

Deteksi Anaplasmosis pada Sapi dan Kerbau di Banyuwangi dengan Ulas Darah Tipis dan *Polymerase Chain Reaction*

(Detection of Anaplasmosis in Cattle and Buffalo at Banyuwangi By Using Thin Blood Smear and Polymerase Chain Reaction)

Sawitri DH, Wardhana AH

Balai Besar Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114
dyah.haryuningtyas@gmail.com

ABSTRACT

Anaplasmosis are rickettsia diseases that cause significant economic losses in tropical and subtropical areas. The disease is transmitted biologically by ixodid ticks and mechanically by biting flies. Cattle became carriers of the disease for prolonged period of time after primary infection. Due to unspecific clinical signs, the diagnosis of anaplasmosis infection depends on laboratory confirmation. A molecular diagnostic assays such as Polymerase Chain Reaction (PCR) have been developed which is highly sensitive and specific methods. This study was aimed to detect *Anaplasma marginale* in cattle and buffalo from Banyuwangi district by using parasitological and molecular methods. One hundred and eighty three blood samples from cattle and buffalo were collected from Banyuwangi district, province of East Java. The presence of the rickettsia was assessed using thin blood smear and Polymerase Chain Reaction. The PCR assay conducted by using primer msp5 gene (457 bp) specific for *A. marginale*. The result showed that 43 samples (28%) out of 152 blood samples were positive for *Anaplasma marginale* by thin blood smear. Meanwhile, the result of PCR showed that 63 samples (41%) were positive for *A. marginale*. The lower positive result of blood smears due to the low level of ricketsemia in the cattle, so it needs to be confirmed by PCR test. This rickettsia infection occurs in cattle and buffaloes at all ages (6 months - >2 years) where almost all did not show any clinical symptoms. Detection of anaplasmosis by PCR was faster and performed higher sensitivity than thin blood smear so can minimize false negative result. Surveillance of anaplasmosis on the field using PCR needs to be conducted considering that healthy animals can act as reservoir and transmit it to other healthy animals.

Key words: *A. marginale*, cattle, buffalo, thin blood smear, polymerase chain reaction

ABSTRAK

Anaplasmosis merupakan penyakit riketsia yang menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan di daerah tropis dan sub tropis. Penyakit ini ditularkan secara biologis oleh kutu ixodid dan secara mekanis oleh lalat penggigit. Sapi akan menjadi pembawa penyakit (karier) dalam jangka waktu yang lama setelah infeksi pertama. Gejala klinis dari penyakit ini tidak spesifik sehingga diagnosis is tergantung pada

konfirmasi hasil uji laboratorium. Tes diagnosis molekuler seperti *polymerase chain reaction* (PCR) telah dikembangkan dan merupakan metode yang sensitif dan spesifik. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi *Anaplasma marginale* pada sapi dan kerbau di kabupaten Banyuwangi dengan menggunakan metode parasitologis dan molekuler. Sebanyak 152 sampel darah sapi dan kerbau dikoleksi dari lapang. Infeksi riketsia dalam darah diperiksa dengan metode ulas darah tipis dan PCR. Uji PCR dilakukan dengan menggunakan primer dari gen *msp5* sepanjang 457 bp spesifik untuk *A. marginale*. Hasil penelitian dengan ulas darah menunjukkan bahwa 43 sampel (28%) positif *A. marginale*. Sedangkan hasil PCR menunjukkan bahwa 63 sampel (41%) positif *A. marginale*. Hasil positif ulas darah yang lebih rendah karena rendahnya tingkat riketsiemia pada tubuh ternak, sehingga perlu dikonfirmasi dengan uji PCR. Infeksi riketsia ini terjadi pada sapi dan kerbau anak dan dewasa (6 bulan-lebih dari 2 tahun) di mana pada semua hewan yang terinfeksi tidak menunjukkan gejala klinis. Deteksi anaplasmosis dengan PCR memiliki sensitifitas yang lebih tinggi dari metode ulas darah tipis, sehingga dapat meminimalisir hasil negatif palsu. Surveilans anaplasmosis di lapang dengan PCR perlu dilakukan mengingat hewan sehat dapat bertindak sebagai reservoir dan menularkan ke hewan sehat yang lain.

Kata kunci: *A. marginale*, sapi, kerbau, ulas darah tipis, *Polymerase Chain Reaction*

PENDAHULUAN

Anaplasmosis merupakan salah satu penyakit penting yang ditularkan oleh caplak (*tick born diseases*) pada ruminasia besar di seluruh dunia yang menyebabkan kerugian ekonomi yang tinggi di daerah tropis dan sub tropis (Kocan et al. 2000; Hailemariam et al. 2017). Prevalensi anaplasmosis dilaporkan 9% di Turki (Aktas et al. 2011); 34% di Iran (Soosaraei et al. 2020); 14,5% di Ethiopia barat daya (Hailemariam et al. 2017); 67,3% di Philipina (Aquino et al. 2018), dan 18,3% di Pakistan (Ashraf et al. 2020). Kerugian ekonomi telah dilaporkan dari beberapa negara akibat wabah anaplasmosis, yaitu di India (Nair et al. 2013), Tunisia (M'ghirbi et al. 2016), Bangladesh (Islam et al. 2019), Pakistan (Khan et al. 2017). Wabah anaplasma di Indonesia belum ada laporannya walaupun banyak ditemukan infestasi anaplasma pada ternak di lapang di beberapa wilayah di Indonesia (Sawitri et al. 2018). Menurut Dyahningrum et al. (2019) kejadian anaplasmosis pada darah sapi kurban di Surabaya dan Sidoarjo saat Idul Adha 1438H sebesar 0,02% (3/145). Prevalensi Anaplasmosis pada sapi bali di Kecamatan Lalabata, Kabupaten Soppeng Sulawesi Selatan, sebesar 3,2% (Sam 2015).

Penyakit ini merupakan salah satu penyakit penting di dunia, sehingga saat ini termasuk pada daftar 117 penyakit infeksi, infestasi yang terdaftar dalam *Office International des Epizootics* (OIE) 2020 terkait terminologi perjanjian sanitari dan phytosanitari organisasi perdagangan dunia yang diklasifikasikan sebagai bahaya spesifik dalam perdagangan internasional (OIE 2020). Riketsia ini

merupakan patogen obligat intraseluler yang termasuk dalam genus *Anaplasma* (Order *Rickettsiales*, Family *Anaplasmataceae*) (Aubry & Geale 2011).

Ada beberapa spesies anaplasma yang menginfeksi ternak yaitu *A. marginale*, *A. phagocytophilum*, *A. centrale*, dan *A. bovis* (Matsumoto et al. 2006). Namun demikian *A. marginale* merupakan spesies yang mempunyai prevalensi tertinggi dan tersebar diseluruh dunia (Kocan et al. 2003). Spesies ini sangat patogen terutama pada ternak muda sampai dengan umur 2 tahun, yaitu menyebabkan penyakit yang mengakibatkan anemia progressif dan kekuningan/ikterus (Kuttler 1984). Manifestasi klinis berupa anemia, demam, kehilangan berat badan, kekuningan (*jaundice*), hemoglobinuria, penurunan produksi susu, aborsi, dan akhirnya mengalami kematian umum terjadi pada ruminansi dengan infeksi anaplasma (Ashuma et al. 2013). Anemia berkembang karena stres oksidatif eritrosit, meningkatnya kerapuhan dan penghancuran eritrosit oleh *Theileria* di sistem retikuloendotelial. Variasi biokimia dan klinis yang terlihat pada penyakit hubungan dengan derajat parasitemia, derajat anemia, dan keparahan hipoksia (Temiz et al. 2014). Anaplasmosis akut berhubungan dengan kematian dan abortus pada sapi potong dan sapi perah ditandai adanya demam, anemia, dan kekuningan mengikuti masa inkubasinya selama 3-6 minggu (Coetzee et al. 2010). Penyakit ini dapat ditularkan melalui vektor biologis (caplak ixodida) dan vektor mekanis (tabanid, musca) atau droplet yang terkontaminasi (Kocan et al. 2000). Transmisi secara mekanis oleh darah yang terinfeksi dapat terjadi beberapa menit karena parasit tidak dapat hidup lama di luar tubuh pejamu (Whittier et al. 2009).

Gejala klinis dari anaplasmosis tidak spesifik, sehingga diagnosis infeksi tergantung dari konfirmasi laboratorium. Pengujian dengan metode konvensional kurang sensitif untuk mendiagnosis infeksi *A. marginale* karena bentuk rickettsia yang sangat kecil di samping juga jumlah sedikit pada kasus kronis akan menghambat diagnosis. Setelah sembuh dari infeksi pertama ternak akan menjadi karier secara persisten dalam jangka waktu yang panjang atau bahkan seumur hidup (Kocan et al. 2000). Deteksi pada hewan karier sangat penting untuk epidemiologi penyakit karena berperan sebagai reservoir bagi caplak dan berpotensi menyebarkan pada lokasi baru (Nair et al. 2013). Infeksi persisten ditandai dengan siklus ricketsemia berulang dengan eritrosit terinfeksi antara $10^{2.5}$ - 10^7 eritrosit/ml dapat terjadi setelah sembuh dari anaplasmosis akut (French et al. 1998) Diagnosis anaplasmosis pada sapi secara umum dilakukan dengan menggunakan ulas darah tipis dengan pewarnaan Giemsa dilakukan untuk mendeteksi *A. marginale* dari hewan yang terinfeksi secara klinis pada fase akut. Metode ini tidak mampu mendeteksi jika tingkat ricketsemia rendah, yaitu jika tidak tampak gejala klinis, kasus kronis atau hewan karier (Aubry & Geale 2011). Diagnosis secara serologis seperti *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) kurang sensitif untuk mendeteksi jumlah parasit yang rendah. Hal ini mempunyai implikasi yang sangat penting untuk kontrol penyakit karena akan sangat riskan jika ternak negatif palsu ditransportasikan ke daerah non endemis (Bilgiç et al.

2013). Teknik PCR digunakan untuk mendeteksi infeksi dengan jumlah parasit yang rendah dan membedakan spesies Anaplasma (Khaki et al. 2015; Rodriguez-morales et al. 2019). Limit deteksi PCR (dengan analisis Se) dilaporkan adalah 24 eritrosit yang terinfeksi per microliter darah (setara dengan 0,0001% eritrosit terinfeksi) (Figueroa et al. 1993).

Protein membran luar Anaplasma yang dikenal dengan nama *Major Surface Protein* (MSPs) telah diidentifikasi pada *A. marginale* yang berasal dari eritrosit sapi (Barbet 1995). Protein permukaan utama mempunyai peran penting dalam interaksi *A. marginale* dengan sel inang dalam menyebabkan infeksi (Aubry & Geale 2011). Protein ini merupakan target respons imun pejamu dan juga digunakan sebagai piranti diagnostik. Protein MSP 5 dilaporkan *conserved* pada semua isolat *A. marginale* (Echaide et al. 1998). Shimada et al. (2004) melaporkan gen MSP5 spesifik untuk deteksi anaplasma dengan metode PCR. Penelitian ini bertujuan apakah *A. marginale* telah menginfeksi sapi dan kerbau di kabupaten Banyuwangi dengan menggunakan metode parasitologis (ulas darah) dan dikonfirmasi dengan PCR.

MATERI DAN METODE

Koleksi sampel darah sapi/kerbau dari lapangan

Penelitian lapang ini dilakukan pada tahun 2018 di 2 kecamatan (Pesanggaran dan Purwoharjo) di kabupaten Banyuwangi (Provinsi Jawa Timur) dan diperoleh total 152 sampel darah terdiri 136 sampel darah sapi dan 16 sampel darah kerbau. Sebanyak 6 ml sampel darah diambil dari vena jugularis di daerah leher dengan tabung *vacutainer* yang mengandung heparin. Setetes darah selanjutnya diambil untuk pembuatan preparat ulas darah. Sisa darah dalam tabung dimasukkan ke dalam kotak es dan disimpan pada suhu -20°C untuk analisis lebih lanjut (Sawitri & Wardhana 2017). Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Kesejahteraan Hewan Balitbangtan dengan nomer registrasi Balitbangtan/BBlitvet/Rm/03/2018.

Pembuatan preparat ulas darah tipis

Pembuatan preparat ulas darah tipis dilakukan pada darah heparin segera setelah pengambilan darah. Sebanyak 5 mikroliter darah diteteskan pada seperempat ujung gelas obyek selanjutnya diapus dengan gelas obyek yang lain dengan sudut kemiringan 45°C. Setelah ulas darah kering, selanjutnya dilakukan fiksasi dengan methanol absolut dan pengecatan Giemza 10% (OIE 2012). Preparat selanjutnya diamati di bawah mikroskop binokuler dengan perbesaran 1000x. Anaplasma tampak sebagai inklusi padat homogen, berwarna biru ungu

berdiameter 0,3-1 μm . Inklusi *A.marginale* terletak pada batas eristrosit terinfeksi (Coetzee 2013).

Ekstraksi DNA

Total DNA genom darah sapi/kerbau diekstraksi menggunakan Genomic DNA Minikit (Geneaid) mengikuti prosedur pabrikan. DNA yang diperoleh selanjutnya disimpan pada -20 sampai dengan digunakan.

Polymerase chain reaction (PCR)

Primer yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu *msp5* gen dengan susunan primer *forward* 5'-GCA TAG CCT CCG CGT CTT TC-3'-dan *reverse* 5'-TCC TCG CCT TGG CCC TCA GA-3'(Shimada et al. 2004). Amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan *biorad thermal cycler* (Bio-Rad Laboratories). Amplifikasi primer dilakukan menggunakan My Taq™ HS DNA Polymerase kit (Bioline, UK) yang terdiri dari My taq reaction buffer sebanyak 12,5 μl ; My Taq HS DNA polymerase 0,5 μl , Primer *forward* dan *reverse* (10 μM) masing-masing sebanyak 2 μl ; DNA template (50-100 ng) sebanyak 2 μl dan PCR *grade water* 12,5 μl dengan total volume reaksi 25 μl . Kondisi PCR yang digunakan adalah denaturasi awal 95°C selama 3 menit sebanyak 1 siklus diikuti 35 siklus dengan denaturasi 95°C selama 30 detik, annealing 57°C selama 15 detik, ekstensi 72°C selama 15 detik serta ekstensi terakhir 72°C selama 10 menit. Produk PCR divisualisasi dengan elektroforesis pada gel agarosa 1,5%.

Analisis data

Data yang diperoleh pada penelitian ini ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif yang disajikan dalam bentuk gambar, tabel, dan grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan terhadap 136 sampel darah sapi dan 16 sampel darah kerbau yang dikoleksi dari kecamatan Pesanggaran dan Purwoharjo kabupaten Banyuwangi pada tahun 2018 dan diperiksa secara ultras darah dan PCR dapat dilihat pada Tabel 1. Tingkat ricketsemia pada sampel yang diperiksa antara 0,1-0,2%. Hasil yang diperoleh dari kedua metoda pengujian menunjukkan hasil yang berbeda, berdasarkan pemeriksaan ultras darah menunjukkan hasil positif 28% (43/152) sementara dengan teknik PCR menunjukkan hasil positif 41% (63/152). Hasil studi ini tidak jauh berbeda dengan studi yang dilakukan oleh Khaki et al. (2015) di Iran bahwa uji PCR menunjukkan sensitifitas yang lebih tinggi 20% dibanding metode mikroskopis, yaitu dari 109 sampel darah sapi sebanyak 32,1% (35/109) dan 53,2% (50/94) menunjukkan hasil positif anaplasma masing-masing

dengan pemeriksaan ulas darah dan PCR. Pada studi ini PCR menunjukkan sensitifitas yang lebih tinggi sekitar 13% dibandingkan ulas darah. Metode diagnosis berbasis DNA dengan sensitifitas dan spesifitas yang tinggi dikembangkan sebagai alat diagnostik yang akurat untuk studi epidemiologi anaplasmosis pada sampel darah sapi (Molad et al. 2006).

Sensitifitas PCR yang lebih tinggi daripada sampel preparat ulas darah dapat disebabkan antara lain karena ternak terinfeksi kronis, ternak sebagai karier atau reservoir, sehingga level riketsemia sangat rendah atau dapat juga karena kualitas preparat ulas darah yang terkadang kurang optimal dengan terbentuk artefak, sehingga menyulitkan pemeriksaan secara mikroskopis. Menurut Hamou et al. (2012) mikroskop cahaya merupakan metode sederhana untuk diagnosis *A. marginale* dalam sel darah merah dengan pengecatan giemza pada fase akut. Namun demikian metode berbasis mikroskop tidak dapat digunakan untuk mendeteksi riketsemia rendah pada hewan karier di samping karena morfologi anaplasma dalam sel darah merah sulit dibedakan dengan Heinz bodies dan artefak pewarnaan (Noaman et al. 2010) Berdasarkan kelompok umur angka kejadian anaplasmosis pada sapi umur 6 bulan-2 tahun sebesar 6,6% (10/152) sedangkan sapi dewasa (>2 tahun) sebesar 18,4% (28/152) pada pemeriksaan dengan ulas darah tipis. Sedangkan pada pemeriksaan dengan PCR menunjukkan persentase kejadian anaplasmosis yang lebih besar, yaitu 11,1% (17/152) dan 23% (36/152) masing-masing pada sapi berumur 6 bulan-2 tahun dan sapi dewasa. Pada kerbau angka kejadian anaplasmosis pada anak umur 6 bulan-2 tahun dan dewasa (>2 tahun) dengan metode ulas darah dan PCR masing-masing adalah 2% (3/152) dan 3,3%(5/152) serta 1,3%(2/152) dan 3,3% (5/152). Namun demikian jika dilihat berdasarkan jenis hewan dan kelompok umur maka kerbau mempunyai persentase positif yang lebih tinggi daripada sapi baik pada hewan muda maupun dewasa.

Tabel 1. Hasil pengujian sampel darah sapi dan kerbau di Banyuwangi dengan ulas darah dan PCR

Jenis hewan	Umur	Jumlah sampel	Positif <i>A. marginale</i> (%)	
			Ulas darah	PCR
Sapi	6 bln - 2 tahun	41	6,6% (10/152)	11,1% (17/152)
	>2 tahun	95	18,4% (28/152)	23,7% (36/152)
Kerbau	6 bln-2 tahun	8	2% (3/152 %)	3,3% (5/152)
	>2 tahun	8	1,3% (2/152)	3,3% (5/152)
Total		152	28% (43/152)	41% (63/152)

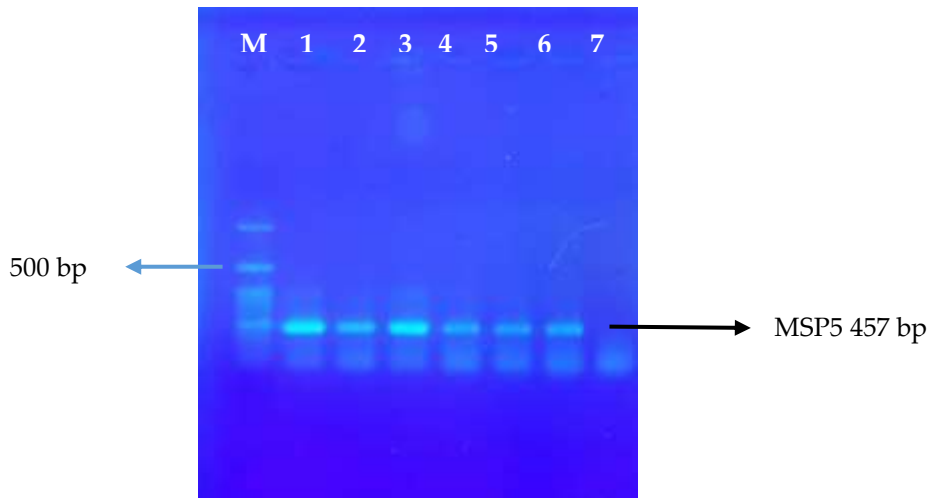
Prosentase kejadian anaplasmosis pada kerbau berdasarkan jenis hewan dengan pemeriksaan PCR (Tabel 1) lebih tinggi dibandingkan pada sapi baik pada

kerbau 6 bulan-2 tahun maupun kerbau dewasa. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kerbau digembalakan di dekat hutan di mana populasi vektor lebih banyak. Transmisi dari satu ternak ke ternak lain umumnya melalui vektor caplak atau lalat. Namun demikian jumlah sampel kerbau yang digunakan dalam penelitian ini memang sangat terbatas. Secara umum sistem penggembalaan ternak, kondisi iklim, ukuran kandang, strain anaplasma, populasi kutu sebagai vektor merupakan variable yang mempengaruhi prevalensi infeksi (Rosso et al. 2017). Jika migrasi vektor terjadi dalam jumlah yang cukup di antara ternak di lapangan maka penularan *A. marginale* akan bervariasi sesuai dengan *rickettsaemia* ternak di mana kutu menghisap darah sebelumnya (Aguirre et al. 1994).

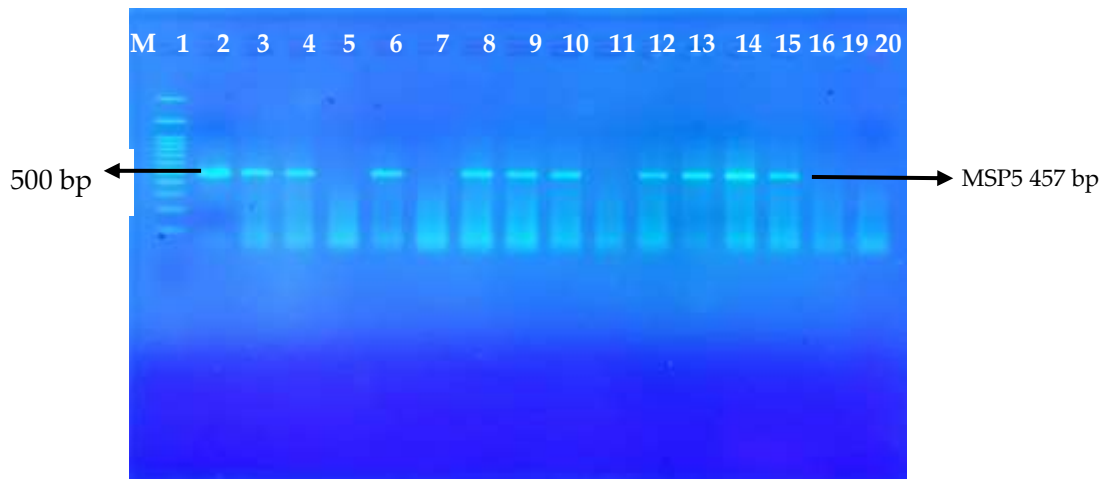
Optimasi PCR dilakukan dengan menggunakan 7 sampel lapang positif dan 3 sampel lapang negatif anaplasma pada pemeriksaan preparat ulas darah. Hasil PCR menunjukkan sebanyak 7 sampel positif ulas darah dengan ricketsemia antara 0,1 sampai 0,01% menunjukkan positif PCR, sedangkan dari 3 sampel negatif ulas darah sebanyak 2 sampel menunjukkan positif PCR dan 1 sampel negatif PCR. Hasil PCR dari 3 sampel positif ulas darah dan 2 sampel negatif ulas darah ditunjukkan pada Gambar- 2. Menurut Kieser et al. (1990) ternak yang sembuh dari anaplasmosis akut akan terinfeksi secara persisten ditandai dengan siklus ricketsemia yang berulang dengan level riketsia $10^{2.5}$ - 10^7 eritrosit per ml. Kualitas preparat ulas darah terkadang kurang optimal atau level ricketsemia sangat rendah, sehingga menyulitkan diagnosis.

Abdisa (2019) menyatakan diagnosis anaplasmosis pada sapi dapat ditegakkan dengan metode preparat ulas darah pada ternak yang terinfeksi secara klinis pada fase akut tetapi tidak dapat dilakukan pada hewan terinfeksi kronis atau karier. Menurut M'ghirbi et al. (2016) metode PCR telah dikembangkan untuk mengidentifikasi DNA *A. marginale* secara sensitif dan spesifik. PCR merupakan "standar emas" untuk mendeteksi ternak yang terus terinfeksi (Torioni de Eschaide et al. 2005) (Tabel-1).

Pengembangan metode diagnostik dengan target yang tepat perlu dipilih untuk mendapatkan akurasi untuk determinasi infeksi. Penggunaan gen MSP5 yang terlibat dalam interaksi patogen dengan inang dan interaksi pathogen dengan caplak digunakan sebagai marker karakterisasi genetik spesies *A. marginale* (Echaide et al. 1998).



Gambar 2. Hasil optimasi PCR pada sampel darah sapi positif *Anaplasma marginale* dengan primer MSP5 sepanjang 457 bp. Pita 1: kontrol (+), Pita 2, 3, 4 sample darah sapi dengan tingkat riketsemia masing masing adalah 0,1; 0,2; 0,1; 0,02; dan 0,01%, Pita 7 sample darah sapi negatif ulas darah. M; Marker, Pita 7: Kontrol (-)



Gambar-3. Hasil Visualisasi PCR dengan primer MSP5 sepanjang 457 bp pada gel agarose 1,5% dari sampel darah sapi asal Banyuwangi. M:Marker; Pita 1:Kontrol+; Pita 2, 3, 7, 8, 12, 13, 14 adalah sampel darah positif anaplasma pada pengujian ulas darah; Pita 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 15 adalah sampel darah negatif anaplasma pada pengujian ulas darah. Pita 16 Kontrol (-)

Pada penelitian ini hewan yang diambil darahnya sebagian besar dalam keadaan sehat, sebanyak 2 ekor sapi dewasa berumur >2 tahun menunjukkan

kondisi anemis, kurus, dan kurang terawat. Hasil pemeriksaan darah pada dua ekor sapi tersebut juga menunjukkan positif anaplasma baik pada pemeriksaan ulas darah dan PCR. Menurut Whittier et al. (2009) patogenesis anaplasma pada hewan adalah pada saat ternak peka terinfeksi, rickettsia ini akan bermultiplikasi pada sistem peredaran darah dan menempel pada sel darah merah. Reaksi sistem imun untuk menghancurkan parasit menyebabkan kerusakan sel darah merah, baik yang terinfeksi maupun yang tidak terinfeksi. Kerusakan sel darah merah dalam jumlah besar menyebabkan hewan menjadi anemis (Aubry & Geale 2011; Singh et al. 2012).

Menurut Kocan et al. (2003) dan Richey (1991) sapi dari semua umur dapat terinfeksi *A. marginale*, namun tingkat keparahan penyakit tergantung umur. Anak sapi kurang dari 6 bulan jarang terinfeksi, sedangkan pada umur 6 bulan sampai dengan 1 tahun jika terinfeksi biasanya bersifat ringan. Ternak berumur antara 1 dan 2 tahun jika terinfeksi akut seringkali menunjukkan gejala klinis sedang dan tidak fatal. Sapi dewasa di atas 2 tahun, jika terinfeksi penyakit ini bersifat akut dan seringkali fatal dengan risiko kematian antara 29- dan 49% (Richey 1991; Kocan et al. 2003). Anak sapi mendapatkan kekebalan pasif terhadap anaplasma melalui kolostrum dari induknya. Kekebalan ini akan bertahan selama 3 bulan dan pada beberapa kasus dapat bertahan sampai hewan berumur 9-12 bulan (Kocan et al. 2000).

Pada studi ini, hasil observasi laboratorium baik dengan metode preparat ulas darah maupun dengan PCR menunjukkan sapi pada semua umur terinfeksi anaplasma. Rata-rata sapi di lapang menunjukkan hampir semua hewan dalam keadaan sehat dan tidak menunjukkan gejala klinis sakit. Menurut Noaman et al. (2010) Ternak yang sembuh dari stadium akut menghasilkan ternak dengan infeksi persisten berlaku sebagai karier jangka panjang, yaitu tidak menunjukkan gejala klinis tetapi berpotensi menyebarkan penyakit ke ternak lain dalam kelompok dan karenanya deteksi infeksi persisten penting untuk mengontrol pergerakan ternak terinfeksi yang masuk ke area bebas penyakit untuk menghindari wabah dan kerugian ekonomi yang signifikan. Baik kutu maupun sapi akan terinfeksi rickettsia secara persisten dan berlaku sebagai reservoir (Kocan et al. 2010). Menurut Sawitri et al. (2018) dan Noor et al. (2019) hasil pemeriksaan darah ternak dari beberapa lokasi di Indonesia menunjukkan bahwa beberapa wilayah di Provinsi Jateng, Jatim, Jabar, Kaltim, Riau, Sumsel merupakan daerah endemis anaplasma. Di daerah endemis wabah bersifat musiman dengan tingkat infeksi yang stabil, sehingga kerugian akibat anaplasmosis jarang terdeteksi. Kemampuan *A. marginale* untuk bertahan dalam pejamu menunjukkan kemampuan untuk menghindar terhadap respons imun (Barbet et al. 2000).

Strategi pencegahan dan pengendalian anaplasmosis harus difokuskan pada penggunaan tes diagnostik yang handal untuk identifikasi anaplasma secara tepat dan akurat. Aplikasi PCR di lapang mampu mendeteksi anaplasma pada kasus kronis atau jumlah rickettsia yang rendah dalam darah. Pendeteksian menggunakan

PCR juga berpotensi untuk mengeliminasi hewan karier yang berperan sangat penting sebagai reservoir bagi caplak dan berpotensi menyebarkan penyakit pada lokasi baru.

KESIMPULAN

Peneguhan diagnosis anaplasmosis dapat dilakukan berdasarkan pemeriksaan parasitologis (ulas darah tipis) dan PCR. Pendeteksian anaplasmosis pada 152 sampel darah sapi dan kerbau di Banyuwangi memperlihatkan bahwa anaplasmosis yang disebabkan *A. marginale* terdeteksi sebesar 28% dengan metode ulas darah tipis dan 41% dengan PCR. Tingginya kejadian anaplasmosis pada ternak menunjukkan adanya stabilitas infestasi anaplasma di lapangan yang perlu diwaspadai untuk meningkatkan pengawasan dan pengendalian. Surveilans terhadap anaplasmosis di lapang dengan kombinasi ulas darah dan PCR perlu dilakukan untuk meminimalisir negative palsu mengingat hewan yang terinfestasi jarang menimbulkan gejala klinis tetapi dapat berlaku sebagai reservoir yang berpotensi menularkan penyakit ini dari satu daerah ke daerah yang lain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada drh. Bambang Sugiyono dan drh. Sindu Firmanda (Bagian Keswan dan Kesmavet Dinas Pertanian Kabupaten Banyuwangi); Soedrajat dan Suharyanta atas bantuan teknis selama pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Zhang I, Wang Y, Cai D, He G, Cheng Z, Liu J, Wang S. 2013. Detection of *Anaplasma marginale* in hyalomma asiaticum ticks by PCR assay. Parasitol Res. 112:2697–2702.
- Abdisa T. 2019. Epidemiology of bovine anaplasmosis. SOJ Vet Sci. 5:1-6. doi: 1015226/2381-2907/5/1/00165.
- Aguirre DH, Gaido AB, Vinabal AE, De Echaide ST, Guglielmo AA. 1994. Transmission of *Anaplasma marginale* with adult Boophilus microplus ticks fed as nymphs on calves with different levels of rickettsaemia. Parasite. 1:405–407.
- Aktas M, Altay K, Dumanli N. 2011. Molecular detection and identification of Anaplasma and Ehrlichia species in cattle from Turkey.
- Aquino A, Divina BP, Bombio A, Pilapil F. 2018. Detection of Anaplasma marginale Infection In a Dairy Cattle Farm by Stained Blood Smear Examination and Nested Polymersa Chain Reaction. Philipp J Vet Anim Sci. 1:68–75.

- Ashraf S, Parveen A, Asif M, Awais M, Khan A, Aktas M, Ozubek S, Alanazi A, Alyousif M, Iqbal F. 2020. A Report on the Tick Burden , Molecular Detection and Phylogenetic Analysis of *Anaplasma Marginale* in the Blood Samples of Cattle Collected from District Layyah in Punjab (Pakistan). *Res Sq.*:1–13.
- Ashuma A, Singla L, Kaur P, Bal M, Batth B, Juyal P. 2013. Prevalence and haemato-biochemical profile of *Anaplasma marginale* infection in dairy animals of Punjab (India). *Asian Pac J Trop Med.* 6:139–144.
- Aubry P, Geale DW. 2011. A review of Bovine anaplasmosis. *Transbound Emerg Dis.* 58:1–30.
- Barbet A., Yi J, Lundgren A, McEwen B., Blouin E., Kocan K. 2000. Antigenic variation of *Anaplasma Marginale*: Major Surface Protein 2 diversity during cyclic transmission between ticks and cattle. *Infect Immun* 69 (5), 3057-3066. 69:3057–3066.
- Barbet AF. 1995. Recent developments in the molecular biology of anaplasmosis. *VetParasitol.* 57:43–49.
- Bilgiç HB, Karagenç T, Simuunza M, Shiels B, Tait A, Eren H, Weir W. 2013. Development of a multiplex PCR assay for simultaneous detection of *Theileria annulata*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* in cattle. *Exp Parasitol.* 133:222–229.
- Coetzee J. 2013. New developments in the diagnosis and treatment of bovine anaplasmosis. *Proc Acad Vet Consult Summer Meet.*:27–34.
- Coetzee JF, Schmidt PL, Connor AMO, Apley MD. 2010. and Carcass Traits. 51.
- Dyahningrum D, Mufasirin, Harijani N, Hastutiek P, Koesdarto S, Yunus M. 2019. Identification of Blood Parasite on Sacrificial Cattle Slaughtered during Idul Adha 1438 H in Surabaya City and Sidoarjo Regency. *J Parasite Sci.* 3:77–82.
- Echaide T De, Knowles D, McGuire T, Palmer G, Suarez C, MeElwain T. 1998. Detection of cattle naturally infected with *Anaplasma marginale* by nested PGR and a competitive enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant Major Surface Protein 5. *J. J Clin Microbiol.* 36:777–782.
- Figueroa J, Chieves L, Johnson G, Buening G. 1993. Multiplex polymerase chain reaction based assay for the detection of *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* DNA in bovine blood. *Vet Parasitol.* 50:69–81.
- French DM, Elwain TFMC, Guire TCMC, Palmer GUYH. 1998. Expression of *Anaplasma marginale* Major Surface Protein 2 Variants during Persistent Cyclic Rickettsemia. *Infect Immun.* 66:1200–1207.
- Hailemariam Z, Krücken J, Baumann M, Ahmed JS, Clausen PH, Nijhof AM. 2017. Molecular detection of tick-borne pathogens in cattle from Southwestern Ethiopia. *PLoS One.* 12:1–16.
- Hamou SA, Rahali T, Sahibi H, Belghyti D, Losson B, Goff W, Rhalem A. 2012. Research in Veterinary Science Molecular and serological prevalence of *Anaplasma*

- marginale in cattle of North Central Morocco. *Res Vet Sci* [Internet]. 93:1318–1323. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.02.016>
- Islam MS, Rahman MS, Hossain MZ, Haque MA, 1Department. 2019. Asian-Australasian Journal of Bioscience and Biotechnology Emerging status of anaplasmosis in cattle in Sirajganj district with therapeutic evaluation of traditional treatments *Asian-Australasian Journal of Emerging status of anaplasmosis in cattle in Sir.* 4:162–168.
- Khaki Z, Jalali S, Kazemi B, Jalali M, Yasini S. 2015. A study of hematological changes in sheep naturally infected with *Anaplasma* spp . and *Theileria ovis* : Molecular diagnosis. *Iran J Vet Med.* 9:19–26.
- Khan A, Ashfaq J, Isras ud D, Rizwan ul H, Jamil M, Ullah B, Hanif ur R, Ullah F. 2017. Bovine Theileriosis: Prevalence, Estimation of Hematological Profile and Chemotherapy in Cattle in Dera Ismail Khan, Khyber Pakhtunkhwa Province, Pakistan. *Am Sci Res J Eng Technol Sci.* 32:8–17.
- Kieser S, Eriks I, Palmer G. 1990. Cyclic rickettsemia during persistent *Anaplasma marginale* infection of cattle. *Infect Immun.* 58:1117–1119.
- Kocan K, Blouin E, Barbet A. 2000. Anaplasmosis control. Past, present, and future. *Ann NY Acad Sci.* 916:501–509.
- Kocan K, de la Fuente J, Meléndez R. 2003. Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. *Clin Microbiol Rev.* 16:698–712.
- Kocan KM, de la Fuente J, Blouin EF, Coetzee JF, Ewing SA. 2010. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Vet Parasitol.* 167:95–107.
- Kuttler K. 1984. *Anaplasma* infections in wild and domestic ruminants: a review. *J Wildl Dis.* 20:12–20.
- M'ghirbi Y, Bèji M, Oporto B, Khrouf F, Hurtado A, Bouattour A. 2016. *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* in cattle in Tunisia. *Parasit Vectors* [Internet]. 9:556. Available from: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-016-1840-7>
- Matsumoto K, G J, B D, PH P, A C, Collin E et al. 2006. *Anaplasma phagocytophilum* infection in cattle in France. *Ann N Y Acad Sci.* 1078.
- Molad T, Mazuz ML, Fleiderovitz L, Fish L, Savitsky I, Krigel Y, Leibovitz B, Molloy J, Jongejan F, Shkap V. 2006. Molecular and serological detection of *A. centrale*- and *A. marginale*-infected cattle grazing within an endemic area. *VetMicrobiol* 113, 55–62. 113:55–62.
- Nair A, Ravindran R, Lakshmanan B, Sreekumar C, Kumar S, Raju R, Tresamol P, Vimalkumar M, Saseendranath M. 2013. Bovine carriers of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma bovis* in South India. *Trop Biomed.* 30:105–112.
- Noaman V, Vaccine R, Shayan P. 2010. Comparison of Microscopy and PCR-RFLP for detection of *Anaplasma marginale* in carrier cattle Comparison of Microscopy and PCR-RFLP for detection of *Anaplasma marginale* in carrier cattle.

- Noor S, Sawitri D, Saepulloh M, Aji R, Desem M, Azmi Z. 2019. Profil Kesehatan Sapi Indukan Belgian Blue di Indonesia terhadap Penyakit Hewan Menular. Pros Semin Nas Teknol Peternak dan Vet.:191–200.
- OIE. 2012. Section 2.4 Bovidae. In: *Man Diagnostic Tests Vaccines Terr Anim* [Internet]. 7th ed. Vo. [place unknown]. Available from: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm, September 2012%0A/2.04.01_BOVINE_ANAPLASMOSIS.pdf
- OIE. 2020. Penyakit, infeksi, dan infestasi yang Terdaftar OIE berlaku pada tahun 2020 [Internet]. Available from: <https://www.oie.int/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2020/>
- Richey EJ. 1991. Bovine anaplasmosis. *Proc 24th Annu Conf Am Assoc Bov Pract Orlando, FL*, 3–11.
- Rodriguez-morales A, Bonilla-aldana D, Idarraga-bedoya S, Garcia-bustos J, Cardona-ospina J, Faccini-martínez Á. 2019. Epidemiology of zoonotic tick-borne diseases in Latin America: Are we just seeing the tip of the iceberg ? *F1000Research*. 7:1–20.
- Rosso F, Tagliapietra V, Baráková I, Derdáková M, Konečný A, Hauffe H., Rizzoli A. 2017. Prevalence and genetic variability of *Anaplasma phagocytophilum* in wild rodents from the Italian alps. *Parasit Vectors*. 10:293.
- Sam A. 2015. Prevalensi dan faktor-faktor risiko anaplasmosis pada sapi bali di kelurahan lalabata rilau, kecamatan lalabata, kabupaten soppeng. [place unknown].
- Sawitri D., Wardhana A. 2017. Genetic variability of ESAG6/7 gene *Trypanosoma evansi*. *J Ilmu Ternak dan Vet* [Internet]. 22:38. Available from: <http://medpub.litbang.pertanian.go.id/index.php/jitv/article/view/1638>
- Sawitri D, Wardhana A, Suharyanta, Soedrajat. 2018. Laporan Akhir APBN: Pengembangan metode PCR Multipleks dan Aplikasi Lapang deteksi Parasit darah (*Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Anaplasma marginale*, *Theileria sp*, *Trypanosoma evansi*) Pada Sapi/Kerbau. Bogor.
- Shimada M., Yamamura M., Kawasaki P, Tamekuni K, Igarashi M, Vidotto O, Vidotto M. 2004. Detection of *Anaplasma marginale* DNA in larvae of *Boophilus microplus* ticks by polymerase chain reaction. *New York Acad Sci*. 1026:95–102.
- Singh H, Haque M, Singh N, Rath S. 2012. Molecular detection of *Anaplasma marginale* infection in carrier cattle. *Ticks tick-borne Dis*. 2012 3: 55-58. Doi: 10.1016/j.ttbdis.2011.10.002 11. *Ticks tick-borne Dis*.:55–58.
- Soosaraei M, Haghi MM, Etemadifar F, Fakhar M, Teshnizi SH, Asfaram S, Esboei BR. 2020. Status of *Anaplasma* spp. infection in domestic ruminants from Iran: A systematic review with meta-analysis. *Parasite Epidemiol Control* [Internet]. 11:e00173. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.parepi.2020.e00173>

- Temiz M, Altuğ N, Yüksek N. 2014. Relationship between degree of anemia and blood gases in cattle with theileriosis. *Turk J Vet Anim Sci.* 38:82–87.
- Torioni de Eschaide S, Bono M, Lugaesi C, Aguirre N, Mangold A, Moretta R. 2005. Detection of antibodies against *Anaplasma marginale* in milk using a recombinant MSP5 indirect ELISA. *Vet Microbiol.* 106:287–292.
- Uilenberg U. 1993. Other ehrlichiosis of ruminants. In: Woldehiwet Z, Ristic M E, editor. *Ricketts chlamydial Dis Domestic Anim.* [place unknown]: Oxford:Pergamon Press; p. 293–332.
- Whittier D, Currin N, Currin JF. 2009. Anaplasmosis In Beef Cattle. *Virginia Coop Ext.:publicación* 400-465.

DISKUSI

Pertanyaan

1. *Apakah nama lain dari penyakit anaplasmosis yang biasa dikenal peternak atau lebih umum di kalangan peternak?*
2. *Berapa kerugian ekonomi terkait kejadian anaplasmosis ini?*

Jawaban

1. *Tidak ada nama lain dari penyakit ini. Biasanya riketsia penyebab penyakit ini memang menginfeksi secara bersamaan dengan protozoa darah Babesia dan Theileria. Penyakit yang disebabkan Babesia dan Theileria sering disebut Piroplasmosis. Kadang-kadang dengan menyebutkan piroplasmosis termasuk di dalamnya ada riketsia (*Anaplasma sp*) padahal sebenarnya tidak demikian karena merupakan dua mikroorganisme yang berbeda (satu riketsia dan satu lagi protozoa darah).*
2. *Menurut laporan Dirkeswan tahun 1978 menyebutkan kerugian akibat anaplasmosis meliputi kematian, penurunan berat badan dan daya kerja terhadap usaha pertanian mencapai 500 juta pertahun. Untuk saat ini belum pernah ada yang menghitung kerugian ekonomi yang disebabkan riketsia ini. Sebenarnya saat ini jika dihitung kerugian cukup besar yang ditimbulkan adalah terkait mahalanya biaya pengobatan, eradikasi caplak dan karena hewan tidak dapat ditransportasikan ke daerah lain jika positif riketsia ini. Di samping itu juga hewan akan menjadi rentan terhadap penyakit lain.*