

IDENTIFIKASI BAKTERI YANG BERPERAN SEBAGAI INFEKSI SEKUNDER PADA KEJADIAN PENYAKIT ORF (EKTIMA KONTAGIOSA)

R.M.A. ADJID dan AGUS SUDIBYO
Balai Penelitian Veteriner, Bogor

(Diterima untuk publikasi 21 Juli 1992)

ABSTRACT

Adjid, R.M.A., and Agus Sudibyo, 1992. Identification of bacterial agents responsible for secondary infections following orf (contagious ecthyma) virus infection. *Penyakit Hewan* 24 (44): 71-75.

To identify bacterial agents responsible for secondary infections following an orf virus infection in field conditions, 28 specimens collected from 8 outbreaks of the disease in sheep and goats were examined bacteriologically. Isolation of the agents were conducted on sheep blood 7.5% and MacConkey agar. Identifications of the agents onto species level were based on biochemical reactions. The results showed that 25 (89%) specimens had bacterial pathogen with the highest prevalence of *Staphylococcus aureus* 17 (60,7%), followed by *Staphylococcus epidermidis* 7 (25%), and *Corynebacterium pyogenes* 1 (3,6%). These bacterial agents were sensitive against erythromycin, and oxytetracycline. The presence of bacterial agents in relation to the severity of the infection in field conditions was discussed.

Key words: bacterial agents, secondary infections, orf, contagious ecthyma, sheep, goats

ABSTRAK

Adjid, R.M.A., dan Agus Sudibyo, 1992. Identifikasi bakteri yang berperan sebagai infeksi sekunder pada kejadian penyakit orf (ektima kontagiosa). *Penyakit Hewan* 24 (44): 71-75.

Untuk mengetahui bakteri yang berperan sebagai infeksi sekunder pada kejadian penyakit orf, 28 spesimen dari 8 wabah penyakit orf pada kambing dan domba yang diamati telah diperiksa secara bakteriologik. Isolasi bakteri dilakukan pada agar darah domba 7,5% dan MacConkey. Bakteri yang dapat diisolasi diidentifikasi ke tingkat spesies berdasarkan uji biokimia. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa 25 (89%) spesimen mengandung bakteri patogen dengan frekuensi tertinggi *Staphylococcus aureus* 17 (60,7%), diikuti oleh *Staphylococcus epidermidis* 7 (25%), dan *Corynebacterium pyogenes* 1 (3,6%). Spesies-spesies bakteri ini sensitif terhadap eritromisin, dan oksitetrasiklin. Adanya keterkaitan bakteri patogen dengan derajat kesakitan penyakit orf dibahas dalam tulisan ini.

Kata-kata kunci: bakteri, infeksi sekunder, orf, ektima kontagiosa, domba, kambing

PENDAHULUAN

Kejadian penyakit orf di Indonesia telah berulang kali dilaporkan sejak kasus pertama diberitakan oleh van der Laan (1919). Namun data-data tentang infeksi sekunder hingga kini masih terbatas. Sapardi *et al.* (1983) melaporkan kasus penyakit orf yang berat disertai oleh infeksi bakteri berbentuk bulat. Adjid *et al.* (1989) melaporkan adanya keragaman derajat kesakitan pada ternak kambing dan domba yang terserang penyakit orf. Keragaman ini diduga akibat infeksi sekunder oleh bakteri. Hasil pengamatan lapangan berikutnya juga memperlihatkan bahwa pada kasus penyakit orf yang berat, tingkat kematiannya lebih tinggi daripada tingkat kematian pada kasus penyakit yang ringan (Adjid dan Mangunwiryono, 1991).

Di luar negeri, infeksi sekunder oleh bakteri pada kejadian penyakit orf telah banyak dilaporkan (Darbyshire, 1961; Dachena, 1937; Marsh dan Tunicliff, 1938; Rubino dan Espantosa, 1939; Volkova *et al.*, 1968; Greig *et al.*, 1984). Kehadiran bakteri pada kejadian penyakit orf diduga mengakibatkan tingkat kematian yang tinggi. Namun demikian, hubungan antara bakteri dengan keparahan penyakit serta kematian ternak terjangkau belum jelas.

Mengingat adanya perbedaan tentang lingkungan dan sistem peternakan di Indonesia dengan negara-negara maju, disamping informasi mengenai jenis bakteri patogen serta sensitivitasnya terhadap berbagai anti-biotika pada bakteri yang menjadi infeksi sekunder perlu diungkapkan, maka penelitian ini dilaksanakan dengan harapan segala keterangan ini dapat membantu para petugas kesehatan hewan.

BAHAN DAN CARA

Spesimen pemeriksaan

Spesimen yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi agen bakteri adalah lesi kulit bibir hewan penderita penyakit orf.

Dua puluh delapan spesimen diambil dari hewan penderita secara aseptis dengan menggunakan pinset steril. Spesimen ini kemudian dimasukkan ke dalam botol bijou steril. Selama perjalanan, botol tersebut disimpan dalam kotak berisi es. Di laboratorium, botol tersebut disimpan pada -20°C sampai dilakukan proses selanjutnya untuk diagnosis penyakit, isolasi dan identifikasi bakteri.

Diagnosis penyakit Orf

Diagnosis penyakit orf didasarkan pada gejala klinik dan uji AGP suspensi spesimen seperti yang diterangkan oleh Adjid dan Ronohardjo (1987).

Isolasi dan identifikasi bakteri

Pertama-tama spesimen digerus sampai halus dan diencerkan dengan larutan NaCl fisiologik steril. Kemudian suspensi ini diinokulasikan pada agar darah domba 7.5% dan MacConkey. Agar tersebut kemudian diinkubasikan pada 37°C selama 24 jam. Koloni bakteri yang terbentuk diidentifikasi berdasarkan warna, kemudian dimurnikan dengan cara menginokulasikannya kembali pada agar darah dan MacConkey. Koloni murni yang diduga sebagai koloni bakteri patogen kemudian diisolasi dan diidentifikasi untuk menentukan genus dan spesiesnya, berdasarkan pada hasil uji biokimia dengan mengikuti cara yang diterangkan oleh Cowan dan Steel (1973), Buchanan dan Gibbons (1975), dan Osbaldiston (1973). Untuk mengidentifikasi *Corynebacterium* sp. tabung-tabung uji karbohidrat ditambah dengan serum.

Uji sensitivitas antibiotik

Kertas cakram yang mengandung antibiotik (Oxoid, Unipat Limited, Hampshire, U.K.) digunakan untuk mengetahui sensitivitas isolat bakteri. Setiap isolat bakteri diuji sensitivitasnya terhadap ampicilin 10 g, khloramfenikol 30 g, eritromisin 15 g, kanamisin 30 g, novobiosin 30 g, oksitetrasiklin 30 g, penisilin 10 g, atau streptomisin 10 g.

Isolat bakteri yang telah diidentifikasi ketingkat spesies diulaskan ke permukaan agar Mueller Hilton dengan menggunakan kapas bertangkai steril. Kertas

cakram yang mengandung antibiotik kemudian ditempelkan pada permukaan agar secara aseptis. Agar tersebut kemudian diinkubasikan pada 37°C selama 24 jam. Zona inhibisi yang terbentuk kemudian diukur dengan menggunakan penggaris milimeter. Standar bakteri *Staphylococcus aureus* NCTC 8532, *Staphylococcus epidermidis* NCTC 7474 dan *Corynebacterium pyogenes* NCTC 5224 digunakan sebagai kontrol pada saat melakukan uji sensitivitas.

Penetapan sensitivitas isolat bakteri terhadap antibiotik dilakukan berdasarkan kriteria yang diterangkan oleh Simmons dan Craven (1980). Kriteria tersebut dicantumkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kriteria bakteri sensitif terhadap antibiotik menurut Simmons and Craven (1980)

Antibiotik	Potensi kertas cakram	Zona inhibisi (mm)		
		Resisten	Pertengahan	Sensitif
Ampisilin	10 μg	< 20	21-28	> 29
Khloramfenikol	30 μg	< 12	13-17	> 18
Eritromisin	15 μg	< 13	14-17	> 18
Kanamisin	30 μg	< 13	14-17	> 18
Novobiosin	30 μg	< 17	18-21	> 22
Oksitetrasiklin	30 μg	< 14	15-18	> 18
Penisilin	10 μg	< 20	21-18	> 29
Streptomisin	10 μg	< 11	12-14	> 15

HASIL

Diagnosis penyakit Orf

Hewan yang diambil spesimennya memperlihatkan gejala klinik nodul-nodul berkeropeng pada kulit bibir. Uji AGP dari spesimen memperlihatkan ada garis presipitasi antara serum kebal orf dengan suspensi spesimen. Garis yang terbentuk hanya satu dan ujungnya berhubungan dengan garis presipitasi yang terbentuk antara serum kebal dengan antigen standar. Tidak ada garis presipitasi yang terbentuk antara serum kebal dan antigen kontrol. Hasil pengamatan lapangan meliputi derajat kesakitan hewan yang diambil spesimennya dapat dilihat pada Tabel 2.

Isolasi dan identifikasi bakteri

Bakteri patogen yang dapat diisolasi dari spesimen hewan penderita penyakit orf dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3.

Dari 28 contoh spesimen, 25 (89%) mengandung bakteri patogen yang tumbuh pada agar darah. Bakteri patogen yang terbanyak adalah *Staphylococcus aureus* 17 (60,7%), kemudian *Staphylococcus epidermidis* 7

(25%), dan *Corynebacterium pyogenes* 1 (3,6%). Bakteri tidak patogen yang dapat diisolasi pada agar darah adalah *Bacillus* sp. Tidak ada koloni jamur yang tumbuh pada agar darah dan MacConkey. Tidak ada koloni bakteri yang tumbuh pada agar MacConkey.

Tabel 2. Bakteri patogen yang diisolasi dari spesimen hewan penderita penyakit orf

Kasus lapangan	Nomer sandi	Spesies	Derajat kesakitan*	Bakteri
Solok, 1984	118	Kb	4	<i>S. aureus</i>
	121	Kb	2	<i>S. aureus</i>
	122A	Kb	1	<i>S. aureus</i>
	122b	Kb	1	<i>S. epidermidis</i>
	123A	Kb	1	<i>S. aureus</i>
	123B	Kb	1	<i>S. aureus</i>
	128	Db	3	-
Cimanggu, 1987	130	Db	3	-
	02	Db	3	<i>S. epidermidis</i>
	03	Db	3	<i>S. aureus</i>
	04	Db	3	<i>S. aureus</i>
	05	Db	3	<i>S. epidermidis</i>
Sukamandi, 1987	07	Db	3	<i>S. aureus</i>
	87/129	Db	2	-
Cilebut, 1988	044	Kb	2	<i>S. epidermidis</i>
	052	Kb	2	<i>S. aureus</i>
	6013	Kb	2	<i>C. pyogenes</i>
Cigudeg, 1988	8165	Db	2	<i>S. aureus</i>
	8086	Db	2	<i>S. aureus</i>
	8056	Db	2	<i>S. aureus</i>
	5642	Db	2	<i>S. aureus</i>
Ciawi, 1988	J	Db	4	<i>S. aureus</i>
	202	Kb	2	<i>S. aureus</i>
Subang, 1988	G160	Db	2	<i>S. epidermidis</i>
	80A	Db	2	<i>S. epidermidis</i>
	80B	Db	2	<i>S. aureus</i>
Cariu, 1989	111A	Kb	2	<i>S. aureus</i>
	111B	Kb	2	<i>S. epidermidis</i>

Db: domba; Kb: kambing

*/ 1: ringan; 4: sangat berat

Tabel 3. Identifikasi isolat bakteri yang diisolasi dari spesimen

Uji fisik/biokimia	Spesies		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>C. pyogenes</i>
Ukuran koloni	1-2 mm	1 mm	1 mm
Warna koloni	Kuning	Putih	Kuning
Gram	+	+	+
Bentuk bakteri	Bulat	Bulat	Batang
Katalase	+	+	-
Glukosa:gas	+	+	+
Oksidase	-	-	-
Oksidatif/fermentif	F	F	F

Tabel 3. lanjutan

Uji fisik/biokimia	Spesies		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>C. pyogenes</i>
Beta-hemolisa	+	-	+
Urease	+	+/-	-
Gelatin	+	+/-	+
Motilitas	-	-	-
Nitrat	+	-	-
Hidrolisa arginin	+	+	-
Koagulase	+	-	-
Laktosa	+	+/-	+
Maltosa	+	+	+
Mannitol	+	-	-
Sukrosa	+	+	+/-
Xilose	-	-	+
Starch	-	-	+
Salicin	-	-	-
Trehalose	-	-	-

Sensitivitas isolat bakteri terhadap antibiotik

Hasil uji sensitivitas isolat bakteri terhadap antibiotik dapat dilihat pada Tabel 4. Semua kertas cakram yang mengandung antibiotik memperlihatkan zona inhibisi untuk semua isolat bakteri patogen. Diameter zona inhibisi beragam, tergantung pada spesies bakteri serta jenis antibiotik yang digunakan.

Tabel 4. Uji sensitivitas bakteri terhadap antibiotik

Antibiotik	Zona inhibisi (mm)		
	<i>S. aureus</i> (n=7)	(n=17) <i>S. epidermidis</i> <i>C. pyogenes</i> (n=1)	
Ampisilin 10 ug	26.1±4.5	29.0±1.9	20
Khloramfenikol 30 ug	21.1±2.3	21.9±2.7	18
Eritromisin 15 ug	23.9±1.6	25.0	22
Kanamisin 30 ug	20.5±2.3	21.0±1.9	18
Novobiosin 30 ug	20.3±2.4	21.4±1.8	17
Oksitetrasiklin 30 ug	21.8±2.0	21.3±1.9	20
Penisilin 10 ug	24.7±3.7	27.1±2.7	25
Streptomisin 10 ug	19.5±3.1	19.6±1.7	15

Penyebaran jenis bakteri dan derajat kesakitan penyakit Orf

Penyebaran jenis bakteri dan tingkat kesakitan penyakit orf dapat dilihat pada Tabel 2. *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* dapat diisolasi dari semua derajat keparahan penyakit orf.

streptomisin, serta tetrasiklin. Poernomo *et al.* (1984) menegaskan bahwa *Staphylococcus aureus* sensitif terhadap eritromisin. Setiawan dan Agus Nurhadi (1988) melaporkan bahwa *Staphylococcus aureus* dan *Corynebacterium pyogenes* yang diisolasi dari servik kerbau sensitif terhadap khloramfenikol. Hasil studi yang dilakukan memperlihatkan bahwa semua isolat bakteri patogen yang diisolasi dari spesimen hewan penderita penyakit orf sensitif terhadap eritromisin atau oksitetrasiklin. Dengan demikian antibiotik ini disarankan untuk digunakan dalam mengendalikan infeksi sekunder akibat bakteri pada kejadian penyakit orf.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. G.W. Burgess, staf pengajar pada Universitas James Cook, North Queensland, Australia atas kritik dan saran yang diberikan pada hasil penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- ABDUSSALAM, M. 1957. Contagious pustular dermatitis. II. Pathological histology. *J. Comp. Path.* (67): 217-222.
- ACHDUATI, J. 1983. Infeksi *Staphylococcus aureus* pengaruhnya terhadap peternakan ayam di Indonesia. *Penyakit Hewan* 15(26): 137-139.
- ADJID, A dan P. RONOHARDJO. 1987. Uji agar gel presipitasi (AGP) untuk mendeteksi virus penyakit orf. *Penyakit Hewan* 19(34): 84-87.
- ADJID, A., M. SUMANTRI, dan N. NURJANAH. 1989. Laporan survey penyakit orf di Kabupaten Bogor 2-8 Januari 1989. Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- ADJID, R.M.A. dan H. MANGUNWIRYO. 1991. Kejadian penyakit orf pada ternak domba di Jawa Barat. *Penyakit Hewan* 23(41): 23-28.
- BLOOD, D.C., O.M. RADOSTITS, and J.A. HENDERSON. 1983. Veterinary Medicine. A text book of disease of cattle, sheep, pigs and horses. Sixth edn. Bailliere, Tindall, London.
- BOUGHTON, I.B., and W.T. HARDY. 1935. Contagious ecthyma (sore mouth) of sheep and goats. *The Vet. Bull.* 5: 350-351.
- BUCHANAN, R.E., and N.E. GIBBONS. 1975. Bergey's Manual of Determination Bacteriology. Eighth edn. (eds. R.E. Buchanan and N.E. Gibbons). The William and Wilkins Co., Baltimore.
- COWAN, S.T., and K.J. STEEL. 1973. Manual for the Identification of Medical Bacteria. Second edn. (eds. S.T. Cowan and K.J. Steel). University Press, London, Cambridge.
- DACHENA, G. 1937. Atypical form of contagious pustular stomatitis in goats and lambs. *The Vet. Bull.* 7: 379.
- DARBYSHIRE, J.H. 1961. A fatal ulcerative mucosal condition of sheep associated with the virus of contagious pustular dermatitis. *Brit. Vet. J.* 117: 97-105.
- DOYLE, R.J., K.F. KELLER, and J.W. EZZELL. 1985. *Bacillus*. In Manual of Clinical Microbiology. pp. 211-215, four edn. (eds. E.H. Lennete, A. Balows, W.J. Hansler Jr., and H.J. Shadomy). American Society for Microbiology, Washington D.C.
- GREIG, A.S., K.A. LINKATER, and W.A. CLARK. 1984. Persistent orf in a ram. *Vet. Record* 115: 149.
- HARDJOUTOMO, S. 1989. Pencemaran semen sapi perah oleh bakteri. *Penyakit Hewan* 21(38): 91-95.
- HOFSTAD, M.S., H.J. BARNES, B.W. CALNEK, W.M. REID, and H.W. YODER JR. 1984. Diseases of Poultry. Iowa State University Press. Ames, Iowa.
- JENKINSON, D.M. 1989. Skin surface response to external challenge. *In Practice*. 11: 207-210.
- KHANSARY, D.N., A.J. MURGO, and R.E. FAITH. 1990. Effects of stress on the immune system. *Immunology Today* 11: 170-175.
- LAAN, A., VAN DER. 1919. Uit de practijk. *N.J.B.I. v Dierg.* 31:457.
- MARSH, H and E.A. TUNNICLIFF. 1938. Stomatitis in young lambs involving *Actinomyces necrophorus* and the virus of contagious ecthyma. *The Vet. Bull.* 8: 525.
- McKEEVER, D.J., M.D. JENKINSON, G. HUTCHINSON, and H.W. REID. 1988. Studies of the pathogenesis of orf virus infection in sheep. *J. Comp. Path.* 99: 317-328.
- OSBALDISTON, G.W. 1973. Laboratory Procedure in Clinical Veterinary Bacteriology. University Park Press, Baltimore, London-Tokyo.
- POELOENGAN, M., E.D. SETIAWAN dan S. HARDJOUTOMO. 1984. Inventarisasi bakteri dari kejadian mastitis pada sapi perah di daerah Bogor dan sekitarnya. *Penyakit Hewan* 16(28): 221-223.
- POELOENGAN, M. 1985. Bakteri pada uterus sapi Brahman kawin berulang di daerah Batu Marta Sumatra Selatan. *Penyakit Hewan* 17(29): 280-282.
- POERNOMO, S., SUPAR, S. HARDJOUTOMO dan ISKANDAR. 1983. Sanitasi mesin penetasan dan ruangnya. I. Pemeriksaan jenis kuman dari debu asal mesin penetasan. *Penyakit Hewan* 15(25): 87-90.
- POERNOMO, S., P. RONOHARDJO, dan L.H. PRASETYO. 1984. Efektifitas Nopstress dengan erythromycine dan sulfadmethoxine (NES) terhadap kuman gram negatif dan *Staphylococcus aureus* pada anak ayam type pedaging. *Penyakit Hewan* 16(27): 163-168.
- RUBINO, M.C., and M. ESPANTOSA. 1939. Contagious ecthyma of sheep. *The Vet. Bull.* 9: 313.
- SAPARDI, M., A. HERIYANTO, R. RULIANTI, dan SOENARDI. 1983. Kejadian penyakit orf pada kambing P.E. ex Jawa Timur di Sumatra Barat. In Annual Report of Disease Investigation in Indonesia during period 1981-1982, pp.79-81. Direktorat Kesehatan Hewan, Jakarta.
- SETIAWAN, E.D. dan AGUS NURHADI. 1988. Studi bakteriologi servik kerbau infertil di Sulawesi Selatan. *Penyakit Hewan* 20(35):1-4.
- SIMMONS, G.C., and J. CRAVEN. 1980. Antibiotic Sensitivity Tests Using the Disc Method. Australian Bureau of Animal Health.
- SUPAR, J. ACHDUATI, S. HARDJOUTOMO dan M. POELOENGAN. 1981. Kasus keratoconjunctivitis pada ternak sapi. *Bull. LPPH* 13(22):73-84.
- VOLKOVA, A.A., R.S. GALIEV, and PRASOLOVA. 1968. Contagious pustular dermatitis (CPD) virus and necrobacillosis in lambs. *The Vet. Bull.* 38: 92.