

KORELASI DAN DISTRIBUSI TITER ANTIBODI *BRUCELLA ABORTUS* PADA SAPI SERO-POSITIF BRUCELLOSIS DI INDONESIA

AGUS SUDIBYO, B.E. PATTEN dan YUSUF MUKMIN
Balai Penelitian Veteriner, Bogor
(Diterima untuk publikasi 21 Maret 1990)

ABSTRACT

Conventional tests used for sero-diagnosis of brucellosis in Indonesia are Rose Bengal plate test (RBPT), serum agglutination test (SAT) and complement fixation test (CFT). Bovine serum samples collected from several provinces in Indonesia were tested by these conventional tests and the results were compared. From a total of 449 serum samples were positive by RBPT, 419 (93.32%) by CFT and 234 (52.12%) by SAT. From 419 serum positive by RBPT and CFT (sero-positive), 185 (44.15%) had SAT titre < 100 iu and 18 (9.73%) of them had less than 30 iu, these samples were from West Java 3.82%, East Nusa Tenggara 2.15%, Lampung 5.49%, Bengkulu 0.24%, South Sumatra 3.34% and South Sulawesi 32.94%. The results indicated that SAT was less sensitive than RBPT or CFT. CFT titres between 1:4—1:128 were found in almost all areas in Indonesia, and the highest number of serums had CFT 1:16 titre.

ABSTRAK

Uji konvensional yang digunakan untuk sero-diagnosis brucellosis di Indonesia di antaranya adalah Rose Bengal plate test (RBPT), serum agglutination test (SAT) dan complement fixation test (CFT). Contoh serum sapi yang berasal dari beberapa propinsi di Indonesia telah diuji dengan cara konvensional ini dan hasilnya diperbandingkan. Dari 449 contoh serum positif RBPT, 419 (93,32%) daripadanya bereaksi positif CFT dan 234 (52,12%) bereaksi positif SAT. Dari 419 serum positif RBPT dan CFT, 185 (44,15%) memberikan titer SAT < 100 iu dan 18 (9,73%) daripadanya bertiter < 30 iu, yang contoh serumnya berasal dari Jawa Barat sebanyak 3,82%, Nusa Tenggara Timur 2,15%, Lampung 5,49%, Bengkulu 0,24%, Sumatera Selatan 3,34% dan Sulawesi Selatan 32,94%. Hasil ini menunjukkan bahwa SAT mempunyai sensitivitas yang lebih rendah dibandingkan dengan RBPT atau CFT. Titer CFT berkisar antara 1:4—1:128 telah ditemukan di hampir semua daerah di Indonesia, dan jumlah contoh serum terbanyak memberikan titer 1:16.

PENDAHULUAN

Diagnosis brucellosis pada sapi paling banyak dilakukan secara serologik. Hal ini dikarenakan uji serologik mempunyai sifat mudah, cepat dan tingkat akurasi yang tinggi. Selain itu, juga disebabkan karena penyakit ini memberikan gejala yang menciri, yakni abortus yang kebanyakan hanya terjadi sekali saja dan setelah itu penyakit berjalan khronis tanpa gejala klinis yang jelas (Morgan *et al.*, 1969). Namun demikian, diagnosis serologik dapat mengalami kesulitan, terutama pada masa inkubasi dari penyakit.

Masa inkubasi penyakit ini panjang, bervariasi antara beberapa minggu sampai 8 bulan atau lebih (Morgan *et al.*, 1969). Selanjutnya dijelaskan bahwa masa inkubasi itu tergantung dari jumlah dan virulensi kuman yang menginfeksi, resistensi hewan dan umur kebuntingan pada saat hewan terinfeksi. Selama masa inkubasi ini, hasil uji serologik dapat negatif, walaupun kemudian ternyata sapi mengalami keguguran. Hal ini merupakan salah satu faktor yang ikut mendorong untuk selalu mengembangkan teknik-teknik

diagnosis ke arah yang lebih cepat dan lebih akurat. Idealnya teknik diagnosis untuk uji penyaringan haruslah yang murah, cepat dan sensitif, serta tidak perlu dengan spesifisitas yang tinggi, sedangkan untuk uji penentunya harus sensitif dan spesifik (Dohoo *et al.*, 1986).

Di Indonesia, Rose Bengal plate test (RBPT) sudah secara luas digunakan untuk uji penyaringan brucellosis, begitu juga serum agglutination test (SAT) sebagai uji penentunya. Sementara itu, complement fixation test (CFT) masih digunakan secara terbatas di laboratorium yang besar saja. Namun demikian, CFT sudah lebih dikenal dan digunakan dibandingkan dengan teknik enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yang masih relatif baru. CFT dan ELISA mempunyai spesifisitas yang relatif hampir sama (Hobbs, 1985).

Penelitian kali ini dimaksudkan untuk mendapatkan gambaran tentang distribusi titer antibodi *Brucella abortus* pada sapi sero-positif brucellosis yang terjadi di beberapa daerah di Indonesia.

BAHAN DAN CARA

Contoh serum

Contoh serum sapi potong yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Lampung, Bengkulu, Sumatera Selatan, Nusa Tenggara Timur dan Sulawesi Selatan, sedangkan serum sapi perah dari DKI Jakarta dan Jawa Barat. Contoh serum tersebut selama penelitian berlangsung selalu disimpan pada suhu -20°C , kemudian serum diuji dengan RBPT, SAT dan CFT.

Uji serologi

a. Rose Bengal plate test (RBPT)

RBPT dikerjakan menurut metode baku untuk diagnosis brucellosis sapi (Anon., 1980) dengan menggunakan cawan hemaglutinasi dari World Health Organisation (WHO). Contoh serum sebanyak 0,025 ml dimasukkan ke dalam tiap lubang cawan, kemudian ditambahkan 0,025 ml antigen Rose Bengal. Setelah digoyangkan dengan alat penggoyang (shaker) selama 4 menit, hasil reaksinya dibaca di atas nyala lampu yang terang. Penafsiran nilai reaksi dicatat sebagai positif tiga (+3), positif dua (+2), positif satu (+1) dan negatif (-).

b. Serum agglutination test (SAT)

SAT dikerjakan menurut cara Eropa (Alton *et al.*, 1975a) dengan menggunakan 7 buah tabung reaksi. Tabung pertama diisi 0,8 ml 0,5% larutan garam fenol sebagai pengencer, sedangkan tabung ke-2 sampai ke-7 masing-masing diisi 0,5 ml 0,5% garam fenol. Kemudian, pada tabung pertama ditambahkan 0,2 ml serum yang diuji, setelah dikocok dipindahkan sebanyak 0,5 ml ke tabung kedua, begitu seterusnya sampai tabung ke-7, sehingga diperoleh enceran serum masing-masing 1:5, 1:10, 1:320. Kemudian, ke dalam tiap-tiap tabung ditambahkan 0,5 ml antigen SAT, sehingga diperoleh enceran akhir masing-masing 1:10, 1:20, 1:640. Setelah dikocok, semua tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 20 jam (semalam). Reaksi aglutinasi dibaca berdasarkan tingkat kejernihan yang dibandingkan dengan standar aglutinasi.

c. Complement fixation test (CFT)

Teknik CFT secara mikro dengan inkubasi 37°C dikerjakan menurut Alton *et al.* (1975a). Adapun caranya adalah sebagai berikut:

- Setiap lubang cawan-mikro (permukaan dasar berbentuk U) pada baris A masing-masing diisi sampel serum sebanyak 0,05 ml (termasuk serum kontrol positif dan negatif), kemudian diinaktivasi pada temperatur 58°C selama 30 menit di dalam penangas air.
- Setiap lubang cawan, kecuali baris A, diisi dengan barbitol buffered saline (BBS) sebanyak 0,025 ml.
- Serum diencerkan dalam BBS dengan cara memindahkan 0,025 ml serum dari baris A ke lubang cawan baris B, begitu seterusnya sampai ke baris H, sehingga diperoleh enceran serum 1:2, 1:4, 1:8 dan seterusnya.
- Setiap lubang cawan mikro mulai baris C sampai H masing-masing diisi antigen sebanyak 0,025 ml, sedangkan baris B diisi BBS dan dipakai sebagai kontrol terhadap adanya aktivitas antikomplement.
- Mulai baris B sampai H masing-masing lubang cawan ditambah 0,025 ml komplemen, diinkubasikan pada temperatur 37°C selama 30 menit.
- Setelah masa inkubasi berakhir, setiap lubang cawan mulai baris B sampai H masing-masing ditambah 0,025 ml eritrosit domba yang telah disensitifkan dengan hemolisin, kemudian diinkubasikan lagi pada temperatur 37°C selama 30 menit sambil dikocok dengan alat pengocok (shaker).
- Cawan mikro dipusing dengan kecepatan 2,000 rpm selama 5 menit atau didiamkan pada suhu 4°C semalam, kemudian dibaca hasil reaksinya yang didasarkan pada terjadinya 50% hemolisis pada enceran serum tertinggi. Sampel serum diklasifikasikan positif apabila memberikan titer $> 1:4$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Contoh serum sapi positif RBPT yang didapat sebanyak 449, berasal dari DKI Jakarta sebanyak 12, Jawa Barat 26, Nusa Tenggara Timur (NTT) 55, Lampung 59, Bengkulu 38, Sumatera Selatan 52 dan Sulawesi Selatan 207. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 449 serum tersebut, 48 (10,69%) mempunyai titer SAT < 30 iu, 167 (37,19%) mempunyai titer SAT $> 30 - < 100$ iu dan 234 (52,12%) mempunyai titer SAT ≥ 100 iu (Tabel 1).

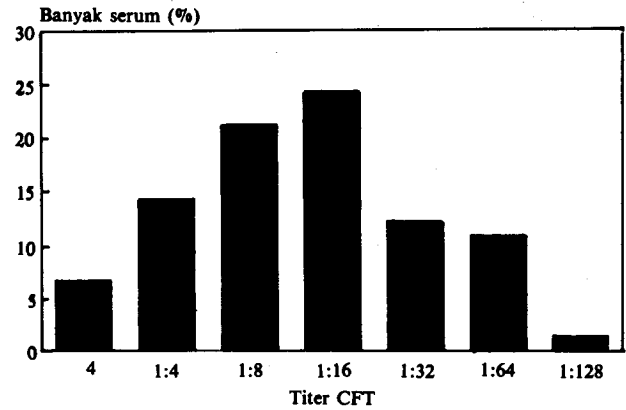
Tabel 1. Distribusi titer SAT dari serum positif RBPT

Daerah asal serum	Jumlah	Titer SAT (IU)		
		< 30	> 30 – < 100	≥ 100
DKI Jakarta	12	0	0	12
Jawa Barat	26	2	16	8
Nusa Tenggara Timur	55	3	9	43
Lampung	59	6	21	32
Bengkulu	38	2	1	35
Sumatera Selatan	52	3	14	35
Sulawesi Selatan	207	32	106	69
T o t a l	449	48	167	234
%		10,69	37,19	52,12

Keterangan: RBPT = Rose Bengal plate test

SAT = Serum agglutination test

Morgan *et al.* (1969) memberikan ketentuan bahwa untuk sapi yang tidak divaksin dan yang tidak diketahui status vaksinasinya, maka untuk titer SAT < 30 iu dinyatakan negatif, titer > 30 – < 100 iu dinyatakan dubius dan titer ≥ 100 iu dinyatakan positif. Dengan demikian, maka dari 449 serum sapi positif RBPT yang mempunyai titer SAT < 30 iu (negatif) masing-masing terjadi di Jawa Barat 2 (0,45%), NTT 3 (0,67%), Lampung 6 (1,34%), Bengkulu 2 (0,45%), Sumatera Selatan 3 (0,67%) dan Sulawesi Selatan 32 (7,13%) (Tabel 1); sedangkan dengan CFT, dari 449 serum positif RBPT yang diperiksa, 30 (6,68%) mempunyai titer CFT < 1:4 (negatif), 64 (14,25%) mempunyai titer CFT 1:4, 95 (21,16%) mempunyai titer CFT 1:8, 109 (24,28%) mempunyai titer CFT 1:16, 55 (12,25%) mempunyai titer CFT 1:32, 49 (10,91%) mempunyai titer CFT 1:64 dan 47 (10,47%) mempunyai titer CFT 1:128 (Gambar 1). Dari hasil ini terlihat bahwa titer CFT 1:16 mempunyai jumlah kasus yang paling banyak, yaitu sebesar 24,23%.

**Gambar 1.** Distribusi titer CFT dari serum positif RBPT

Hasil penelitian Alton *et al.* (1975b) menunjukkan bahwa 11% dari sapi dengan biakan positif *Brucella abortus* mempunyai titer SAT < 100 iu dan sekitar 4% daripadanya mempunyai titer SAT < 30 iu. Dalam penelitian ini dari 419 (93,32%) serum positif RBPT dan CFT (sero-positif), 185 (44,15%) mempunyai titer SAT < 100 iu dengan 18 (9,73%) dari padanya bertiter SAT < 30 iu. Jumlah serum yang bereaksi positif RBPT dan CFT (sero-positif) adalah sebanyak 419, masing-masing untuk sapi potong dari NTT sebanyak 52, Lampung 55, Bengkulu 36, Sumatera Selatan 49, Sulawesi Selatan 191 dan sapi perah dari DKI Jakarta 12, Jawa Barat 24 (Tabel 2). Dilihat dari asal serum, maka dari 419 serum sero-positif brucellosis yang mempunyai titer SAT < 100 iu masing-masing terjadi di Jawa Barat sebanyak 16 (3,82%), NTT 9 (2,15%), Lampung 3 (5,49%), Bengkulu 1 (0,24%), Sumatera Selatan 14 (3,34%) dan Sulawesi Selatan 138 (32,94%).

Tabel 2. Distribusi titer CFT dari serum positif RBPT

Daerah asal serum	Jumlah	Titer CFT						
		< 1:4	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
DKI Jakarta	12	0	2	2	3	0	5	0
Jawa Barat	26	2	3	8	6	5	2	0
Nusa Tenggara Timur	55	3	6	5	12	8	9	12
Lampung	59	4	8	15	9	9	8	6
Bengkulu	38	2	0	10	6	5	4	11
Sumatera Selatan	52	3	6	5	8	5	10	15
Sulawesi Selatan	207	16	39	50	65	23	11	3
T o t a l	449	30	64	95	109	55	49	47
%		6,68	14,25	21,16	24,28	12,25	10,91	10,47

Keterangan: RBPT = Rose Bengal plate test

CFT = Complement fixation test

Dari hasil ini tampak bahwa metode SAT kurang sensitif bila dipakai untuk mendiagnosis brucellosis terhadap sapi yang tidak divaksinasi atau tidak diketahui statusnya, sehingga akurasinya rendah. Menurut Stemshorn *et al.* (1985), sensitivitas SAT sebesar 68,9% lebih rendah dibandingkan dengan CFT dan RBPT, masing-masing sebesar 74,9% dan 79,0%. Nicoletti (1969) menyatakan bahwa SAT hanya memberikan kebenaran sebesar 52% dari 165 sapi reaktor positif brucellosis. Renoux dalam tahun 1968 secara berulang-ulang berhasil mengisolasi kuman *B. abortus* dari sapi dengan titer SAT yang rendah (dikutip oleh Alton *et al.*, 1975b).

Dalam penelitian ini terdapat sebanyak 419 (93,32%) serum positif RBPT yang juga bereaksi positif dengan CFT, sedangkan dengan SAT hanya sebanyak 234 (52,12%). Hal ini menunjukkan bahwa CFT mempunyai korelasi yang baik dengan RBPT serta mempunyai sensitivitas dan akurasi yang tinggi. Menurut Dohoo *et al.* (1986), CFT mempunyai spesifisitas yang paling tinggi dibandingkan dengan uji konvensional lain dalam mendiagnosis brucellosis, baik untuk sapi yang divaksin maupun yang tidak divaksin, sedangkan SAT lebih efektif untuk diagnosis sapi yang divaksin dengan galur 45/20 (Alton *et al.*, 1975b).

Dari 215 serum yang mempunyai titer SAT < 100 iu, 71 (33,02%) daripadanya memberikan reaksi RBPT (+1), 89 (41,39%) memberikan reaksi RBPT (+2) dan 55 (25,58%) memberikan reaksi RBPT (+3), sedangkan 234 serum yang mempunyai titer SAT ≥ 100 iu, 21 (8,97%) memberikan reaksi RBPT (+1), 36 (15,38%) memberikan reaksi RBPT (+2) dan 177 (75,64%) memberikan reaksi (+3) (Tabel 3). Dari hasil ini terlihat bahwa sebagian besar serum dengan derajat reaksi RBPT (+1) mempunyai titer SAT < 100 iu, sedangkan RBPT (+3) sebagian besar mempunyai titer SAT ≥ 100 iu. Dari 215 serum dengan titer SAT < 100 iu, 28 (13,02%) daripadanya mempunyai titer CFT < 1:4 (negatif), sedangkan dari 234 serum dengan titer SAT ≥ 100 iu, hanya ada 2 (0,85%) serum

bereaksi negatif CFT (Tabel 4). Dilihat dari daerah asal serum, ternyata ketujuh daerah itu memberikan distribusi titer CFT yang relatif hampir sama. Dari masing-masing daerah ditemukan serum dengan titer CFT mulai dari 1:4 sampai 1:128, yang secara keseluruhan distribusinya disajikan pada Gambar 1.

Tabel 3. Korelasi antara derajat reaksi RBPT dan titer SAT

Derajat reaksi RBPT	Jumlah	Titer SAT	
		< 100	≥ 100
+ 3	232	55	177
+ 2	125	89	36
+ 1	92	71	21

Keterangan: RBPT = Rose Bengal plate test
SAT = Serum agglutination test

KESIMPULAN

Distribusi titer CFT sapi sero-positif brucellosis adalah dari titer 1:4 sampai 1:128, yang terjadi hampir di seluruh daerah asal serum di Indonesia, dengan kasus terbanyak sebesar 24,28% yang bertiter CFT 1:16. Sebagian besar serum dengan derajat reaksi RBPT (+1) mempunyai titer SAT < 100 iu, sedangkan untuk serum dengan RBPT (+3) sebagian besar mempunyai titer SAT ≥ 100 iu. Sebanyak 13,02% serum dengan titer SAT < 100 iu mempunyai titer CFT < 1:4 (negatif) dan hanya 0,85% serum dengan titer SAT ≥ 100 iu yang bereaksi negatif dengan CFT (< 1:4).

Serum sapi positif RBPT dan CFT (sero-positif) yang mempunyai titer SAT < 100 iu masing-masing terjadi di Jawa Barat sebanyak 3,82%, NTT 2,15%, Lampung 5,49%, Bengkulu 0,24%, Sumatera Selatan 2,15% dan Sulawesi Selatan 32,94%. SAT mempunyai kepekaan yang lebih rendah dibandingkan dengan RBPT dan CFT, sehingga apabila digunakan sebagai satu-satunya uji penentu akan mempunyai tingkat akurasi yang rendah. Untuk mendapatkan hasil diagnosis yang memuaskan sebaiknya diusahakan menggunakan CFT dan atau ELISA sebagai uji penentunya.

Tabel 4. Korelasi antara titer SAT dan CFT dari serum sapi positif RBPT

Titer SAT (iu/ml)	Jumlah	Titer CFT						
		< 1:4	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
< 100	215	28	56	61	50	12	6	2
≥ 100	234	2	8	34	59	43	43	45

Keterangan: RBPT = Rose Bengal plate test
SAT = Serum agglutination test
CFT = Complement fixation test

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Kesehatan Hewan tipe B DKI Jakarta dan Kupang (NTT) serta Kepala Balai Penyidikan Penyakit Hewan (BPPH) Wilayah III Lampung atas kerjasamanya dalam pengiriman contoh serum.

DAFTAR PUSTAKA

- ALTON, G.G., L.M. JONES and D.E. PIETZ. 1975a. Laboratory Techniques in Brucellosis. WHO Monograph Series No. 55, WHO, Geneva.
- ALTON, G.G., J. MAW, B.A. ROGERSON and G.G. MCPHERSON. 1975b. The serological diagnosis of bovine brucellosis: An evaluation of the complement fixation test, serum agglutination and Rose Bengal test. *Aust. Vet. J.* 51: 57-62.
- ANONYMOUS. 1980. Standardised Rose Bengal test for bovine brucellosis. *Aust. Vet. J.* 56: 555.
- DOHOO, I.R., P.F. WRIGHT, G.M. RUCKERBAUER, B.S. SAMAGH, F.J. ROBERTSON and L.B. FORBES. 1986. A comparison of five serological test for bovine brucellosis. *Can. J. Vet. Res.* 50: 485-493.
- HOBBS, I.F. 1985. Comparison of the indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with the complement fixation test (CFT) for the serodiagnosis of bovine brucellosis. *N. Z. Vet. J.* 33: 112-116.
- MORGAN, B.W.J., D.J. MACKINNON, J.R. LAWSON and G.A. CULLEN. 1969. The Rose Bengal plate agglutination test in the diagnosis of brucellosis. *Vet. Rec.* 636-641.
- NICOLETTI, P. 1969. Further evaluation of serologic test procedures used to diagnose Brucella. *Am. J. Vet. Res.* 30: 1811-1816.
- STEMSHORN, B.W., L.B. FORBES, M.D. EAGLESOME, K.H. NEILSEN, F.J. ROBERTSON and B.S. SAMAGH. 1985. A comparison of standard serological test for the diagnosis of bovine brucellosis in Canada. *Can. J. Med.* 49: 391-394.