

SKRIPSI :

SIRADJUDIN NOER SAHIB

PARATUBERCULOSIS

PADA SAPI



FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS AIRLANGGA

1983

P A R A T U B E R C U L O S I S

P A D A S A P I

SKRIPSI

DISERAHKAN KEPADA FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS

AIRLANGGA UNTUK MEMENUHI SEBAGIAN SYARAT GUNA

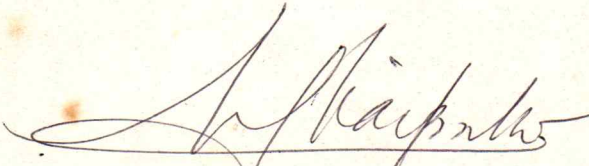
MEMPEROLEH GELAR DOKTER HEWAN

OLEH

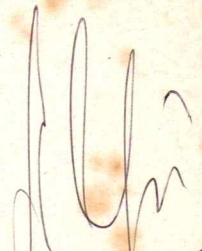
SIRADJUDIN NOER SAHIB

067510067

BONE - SULSEL


(DRH. MIDIAN NAIBAH)

Pembimbing Utama


(DRH. SOEBAGIO)

Pembimbing Kedua

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS AIRLANGGA

S U R A B A Y A

1 9 8 3

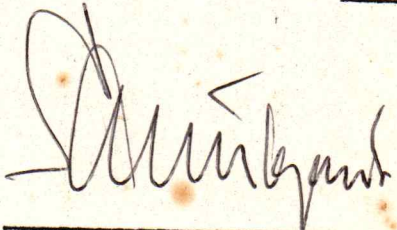
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik skope maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar Dokter Hewan.

Panitia Penguji :

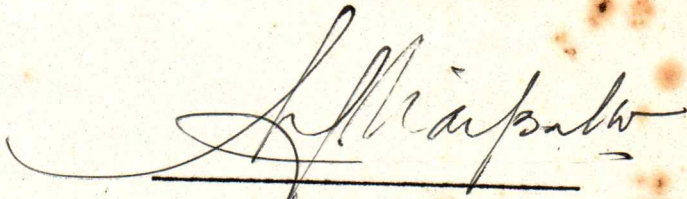
Ketua



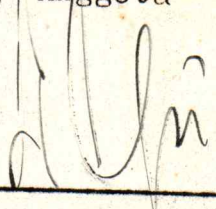
Sekretaris



Anggota



Anggota



Anggota

WA INNA LAKUM FIL-'AN'AAMI LA'IBRATAN NUSQIIKUM MIMMAA FII
BUTHUUNIHI MIN BAINI FARTSIN WAADAMIN LLABANAN KHAALISHAN
SAANIGHAN LLISYSYAARIBIIN.

" Dan sesungguhnya pada binatang ternak itu benar-benar
terdapat pelajaran bagi kamu. Kami memberimu minum dari
pada apa yang berada dalam perutnya (berupa) susu yang
bersih antara tahi dan darah, yang mudah ditelan bagi
orang-orang yang meminumnya " (QS. An'Nahl : 66).

Kupersembahkan buat ayah, ibu
dan adik-adikku

Berkat do'a dan doronganmu
ternyata tidak sia-sia.

KATA PENGANTAR

Skripsi ini disusun berdasarkan atas Studi Kepustakaan yang merupakan sebagian syarat untuk memperoleh gelar Dokter Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Ucapan terima kasih penyusun sampaikan kepada Drh. Midian Naibaho (Kepala Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga) dan Drh. Soebagio (Proyek Pengembangan Peternakan Sapi IFAD Jawa Timur) yang telah memberikan bimbingan dan petunjuk dalam penyusunan Skripsi ini.

Ucapan terima kasih juga penyusun sampaikan kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung turut membantu dalam penyusunan Skripsi ini.

Semoga Skripsi ini dapat berguna untuk pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang Kedokteran Hewan.

Surabaya, Juni 1983

Penyusun.

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR APPENDIX	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. ETIOLOGI	4
1. Sejarah Penyakit	4
2. Morfologi dan Sifat Pewarnaan	7
3. Sifat Pupukan	7
4. Resistensi	9
5. Struktur Antigenik dan Toksin	10
6. Hewan Rentan	11
BAB III. PATOGENESA	12
BAB IV. DIAGNOSA	15
1. Gejala Klinis	15
2. Perubahan Patologis Anatomis	16
3. Pemeriksaan Laboratoris	17
BAB V. DIAGNOSA BANDING	23
BAB VI. PENGENDALIAN PENYAKIT	27
1. Pemberantasan	27
2. Pencegahan	28
3. Pengobatan	29
BAB VII. RINGKASAN	31
DAFTAR KEPUSTAKAAN	41

DAFTAR APPENDIX

APPENDIX

Halaman

I. Pewarnaan tahan asam - Ziehl Neelsen	33
II. Medium Herrold	34

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR

Halaman

- I. Keadaan sapi yang ditulari Mycobacterium paratuberculosis melalui makanannya 36
- II. Keadaan sapi yang terkena paratuberculosis yang sudah lanjut 37
- III. Paratuberculosis, membrana mukosa ileum tampak tebal dan berlipat-lipat serta tidak ada ulsera dan necrosis 38
- IV. Usus halus sapi yang terinfeksi paratuberculosis, terlihat 1. Sel raksasa dalam lamina propria. 2. Leukosit dalam plexus Meissner. 3. Macrophag polygonal. 4. Sel epiteloid 39
- V. Skin test secara intradermal yang positif dengan Johnin 40

BAB I

P E N D A H U L U A N

Pada masa pembangunan ini, permintaan akan daging dan susu semakin berkembang sesuai dengan meningkatnya pendapatan masyarakat, karena merupakan sumber protein hewani yang mutlak diperlukan untuk bahan penyusunan sel tubuh. Meningkatnya kebutuhan akan protein hewani belum dapat diimbangi dengan produksi dalam negeri, sehingga pembangunan di subsektor peternakan akan terus dituntut untuk lebih peka terhadap permintaan masyarakat tersebut.

Ternak sapi merupakan sumber penyediaan daging dan susu. Untuk mengatasi masalah penyediaan daging dan susu, pemerintah meningkatkan populasi dan produksi ternak sapi dengan cara mendatangkan bibit sapi potong dan sapi perah dari luar negeri.

Penyakit pada ternak sapi masih merupakan masalah baik di negara yang telah maju dalam bidang peternakan ataupun yang sedang berkembang. Masih banyak dilaporkan kematian pada suatu peternakan yang disebabkan oleh suatu penyakit.

Salah satu penyakit yang sering menyerang ternak sapi adalah paratuberculosis atau juga disebut Johne's disease, Chronic hypertrophic enteritis atau Chronic bacte-

rial enteritis. Penyebab paratuberculosis adalah kuman *Mycobacterium paratuberculosis*, yang habitatnya pada usus halus sampai ke rectum. Penyakitnya dapat berjalan secara khronis dan kadang-kadang menyebabkan kematian. Gejala khas pada paratuberculosis adanya diarrhea yang persisten serta penurunan berat badan (2, 7, 11, 20), yang dapat mengakibatkan kerugian ekonomis yang sangat besar bagi suatu peternakan sapi (3, 27, 30).

Paratuberculosis pada umumnya dapat menyerang sapi dari semua umur tetapi yang lebih sering terserang adalah pedet. Angka sakit pada sapi dapat mencapai 10%, sedangkan angka mortalitas bervariasi dari 3% sampai 15% (3, 7, 14). Paratuberculosis tersebar diseluruh negara seperti Inggris, Perancis, Belgia, Belanda, Denmark, Italia, Rusia, Jerman, Yugoslavia, Amerika Selatan, Canada, Amerika Serikat, Afrika Selatan, Selandia Baru, Australia, Turki, Israil, India, Pakistan dan Jepang (7, 14, 20). Di Indonesia paratuberculosis pernah terjadi di Sumatra (22). Karena paratuberculosis bersifat khronis dan menular maka perlu diperhatikan cara-cara penanggulangannya pada sapi terutama ditujukan untuk mencegah penyebaran kepada hewan lain.

Pencegahan dapat dengan cara vaksinasi dengan menggunakan vaksin dari kuman *Mycobacterium paratuberculosis*

sis yang telah dimatikan (8, 11, 17, 25). Pengobatan dengan pemberian preparat sulfa atau antibiotika kurang memuaskan akan tetapi secara invitro streptomycin, viomycin dan isoniazid adalah efektif (3, 7, 11).

BAB II

E T I O L O G I

1. Sejarah Penyakit

Hansen dan Hamilton (1881) dari Denmark, mempelajari penebalan dan lipatan dari membrana mukosa usus pada sapi dengan diarrhea yang khronis. Kemudian dengan jenis dan kondisi penyakit yang sama Johne dan Frothingham (1895) dari Jerman, juga melaporkan adanya kuman tahan asam pada infeksi usus, dan berpendapat bahwa organisme ini adalah kuman tuberculose avian atau kuman tuberculose bovine yang menyebabkan perubahan pada saluran usus. Akan tetapi Bang (1906) dari Denmark menyatakan bahwa penyakit ini berbeda dengan tuberculosis dan mengusulkan nama para tuberculosis. Penyakit tersebut pada waktu itu menjadi perhatian penyelidik di Inggris (1907). Twort dan Ingram (1911) di Inggris pertama kali mengisolasi Mycobacterium paratuberculosis dan mendapatkan kultur murni pada media buatan yang mengandung kuman tubercle yang mati (7, 11, 20).

Beach dan Hastings (1922) pertama kali menggunakan Johnin atau Paratuberculin untuk intra venous test. McIntosh dan Konst (1943) di Canada, Johnson dan Cox (1944) di Amerika Serikat dan sejumlah ahli dari Inggris memproduksi Johnin yang potent untuk skin test secara intradermal (11).

Pada tahun 1943 pertama kali dilaporkan kejadian paratuberculosis pada kambing di Amerika Serikat (30).

Francis (1943) di Inggris berhasil menularkan pada tikus umur 13 sampai 14 hari dan hamsters dengan pemberian makan kultur *Mycobacterium paratuberculosis* dalam dosis besar. Stwert, Mc-Callum dan Taylor (1945) mempelajari gambaran darah pada kasus paratuberculosis pada sapi, domba dan menyatakan bahwa adanya penurunan haemoglobin, calsium dan magnesium didalam darah. Taylor (1949) berhasil mengisolasi kuman *Mycobacterium paratuberculosis* dari 243 contoh, 37 diantaranya positif. Contoh untuk bahan pemeriksaan diambil dari lymphoglandula ileocaecal sapi. Juga disimpulkan bahwa dengan prosentase yang tinggi ini (15%) menunjukkan bahwa infeksi yang terbanyak oleh *Mycobacterium paratuberculosis* adalah di Inggris (11).

Pada tahun 1954 pertama kali terjadi kasus paratuberculosis pada domba di Selandia Baru (11).

Stamp dan Watt (1954) mempelajari perubahan patologi anatomis dari paratuberculosis pada domba yang terjadi di Scotlandia. Doyle (1954) memeriksa jaringan ambing dari 34 ekor sapi yang memperlihatkan gejala klinis paratuberculosis dan mendapatkan kultur yang positif dari susu. Rankin (1954) menemukan kembali *Mycobacterium*

paratuberculosis dari lymphoglandula ileo caecal, 6% dan 7,5% dari 2 kelompok sapi di Inggris yang kelihatannya normal. Pearson (1955) melaporkan 2 kasus paratuberculosis pada mukosa uterus sapi di Inggris dan dari salah satu fetus penderita terdapat kuman Mycobacterium paratuberculosis yang diisolir dari lymphoglandula ileo caecal dan usus (11).

Smith (1958) melaporkan hasil pemeriksaan dari 100 ekor sapi pada abattoir, Mycobacterium paratuberculosis didapatkan 7 kasus dan kebanyakan berasal dari lymphoglandula retropharyngeal. Smith berpendapat bahwa pharynx merupakan jalan infeksi yang penting (28).

Fouquet et al (1960) mempelajari hubungan kasus enteritis oleh paratuberculosis dengan keadaan padang penggembalaan, dan menyimpulkan bahwa jika phosphor cukup disediakan pada padang penggembalaan maka kerugian oleh penyakit dapat menjadi berkurang (7).

Kopecky et al (1967) mendapatkan 18 kasus infeksi uterus dari 148 ekor sapi pada padang penggembalaan yang merupakan problem paratuberculosis. Diantara 18 kasus 14 specimen positif dan diperoleh dari sapi yang tidak memperlihatkan gejala klinis paratuberculosis (11).

Larsen dan Kopecky (1970) memeriksa alat kelamin 6 ekor sapi jantan yang mempunyai gejala klinis paratuberculosis.

berculosis dan mendapatkan *Mycobacterium paratuberculosis* dalam alat kelamin tersebut (11, 18).

2. Morfologi dan Sifat Pewarnaan

Mycobacterium paratuberculosis adalah kuman berbentuk batang, ukuran diameter kuman 0,5 mikron dan panjangnya 1 sampai 2 mikron. *Mycobacterium paratuberculosis* bersifat non motil, tidak membentuk spora, tidak membentuk kapsul dan pada pewarnaan Gram bersifat Gram positif. Pada umumnya pewarnaan untuk *Mycobacterium paratuberculosis* adalah dengan pewarnaan tahan asam atau metode Ziehl Neelsen. *Mycobacterium paratuberculosis* terletak bergerombol atau sendiri-sendiri pada preparat hapusan yang berasal langsung dari mukosa usus yang terinfeksi (7, 11, 20, 28).

3. Sifat Pupukan

Mycobacterium paratuberculosis bersifat aerobik, dapat hidup dalam pada temperatur antara 28°C - 43°C , tetapi temperatur untuk pertumbuhan yang baik pada 37°C dengan pH 6,6. *Mycobacterium paratuberculosis* sulit dibiakan pada media buatan biasa. Twort dan Ingram (1911) mendapatkan pertumbuhan *Mycobacterium paratuberculosis*, hanya sesudah menambahkan kuman tuberculose yang mati

dan glycerol pada medium (Dorset's egg medium) (11, 20, 28).

Taylor (1951) menyatakan bahwa beberapa strain *Mycobacterium paratuberculosis* yang berasal dari sapi dan berpigmen lebih sulit ditumbuhkan dari pada yang tidak berpigmen, dan tidak dapat ditumbuhkan pada media cair (28).

Francis et al (1953) mengekstraksi *Mycobacterium phlei* yang dipergunakan untuk faktor pertumbuhan bagi kuman *Mycobacterium paratuberculosis*. Ekstrak dari kuman tahan asam yang bersifat saprofit ini diberi nama mycobactin (11, 28).

Smith (1958) menyatakan, bahwa untuk isolasi pertama *Mycobacterium paratuberculosis* membutuhkan 20% serum dan ekstrak alkohol dari *Mycobacterium phlei* pada media cair Dubos's. Juga subkultur dari strain ovine berpigmen tumbuh pada media Dubos berbentuk gerombol kecil (28).

Merkal et al (1964) mengusulkan egg yolk agar yang mengandung glycerin dan ekstrak *Mycobacterium phlei* untuk isolasi *Mycobacterium paratuberculosis* dan menggunakan benzalkonium chlorid untuk menekan pertumbuhan kuman lain pada bahan pemeriksaan sebelum diinokulasikan kedalam Herrold's media (egg yolk agar ditambah mycobac-

tin). Pada egg yolk medium yang mengandung ekstrak *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium paratuberculosis* membentuk koloni kecil, berwarna putih suram dan jarang ditemukan sebelum 4 minggu. Koloni ini makin lama semakin bertambah besar dan warnanya berubah menjadi putih kekuningan. Pada kaldu glycerin yang mengandung ekstrak *Mycobacterium phlei* atau *mycobacterium* lainnya, koloni kuman membentuk selaput tipis dan makin lama semakin menebal dan berlapis (11, 20)

Merkal dan Curran (1974) mengatakan bahwa *Mycobacterium paratuberculosis* yang baru diisolasi tidak mampu mengekstraksi ion ferri yang cukup dari medium tersebut. *Mycobacterium* lain, seperti *Mycobacterium phlei* mampu memisahkan ion ferri yang cukup, sehingga dapat merangsang pertumbuhan *Mycobacterium paratuberculosis* (11).

4. Resistensi

Mycobacterium paratuberculosis seperti kuman tubercle lainnya, relatif tahan terhadap panas, tahan terhadap asam dan alkali (11, 20), relatif tahan terhadap sinar matahari dan kekeringan (3).

Vardaman melaporkan bahwa pertumbuhan kuman dapat dicegah dan bahkan dapat dimatikan sesudah 15 menit

didalam larutan cresuclic compounds 1:64, phenol 1:40, sodium ortho phenate 1:100, alkohol 95%, mercury bi-chloride 1:1000, calsium hypochloride 1:50 dan methylene blue 1:500 (11, 14, 20).

Lovell et al menyatakan bahwa kultur yang diperoleh dari scraping mukosa usus yang dibiarkan didalam air steril, dapat hidup selama kurang lebih 9 bulan, sedang didalam air sungai tahan hidup selama 163 hari. Selanjutnya didalam faeces yang tercemar secara alami kuman dapat tahan hidup selama 152 sampai 246 hari (11, 20, 28).

Bila Mycobacterium paratuberculosis disimpan pada temperatur -14°C dapat hidup selama 5 bulan, sedang pada 4°C selama 5 bulan dan 38°C selama 8 bulan (11, 20).

5. Struktur Antigenik dan Toksin

Struktur antigenik dari Mycobacterium paratuberculosis tidak begitu banyak diketahui, kemungkinan serupa dengan Mycobacterium tuberculose type avian. Pada test allergis dengan menggunakan avian tuberculin ternyata sebagian besar penderita paratuberculosis menunjukkan reaksi yang positif, berarti Mycobacterium paratuberculosis juga mengandung protein dan polysacharida yang meru-

pakan antigen (11, 15, 20).

Mycobacterium paratuberculosis tidak menghasilkan -
kan eksotoksin tetapi dapat menghasilkan endotoksin (20).

6. Hewan Rentan

Hewan yang rentan terhadap paratuberculosis adalah sapi, domba dan kambing. Selain itu penyakit ini juga pernah dilaporkan pada babi, rusa, kuda, unta, kera dan ayam. Hewan muda lebih rentan dibandingkan dengan yang dewasa. Sebaliknya hewan percobaan seperti marmut, tikus, hamster dan kelinci tidak rentan pada infeksi secara alami meskipun kadang-kadang dapat juga ditulari secara buatan (20, 23, 27, 28).

Harding (1959) telah melakukan penularan secara intra vena dengan menggunakan kultur *Mycobacterium paratuberculosis* pada tikus, hamster dan kelinci, yang kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan secara histopatologis. Pada percobaan, 1 dari 77 ekor tikus, 6 dari 80 ekor hamster dan 1 dari 36 ekor kelinci yang ditulari menunjukkan perubahan yang nyata, yaitu adanya lesi pada usus yang khas pada paratuberculosis (7, 28).

BAB III

PATOGENESA

Mycobacterium paratuberculosis mempunyai tempat pre dileksi pada usus halus. Penularan dapat terjadi melalui faeces penderita atau melalui alat-alat yang tercemar oleh *Mycobacterium paratuberculosis*, misalnya alat transport, makanan ternak, air dan sebagainya (14, 26).

Penyakitnya timbul karena masuknya kuman *Mycobacterium paratuberculosis* per oral. Tetapi dengan jalan peroral hanya pedet saja yang dapat ditulari secara buatan karena pedet lebih peka dari pada sapi dewasa, terutama apabila terjadi gangguan pencernaan. Infeksi yang penting yaitu intra uterina, tetapi hanya sapi betina penderita paratuberculosis klinislah yang dapat menimbulkan infeksi praenatal. Sapi yang menderita infeksi sejak lahir biasanya mati sebelum umur 4 tahun. Infeksi buatan dapat dilakukan secara intra vena, yaitu dengan beberapa milyar kuman *Mycobacterium paratuberculosis*. Selain itu penularan buatan juga dapat dilakukan secara suntikan subcutan (3, 7, 11, 16, 26).

Secara per oral *Mycobacterium paratuberculosis* masuk kedalam saluran pencernaan dan berkembang pada usus, terutama ileum, caecum dan colon. Kuman yang mampu hidup dapat menembus membrana epitel dan masuk kedalam lamina propi

a. Kehadiran kuman ini pada jaringan ikat dapat menyebabkan terjadinya serangkaian perubahan. Mula-mula jumlah neutrofil bertambah banyak disekitar dan diantara kuman, kemudian diikuti pertambahan macrofag dan limfosit yang berkumpul di daerah tersebut dan akhirnya fibrocyt mengadakan proliferasi. Sejumlah besar macrofag memphagositose kuman dan sesudah itu masuk kedalam pembuluh limfe afferent dan menuju ke lymphoglandula mesenterica dan bertambah banyak. Karena adanya proliferasi dari sel-sel epiteloid, maka mukosa usus yang tertular menjadi tebal dan lymphoglandula mesenterica membengkak (13).

Adanya penebalan mukosa usus dapat menyebabkan penurunan aktifitas enzim dalam mukosa usus, misalnya enzim adenyl cyclase yang berfungsi merubah ATP menjadi CAMP. Akibat aktifitas enzim adenyl cyclase menurun maka perubahan ATP menjadi CAMP pada mukosa usus terganggu, sehingga penyerapan zat-zat makanan dalam usus halus terganggu. Zat-zat makanan yang tidak terserap dalam usus halus akan menyebabkan perubahan tekanan osmotik dan peningkatan gerakan peristaltik, sehingga mengakibatkan terganggunya gerakan cairan antara jaringan interstisial dan lumen usus halus yang merupakan faktor penyebab terjadinya diarrhea. Kuman *Mycobacterium paratuberculosis* dapat ditemukan pada faeces penderi -

ta. Diarrhea yang hebat akan mengakibatkan gangguan metabolisme air, sehingga dapat menimbulkan dehidrasi. Gejala klinis yang lain yaitu anaemia dan kekurangan (3, 11, 27). Pada pemeriksaan darah, terdapat penurunan haemoglobin, calsium dan magnesium dalam darah (11, 14). Selain itu juga dapat terjadi malabsorbsi yang berat dari asam amino , hilangnya lemak tubuh dan terjadi perembesan plasma protein melalui dinding usus kedalam lumen usus (13). Kematian dapat terjadi sebagai akibat dari dehidrasi, asidosis metabolik, hilangnya cairan elektrolit dan gangguan fungsi jantung (14, 23, 27).

Organ tubuh yang lain seperti jantung, hati, ginjal, paru dan limpa dapat diserang paratuberculosis dan menyebabkan terjadinya lesi pada organ tersebut. Pada pembuluh darah dapat ditemukan perubahan berupa arteriosclerosis , sedangkan pada lymphoglandula yang lain dapat terjadi kebengkakan (4, 27).

BAB IV

D I A G N O S A

Diagnosa paratuberculosis pada sapi didasarkan pada gejala klinis, perubahan patologis anatomis dan pemeriksaan secara laboratoris.

1. Gejala klinis

Gejala klinis paratuberculosis biasanya dapat diamati pada pedet karena pedet lebih peka dari pada sapi dewasa. Masa inkubasinya lama, biasanya setahun atau lebih dan beberapa hewan dapat terinfeksi untuk beberapa tahun tanpa menunjukkan gejala dari penyakit. Kasus paratuberculosis kebanyakan terjadi pada hewan berumur 2 sampai 6 tahun. Akan tetapi pada beberapa sapi yang berumur 2 tahun dapat menunjukkan gejala klinis, terutama jika pemberian makanan dan managemennya kurang baik. Pada perubahan lingkungan dapat menyebabkan hewan pembawa infeksi yang latent menjadi berkembang penyakitnya (3, 7, 26, 28).

Pada paratuberculosis, diarrhea persistent atau recurrent merupakan gejala yang utama. Temperatur tubuh dan napsu makan biasanya tetap normal. Diarrhea dapat juga terjadi di padang rumput yang subur, akan tetapi gejalanya bersifat sementara dan dapat menghilang. Produksi

susu pada sapi yang sedang laktasi menurun dan lama-kelamaan berat badannya berkurang karena kekurusan. Pada penderita paratuberculosis dapat terjadi anaemia, bulunya suram mudah rontok dan kulitnya menjadi kering. Kekurangan gizi pada saat terakhir biasanya mengakibatkan timbulnya oedema terutama pada bagian rahang bawah dan gelambir. Bila diarrhea terjadi terus menerus maka mengakibatkan dehidrasi kemudian sapi menjadi lemah dan berakhir dengan kematian (1, 3, 11, 12, 26).

2. Perubahan patologis anatomis

Pada pemeriksaan post-mortem terlihat adanya kekurusan dan anaemia juga lesi-lesi pada saluran pencernaan dan lymphoglandula mesenterica. Perubahan-perubahan yang terjadi pada paratuberculosis berupa proliferasi sel epiteloid dan jaringan ikat yang menyerang mukosa usus. Lesi yang paling berat terlihat pada mukosa ileum, caecum dan bagian pertama dari colon yaitu colon tenue, sedang pada kasus yang khronis lesi dapat juga meluas hingga rectum. Perubahan yang sama terjadi didekat lymphoglandula dan sedikit pada lapisan submukosa jika lesi meluas diluar muskularis mukosa (4, 27, 28). Karena adanya proliferasi sel epiteloid yang berlanjut, membrana mukosa usus dapat menjadi tebal, berwarna kuning pucat

dan berlipat-lipat serta tidak dapat diratakan dengan pisau. Lipatan-lipatan pada mukosa usus menyerupai giri otak. Pada pemeriksaan histopatologis terlihat pada lamina propia dari mukosa usus adanya sel plasma, sel raksasa, limfosit, eosinofil, macrofag dan proliferasi fibrosit (13, 14, 22).

Lymphoglandula mesenterica membengkak karena oedema dan pertumbuhan sel epiteloid serta sel datia. Pada seksi lymphoglandula mesenterica berisi cairan seperti cream dan pada pemeriksaan histopatologis terlihat limfosit, sel plasma, sel raksasa dan eosinofil (4, 13, 22).

Pada paratuberculosis stadium permulaan dapat memperlihatkan congesti dan peradangan yang bersifat haemorrhagik. Tidak ada ulcera dan erosi pada membrana mukosa usus, palpula ileocaecal biasanya membengkak dan terlihat adanya congesti pada caecum (28).

Walaupun lesi pada paratuberculosis biasanya terbatas pada usus dan lymphoglandula mesenterica, tetapi baik secara infeksi alami maupun percobaan pada sapi dapat juga terjadi lesi pada hati, limpa, paru, ginjal, uterus, placenta dan lymphoglandula retropharyngeal serta lymphoglandula yang lainnya (4, 27).

3. Pemeriksaan laboratoris

Untuk diagnosa paratuberculosis pada umumnya adalah merupakan gabungan dari beberapa metode pemeriksaan laboratoris, yang dilakukan secara : 1. Pemeriksaan mikroskopis, 2. Pupukan, 3. Test allergis, 4. Serologis dan 5. Hewan percobaan.

1. Pemeriksaan mikroskopis

Bahan untuk pemeriksaan mikroskopis dapat berupa faeces atau scraping dari mukosa rectum. Pemeriksaan dapat dilakukan dengan pewarnaan Gram dan pewarnaan tahan asam.

Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram adalah suatu pewarnaan untuk mengetahui sifat Gram kuman penyebab penyakit. Setelah pewarnaan selesai kemudian dilihat dibawah mikroskop. Mycobacterium paratuberculosis terlihat berwarna violet, karena bersifat Gram positif berbentuk batang, kecil, bergerombol atau sendiri-sendiri.

Pewarnaan tahan asam

Pewarnaan tahan asam adalah suatu pewarnaan untuk mengetahui sifat tahan asam kuman penyebab penyakit. Setelah pewarnaan selesai kemudian dilihat dibawah mikroskop.

Mycobacterium paratuberculosis terlihat berwarna merah , sedangkan yang lain berwarna biru (7, 11, 12, 20, 27).

2. Pupukan

Sebanyak 1 gram faeces dilarutkan dalam 20 ml Nacl physiologis pada tabung centrifuge, kemudian di centrifuge 1500 rpm selama 5 menit. Sebanyak 2,5 ml dari cairan supernatant diambil dan ditambahkan 17,5 ml benzal konium chlorid 0,3% pada tabung reaksi. Sesudah disimpan selama 24 jam pada temperatur kamar, supernatant dibu - ang dan sediment di inokulasikan pada media miring dari Herrold yang berisi ferric mycobactin. Kemudian media miring tersebut diinkubasikan pada temperatur 37°C selama 4 minggu atau lebih dan pemeriksaan dilakukan dengan pe - warnaan tahan asam (Ziehl Neelsen) (6, 19, 21, 29, 31).

3. Test allergis

Bahan yang digunakan untuk test allergis yaitu Johnin (Paratuberculin) atau avian tuberculin dan test dapat dilakukan dengan skin test atau intra venous test.

Skintest

Skin test dilakukan pada daerah sebelah lateral leher karena daerah leher lebih peka untuk Johnin dari pada daerah ekor (Johnson). Pada test digunakan 0,2 ml Johnin yang disuntikan secara intra dermal, sesudah 48

jam hasil test dibaca. Reaksi disebut positif bila terjadi pertambahan ketebalan pada kulit sebanyak 3 mm atau lebih besar dari pengukuran asalnya. Pertambahan ketebalan kulit antara 2 - 3 mm disebut doubius dan kurang dari 2 mm adalah negatif.

Intra venous test

Intra venous test dapat dilakukan dengan menggunakan Johnin atau avian tuberculin dan dosis 10 ml. Reaksi positif ditandai dengan kenaikan temperatur 2°F (1°C) pada 5 jam sampai 8 jam sesudah injeksi. Pada intra venous test dapat terjadi reaksi sistemik yaitu depressi, anoreksia, gemetar, dyspnoe, bulu pada kulit berdiri serta diarrhea (3, 7, 12, 20, 21).

4. Serologis

Pemeriksaan secara serologis dapat dilakukan dengan cara complement fixation test, fluorescent antibody teknik dan test haemagglutinasia.

Complement fixation test

Pada complement fixation test digunakan mukosa usus yang kering yang mengandung Mycobacterium paratuberculosis sebagai antigen. Bila pada test tidak terjadi hemolysis pada titer 1:8 maka dinyatakan negatif, sedang -

kan bila pada titer 1:16 doubius dan titer 1:32 atau lebih maka disebut positif (3, 5, 21, 28, 31).

Gilmour dan Goudswaard (1972) melaporkan bahwa sapi yang tertular oleh *Corynebacterium renale* sering kali memberikan reaksi positif dalam complement fixation test untuk paratuberculosis (24, 31).

Fluorescent antibody teknik

Serum yang akan diperiksa, terlebih dahulu dicampur dengan fluoressin dengan titer 1:8, 1:16 dan 1:32. Serum ditambahkan pada antigen *Mycobacterium paratuberculosis*. Pemeriksaan dilakukan dengan memakai sinar ultra violet. Bila serum yang diperiksa mengandung antibody maka terlihat warna fluoresen. Titer 1:8 dinyatakan doubius dan titer 1:16 atau lebih positif (8, 10, 11).

Test haemagglutinasii

Larsen et al dan Goudswaard (1953 ; 1972) telah mencoba dan menyatakan bahwa test haemagglutinasii dapat digunakan untuk diagnosa paratuberculosis. Antigen dibuat dari purified protein derivative johnin (10 mg dilarutkan dalam 6 ml NaCl physiologis). Kepada antigen yang telah tersedia kemudian ditambahkan erythrocyt sapi. Bila terjadi agglutinasii maka disebut positif (10, 11, 28).

5. Hewan percobaan

Hewan percobaan yang biasa digunakan untuk mengetahui keganasan *Mycobacterium paratuberculosis* adalah pedet dan domba. Dengan pemberian secara per oral atau in-tra vena kultur *Mycobacterium paratuberculosis*, maka terjadi diarrhea. Pada pemeriksaan patologis anatomis terlihat adanya lesi pada usus yang khas untuk paratuberculosis (8, 9, 11).

BAB V

DIAGNOSA BANDING

Ada beberapa penyakit pada sapi yang gejala klinisnya menyerupai paratuberculosis, antara lain :

1. Tuberculosis

Tuberculosis adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Perubahan-perubahan pada paratuberculosis dapat dibedakan dari tuberculosis. Pada tuberculosis perubahan pada usus umumnya bersifat setempat, terutama berada didalam submukosa, memperlihatkan adanya perkejuan, pengapuran, pembentukan ulsera atau tubercle yang dibungkus oleh jaringan ikat. Lymphoglandula mesenterica memperlihatkan adanya tubercle dengan perkejuan. Pada paratuberculosis, kuman tahan asam biasanya jauh lebih banyak ditemukan pada scraping mukosa rectum (12, 22, 27).

2. Coccidiosis

Coccidiosis adalah penyakit yang disebabkan oleh species *Eimeria* yang sering menyerang hewan muda dan dapat menyebabkan enteritis haemorrhagis. Hewan yang menderita coccidiosis memperlihatkan diarrhea yang hebat pada stadium permulaan dari penyakit. Masa inkubasi biasa-

nya 5 sampai 6 hari. Untuk mengetahui perbedaan penyebab penyakit ini dengan paratuberculosis, harus diadakan pemeriksaan mikroskopis terhadap faeces atau scraping mukosa usus untuk melihat adanya "oocysts (3, 12, 22).

3. Mucosal disease (Virus Diarrhea)

Mucosal disease (virus diarrhea) adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh virus RNA dari genus Pestivirus dan family Togaviridae. Pada penyakit ini dijumpai adanya diarrhea yang profus dan sering bercampur darah, temperatur tubuh meningkat, hypersalivasi, anoreksia dan kekurusan. Pada perubahan patologis anatomis dari penyakit ini terlihat adanya kerusakan - kerusakan selaput mukosa pada saluran pencernaan yang dimulai dari bibir sampai usus berupa erosi, ulsera dan lepuh. Pada Mucosal disease tampak adanya leleran hidung. Untuk membedakan penyakit ini terhadap paratuberculosis perlu diadakan isolasi virus penyebabnya dan test serologis (12, 22).

4. Colibacillosis

Colibacillosis disebabkan oleh infeksi Escherichia coli. Escherichia coli merupakan kuman normal dalam u-

sus setelah beberapa hari kelahiran. Umumnya menyering pedet umur 3 minggu. Gejala-gejala utama dari colibacillosis ialah tidak ada napsu makan, kelemahan, diarrhea dengan faeces cair yang hijau kekuningan sampai coklat muda, sering bercampur lendir dan bau, kadang-kadang haemorrhagis. Bulu penderita berdiri, turgor kulit jelek karena adanya dehidrasi, berjalan sempoyongan, temperatur tubuh dapat naik $39,5^{\circ}\text{C}$ sampai 40°C dan jarang lebih tinggi. Gejala diarrhea terutama terjadi pada pedet yang agak terlambat atau kurang diberi colostrum. Angka morbiditas dan mortalitas dapat mencapai hingga 50%. Pada pemeriksaan patologis anatomis lapisan subserosa dan submukosa usus menunjukkan perdarahan dan bagian terakhir dari mukosa rectum biasanya berlipat-lipat memanjang. Untuk memperkuat diagnosa terhadap penyakit ini, dapat dilakukan pemeriksaan histopatologis pada cairan cerebro spinal, jantung, limpa dan ginjal karena pada bagian tersebut biasanya banyak ditemukan kuman *Escherichia coli* (12, 14, 26).

5. Salmonellosis

Penyebab salmonellosis adalah *Salmonella typhimurium* dan *Salmonella dublin*, menyerang sapi semua umur. Pa-

da pedet tertular yang berumur 3 sampai 6 minggu timbul diarrhea dengan faeces cair bercampur lendir dan darah, napsu makan menurun, lemah disertai demam dengan temperatur tubuh $40,5^{\circ}\text{C}$ sampai $41,5^{\circ}\text{C}$. Sedangkan pada yang dewasa terjadi diarrhea persistent, faeces mengandung lendir atau darah, kurus, demam tidak teratur, produksi susu menurun, terjadi kolik dan dapat berakhir dengan kematian. Pada pemeriksaan patologis anatomis terlihat adanya erosi dan petechia pada mukosa abomasum disertai gastritis, lymphoglandula mesenterica membengkak, oedematus dan haemorrhagis. Dinding colon dan caecum menjadi tipis, mukosa haemorrhagis dan tertutup oleh bintil-bintil kelabu kekuningan dan merata (3, 12).

BAB VI

PENGENDALIAN PENYAKIT

1. Pemberantasan

Sampai saat ini belum ada suatu cara pemberantasan terhadap paratuberculosis yang efektif. Pada pemberantasan paratuberculosis perlu diperhatikan beberapa faktor yang berhubungan dengan penyebaran penyakit. Pemberantasan dan pencegahan tergantung pada faktor management misalnya pemisahan hewan muda dengan yang dewasa dan mencegah kontaminasi faeces yang mengandung kuman *Mycobacterium paratuberculosis* pada padang penggembalaan. Diagnosa yang tepat sangat membantu dalam proses pemberantasan paratuberculosis. Karena *Mycobacterium paratuberculosis* dapat menyerang sapi dari semua umur, maka pemberantasan ditujukan terutama terhadap sapi yang menderita atau tersangka yang dapat merupakan sumber penyakit.

Kandang harus bersih dan kering, semua peralatan yang tercemar di disinfeksi dengan phenol atau cresol dan pemberian makanan yang baik. Hewan lain seperti domba, kambing, babi dan rusa dicegah memasuki lingkungan peternakan sapi yang tercemar, karena dapat menjadi penyebar paratuberculosis. Padang rumput penggembalaan dipupuk dengan calsium dan mineral lainnya dan drainage diatur yang ba-

ik. Rumput harus mengandung kadar mineral yang cukup (3, 7, 14).

2. Pencegahan

Paratuberculosis sangat sulit untuk dikendalikan didalam suatu peternakan sapi karena merupakan penyakit yang bersifat khronis. Tindakan pencegahan lebih diutamakan dari pada pengobatan, maka dari itu telah lama dicari cara pencegahannya dengan vaksinasi.

Vallee dan Rinjard (1926 ; 1941) pertama kali mencoba mengebalikan sapi terhadap paratuberculosis dan mengatakan bahwa kekebalan yang dihasilkan dapat bertahan agak lama. Vaksin berupa suspensi *Mycobacterium paratuberculosis* yang hidup didalam cairan paraffine dicampur dengan batu apung yang digerus dan minyak zaitun. Suntikan dilakukan secara subcutan pada gelambir dan menimbulkan benjolan pada bagian yang disuntik. Doyle (1960) mencoba melakukan vaksinasi pada sapi dengan suspensi kultur *Mycobacterium paratuberculosis* yang hidup dalam larutan minyak paraffine. Vaksinasi harus diulang setelah 15 bulan, dan vaksinasi terhadap paratuberculosis hanya boleh dilakukan pada daerah yang bebas tuberculosis (3, 11, 28).

Sigursson (1960) berpendapat bahwa vaksin yang terdiri atas *Mycobacterium paratuberculosis* yang mati da-

lam campuran minyak mineral dapat memberikan perlindungan yang sangat baik terhadap paratuberculosis (3, 11, 20).

Huitema (1967) menggunakan bahan vaksin dari *Mycobacterium paratuberculosis* yang dimatikan dengan 0,5% phenol dicampur dengan cairan paraffin, disuntikan pada sapi dan tampak peningkatan daya tahan dari sapi terhadap paratuberculosis (11, 17).

Akan tetapi, semua vaksin masih mempunyai kekurangan karena dapat menghasilkan nodule pada tempat suntikan dan perkembangan hewan yang di vaksin menyebabkan hypersensitif pada Johnin dan Tuberculin test. Di negara dimana vaksinasi dilakukan, diberikan pada sapi yang berumur 1 minggu (8, 11, 25, 26).

3. Pengobatan

Pengobatan yang efektif spesifik terhadap paratuberculosis, belum ditemukan sampai saat ini dan beberapa percobaan pengobatan mungkin hanya untuk memperpanjang umur sapi yang menderita. Sejumlah preparat sulfa dan antibiotika telah dicoba dalam pengobatan terhadap paratuberculosis, tetapi tidak memuaskan walaupun sementara waktu perbaikan terjadi pada beberapa hewan.

Larsen, Vardaman dan Groth melakukan pengobatan dengan streptomycin dosis 50 mg / kg berat badan per hari

terhadap sapi yang menderita paratuberculosis dan hanya menyebabkan perubahan gejala klinis yang tidak tetap. Akan tetapi setelah 10 minggu sapi yang telah diobati mati sebagai akibat dari melanjutnya penyakitnya. Smith, Rankin dan Larsen et al dalam penyelidikan terhadap *Mycobacterium paratuberculosis* yang baru diisolir. Secara invitro peka terhadap pemberian streptomycin, viomycin dan isoniazid, akan tetapi resisten terhadap pemberian INH, PAS, sulfathiazol dan 4,4 diamino diphenyl sulfone (3, 7, 11).

Terhadap penicillin dan chloramphenicol *Mycobacterium paratuberculosis* tidak peka (11).

Dehidrasi dan mungkin hipoglycemia dapat diatasi dengan pemberian air minum yang segar, larutan glukosa atau larutan garam hipotonik selama malabsorpsi usus. Untuk pedet dan sapi dewasa dapat diberikan larutan glukosa 5% dengan dosis 22 ml / kg berat badan per hari secara subcutan atau dengan larutan dextrose 5% + NaCl physiologis 250 ml sampai 1000 ml per hari (26).

BAB VII

R I N G K A S A N

Paratuberculosis atau Johne's disease adalah penyakit menular dan bersifat khronis yang sering menyerang sapi dari semua umur. Pedet biasanya lebih peka terhadap paratuberculosis. Angka morbiditas pada sapi dapat mencapai 10%, sedangkan angka kematian bervariasi dari 3% sampai 15%. Penyakit ini penting pada sapi karena dapat menimbulkan kerugian ekonomis yang cukup besar.

Paratuberculosis pertama kali dilaporkan oleh Johne dan Frothingham (1895) dari Jerman, kemudian penyebab paratuberculosis yaitu *Mycobacterium paratuberculosis* pertama kali dapat diisolasi dan dikembangkan biakan pada kultur murni oleh Twort dan Ingram (1911) dari Inggris.

Paratuberculosis tersebar diseluruh dunia dan dapat menyerang pada hampir semua hewan ternak seperti kambing, babi, rusa, kuda, unta, kera dan ayam.

Penularan paratuberculosis dapat terjadi melalui makanan, minuman yang terkontaminasi oleh kuman *Mycobacterium paratuberculosis*. Selain itu juga penularan dapat terjadi secara congenital.

Akibat paratuberculosis pada sapi timbul gejala-gejala diarrhea, kurus, anaemia, bahkan dapat berakhir dengan kemati-

an. Perubahan patologis anatomis terutama ditemukan pada usus dan lymphoglandula mesenterica; perubahan yang lain juga dapat ditemukan pada hati, limpa, paru, ginjal, uterus, placenta dan lymphoglandula retro pharyngeal serta adanya arteriosclerosis.

Untuk diagnosa paratuberculosis dapat dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopis terhadap faeces dan scra - ping mukosa rectum. Pemeriksaan dapat dilakukan dengan pewarnaan Gram dan pewarnaan Ziehl Neelsen.

Pemeriksaan juga dilakukan dengan cara pupukan dan hewan percobaan. Pemeriksaan yang terpenting adalah test aller-gis dan secara serologis dengan CFT, FAT atau HAT.

Penyakit yang dapat dikelirukan dengan paratuberculosis antara lain ialah tuberculosis, coccidiosis, mucosal di - sease (virus diarrhea), colibacillosis dan salmonellosis.

Pengendalian terhadap paratuberculosis pada sapi terutama ditujukan untuk mencegah penyebaran penyakit ke- pada hewan lain. Pemberantasan dan pencegahan paratubercu - losis masih sulit dilaksanakan; yang penting adalah menja - ga kebersihan, kesehatan lingkungan dan kontrol terhadap hewan-hewan yang diduga terserang paratuberculosis serta dapat dilakukan vaksinasi.

Untuk pengobatan belum ada preparat yang diberikan pada penderita paratuberculosis yang memuaskan.

APPENDIX I.

Pewarnaan tahan asam - Ziehl Neelsen

Bahan :

1. Carbol Fuchsin

R/ Basic fuchsin	0,30 g
Ethyl alcohol	10 ml
Phenol	5 g
Aquadest	95 ml

2. Acid-alcohol

R/ HCl pekat	3,20 ml
Ethyl alcohol	97 ml

3. Methylen Blue (alkaline)

R/ Methylen blue	0,30 g
Ethyl alcohol 95%	30 ml
KOH	0,01 g
Aquadest	100 ml

Cara pewarnaan :

1. Celupkan sediaan ulas kedalam carbol fuchsin yang dipanaskan selama 3 menit.
2. Cuci dengan air kran.
3. Dilunturkan dengan acid alcohol hingga warna menjadi merah muda (2 - 3 menit).
4. Cuci dengan air kran.
5. Diwarnai dengan methylen blue selama 2 menit.
6. Cuci dengan air kran, kemudian dikeringkan.

Kuman tahan asam berwarna merah.

APPENDIX II.

Medium Herrold

Bahan :

Peptone	9	g
Nacl	4,5	g
Agar-agar	15,3	g
Beef extract	2,7	g
Aquadest	870	ml
Mycobactin	150	mg (dalam 4 ml ethanol)
Glycerol	27	ml
Solution malachite green	5	ml
Kuning telur	6	butir

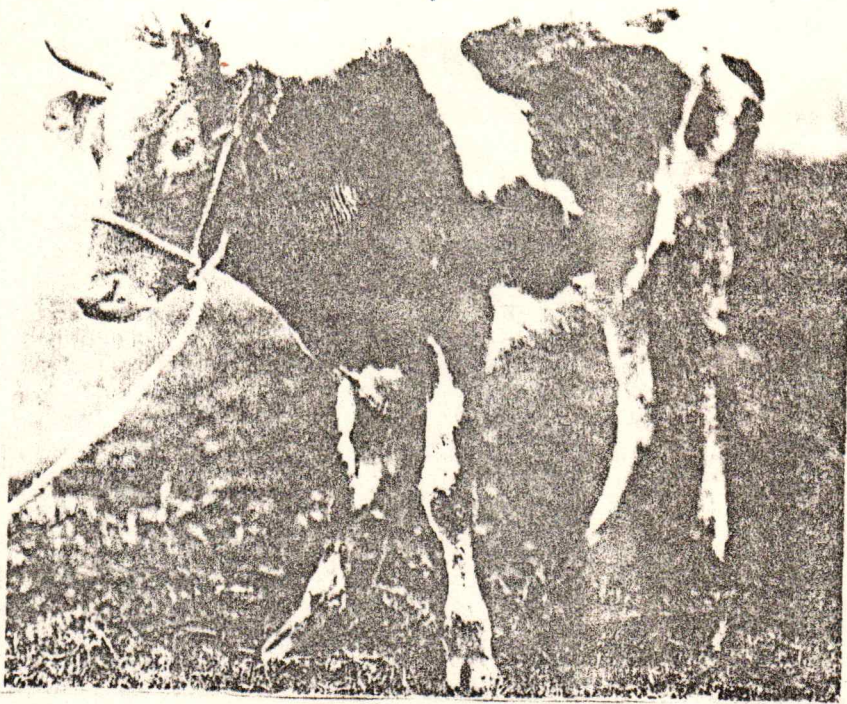
Cara pembuatan :

1. Semua bahan, kecuali kuning telur dan zat warna, di campur menjadi satu dan dipanaskan secukupnya untuk melarutkan agar-agar.
2. Campuran didinginkan sampai suhu 60°C dan dipertahankan pH 7,5 dengan menambah 1N NaOH secukupnya.
3. Tuangkan campuran kedalam botol aspirator dan disterilkan pada suhu 121°C selama 25 menit. Kemudian didinginkan sampai 56°C .
4. Telur dicuci dengan air sabun hangat, lalu dibilas dengan air bersih dan dikeringkan. Kemudian direndam dalam isopropyl alkohol 75% selama 30 menit dan

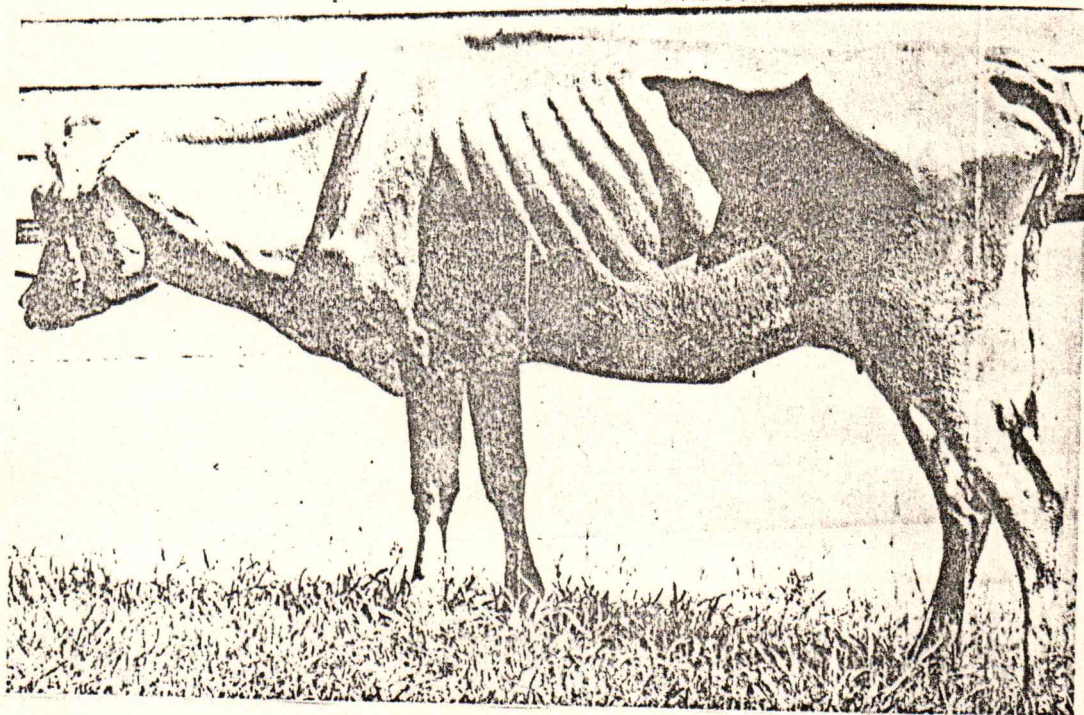
dikeringkan. Salah satu bagian dari kulit telur dipecah dengan forcep steril dan melalui lubang yang ada, semua bagian putih telur diambil. Selaput kuning telur dirobek dan kuning telur dituangkan ke dalam botol aspirator serta ditambahkan zat warna. Kemudian diaduk perlahan-lahan sampai homogen.

5. Tambahkan larutan malachit green dengan pipet steril.
6. Dimasukan ke dalam tabung-tabung steril yang masing-masing berisi 9 ml dan tertutup.
7. Biarkan medium mengeras dalam kedudukan miring.

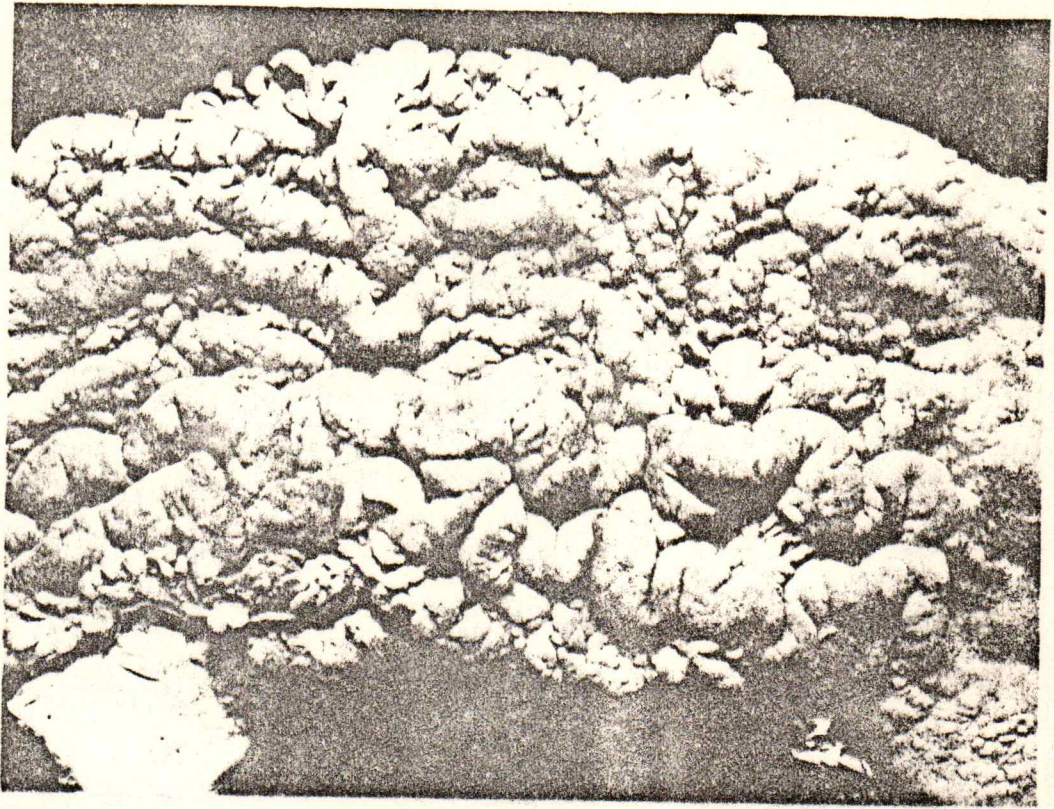
(6).



Gambar I : Keadaan sapi yang ditulari Myco
bacterium paratuberculosis mela
lui makanannya (11).



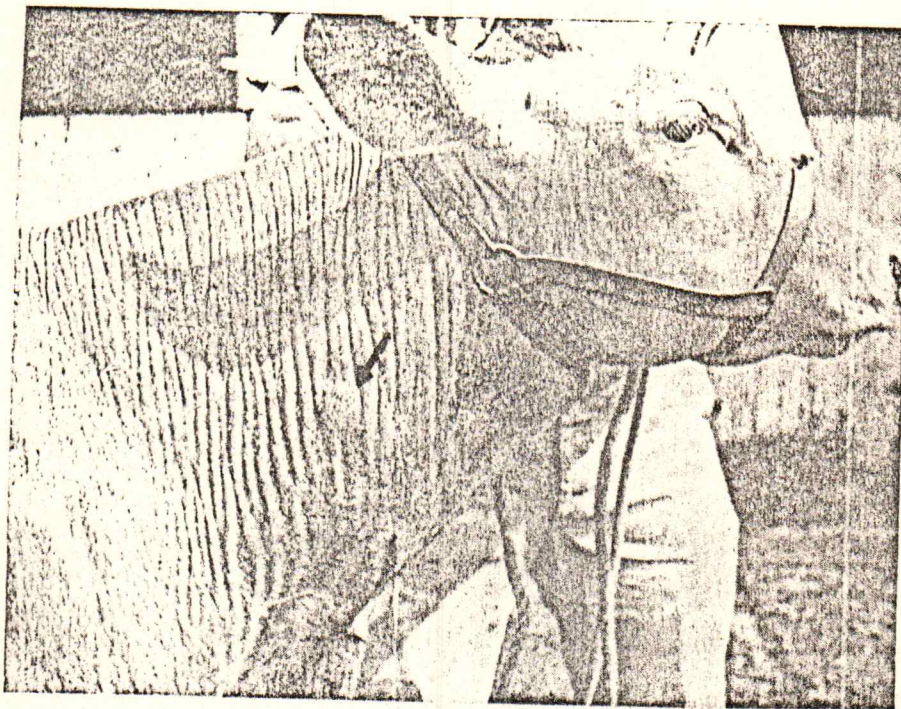
Gambar II : Keadaan sapi yang terkena paratuberculosis yang sudah lanjut (7).



Gambar III : Paratuberculosis, membrana mukosa ileum tampak tebal dan berlipat-lipat serta tidak ada ulsera dan necrosis. (11).



Gambar IV : Usus halus sapi yang terinfeksi paratuberculosis, terlihat 1. Sel raksasa dalam lamina propia. 2. Leukosit dalam plexus Meissner . 3. Macrofag polygonal. 4. Sel epiteloid (4).



Gambar V : Skin test secara intradermal yang positif dengan Johnin (7).

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Anonymous. 1976. Paratuberculosis in Goats. Jour. Am. Vet. Med. Assoc. 171 : 1254.
2. Bendixen P.H. 1977. Application of the Direct Leukocyte Migration Agarose Test in Cattle Naturally Infected with Mycobacterium paratuberculosis. Am. Jour. Vet. Res. 38 : 1161 - 1162.
3. Blood D.C. and Handerson J.A. 1981. Veterinary Medicine. 5th Ed. Bailliere Tindall, London. p. 535 - 540.
4. Buergelt C.D., Hall C., Mc Entee K. and Duncan J.R. 1978. Pathological Evaluation of Paratuberculosis in Naturally Infected Cattle. Vet. Path. 15 : 196-207.
5. Buergelt C.D., Lisle G.D., Hall C.E., Richard A.B., Merhal S. and Duncan J.R. 1978. In Vitro Lymphocyte Transformation as a Herd Survey Methode for Bovine Paratuberculosis. Am. Jour. Vet. Res. 29 : 591 - 595.
6. George E. Cottral. 1978. Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology. Comstock Publishing Associates a division of Cornell University Press Ithaca and London. p. 537 - 543, 682.

7. Gibbons W.J. 1963. Diseases of Cattle. 2th Ed. American Veterinary Publications, Inc California U.S.A. p. 626 - 628.
8. Gilmour N.J.L. 1976. The pathogenesis, diagnosis and control Johne's disease. Vet. Rec. 99 : 433 - 434.
9. Gilmour N.J.L. and Angus K.W. 1976. The specificity and sensitivity of the fluorescent antibody test in cattle experimentally infected with *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium johnei*. Res. Vet. Sci. 20 : 6 - 9.
10. Goudswaard J., Gilmour N.J.L., Dijkstra R.G. and Van Beek J.J. 1976. Diagnosis of Johne's disease in Cattle: A Comparison of five serological tests under field conditions. Vet. Rec. 98 : 461 - 462.
11. Hagan W.A. and Bruner D.W. 1981. The Infectious Disease of Domestic Animal. 7th Ed. Bailliere Tindall and Cox London. p. 267 - 277.
12. Hungerford T.G. 1970. Disease of Livestock. 7th Ed. Revised Angus and Robertson Publishers. PTY, Ltd, Australia. p. 158, 369 - 370.
13. Jennings A.R. 1970. Animal Pathology 1st Ed. Bailliere Tindall and Cassel Ltd, London. p. 12, 100, 101.
14. Jensen R. 1974. Disease of Sheep. Lea and Febiger Philadelphia. p. 242 - 245.

15. Johnson D.W., Muscoplat C.C., Larsen A.B. and Thoen C. O. 1977. Skin Testing, Fecal Culture and Lymphocyte Immunostimulation in Cattle Inoculated with *Mycobacterium paratuberculosis*. Am. Jour. Vet. Res. 38 : 2023 - 2025.
16. Larsen A.B., Miller J.M. and Merkal R.S. 1977. Subcutaneous Exposure of Calves to *Mycobacterium paratuberculosis* Compared with Intravenous and Oral Exposure. Am. Jour. Vet. Res. 38 : 1669 - 1671 .
17. Larsen A.B., Moyle A.I. and Himes E.M. 1978. Experimental Vaccination of Cattle Against Paratuberculosis (Johne's Disease) with Killed Bacterial Vaccines : A Controlled Field Study. Am. Jour. Vet. Res. 39 : 65 - 69.
18. Larsen A.B., Stalheim O.H.V., Hughes D.E., Appell L.H., Richards W.D. and Himes E.M. 1981. *Mycobacterium paratuberculosis* in the Semen and Genital Organ of a Semen-Donor Bull. Jour. Am. Vet. Med. Assoc. 179 : 169 - 171.
19. Lenghaus C., Badman R.T. and Gillick J.C. 1977. Johne's disease in Goats. Austral. Vet. Jour. 53 : 460.
20. Merchant I.A. and Parker R.A. 1967. Bacteriology and Virology. 7th Ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA. p. 455 - 458.

21. Merkal R.S., Larsen A.B. and Kopecky K.E. 1968. Comparison of Examination and Test Methods for Early Detection of Paratuberculosis Cattle. Am. Jour. Vet. Res. 29 : 1533 - 1537.
22. Ressay A.A. 1963. Patology Khusus Veteriner. Departemen Urusan Research Nasional Republik Indonesia hal. 40, 41, 451.
23. Riemann H. 1979. Paratuberculosis in Cattle and Free-Living Exotic Deer. Jour. Am. Vet. Med. Assoc. 174 : 841 - 843.
24. Ristic M. and McIntyre I. 1981. Diseases of Cattle in the Tropics. Martinus Nijhoff, Publisher The Hague Boston London. p. 287 - 296.
25. Schaaf A.V.D. 1977. The Control of Johne's disease. Vet. Rec. 100 : 459 - 460.
26. Siegmund O.H. 1979. The Merck Veterinary Manual. 5th Ed. Merck & Co., Inc. Rahway, NY, USA. p. 303 - 304.
27. Smith A.H., Jones T.C. and Hunt R.D. 1972. Veterinary Pathology. 4th Ed. Lea and Febiger, Philadelphia. p. 637 - 639.
28. Soltys M.A. 1963. Bacteria and Fungi Pathogenic To man And Animal. Bailliere Tindall and Cox London. p. 126 - 131.
29. Taylor T.K., Wilks C.R. and McQueen D.S. 1981. Isola-

tion of *Mycobacterium paratuberculosis* from the milk of a cow with Johne's disease. *Vet. Rec.* 109 : 523 - 533.

30. Ullrich N.A., Grumbein S. and Coles B. 1982. Paratuberculosis (Johne's disease) in goats. *Veterinary Medicine & Small Animal Clinician.* 77 : 1101 - 1104.

31. Willes C.R., Taylor T.K. and Russell E.G. 1981. Isolation of mycobacteria inducing cross-reactions in the complement fixation test for Johne's disease. *Res. Vet. Sci.* 30 : 323 - 327.