

ISSN 0216 - 7662

Volume XVII

No. 30

Semester II th. 1985



# **PENYAKIT HEWAN**

**BALAI PENELITIAN VETERINER  
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN  
DEPARTEMEN PERTANIAN**



# UJI PATOGENISITAS *NOCARDIA* SP. ISOLAT JAWA TENGAH PADA KELINCI

DIAENUDIN GHOLIB, SUKARDI HASTIONO DAN TOLIBIN ISKANDAR  
Balai Penelitian Veteriner, Bogor

## ABSTRACT

Three strains of nocardiae, namely *Nocardia* sp. from Central Java, *N. caviae* (ATCC 14629) and *N. brasiliensis* (ATCC 19295) from the American Type Culture Collection, were inoculated into rabbits. Four groups of rabbits containing four animals per group were used in this experiment. One group remained as uninfected controls. The results indicated that the lung and liver of animals infected with Central Java isolate and the lung, liver and kidney of animals infected with ATCC isolates showed various degrees of inflammations at the day of deaths and the week of killings.

## PENDAHULUAN

*Nocardia* spp. adalah aktinomiset aerobik yang hidup bebas di alam. Sejak ditemukannya kasus abses pada otak manusia dan kemudian isolasi pertama penyebabnya dilaporkan sekitar tahun 1890, *Nocardia* spp. dikenali sebagai penyebab berbagai penyakit klinis pada manusia dan hewan di seluruh penjuru dunia (Venugopal *dkk.*, 1980). Walaupun berbagai spesies *Nocardia* seperti *N. asteroides*, *N. brasiliensis* dan *N. caviae* telah berhasil diasingkan dari kasus-kasus nokardiosis dan dianggap sebagai penyebab penyakit ini, namun penyebab utamanya adalah *N. asteroides* (Kurup *dkk.*, 1970-b).

Untuk membedakan penyakit-penyakit yang disebabkan *Nocardia* spp. dari penyakit lain yang mungkin senama atau penyebabnya lain, Slack dan Gerencser (1975) menetapkan ketentuan tentang nokardiosis ini sebagai berikut :

- (1) *Nokardiosis*, dikenali sebagai *nokardiosis sistemik* yang biasanya diawali dengan infeksi pulmoner, dan hampir sebagian besar disebabkan oleh *N. asteroides*.
- (2) *Misetoma*, khusus yang disebabkan oleh *Nocardia* spp. disebut *nokardiomikosis*, disebabkan baik oleh *N. brasiliensis* maupun *N. caviae*. (*Misetoma* itu sendiri secara umum mempunyai pengertian yang lebih luas, yakni *misetoma aktinomikotik*, yang penyebabnya tidak saja *Nocardia* spp., tetapi juga *Streptomyces* spp., *Madurella* spp., *Monosporium* sp., *Cephalosporium* sp. dan *Phialophora* sp.).
- (3) *Sindroma limfokutaneus*, yang akhir-akhir ini banyak sekali diuraikan oleh para ahli, disebabkan oleh *N. brasiliensis*, yang secara

klinis mirip dengan penyakit sporotrikhosis, penyakit mikotik yang disebabkan oleh *Sporotrichum* sp.

Kejadian nokardiosis pada hewan di seluruh dunia telah diikhtisarkan dalam tulisan terdahulu, demikian pula kasus infeksi nokardial dan kaitannya dengan kejadian mastitis pada sapi (Gholib *dkk.*, 1984). Namun, uraian yang cukup luas tentang sejarah, penyebaran geografik dan prevalensinya pada hewan, dikemukakan oleh Jungerman dan Schwartzman (1972).

Sementara itu, uji patogenesis *Nocardia* spp. telah dilakukan berulang kali oleh para peneliti terdahulu yang menyangkut hewan percobaan kelinci, mencit, marmot, hamster, telur tertunas dan kera (Mohapatra & Pine, 1963; Kurup *dkk.*, 1970-a; Smith & Hayward, 1971; Mahajan *dkk.*, 1977). Dalam tulisan ini dilaporkan hasil inokulasi *Nocardia* sp. isolat Jawa Tengah yang berasal dari sapi perah yang terdampak menderita mastitis mikotik (Gholib *dkk.*, 1984) pada kelinci untuk mempelajari patogenesisnya.

## BAHAN DAN CARA

*Nocardia* sp. isolat Jawa Tengah (Gholib *dkk.*, 1984) merupakan bahan utama dalam penelitian ini. Kemudian, *N. caviae* (ATCC 14629) dan *N. brasiliensis* (ATCC 19295) yang berasal dari the American Type Culture Collection digunakan sebagai isolat pembanding. Ketiga isolat tersebut, untuk mempermudah uraian, berturut-turut diberi nama Isolat A, Isolat B dan Isolat C.

Kelinci sebanyak 16 ekor, yang terbagi atas 4 kelompok dan tiap kelompok berisi 4 ekor kelinci, merupakan hewan percobaan yang di-

gunakan dalam penelitian ini. Kelompok I, II dan III berturut-turut diinokulasi dengan Isolat A, B dan C, sedangkan Kelompok IV merupakan kontrol dan tidak diinfeksi apapun.

Percobaan dilakukan mengikuti cara yang pernah dikerjakan oleh Kurup *dkk.* (1970-a), baik yang menyangkut cara pembuatan inokulum beserta suspensinya dengan perbandingan 1: 40 (v/v), dosis inokulasi, yakni 1 ml/ekor, maupun cara inokulasinya, yaitu disuntikkan melalui pembuluh balik telinga (vena aurikularis). Kelinci-kelinci yang mendapat perlakuan maupun kontrol diamati setiap hari, kemudian pada minggu ke-1, ke-2 dan ke-4 kelinci dibunuh, selanjutnya diotopsi untuk diamati perubahan patologik dan histopatologiknya. Organ tubuh yang menunjukkan perubahan-perubahan tadi selanjutnya dibiakkan ke dalam medium perbiakan untuk diisolasi kembali organisme penyebabnya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kematian kelinci-kelinci percobaan ditemukan hanya pada Kelompok I, II dan III. Kematian terbanyak (2 ekor) dijumpai pada Kelompok II yang diinokulasi dengan *N. caviae* ATCC 14629 (Tabel 1).

Perubahan patologik dan histopatologik dari organ-organ tubuh kelinci baik yang mati maupun yang dibunuh pada tiap-tiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 2. Perubahan-perubahan tersebut terperinci sebagai berikut :

### 1. Kelompok I :

#### a. Mati pada hari ke-2 :

Pada hati ditemukan sarang-sarang peradangan yang secara histopatologik sel-selnya berdegenerasi disertai dengan adanya pembentukan jaringan pengikat.

#### b. Dibunuh pada minggu ke-1 :

1) Paru-paru memperlihatkan adanya infiltrasi limfosit dan sel-sel radang lainnya di sekitar bronkioli (Gambar 1).

2) Secara patologik dan histopatologik, hati memperlihatkan gambaran yang sama dengan kelinci yang mati tersebut di atas.

#### c. Dibunuh pada minggu ke-2 :

Perubahan yang menyolok hanya ditemukan pada paru-paru dengan gambaran histopatologik serupa dengan paru-paru ke-

**Tabel 1.** Daftar banyaknya kelinci yang mati dan dibunuh dalam percobaan patogenisitas *Nocardia* sp.

Kelompok	Mati		Dibunuh minggu ke			Jumlah
	Hari ke	Banyaknya	1	2	4	
I						
Diinokulasi isolat Jawa Tengah	2	1	1	1	1	4
II						
Diinokulasi isolat ATCC 14629	4 & 5	2	1	1	—	4
III						
Diinokulasi isolat ATCC 19295	12	1	1	1	1	4
IV						
Tidak diinokulasi (kontrol)	—	—	1	1	2	4
Jumlah	—	4	4	4	4	16

**Tabel 2.** Daftar perubahan patologik/histopatologik paru-paru, hati, ginjal dan limpa dari kelinci-kelinci yang mati dan dibunuh dalam percobaan patogenisitas *Nocardia* sp.

Kelompok	Kelinci yang mati/dibunuh	P e r u b a h a n			
		Paru2	Hati	Ginjal	Limpa
I					
Diinokulasi isolat Jawa Tengah	— Mati hari ke-2	—	+	—	—
	— Dibunuh minggu ke-1	+	+	—	—
	— Dibunuh minggu ke-2	+	—	—	—
	— Dibunuh minggu ke-4	—	—	—	+
II					
Diinokulasi isolat ATCC 14629	— Mati hari ke-4	+	+	+	—
	— Mati hari ke-5	+	+	+	—
	— Dibunuh minggu ke-1	—	+	—	—
— Dibunuh minggu ke-2	—	—	+	—	
III					
Diinokulasi isolat ATCC 19295	— Mati hari ke-12	+	+	—	—
	— Dibunuh minggu ke-1	+	+	—	—
	— Dibunuh minggu ke-2	—	—	—	—
— Dibunuh minggu ke-4	+	—	—	—	
IV					
Tidak diinokulasi (kontrol)	— Dibunuh minggu ke-1	—	—	—	—
	— Dibunuh minggu ke-2	—	—	—	—
	— Dibunuh minggu ke-4	—	—	—	—

Keterangan : + = ada perubahan patologik/histopatologik

— = tidak ada perubahan apapun

linci yang dibunuh pada minggu ke-1 di atas.

d. Dibunuh pada minggu ke-4 :

Tidak ditemukan perubahan yang berarti pada organ-organ tubuh yang diamati selain hemosiderosis pada limpanya.

2. Kelompok II :

a. Mati pada hari ke-4 :

- 1) Ada pembendungan dan perdarahan hebat di seluruh jaringan paru-paru serta infiltrasi limfosit di sekitar bronkioli.
- 2) Selain ada perdarahan dan pembendungan hebat di seluruh jaringan hati, ditemukan pula degenerasi lemak dan fibrosis.
- 3) Perdarahan dan pembendungan ditemukan pula di seluruh jaringan ginjal disertai dengan adanya infiltrasi limfosit secara fokal.

b. Mati pada hari ke-5 :

- 1) Paru-paru memperlihatkan adanya perikjuan dan secara histopatologik di seluruh jaringannya ditemukan fragmentasi *Nocardia* sp.
- 2) Hati mengalami oedem dan secara histopatologik ditemukan fragmentasi *Nocardia* sp. di seluruh jaringannya, terutama di antara sel-sel hati, di ruang sinus dan dalam pembuluh darahnya (vena sentralis) disertai adanya fibrosis (Gambar 2).
- 3) Seluruh jaringan ginjal mengalami pembendungan dan perdarahan pula disertai dengan adanya infiltrasi limfosit secara fokal.

c. Dibunuh pada minggu ke-1 :

Sarang-sarang radang dijumpai hanya pada hatinya.

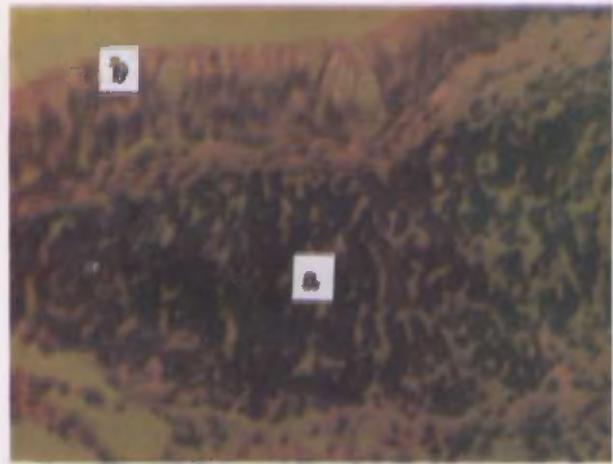
d. Dibunuh pada minggu ke-2 :

Pada ginjal ditemukan abses kecil (nodul) di permukaannya yang secara histopatologik seluruh parenkimnya penuh dengan sarang-sarang nekrose yang terdiri dari sel-sel radang neutrofil, limfosit dan sel raksasa (Gambar 3).

3. Kelompok III :

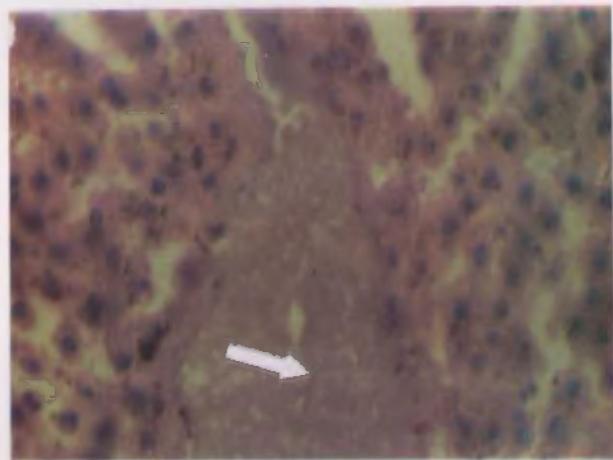
a. Dibunuh pada minggu ke-1 :

- 1) Paru-paru memperlihatkan adanya infiltrasi limfosit di sekitar bronkioli.



Gambar 1.

Infiltrasi limfosit dan sel-sel radang lainnya (a) di sekitar bronkiolus (b) dari paru-paru.



Gambar 2.

Fragmen-fragmen *Nocardia* (tanda panah) dalam vena sentralis dari hati.



Gambar 3.

Sarang fokal nekrose pada jaringan ginjal (tubuli) dikelilingi limfosit, neutrofil dan sel-sel raksasa (tanda panah).

2) Ada sarang-sarang radang pada hati yang secara histopatologik menunjukkan adanya infiltrasi limfosit secara fokal di sekitar jaringannya dan ditemukan pula degenerasi lemak.

**b. Mati pada hari ke-12 :**

- 1) Paru-paru berwarna merah tua dan ditemukan sarang-sarang nekrose disertai adanya sel-sel epiteloid.
- 2) Hati membengkak (oedem) dan berkonsistensi keras, dan secara histopatologik ditemukan perdarahan di seluruh jaringan dan nekrose.

**c. Dibunuh pada minggu ke-2 :**

Tidak memperlihatkan adanya perubahan apapun pada organ-organ tubuhnya.

**d. Dibunuh pada minggu ke-4 :**

Paru-paru berwarna merah tua yang secara mikroskopik menunjukkan adanya infiltrasi limfosit dan neutrofil di sekitar bronkioli disertai dengan adanya perdarahan dan pembendungan.

**Tabel 3.** Daftar hasil pengisolasian kembali organisme dari paru-paru, hati, ginjal dan limpa kelinci yang mati dan dibunuh dalam percobaan patogenesisitas *Nocardia* sp.

K e l o m p o k	Hasil isolasi kembali organisme dari			
	Paru2	Hati	Ginjal	Limpa
I Diinokulasi isolat Jawa Tengah	-	+	-	-
II Diinokulasi isolat ATCC 14629	+	+	+	+
III Diinokulasi isolat ATCC 19295	-	-	-	-
IV Tidak diinokulasi (kontrol)	-	-	-	-

**Keterangan :** + = ada pertumbuhan organisme  
- = tidak ada pertumbuhan organisme

**4. Kelompok IV :**

Semua kelinci kontrol tidak ada yang memperlihatkan perubahan patologik dan histopatologik pada organ-organ tubuhnya.

Dari organ-organ tubuh yang memperlihatkan adanya perubahan-perubahan seperti terlihat

pada Tabel 2, hanya dari Kelompok I dan II saja yang dapat diisolasi kembali organisme penyebabnya (Tabel 3). Dalam tabel ini terlihat bahwa *Nocardia* sp. isolat Jawa Tengah dapat diisolasi kembali hanya dari hati, sedangkan *N. caviae* ATCC 14629 dapat diisolasi kembali dari paru-paru, hati, ginjal dan limpa, dan *N. brasiliensis* ATCC 19295 kosong.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *Nocardia* sp. isolat Jawa Tengah termasuk spesies yang patogenik, karena pada hari ke-2 telah ada kematian pada kelinci yang diinokulasi dengan spesies ini, dan jejas-jejas serta perubahan nekrose dan radang ditemukan pada paru-paru dan hati, kemudian organisme penyebabnya dapat diisolasi kembali walaupun hanya dari hatinya. Kesimpulan ini didasarkan atas pendapat Mohapatra dan Pine (1963), bahwa apabila organisme yang diinokulasi ini secara aktif dapat tumbuh dan memperbanyak diri dalam tubuh hewan percobaan (dengan akibat organismenya dapat diisolasi kembali), maka hal ini merupakan suatu bukti dari patogenisitas organisme tersebut.

Mohapatra dan Pine (1963) juga mengemukakan lebih lanjut bahwa index patogenisitas sesuatu organisme ditentukan oleh kriteria, yaitu dapat diisolasi kembali organisme dari limpa dalam waktu 2 minggu sesudah inokulasi. Karena dalam percobaan ini organisme hanya berhasil diisolasi kembali dari hati, maka sesuai dengan ketentuan tersebut, *Nocardia* sp. isolat Jawa Tengah ini termasuk spesies yang patogenik dengan virulensi yang rendah.

Hasil penelitian inipun menunjukkan bahwa *N. caviae* ATCC 14629 paling patogenik dibandingkan dengan spesies lainnya. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan baik oleh Kurup *dkk.* (1970-a) maupun Smith dan Hayward (1971).

Menurut Mohapatra dan Pine (1963), uji patogenisitas *Nocardia* spp. akan lebih dipermudah, dalam arti patogenisitasnya dipertinggi secara nyata apabila mempergunakan musin lambung (gastric mucin) sebagai adjuvan inokulum. Kurup *dkk.* (1970-a) menyatakan bahwa inokulasi *N. caviae* pada mencit putih dengan menggunakan musin lambung tersebut akan memberikan mortalitas 90 % dalam minggu pertama, sedangkan apabila tanpa musin lambung, mortalitasnya hanya 15 %. Di pihak lain, jejas-jejas pada organ tubuhnya pada kelompok dengan musin lambung sebagai adjuvannya dijumpai

pada 83 % mencit yang diinokulasi, sedangkan pada kelompok lain (suspensi garam faali sebagai adjuvan), jejas hanya ditemukan pada 47 % mencit. Gambaran serupa ditemukan pada *N. brasiliensis*, yaitu jejas-jejas pada organ tubuh ditemukan pada 100 % mencit yang diinokulasi dengan menggunakan musin lambung, sedangkan inokulasi tanpa musin lambung menimbulkan jejas hanya pada 18,70 % mencit.

Dalam penelitiannya, Kurup *dkk.* (1970-a) menyimpulkan bahwa dibandingkan dengan hewan-hewan percobaan seperti mencit, marmot dan kelinci, maka inokulasi ke dalam selaput khorio-alantois (chorio-allantoic membrane, CAM) telur tertunas merupakan cara yang tepat untuk menguji patogenisitas *Nocardia* spp. Dengan menggunakan CAM ini, tidak saja memberi hasil yang mantap dan cepat, tetapi juga penanganannya lebih mudah dan harganya lebih murah.

Dalam penelitian yang akan datang, diharapkan diperoleh hasil yang lebih baik dengan dapat disediakannya musin lambung dan dapat dilakukannya percobaan dengan menggunakan CAM, dibantu dengan tersedianya peralatan dan kemudahan pokok lainnya yang sangat diperlukan. Harapan selanjutnya adalah dapat diketahui patogenisitasnya secara lebih akurat dan sekaligus identifikasinya, sehingga *Nocardia* sp. isolat Jawa Tengah dapat ditetapkan spesies yang sebenarnya.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada Mr. Colin King, para penulis mengucapkan terima kasih atas bantuannya menyediakan isolat-isolat *Nocardia* yang berasal dari

ATCC. Demikian pula kepada seluruh staf dan teknisi disiplin Patologi atas ketekunannya menyiapkan dan membuat sediaan histopatologi, sehingga tulisan ini dapat terselesaikan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- GHOLIB, D., S. HASTIONO, SUDARISMAN, P. ZAHARI dan L. NATALIA. 1984. Isolasi *Nocardia* sp. dari suatu kasus mastitis pada sapi perah. *Penyakit Hewan* 16 (28) : 233 - 237.
- JUNGERMAN, P.F. & R.M. SCHWARTZMAN. 1972. *Veterinar Medical Mycology*. Lea & Febiger, Philadelphia, USA.
- KURUP, P.V., H.S. RANDHAWA, R.S. SANDHU & S. ABRAHAM. 1970-a. Pathogenicity of *Nocardia caviae*, *N. asteroides* and *N. brasiliensis*. *Mycopath. Mycol. appl.* 40 : 113 - 130.
- KURUP, P.V., H.S. RANDHAWA & N.P. GUPTA. 1970-b. Nocardiosis : A review. *Mycopath. Mycol. appl.* 40 : 193 - 220.
- MAHAJAN, V.M., S.C. PADHY, Y. DAYAL, I.M. BHATIA & K.S. RATNAKAR. 1977. Experimental pulmonary nocardiosis in monkeys. *Sabouraudia* 15 : 47 - 50.
- MOHAPATRA, L.N. & L. PINE. 1963. Studies on the pathogenicity of aerobic actinomycetes inoculated into mice intravenously. *Sabouraudia* 2 : 176 - 184.
- SLACK, J.M. & M.A. GERENCSEK. 1975. *Actinomyces, Filamentous Bacteria. Biology and Pathogenicity*. Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minnesota, USA.
- SMITH, I.M. & A.H.S. HAYWARD. 1971. *Nocardia caviae* and *Nocardia asteroides*: Comparative bacteriological and mouse pathogenicity studies. *J. Comp. Path.* 81 : 79 - 87.
- VENUGOPAL, P.V., T.V. VENUGOPAL, S. SUBRAMANIAN & S. ARUMUGAM. 1980. *Nocardia* species from brochopulmonary infections and mycetomas. *Sabouraudia* 18 : 11 - 18.