan 100 µg Fertagyl™ (P2). Setiap perlakuan dilakukan sebanyak dua kali dan tiap perlakuan dilakukan bergantian setiap minggunya. Secara

skematis perlakuan yang diberikan pada masing-masing hewan percobaan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pola perlakuan terhadap hewan percobaan

Periode	Perlakuan	
	NaCl fisiologis (P1)	NaCl fisiologis (P2)
1	A	B
2	B	A

Keterangan: A= Sapi 1; B= Sapi 2

Prosedur Penelitian

Penampungan semen

Penampungan semen dilakukan pada pagi hari. Sapi pejantan bali dibawa ke kandang jepit untuk dipertemukan dengan betina pemancing agar dapat memberi rangsangan libido kepada pejantan yang akan ditampung semennya. Penampungan semen dilakukan menggunakan vagina buatan oleh kolektor yang sudah berpengalaman. Penampungan semen dilakukan sebanyak dua kali ulangan. Sampel semen dikoleksi masing-masing 3 hari setelah perlakuan dan langsung diamati.

Parameter pengukuran

Parameter pengukuran yang diamati pada penelitian ini adalah pemeriksaan semen secara makroskopis yang meliputi: volume, warna, konsistensi dan pH. Pemeriksaan semen secara mikroskopis meliputi: konsentrasi spermatozoa, motilitas spermatozoa dan gerakan massa semen.

Pemeriksaan makroskopis semen

Volume

Volume semen yang sudah ditampung pada 1 kali penampungan diukur dengan melihat langsung pada tabung berskala. Tabung penampung semen sapi bali yang digunakan adalah 15 ml (Susilawati, 2011).

Warna

Warna semen dapat dilihat langsung pada tabung penampung. Semen sapi normal berwarna krem atau putih susu. Warna kemerahan merupakan tanda bahwa semen terkontaminasi

oleh darah segar, sedangkan apabila warnanya mendekati coklat dapat merupakan tanda bahwa darah yang mengontaminasi semen sudah mengalami dekomposisi. Warna kehijauan merupakan tanda adanya bakteri pembusuk (Susilawati, 2011).

Konsistensi

Penilaian konsistensi semen dapat memberikan gambaran konsentrasi spermatozoa yang terkandung di dalam semen tersebut. Cara menilai konsistensi adalah dengan memiringkan tabung yang berisi semen dan mengembalikan pada posisi semula. Konsistensi dapat dinilai berdasarkan kecepatan semen kembali ke dasar tabung penampung. Katagori konsistensi semen adalah sebagai berikut: Skor 1, konsistensi encer (semen akan cepat kembali ke dasar tabung); skor 2, konsistensi sedang (semen akan segera kembali ke dasar tabung dengan kecepatan lebih lambat dibandingkan yang pertama, sebagian semen masih menempel di dinding tabung); skor 3, konsistensi kental (semen kembali ke dasar tabung secara perlahan dan menyisakan sebagian semen di pinggiran tabung) (Susilawati, 2011).

pH (Keasaman)

Pemeriksaan keasaman semen dilakukan menggunakan kertas indikator pH (buatan Merck) dengan skala ketelitian yang cukup sempit, antara 6–8 dengan rentang ketelitian 0,1. Semen pada umumnya memiliki kisaran pH netral (Susilawati, 2011).

Pemeriksaan mikroskopis semen

Konsentrasi spermatozoa

Konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan pipet *haemocytometer* dan kamar hitung Neubauer. Semen dihisap sampai skala 0,5 kemudian ditambahkan dengan larutan NaCl 3% dan dihisap sampai mencapai angka 101. Kemudian larutan dihomogenkan membentuk angka 8 selama 2-3 menit, dibuang beberapa tetes. Sampel diisikan ke dalam kamar hitung Neubauer yang telah ditutup menggunakan gelas penutup. kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 40 x 10. Penghitungan spermatozoa dilakukan pada lima kotak besar. Konsentrasi spermatozoa yang didapatkan ada-

lah $Y \times 10^6$ (Y = jumlah spermatozoa pada 5 kotak) (Mughniati *et al.*, 2018).

Motilitas spermatozoa

Pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan *object glass* yang ditetesi 10-15 μ l semen kemudian ditetaskan 10-15 μ l NaCl fisiologis dan ditutup dengan *cover glass*. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 40 x 10. Penilaian dilakukan dengan melihat persentase motilitas dan gerakan individu (*velocity*) kecepatan spermatozoa bergerak ke depan. Motilitas dinilai dalam persen, yaitu perbandingan spermatozoa yang bergerak aktif progresif dibandingkan dengan gerakan spermatozoa yang bergerak bergetar di tempat (*vibrator*), gerakan spermatozoa yang bergerak berputar (*circular*), gerakan spermatozoa yang mundur (*reverse*), dan spermatozoa yang mati atau mengambang. Hal-hal yang diamati dalam pemeriksaan yaitu persentase spermatozoa yang motil minimal 70%, spermatozoa yang abnormal harus kurang dari 10%.

Analisis Data

Penelitian ini dirancang dengan pola bujur sangkar latin 2 X 2. Data hasil pemeriksaan kualitas spermatozoa dianalisis dengan uji *Wilcoxon Signed Ranks Test*.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pemeriksaan volume, warna, pH, konsistensi, konsentrasi, dan motilitas spermatozoa sapi bali disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan (\pm SD) pemeriksaan warna, pH, konsistensi, volume, konsentrasi, dan motilitas spermatozoa sapi bali antara perlakuan kontrol (NaCl fisiologis) dengan GnRH 100 μ g

Kriteria Semen	Perlakuan	
	Kontrol (P1)	GnRH 100 μ g (P2)
Warna	Krem	Putih Susu
pH	7,0 \pm 0,0 ^a	7,0 \pm 0,0 ^a
Volume (ml)	4,5 \pm 2,8 ^a	4,8 \pm 2,8 ^a
Konsistensi	2,5 \pm 0,71 ^a	3,0 \pm 0,0 ^a
Konsentrasi (10 ⁶ sel/ml)	925 \pm 106,07 ^a	1210 \pm 155,56 ^a
Motilitas (%)	69,0 \pm 1,41 ^a	71,5 \pm 0,71 ^a

^a Superskrips yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$)

Hasil evaluasi semen segar merupakan pemeriksaan awal semen yang dijadikan dasar untuk menentukan kelayakan semen yang akan diproses lebih lanjut (Arifiantini, 2016). Penilaian semen segar dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Penilaian secara makroskopis meliputi pemeriksaan volume, warna, pH, dan konsistensi sedangkan penilaian secara mikroskopis meliputi pemeriksaan konsentrasi, motilitas, dan gerakan massa (Haryani *et al.*, 2016). Penilaian warna semen sapi bali yang ditampung pada kedua perlakuan berwarna normal yakni krem dan putih susu. Hal ini sesuai dengan pernyataan Susilawati (2011) yang menyatakan bahwa pada umumnya semen sapi berwarna krem atau putih susu. Konsistensi semen sapi bali untuk kedua perlakuan masing-masing yaitu 2,5 \pm 0,71 dan 3,0 \pm 0,0. Ramsiyati *et al.* (2004) menyatakan bahwa warna semen erat hubungannya dengan konsistensi semen, sedangkan konsistensi semen berhubungan dengan konsentrasi spermatozoa. Sujoko *et al.* (2009) juga menyatakan warna, konsistensi dan konsentrasi saling berhubungan erat satu sama lain. Semakin kental semen yang dihasilkan oleh ternak, maka konsentrasi semakin tinggi dan warna akan semakin pekat.

Derajat keasaman (pH) pada P1 dan P2 masing-masing adalah 7,0 \pm 0,0 dan 7,0 \pm 0,0. Analisis statistik memperlihatkan bahwa perlakuan GnRH 100 μ g terhadap pH sapi bali menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Hasil yang didapat dalam kondisi normal sesuai dengan laporan Kartika (2015) yang melaporkan bahwa pH semen segar sapi bali adalah 7,0. Hal ini sama dengan hasil yang diperoleh Saili *et al.* (2000) dan Bhakat *et al.* (2014) yang menyatakan pH maksimal 7,0 atau cenderung ke arah basa dengan variasi 6,5 - 6,9. Kondisi derajat keasaman (pH) yang tidak normal akan memengaruhi proses metabolisme sperma itu sendiri. Dengan kata lain, semakin tinggi metabolisme dalam sperma maka derajat keasaman sperma akan asam, sebaliknya semakin sedikit proses metabolisme maka derajat keasaman sperma menjadi basa. Hal ini disebabkan oleh asam laktat di dalam glikolisis yang memengaruhi penumpukan, sehingga daya tahan hidup sperma juga sangat dipengaruhi oleh keadaan pH sperma itu sendiri (Burhan, 2013).

Volume semen sapi bali yang diperoleh setelah ejakulasi pada P1 dan P2 masing-masing adalah $4,5 \pm 2,8$ dan $4,8 \pm 2,8$ ml. Analisis statistik pada perlakuan P1 dan P2 menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Siregar dan Hamdan (2007), menyatakan bahwa volume semen sapi berkisar antara 4-10 ml. Menurut Kartika (2015), volume semen sapi bali setiap penampungan dapat bervariasi karena dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain umur sapi, besar tubuh, status kesehatan, status reproduksi, kualitas pakan, dan penampungan.

Konsentrasi spermatozoa pada P1 dan P2 masing-masing adalah $925 \pm 106,07 \times 10^6$ dan $1.210 \pm 155,56 \times 10^6$ sel/ml. Hasil analisis statistik pengaruh kedua perlakuan menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$), namun rata-rata konsentrasi pada perlakuan GnRH 100 μg cenderung mengalami peningkatan dibandingkan dengan kontrol. Konsentrasi spermatozoa pada kedua kelompok relatif berada pada kisaran normal. Konsentrasi (10^6 sel/ml) pada P1 dan P2 masing-masing adalah $925 \pm 106,07$ dan $1210 \pm 155,56$. Konsentrasi spermatozoa/ml semen sapi adalah sekitar 800-2000 juta (Garner dan Hafez, 2000). Rataan konsentrasi spermatozoa sapi bali kontrol sedikit lebih rendah dibandingkan dari hasil pemeriksaan yang dilakukan oleh BBIB Singosari yaitu $946,70 \pm 198$. Hal ini mungkin diakibatkan oleh pengaruh pakan, manajemen, dan individu serta kondisi saat koleksi semen dilakukan (Hafez dan Hafez, 2000).

Burhan (2013) mengungkapkan bahwa penilaian terhadap motilitas spermatozoa bersifat sangat subjektif atau dengan kata lain hasil pemeriksaan terhadap motilitas spermatozoa sangat bergantung kepada orang yang melakukan penelitian, selain itu dibutuhkan pula keahlian dan kecepatan kerja di dalam pemeriksaan semen. Hal ini erat hubungannya dengan ketersediaan bahan makanan dan kesegaran spermatozoa yang terkandung di dalam semen. Adapun hasil rata-rata motilitas individu spermatozoa sapi bali pada P1 dan P2 masing-masing adalah $69,0 \pm 1,41\%$ dan $71,5 \pm 0,71\%$. Pada penelitian ini, kedua perlakuan menunjukkan hasil yang didapatkan masih dalam kisaran normal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Siregar dan Hamdan (2007), semen yang dapat digunakan untuk

inseminasi buatan adalah semen yang memiliki $>40\%$ spermatozoa progresif. Tingginya persentase spermatozoa progresif menunjukkan kemampuan spermatozoa berenang menuju tempat fertilisasinya di tuba Fallopii. Analisis statistik memperlihatkan bahwa perlakuan GnRH 100 μg terhadap motilitas spermatozoa sapi bali menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$), namun rataan persentase dari motilitas yang diberikan GnRH 100 μg cenderung mengalami peningkatan dibandingkan dengan kontrol. Faktor-faktor yang dapat memengaruhi motilitas spermatozoa yaitu bangsa, individu, umur ternak, dan perubahan temperatur (Hardijanto *et al.*, 2008).

Berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan bahwa pemberian GnRH 100 μg pada setiap kriteria semen sapi bali tidak berpengaruh dalam meningkatkan kualitas spermatozoa sapi bali, namun jika dilihat dari rataan setiap kriteria semen cenderung mengalami peningkatan. Sajjad *et al.* (2007) melaporkan bahwa pemberian GnRH tidak berpengaruh terhadap volume, pH, konsentrasi dan motilitas spermatozoa kerbau sedangkan Azawi *et al.* (2012) melaporkan bahwa pemberian GnRH 50 μg dapat meningkatkan volume semen dan konsentrasi spermatozoa domba Awassi. Hamdan (1999) juga melaporkan bahwa pemberian GnRH 50 μg dan 100 μg berpengaruh terhadap peningkatan konsentrasi dan motilitas spermatozoa kambing peranakan Ettawah. Perbedaan hasil ini kemungkinan berhubungan dengan jenis hewan yang digunakan.

Mekanisme peningkatan kualitas spermatozoa akibat pemberian GnRH adalah akibat rangsangan terhadap neuron hipofisis untuk melepaskan hormon gonadotropin (GtH-I dan GtH-II). GtH I dan GtH-II berperan dalam spermatogenesis yang akan merangsang gonad untuk menghasilkan hormon steroid yaitu testosteron dan 17β -estradiol. GtH-I berfungsi merangsang perkembangan sel Sertoli untuk menghasilkan *androgen binding protein* (ABP) yang akan memacu spermatogonium untuk proses spermatogenesis. GtH-II berfungsi merangsang sel interstitial atau sel Leydig agar menyekresikan hormon testosteron. Perkembangan tubulus seminiferus dan sel Sertoli dipengaruhi *intertitial cell stimulating hormone*

(ICSH) untuk menghasilkan ABP yang memacu pembentukan sperma. Testosteron dan ABP mengendalikan pembentukan spermatozoa dan berperan dalam proses spermatogenesis untuk menstimulasi inisiasi perkembangan spermatogenik (Kusuma *et al.*, 2012).

Korelasi positif yang terjadi antara kadar hormon testosteron dengan kualitas sperma disebabkan karena hormon testosteron berperan penting bagi suatu tahap atau lebih dalam pembelahan sel-sel germinal untuk membentuk spermatozoa, terutama pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder (Rachmawati *et al.*, 2014). Testosteron berfungsi merangsang spermatogenesis (Bearden *et al.*, 2004), mempertahankan spermiogenesis dalam tubulus seminiferus, memperpanjang umur spermatozoa di epididimis (Herrera-Baragan *et al.*, 2020), pematangan spermatozoa dalam epididimis (Susilawati, 2011) dan memengaruhi aktivitas seksual pejantan (Rachmawati *et al.*, 2014). Hormon ini disintesis dalam sel Leydig testis dan sekresinya diatur oleh LH (Silbernagl dan Agamemnon, 2003).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian GnRH tidak berpengaruh terhadap peningkatan kualitas spermatozoa sapi bali.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih pada peternak di Kelurahan Teluk Sepang, Kecamatan Kampung Melayu Kota Bengkulu dan BIBD Bengkulu atas bantuan fasilitas sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik.

Daftar Pustaka

- Aisah, S., Isnaini, N. dan Wahyuningsih, S. (2017). Kualitas Semen Segar dan *Recovery Rate* Sapi Bali pada Musim yang Berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 27 (1): 63-64.
- Arifiantini, R.I. (2016). *Pengembangan Teknik Produksi Semen Beku diIndonesia*. IPB Press, Bogor.
- Azawi, O.I., Al-Khashab, A.N.T.M. and Al-Khadoo, N.N.A. (2012). Effect of

Gonadotropin Releasing Hormone Treatment on Semen Characteristics and Enzymatic Activities of Awassi Rams in Breeding and Nonbreeding Seasons. *Iranian Journal of Applied Animal Science*. 2(1): 13-19.

- Bearden, H.J., Fuquay, J.W. and Williard, S.T. (2004). *Applied Animal Reproduction*. 6th ed. Pearson Prentice Hall, New Jersey.
- Bhakat, M., Tushar, K.M., Ashok K.G. and Muzamil, A. (2014). Effect of Season on Semen Quality of Crossbreed (Karan Fries) Bull. *Animal and Veterinary Science*. 2 (11): 632-637.
- Burhan. (2013). Efektifitas Metode Kolom Albumen sebagai Medium Separasi untuk Mengubah Rasio Alamiah Spermatozoa Sapi Bali Pembawa Kromosom X dan Y pada Waktu Inkubasi Berbeda. *Tesis*. Fakultas Peternakan UNRAM. Mataram.
- Feradis. (2010). *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Alfabeta, Bandung.
- Garner, D.L. and Hafez, E.S.E. (2000). Spermatozoa and Seminal Plasma. *In Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Lea and Febiger Publishing, Philadelphia.
- Hafez, B. and E.S.E. Hafez. (2000). *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Hamdan. (1999). Pengaruh Pemberian Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) terhadap Kualitas Semen dan Kadar Testosteron Serum Kambing Peranakan Ettawah. *Tesis*. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Handiwirawan, E. dan Subandriyo. (2004). Potensi dan Keragaman Sumberdaya Genetik Sapi Bali. *Wartazoa*. 14(3): 50.
- Haryani, R., Toleng, A. L., Sonjay, H. and Yusuf, M. (2016). Characteristic of Bali Bulls Sperms Assessed Using Computerized Assisted Semen Analysis (CASA). *Journal International of Sciences*. 28 (2): 161-168.
- Hasbi, H. dan Gustina. (2018). Regulasi Androgen dalam Spermatogenesis untuk

- Meningkatkan Fertilisasi Ternak Jantan. *Wartazoa*. 28 (1): 14-15.
- Herrera-Barragán, J.A., Carcoba-Pérez, S.A., Pérez-Rivero, J.J., Ávalos-Rodríguez, A., Vargas-Ibarra, A.K., Gual-Sill, F., dan López-Díaz, O. (2020). Testicular development induced by GnRH-IS in budgerigar (*Melopsittacus undulatus*). *Anim. Reprod.* 17 (1): 1-7.
- Kartika, N.M.A. (2015). Proporsi dan Kualitas Spermatozoa Sapi Bali Hasil Separasi dalam Kolom Albumin BSA (*Bovine Serum Albumin*). *Ganec Swara*. 11 (2): 47-48.
- Kusuma, P.S.W., Marhendra, A.P.M., Aulan-ni'am, and Marsoedi. (2012). Mechanism of Gonadotropin Hormone Release in Catfish (*Clarias sp*) Upon Laserpuncture Exposure to Reproduction Acupoint. *International Journal of Science and Applied Science*. 12 (6): 177-182.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L. and Cox, M.M. (2005). *Lehninger Principles of Biochemistry*. W.H. Freeman, New York.
- Mughniati, S., Sari, D.K., Rendrawan, D. dan Rahim, L. (2018). Pengaruh Ekstrak Biji Kapuk (*Ceiba pentandra gaertn*) sebagai Obat Kontrasepsi terhadap Kualitas Spermatozoa pada Kucing Lokal (*Felis domestica*). *Jurnal Riset Veteriner Indonesia*. 2 (1): 27-34.
- Rachmadi, A. (2008). Kadar Gula Darah dan Kadar Hormon Testosteron pada Pria Penderita *Diabetes Melitus*. *Tesis*. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Rachmawati, L., Ismaya, dan Astuti, P. (2014). Korelasi antara Hormon Testosteron, Libido, dan Kualitas Sperma pada Kambing Bligon, Kejobong dan Peranakan Ettawah. *Peternakan*. 38 (1): 14.
- Rahmawati, M.A., Susilawati, T. dan Ihsan, M.N. (2015). Kualitas Semen dan Produksi Semen Beku pada Bangsa Sapi dan Bulan Penampungan Yang Berbeda. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*. 25 (3): 25-36.
- Ramsiyati, D.T., Sriyana. dan Bambang, S. (2004). Evaluasi Kualitas Semen Sapi Potong pada Berbagai Umur di Peternakan Raya. *Prosiding Temu Teknis Fungsional Nasional*. 82-87.
- Saili, T., Toelihere, M.R., Boediono, A. dan Tappa, B. (2000). Keefektifan Albumin sebagai Media Pemisah Spermatozoa Sapi Pembawa Kromosom X dan Y. *Jurnal Hayati*. 7 (4): 106-109.
- Sajjad, M., Ali, S., Akhter, S. and Ullah, N. (2007). Effect of *Gonadotropin Releasing Hormone* on Semen Characteristics in Nili-Ravi Buffalo Bulls. *Pakistan Veterinary Journal*. 27 (3): 153-154.
- Silbernagl, S. and Despopoulos, A. (2003). *Color Atlas of Physiology*. 6th ed. Thieme, New York.
- Siregar, T.N. dan Hamdan. (2007). *Teknologi Reproduksi pada Ternak*. Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.
- Sujoko, H., Setiadi, M.A. dan Boediono, A. (2009). Seleksi spermatozoa Domba Garut dengan Metode Sentrifugasi *Gradien Densitas Percoll*. *Jurnal Veteriner*. 10 (3): 128-130.
- Susilawati, T. (2011). *Spermatologi*. Universitas Brawijaya Press, Malang.

Isolasi *Salmonella* sp. dan Prevalensinya pada Tembolok (*Ingluviens*) Ayam Buras dan Ayam Ras di Pasar Ayam Peunayong Kota Banda Aceh

Isolation of Salmonella sp. and Prevalence from Crops (Ingluviens) in Local Chicken and Broiler in Poultry Market Peunayong Banda aceh

Sri Wahyuni, Erina*, M. Daud AK, Fakhrurrazi, M. Jalaluddin, Teuku Zahrial Helmi

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh Jl. Tgk. Hasan Krueng Kalee No.4

*Corresponding author, Email: erina.unsyiah@ac.id

Diterima: 8 Maret 2021, direvisi: 6 April 2022, disetujui: 12 Juli 2022

Abstract

The crop is the part of the chicken's digestive tract that is more likely to break during processing. This research aimed to isolate *Salmonella* sp. from crop in local chickens and broiler from the Peunayong Chicken Market in Banda Aceh. Samples were swab contents of crop from 15 crops of local chickens and 15 crops of broiler. This research is a Cross sectional study with Carter method, starts with a swab of crop contents and then is inserted into the Selenite Cystine Broth (SCB) media, if the color of the media becomes orange, then followed by streaking bacteria on Salmonella Shigella Agar (SSA) media. Observed the morphology that grew on SSA media including size, shape, surface, elevation, edges, aspects and colony color, followed by Gram stain to observe bacterial morphology microscopically. The research data were analyzed descriptively, displayed in figures and tables. The results of the isolation showed that 7 from 15 samples (46%) of local chicken cropping and 15 from 15 samples (100%) of broiler were positive for *Salmonella* sp. Therefore, it can be concluded that *Salmonella* sp. can be isolated from local chicken and broiler, *Salmonella* sp. prevalence is higher in broiler than in local chicken.

Key words: *Eviserasi; Food borne disease; Gram negatif; Zoonotic disease*

Abstrak

Tembolok merupakan bagian saluran pencernaan ayam yang lebih mungkin pecah selama pemrosesan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi *Salmonella* sp. pada tembolok ayam buras dan ayam ras yang berasal dari Pasar Ayam Peunayong Kota Banda Aceh. Sampel berupa swab isi tembolok dari 15 tembolok ayam buras dan 15 tembolok ayam ras. Penelitian ini merupakan Cross sectional dengan metode Carter dimulai dari swab isi tembolok kemudian dimasukkan kedalam media *Selenite Cystine Broth* (SCB), apabila warna media menjadi *orange* dilanjutkan dengan penanaman bakteri pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA). Diamati morfologi yang tumbuh pada media SSA meliputi ukuran, bentuk, permukaan, elevasi, tepi, aspek dan warna koloni, dilanjutkan dengan pewarnaan Gram untuk mengamati morfologi bakteri secara mikroskopis. Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif, ditampilkan dalam bentuk gambar dan tabel. Hasil isolasi didapatkan bahwa pada 7 dari 15 (46%) sampel tembolok ayam buras dan 15 dari 15 sampel (100%) sampel tembolok ayam ras positif terdapat *Salmonella* sp. Oleh sebab itu, dapat disimpulkan bahwa *Salmonella* sp. dapat disolasi dari tembolok ayam buras dan ayam ras, prevalensi *Salmonella* sp. lebih tinggi pada ayam ras dibandingkan ayam buras.

Kata kunci: *Eviserasi; Food borne Disease; Gram negative; Zoonotic disease*

Pendahuluan

Daging ayam bukan ras (buras) dan ayam ras (broiler) merupakan salah satu bahan pangan yang sering dikonsumsi masyarakat (Ramdhania *et al.*, 2020). Meningkatnya permintaan daging ayam di Indonesia disebabkan meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap nilai gizi. Daging ayam mengandung gizi cukup tinggi berupa protein dan energi (Ridha, 2017). Menurut data Dinas Kesehatan Hewan dan Peternakan Aceh tahun 2016, di Kota Banda Aceh jumlah produksi daging ayam kampung dan ayam broiler meningkat dibandingkan tahun 2015. Meningkatnya kebutuhan pangan akan daging menyebabkan tuntutan keamanan pangan juga meningkat (Arifin, 2015), namun daging dikategorikan sebagai pangan yang mudah rusak (*perishable food*) dan dapat menjadi sarana penularan penyakit zoonosis apabila terjadi kontaminasi oleh mikroba patogen seperti saat pemotongan di Rumah Potong Unggas (RPU) (Dewi *et al.*, 2016). Menurut Yana *et al.* (2017), pemotongan ayam di RPU Peunayong dilakukan secara tradisional dengan menggunakan peralatan sederhana dan dilakukan secara manual sehingga rentan terkontaminasi oleh mikroorganisme. Mikroorganisme yang umumnya mengkontaminasi daging ayam potong adalah *Salmonella* sp.

Salmonella sp. termasuk bakteri Gram negatif bersifat patogen dan merupakan agen yang paling sering menyebabkan *foodborne disease* di dunia (Sartika *et al.*, 2016). *Foodborne disease* ialah suatu penyakit yang diakibatkan karena mengkonsumsi makanan dan minuman yang sudah tercemar (Erina *et al.*, 2019). Kontaminasi bakteri pada makanan atau disebut *food borne disease* yang menyebabkan perubahan makanan menjadi media suatu penyakit (Nadifah *et al.*, 2014). Infeksi *Salmonella* sp. pada hewan maupun manusia mengganggu saluran pencernaan dan banyak diantaranya dapat mengakibatkan kematian. Sumber penyebaran infeksi *Salmonella* sp. pada unggas paling sering terjadi yaitu berasal dari pakan. Sistem pemotongan tradisional, penanganan kebersihan, dan jarak transportasi juga merupakan penyebab meningkatnya kejadian salmonellosis. Agen penyebab wabah salmonellosis mudah ditransmisikan dari lingkungan ke hewan dan manusia

baik secara langsung ataupun tidak langsung (Sartika *et al.*, 2016). Salah satu transmisi wabah salmonellosis secara langsung pada hewan terjadi di tembolok (Smith dan Berrang, 2006).

Tembolok pada unggas merupakan tempat penyimpanan makanan sementara seperti pakan dan air. Menampung sementara makanan yang masuk dan setelah tembolok penuh maka ayam akan berhenti makan (Widodo, 2018). Selanjutnya, dengan bantuan saliva dari kelenjar mulut, *esophagus* dan tembolok makanan dilunakkan (Yasin, 2010). Potensi untuk meningkatkan produktivitas dan kesehatan unggas seperti keamanan daging dan telur dipengaruhi oleh sifat makanan, khususnya pemasukan pakan dan keberadaan tembolok (Classen *et al.*, 2016).

Data penelitian pada tembolok menurut Hargis *et al.* (1995), menunjukkan bahwa tembolok lebih mungkin pecah (sebanyak 86 kali lipat) dari pada usus selama pemrosesan, berakibat meningkatnya kemungkinan kontaminasi karkas dengan *Salmonella* sp. yang berasal dari isi tembolok. Menurut Smith dan Berrang (2006), isi tembolok mengandung lebih banyak bakteri dari pada isi gizzard dan mengandung insiden yang lebih tinggi dari kontaminasi *Escherichia coli*, *Campylobacter* sp. dan isi dalam tembolok juga merupakan sumber ingesta serta rentan terhadap kerusakan selama pemrosesan. *Lactobacilli* mendominasi komunitas bakteri dari tembolok, tetapi coliform, streptococci dan bifidobacteria juga telah ditemukan, namun masih sedikit informasi mengenai *Salmonella* sp. pada tembolok (Classen *et al.*, 2016).

Dari penjelasan diatas dan beberapa penelitian terdahulu, masih terbatasnya penelitian tentang isolasi bakteri *Salmonella* sp. pada tembolok (*ingluviens*) ayam buras dan ayam ras. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian tentang isolasi keberadaan bakteri *Salmonella* sp. pada tembolok ayam buras dan ayam ras, dimana penelitian ini difokuskan pada aspek mikrobiologi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi *Salmonella* sp. dan menentukan prevalensinya pada tembolok ayam buras dan ayam ras berdasarkan tempat pengambilan sampel yaitu di Pasar Ayam Peunayong Kota Banda Aceh. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang keberadaan *Salmonella* sp. pada

tembolok ayam buras dan ras sehingga dapat mencegah kontaminasi dari tembolok ke daging ayam serta mengetahui prevalensi *Salmonella* sp. pada tembolok ayam buras dan ayam ras. Selanjutnya informasi yang akan diperoleh, diharapkan bermanfaat dalam meminimalisir terjadinya salmonellosis pada masyarakat.

Materi dan Metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh pada bulan Desember 2020. Sampel dalam penelitian ini berjumlah 30 sampel yaitu 15 tembolok ayam buras dan 15 tembolok ayam ras yang diambil secara acak dari Pasar Ayam Peunayong Kota Banda Aceh. Penelitian ini merupakan *Cross sectional* berdasarkan metode Carter yang dimulai dengan swab tembolok kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi *Selenite Cystine Broth* (SCB), selanjutnya ditanam pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) dan dilanjutkan dengan pewarnaan Gram.

Sebanyak 30 Sampel tembolok ayam diambil secara acak dan dikemas dalam plastic steril, kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Tembolok dibelah terlebih dahulu menggunakan gunting steril, selanjutnya tembolok yang telah dibelah diambil isinya menggunakan *swab* steril sebanyak ± 1 gr, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi *Selenite Cystine Broth* (SCB) 10 ml. Diinkubasikan dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: tabung reaksi (Pyrex®), cawan petri (Pyrex®), inkubator (Mettler™), mikroskop (Olympus™), sterilisator, gunting steril, kantung plastik steril, pinset, *swab* steril, *object glass*, *autoclave*, lampu *bunsen*, osse, label, tisu, dan spidol. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *selenite cystine broth* (Oxoid™), *salmonella shigella agar* (Oxoid™), *NaCl* fisiologis, alkohol 96%, *Kristal Violet*, *Lugol*, *Safranin* dan minyak emersi.

Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C di dalam inkubator, kemudian diamati perubahan warna pada media *Selenite Cystine Broth* (SCB). Hasil positif ditunjukkan

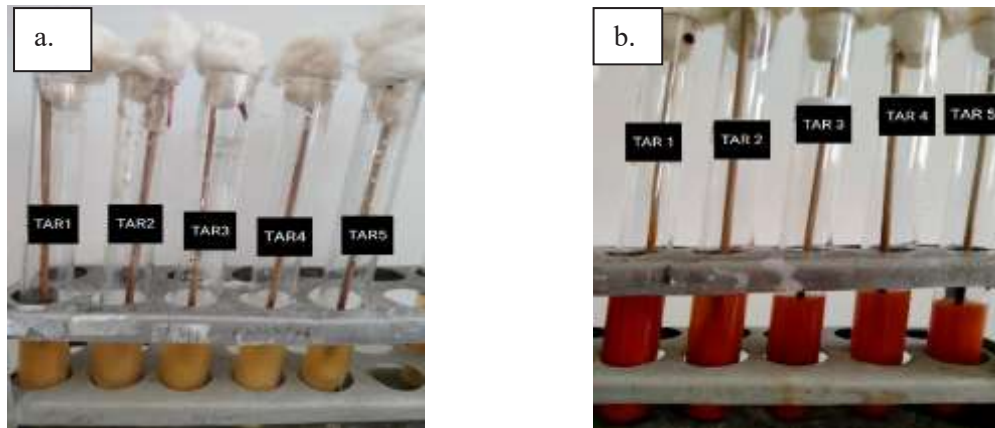
dengan perubahan warna menjadi *orange*. Selanjutnya dilakukan isolasi *Salmonella* sp. dengan menggunakan osse, biakan dari tabung reaksi yang berisi *Selenite Cystine Broth* (SCB) dipindahkan ke media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) dengan Teknik *T streaking*, diinkubasi suhu 37°C dan diamati morfologi koloni yang tumbuh selanjutnya dilakukan pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Pada pengamatan morfologi koloni bakteri dilakukan secara visual dengan mengamati ukuran, bentuk, permukaan, aspek koloni, tepi koloni, elevasi, dan warna koloni bakteri yang tumbuh pada media SSA.

Pewarnaan Gram dengan cara pada objek glass ditetaskan *NaCl* 1 tetes, kemudian koloni bakteri pada media SSA diambil dan diletakkan pada objek *glass* tersebut kemudian diratakan difiksasi diatas *bunsen*. Sediaan yang telah difiksasi selanjutnya ditetaskan larutan *kristal violet* selama 3-5 menit, zat warna dibilas menggunakan air mengalir. Kemudian, ditetaskan *lugol* dan ditunggu 1 menit. Sisa *lugol* dibuang dengan air mengalir, selanjutnya ditetaskan alkohol 96% selama 10 detik untuk melunturkan zat warna dan dicuci kembali dengan air mengalir. Selanjutnya, sediaan digenangi dengan *safranin* selama 30-60 detik, buang *safranin* dan cuci dengan air mengalir. Kemudian dikering anginkan diudara dan ditetaskan minyak emersi, lalu diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x.

Parameter dalam penelitian ini adalah adanya pertumbuhan koloni yang mencirikan morfologi *Salmonella* sp. pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) dengan ditemukan sejumlah koloni bewarna kemerahan dan inti bewarna hitam (Cappuccino dan Sherman, 1983). Berdasarkan pemerikaaan mikroskopis dengan pewarnaan Gram ditemukan adanya bakteri Gram negatif berbentuk batang panjang bewarna merah (Yunus et al. 2017 dan White et al., 2001). Data yang diperoleh pada penelitian ini dianalisa secara deskriptif berdasarkan morfologi koloni dan pewarnaan Gram, ditabulasikan dalam bentuk tabel dan gambar.

Hasil dan Pembahasan

Hasil isolasi bakteri dari tembolok (*ingluviens*) ayam buras dan ayam ras pada media



Gambar 1. Hasil pembiakan sampel tembolok ayam pada media SCB.(a) Sebelum diinkubasi;(b) Setelah diinkubasi.

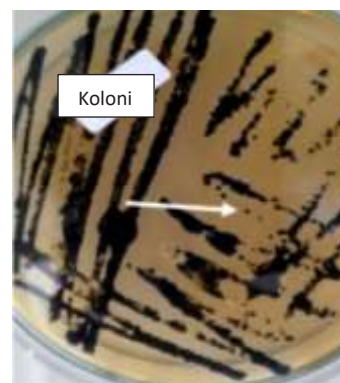
SCB, setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C seperti terlihat pada Gambar 1.

Gambar diatas memperlihatkan sampel yang ditanam pada media SCB mengalami perubahan warna media menjadi orange yang terjadi pada semua sampel baik Ayam Buras (TAB1-TAB15) dan Ayam Ras (TAR1-TAR15) yang mengindikasikan adanya *Salmonella* sp. SCB merupakan media selective enrichment digunakan untuk deteksi dan isolasi dari *Salmonella* sp. (Corry et al, 2003). Perubahan warna media SCB menjadi orange, disebabkan karena kandungan inhibitor natrium selenit yang kemudian tereduksi menjadi selenium (Kusuma, 2009). Sampel yang biasa digunakan yaitu makanan, produk susu, air dan bahan lain yang penting bagi kesehatan dan media ini direkomendasikan oleh ISO 6785, American Public Health Association (APHA) dan Food and Drug Administration (FDA) untuk isolasi *Salmonella* sp. (Liofilchem, 2016). SCB menghambat pertumbuhan awal bakteri Coliforms, kandungan berupa pepton sebagai sumber nitrogen, vitamin dan asam amino esensial untuk pertumbuhan, laktosa sebagai sumber energi dan Sodium selenite berfungsi menghambat bakteri Gram positif serta sebagian bakteri Gram negatif enterik, kecuali *Salmonella* sp. saat bereaksi dengan asam amino yang mengandung sulfur (Kusuma, 2009). Sodium Selenite terdaftar sebagai bahan berbahaya dan dilaporkan menyebabkan embriotoksik dan teratogenik berdasarkan penelitian pada hewan (June et al., 1995). Dilakukan penambahan cystine mampu mengurangi toksisitas dari selenite terhadap mikroorganisme (Bridson,

2006). Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan hasil positif yaitu terjadinya perubahan warna pada media SCB menjadi orange yang mengindikasikan bahwa terdapat pertumbuhan mikroba pada sampel tersebut. Menurut Liofilchem (2016), hasil dari penanaman pada media SCB yaitu terlihat kekeruhan yang menunjukkan pertumbuhan mikroba.

Pada penelitian ini semua sampel yang digunakan menunjukkan adanya perubahan warna menjadi *orange*. Selanjutnya dilakukan penanaman pada media SSA. Hal ini sesuai dengan pernyataan Liofilchem (2016) bahwa untuk melengkapi isolasi dari *Salmonella* sp. selanjutnya dilakukan penanaman pada media padat selektif yaitu media SSA. Pada penelitian ini diperoleh hasil biakan koloni pada media SSA yang dapat dilihat secara makroskopis pada Gambar 2.

SSA adalah media yang sangat selektif digunakan untuk isolasi *Salmonella* sp. Selektivitas diperoleh karena adanya konsentrasi garam empedu yang tinggi dan *brilliant green* yang menghambat pertumbuhan bakteri Gram



Gambar 2. Koloni *Salmonella* sp. yang tumbuh pada media SSA

positif. Adanya sitrat dan *thiosulfate* dapat menekan pertumbuhan bakteri Gram negatif lainnya, namun beberapa Coliform masih dapat tumbuh (Scharlab, 2011).

Menurut Srianta dan Riniharsari (2003), pada media SSA pertumbuhan *Salmonella* sp. ditandai dengan koloni berbentuk bulat, pinggirannya rata, mengkilap, cembung, berukuran 2-3 mm dan bagian tengah berwarna hitam atau *black center*. Warna hitam dihasilkan dari kemampuan *Salmonella* sp. dalam menghasilkan gas H₂S (Cappuccino dan Sherman, 1983), karena kombinasi *thiosulfate* dengan besi sebagai pembentuk sulfida (Bridson, 2006). Selain itu menurut Rahmiati (2016), koloni berwarna merah muda (*pink*) juga merupakan *Salmonella* sp. Koloni berwarna hitam dan merah muda diamati morfologinya yaitu ukuran, bentuk, permukaan, aspek koloni, tepi koloni, elevasi, dan warna koloni bakteri yang tumbuh pada media SSA. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 1 untuk ayam buras dan Tabel 2 untuk ayam ras.

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa dari 15 sampel tembolok

ayam buras yang ditanam pada media SSA, 2 sampel yaitu TAB10 dan TAB14 menghasilkan koloni berbentuk bulat, permukaan halus, mengkilap, tepi rata, cembung dan berwarna hitam, hasil ini mencirikan adanya *Salmonella* sp. dan pada sampel TAB2, TAB3, TAB4, TAB11, dan TAB13 menunjukkan koloni berwarna merah muda, juga merupakan hasil positif dari pertumbuhan *Salmonella* sp. pada media SSA. Sedangkan pada sampel TAB1, TAB5, TAB6, TAB7, TAB8, TAB9, TAB12, dan TAB15 tidak ditemukannya pertumbuhan koloni bakteri pada media SSA.

Hasil pengamatan pada Tabel 2 menunjukkan bahwa 15 sampel tembolok ayam ras yang ditanam pada media SSA, semua sampel (TAR1-TAR15) menghasilkan koloni berbentuk bulat, permukaan halus, mengkilap, tepi rata, cembung dan berwarna hitam, hasil ini mencirikan adanya *Salmonella* sp.

Setelah dilakukan pengamatan morfologi koloni pada media SSA, dilanjutkan dengan pewarnaan Gram untuk memastikan bahwa bakteri tersebut termasuk kedalam kelompok

Tabel 1. Pengamatan morfologi *Salmonella* sp. pada media SSA (Sampel ayam buras)

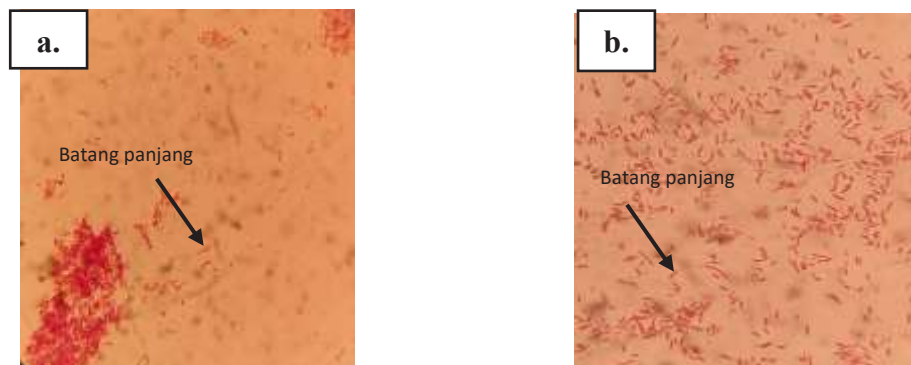
No	Kode Sampel	Ukuran	Bentuk	Permukaan	Aspek	Tepi	Elevasi	Warna
1.	TAB1	-	-	-	-	-	-	-
2.	TAB2 & TAB3	1 mm	Bulat	Halus	Mengkilap	Rata	Cembung	Merah Muda
3.	TAB4	1,5 mm	Bulat	Halus	Mengkilap	Rata	Cembung	Merah Muda
4.	TAB5 -TAB9	-	-	-	-	-	-	-
5.	TAB10	2 mm	Bulat	Halus	Mengkilap	Rata	Cembung	Hitam
6.	TAB11	1 mm	Bulat	Halus	Mengkilap	Rata	Cembung	Merah Muda
7.	TAB12	-	-	-	-	-	-	-
8.	TAB13	1 mm	Bulat	Halus	Mengkilap	Rata	Cembung	Merah Muda
9.	TAB14	2 mm	Bulat	Halus	Mengkilap	Rata	Cembung	Hitam
10.	TAB15	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: (-) tidak ada pertumbuhan *Salmonella* sp.
Tembolok Ayam Buras (TAB)

Tabel 2. Pengamatan morfologi *Salmonella* sp. pada media SSA (Sampel ayam ras)

No	Kode Sampel	Ukuran	Bentuk	Permukaan	Aspek Koloni	Tepi Koloni	Elevasi	Warna
1.	TAR1	1 mm	Bulat	Halus	Mengkilap	Rata	Cembung	Hitam
2.	TAR2 & TAR3	1,5 mm	Bulat	Halus	Mengkilap	Rata	Cembung	Hitam
3.	TAR4	2 mm	Bulat	Halus	Mengkilap	Rata	Cembung	Hitam
4.	TAR5	1,5 mm	Bulat	Halus	Mengkilap	Rata	Cembung	Hitam
5.	TAR6 -TAR13	1 mm	Bulat	Halus	Mengkilap	Rata	Cembung	Hitam
6.	TAR14	2 mm	Bulat	Halus	Mengkilap	Rata	Cembung	Hitam
7.	TAR15	1 mm	Bulat	Halus	Mengkilap	Rata	Cembung	Hitam

Keterangan: Tembolok Ayam Ras (TAR)



Gambar 3. Hasil pewarnaan Gram *Salmonella* sp. diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran (1000x). Keterangan: (a) Sampel ayam buras dan (b) Sampel ayam ras

Gram negatif dengan mengambil koloni yang tumbuh terpisah. Dari hasil pewarnaan Gram pada 7 sampel yang berasal dari tembolok ayam buras dan 15 sampel yang berasal dari tembolok ayam ras, didapatkan hasil yaitu bakteri berbentuk batang panjang dan berwarna merah muda (Gambar 3).

Hal ini sesuai dengan pernyataan Yunus *et al.* 2017 dan White *et al.*, 2001, interpretasi hasil positif (+) jika ditemukan bakteri berbentuk batang berwarna merah dan jika tidak ditemukan bakteri berbentuk batang berwarna merah menunjukkan hasil negatif (-). Hasil pewarnaan Gram dapat dilihat Tabel 3.

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengelompokkan bakteri menjadi bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif. Perbedaan kedua bakteri tersebut yaitu dari struktur dan komposisi dinding selnya. Prinsip pewarnaan Gram berdasarkan kemampuan bakteri mempertahankan kompleks kristal violet-iodine setelah diberikan alkohol 96% (Kleuring, 2001). Bakteri yang tidak dapat mempertahankan zat warna kristal violet termasuk bakteri Gram negatif sedangkan bakteri yang mempertahankan warna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol termasuk Gram positif. Ketika dilakukan

uji pewarnaan Gram, suatu pewarna penimbal (*counterstain*) yaitu Safranin ditambahkan setelah kristal violet, yang membuat semua bakteri Gram negatif menjadi berwarna merah atau merah muda. Selain itu, komposisi dinding sel bakteri Gram negatif terdiri dari lipid dan peptidoglikan terutama lapisan lipopolisakarida (dikenal juga dengan LPS atau endotoksin). Dengan komponen tersebut spesies bakteri Gram negatif banyak yang bersifat patogen (Pelczar dan Chan, 1988).

Berdasarkan hasil isolasi 15 sampel tembolok ayam buras dan 15 sampel tembolok ayam ras, diperoleh hasil bahwa pada sampel tembolok ayam buras 7 sampel positif *Salmonella* sp. dengan prevalensi 46 % dan pada sampel tembolok ayam ras 15 sampel positif *Salmonella* sp. dengan prevalensi 100%. Menurut Ferasyi (2008), angka prevalensi merupakan jumlah sampel positif berbanding dengan jumlah seluruh sampel yang diperiksa. Dimana hasil positif didapatkan dari pengamatan morfologi pada media SSA yaitu diperoleh koloni berwarna hitam (*black center*) atau merah muda (*pink*) dan dilanjutkan uji pewarnaan Gram dengan hasil bakteri Gram negatif yaitu berwarna merah muda dan batang panjang.

Tabel 3. Hasil pengamatan koloni pada pewarnaan Gram

No	Kode Sampel	Bentuk	Warna	Kelompok Gram
Ayam Buras				
1	TAB2 -TAB4	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
2	TAB10 &TAB11	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
3	TAB13 &TAB14	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
Ayam Ras				
1	TAR1-TAR15	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif

Keterangan: Tembolok Ayam Buras (TAB) dan Tembolok Ayam Ras (TAR)

Hasil positif yang didapatkan dari isolasi *Salmonella* sp. pada tembolok menunjukkan bahwa tembolok dapat menjadi salah satu sumber kontaminasi pada tempat pemotongan ayam di Pasar Ayam Peunayong Kota Banda Aceh. Hal ini sesuai dengan yang telah diteliti sebelumnya oleh Yana *et al.* 2017 bahwa pemotongan ayam di Pasar Ayam Peunayong belum sepenuhnya menerapkan standar ketika melaksanakan proses pemotongan sehingga resiko kontaminasi sangat tinggi. Saat di penampungan ayam buras dan ayam ras juga dapat kontak dengan air maupun lingkungan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wulandari *et al.* (2020), bahwa faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri salah satunya adalah faktor lingkungan apabila kurang diperhatikan penerapan hygiene dan sanitasi.

Pemotongan ayam buras dan ayam ras dilakukan secara terpisah namun masih dalam lokasi yang sama dimana ayam buras disembelih saat ada pesanan dari pembeli sedangkan ayam ras telah disembelih dahulu dan diletakkan di meja-meja penjual sehingga memungkinkan terjadinya kontaminasi *Salmonella* sp. pada saat proses pemotongan dan pengeluaran jeroan.

Keberadaan *Salmonella* sp. yang diisolasi dari tembolok ayam buras dan ayam ras didapatkan hasil lebih tinggi pada tembolok ayam ras dari pada ayam buras. Tingginya keberadaan *Salmonella* sp. pada ayam ras dibandingkan ayam buras berhubungan dengan sumber penularan (transmisi) dari *Salmonella* sp. yaitu dapat terjadi secara vertikal dan horizontal. Menurut Harry (1957), pada unggas, *Salmonella* sp. dapat ditularkan secara langsung (vertikal) yaitu dari induk ke anak ayam dan tidak langsung (horizontal) yaitu melalui makanan yang tercemar kotoran ayam sakit atau karier. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian yang menyebutkan keberadaan *Salmonella* sp. pada ayam buras dan ras di Aceh yaitu untuk ayam buras penelitian Sartika *et al.* (2016), yaitu isolasi *Salmonella* sp. pada usus ayam kampung (buras) di Aceh diperoleh hasil positif terinfeksi *Salmonella* sp. dimana sumber penyebarannya berasal dari pakan. Penelitian Mukhtaruddin *et al.* (2018), ayam kampung (buras) yang dipelihara di desa Lampuja Kecamatan Darussalam terinfeksi bakteri jenis

Salmonella typhimurium dan *Salmonella enteritidis* dan untuk ayam ras penelitian Masturina *et al.* (2017), mengisolasi *Salmonella* sp. pada salah satu kandang ayam broiler (ras) di Aceh Besar didapatkan hasil adanya *Salmonella* sp. pada kandang ayam. Kemudian Afriyani *et al.* (2016), melakukan penelitian pada feses anak ayam broiler (ras) di Banda Aceh didapatkan keberadaan *Salmonella* sp. pada anak ayam tersebut.

Dari penelitian-penelitian tersebut menyatakan bahwa sumber penularan dari *Salmonella* sp. terjadi secara vertikal yaitu dari induk ke anak dan secara horizontal melalui makanan ataupun lingkungan yang tercemar. Sehingga peternak ayam dapat memperhatikan manajemen pemeliharaan yang baik yaitu bibit, pakan serta kandang dan perlu dilakukan upaya pengendalian *Salmonella* sp. Pengendalian *Salmonella* sp. dapat dimulai pada peternakan atau tingkat produksi dengan memasukkan bibit anak ayam yang berasal dari induk bebas *Salmonella* sp. kemudian melakukan sistem pemeriksaan menyeluruh pada pakan ternak mulai dari penerimaan pakan, produksi pakan, kebersihan peralatan dan personal yang terlibat dalam proses produksi (Sudirman, 2005 dan Wanasuria, 2010). Dalam proses penanganan di tempat pemotongan juga harus diperhatikan untuk mencegah terjadinya kontaminasi *Salmonella* sp. pada daging ayam dimana menurut OIE (2018), *Salmonella* sp. harus dicegah dengan menerapkan *biosafety*, *biosecurity* dan prosedur penanganan yang sesuai dengan analisis risiko biologi.

Kesimpulan

Salmonella sp. dapat diisolasi dari tembolok ayam buras dan ayam ras, prevalensi *Salmonella* sp. lebih tinggi pada ayam ras dibandingkan ayam buras.

Daftar Pustaka

- Afriyani., Darmawi., Fakhurrazi., Manaf, Z. H., Abrar, M. dan Winaruddin. (2016). Isolasi bakteri *Salmonella* sp. pada feses anak ayam broiler di Pasar Ulee Kareng Banda Aceh. *Jurnal Medika Veterinaria*. 10(1): 74-76.

- Arifin, I. M. (2015). Deteksi *Salmonella* sp. pada daging sapi di pasar tradisional dan pasar modern di Kota makassar. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Bridson, E. Y. (2006). *The Oxoid Manual*. 9th ed. Oxoid Limited, England.
- Cappucino, J.G. and N. Sherman. (1983). *Microbiology. A Laboratory Manual*. Rockland and Community Collage, New York Cliver.
- Classen, H.L., Apajalahti, J., Svihus, B. and Choct, M. (2016). The role of the crop in poultry production. *World's Poultry Science Journal*. 72: 14.
- Corry, J.EL., Curtis, G.D.W. and Baird, R.M. (2003). *Handbook of Culture Media for Food Microbiology, Second Edition, Volume 37*. Elsevier Science, UK.
- Data Dinas Kesehatan Hewan dan Peternakan Aceh. (2016). disnak.acehprov.go.id.
- Dewi, E.S., Latifa, E.L., Fawwarahly, S. dan Kautsar, R. (2016). Kualitas mikrobiologis daging unggas di RPA dan yang beredar di pasaran. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. 4(3): 379-385.
- Erina., Azmansyah., Darniati., Fakhurrrazi., Safika. and Siregar, T.N. (2019). The isolation and identification of bacteria *Salmonella* sp. on quail egg shell in tradisional markets ulee kareng Banda Aceh. *Jurnal Medika Veteriner*. 13(1): 79-87.
- Hargiss, B.M., Caldwell, D.J., Brewer, R.L., Corrier, D.E. and Deloach, J.R. (1995). Evaluation of the chicken crop as a source of *Salmonella* contamination for broiler carcasses. *Poultry Science*. 74: 1584-1552.
- Harry, E.G. (1957). The effect on embryonic chick mortality of yolk contamination with bacteria from the hen. *Vet.Rec*. 69(51): 1433-1439.
- June, G.A., Sherrod, P.S., Hammack, T.S., Amaguan, R.M. and Andrews, W.H. (1995). Relative effectiveness of selenite cystine broth, tetrathionate broth, and Rappaport-vassiliadis medium for the recovery of *Salmonella* from raw fresh and other highly contaminated foods: precollaborative study. *Journal of AOAC International*. 78(2): 375-380.
- Kleuring, G. (2001). *Gram Stain Technique*. Protocol of Molecular Cell Physiology, US.
- Kusuma, S.A.F. (2009). Uji Biokimia Bakteri. *Karya Ilmiah*. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran, Bandung.
- Liofilchem. (2016). Selenite Cystine Broth: liquid medium for detection of *Salmonella* spp. according to ISO 6785. *Laboratoires Humeau*. 13.12.2016: 1-2.
- Masturina., Fakhurrrazi., Abrar, M., Erina., Wahyuni, S. dan Budiman, H. (2017). Isolasi bakteri *Salmonella* sp. dalam kendang ayam broiler di desa Cot Sayun Kecamatan Blang Bintang Aceh Besar. *JIMVET*. 1(3): 375-382.
- Mukhtaruddin., Fakhurrrazi. dan Abrar, M. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri *Salmonella* sp. pada usus ayam kampung di Desa Lampuja Kecamatan Darussalam Kabupaten Aceh Besar. *JIMVET*. 3(1): 24-36.
- Nadifah, F., Bhoga, M. Y. dan Prasetyaningsih, Y. (2014). Kontaminasi bakteri pada saus tomat mie ayam di pasar CondongCatur Sleman Yogyakarta tahun 2013. *Jurnal Biogenesis*. 2(1): 30-33.
- Office International des Epizooties. (2018). OIE Terrestrial Manual 2018. Fowl typhoid and pullorum disease. Retrieved November 1, 2020, from <https://www.oie.int/doc/ged/D9308.PDF>.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.S.C. (1988). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Press, Jakarta.
- Rahmiati. (2016). Analisis bakteri *Salmonella-Shigella* pada kuah sate pedagang kaki lima. *Biolink*. 3(1): 31-36.
- Ramadhani, W.M., Rukmi, I. dan Jannah, S.N. (2020). Kualitas mikrobiologi daging ayam broiler di pasar tradisional Banyumanik Semarang. *Jurnal Biologi Tropika*. 3(1): 8-16.
- Ramdhania, E.Y., Ferasyi, T.R., Sari, W.E., Abrar, M., Ismail. dan Thasmi, C.N. (2020). Angka prevalensi cemaran bakteri *Escherichia coli* pada daging ayam broiler yang dijual ditiga pasar tradisional Kota Banda Aceh. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*. 4(3): 73-80.
- Ridha, A. (2017). Beberapa faktor yang mempengaruhi permintaan daging ayam broiler pada rumah tangga di Kecamatan Idi Rayeuk

- Kabupaten Aceh Timur. Diakses pada 16 November 2020, dari artikel, 10.30596/ekonomikawan.v17i1.1175
- Sartika, D., Susilawati. dan Arfani, G. (2016). Identifikasi cemaran *Salmonella* sp. pada ayam potong dengan metode kuantifikasi di tiga pasar tradisional dan dua pasar modern di kota Bandar Lampung. *Jurnal Teknologi Industri & Hasil Pertanian*. 21(2): 89-96.
- Scharlab, S.L. (2011). *Handbook of Microbiological Culture Media, Edition no 11*. Scharlau The Wise Choice.
- Smith, D.P. and Berrang, M.E. (2006). Prevalence and Numbers of Bacteria in Broiler Crop and Gizzard Contents. *Poultry Science*. 85: 144–147.
- Srianta dan Elisa, R. (2003). Deteksi *Salmonella* pada nasi goreng yang disediakan oleh restoran kereta api kelas ekonomi. *Jurnal teknol dan industri pakan*. 17(3): 253-254.
- Sudirman. (2005). Strategi pencegahan dan pengendalian infeksi *Salmonella* pada industry perunggasan. *Workshop Penanggulangan Penyakit Zoonosis*. Bogor, 5 Desember.
- Wanasuria, S. (2010). *Biosekuritas Pabrik Pakan: Cetakan ke delapan*. Kanisius, Yogyakarta.
- White, D.G., Zhao, S., Sudler, R., Ayers, S., Friedman, S., Chen, S., McDermott, P.F., McDermott, S., Wagner, D.D. and Meng, J. (2001). *Salmonella* from retail ground meats. *Engl. J. Med*. 345: 1147-1148.
- Widodo, E. (2018). *Ilmu Nutrisi Unggas*. UB Press, Malang.
- Wulandari, E., Tampoebolon, B.I.M., Widiyanto. dan Pujaningsih, R.I. (2020). Uji mikrobiologis *Salmonella*, *Water activity* dan total bakteri multnutrien blok dari cangkang kerrang dan cangkang telur sebagai sumber mineral. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 15(1): 43-49.
- Yana, O., Razali. dan Jalaluddin, M. (2017). Penilaian pemotongan ayam ditinjau dari aspek fisik dan estetika di RPU Peunayong Kota Banda Aceh. *JIMVET*. 1(2): 218-225.
- Yasin, I. (2010). Pencernaan serat kasar pada ternak unggas. *Jurnal Ilmiah Inkoma*. 21(3): 7-11.
- Yunus, R., Mongan, R. dan Rosnani. (2017). Cemaran bakteri Gram negative pada jajanan siamay di Kota Kendari. *Medical Laboratory Technology Journal*. 3(1): 87-92.

Kadar Hormon Prolaktin Pada Kambing Peranakan Ettawa, Sapera dan Saanen Pada Berbagai Status Fisiologi

Prolactin Hormone Levels in Ettawa, Sapera, and Saanen Crossbreeds in their Different Physiological Status

Sarmin^{1*}, Irkham Widiyono², Devita Anggraeni³, Claude Mona Airin¹, Pudji Astuti¹

¹Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada,
Jl. Fauna 2 Karangmalang, Yogyakarta 55281

²Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada,
Jl. Fauna 2 Karangmalang, Yogyakarta 55281

³Departemen Bedah dan Radiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada,
Jl. Fauna 2 Karangmalang, Yogyakarta 55281

*Email: sarminkh76@ugm.ac.id

Diterima: 12 Juli 2022, direvisi: 28 Oktober 2022, disetujui: 10 November 2022

Abstract

This study was aimed to examine the concentration of the hormone prolactin in Ettawa, Sapera, and Saanen goats in their different periods: lactating, adult (females), pregnancy, and yearling. This study involved a total of randomly selected 79 goats comprising 26 Ettawa crossbreed goats (8 lactating, 6 adult females, 6 pregnant, and 6 yearlings), 32 Sapera goats (8 lactating, 6 adult females, 12 pregnant, and 6 yearlings), and 21 Saanen goats (5 lactating, 4 adult females, 6 pregnant, and 6 yearlings). All goats were declared clinically healthy. Their blood samples were extracted through the jugular vein of each goat. Subsequently, the serums were then analyzed using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to discover the prolactin concentration contain in each. The highest prolactin concentrations were found in Saanen goats' serums (588.06 ± 440.28 IU/ml). The serums extracted from Sapera (311.72 ± 199.27 IU/ml) and Ettawa crossbreeds (316.38 ± 254.29 IU/ml) had lower prolactin concentrations. Based on their physiological status, high prolactin concentrations were found in the serums extracted from pregnant Saanen goats (701.69 ± 633.05 IU/ml) and Ettawa crossbreeds (505.94 ± 267.62 IU/ml), while those of pregnant Sapera goats ($268.35 \pm 236, 19$ IU/ml) were the lowest. In conclusion, goat breeds and physiological status influenced prolactin concentrations.

Key words: lactation, prolactin, Saanen, Sapera, Ettawa crossbred

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengkaji konsentrasi hormon prolaktin pada kambing Peranakan Ettawa, Sapera dan Saanen laktasi, betina dewasa, bunting dan dara. Penelitian ini menggunakan total 79 ekor kambing yang dipilih secara random dengan rincian 26 kambing Peranakan Ettawa (8 ekor laktasi, 6 ekor betina dewasa, 6 ekor bunting dan 6 ekor dara), 32 ekor kambing Sapera (8 ekor laktasi, 6 ekor betina dewasa, 12 ekor bunting dan 6 ekor dara) dan 21 ekor kambing Saanen (5 ekor laktasi, 4 ekor betina dewasa, 6 bunting dan 6 ekor dara). Seluruh kambing dinyatakan sehat secara klinis. Sampling darah dilakukan melalui vena jugularis pada masing-masing hewan, kemudian serum yang terbentuk dianalisis dengan *Enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) untuk menentukan konsentrasi prolaktin. Konsentrasi prolaktin signifikan lebih tinggi ditemukan pada kambing Saanen ($588,06 \pm 440,28$ IU/ml) dibandingkan dengan Sapera ($311,72 \pm 199,27$ IU/ml) dan Peranakan Ettawa ($316,38 \pm 254,29$ IU/ml). Berdasarkan status fisiologi, konsentrasi prolaktin yang tinggi ditemukan pada kambing bunting Saanen ($701,69 \pm 633,05$ IU/ml) dan Peranakan Ettawa ($505,94 \pm 267,62$ IU/

ml) dibandingkan kambing Sapera bunting (268,35±236,19 IU/ml). Disimpulkan bahwa konsentrasi prolaktin dipengaruhi oleh jenis ras dan variasi status fisiologi kambing.

Kata kunci: laktasi, prolaktin, Saanen, Sapera, Peranakan Ettawa

Pendahuluan

Pemerintah Indonesia terus mengembangkan ternak kambing perah untuk mendorong peningkatan produksi susu nasional. Budi daya kambing perah dinilai mudah, ekonomis dan cepat menghasilkan produksi susu. Beberapa rumpun kambing perah di Indonesia yang telah dikembangkan untuk menghasilkan susu antara lain kambing Peranakan Ettawa, Saanen dan Sapera. Upaya meningkatkan kualitas dan kuantitas susu kambing lokal tersebut dilakukan dengan menyilangkan kambing lokal Indonesia dengan kambing unggul seperti kambing Saanen.

Prolaktin adalah salah satu hormon penting untuk inisiasi dan pemeliharaan laktasi pada beberapa spesies kambing. Pada sapi dilaporkan bahwa sekresi prolaktin *periparturient* sangat penting untuk memaksimalkan sintesis susu pada periode *postpartum* (Akers *et al.*, 1981). Prolaktin berperan dalam membantu perkembangan *mamae* pada periode *prepartum* pada domba (Mikolayunas *et al.*, 2008) dan *galactopoiesis* (Hooley *et al.*, 1978) dan memacu diferensiasi struktural secara lengkap epitel *alveolar* susu sapi (Akers *et al.*, 1981). Prolaktin juga berperan dalam meregulasi *glandula mamae* (Hooley *et al.*, 1978) dan meningkatkan daya hidup sel epitel *mamae* (Flint & Knight, 1997).

Variasi konsentrasi hormon prolaktin pernah dilaporkan pada kambing Angora di Turki (Pehlivan *et al.*, 2018), pada kambing Saanen di Belanda (Kornalijnslijper *et al.*, 1997) dan kambing Kashmir di Cina (Zhang *et al.*, 2021). Variasi gen prolaktin ditemukan antara kambing Barki, Damascus dan Zaraibi di Mesir (Abdel-Aziem *et al.*, 2018). Variasi prolaktin pada sapi perah dilaporkan dipengaruhi oleh stimulasi sebelum pemerahan dan frekuensi pemerahan (Lacasse & Ollier, 2014). Penelitian pada kambing Saanen dilaporkan bahwa status fisiologi berefek pada konsentrasi prolaktin (Kalyesubula, *et al.*, 2021). Prolaktin pada kambing dan sapi dilaporkan meningkat pada akhir kebuntingan sampai 18-22 jam sebelum *partus* (Johxe *et al.*, 1971). Variasi konsentrasi hormon prolaktin

kambing Peranakan Ettawa, Sapera dan Saanen laktasi, betina dewasa, bunting dan dara di Indonesia belum pernah dilaporkan. Kajian konsentrasi prolaktin kambing Peranakan Ettawa, Sapera dan Saanen menjadi sangat dibutuhkan sebagai salah satu pertimbangan dalam melakukan seleksi kambing perah dan upaya menemukan kambing dengan produksi susu tinggi secara alami. Penelitian ini bertujuan mengkaji konsentrasi hormon prolaktin pada kambing Peranakan Ettawa, Sapera dan Saanen laktasi, betina dewasa, bunting dan dara.

Materi dan Metode

Ethical clearance

Seluruh metoda penelitian ini telah mendapat persetujuan Komisi *Ethical Clearance* untuk penelitian praklinik Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dengan nomor sertifikat: 00017/04/LPPT/VII/2021.

Hewan coba

Penelitian ini menggunakan total 79 ekor kambing yang secara klinis sehat yang dipilih secara acak dengan rincian 26 kambing Peranakan Ettawa (8 ekor laktasi, 6 ekor betina dewasa, 6 ekor bunting dan 6 ekor dara), 32 ekor kambing Sapera (8 ekor laktasi, 6 ekor betina dewasa, 12 ekor bunting dan 6 ekor dara) dan 21 ekor kambing Saanen (5 ekor laktasi, 4 ekor betina dewasa, 6 bunting dan 6 ekor dara).

Kriteria kambing yang digunakan adalah kambing laktasi kedua; dengan usia laktasi 1-2 bulan; kambing bunting adalah kambing betina umur 2-3 tahun, sedang bunting pada trisemester pertama pada kebuntingan ke-2 atau ke-3; kambing betina dewasa adalah kambing betina tidak bunting dan tidak laktasi dengan usia 2-3 tahun, dan kambing dara usia 90-120 hari. Hewan penelitian ini dipelihara di dalam kandang panggung individual (ukuran 2,5 m x 1,5 m) secara intensif dan diberi pakan berupa bungkil kedelai, kopra, jagung giling, *pollard*, dan mineral.

Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di daerah Seyegan, Sleman, Yogyakarta pada bulan Mei- Juli 2021.

Sampling darah

Darah dikoleksi sekali pada pagi hari sebelum kambing mendapatkan pakan pagi. Masing-masing kambing penelitian diambil darahnya melalui *vena jugularis* sebanyak 5 ml kemudian ditampung dalam tabung (*vacuum tube*) tanpa *Ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) (PT. Jayamas Medica Industri, Sidoarjo, Indonesia), kemudian disentrifus 3000 RPM selama 15 menit untuk mendapatkan serum; selanjutnya disimpan pada suhu -20°C sampai dilakukan analisis hormon prolaktin.

Analisis hormon prolaktin

Pemeriksaan kadar prolaktin menggunakan *Prolaction ELISA Kit* (Wuhan Fine Biotech Co. Ltd, China). Prosedur pengerjaan pengujian hormon mengikuti cara kerja yang tertulis dalam prosedur manual kit. Kit yang digunakan mempunyai sensitivitas $<18,75$ IU/ml dengan koefisien variasi *intra assay* 1,62%-5,36 % dan *inter assay* 6,3% - 9,68%. Kadar prolaktin standar yang digunakan adalah 31,25 sampai 2000 IU/ml. Sumuran dibaca dengan ELISA *reader* dengan panjang gelombang 450 nm. Hasil perolehan data yang berupa *optical density* (OD) diinterpolasikan secara komputerisasi dengan menggunakan rumus umum: $y = -a \ln(x) + b$.

Analisis statistika

Hormon prolaktin yang diperoleh dari masing-masing kambing dianalisis dengan prosedur *General Linear Model* (GLM). Analisis dilanjutkan dengan uji jarak berganda *Duncan* (*Duncan's Multiple Range Test / DMRT*) untuk menentukan perbedaan konsentrasi prolaktin masing-masing kambing dan interaksinya dengan status fisiologi. Signifikansi ditentukan pada $p < 0,05$.

Hasil dan Pembahasan

Konsentrasi hormon prolaktin berdasarkan ras kambing

Tabel 1 menyajikan variasi konsentrasi prolaktin kambing Peranakan Ettawa, Sapera dan Saanen. Berdasarkan perbedaan ras kambing,

maka rata-rata konsentrasi hormon prolaktin kambing Saanen lebih tinggi dibandingkan kambing Sapera dan Peranakan Ettawa. Hasil penelitian ini sesuai dengan laporan Praharani *et al.* (2015). Hasil ini juga dikuatkan oleh Lacasse *et al.* (2011) dan Forsyth & Wallis (2002) bahwa konsentrasi prolaktin dipengaruhi oleh ras. Variasi konsentrasi prolaktin pada kambing Angora di Belanda dilaporkan dipengaruhi oleh fotoperiode dan temperatur lingkungan (Pehlivan *et al.*, 2018).

Berkaitan dengan fungsi hormon prolaktin, tingginya prolaktin pada kambing Saanen dibandingkan kambing Sapera dan Peranakan Ettawa menunjukkan kelebihan kambing Saanen dalam parameter laktasi dan produksi susu (Misztal *et al.*, 2018). Prolaktin dilaporkan memiliki peran penting dalam mengontrol laktasi (Lacasse & Ollier, 2014), perkembangan *gladula mammae* (Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005), menstimulasi sintesis kasein susu dan lipid susu (Choi *et al.*, 1988; Goodman *et al.*, 1983), dan menstimulasi proliferasi epitel sel *mammae* (Boutinaud *et al.*, 2012; Olazabal *et al.*, 2000), serta sebagai hormon galaktopoitik (Lollivier *et al.*, 2015).

Tabel 1. Perbandingan konsentrasi prolaktin antara kambing Peranakan Ettawa, Sapera dan Saanen

Ras kambing	Konsentrasi prolaktin (IU/ml)
Peranakan Ettawa (n=26)	316,38 ± 254,29 ^b
Sapera (n=32)	311,72 ± 199,27 ^b
Saanen (n=21)	588,06 ± 440,28 ^a

^{a,b} Superskrip yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan signifikan ($P < 0,05$)

Konsentrasi hormon prolaktin berdasarkan status fisiologi

Berdasarkan status fisiologi, kambing bunting cenderung lebih tinggi meskipun tidak signifikan ($p > 0,05$) dibandingkan kambing laktasi betina dewasa dan dara (Tabel 2). Status fisiologi berefek pada konsentrasi prolaktin pernah dilaporkan oleh Forsyth (1986) bahwa prolaktin meningkat pada akhir kebuntingan ternak. Prolaktin dilaporkan nilainya rendah pada sapi pada masa kering (Crawford *et al.*, 2015).

Tabel 2. Konsentrasi prolaktin berdasarkan variasi status laktasi, betina dewasa, bunting dan dara

Status fisiologi	konsentrasi prolaktin (IU/ml)
Bunting (n=24)	436,08±422,73
Laktasi (n=21)	421,78±244,26
Betina dewasa (n=16)	419,18±220,93
Dara (n=18)	336,60±251,41

Interaksi antara ras dan status fisiologi (Tabel 3) menunjukkan bahwa kambing bunting Saanen memiliki rata-rata prolaktin lebih tinggi dibandingkan kambing Sapera bunting ($p < 0,05$), tetapi tidak berbeda dengan kambing Peranakan Ettawa bunting ($p > 0,05$). Tingginya prolaktin pada kambing bunting Saanen demikian juga pada kambing Peranakan Ettawa dibandingkan kambing Sapera menunjukkan tingginya sintesis susu pada kambing Saanen dan Peranakan Ettawa (Akers *et al.*, 1981). Konsentrasi maksimal prolaktin ini tetap sampai menjelang partus dan mulai menurun pada saat laktasi dan berada pada nilai rendah pada masa kering (Crawford *et al.*, 2015). Konsentrasi prolaktin yang tinggi pada kambing bunting dibutuhkan dalam memicu pertumbuhan *glandula mammae* (Gow *et al.*, 1983), memicu munculnya perilaku kebuan pada kambing dengan mengaktifkan “neural circuit” yang diperlukan untuk ekspresi perilaku kepengasuhan selama laktasi (Sairenji *et al.* 2017). Stimulasi sebelum pemerahan dan frekuensi pemerahan dilaporkan mampu meningkatkan pelepasan prolaktin pada sapi serta kecepatan pengisian kembali kelenjar susu (Lacasse & Ollier, 2014). Pada kambing Saanen di Belanda dilaporkan bahwa prolaktin meningkat pada saat bunting pada musim panas (Kornalijnslijper *et al.*, 1997), sebaliknya Gebbie *et al.* (1999) melaporkan prolaktin meningkat

ditemukan pada kambing betina tidak bunting pada musim panas dan konsentrasi prolaktin rendah pada musim dingin.

Kesimpulan

Konsentrasi prolaktin berdasarkan ras kambing ditemukan paling tinggi pada Saanen dibandingkan kambing Peranakan Ettawa dan kambing Sapera. Berdasarkan status fisiologi, konsentrasi prolaktin yang tinggi ditemukan pada kambing bunting Saanen dan Peranakan Ettawa dibandingkan kambing Sapera bunting. Disimpulkan bahwa konsentrasi prolaktin dipengaruhi oleh jenis ras dan status fisiologi kambing.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Tinggi Melalui Hibah Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 2021 dengan nomor kontrak 6494/UN1/DITLIT/DIT-LIT/PT/2021.

Daftar Pustaka

- Abdel-Aziem, S. H., Mahrous, K. F., Abd El-Hafez, M. A. M., & Abdel Mordy, M. (2018). Genetic variability of myostatin and prolactin genes in popular goat breeds in Egypt. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16 (1): 89–97.
<https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.10.005>
- Akers, M. R., Bauman, D. E., Goodman, G. T., Capuco, A. V., & Tucker, H. A. (1981). Prolactin regulation of cytological differentiation of mammary epithelial cells in periparturient cows. *Endocrinology*, 109(1): 31–40.
<https://doi.org/10.1210/endo-109-1-31>

Tabel 3. Konsentrasi prolaktin pada kambing Peranakan Ettawa, Sapera dan Saanen laktasi, betina dewasa, bunting dan dara

Ras kambing	Konsentrasi prolaktin (IU/mL)			
	laktasi	betina dewasa	bunting	dara
Peranakan Ettawa (n=26)	406,27±344,75 ^{a,b} (n=8)	350,23±267,62 ^{a,b} (n=6)	505,94±267,62 ^{a,b} (n=6)	270,10±233,57 ^b (n=6)
Sapera (n=32)	347,20±116,20 ^{a,b} (n=8)	391,78±214,97 ^{a,b} (n=6)	268,35±236,19 ^b (n=12)	230,42±159,76 ^b (n=6) ^b
Saanen (n=21)	565,93±170,61 ^{a,b} (n=5)	563,50±94,28 ^{a,b} (n=4)	701,69±633,05 ^a (n=6)	509,26±283,23 ^{a,b} (n=6)

^{a,b} Superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

- Boutinaud, M., Lollivier, V., Finot, L., Bruckmaier, R. M., & Lacasse, P. (2012). Mammary cell activity and turnover in dairy cows treated with the prolactin-release inhibitor quinagolide and milked once daily. *Journal of Dairy Science*, 95(1): 177–187. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4461>
- Choi, Y. J., Keller, W. L., Berg, I. E., Park, C. S., & Mackinlay, A. G. (1988). Casein gene expression in bovine mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 71(11): 2898–2903. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(88\)79887-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79887-2)
- Crawford, H., Morin, D., Wall, E., McFadden, T., & Dahl, G. (2015). Evidence for a role of prolactin in mediating effects of photoperiod during the dry period. *Animals*, 5(3): 803–820. <https://doi.org/10.3390/ani5030385>
- Flint, D. J., & Knight, C. H. (1997). Interactions of prolactin and growth hormone (GH) in the regulation of mammary gland function and epithelial cell survival. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 2(1): 41–48. <https://doi.org/10.1023/A:1026321529451>
- Forsyth, I. A. (1986). Variation among species in the endocrine control of mammary growth and function: the roles of prolactin, growth hormone, and placental lactogen. *Journal of Dairy Science*, 69(3): 886–903. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80479-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80479-9)
- Forsyth, I. A., & Wallis, M. (2002). Growth hormone and prolactin—molecular and functional evolution. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 7(3): 291–312. <https://doi.org/10.1023/A:1022804817104>
- Gebbie, F. E., Forsyth, I. A., & Arendt, J. (1999). Effects of maintaining solstice light and temperature on reproductive activity, coat growth, plasma prolactin and melatonin in goats. *Reproduction*, 116(1): 25–33. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1160025>
- Goodman, G. T., Michael Akers, R., Friderici, K. H., & Allen Tucker, H. (1983). Hormonal regulation of α -Lactalbumin secretion from bovine mammary tissue cultured in vitro. *Endocrinology*, 112(4): 1324–1330. <https://doi.org/10.1210/endo-112-4-1324>
- Gow, C., McDowell, G., & Jenkin, G. (1983). The Importance of prolactin for initiation of lactation in the pregnant ewe. *Australian Journal of Biological Sciences*, 36(4), 357. <https://doi.org/10.1071/BI9830357>
- Hooley, R. D., Campbell, J. J., & Findlay, J. K. (1978). The importance of prolactin for lactation in the ewe. *Journal of Endocrinology*, 79(3): 301–310. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0790301>
- Johxe T., Fuse H., & Oshima M. (1971). Changes of plasma prolactin level during late pregnancy and early lactation in the goat and the cow. *Nihon Chikusan Gakkaiho*, 42(4): 173–179. <https://doi.org/10.2508/chikusan.42.173>
- Kalyesubula, M., Casey, T. M., Reicher, N., Sabastian, C., Wein, Y., Bar Shira, E., Hoang, N., George, U. Z., Shamay, A., Plaut, K., & Mabeesh, S. J. (2021). Physiological state and photoperiod exposures differentially influence circadian rhythms of body temperature and prolactin and relate to changes in mammary PER1 expression in late pregnant and early lactation dairy goats. *Small Ruminant Research*, 200: 106394. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106394>
- Kornalijnslijper, J. E., Kemp, B., Bevers, M. M., van Oord, H. A., & Taverne, M. A. M. (1997). Plasma prolactin, growth hormone and progesterone concentrations in pseudopregnant, hysterectomized and pregnant goats. *Animal Reproduction Science*, 49(2–3): 169–178. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(97\)00077-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(97)00077-8)
- Lacasse, P., Lollivier, V., Bruckmaier, R. M., Boisclair, Y. R., Wagner, G. F., & Boutinaud, M. (2011). Effect of the prolactin-release inhibitor quinagolide on lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94(3): 1302–1309. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3649>

- Lacasse, P., & Ollier, S. (2014). Effect of premilking stimulation and milking frequency on milking-induced prolactin release in lactating dairy cows. *Domestic Animal Endocrinology*, 47: 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2013.11.007>
- Lollivier, V., Lacasse, P., Angulo Arizala, J., Lambertson, P., Wiart, S., Portanguen, J., Bruckmaier, R., & Boutinaud, M. (2015). In vivo inhibition followed by exogenous supplementation demonstrates galactopoietic effects of prolactin on mammary tissue and milk production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(12): 8775–8787. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9853>
- Mikolayunas, C. M., Thomas, D. L., Dahl, G. E., Gressley, T. F., & Berger, Y. M. (2008). Effect of prepartum photoperiod on milk production and prolactin concentration of dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 91(1): 85–90. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0586>
- Misztal, T., Molik, E., Nowakowski, M., & Marciniak, E. (2018). Milk yield, lactation parameters and prolactin secretion characteristics in sheep treated with melatonin implants during pregnancy and lactation in long-day conditions. *Livestock Science*, 218: 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.10.018>
- Olazabal, I., Muñoz, J., Ogueta, S., Obregón, E., & García-Ruiz, J. P. (2000). Prolactin (PRL)-PRL receptor system increases cell proliferation involving JNK (c-Jun Amino Terminal Kinase) and AP-1 activation: inhibition by glucocorticoids. *Molecular Endocrinology*, 14(4): 564–575. <https://doi.org/10.1210/mend.14.4.0442>
- Pehlivan, E., Polat, H., & Dellal, G. (2018). Annual change of prolactin and growth hormone in Angora goats. *Biological Rhythm Research*, 1–8. <https://doi.org/10.1080/09291016.2018.1429551>
- Praharani, L., Supryati, & Krisnan, R. (2015). Milk Quality of Anglo Nubian X Etawah Grade Goats and Saanen X Etawah Grade Goats at First Kidding Period. *The 6th International Seminar on Tropical Animal Production Integrated Approach in Developing Sustainable Tropical Animal Production*, Yogyakarta: October 20-22, 2015, pp. 401-405
- Sairenji, T. J., Ikezawa, J., Kaneko, R., Masuda, S., Uchida, K., Takanashi, Y., Masuda, H., Sairenji, T., Amano, I., Takatsuru, Y., Sayama, K., Haglund, K., Dikic, I., Koibuchi, N., & Shimokawa, N. (2017). Maternal prolactin during late pregnancy is important in generating nurturing behavior in the offspring. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(49): 13042–13047. <https://doi.org/10.1073/pnas.1621196114>
- Svennersten-Sjaunja, K., & Olsson, K. (2005). Endocrinology of milk production. *Domestic Animal Endocrinology*, 29(2): 241–258. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.03.006>
- Zhang, L., Duan, C., Guo, Y., Zhang, Y., & Liu, Y. (2021). Inhibition of prolactin promotes secondary skin follicle activation in cashmere goats. *Journal of Animal Science*, 99(4): skab079. <https://doi.org/10.1093/jas/skab079>

Aktivitas Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) pada Mencit Parkinson yang Diinduksi Haloperidol

Activity of Turmeric Rhizome Extract (Curcuma longa L) in Haloperidol-Induced Parkinson's Mice

Sapto Yuliani*, Moch. Saiful Bachri, Wahyu Widyaningsih Vivi Sofia, Dandy Annas Muttaqien, Galuh Rista Putri, Nadia Selvia, Sofina Rahmadita, Intan Dwi Rahmita

Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta,
Jalan Prof. Dr. Soepomo, S.H. Janturan Yogyakarta 55164

*Email: sapto.yuliani@pharm.uad.ac.id

Diterima: 4 Januari 2022, direvisi: 20 Oktober 2022, disetujui: 30 November 2022

Abstract

Parkinson's disease is a neurodegenerative disease with motor disorders such as bradykinesia, rigidity, and tremors that can affect body balance. This happens because of a decrease in dopamine levels that can be triggered by oxidative stress. Turmeric (*Curcuma longa*) contains curcumin which has potential antioxidative and neuroprotective activity so that it can prevent neurodegenerative disorders due to oxidative stress. The purpose of this study was to determine the activity of turmeric rhizome extract in haloperidol-induced Parkinson's model mice. Extraction of turmeric rhizome was carried out by maceration with 96% ethanol as solvent. A total of 60 mice were divided into 6 groups, each of which was treated as follows: The normal group was given CMC-Na orally (po) and 0.9% NaCl intraperitoneally (ip), the haloperidol group was given CMC-Na (po) and haloperidol solution ip (1 mg/kg BW), the levodopa group was given levodopa (po) and haloperidol solution, the extract groups were given turmeric extract at a dose of 100, 200 and 400 mg/kg BW and haloperidol ip. The treatments were given for 21 days. Fifteen minutes after the last day of treatment, all mice except group 1 were injected with haloperidol at a dose of 1 mg/kg BW by i.p. Then the rod test, spinning wheel test, geotactic reflex test, cliff avoidance reflex test and olfactory ability test were carried out at minutes 5, 60, 120 and 180. The data obtained were analyzed using a one-way ANOVA test followed by a post hoc LSD test. The results of data analysis showed that the administration of haloperidol could increase the catalepsy time, increase the number of falls and accelerate the first fall time, decrease the geotactic reflex, increase the avoidance reflex time and decrease the sense of smell. While the administration of turmeric extract doses of 200 and 400 mg/kgBW can reduce catalepsy time, reduce the number of falls and prolong the time of first falling, reduce geotactic reflexes, decrease the length of time on the avoidance reflex test and improve the ability of the sense of smell when compared to Haloperidol ($P < 0.05$). The administration of 200 and 400 mg/kg extracts was not significantly different ($P > 0.05$) with levodopa administration. Based on the results, it can be concluded that turmeric rhizome extract doses of 200 and 400 mg/kgBW have activity to prevent Parkinson's in mice given haloperidol.

Key words : *Curcuma longa* L; Haloperidol; Parkinson

Abstrak

Penyakit Parkinson merupakan penyakit neurodegeneratif dengan gangguan motorik seperti bradikinesia, rigiditas, dan tremor yang dapat mempengaruhi keseimbangan tubuh. Hal ini terjadi karena penurunan kadar dopamin yang dapat dipicu oleh adanya stres oksidatif. Kunyit (*Curcuma longa*) mengandung kurkumin yang mempunyai aktivitas antioksidatif dan neuroprotektif yang potensial sehingga dapat mencegah gangguan neurodegeneratif karena stres oksidatif. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak

rimpang kunyit pada mencit model Parkinson yang diinduksi haloperidol. Ekstraksi rimpang kunyit dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol 96%. Sebanyak 60 ekor mencit dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing mendapat perlakuan sebagai berikut : Kelompok normal diberi CMC-Na per oral (p.o) dan NaCl fisiologis intraperitoneal (i.p), kelompok haloperidol diberi CMC -Na (p.o) dan larutan haloperidol i.p (1 mg/kg BB), kelompok levodopa diberi levodopa (p.o) dan larutan haloperidol i.p, Kelompok ekstrak 100 diberi ekstrak kunyit dosis 100 mg/kg BB dan larutan haloperidol i.p , Kelompok ekstrak 200 diberi ekstrak kunyit dosis 200 mg/kg BB dan larutan haloperidol i.p, Kelompok ekstrak 400 diberi ekstrak kunyit dosis 400 mg/kg BB dan larutan haloperidol i.p. Pemberian CMC-Na, levodopa dan ekstrak kunyit diberikan selama 21 hari. Lima belas menit setelah pemberian perlakuan hari terakhir, semua hewan uji kecuali kelompok 1 diinjeksi haloperidol dosis 1 mg/kg BB secara i.p. Kemudian dilakukan uji batang, uji roda berputar, uji refleks geotaksis, uji refleks menghindari jurang dan uji kemampuan penciuman pada menit ke 5, 60, 120 dan 180. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji anova satu jalur dilanjutkan dengan uji *post hoc* LSD. Hasil analisis data menunjukkan bahwa pemberian haloperidol dapat meningkatkan waktu katalepsi, meningkatkan jumlah jatuh dan mempercepat waktu jatuh pertama kali, menurunkan refleks geotaksis, meningkatkan waktu refleks menghindari jurang serta menurunkan kemampuan indera penciuman. Sedangkan pemberian ekstrak kunyit dosis 200 dan 400 mg/kg BB dapat menurunkan waktu katalepsi, menurunkan jumlah jatuh dan memperlama waktu jatuh pertama kali, menurunkan refleks geotaksis, menurunkan lama waktu pada uji refleks menghindari jurang serta meningkatkan kemampuan indera penciuman jika dibandingkan dengan Haloperidol ($P < 0.05$). Pemberian ekstrak 200 dan 400 mg/kg tidak berbeda bermakna ($P > 0,05$) dengan pemberian levodopa. Berdasarkan hasil dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang kunyit dosis 200 dan 400 mg/kg BB memiliki aktivitas untuk mencegah terjadinya Parkinson pada mencit yang diberi haloperidol.

Kata kunci: *Curcuma longa* L; Haloperidol; Parkinson;

Pendahuluan

Penyakit Parkinson merupakan penyakit neurodegeneratif dengan gangguan motorik seperti bradikinesia, katalepsi (kekakuan otot) dan tremor yang dapat mempengaruhi keseimbangan tubuh. Penyakit Parkinson menempati urutan ke 2 sebagai penyakit neurodegeneratif yang paling banyak setelah demensia Alzheimer. Penyakit Parkinson terjadi karena adanya adanya degenerasi sel-sel saraf pusat di bagian ganglia basal dan juga hilangnya sel-sel saraf tertentu di substansia nigra bagian batang otak. Sel sel tersebut menghasilkan neurokimia dopamin yang berkontribusi untuk koordinasi gerakan normal. Penurunan kadar dopamin, menyebabkan reseptor dopamin di bagian striatum tidak cukup dirangsang, sehingga mengakibatkan gangguan gerakan berupa tremor, kelambatan, kekakuan dan gangguan keseimbangan (Golbe *et al.*, 2001). Kerusakan sel saraf dopaminergik dapat dipicu oleh penuaan dan adanya stres oksidatif (Hwang, 2013). Stres oksidatif berkontribusi pada kaskade yang menyebabkan degenerasi sel-sel dopamin otak (Golbe *et al.*, 2001).

Selama ini obat yang diberikan untuk penyakit Parkinson meliputi obat-obatan oral un-

tuk memperbaiki gejala motorik seperti L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA), agonis reseptor dopamin dan pada kasus tertentu digunakan apomorfine (Gunawan *et al.*, 2017; Guttman *et al.*, 2003). Namun demikian penggunaan jangka panjang obat-obat tersebut dapat menimbulkan efek samping seperti hipotensi, dyskinesia, aritmia, gangguan gastrointestinal, serta gangguan pernafasan. Gangguan psikiatrik juga dapat muncul seperti ansietas, halusinasi pendengaran, dan gangguan tidur (Weintraub *et al.*, 2008; Brantigan *et al.*, 2007).

Kunyit (*Curcuma longa* L.), mengandung kurkumin, senyawa polifenol yang banyak terdapat pada rimpang kunyit, yang memiliki efek antioksidatif dan neuroprotektif yang potensial. Kurkumin memiliki karakter lipofilik yang tinggi sehingga mampu melewati *blood brain barrier*. Kajian *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan kurkumin dapat mencegah proses neurodegeneratif karena stres oksidatif (Schuckit, 2014). Selain itu di dalam rimpang kunyit juga mengandung senyawa turunan kurkumin yaitu demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin yang juga memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Setyowati *et al.*, 2014).

Haloperidol merupakan obat antipsikotik yang dapat memblokir dopamin pada reseptor pasca sinaptik neuron di otak, terutama di sistem limbik dan sistem ekstrapiramidal (Maslim, 2013). Penelitian Reinke (Reinke *et al.*, 2004) melaporkan bahwa haloperidol dapat menyebabkan kerusakan sel-sel di striatum dan hippocampus pada tikus. Haloperidol juga menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang ditunjukkan dengan meningkatkannya kadar MDA, oksida nitrat dan penurunan GSH di beberapa daerah otak (Mariapia *et al.*, 1999). Pemberian haloperidol pada hewan uji menunjukkan gejala katalepsi, ketidakseimbangan motor dan perlambatan gerakan, dengan demikian pemberian haloperidol pada hewan uji dapat digunakan untuk membuat model Parkinson. Tujuan khusus penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas neuroprotektif ekstrak kunyit pada pada mencit model Parkinson yang diinduksi haloperidol.

Materi dan Metode

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang kunyit yang diperoleh dari CV. Merapi Farma Yogyakarta, etanol 96% (Sigma Aldrich, USA), CMC-Na (Sigma), Haloperidol (PT. Mesifarma TM), Levodopa (PT. Meprofarm Bandung), Sodium Chloride 0,9%, (PT Widatra Bhakti), aquades, Kit dopamin (Elabscience, Cina), Formalin (PT Jatika Nusa, Jakarta), larutan Ammonia 25 % (Emsure)

Ekstraksi rimpang kunyit

Ekstraksi rimpang kunyit dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 50 g serbuk kunyit dilarutkan dengan 250 ml etanol 96%. Sebelum dilakukan maserasi selama 2 x 24 jam, larutan dibuat homogen menggunakan *shaker* selama 2 x 5 menit. Larutan kemudian disaring dengan kertas whatman no 42. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* hingga diperoleh larutan kental.

Uji aktivitas ekstrak kunyit sebagai Anti-Parkinson

Perlakuan hewan uji dalam penelitian ini sudah mendapat persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian UAD dengan No. **012106033**. Mencit, jantan, umur 2 bulan, berat 30-40g

dibagi menjadi 6 kelompok. Sebelum mendapat perlakuan, mencit diadaptasikan selama 7 hari dengan kondisi laboratorium pada suhu kamar (suhu 25-26 °C, kelembaban 50-60%) dan siklus paparan cahaya 12 jam terang dan gelap dengan mendapat pakan dan minum *ad libitum*. Mencit kemudian dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan masing-masing 6 ekor dengan perlakuan sebagai berikut:

- Normal : diberi CMC-Na per oral (p.o) dan NaCl fisiologis intraperitoneal (i.p),
- Haloperidol : diberi CMC -Na (p.o) dan larutan haloperidol i.p (1 mg/kg BB)
- Levodopa : diberi levodopa (p.o) dan larutan haloperidol i.p
- Ekstrak 100 : diberi ekstrak kunyit dosis 100 mg/kg BB dan larutan haloperidol i.p
- Ekstrak 200 : diberi ekstrak kunyit dosis 200 mg/kg BB dan larutan haloperidol i.p
- Ekstrak 400 : diberi ekstrak kunyit dosis 400 mg/kg BB dan larutan haloperidol i.p

Pemberian CMC-Na, levodopa dan ekstrak kunyit diberikan selama 21 hari. Lima belas menit setelah pemberian perlakuan hari terakhir, semua hewan uji kecuali kelompok 1 diinjeksi haloperidol dosis 1 mg/kg BB secara i.p. Kemudian dilakukan uji batang, uji roda berputar, uji refleks geotaksis negatif, uji refleks menghindari jurang pada menit ke 5, 60, 120 dan 180.

Uji Katalepsi

Mencit diletakkan dengan posisi kedua kaki depan diangkat dan beristirahat di batang kayu yang berdiameter 0,5 cm dan tinggi 15 cm di atas permukaan. Waktu mulai mencit diletakkan sampai kedua kaki depan telah berpindah posisi dari batang kayu atau jika posisi kepala hewan pindah dengan cara eksplorasi dicatat dan dianggap sebagai waktu latensi. Waktu yang digunakan untuk pengukuran katalepsi maksimal 180 detik (Mohajjel *et al.*, 2010).

Uji Rotarod

Mencit diletakkan pada batang *rotarod* yang berputar dengan kecepatan 11 rotasi per

menit (rpm) selama 3 menit. Waktu selama tikus bertahan di batang *rotarod* dan jumlah jatuh mencit di alat uji *rotarod* dicatat

Refleks Geotaksis Negatif

Mencit diletakkan pada tempat dengan sudut kemiringan 45°. Kemudian diamati reaksi mencit dan dicocokkan dengan skor (Grabow, 2001) :

Skor 0 : Mencit tidak dapat menahan berat tubuhnya dan menukik turun ke bagian dasar tempat miring

Skor 1 : Mencit diam saja di posisinya

Skor 2 : Mencit berhasil menahan berat tubuhnya dan memutar posisi tubuhnya

Kemampuan Penciuman

Mencit digenggam supaya diam, lalu hidungnya didekatkan ke *cotton bud* yang telah dicelupkan ke dalam amonia. Kemudian diamati reaksi mencit dan dicocokkan dengan skor:

Skor 0 : Mencit tidak menghindari ketika *cotton bud* didekatkan

Skor 1 : Mencit menghindari ketika *cotton bud* didekatkan tetapi refleksnya lama

Skor 2 : Mencit menghindari ketika *cotton bud* didekatkan dengan refleks normal atau tersentak

Data berupa skor dihitung persentase dengan rumus: $\frac{\bar{x}}{2} \times 100\%$

Keterangan : \bar{x} = Rata-rata skor pada waktu ke-n

Refleks Menghindari Jurang

Disiapkan meja dengan ketinggian tertentu, kemudian mencit diletakkan dengan posisi ujung jari kaki, depan dan mulut sejajar dengan tepi meja. Mencit ditahan sebentar kemudian lepas, dan dicatat waktu yang diperlukan mencit untuk menaiki tepi meja.

Analisis Data

Data kemampuan motorik dan sensorik di analisis statistik uji normalitas dengan Shapiro Wilk dilanjutkan uji One Way Anova kemudian dilakukan perbandingan antar kelompok pada tiap waktu dengan uji LSD. Analisis data dilakukan dengan program SPSS. Signifikansi hasil ditetapkan jika $p < 0.05$.

Hasil dan Pembahasan

Parkinson adalah penyakit neurodegeneratif dengan gangguan motorik seperti bradikinesia, kekakuan otot (katalepsi) dan tremor yang dapat mempengaruhi keseimbangan tubuh. Penyakit Parkinson menempati urutan ke 2 penyakit neurodegeneratif setelah penyakit Alzheimer. Penyakit ini pertama kali dilaporkan sebagai *shaking palsy* oleh James Parkinson tahun 1817. Berkurangnya neuron dopaminergik terutama di substansia nigra menjadi penyebab dari penyakit Parkinson (Yang, 2016).

Pada penelitian ini uji katalepsi dilakukan untuk mengetahui adanya gejala kekakuan pada mencit setelah pemberian haloperidol. Kekakuan pada mencit ditunjukkan dengan kehilangan refleks gerak badan sehingga menyebabkan waktu yang lebih lama menggunakan dua kaki depannya pada batang.

Tabel 1 menunjukkan bahwa pemberian Haloperidol meningkatkan waktu lama katalepsi secara signifikan ($p < 0.05$) di tiap waktu pengamatan jika dibandingkan dengan kelompok Normal. Peningkatan paling tinggi terjadi pada menit ke 120. Pemberian ekstrak dosis 100, 200 dan 400 mg/kg BB kunyit menunjukkan penurunan lama katalepsi pada menit ke 120 dibandingkan dengan kelompok haloperidol. Sedangkan pemberian levodopa menunjukkan penurunan lama katalepsi yang tidak berbeda

Tabel 1. Hasil pengamatan lama katalepsi (\pm SD) mencit pada uji batang (detik)

Menit ke-	Kelompok					
	Normal	Haloperidol	Levodopa	Ekstrak 100	Ekstrak 200	Ekstrak 400
5	1.50 \pm 0.54	9.50 \pm 1.04*	5.83 \pm 0.75	7.83 \pm 2.23#	5.83 \pm 2.23#	11.83 \pm 4.66#
60	2.33 \pm 0.51	13.00 \pm 1.26*	5.5 \pm 0.83	8.83 \pm 3.43 #	7.00 \pm 1.89#	8.33 \pm 1.36#
120	2.00 \pm 0.89	15.67 \pm 1.36*	8.16 \pm 1.47	11.67 \pm 1.47#	9.00 \pm 1.26#	9.16 \pm 2.31#
180	1.5 \pm 0.54	10.67 \pm 1.21*	8.33 \pm 1.36	8.5 \pm 1.64#	9.33 \pm 1.36#	7.83 \pm 0.98#

* $p < 0.05$ = berbeda signifikan dengan kelompok normal

$p < 0.05$ = berbeda signifikan dengan haloperidol

signifikan dengan pemberian kunyit dosis 200 mg/kg BB.

Tabel 2 menunjukkan pemberian haloperidol mempercepat waktu jatuh yang berbeda secara signifikan ($p < 0.05$) dengan kelompok normal. Pemberian ekstrak dosis 100, 200 dan 400 mg/kg BB kunyit memperlama waktu jatuh dan tidak berbeda signifikan dengan kelompok levodopa.

Mencit yang memiliki koordinasi motorik dan keseimbangan yang baik akan mampu bertahan lebih lama pada batang rotarod. Tabel 3 menunjukkan bahwa pemberian Haloperidol meningkatkan jumlah jatuh mencit dari batang

rotarod. Sedangkan pemberian kunyit dosis 200 dan 400 mg/kg BB mampu menurunkan jumlah jatuh mencit di batang rotarod pada menit ke 120 dan 180 yang tidak berbeda signifikan dengan dengan pemberian levodopa.

Geotaksis adalah jenis taksis yang disebabkan oleh adanya stimulus berupa gaya gravitasi bumi. Tabel 4 menunjukkan bahwa pemberian Haloperidol menurunkan refleksi geotaksis secara signifikan ($p < 0.05$) di tiap waktu pengamatan jika dibandingkan dengan kelompok Normal. Peningkatan paling tinggi terjadi pada menit ke 120. Pemberian ekstrak dosis 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB dapat

Tabel 2. Hasil uji waktu jatuh pertama kali

Menit ke-	Jatuh Pertama kali Detik ke-					
	Normal	Haloperidol	Levodopa	Ekstrak 100	Ekstrak 200	Ekstrak 400
5	13,66±6,59	2,66±0,51*	11,66±7,25	11,66±2,06 [#]	8,50±1,04 [#]	9,66±4,13 [#]
60	12,66±7,42	2,50±0,83*	9,16±5,63	8,660±1,86 [#]	11,50±3,01 [#]	10,83±1,32 [#]
120	20,00±9,85	3,66±0,81*	14,50±5,24	13,16±2,31 ^{#*}	13,83±3,48 [#]	12,16±4,21 [#]
180	16,50±7,66	3,00±1,26*	12,50±5,00	9,00±1,26 ^{#*}	11,16±4,11 [#]	12,00±4,64 [#]

* $p < 0.05$ = berbeda signifikan dengan kelompok normal

[#] $p < 0.05$ =berbeda signifikan dengan haloperidol

Tabel 3. Jumlah jatuh mencit mencit pada uji rotarod

Menit ke-	Jumlah jatuh					
	Normal	haloperidol	Levodopa	Ekstrak 100	Ekstrak 200	Ekstrak 400
5	9,33±6,02	19,66±2,73*	16,66±2,16 [#]	16,16±2,92 [#]	15,70±3,77 [#]	14,77±3,45 [#]
60	8,50±3,39	17,50±2,42*	15,83±5,07 [#]	14,66±3,14 [#]	14,50±2,07 [#]	13,33±2,73 [#]
120	8,16±2,85	17,83±1,83*	10,33±2,06 [#]	14,33±1,86 ^{#*}	9,66±1,50 [#]	8,66±1,63 [#]
180	9,83±3,65	19,00±2,68*	11,83±3,43 [#]	15,00±3,57	10,00±3,03 [#]	9,83±3,06 [#]

* $p < 0.05$ = berbeda signifikan dengan kelompok normal

[#] $p < 0.05$ =berbeda signifikan dengan haloperidol

Tabel 4. Hasil *scoring* uji refleksi geotaksis dan menghindari jurang

	Menit ke-	Scoring					
		Normal	Haloperidol	Levodopa	Ekstrak 100	Ekstrak 200	Ekstrak 400
Refleks geotaksis	5	2,00 ±0,00	1,00±0,00*	1,66±0,51	1,50±0,54	1,66±0,51	1,83±0,40
	60	2,00 ±0,00 [#]	1,00±0,00*	1,16±0,48*	1,00±0,63*	1,00±0,00*	1,00±0,00*
	120	2,00 ±0,00 [#]	0,50±0,54*	0,83±0,40*	0,83±0,40*	1,00±0,00* [#]	1,16±0,40* [#]
	180	2,00 ±0,00 [#]	0,50±0,54*	0,83±0,40*	0,83±0,40*	1,33±0,51*	1,50±0,54
Menghindari jurang	5	6,16±1,16 [#]	80,16±29,64*	28,83±8,70 [#]	35,00±17,83 [#]	15,50±2,66 [#]	43,50±3,68 [#]
	60	9,50±2,42 [#]	97,66±14,13*	25,66±9,99 [#]	40,50±16,42 [#]	26,83±7,30 [#]	21,16±6,27 [#]
	120	8,33±3,26 [#]	119,00±11,74*	35,66±12,20 [#]	75,83±7,70 [#]	35,16±8,68 [#]	27,00±6,13 [#]
	180	12,26±2,16 [#]	107,50±5,12*	15,83±4,21 [#]	57,50±7,34 [#]	28,00±10,77*	13,33±4,67*

* $p < 0.05$ = berbeda signifikan dengan kelompok normal

[#] $p < 0.05$ =berbeda signifikan dengan haloperidol

mengembalikan refleks geotaksis pada waktu 180 menit. Pemberian ekstrak 200 dan 400 mg/kg BB memiliki efek yang tidak berbeda signifikan dengan levodopa. Pemberian Haloperidol juga meningkatkan waktu lama refleks menghindari jurang secara signifikan ($p < 0.05$) di tiap waktu pengamatan. Pemberian ekstrak dosis 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB dapat menurunkan waktu lama pada uji refleks menghindari jurang pada waktu 180 menit dan tidak berbeda signifikan dengan levodopa ($P > 0.05$)

Pada Tabel 5 menunjukkan bahwa pemberian Haloperidol menurunkan indra penciuman secara signifikan ($p < 0.05$) di waktu 120 dan 180 menit pengamatan jika dibandingkan dengan kelompok Normal. Penurunan paling tinggi terjadi pada menit ke 180. Pemberian ekstrak dosis 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB dapat meningkatkan indra penciuman pada mencit yang mengalami penurunan indra penciuman. Pemberian ekstrak dosis 200 mg/kg BB, dan 400 mg/kg BB pada waktu 180 menit menunjukkan nilai signifikansi yang tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) dengan kelompok Normal.

Pemberian haloperidol dalam penelitian ini menyebabkan penurunan fungsi motorik dan sensorik. Haloperidol adalah generasi pertama (antipsikotik tipikal) yang memberikan aksi antipsikotiknya dengan memblokir reseptor dopamin D2 di otak, khususnya di mesolimbik dopamin *pathways* (Umasangadji, 2018). Ketika 72% reseptor dopamin diblokir, obat ini mencapai efek maksimalnya. Haloperidol tidak selektif untuk reseptor D2. Ia juga memiliki tindakan penghambatan noradrenergik, kolinergik, dan histaminergik. Pemblokiran reseptor ini dikaitkan dengan berbagai reaksi obat yang merugikan (Gao *et al.*, 2008). Obat antipsikotik tipikal seperti haloperidol memiliki korelasi dengan gejala ekstrapiramidal karena blokade jalur dopamin di otak (Chokhawala, 2021). Blokade jalur dopaminergik menyebabkan penurunan ATP dan energi yang signifikan dalam sel-sel di otak (Mariapia *et al.*, 1999). Efek tersebut menyebabkan kerusakan sel-sel saraf otak yang memproduksi dopamin maka kadar dopamin dalam otak tidak mencukupi sehingga dapat terjadi peningkatan waktu katalepsi, peningkatan jumlah jatuh dan mempercepat waktu jatuh pertama kali, penurunan

refleks geotaksis, peningkatan waktu refleks menghindari jurang, penurunan kemampuan indera penciuman, penurunan kadar dopamin serum serta perubahan gambaran mikroskopik otak pada substansia nigra pars kompakta. Haloperidol juga menyebabkan kerja korpus striatum berkurang karena adanya penurunan kadar dopamin sehingga terjadi ketidakseimbangan antara dopamin dan asetilkolin (Purnomo, 2011). Penurunan kadar dopamin akan mengakibatkan asetilkolin yang bersifat eksitatorik bertambah sehingga dapat menyebabkan tremor pada tangan saat istirahat, hipokinesia, kekakuan anggota tubuh dan keluar air liur berlebihan, akathisia, dystonia akut, dyskinesia tardive (Purnomo, 2011). Penyidikan Efek Samping Haloperidol dan Chlorpromazine: Studi Kasus pada Pasien Rawat Inap Rumah Sakit Jiwa Daerah Dr. Amino Gondohutomo Semarang Periode 2005. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 4(1): 4 – 9 (Susilowati, S. (2005).

Rimpang kunyit mengandung senyawa fenol alami berupa kurkumin. Seperti yang dilaporkan dalam beberapa penelitian *in vitro* dan *in vivo*, kurkumin memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antiapoptosis, dan potensi terapeutik pada gangguan neurodegeneratif. Kurkumin melindungi saraf dopaminergik dari kerusakan saraf akibat 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). Hal tersebut menyebabkan peningkatan dopamin dan tyrosin hidroxilase (TH), dengan menghambat protein *glial fibrillary acidic protein* (GFAP) dan ekspresi protein *inducible nitric oxide synthase* (iNOS). Kurkumin juga melindungi neuron dari kerusakan oksidatif dengan memulihkan potensi membran mitokondria, peningkatan regulasi Cu-Zn *superoxide dismutase* (SOD), dan menghambat produksi *reactive oxygen species* (ROS) intraseluler (Bhat *et al.*, 2021; Pratiwi *et al.*, 2021).

Kunyit juga melindungi saraf terhadap penuaan otak, kematian saraf, defisit perilaku, dan kerusakan sawar darah otak. Selain itu, kemanjurannya juga telah teruji pada gangguan neurodegeneratif seperti penyakit Parkinson (PD). Studi menunjukkan bahwa kurkumin memberikan fungsi antioksidan dan meningkatkan tingkat dopamin striatal dalam model tikus Par-

kinson (PD) (Pratiwi *et al.*, 2021). Selain itu, pengobatan kurkumin pada sel saraf dopaminergik dan model tikus cenderung mengurangi efek deplesi *glutathione* (GSH) sehingga memberikan perlindungan terhadap oksidasi protein. Kurkumin juga memelihara aktivitas mitokondria kompleks I dan memberikan perlindungan terhadap stres nitrosatif dan kerusakan mitokondria otak secara *in vitro*. Oleh karena itu, berdasarkan temuan di atas, terlihat jelas bahwa kunyit memberikan potensi yang sangat besar dan dapat menjadi kandidat obat yang potensial untuk studi klinis dalam penyakit Parkinson (PD) (Pratiwi *et al.*, 2021); Srivastav *et al.*, 2017). Efek antioksidan dari kurkumin dapat melewati sawar darah otak dan meningkatkan kadar dopamin striatal pada neuron SNpc (Pratiwi *et al.*, 2021; Carrera *et al.*, 2019).

Pada penelitian ini pemberian ekstrak rimpang kunyit dengan dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB memiliki efektivitas yang sama dengan levodopa dalam meningkatkan indera penciuman pada mencit yang memiliki efek samping Parkinson. Hal ini dikarenakan levodopa dapat memulihkan neurotransmisi dopaminergik pada korpus striatum dengan cara meningkatkan sintesis dopamin pada neuron yang masih bertahan di substansia nigra. Pada pasien yang masih berada di stadium awal penyakit, jumlah neuron dopaminergik yang tersisa dalam substansia nigra (biasanya sekitar 20% dari normal) sudah cukup untuk mengkonversikan levodopa menjadi dopamine (Harvey, 2013). Levodopa merupakan prekursor metabolik dopamin. Levodopa merupakan terapi farmakologi yang paling efektif untuk mengatasi gejala Parkinson, terutama *bradykinesia* dan *rigidity*. Levodopa di otak dikonversi melalui dekarboksilasi menjadi dopamin oleh *L-amino acid decarboxylase* (L-AAD). Dopamin hasil konversi tersebut kemudian disimpan di neuron presinaps sampai kemudian dirangsang untuk dilepaskan ke celah sinaps, kemudian akan berikatan dengan reseptor D1 dan D2. Aktivitas dopamin diakhiri dengan *reuptake* ke neuron presinaps melalui dopamin transporter atau dimetabolisme oleh *monoamine oxidase* (MAO) dengan *cathecol O-Methyltransferase* (COMT) (Bruton *et al.*, 2010). Dosis levodopa yang dapat menembus sawar darah otak kurang dari 1% dari

dosis awal karena adanya konversi oleh *L-amino acid decarboxylase* (L-AAD) di perifer. Oleh karena itu, levodopa dikombinasikan dengan L-AAD inhibitor (misal *carbidopa*), yang tidak dapat menembus sawar darah otak, sehingga jumlah levodopa yang masuk ke otak meningkat serta mengurangi efek samping dopamin (DA) di perifer, misal mual dan hipertensi (Hamidah, 2016).

Kesimpulan

Ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) dosis 200 dan 400 mg/kg BB mempunyai aktivitas mencegah terjadinya gejala penyakit Parkinson pada mencit yang diinduksi Haloperidol. Dan mempunyai aktivitas yang tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif Levodopa ($p > 0,05$).

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Ahmad Dahlan yang memberikan dana penelitian melalui Hibah Penelitian Dasar dengan Nomor: PD-093/SP3/LPPM-UAD/VI/2021

Daftar Pustaka

- Bhat, A., Mahalakshmi, A. M., Ray, B., Tuladhar, S., Hediya, T. A., Manthiannem, E., Sakharkar, M. K. (2021). Benefits of Curcumin in Brain Disorders. *BioFactors*, 1–24.
- Brantigan, J. W. (2007). Current Diagnosis & Treatment in Neurology. *Oxford University*, 61(3), 662–662.
- Bruton, L.L., Chabner, B.A., Knollman, B. (2010). Treatment of central nervous system degenerative disorder. In : Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics, Twelfth Edition. *The McGraw-Hill Companies, Inc.*
- Carrera, I., & Cacabelos, R. (2019). Current Drugs and Potential Future Neuroprotective Compounds for Parkinson's Disease. *Current Neuropharmacology*, 17, 295–306.
- Chokhawala K, S. L. (2021). *Antipsychotic Medications*. StatPearls Publishing; Treasure Island (FL).

- Gao K, Kemp DE, Ganocy SJ, Gajwani P, Xia G, C. J. (2008). Antipsychotic-induced extrapyramidal side effects in bipolar disorder and schizophrenia: a systematic review. *J Clin Psychopharmacol*, 28(2), 203.
- Golbe, L.I., Lazzarini, A.M., Sychala, J.R., Johnson, W.G. Stenroos, E.S., Mark, M.H., Sage, J. I. (2001). The Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 16(3), 442–447.
- Grabow, ST., D. P. (2001). Cervicomedullary Intrathecal Injection of Morphine Produces Antinociception in the Orofacial Formalin Test in the Rat. *Anesthesiology*, 95.
- Gunawan, G., Dalhar, M., & Kurniawan, S. N. (2017). Parkinson Dan Terapi Stem Sel. *Malang Neurology Journal*, 3(1), 39–46.
- Guttman, M., Kish, S. J., & Furukawa, Y. (2003). Current concepts in the diagnosis and management of Parkinson's disease. *Cmaj*, 168(3), 293–301.
- Hamidah, S. N. (2016). *Studi Penggunaan Antiparkinsonian Pada Pasien Parkinsonism*.
- Harvey, R. & C. (2013). *Farmakologi Ulasan Bergambar* (4th ed.). Kedokteran EGC.
- Hwang, O. (2013). Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. *Experimental Neurobiology*, 22(1), 11–17.
- Mariapia Vairetti, Fausto Feletti, Angelo Battaglia, Franco Pamparana, Pier Luigi Canonico, Plinio Richelmi, Francantonio Bertè. (1999). Haloperidol-induced changes in glutathione and energy metabolism: effect of nicergoline. *Elsevier Science B.V.*, 367(1), 67–72.
- Maslim, R. (2013). Diagnosis gangguan jiwa rujukan ringkas dari PPDGJ-III dan DSM-5. *Jakarta: PT Nuh Jaya*.
- Mohajjel Nayebi, A., & Sheidaei, H. (2010). Buspirone improves haloperidol-induced Parkinson disease in mice through 5-HT1A receptors. *Daru*, 18(1), 42–45.
- Pratiwi, I. N., Aligita, W., & Kaniawati, M. (2021). *A study of antioxidant potential from herbal plants and the effects on Parkinson ' s disease* Kajian potensi antioksidan dari tanaman herbal dan pengaruhnya terhadap penyakit Parkinson. 17(1).
- Purnomo, A. (2011). Konsep Penyakit Parkinson. *Manajemen Modern Dan Kesehatan Masyarakat*, 1–3.
- Reinke, A., Márcio Rodrigo Martins, Mauricio S. Lima, Jose Cláudio Moreira, Felipe Dal-Pizzol, João Quevedo. (2004). Haloperidol and clozapine, but not olanzapine, induces oxidative stress in rat brain. *Elsevier Ireland Ltd.*, 372(1–2), 157–160.
- Schuckit, M. A. (2014). Recognition and Management of Withdrawal Delirium (Delirium Tremens). *New England Journal of Medicine*, 371(22), 2109–2113.
- Setyowati, Astuti., Suryani, C. L. (2014). Peningkatan Kadar Kurkuminoid dan Aktivitas Antioksidan Minuman Instan Temulawak dan Kunyit. *AgriTECH*, 33(4), 363–370.
- Srivastav, S., Fatima, M., & Mondal, A. C. (2017). Important Medicinal Herbs in Parkinson's Disease Pharmacotherapy. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 92, 856–863.
- Susilowati, S. (2005). Penyidikan Efek Samping Haloperidol dan Chlorpromazine: Studi Kasus pada Pasien Rawat Inap Rumah Sakit Jiwa Daerah Dr. Amino Gondohutomo Semarang Periode 2005. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 4(1): 4 – 9
- Umasangadji, H. (2018). *Perbandingan Efektivitas Terapi Antara Haloperidol dan Olanzapin Terhadap Perbaikan Gejala Klinis Delirium*.
- Weintraub, Daniel MD; Cynthia L. Comella, MD, FAAN; and Stacy Horn, D., & Abstract. (2008). *Parkinson's Disease Part I: Burden, Diagnosis, and Assessment*. March, 40–48.
- Yang, yang., B. T. and J. G. (2016). Parkinson's disease and cognitive impairment. *Hindawi Publishing Corporation. Parkinson's Disease*, 2016.

Tepung Bekicot (*Achatina Fulica*) sebagai Pakan Tambahan untuk Meningkatkan Kualitas Semen Domba (*Ovis Aries*)

Snail Flour (Achatina Fulica) as Supplementary Feed to Improve Semen Quality of Rams (Ovis Aries)

Jayanti Berliana Dewi, Delvi Ramadayani, Marchellia Dhiafifah Wahyunandha,
Melati Kusuma Bunda Pratiwi, Sri Gustari*, Topas Wicaksono Priyo Jr.

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Indonesia

*Corresponding author, email: gustari_vet@ugm.ac.id

Diterima: 14 September 2021, direvisi: 5 April 2022, disetujui: 30 November 2022

Abstract

One of the effort to provide superior rams is to pay attention to the provision of feed that has good substances and is able to improve the quality of sperm. Based on studies, snail flour has a fairly high protein content and snails can be an alternative source of protein in additional feed. This study aims to improve the quality of sheep sperm using an additional feed of snail flour (*Achatina fulica*) which can increase the use value and economic value. Eight sheep used in this research were divided into one group as the control and two groups as the treatment. The control group was given standard sheep forage, while the treatment groups were given standard sheep forage added with flour snail of 5% and 10%. Sperm collection using castration method. Parameters observed were motility, viability, and concentration of sperms. The conclusion of the study that the addition of snail flour as additional feed for sheep affected sperm quality with a significant increase in concentration parameters, while motility and viability did not show a significant increase.

Key words: concentration; motility; sperma; viability

Abstrak

Salah satu upaya penyediaan bibit unggul adalah dengan memperhatikan pemberian pakan yang mempunyai zat gizi baik dan sanggup meningkatkan kualitas sperma. Berdasarkan studi tepung bekicot memiliki kadar protein yang cukup tinggi dan bekicot dapat berpotensi menjadi alternatif sumber protein pada pakan tambahan. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan kualitas sperma domba menggunakan pakan tambahan tepung bekicot (*Achatina fulica*) yang mampu meningkatkan nilai guna dan nilai ekonomis. Delapan ekor domba digunakan dalam penelitian ini, dibagi menjadi satu kelompok kontrol dan dua kelompok perlakuan. Kelompok kontrol diberi pakan domba standar, sedangkan kelompok perlakuan diberi pakan standar ditambah tepung bekicot 5% dan 10%. Koleksi sperma menggunakan metode kastrasi. Parameter yang diamati motilitas, viabilitas, dan konsentrasi sperma. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA. Hasil dari penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian tepung bekicot sebagai pakan tambahan pada domba mempengaruhi kualitas semen dengan peningkatan yang signifikan pada konsentrasi domba perlakuan tepung bekicot 10%, sedangkan motilitas dan viabilitas tidak menunjukkan peningkatan yang signifikan.

Kata kunci: konsentrasi; motilitas; sperma; viabilitas

Pendahuluan

Domba merupakan salah satu jenis hewan ternak yang banyak dimanfaatkan terutama dagingnya untuk konsumsi masyarakat sebagai sumber protein hewani. Permintaan pasar yang terus meningkat akan berpengaruh terhadap pertumbuhan produktivitas ternak domba. Salah satu faktor yang mendukung peningkatan populasi ternak domba adalah manajemen reproduksi terutama peningkatan mutu genetiknya. Dalam upaya meningkatkan mutu genetik ternak dibutuhkan betina dan pejantan yang memiliki spesifikasi baik. Kriteria pejantan yang baik harus memperhatikan ukuran tubuh, kemurnian bangsa, libido, dan kualitas sperma (Yendraliza dkk., 2019).

Produktivitas domba dapat ditingkatkan dengan memperbaiki penampilan reproduksinya. Reproduksi yang baik ditentukan oleh kemampuan domba untuk menghasilkan sperma yang berkualitas. Spermatozoid atau sel sperma merupakan sel dari sistem reproduksi jantan yang merupakan unit penting dalam sistem reproduksi. Perkembangan teknologi dan riset terus dilakukan demi menyempurnakan dan meningkatkan produktivitas (Munarto dkk., 2016).

Dethan dkk. (2010) menjelaskan bahwa pakan merupakan faktor penting untuk memperoleh kualitas sperma yang baik. Rosandi dan Sjafarjanto (2015) berpendapat pakan dengan sumber protein yang tinggi diperlukan untuk menghasilkan kualitas sperma yang baik. Selain kadar protein, keseimbangan nutrisi dalam pakan juga dapat membantu ternak dalam pertumbuhan dan reproduksi secara normal. Salah satu alternatif dalam upaya penyediaan bibit unggul adalah dengan memperhatikan pemberian pakan yang mempunyai zat gizi baik dan sanggup meningkatkan kualitas sperma (Widhyari dkk., 2015). Berdasarkan penelitian

Berdasarkan Sandjojo dkk. (2014), pemanfaatan bahan utama penyusun dari pakan buatan yaitu tepung ikan merupakan bahan impor. Tepung ikan ini memiliki kandungan penting yang dibutuhkan pada pakan seperti protein juga asam amino esensial namun sudah terdapat kebijakan penggunaan sumber akuatik dimana ikan juga merupakan kebutuhan manusia yang semakin berkurang ketersediaannya.

Indonesia sebagai negara yang kaya akan biodiversitas memiliki banyak potensi untuk memanfaatkan fauna yang ada, salah satunya hewan yang dianggap hama oleh masyarakat yaitu bekicot (*Achatina fulica*). Berdasarkan data pengujian Kurniawati dkk. (2015), diketahui bahwa kadar protein yang terkandung dalam tepung olahan bekicot (*Achatina fulica*) mencapai 61,60%. Berdasarkan penelitian Rosandi dan Sjafarjanto (2015), pemberian pakan tambahan tepung bekicot terhadap mencit (*Mus musculus*) dapat menyebabkan terjadinya kenaikan motilitas dan viabilitas sperma.

Mempertimbangkan kemampuan peternak menengah ke bawah di Indonesia untuk menggunakan tepung ikan yang cukup mahal, substitusi tepung ikan dengan tepung bekicot sebagai pakan tambahan diharapkan dapat menjadi solusi untuk meningkatkan kualitas sperma ternak jantan serta mensejahterakan peternak Indonesia

Berdasarkan uraian tersebut perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui potensi dari tepung bekicot (*Achatina fulica*) sebagai sumber protein yang ditambahkan pada pakan untuk meningkatkan kualitas semen domba. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi terkait pemanfaatan tepung bekicot sebagai potensi alternatif sumber protein pada pakan tambahan yang dapat meningkatkan kualitas semen domba sekaligus dapat meningkatkan nilai guna dan nilai ekonomis.

Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan delapan ekor domba jantan berumur satu tahun, sehat, dan sudah dewasa kelamin. Domba dibagi kedalam 3 kelompok yaitu kelompok kontrol (2 ekor) dan dua kelompok perlakuan terdiri masing-masing 3 ekor domba. Kelompok kontrol diberi pakan standar. Kelompok perlakuan diberi pakan standar ditambah tepung bekicot 5% dan 10% dari jumlah pakan. Pemberian tepung bekicot dilakukan selama 30 hari. Tepung bekicot dipersiapkan dengan cara dikeringkan kemudian dibuat serbuk. Uji proksimat dilakukan untuk mengetahui kandungan tepung bekicot seperti air, lemak, abu, protein total, serat kasar, karbohidrat, dan kalori. Uji proksimat dilakukan di Laboratorium Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada (FTP UGM).

Pengambilan sampel

Pengambilan sampel sperma dilakukan dengan metode kastrasi pada testis sebelah kanan setiap domba. Koleksi cairan sperma harus melalui pembedahan organ reproduksi testis tepatnya pada bagian *cauda epididimis* yang disayat menggunakan *blade* kemudian spermatozoa diambil menggunakan mikropipet dan *microtube* sebanyak 100 μ L.

Pemeriksaan sampel

Metode pemeriksaan sampel dilakukan 3 tahap yaitu pemeriksaan motilitas individu, viabilitas, dan konsentrasi. Pemeriksaan motilitas individu dilakukan dengan cara memasukkan 10 μ L sperma ke dalam tabung mikro kemudian ditambahkan NaCl 0,9% sebanyak 10 μ L, selanjutnya diambil 1 tetes diletakkan di atas *object glass* ditutup dengan *deck glass* agar penyebarannya merata lalu diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x10. Pemeriksaan viabilitas dilakukan dengan cara sperma diletakkan di atas *object glass* sebanyak 1 tetes lalu ditambahkan dengan NaCl 0,9% sebanyak 100 μ L lalu dicampur, setelah itu campuran tersebut diambil sebanyak 10 μ L, diletakkan di atas *object glass* dan dicampur dengan eosin negrosin sebanyak 10 μ L, dibuat apusan pada *deck glass*, selanjutnya difiksasi dengan bunsen lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x10. Pemeriksaan konsentrasi menggunakan alat hemositometer dengan perbesaran 40x10.

Metode Analisis

Metode yang digunakan adalah eksperimen dan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Data yang telah diperoleh dianalisa secara statistik dengan menggunakan sidik ragam (*Analysis of Variance/ANOVA*).

Hasil dan Pembahasan

Pada uji proksimat tepung bekicot diperoleh kandungan protein sebesar 15,63 % dan 15,78 % yang menjadi pokok nutrisi utama dalam tepung bekicot tersebut. Kandungan protein yang cukup tinggi dari tepung bekicot diperlukan untuk menghasilkan kualitas sperma yang baik .

Kandungan Tepung Bekicot

Tabel 1. Hasil analisa tepung bekicot

Macam analisa	Ulangan 1	Ulangan 2
Air (%)	3,05	3,00
Lemak (% wb)	0,77	0,80
Protein total, fk : 6,25 (% wb)	15,63	15,78
Serat kasar (% wb)	2,67	2,20
Karbohidrat by Diff (% wb)	5,17	4,89
Kalori (Kal/100g)	67,31	67,02
Abu (% wb)	75,39	75,53

Keterangan: wb= wet basis, fk= faktor koreksi, kal= kalori

Konsentrasi Sperma

Tabel 2. Rataan konsentrasi sperma domba yang diberi tepung bekicot (*Achatina fulica*)

Perlakuan	X \pm SD (juta/ml)
P0 (Kontrol)	2975 \pm 1308.148 ^a
P1 (tepung bekicot 5%)	3116.67 \pm 539.29 ^a
P2 (tepung bekicot 10%)	5100 \pm 606.218 ^b

Keterangan: ^{a b} superskrip yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata (p<0,05)

Rataan nilai konsentrasi sperma yang diperoleh dari hasil penelitian pada domba kontrol, domba dengan perlakuan tepung bekicot 5%, dan domba dengan perlakuan tepung bekicot 10 % berturut-turut adalah 2975 juta sel/m, 3116 juta sel/m, dan 5100 juta sel/m. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa pemberian pakan tambahan tepung bekicot 10% terlihat berbeda nyata dengan perilaku 5% dan kontrol sehingga pemberian tepung bekicot berpengaruh dalam meningkatkan konsentrasi sperma domba.

Berdasarkan Senger (1999), konsentrasi sperma pada *cauda epididimis* hewan mamalia sebesar 10.000-50.000 juta/ml. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi yang diperoleh masih di bawah rentang konsentrasi normal. Perbedaan tersebut diduga karena perbedaan metode penghitungan dan jenis domba. Berdasarkan Tethool dkk. (2012), konsentrasi spermatozoa sangat penting untuk menentukan kemampuan seekor pejantan dalam membuahi ovum. Konsentrasi sperma ditentukan oleh ukuran testis dan aktivitas spermatogenesis yang sebanding dengan perkembangan seksual dan kedewasaan, serta kualitas pakan dan status kesehatan dari pejantan. Menurut Noakes dkk.

(2016), spermatogenesis merupakan proses dasar reproduksi hewan jantan yang menghasilkan reproduksi spermatozoa. Berdasarkan Martin dkk. (2009), dari studi histologis jelas bahwa nutrisi memengaruhi diameter tubulus seminiferus, proporsi relatif testis yang ditempati oleh tubulus seminiferus dan proporsi tubulus seminiferus yang ditempati oleh epitel seminiferous. Nutrisi mempengaruhi fungsi reproduksi laki-laki dalam dua jenis proses fisiologis: (a) melalui pusat metabolisme dan reproduksi otak, yang menyebabkan perubahan *output gonadotropin-releasing hormone (GnRH)*; (b) melalui jalur yang tampaknya tidak bergantung pada perubahan sekresi GnRH. Hasil dari jalur gabungan adalah perubahan masa testis, terutama jaringan seminiferus dan efisiensi spermatogenesis.

Pada Noviana dkk. (2011) seluruh proses spermatogenesis domba memerlukan waktu sekitar 49 hari. Menurut Zeng dkk. (2006), siklus spermatogenesis pada domba berlangsung selama 10,6 hari dan durasi totalnya adalah 47-48 hari. Proses spermatogenesis dikendalikan oleh interaksi hormon FSH, LH dan testosteron. Berdasarkan Aguirre dan Zarinan (2016), Follitropin atau *follicle stimulating hormone (FSH)* reseptor (FSHR) merupakan reseptor G *protein-coupled* dengan famili reseptor hormon glikoprotein yang mempunyai peran penting dalam reproduksi.

Hewan memerlukan protein sebagai sumber asam amino esensial dan pada ruminansia sebagai sumber nitrogen untuk mikroflora rumen. Kualitas protein dalam pakan adalah tergantung pada profil asam amino dan daya cernanya. Kebutuhan protein hewan tergantung pada status fisiologi dan tingkat produksi (Gunawan, 2004). Menurut Haryanto (2012), upaya untuk meningkatkan sintesis protein mikroba rumen agar dapat menjadi sumber asam amino bagi ternak juga dapat menjadi fokus penelitian yang menarik di masa yang akan datang. Pada umumnya strategi pemberian energi dan protein yang seimbang dapat meningkatkan produktivitas sehingga dapat digunakan untuk pengembangan pada ternak lain.

Pada penelitian ini diperoleh hasil rataan persentase motilitas sperma pada domba kontrol, domba dengan perlakuan tepung bekicot 5%,

dan domba dengan perlakuan tepung bekicot 10 % berturut-turut adalah 70%, 73.3%, dan 80%. Berdasarkan hasil uji statistik didapatkan bahwa pemberian pakan tambahan tepung bekicot 5% dan 10% kurang berpengaruh dalam meningkatkan motilitas sperma domba ($p>0,05$). Menurut pendapat dari Widhyari dkk. (2015), bahwa semen segar domba memiliki rata-rata motilitas 60-80%.

Motilitas Sperma

Tabel 3. Rataan nilai motilitas sperma domba yang diberi tepung bekicot (*Achatina fulica*)

Perlakuan	$\bar{x} \pm SD$ (%)
P0 (Kontrol)	70 \pm 0
P1 (tepung bekicot 5%)	73.33 \pm 2.887
P2 (tepung bekicot 10%)	80 \pm 5

Keterangan : Tidak menunjukkan perbedaan yang nyata akibat perlakuan $p>0,05$ berdasarkan analisa ANOVA.

Pemberian pakan tepung bekicot pada domba selama satu bulan dapat menyebabkan terjadinya kenaikan motilitas. Parameter yang diamati pada pengamatan motilitas adalah sperma yang bergerak lurus ke depan dan cepat. Menurut Alvionita dkk. (2015), motilitas sperma atau daya gerak sperma adalah merupakan salah satu penentu keberhasilan sperma untuk mencapai ovum pada saluran tuba falopi. Berdasarkan Tethool dkk. (2012), pada penelitian seperti pada Koala (*Phascolarctos cinereus*), motilitas semen segar yang dikoleksi menggunakan ejakulator menunjukkan motilitas sperma rata-rata 78,8 \pm 2,8% (49-95%). Penelitian lain yang dilakukan Dorado dkk. (2010) pada kambing florida menunjukkan rataan motilitas sperma sebesar 92,88 \pm 0,75% (91-96%). Perbedaan ini dapat dipahami mengingat teknik koleksi semen yang berbeda, adanya perbedaan ras dan oleh beberapa faktor antara lain faktor endogen yang meliputi umur dan maturasi sperma serta penyimpanan energi (ATP).

Rata-rata persentase viabilitas sperma domba yang diberi perlakuan tepung bekicot lebih tinggi dibandingkan dengan domba kontrol. Sperma yang hidup tidak menyerap warna sedangkan yang mati berwarna merah. Evaluasi menggunakan sistem skor 0% sampai 100% (Rizal dkk. 2003). Berdasarkan penelitian

ini diperoleh hasil dengan rata-rata persentase hidup sperma pada domba kontrol, domba dengan perlakuan tepung bekicot 5%, dan domba dengan perlakuan tepung bekicot 10 % berturut-turut adalah 81%, 87.67%, dan 91.83%. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa pemberian pakan tambahan tepung bekicot 5% dan 10% kurang berpengaruh dalam meningkatkan viabilitas sperma domba ($p>0,05$).

Viabilitas Sperma

Tabel 4. Rataan nilai viabilitas sperma domba yang diberi tepung bekicot (*Achatina fulica*)

Perlakuan	$\bar{x} \pm SD$ (%)
P0 (kontrol)	81 \pm 1.414
P1 (tepung bekicot 5%)	87.67 \pm 4.193
P2 (tepung bekicot 10%)	91.83 \pm 0.289

Keterangan: Tidak menunjukkan perbedaan yang nyata akibat perlakuan $p>0,05$ berdasarkan analisa ANOVA.

Toelihere (1985), menyatakan bahwa jumlah sperma hidup pada semen segar domba yaitu sebanyak 90%. Berdasarkan (Rosandi dan Sjafarjanto, 2015), tepung bekicot merupakan salah satu sumber protein yang kaya akan asam amino. Asam amino arginin diperkirakan mampu menambah ketersediaan energi untuk sperma apabila kekurangan arginin dapat mengacaukan metabolisme sperma sehingga mengakibatkan penurunan viabilitas dan gangguan sperma

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penambahan tepung bekicot 10% dari total pakan berpengaruh terhadap konsentrasi sperma domba.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (Ditjen Dikti) Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan melalui Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) 2021. Ucapan terima kasih disampaikan kepada Rektor Universitas Gadjah Mada, Departemen Reproduksi dan Obstetri FKH UGM, dosen pembimbing PKM drh. Sri Gustari, M.P., dan dibantu oleh drh. Topas Wicaksono Priyo, M. Sc., laboran Departemen Reproduksi dan Obstetri Ibu Fatonah dan Mas Apri, pegawai

UP2KH Bapak Darno, dan semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Aguirre, A.U dan Zarinan, T. 2016. The Follitropin Receptor : Matching Structure and Function. *Molecular Pharmacology Fast Forward*.
- Alvionita, Cindy., Rasad, S.D., dan Solihati, N. 2015. Kualitas Semen Domba Lokal Pada Berbagai Kelompok Umur. *Jurnal veteriner*
- Dethan, A.A., Kustono, dan Hartadi, H. 2010. Kualitas dan Kuantitas Sperma Kambing Blingon Jantan yang Diberi Pakan Rumpuk Gajah Dengan Suplementasi Tepung Darah. *Buletin Peternakan*. Vol. 34 (3) :145-153.
- Dorado, J., Molina, I., Serrano, A. M., dan Hidalgo. 2010. Identification of Sperm Subpopulations with Defined Motility Characteristics in Ejaculates from Florida Goats. *Theriogenology*. Vol 74: 795-804
- Gunawan, S. 2004. *Peran Nutrisi Pada Reproduksi Ternak*. Bogor, IPB Press
- Haryanto, Budi. 2012. Perkembangan Penelitian Nutrisi Ruminansia. *Wartazoa*. Vol 22(4)
- Kurniawati, A. D., Pranata, F. S., Ekawati, L. M. P. 2015. Variasi Tepung Daging Bekicot (*Achatina fulica*) Dalam Pembuatan Nugget Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) *Jurnal Teknobiologi*. 1-14.
- Martin, G. B., D. Blache, D. W. Miller, dan P. E. Vercoe. 2009. Interactions between nutrition and reproduction in management of the mature male ruminant. *Animal*. 4(7): 1214-1226.
- Munarto, R., dan Permata, E. 2016. Identifikasi Sperma Sapi Normal dan Abnormal menggunakan Jaringan Saraf Tiruan Menggunakan Algoritma Backpropagation. *Jurnal Ilmiah SETRUM*. Vol. 5(1): 1-10.
- Noakes, D.E., Parkinson, T.J., dan England, G.C.W. 2016. *Reproduksi dan Obstetri Veteriner*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press

- Noviana,C., Boediono,A., dan Wresdiyati, T. 2011. Morfologi Dan Histomorfometri Testis Dan Epididymis Kambing Kacang (*Capra sp.*) Dan Domba Lokal (*Ovis sp.*). *Media Veteriner*
- Rizal, M., Toelihere, M. R., Yusuf, T. L., Purwantara, B. & Situmorang, P. (2003). Karakteristik penampilan reproduksi pejantan domba Garut. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 8(2), 134- 140.
- Rosandi, F.N., dan Sjarfjanto, A. 2015. Pemberian Pakan Tambahan Tepung Bekicot (*Achatina fulica*) Terhadap Motilitas dan Viabilitas Sperma pada Mencit (*Mus musculus*). *VITEK*. Vol. 5: 1-7.
- Sandjojo, H., Hasan, H., dan Dewantoro, E. 2014. Pemanfaatan Tepung Keong Mas (*Pomacea canalicunata*) Sebagai Bahan Substitusi Ikan Dalam Pakan Terhadap Pertumbuhan Ikan Nila Gift (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ruaya*. Vol 1 (1).
- Senger. 1999. Senger, P. L. 1999. *Pathways to Pregnancy and Partuition*. Washington : Current Conception Inc.
- Tethool, A.N., Arifantini, R.L., dan Agungriyono, S. 2012. Konsentrasi dan Motilitas Sperma Cauda Epididimis Bandikut (*Echymipera kalubu*).*Jurnal Ilmu Peteranakan*. Vol 7 (1) : 26-30
- Toelihere, M. R. 1985. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Widhyari, A.D., Esfandiari, A., dan Wijaya, A. 2015. Tinjauan Penambahan Mineral Zn dalam Pakan Terhadap Kualitas Sperma pada Sapi Frisian hoslstein Jantan. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. Vol 20 (1) : 72-77.
- Yendraliza, Abadi, H., Misriyanti, R., Ali, A., dan Effendi, A. 2019. Identifikasi Ukuran Tubuh dan Kualitas Semen Sapi Kuantan Jantan. *Jurnal Ilmiah Peternakan terpadu*. Vol. 7(1): 186-191.
- Zeng, W., Avelar, G. F., Rathi, R., Franca, L. R., dan Dobrinski, I. 2006. The Length of The Spermatogenic Cycle in Conserved in Porcine and Ovine Testis Xenografts. *J Androl*. Vol 27(4): 527-533.

INDEK PENULIS

A

Afif Yuda Kusuma 251
Agnesia Endang Tri Hastuti Wahyuni 256
Agung Janika Sitasiwi 237
Agustina Dwi Wijayanti 256, 276
Ahmad Nurhakim 298
Amalia Sutriana 307
Amiruddin 251
Anastasia Sylvianka Dwi Jayanti 237
Andriyanto 244
Antasiswa Windraningtyas Rosetyadewi
276
Aria Ika Septana 276
Aulia Andri Mustika 244

C

Claude Mona Airin 323

D

Dandy Annas Muttaqien 329
Delvi Ramadayani 337
Denny Widaya Lukman 298
Devita Anggraeni 323
Dwi Priyowidodo 290

E

Elok Budi Retnani 284
Elpita Tarigan 244
Elvina Andali Putri 255
Erwin 251

F

Fadjar Satrija 284
Fakhrurrazi 314
Feby Claudia Sirait 307

G

Galuh Rista Putri 329

H

Hafizuddin 307
Hamdika Yendri Putra 244
Herwin Pisestyani 298

I

Ida Tjahajati 290
Intan Dwi Rahmita 329
Irkham Widiyono 323

J

Jayanti Berliana Dewi 337
Juli Melia 307

L

Leliana Nugrahaning Widi 244
Lily Gunawan 290
Lina Noviyanti Sutardi 244

M

M. Daud AK 314
M. Hanafiah 255
M. Jalaluddin 314
Marchellia Dhiafifah Wahyunandha 337
Maria Angelica Maryatmo 276
Marlin Cindy Claudya Malelak 256
Mawar Subangkit 244
Melati Kusuma Bunda Pratiwi 337
Moch. Saiful Bachri 329
Mudhita Zikkrullah Ritonga 255

Muhammad Fauzih Asjikin 251
Muttaqien 255

N

Nabilah Putroe Agung 290
Nadia Selvia 329

P

Pudji Astuti 323

R

Rahma Prihutami 268
Ridi Arif 284
Rindy Fazni Nengsih 244
Rini Widayanti 268
Rizky Diyu Purnama 284
Rusli 251

S

Sapto Yuliani 329
Sarasati Windria 52, 60, 128
Sarmin 323
Siti Qiorotun Naimah 268
Sofina Rahmadita 329

Sri Gustari 337
Sri Isdadiyanto 237
Sri Wahyuni Erina 314

T

Teuku Fadrial Karmil 251
Teuku Zahrial Helmi 314
Tongku Nizwan Siregar 255, 307
Topas Wicaksono Priyo Jr 337
Trini Susmiati 268

V

Vinsa Cantya Prakasita 256
Vivi Sofia 329

W

Wahyu Widyaningsih 329
Wasmen Manalu 244

Y

Yusa Irarang 244

INDEK SUBYEK

A

Alloxan 237
Aloksan 237
Anjing 291
Antibiotic Growth Promoter 255
Antibiotik 257
Anti-Diabetes 237
Anti-Diabetes 237

B

Babesiosis 291
Bali Cattle 307
Biodiversity 268
Body 244
Bone Plate 251
Bone Plate 251

C

Catfish 268, 269
Chicken Meat 298
Concentration 337
Curcuma longa L 329, 330

D

Daging Ayam 298
Diminazen Aceturate 291
Doksisiklin 291
Domestic Cat 276
Doxycycline 291
Durasi 276
Duration 276

E

E. Coli 256, 257, 298
Egg Worm 284
Ekstrak Etanol 237

Ethanol Extract 237
Ettawa Crossbred 323
Eviserasi 314

F

Faktor Risiko 298
Flavonoid 237
Food Borne Disease 314
Fraktur 251

G

GnRH 307
Gram Negatif 314
Gram Negative 314
Growth Promoter 257

H

Haemonchus contortus 284, 285
Haloperidol 329
Haloperidol 330
Health 244
Herbal 245
Herbs 244
Honey 256

I

Indonesia 268
Indonesia 269

J

Jamu 245

K

Keragaman 269
Kesehatan 245

Ket-A-Xyl® 276
Konsentrasi 337
Kucing Domestik 276

L

Lactation 323
Laktasi 324
Luxation 251

M

Madu 257
Motilitas 337
Motility 337
Mung Bean Sprouts 244

N

ND1 268, 269

O

O157:H7 298
Onset 276

P

Parameter Fisiologis 276
Parkinson 329, 330
PCR 290, 291
Peranakan Ettawa 324
Physiological Parameters 276
Portulaca Oleracea L 237
Probiotics 256
Probiotik 257
Prolactin 323
Prolaktin 324

R

Risk Factor 298

S

Saanen 323, 324
Sapera 323, 324
Sapi Bali 307
Screw 251
Sekuensing 269
Sequencing 268
Smartphone 284, 285
Sperma 337
Spermatozoa 307

T

Telur Cacing 285
Temulawak 257
Tubuh 245

V

Viabilitas 337
Viability 337

W

Wild Ginger 256

Y

YOLOv3 284, 285

Z

Zoonotic Disease 314

Kepada Yth
Redaksi Jurnal Sain Veteriner (JSV)
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada
Jl. Fauna No. 2 Karangmalang, Yogyakarta 55281
Email: jsv_fkh@ugm.ac.id
Telp. 0274560861 , HP. Surohmiatun: 08112505487, Endah Choiriyah: 085868693569
website:https://jurnal.ugm.ac.id/jsv

FORMULIR BERLANGGANAN JURNAL SAIN VETERINER

Nama :
(Instansi/Pribadi) :
.....
Alamat :
(Rumah/Kantor) :
.....
.....
.....
Kode Pos :

Harap dicatat sebagai pelanggan Jurnal Sain Veteriner (JSV) mulai nomor :
harga berlangganan dua (2) kali penerbitan dalam satu (1) tahun sebesar Rp.400.000,00 (belum termasuk ongkos kirim)
Biaya berlangganan sebesar Rp.
.....)

akan/telah kami transfer ke rekening Jurnal Sain Veteriner (JSV) di Fakultas Kedokteran Hewan (FKH) Universitas Gadjah Mada (UGM). Nomor Rekening Virtual Account: 9888809014180716 a.n. FKH KAF penerima Jurnal Sain Veteriner padan Bank BNI, Kantor Cabang UGM, Yogyakarta 55281 , Indonesia

..... 20
Pelanggan

(.....)

TUJUAN DAN RUANG LINGKUP

Jurnal Sain Veteriner (JSV) adalah jurnal yang terbit tiga kali setahun yang berfungsi sebagai wahana komunikasi antar peneliti, pakar dan lembaga di bidang (ilmu-ilmu kehevanan) Sain Veteriner. Naskah JSV dapat berupa seluruh atau sebagian hasil penelitian, komunikasi singkat (short communication), laporan studi kasus (lapangan/klinis) dan artikel review. Naskah artikel harus asli (belum pernah diterbitkan) dan ditulis dalam Bahasa Indonesia atau Inggris.

BERLANGGANAN

Biaya berlangganan JSV sebesar Rp. 400.000,00/tahun atau Rp. 250.000,00 /eksemplar. Pembayaran dapat dalam bentuk IDR atau USD dan ditransfer ke rekening JURNAL SAIN VETERINER di Fakultas Kedokteran Hewan (FKH) Universitas Gadjah Mada (UGM). Nomor Rekening Virtual Account: 9888809014180716 a.n. FKH KAF penerima Jurnal Sain Veteriner padan Bank BNI, Kantor Cabang UGM, Yogyakarta 55281, Indonesia

BIAYA PUBLIKASI

Untuk publikasi (pemuatan) artikel di JSV, penulis dikenakan biaya publikasi artikel sebesar Rp. 750.000,00 per artikel. Apabila ada gambar berwarna dikenakan biaya sebesar Rp. 200.000,00 per halaman gambar berwarna.

PENGIRIMAN NASKAH

Penulis mengirimkan soft copy draft naskah artikel ke redaksi JSV dapat melalui email, atau melalui pengiriman pos berupa compact disc beserta satu eksemplar draft naskah artikel. Penulis juga dapat mengirimkan artikel secara online dengan submit di OOJS JSV. Draft naskah artikel diketik dengan program Microsoft Word dan gambar dalam format JPEG minimal berukuran 300 dpi. Gambar disusun pada lembar terpisah dan diberi nomor urut dan keterangan gambar. Tabel diketik juga pada lembar terpisah, dan diberi nomor urut beserta judul tabel.

PETUNJUK PENULISAN

Naskah diketik 2 spasi (kecuali abstrak: 1 spasi) dengan jenis huruf Times New Roman ukuran font 11. Setiap naskah maksimal terdiri dari 6-20 halaman ukuran kuarto.

Naskah disusun sesuai format JSV dengan urutan sebagai berikut:

A. Naskah hasil penelitian

1. Judul: Harus ringkas dan informatif, ditulis dalam Bahasa Indonesia dan Bahasa Inggris. Judul tidak lebih dari 20 kata (10-20 kata)
2. Identitas penulis: Berisi nama lengkap penulis utama dan anggota penulis (tidak boleh disingkat) dan dibubuhi angka Arab secara berurutan untuk keterangan tentang penulis utama dan anggota. Alamat institusi penulis utama dan anggota penulis ditulis lengkap dan disertai alamat e-mail semua penulis dan atau nomor telepon dan fax (bila ada).
3. Abstrak: Ditulis dalam Bahasa Indonesia dan Bahasa Inggris yang terdiri dari maksimal 250 kata dengan maksimal 5 kata kunci. Abstrak diketik 1 spasi dan hanya terdiri dari satu paragraf.
4. Pendahuluan: Berisi latar belakang yang memuat arti penting dan tujuan penelitian, dan manfaat penelitian yang telah dilakukan.
5. Materi dan Metode: Ditulis tanpa subjudul materi dan subjudul metode. Bahan dan peralatan dijelaskan tentang nama pabrik pembuat, nama kimia dan nama dagang. Cara penelitian ditulis secara singkat dan disertai cara analisis.
6. Hasil dan Pembahasan: Hasil penelitian dijabarkan secara urut, rinci dan jelas. Pembahasan hasil penelitian diuraikan secara ilmiah dan rasional dengan didukung oleh pustaka dan referensi ilmiah yang relevan.
7. Kesimpulan: Kesimpulan hasil penelitian dinyatakan secara singkat, padat dan jelas.
8. Ucapan Terimakasih: Hanya dicantumkan untuk perseorangan dan institusi atau lembaga yang benar-benar membantu pelaksanaan penelitian.
9. Cara sitasi: Sitasi pustaka atau referensi dilakukan dengan menuliskan nama penulis utama dan tahun terbit. Penggunaan kata penghubung untuk 2 penulis dengan kata dan atau and, dan untuk 3 penulis atau lebih dengan dkk. atau et al. tergantung dari bahasa artikel asli yang digunakan.

10. Daftar Pustaka: Disusun menurut abjad tanpa menggunakan nomor urut, nama jurnal disingkat sesuai dengan aturan internasional yang berlaku. Tahun pustaka atau referensi sebaiknya sekitar 5-10 tahun terakhir. Pustaka acuan berupa buku dibatasi maksimal 20% dari total jumlah daftar pustaka.

Jurnal:

Ning, Z.Y., Wu, X.T., Cheng, Y.F., Qi, W.B., An, Y.F., Wang, H., Zhang, G.H. and Li, S.J. (2012). Tissue distribution of sialic acid-linked influenza virus receptors in beagle dogs. *J. Vet. Sci.* 13: 219-222.

Haryanto, A., Ernawati, R., Wati, V., Irianingsih, S.H. and Wijayanti, N. (2015). Analysis of viral protein-2 encoding gene of avian encephalomyelitis virus from field specimens in Central Java region, Indonesia. *Vet. World.* 9(1): 25-31.

Buku:

Thrusfield, M. (2007). *Veterinary Epidemiology* 3rd ed. Blackwell Science. Ames. Iowa. USA: 101- 103.

Alisson, E. A. (2011). *Fundamental Molecular Biology* 2nd revised ed. John Wiley and Son Inc. (Verlag). Germany: 189-202.

Bab dalam buku:

Gavin, R., Merino, S. and Tomas, J.M. (2004) *Molecular Mechanism of Interaction Between Aeromonas hydrophyla and Hosts*. In: *Current Trends in the Study of Bacterial and Viral Fish and Shrimp Diseases*. Vol.3. Yin, L.K. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. Singapore. 117-144

Tesis/Disertasi:

Purwaningrum, M. (2014). Penentuan patotipe virus Newcastle Disease isolat lokal pada unggas dengan metode RT-PCR dan REA. Tesis. Program Studi Sain Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Sitasi, A.J. (2015). Kloning dan ekspresi gen Wingless-type MMTV integration site family member-4 menciit sebagai kandidat antigen untuk imuno krontrasepsi satwa liar. Disertasi. Program Studi Sain Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Website:

Gorman, C., (1997). The New Hongkong Flu. <http://www.time.com/time/magazine/article/0,9171,987603,00.html>.

Diakses pada tanggal 28 Juli 2008.

B. Komunikasi Singkat (short communication) dan Studi Kasus lapangan/klinis

1. Naskah ditulis minimal 3 dan maksimal 7 halaman sudah termasuk Gambar dan Tabel
2. Tata penyusunan naskah untuk: Judul dan Identitas penulis sama seperti persyaratan pada butir A (Naskah hasil penelitian).
3. Abstrak: Terdiri dari minimal 100 kata dan maksimal 250 kata
4. Susunan naskah meliputi: Abstrak, Pendahuluan, Materi dan Metode, Hasil dan Pembahasan, Kesimpulan, Ucapan terimakasih dan Daftar Pustaka.
5. Tata penyusunan Daftar Pustaka: Sama seperti pada butir A (Naskah hasil penelitian).

C. Isi naskah:

sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.

D. Errata: Bila ada, merupakan bagian untuk mengoreksi kesalahan yang mungkin terjadi dalam penulisan artikel.

E. Alamat:

Redaksi Jurnal Sain Veteriner (JSV)
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Fauna No.2, Karangmalang, Yogyakarta 55281

E-mail: jsv_fkh@ugm.ac.id

Telp.: 0274-560861

HP. Surohmiatun : 08112505487

Endah Choiriah : 0895363078367

Website: <https://jurnal.ugm.ac.id/jsv>

