

Morfometri dan Karakteristik Genetik Cacing Hati (*Fasciola Spp.*) yang Menginfeksi Sapi di Bali

^{1*}Nyoman Adi Suratma, ²Hapsari Mahatmi

¹Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

²Laboratorium Bakteriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

Denpasar, Bali, Indonesia

*Penulis koresponden: adisuratma@unud.ac.id

Abstrak. Fasciolosis adalah suatu penyakit yang disebabkan infeksi cacing *Fasciola spp.*, khususnya pada sapi dan ternak ruminansia lainnya. Penyakit ini mengakibatkan kerugian ekonomi yang cukup besar karena berkurang berat badan serta pengafkiran organ hati. Tingkat infeksi dari cacing ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti umur, jenis kelamin, manajemen pemeliharaan, wilayah pemeliharaan serta genetik dari cacing tersebut. Penelitian tentang epidemiologi infeksi cacing *Fasciola spp.* di Bali didapatkan prevalensi infeksi sebesar 10,5 %. Namun untuk menentukan spesies dari cacing ini masih sulit, sehingga perlu dilakukan identifikasi secara molekuler. Pada penelitian ini dilakukan tentang studi karakteristik molekuler cacing hati (*Fasciola spp.*) yang menginfeksi sapi di Bali. Adapun pelaksanaan penelitian tersebut adalah sebagai berikut : Sampel cacing diperoleh dari rumah potong hewan pada kabupaten -kabupaten yang ada di Bali, yaitu mengambil cacing *Fasciola* pada hati, saluran empedu atau kantung empedu sapi. Selanjutnya cacing tersebut dibawa ke laboratorium untuk dilakukan analisis morfometri dan uji molekuler. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini adalah bahwa cacing yang menginfeksi sapi di Bali secara morfometri terletak diantara *Fasciola gigantica* dan *Fasciola hepatica* (Intermediet) dan secara genetik cacing *Fasciola sp.* yang menginfeksi sapi di Bali mempunyai karakteristik yang mirip dengan *Fasciola gigantica* namun satu sampel mempunyai kemiripan yang jauh, sehingga ada kemungkinan bahwa cacing *Fasciola sp.* yang ada di Bali merupakan cacing *Fasciola gigantica* dengan varian yang berbeda.

Kata kunci: Morfometri, Molekuler, *Fasciola spp.*, Sapi, Bali

I. PENDAHULUAN

Fasciolosis adalah penyakit parasit, yang dapat menginfeksi berbagai spesies mamalia, termasuk manusia. Penyakit ini dapat disebabkan oleh *Fasciola hepatica* dan *Fasciola gigantica*. Pada hewan ruminansia parasit ini sangat penting, karena dapat menimbulkan kerugian ekonomi (Sphithill et al, 1999.). Selain dapat menimbulkan kerugian ekonomi, penyakit ini juga dapat bersifat zoonosis (Schweizer et al, 2005). Epidemiologi penyakit ini di Indonesia telah dilaporkan pada beberapa tempat, diantaranya prevalensi infeksi *Fasciola* di Yogyakarta berkisar 40 - 90% (Estuningsih, 2004) dan prevalensi infeksi *Fasciola* di rumah potong hewan Samarinda sebesar 44,44 % (Jusmaldi dan Yuliwan, 2009), sedangkan prevalensi infeksi *Fasciola* di Bali pada lima tahun terakhir belum ada data yang dilaporkan. Beberapa spesies dilaporkan termasuk ke dalam genus *Fasciola*, diantaranya *F. hepatica* terutama terjadi di daerah beriklim sedang, dan *F. gigantica* di daerah tropis, dan keduanya taksa yang tumpang tindih terdapat di daerah subtropis (Mas-Coma et al., 2009 ; Kramer dan Schnieder, 1998). Sedangkan hasil penelitian epidemiologi menunjukkan bahwa prevalensi infeksi cacing *Fasciola spp.* pada sapi di Bali sebesar 10,5 % (Suratma. et al., 2016).

Identifikasi spesies *Fasciola* yang akurat sangat diperlukan untuk manajemen klinis infeksi dan untuk survei epidemiologi. Selama ini, identifikasi *Fasciola spp.* didasarkan semata-mata pada pendekatan morfologi, namun, karena keterbatasan metode morfologi, maka identifikasi sering mengalami hambatan. Untuk itu pendekatan molekuler telah dikembangkan dan digunakan untuk identifikasi dan diferensiasi spesies *Fasciola*, sehingga penelitian mengenai identifikasi molekuler terhadap spesies *Fasciola* yang menginfeksi sapi di Bali sangat perlu dilakukan. Berdasarkan latar belakang tersebut maka tujuan penelitian ini adalah mengetahui variasi genetik dari *Fasciola spp.* yang menginfeksi sapi di Bali.

II. METODE DAN PROSEDUR

Sampel Cacing hati (*Fasciola spp.*)

Sampel cacing diperoleh dari rumah potong hewan di kabupaten yang ada di Bali, yaitu mengambil cacing *Fasciola* pada hati, saluran empedu atau kantung empedu sapi Selanjutnya cacing tersebut dicuci dalam larutan garam fisiologis dan disimpan dalam etanol 70 % sampai dilakukan uji PCR dan sequences

Ekstraksi DNA Genomik dan analisis PCR-RFLP

DNA genom diekstraksi dari cacing dewasa menggunakan Kit DNGTM-plus (CinnaGen, Iran) mengikuti rekomendasi pabrikan. Daerah ITS1 diamplifikasi menggunakan dua primer (5'-TTGCGCTGATTACGTCCCTG-3') dan Reverse (5'-TTGGCTGCGCTCTTCATCGAC-3' ITS). Primer disintesis oleh Bione Company (Korea). Amplifikasi PCR dilakukan dalam 15 µl reaksi yang mengandung 7,5 µl campuran induk (Amplikon), 0,5 µl masing-masing primer (5 pmol), 1,5 µl DNA genomik, dan 5 µl aquades. Reaksi dilakukan sebagai berikut: pra-denaturasi pada 95 °C selama 5 menit, 30 siklus denaturasi pada 94 °C selama 30 detik, anil pada 50 °C selama 30 detik, perpanjangan pada 72 °C selama 30 detik, diikuti dengan perpanjangan akhir di 72 °C selama 5 menit. Produk PCR dipisahkan dalam gel agarosa 1,5% menggunakan Simply Safe (Eurx, Polandia). Metode PCR-RFLP digunakan untuk membedakan secara spesifik *F. hepatica* dari *F. gigantica* pada ITS1 dengan enzim *RsaI* Untuk mengkonfirmasi hasil PCR-RFLP, sebuah fragmen 700 bp dari gen ITS1 dilakukan squensing dengan menggunakan Sanger sequencing (Macrogen Inc. Korea, ABI3730XL) (Bozorgomid, *et al.*, 2016).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Telah dilakukan koleksi sampel cacing hati dari beberapa rumah potong hewan, yang merupakan materi penelitian yang akan di lihat karakteristik molekulernya.



Gambar 1. Morfologi cacing hati

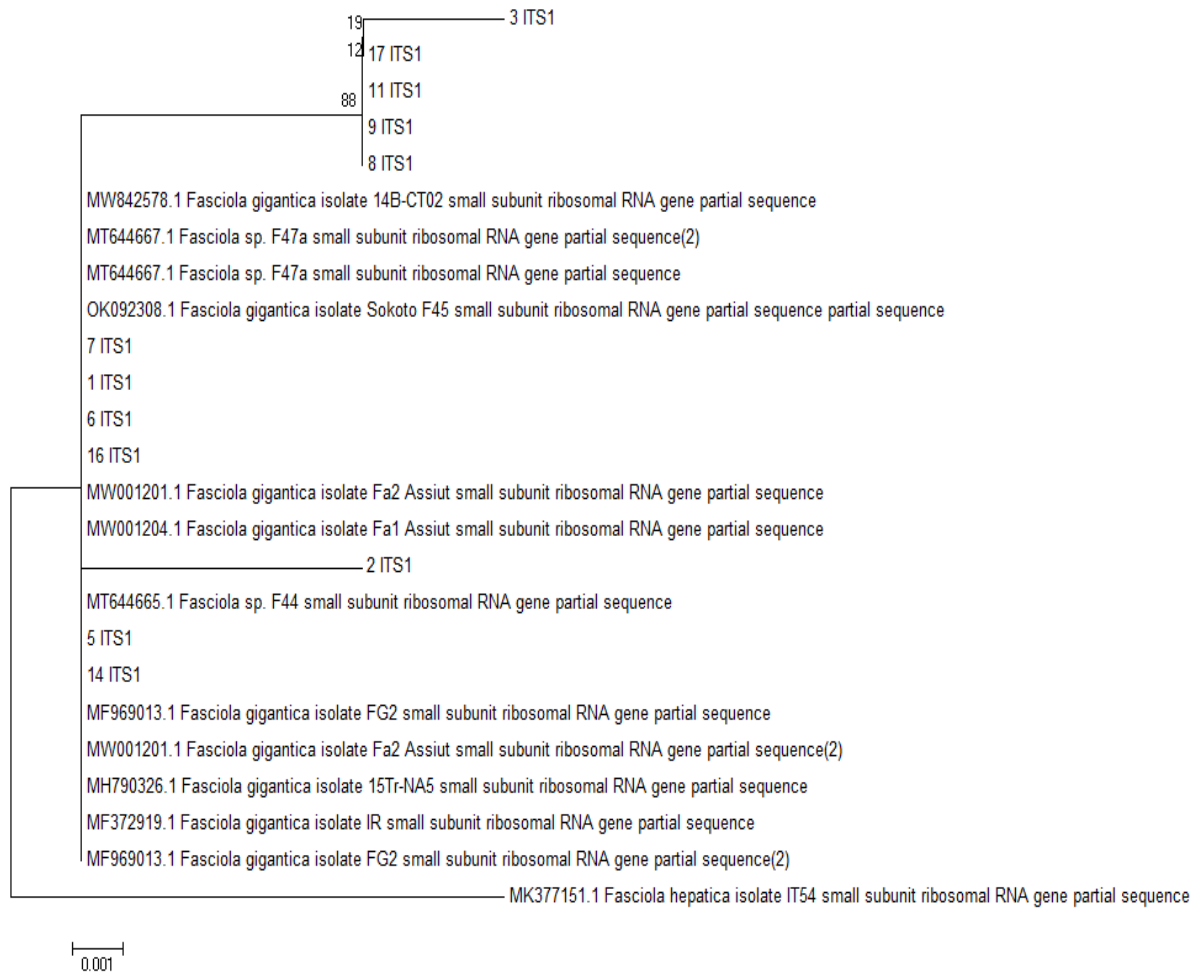
Tahap pertama yang dilakukan adalah melakukan analisis morfometri terhadap cacing hati sampel. Dari 30 ekor cacing hati yang diamati ternyata panjang berkisar 16,0 mm-36,4 mm (rata-rata : 27,8 mm) sedangkan lebarnya berkisar 3,4 mm - 8,2 mm (rata-rata : 6,3 mm). Ukuran cacing hati (*Fasciola sp.*) yang diperoleh dari sapi di Bali ternyata lebih kecil dibandingkan dengan *Fasciola gigantica* (43,9 - 50,2 mm), namun lebih besar jika dibandingkan dengan *Fasciola hepatica* (18,8 -23,3 mm). Sehingga dalam hal ini sementara disebut dengan *Fasciola* tipe intermediet.

Langkah berikutnya adalah melakukan uji PCR untuk menentukan berat molekul dari cacing hati tersebut dan selanjutnya dilakukan isolasi DNA dan squensing gen ITS1 , yang dilakukan di Macrogen Laboratorium Singapura. Hasil sequencing dan setelah di bandingkan dengan Id Gene Bank, ternyata dari 12 sampel cacing hati yang dianalisis ternyata 3 sampel mempunyai 100 % kemiripan dengan *Fasciola gigantica*, 8 sampel mempunyai kemiripan diatas 99 % dengan *Fasciola gigantica* dan hanya 1 sampel yang mempunyai kemiripan dibawah 99 % dengan *Fasciola gigantica* (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Perbandingan DNA sampel cacing hati dengan Id Gene Bank

No	Id Sampel	Id Gene Bank	Skor maks	Skor Total	Query Cover	E Value	Identifikasi
1	1_ITS1	OK092308.1 Fasciola gigantica isolate Sokoto_F45 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1168	1168	97%	0	99.38%
	2_ITS1	MF969013.1 Fasciola gigantica isolate FG2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1114	1114	99%	0	99.51%
	3_ITS1	MW001201.1 Fasciola gigantica isolate Fa2 Assiut small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1013	1013	99%	0	99.46%
4	5_ITS1	MT644667.1 Fasciola sp. F47a small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1144	1144	100%	0	99.84%
5	6_ITS1	MW001201.1 Fasciola gigantica isolate Fa2 Assiut small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1109	1109	100%	0	100%
6	7_ITS1	MW001204.1 Fasciola gigantica isolate Fa1 Assiut small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1109	1109	100%	0	100%
7	8_ITS1	MT644667.1 Fasciola sp. F47a small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	675	675	97%	0	98.45%
8	9_ITS1	MH790326.1 Fasciola gigantica isolate 15Tr-NA5 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	998	998	100%	0	99.46%
9	11_ITS1	MT644665.1 Fasciola sp. F44 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1053	1053	100%	0	99.32%
10	14_ITS1	MW842578.1 Fasciola gigantica isolate 14B-CT02 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1162	1162	100%	0	99.84%
11	16_ITS1	MF372919.1 Fasciola gigantica isolate IR small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1118	1118	100%	0	100%
12	17_ITS1	MF969013.1 Fasciola gigantica isolate FG2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1138	1138	100%	0	99.84%

Tabel 2. Pohon Velogeni Analisis Kekerabatan *Fasciola Sp.* yang menginfeksi sapi di Bali



Hasil analisis kekerabatan *Fasciola* sp yang menginfeksi sapi di Bali dibandingkan dengan *Fasciola gigantica* dan *Fasciola hepatica* berdasarkan pohon velogeni adalah dari 12 sampel cacing yang dianalisis, ternyata 6 sampel (50%) kekerabatannya sangat dekat dengan *Fasciola gigantica*, 5 sampel (41,6%) mempunyai kekerabatan yang sedang dan 1 sampel (8,3%) mempunyai kekerabatan yang jauh dengan *Fasciola gigantica*. Dan hasil yang lain adalah tidak satupun dari sampel cacing yang menginfeksi sapi di Bali mempunyai kekerabatan dengan *Fasciola hepatica*.(Tabel 2).

IV. KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan :

1. Cacing yang menginfeksi sapi di Bali secara morfometri terletak diantara *Fasciola gigantica* dan *Fasciola hepatica* (Intermediet)
2. Secara genetik cacing *Fasciola* sp. yang menginfeksi sapi di Bali mempunyai karakteristik yang mirip dengan *Fasciola gigantica* namun satu sampel mempunyai kemiripan yang jauh, sehingga ada kemungkinan bahwa cacing *Fasciola* sp yang ada di Bali merupakan cacing *Fasciola gigantica* dengan varian yang berbeda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Atas terselesainya tulisan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Universitas Udayana atas dana yang diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana, selain itu penulis juga mengucapkan terimakasih kepada mahasiswa dan pegawai Rumah Potong Hewan, sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ashrafi, K, Valero, M.A, Panova, M. Periago, M.V. Massoud, J. and MasComa, S. 2006. Phenotypic analysis of adults of *Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica* and intermediate forms from the endemic region of Gilan, Iran. *Parasitol Int*, 55:249–260.
- [2] Estuningsih, S .E., G.Adiwinata, S. Widjayanti dan D .Piedrafita . 2004. Pengembangan teknik diagnosa fasciolosis pada sapi dengan antibody monoclonal dalam capture ELISA untuk deteksi antigen . Seminar Nasional Parasitologi dan Toksikologi Veteriner .Bogor, 20- 21 April 2004 .
- [3] Jusmaldi dan Saputra Y. 2009. Prevalensi Infeksi Cacing Hati (*Fasciola hepatica*) pada Sapi Potong di Rumah Potong Hewan Samarinda. *Jurusan Biologi FMIPA Universitas Mulawarman. Bioprospek*. Vol. 6 No. 2.
- [4] Mas-Coma, S., Bargues, M.D., Valero, M.A. 2005. Fascioliasis and other plantborne trematode zoonoses. *Int. J. Parasitol.* 35, 1255–1278.
- [5] Periago MV, Valero MA, El Sayed M, Ashrafi K, El Wakeel A, Mohamed MY, Desquesnes M, Curtale F, Mas-Coma S. 2008. First phenotypic description of *Fasciola hepatica*/*Fasciola gigantica* intermediate forms from the human endemic area of the Nile Delta, Egypt. *Infect Genet Evol*, 8:51–58.
- [6] Reza Shafiei, Bahador Sarkari, Seyed Mahmud Sadjjadi, Gholam Reza Mowlavi, dan Abdolali Moshfe. 2014. Molecular and Morphological Characterization of *Fasciola* spp. Isolated from Different Host Species in a Newly Emerging Focus of Human Fascioliasis in Iran. *Hindawi Publishing Corporation Veterinary Medicine International Volume 2014, Article ID 405740*.
- [7] Saira Mufti, M. Maqbool Ahmad, Yusuf Zafar, and Mazhar Qayyum. 2011. Phenotypic Analysis of Adult *Fasciola* spp. From Potohar Region of Northern Punjab, Pakistan. *Pakistan J. Zool.*, vol 43(6), pp. 1069-1077

Laporan Kasus: Terapi cairan terozonisasi sebagai treatment kasus lemah kaki belakang pada anjing

*Ida Ayu Dian Kusuma Dewi, I Bagus Made Bhaskara, Ni Kadek Wiwik Anggraeni,
I Dewa Ayu Dian Sasmitha, Aurelia Dewi Rosalina, I Gede Jaya Kartika

Gatsu Veterinary Surgery
Denpasar

*Penulis koresponden: iadiankusuma@gmail.com

Abstrak: Ozon merupakan molekul kimia dengan kemampuan desinfeksi serta purifikasi yang digunakan dalam banyak industri, mulai dari pengelolaan limbah, industri kimia hingga medis. Di Indonesia, penggunaan dalam lingkup medis, hingga saat ini terbatas pada pasien manusia, dan hampir tidak ada informasi mengenai manfaatnya dalam bidang kesehatan hewan. Tulisan ini memaparkan penggunaan ozon pada tiga anjing yang memiliki gejala klinis kelemahan kaki belakang. Pasien pertama, merupakan anjing ras Samoyed yang menderita gagal ginjal dengan demam persisten. Pasien kedua yakni anjing ras Dobberman yang mengalami lumpuh menyeluruh (paraplegia) akibat trauma saat kopulasi dan luka luar yang tak kunjung sembuh. Pasien ketiga merupakan anjing ras Pomeranian yang memiliki riwayat kelainan bentuk jantung, dengan demam dan kelemahan kaki belakang. Dua dari tiga pasien yang memiliki gejala klinis demam ditangani dengan menggunakan antibiotik spektrum luas, terapi diet dan infus Ozon setiap dua hari sekali sejumlah 200-500 ml per sesinya. Sedangkan pasien Dobberman ditangani dengan melakukan terapi suportif berupa diet khusus dan pembersihan luka. Selain terapi diatas, pasien juga diberikan fisioterapi yakni latihan berjalan dengan bantuan *lifting harness* pada bagian kaki belakang. Ketiga pasien menunjukkan perubahan signifikan, yakni dapat berjalan normal, setelah paling tidak tiga kali sesi terapi cairan terozonisasi. Terapi ini menjadi terapi penunjang dengan manfaat percepatan penyembuhan pada pasien lumpuh dan pincang. Kajian mengenai penggunaan Ozon dalam dunia medis hewan perlu dikaji lebih dalam sehingga pemanfaatannya sebagai agen kuratif dapat digunakan lebih luas terutama untuk penyakit medis penting seperti kanker, diabetes, septisemia, dan penyakit lain yang bersifat kronis mematikan.

Kata Kunci: Cairan terozonisasi, lumpuh, ozon, terapi cairan.

I. PENDAHULUAN

Ozon merupakan molekul gas reaktif yang terdiri dari tiga atom oksigen dan merupakan penyusun atmosfer bumi yang dapat terbentuk secara alami maupun artifisial. Tergantung pada lokasinya, ozon secara alami terbentuk melalui reaksi radiasi ultraviolet dan oksigen dan melalui reaksi nitrogen oxide (NOx) dan senyawa organik volatil (VOC) yang sebagian besar merupakan hasil dari pembakaran bahan bakar fosil [1]. Karakter reaktif molekul menuai kontroversi tentang produksi dan penggunaannya. Kontroversi ini meliputi berbagai bidang mulai dari pengelolaan limbah, penanggulangan hama, industri kimia, pengolahan makanan, medis, peternakan, dan kedokteran hewan.

Penggunaan ozon dibidang kedokteran manusia pertama kali dikembangkan sebagai alternatif antibiotik untuk menangani luka yang terinfeksi. Ozon dapat mengaktifasi patogen melalui serangkaian proses oksidasi non spesifik dimulai dari destruksi konstituen penting membran, dinding sel, sitoplasma, hingga kapsid. Ozon memiliki rentang kerja luas, mulai dari bakteri Gram positif, Gram negatif, hingga bisa menghancurkan spora dan bentuk vegetatif dari sel pathogen. Pada virus, ozon memiliki aktivitas yang dapat menghambat proses replikasi dan secara signifikan dapat mengurangi reaksi peradangan akibat infeksi virus [2].

Penggunaan ozon di bidang kedokteran hewan hingga saat ini sedang banyak dipelajari dan dikembangkan. Beberapa studi mencoba untuk menguji efisiensi kerja ozon sebagai agen antimikroba pada beberapa jenis dan strain bakteri penyebab metritis pada sapi [3]. Studi lain, menyoroiti aktivitas antibakteri ozon pada biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* [4]. Tak hanya pada kasus infeksi bakteri, penggunaan ozon juga banyak dikembangkan sebagai *supporting treatment* penyakit virus mematikan seperti infeksi *Canine parvovirus* pada anjing [5].

Tidak hanya pada kasus penyakit infeksius, ozon juga dipergunakan untuk menangani penyakit atau permasalahan kesehatan yang bersifat non-infeksius. Ozon juga digunakan sebagai penghilang rasa sakit yang kronis pada kasus osteoarthritis, kerusakan saraf, hernia diskus, dan osteomyelitis [6]. Penggunaan ozon secara topical dengan metode pembungkusan atau *ozone bagging* dan injeksi pada titik luka terbuka dapat mempercepat kesembuhan luka dan pertumbuhan jaringan [7]. Ozon juga dapat dicampurkan pada salep atau pada air mandi untuk kemudian digunakan sebagai terapi penyakit kulit [7,8].

Meskipun ozon memiliki karakteristik poten yang sangat menguntungkan dalam menangani berbagai penyakit, saat ini tidak banyak informasi mengenai pemanfaatannya di bidang kedokteran hewan di Indonesia. Minimnya penggunaan ozon dibidang kedokteran hewan bisa dikarenakan masih kurang kajian mengenai keamanan ozon sehingga berimplikasi secara langsung terhadap sosialisasi pemanfaatannya. Selain itu, teknik pengobatan penyakit secara umum masih menggunakan teknik yang telah lebih dahulu terbukti efektif dan teruji keamanannya sebagai pilihan utama terapi penyakit.

Dengan uraian latar belakang diatas, tulisan ini dibuat untuk memaparkan penggunaan ozon dibidang kedokteran hewan, yakni pada pasien yang memiliki gejala klinis kelemahan pada kaki belakang. Penggunaan ozon dalam kasus kelemahan kaki belakang ini diharapkan bisa menjadi titik awal untuk dokter hewan praktisi maupun peneliti untuk mengembangkan sekaligus mengkaji penggunaan ozon pada kasus klinik lainnya.

II. MATERI DAN METODE

Pasien dan pengobatannya

Pasien pertama merupakan seekor anjing jenis Samoyed jantan berumur tiga tahun. Pada pemeriksaan klinis pertama pasien mengalami kepincangan pada kaki belakang dan abdomen yang teraba tegang. Suhu rektal mencapai 40°C dan feses cenderung lembek hingga cair. Pemeriksaan feses tidak menunjukkan adanya temuan telur cacing ataupun protozoa. Pemeriksaan darah lengkap menunjukkan anemia dengan derajat parah, leukositosis yang didominasi oleh peningkatan granulosit. Selain itu, rasio limfosit dan monosit absolut yang sangat rendah juga dapat dilihat dari pemeriksaan ini. Sementara itu, hasil pemeriksaan kimia darah menunjukkan peningkatan nilai panel fungsi ginjal yakni kreatinin dan nitrogen urea darah. Penanganan yang diberikan pada tiga hari pertama yakni terapi cairan, pemberian anti radang (Glucortin 0,2ml/ kg SC), antibiotik spektrum luas (Amox LA 30mg/kg bb IM), dan *handfeeding* diet khusus ginjal. Terapi cairan terozonisasi dimulai pada hari ke-5 pasca kedatangan dengan jumlah pemberian sebanyak 400ml selama 3jam. Selain terapi diatas, secara reguler, pasien mulai mendapatkan fisioterapi pada hari ke-5 pasca kedatangan dengan metode *harness-lift* selama 10-15 menit sebanyak dua kali sehari.

Seekor anjing jantan ras Pomeranian campuran berumur empat tahun datang dengan keluhan pincang kaki belakang kiri disertai dengan takipnea. Suhu rektal saat pemeriksaan pertama yakni 38,8°C. Pemeriksaan radiografi menunjukan tidak ada abnormalitas baik pada otot maupun tulang kaki belakang. Pemeriksaan darah rutin menunjukan leukositosis ringan yang didominasi oleh granulosit. Pasien ditangani dengan pemberian infus, antibiotik (Ciprofloxacin 5mg/ kg bb) dan terapi cairan terozonisasi. Selain itu, dilakukan juga fisioterapi pada pasien dengan menggerakkan kaki belakang (mengayuhkan) dan latihan berjalan metode *harness-lift*.

Seekor Dobberman jantan berusia 5 tahun datang dengan keluhan lumpuh dan memiliki ulcer pada bagian paha kiri. Luka ini berdiameter ±2-4cm dengan kedalaman ±1-1.5cm dengan tepian luka tumpul dan dipenuhi jaringan berwarna putih-keabuan (nekrosis). Luka ini diduga mulai muncul saat pasien tidak mampu bangun dan hanya rebah pada satu posisi. Tidak ada perdarahan pada luka. Suhu rektal terukur 39,3°C dengan keseluruhan fisik terlihat lemas. Hasil pemeriksaan darah lengkap menunjukkan bahwa pasien menderita anemia dengan derajat parah dan peningkatan leukosit non-signifikan. Uji kimia darah tidak menunjukan perubahan. Pasien mendapat treatment berupa infus cairan terozonisasi pada hari ke-4 pasca kedatangan, antibiotik (Ciprofloxacin 10mg/ kg bb), dan diet tinggi protein.

Parameter yang dievaluasi

Evaluasi pengobatan dilakukan dengan melihat respon motorik terutama aktivitas berdiri dan berjalan serta suhu tubuh,

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ketiga pasien menunjukkan kelemahan kaki belakang dengan klinis penyerta dan hasil uji darah yang berbeda-beda. Pasien pertama menunjukkan adanya anemia derajat parah yang bisa diduga sebagai bagian dari terganggunya fungsi ginjal sebagai penghasil hormone erythropoietin. Sementara itu pasien kedua datang dengan suhu relatif normal dengan hasil pemeriksaan darah leukositosis non signifikan yang bisa muncul akibat stress fisiologis akut. Pasien ketiga menderita anemia parah yang diduga akibat kurangnya nutrisi dan adanya *pressure ulcer* tahap 4, yakni dimana ulcer sudah mengekspos keseluruhan otot yang ada dibawah kulit hingga mencapai tulang.

Perubahan pasca terapi cairan terozonisasi tiap pasien bervariasi baik dari segi waktu maupun respon tubuh. Pasien pertama diberikan terapi cairan terozonisasi memasuki hari kelima pasca kedatangan. Suhu rektal pasien ini tidak mengalami perubahan signifikan meskipun telah diberikan antibiotik dihari ke-4. Namun setelah menerima infus

terozonisasi, suhu rektal mulai menurun menjadi 38,6°C. Pasien juga mulai menunjukkan respon motorik yang positif yakni dengan berdiri sendiri dan mulai berjalan perlahan saat menjalani fisioterapi.

Pasien kedua menunjukkan perubahan paling progresif setelah mendapatkan infus terozonisasi meskipun suhu rektal cenderung fluktuatif. Pasien menunjukkan respon motorik yang sangat baik yakni berdiri sendiri meskipun terlihat guncang dihari yang sama saat terapi cairan terozonisasi diberikan. Suhu rektal terlihat meningkat menjadi 40°C pada hari ke-2 pasca kedatangan sebelum akhirnya menurun setelah keesokan harinya. Aktivitas bergerak dan berjalan perlahan tanpa bantuan harness teramati pada hari ke-2. Pada hari ke-3 pasien sudah berjalan dan melakukan aktivitas seperti urinasi tanpa kesulitan.

Pasien ketiga memiliki respon motorik dan kesembuhan secara umum paling minimal dibandingkan dua pasien sebelumnya. Setelah mendapatkan terapi cairan terozonisasi, pasien menunjukkan respon dengan mulai menggonggong dan mulai mengangkat badan bagian depan walaupun tidak lama. Luka tidak menunjukkan perubahan yang signifikan walaupun telah dibersihkan (*wound cleaning*) setiap hari. Suhu rektal selalu terukur relative normal pasca kedatangan. Pasien mulai menunjukkan respon motorik yang positif pada hari ke-5 pasca kedatangan, yakni dengan mulai menggunakan tubuh bagian depan untuk berjalan dan kaki belakang masih terlihat relatif lemah namun mulai digerakkan saat dibantu dengan harness.

Tabel 1. Parameter yang dievaluasi sebelum dan sesudah terapi

	Sebelum			Sesudah		
	Rentang suhu rektal	Berdiri	Berjalan*	Rentang suhu rektal	Berdiri	Berjalan*
P1	39.5-40.0	Tidak	Tidak	38.7-39.2	Ya	Ya
P2	39.3-39.6	Tidak	Tidak	38.6-38.9	Ya	Ya
P3	37.3-39.3	Tidak	Tidak	37.4-38	Ya	Ya

*berjalan : pasien berjalan tanpa bantuan *harness*

Ada dua kemungkinan mekanisme kerja ozon pada ketiga kasus diatas. Mekanisme pertama yakni ozon sebagai agen potent yang bekerja sendiri mampu menjadi *pain reliever* yang secara progresif juga membantu mengurangi proses radang yang mungkin ada pada otot kaki belakang ataupun memperbaiki sel-sel otot dan tulang yang abnormal [4,6]. Ozon dapat menginduksi produksi regulator proses peradangan, meningkatkan produksi antioksidan, serta meningkatkan pelepasan Interleukin-8 yang efektif dalam proses fagositosis sel-sel nekrosis [7]. Mekanisme kedua yakni, terapi cairan terozonisasi bergerak sebagai *supporting therapy* atau katalisator dari keseluruhan proses penyembuhan yang melibatkan penggunaan antibiotik, anti radang, diet khusus, dan fisioterapi. Hal ini dapat dilihat dari pasien yang mulai mengalami penurunan suhu rektal terlepas dari pemberian terapi cairan terozonisasi. Aktivitas bakteriosidal dari ozon tidak dapat dibuktikan pada ketiga kasus diatas karena adanya penggunaan antibiotik yang dilakukan bersamaan dengan pemberian terapi cairan terozonisasi.

Terapi cairan terozonisasi pada ketiga kasus diatas memberikan efisiensi yang bergantung pada konsisi pasien secara umum. Terapi ini memberikan hasil yang sangat progressif terhadap klinis lemah kaki belakang pada pasien yang tidak dalam kondisi anemia. Hal ini mungkin disebabkan oleh transportasi serta penyerapan ozon akan menjadi lebih baik jika komponen “pengangkut” dalam tubuh berada dalam jumlah yang mencukupi. Selain itu, pada ketiga kasus diatas tidak dilakukan pemeriksaan darah ulang sehingga belum ada ukuran pasti tentang efisiensi terapi cairan ozon pada kasus kelemahan kaki belakang yang dapat dijadikan sebagai salah satu tolak ukur keberhasilan pengobatan. Ketiga kasus diatas hanya menggunakan indikator perubahan klinis diakhir masa pengobatan sebagai output dari terapi cairan terozonisasi

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan

Terapi cairan terozonisasi menunjukan efisiensi yang berbeda-beda pada pasien. Terapi ini bekerja lebih baik pada pasien yang tidak menderita anemia.

Saran

Studi kasus ini diangkat pada tulisan ini hanya menggunakan perubahan klinis sebagai tolak ukur keberhasilan terapi, sehingga dimasa depan perlu dilakukan kajian ulang dengan jumlah kasus yang lebih banyak dengan

menggunakan data numerik yang dapat diuji untuk mengetahui efikasi, efisiensi, serta manfaat nyata dari terapi ini. Ozon, meskipun belum dapat dibuktikan dalam ketiga kasus diatas, dapat menjadi salah satu alternatif agen bakteriosidal yang penggunaannya dapat berdiri sendiri tanpa resiko resistensi. Sehingga, kajian mengenai aktivitas bakteriosidal ozon dapat dijadikan objek studi penting dimasa depan. Selain itu, penggunaan ozon dalam terapi dibidang kedokteran hewan harus mulai dikembangkan dan dikaji terutama untuk penyakit zoonosis, penyakit metabolik, dan gangguan kesehatan lainnya yang belum memiliki standar pengobatan yang baku.

UCAPAN TERIMA KASIH

Studi ini tidak dapat dilaporkan tanpa kerja keras serta kerja tim dokter-dokter di tempat praktek Gatsu Veterinary Surgery dan juga para pemilik yang bersedia digunakan informasinya sebagai kasus dalam tulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] L. Association, "Ozone," 2023. [Online]. Available: <https://www.lung.org/clean-air/outdoors/what-makes-air-unhealthy/ozone>. [Accessed 17 Juni 2023].
- [2] M. Roman, "Ozone therapy in the veterinary practice," *Innovative Veterinary Care Journal*, 12 September 2013. [Online]. Available: <https://ivcjournal.com/ozone-therapy-in-the-veterinary-practice/>. [Accessed 17 Juni 2023].
- [3] E. Lillo, M. Cordisco, G. G. Adriana Trotta, A. Carbonari, A. Rizzo, R. L. Sciorsci and M. Corrente, "Evaluation of antibacterial oxygen/ozone mixture invitro activity on bacteria isolated from cervico-vaginal mucus of cows with acute metritis," *Theriogenology*, vol. 196, pp. 25-30, 2023
- [4] D. Bialoszewski, A. Pietruczuk-Padzik, A. Kalicinska, E. Bocian, M. Czajkowska, B. Bukowska and S. Tyski, "Activity of ozonated water and ozone against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms," *Medical Science Monitor*, vol. 17, no. 11, 2011.
- [5] T. G. D. Santos, J. R. Orlandin, M. F. d. Almeida, R. F. Scassiotti, V. C. Oliveira, S. I. P. Santos, V. M. Pereira, P. A. F. Pinto, C. G. Mariano and Carlos, "Ozone therapy: protocol for treating canine parvovirus infection," *Brazilian J VetMed*, vol. 45, 2023.
- [6] Akkawi, "Ozone therapy for musculoskeletal disorders: Current concepts," *Acta Biomed*, vol. 91, no. 4, 2020.
- [7] Peteoaca, A. Istrate, A. M. Goanta, I. Ionascu and A. Tanase, "The use of ozone therapy in veterinary medicine: A systematic review," *AgroLife Scientific Journal*, vol. 9, no. 2, pp. 226-239, 2020
- [8] J. M. Sumida and A. M. Hayashi, "Ozone therapy in veterinary medicine: clinical indications and techniques," *Acta Veterinaria Brasilica*, vol. 16, pp. 294-304, 2022.

Profil Lipid Serum Anjing Kintamani Berdasarkan Umur Dan Jenis Kelamin

^{1*} Arif Syaifuddin, ² I Nyoman Suarsan, ² I Gusti Ayu Agung Suartini

¹Program Studi Sarjana Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,

²Program Studi Sarjana Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,

Denpasar-Bali

* Penulis koresponden: syaifudin.2207511155@student.unud.ac.id

Abstrak. Anjing kintamani merupakan salah satu plasma nutfah pulau Bali dan menjadi maskot Kabupaten Bangli. Profil biokimia darah anjing kintamani sehat hingga saat ini belum ada datanya. Tujuan penelitian membandingkan kadar lipid serum anjing kintamani berdasarkan umur dan jenis kelamin. Sampel penelitian berasal dari serum dari 20 ekor anjing kintamani yang secara klinis nampak sehat jenis kelamin jantan dan betina umur di bawah enam bulan dan di atas 12 bulan. Sampel serum dianalisis dengan metode spektrofotometer. Hasil penelitian menunjukkan kadar trigliserida anjing kintamani jantan umur 6 bulan sebesar $185 \pm 40,3$ mg/dL dan di atas 12 bulan sebesar $186,4 \pm 40,4$ mg/dL, sedangkan anjing betina umur 6 bulan sebesar $93 \pm 40,3$ mg/dL dan di atas 12 bulan $104,2 \pm 40,3$ mg/dL. Rataan total kolesterol serum anjing kintamani jantan umur 6 bulan sebesar $279,6 \pm 21$ mg/dL dan di atas 12 bulan sebanyak $228,8 \pm 21$ mg/dL, rataannya untuk anjing betina umur 6 bulan sebanyak $263,8 \pm 21$ mg/dL dan di atas 12 bulan sebanyak $207,2 \pm 21$ mg/dL. Rataan HDL serum anjing kintamani jantan umur 6 bulan yaitu $136,2 \pm 10,1$ mg/dL dan di atas 12 bulan $135,9 \pm 10,1$ mg/dL, betina umur 6 bulan yaitu $140,8 \pm 10,1$ mg/dL dan di atas 12 bulan $147,6 \pm 10,1$ mg/dL. Rataan LDL serum anjing kintamani jantan umur 6 bulan yaitu $106,4 \pm 16,9$ mg/dL dan di atas 12 bulan $55,6 \pm 16,9$ mg/dL, rataannya betina umur 6 bulan yaitu $104,4 \pm 16,9$ mg/dL dan di atas 12 bulan $38,8 \pm 16,9$ mg/dL. Simpulan menunjukkan jenis kelamin dan umur anjing kintamani tidak berpengaruh terhadap kadar trigliserida, total kolesterol, HDL, dan LDL.

Kata kunci : anjing kintamani, serum, profil lipid, spektrofotometer

I. PENDAHULUAN

Anjing kintamani merupakan salah satu plasma nutfah asli Bali dan telah ditetapkan sebagai anjing ras asli Indonesia oleh AKU (Asian Kennel Union) pada tanggal 23 Februari 2012. Anjing kintamani memiliki sifat berani, cerdas, tidak agresif, serta setia pada tuannya [1]. Anjing kintamani berasal dari pegunungan Desa Sukawana, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, Bali [2]. Karakteristik anjing kintamani sangat menarik dan unik, karena memiliki bulu yang indah, serta penanganan dan biaya perawatan yang murah. Oleh karena itu, anjing kintamani banyak disukai orang sebagai salah satu hewan kesayangan. Anjing kintamani sebagai maskot fauna Kabupaten Bangli telah tersebar keseluruh Indonesia dan dunia.

Anjing kintamani sebagai hewan kesayangan tak luput dari berbagai macam penyakit anjing. Perubahan lingkungan dan pola pakan juga berpengaruh terhadap status kesehatan anjing [2]. Anjing adalah salah satu hewan yang banyak didomestikasi dan digunakan untuk berbagai kepentingan antara lain sebagai hewan kesayangan, hewan penjaga, dan hewan percobaan. Sebagai hewan percobaan, data fisiologis mengenai profil lipid anjing kintamani hingga saat ini belum dilaporkan. Data ini sangat bermanfaat bagi praktisi dokter hewan sebagai acuan untuk menentukan sehat atau tidaknya anjing kintamani. Selain itu data yang diperoleh dapat menjadi tambahan ilmu pengetahuan dibidang fisiologi hewan.

Perubahan pola hidup meliputi pola makan, aktivitas dan kebiasaan merupakan faktor resiko untuk terjadinya penyakit pembuluh darah. Aterosklerosis, sebagai gangguan pada pembuluh darah koroner merupakan akibat penimbunan plaque lipida dalam dinding arteri. Beberapa faktor yang dapat meningkatkan resiko terjadinya aterosklerosis adalah adanya peningkatan kadar lipid darah seperti peningkatan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) darah, Kolesterol total dan Trigliserida darah serta penurunan *High Density Lipoprotein* (HDL) darah [3]. Diet dan nutrisi (karbohidrat, lemak, dan protein) sangat berperan penting dalam kesehatan namun kelebihan makanan tertentu dapat menyebabkan gangguan keseimbangan lipid yang menyebabkan terjadinya penyakit kronis yaitu jantung koroner, stroke, diabetes, dan berbagai jenis kanker [4].

Anjing kintamani sebagai anjing kesayangan sering diberi pakan yang tinggi lemak, sehingga jika berlangsung lama dapat meningkatkan kolesterol dalam darah yang menyebabkan terjadinya penyakit jantung dan pembuluh darah seperti aterosklerosis [5]. Kolesterol merupakan zat prekursor biosintesis hormon steroid yang dihasilkan oleh hati.

Kadar kolesterol yang tinggi merupakan pemicu terjadinya aterosklerosis. Gangguan ini ditandai dengan hiperkolesterolemia dan tingginya kadar serum *Low Density Lipoprotein* (LDL) dalam darah [6]. Hasil penelitian [7] membuktikan bahwa kadar trigliserida anjing umur tua dengan breed besar lebih tinggi dibandingkan anjing umur muda dan breed kecil. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kisaran nilai normal profil lipid anjing kintamani jantan dan betina di Desa Sukawana pada umur <6 bulan dan >12 bulan.

II. METODE DAN PROSEDUR

Objek dan Bahan Penelitian

Objek yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum anjing kintamani, yang berjumlah 20 ekor yang terdiri dari jantan 10 ekor dan betina 10 ekor serta dibagi menjadi dua kategori umur, yaitu umur di bawah 6 bulan 10 ekor dan di atas 12 bulan 10 ekor. Pakan anjing yang biasa diberikan oleh pemiliknya berupa labu siam, nasi, dan sisa makanan dari pemilik anjing. Anjing dipelihara dengan dilepasliarkan. Bahan lainnya kapas, alkohol 70%, kertas label, Reagen kolesterol (kit fluitest chol (katalog no.4248)), reagen HDL (fluitest HDL-chol (katalog no.413)), dan reagen trigliserida (fluitest TG (katalog no.5748)). Peralatan yang digunakan selama penelitian antara lain: spuit, termos es, gunting, tabung reaksi, alat tulis, mikropet, sentrifugasi, stopwach dan *mesin semiautomaticbiochemistry analyzer by Photometer 4020*.

Pengambilan darah dilakukan pada daerah *vena saphena* [8]. Darah yang diambil kurang lebih 5 ml, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi tanpa antikoagulan dan disimpan dengan posisi $\pm 45^0$ yang bertujuan agar permukaan lebih luas dan serum lebih banyak diperoleh [8]. Analisis laboratorium dilakukan di UPTD Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Bali. Metode analisis menggunakan alat *automaticbiochemistry analyzer by photometer 4020*. Variabel yang diamati yaitu kadar total kolesterol, LDL, HDL, dan trigliserida. Profil lipid serum ditentukan sesuai dengan prosedur label pereaksi kit, yaitu kolesterol dianalisis setelah dihidrolisis dan dioksidasi secara enzimatis dengan pereaksi kit kolesterol (Ref 10028) dari GmbH-65205 Wiesbaden Germany menggunakan metode CHOD-PAP yang merupakan uji kolorimetrik enzimatis. Analisis HDL-kolesterol serum ditentukan dengan pereaksi kit HDL-CHOL RE (Ref 10018) dari GmbH-65205 Wiesbaden Germany. Analisis trigliserida serum ditentukan dengan pereaksi kit TG (Ref 10720P) dari GmbH-65205 Wiesbaden Germany. Sedangkan analisis LDL-kolesterol ditentukan dengan rumus Friedewalk [9] :

$$LDL = [\text{Total kolesterol} - \text{HDL} - \frac{\text{Trigliserida}}{5}]$$

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar trigliserida anjing kintamani jantan umur <6 bulan lebih tinggi daripada betina umur >6 bulan, berturut-turut $185,0 \pm 40,3$ mg/dL dan $93,0 \pm 40,3$ mg/dL. Begitu pula pada anjing kintamani jantan umur >12 bulan memiliki kadar trigliserida yang lebih tinggi dibandingkan betina umur >12 bulan, berturut-turut $186,4 \pm 40,4$ mg/dL dan $104,2 \pm 40,3$ mg/dL. Selanjutnya, kadar trigliserida anjing kintamani jantan umur <6 bulan lebih rendah daripada jantan umur >12 bulan, berturut-turut $185,0 \pm 40,3$ mg/dL dan $186,4 \pm 40,4$ mg/dL. Begitu pula pada anjing kintamani betina umur <6 bulan memiliki kadar trigliserida yang lebih rendah daripada betina umur >12 bulan, berturut-turut $93,0 \pm 40,3$ mg/dL dan $104,2 \pm 40,3$ mg/dL.

Tabel 1. Kadar trigliserida serum anjing kintamani

Ulangan	Jantan (mg/ dL)		Betina (mg/ dL)	
	< 6 bulan	> 12 bulan	< 6 bulan	> 12 bulan
1	131	103	99	141
2	87	94	110	128
3	94	277	54	64
4	312	82	62	108
5	301	376	140	80
Rataan	$185,0 \pm 40,3$	$186,4 \pm 40,4$	$93,0 \pm 40,3$	$104,2 \pm 40,3$

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa kadar total kolesterol anjing kintamani jantan umur <6 bulan lebih tinggi daripada betina umur >6 bulan, berturut-turut $279,6 \pm 21,0$ mg/dL dan $263,8 \pm 21,0$ mg/dL. Begitu pula pada anjing kintamani jantan umur >12 bulan memiliki kadar total kolesterol yang lebih tinggi dibandingkan betina umur >12 bulan, berturut-turut $228,8 \pm 21,0$ mg/dL dan $207,2 \pm 21,0$ mg/dL. Selanjutnya, kadar total kolesterol anjing kintamani

jantan umur <6 bulan lebih tinggi daripada jantan umur >12 bulan, berturut-turut $279,6 \pm 21,0$ mg/dL dan $228,8 \pm 21,0$ mg/dL. Begitu pula pada anjing kintamani betina umur <6 bulan memiliki kadar total kolesterol yang lebih tinggi daripada betina umur >12 bulan, berturut-turut $263,8 \pm 21,0$ mg/dL dan $207,2 \pm 21,0$ mg/dL.

Tabel 2. Kadar total kolesterol serum anjing kintamani

Ulangan	Jantan (mg/ dL)		Betina (mg/ dL)	
	< 6 bulan	> 12 bulan	< 6 bulan	> 12 bulan
1	320	234	289	260
2	267	248	290	219
3	252	151	210	164
4	336	225	205	206
5	223	286	325	187
Rataan	$279,6 \pm 21,0$	$228,8 \pm 21,0$	$263,8 \pm 21,0$	$207,2 \pm 21,0$

Berdasarkan Tabel 3 menunjukkan bahwa kadar HDL anjing kintamani jantan umur <6 bulan lebih rendah daripada betina umur >6 bulan, berturut-turut $136,2 \pm 10,1$ mg/dL dan $140,8 \pm 10,1$ mg/dL. Begitu pula pada anjing kintamani jantan umur >12 bulan memiliki kadar HDL yang lebih rendah dibandingkan betina umur >12 bulan, berturut-turut $135,9 \pm 10,1$ mg/dL dan $147,6 \pm 10,1$ mg/dL. Selanjutnya, kadar HDL anjing kintamani jantan umur <6 bulan lebih tinggi daripada jantan umur >12 bulan, berturut-turut $136,2 \pm 10,1$ mg/dL dan $135,9 \pm 10,1$ mg/dL. Berbeda pada anjing kintamani betina umur <6 bulan memiliki kadar HDL yang lebih rendah daripada betina umur >12 bulan, berturut-turut $140,8 \pm 10,1$ mg/dL dan $147,6 \pm 10,1$ mg/dL.

Tabel 3. Kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) serum anjing kintamani

Ulangan	Jantan (mg/ dL)		Betina (mg/ dL)	
	< 6 bulan	> 12 bulan	< 6 bulan	> 12 bulan
1	151.4	129.6	135.7	154.2
2	151.6	193.3	131	162.2
3	113	87.9	157	132.8
4	139.7	124.9	129.6	141.8
5	125.2	143.9	150.7	146.9
Rataan	$136,2 \pm 10,1$	$135,9 \pm 10,1$	$140,8 \pm 10,1$	$147,6 \pm 10,1$

Berdasarkan Tabel 4 menunjukkan bahwa kadar LDL anjing kintamani jantan umur <6 bulan lebih tinggi daripada betina umur >6 bulan, berturut-turut $106,4 \pm 16,9$ mg/dL dan $104,4 \pm 16,9$ mg/dL. Begitu pula pada anjing kintamani jantan umur >12 bulan memiliki kadar LDL yang lebih tinggi dibandingkan betina umur >12 bulan, berturut-turut $55,6 \pm 16,9$ mg/dL dan $38,8 \pm 16,9$ mg/dL. Selanjutnya, kadar LDL anjing kintamani jantan umur <6 bulan lebih tinggi daripada jantan umur >12 bulan, berturut-turut $106,4 \pm 16,9$ mg/dL dan $55,6 \pm 16,9$ mg/dL. Begitu pula pada anjing kintamani betina umur <6 bulan memiliki kadar LDL yang lebih tinggi daripada betina umur >12 bulan, berturut-turut $104,4 \pm 16,9$ mg/dL dan $38,8 \pm 16,9$ mg/dL.

Profil lipid serum anjing kintamani yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan bahwa jenis kelamin berpengaruh nyata terhadap kadar trigliserida anjing kintamani dengan signifikansi sebesar 0,046. Hal ini sesuai dengan penelitian [10] bahwa jenis kelamin berpengaruh nyata terhadap kadar trigliserida. Kadar trigliserida anjing kintamani jantan memiliki nilai yang lebih tinggi dari pada betina, hal ini diakibatkan karena aktivitas anjing jantan lebih tinggi dari pada aktivitas anjing betina dalam hal berburu maupun mencari lawan jenisnya. Hal ini memungkinkan kebutuhan trigliserida anjing jantan lebih tinggi dari pada anjing betina.

Jenis kelamin tidak berpengaruh nyata terhadap kadar total kolesterol. Rerata total kolesterol anjing kintamani jantan umur <6 bulan lebih tinggi daripada betina umur <6 bulan. Tingginya total kolesterol pada anjing jantan menyebabkan morbiditas penyakit jantung koroner dua kali lebih besar daripada anjing betina. Diduga pola pertumbuhan anjing jantan lebih cepat dibandingkan anjing betina, ketika mereka berada pada fase pertumbuhan [11].

Tabel 4. Kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) serum anjing kintamani

Ulangan	Jantan (mg/ dL)	Betina (mg/ dL)
---------	-----------------	-----------------