

**DETEKSI ANTIBODI ANTI-*Escherichia coli* K99 DALAM
KOLOSTRUM INDUK SAPI FRIESIAN HOLSTEIN *POST*
VAKSINASI *Escherichia coli* POLIVALEN
DENGAN TEKNIK ELISA**

MIZWAR AMANSYAH



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2010**

PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI

Dengan ini Saya menyatakan bahwa skripsi Deteksi Antibodi Anti-*Escherichia coli* K99 dalam Kolostrum Induk Sapi Friesian Holstein Post Vaksinasi *Escherichia coli* polivalen dengan Teknik ELISA adalah karya Saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Bogor, Februari 2010

Mizwar Amansyah
B04051631

ABSTRAK

MIZWAR AMANSYAH. B04051631. Deteksi Antibodi Anti-*Escherichia coli* K99 dalam Kolostrum Induk Sapi Friesian Holstein post Vaksinasi *Escherichia coli* polivalen dengan Teknik ELISA Dibawah bimbingan: **Anita Esfandiari** dan **Sri Murtini**.

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya antibodi terhadap *Escherichia coli* (*E. coli*) K99 di dalam kolostrum sapi Friesian Holstein (FH) yang divaksin dengan vaksin *E. coli* polivalen. Vaksinasi terhadap enam ekor induk sapi dilakukan sebanyak 3 kali yaitu pada 8, 6, dan 4 minggu sebelum induk diperkirakan melahirkan. Deteksi antibodi dilakukan menggunakan teknik ELISA dengan metode tidak langsung. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa antibodi terhadap *E. coli* dapat dideteksi di dalam kolostrum hasil pemerahan ke-1 sampai dengan ke-9. Konsentrasi kolostrum ke-1 sampai ke-3 berkisar antara 1,054-1,129 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$. Konsentrasi antibodi tertinggi terdapat di dalam kolostrum hasil pemerahan pertama, yaitu sebesar $1,129 \pm 0.005 \mu\text{g}/100\mu\text{l}$. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa induk sapi bunting trimester akhir yang divaksin dengan vaksin *E. coli* polivalen mampu memproduksi antibodi spesifik terhadap *E. coli* K99 di dalam kolostrum dari kolostrum hasil pemerahan ke-1 sampai ke-9 dengan konsentrasi IgG total yang makin menurun pada kolostrum pemerahan ke-1 sampai dengan ke-3.

Kata kunci : *Escherichia coli* K99, kolostrum sapi, ELISA

ABSTRACT

MIZWAR AMANSYAH. B04051631. *Detection of Anti-Escherichia coli's antibody for Friesian Holstein's cow colostrum Post E. coli Vaccination with ELISA Method. Under directed: ANITA ESFANDIARI dan SRI MURTINI.*

This experiment was conducted to detect Escherichia coli (E. coli) K99 antibody in colostrum of Friesian Holstein's cows vaccinated by E. coli K99. Six pregnant cows were vaccinated three times at 8, 6, 4 weeks before parturition. The vaccine was given by intramuscular with 5 ml/ animal doses. The colostrum was collected until 5th day after parturition. Immunoglobulin Gamma (IgG) antibody in the colostrum was detected using indirect ELISA method. The result of research shown that antibody can detected from first until colostrum 9, with concentration about 1,054 – 1,129 µg/100 µl. The highest colostrum concentration there in colostrum 1 with 1,129 ± 0,005 µg/100 µl. The conclusion of this research is pregnant cows which given vaccine E. coli polivalen can produce of spesific antibody from E. coli K99 in colostrum first until colostrum nineth with IgG concentration have decrease from colostrum first until colostrum third.

Key word: Escherichia coli K99, bovine colostrum, ELISA

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2010
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis dalam bentuk apapun tanpa izin IPB

**DETEKSI ANTIBODI ANTI-*Escherichia coli* K99 DALAM
KOLOSTRUM INDUK SAPI FRIESIAN HOLSTEIN *POST*
VAKSINASI *Escherichia coli* POLIVALEN
DENGAN TEKNIK ELISA**

MIZWAR AMANSYAH

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan pada
Fakultas Kedokteran Hewan

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2010**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Tugas Akhir : Deteksi Antibodi Anti-*Escherichia coli* K99 Dalam Kolostrum Induk Sapi Friesian Holstein *Post* Vaksinasi *Escherichia coli* Polivalen dengan Teknik ELISA
Bentuk Tugas Akhir : Penelitian
Nama Mahasiswa : Mizwar Amansyah
NIM : B04051631

Disetujui,

Dr. Drh. Anita Esfandiari, M.Si
Pembimbing I

Dr. Drh. Sri Murtini, M.Si
Pembimbing II

Diketahui
Wakil Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Dr. Nastiti Kusumorini
1962 1205 1987 03 2 001

Tanggal Lulus:

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan segala rahmat dan nikmat-Nya kepada umatnya. Shalawat dan salam semoga tetap terlimpahkan kepada Rasulullah SAW beserta keluarga dan sahabat-sahabatnya. Rasa syukur yang tak terhingga penulis panjatkan kehadirat-Nya atas segala karunianya sehingga skripsi ini berhasil diselesaikan. Tulisan ini adalah hasil penelitian pada paruh waktu terakhir masa pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan IPB

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak mungkin dapat diselesaikan dengan baik tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

- Dr. Drh. Anita Esfandiari, MSi dan Dr. Drh. Sri Murtini, MSi selaku pembimbing skripsi dengan penuh kesabaran telah memberikan arahan, bimbingan serta evaluasi dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini,
- Dr. Drh. Sus Derthi Widhyari, MSi dan Drh. Muhammad Fakhruddin, PhD selaku dosen penilai yang telah memberikan saran, dan kritikan yang membangun serta masukan-masukan yang dapat membuat skripsi ini menjadi lebih baik,
- Dr. Drh. Ratih Agungpriyono selaku dosen pembimbing akademik,
- Seluruh staf kandang Ruminansia Besar (Pak Kosasih, Pak Dahlan),
- Seluruh staf Laboratorium Patologi Klinik Departemen KRP FKH IPB (Pak Suryono dan Pak Djadjat),
- Keluarga tercinta (Mama, Tetta, Kakak Etty, Budi) yang selalu memberikan do'a, dukungan moril dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini,
- Teman-teman sepenelitian (Dinar, Fera, Nuri, Ali) atas kerjasama dan kebersamaan serta pengertiannya yang besar selama ini,
- Teman-teman kost Ar Rijal (Ari, Andi dan Budi anduk) atas bantuan dan pengertiannya selama ini,
- Teman-teman An Nahl dan teman-teman seperjuangan asisten Agama Islam yang selalu memberikan dorongan untuk lebih semangat dalam pengerjaan skripsi ini,

- Teman seperjuangan GOBLET'42 (terutama Sarah, Beta, Data, Rezi, Rista, Carles, Ikhsan, Fahmi, Sifa) atas dukungan dan semangatnya,
- Kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang turut membantu dalam penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran untuk melengkapi skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis, pembaca maupun pihak-pihak lain yang berkepentingan. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, namun penulis berharap tulisan ini dapat memberi manfaat sebagai sumber informasi untuk kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Februari 2010

Mizwar Amansyah

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kalumpang, sebuah desa kecil yang terdapat di Kabupaten Bulukumba, Sulawesi Selatan pada tanggal 12 April 1987 sebagai anak kedua dari pasangan berbahagia Safruddin dan St. Wartatih SPd.

Penulis menempuh pendidikan di TK Andi Mappijalang, SD N 196 Tritiro tahun 1993-1999, SLTP N I Bontotiro tahun 1999-2002, SMA N I Benteng Selayar dari tahun 2002-2005. Kemudian diterima di Institut Pertanian Bogor melalui jalur Undangan Seleksi Masuk IPB (USMI) dan berhasil masuk di Fakultas Kedokteran Hewan tercinta.

Selama masa perkuliahan, penulis aktif mengikuti organisasi di DKM Al Hurriyah sebagai anggota Divisi Perekonomian 2005, Kepala Departemen Informasi dan Komunikasi Himpro Ruminansia 2006-2007, Ketua DKM An Nahl FKH IPB periode 2007-2008, dan anggota aktif Ikatan Mahasiswa Kedokteran Hewan Indonesia (IMAKAHI). Penulis juga menjadi asisten mata kuliah Patologi Sistemik dan asisten Pendidikan Agama Islam (PAI) Tahap Persiapan Bersama serta Penanggung jawab Internal PAI tahun 2008-2009.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan	2
1.3. Manfaat.....	2
1.4. Hipotesis.....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Sapi Friesian Holstein	3
2.2. Kolostrum.....	5
2.3. Kolostrogenesis	9
2.4. Vaksinasi	11
2.5. <i>Escherichia coli</i>	12
2.6. <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> (ELISA).....	17
BAB III. METODOLOGI	
3.1. Waktu dan Tempat	18
3.2. Bahan dan Alat.....	18
3.3. Metode Penelitian.....	18
3.3.1. Pemeliharaan Hewan Coba.....	18
3.3.2. Vaksinasi	19
3.3.3. Pengambilan dan Penyimpanan Kolostrum	19
3.3.4. Deteksi Antibodi anti- <i>E. coli</i> K99 dalam kolostrum dengan ELISA	19
3.3.5. Pengukuran Konsentrasi IgG Total dalam Kolostrum dengan ELISA	20
3.4. Analisis Data	21

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

BAB V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan 29

5.2. Saran..... 29

DAFTAR PUSTAKA 30

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Data Biologis Sapi	4
2. Jenis dan Bentuk Immunoglobulin dalam kolostrum.....	7
3. Perbedaan Konsentrasi Immunoglobulin Antara Kolostrum dengan Susu	8
4. Perbandingan Komposisi Kolostrum dan Susu Sapi.....	8
5. Nilai Absorbansi Sapi Kontrol	24
6. Nilai absorbansi antibodi kolostrum sapi FH yang divaksin dengan <i>Escherichia coli</i> polivalen	26
7. Rataan absorbansi standar dan persamaan regresi linear	26
8. Rata-rata konsentrasi IgG total ($\mu\text{g}/100 \mu\text{l}$) dalam kolostrum hasil pemerahan ke-1 sampai dengan ke-3	26

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Sapi Perah Jenis Friesian Holstein	3
2. Penampang Kelenjar Ambing	10
3. Proses Pengeluaran Susu.....	11
4. Klasifikasi tipe imunitas dapatan dan cara yang digunakan untuk membuat perlindungan.....	12
5. Morfologi <i>Escherichia coli</i>	13
6. Struktur <i>Escherichia coli</i>	13
7. Hasil ELISA	22

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Diare merupakan salah satu penyakit yang menyebabkan kematian pada anak sapi. Kasus diare pada anak sapi pada daerah sentra pengembangan sapi perah (Jawa Barat) berkisar antara 19-40%, dengan kematian pedet dibawah umur 1 bulan berkisar antara 8-19%, yang terjadi sepanjang tahun (Supar 2001). Kematian anak sapi pada tingkat peternak di Indonesia pada umumnya masih cukup tinggi yaitu berkisar antara 7-27% (Utomo *et al.* 2006). Menurut Supar *et al.* (1993), kerugian ekonomi akibat kematian anak sapi berupa meningkatnya biaya perawatan, pengobatan serta penurunan berat badan.

Diare merupakan gejala gangguan pencernaan yang ditandai dengan pengeluaran feses dalam jumlah melebihi normal, konsistensi cair, dan frekuensi pengeluaran yang melebihi normal (Ganong 2002). Penyebab diare diantaranya adalah bakteri, virus dan keadaan lingkungan dengan sanitasi buruk (Zein *et al.* 2004). Menurut Supar (1986), agen kausatif utama diare dan kematian neonatal pada anak sapi yang sering ditemukan di lapangan adalah *Escherichia coli enterotoksigenik* (ETEC). Bakteri ini mempunyai antigen perlekatan K99, F41 atau K99 F41 sebagai faktor virulensinya. Bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) dapat menyerang unggas dan mamalia, termasuk manusia (Gross dan Barnes 1997). Oleh sebab itu, diare yang disebabkan oleh bakteri ini merupakan masalah yang tidak hanya terjadi pada ternak tetapi juga berdampak pada kesehatan manusia.

Habitat alami *E. coli* adalah di dalam saluran pencernaan manusia dan hewan (bakteri enterik). Oleh karena itu, pada kondisi sanitasi dan higienitas yang buruk, bakteri ini dapat mencemari air, tanah maupun bahan pangan. Infeksi *E. coli* dapat dikurangi diantaranya melalui sanitasi, penggunaan antibiotik dan vaksinasi. Penggunaan antibiotik secara terus-menerus dapat menimbulkan resistensi (Kandun 2000). Resistensi terhadap antibiotik sering terjadi di peternakan, sehingga upaya pencegahan timbulnya infeksi *E. coli* dengan jalan vaksinasi terhadap induk sapi merupakan alternatif pengendalian yang cukup aman dan efektif (Supar *et al.* 1990). Penelitian yang dilakukan oleh Supar *et al.*

(1998) menunjukkan bahwa penggunaan vaksin ETEC terhadap induk sapi pada trimester akhir kebuntingan dapat menurunkan kematian pedet rata-rata 13% per bulan menjadi 0,7% per bulan pada sebuah peternakan intensif di Sukabumi.

Selama ini respon induk humoral bunting yang divaksin dengan vaksin inaktif *E. coli* polivalen belum banyak dilaporkan. Menurut penelitian Krissanti (2008), antibodi spesifik terhadap *E. coli* K99 pada sapi bunting trimester akhir yang diinduksi dengan pemberian vaksin *E. coli* polivalen inaktif dapat dideteksi di dalam darah pada satu minggu setelah vaksinasi pertama dan bertahan di dalam darah sampai dengan 5 minggu setelah vaksinasi pertama. Induk sapi bunting trimester akhir yang divaksin dengan vaksin *E. coli* polivalen diharapkan dapat membentuk antibodi di dalam kolostrumnya untuk kepentingan transfer kekebalan pasif dari induk ke anak melalui kolostrum.

1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi dan mengetahui konsentrasi Imunoglobulin Gamma (IgG) di dalam kolostrum sapi Friesian Holstein yang divaksin dengan vaksin *E. coli* polivalen menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

1.3. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang keberadaan anti-*E. coli* K99 di dalam kolostrum sapi Friesian Holstein setelah divaksin dengan vaksin *E. coli* polivalen.

1.4. Hipotesis

Induk sapi Friesian Holstein bunting trimester akhir yang divaksin dengan vaksin *E. coli* polivalen akan membentuk antibodi spesifik terhadap *E. coli* K99 di dalam kolostrum.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sapi Friesian Holstein

Sapi merupakan hewan ternak yang penting sebagai sumber daging, susu, tenaga kerja dan kebutuhan lainnya. Sapi menghasilkan sekitar 50% (45%-55%) kebutuhan daging di dunia, 95% kebutuhan susu dan 85% kebutuhan kulit (Wahid 2000 dan Ismail 2008). Sapi berasal dari famili Bovidae, seperti bison, banteng, kerbau (*Bubalus*), kerbau Afrika (*Syncherus*), dan anoa (Ismail 2008).

Sapi Friesian Holstein (FH) merupakan salah satu bangsa sapi perah yang berasal dari provinsi Belanda Utara dan provinsi Fries Holand Barat. Sapi perah jenis ini diperkirakan masuk ke Indonesia sejak tahun 1891. Di Pulau Jawa ditemukan sapi FH hasil turunan seperti sapi Grati dari Pasuruan yang diduga merupakan perkawinan sapi FH dengan sapi lokal. Sapi FH dapat berproduksi dengan baik jika dipelihara di daerah yang mempunyai temperatur kurang dari 22°C. Peternakan sapi perah di Indonesia hanya terbatas di daerah tertentu yang berhawa dingin/sejuk, misalnya di Jawa Barat (Lembang, Pangalengan), Jawa Tengah (Temanggung, Boyolali), Jawa Timur (Pasuruan, Malang), dan Sulawesi Selatan (Sinjai dan Enrekang). Sapi FH bersifat jinak dan tenang sehingga mudah untuk ditangani (Ismail 2008). Jenis sapi ini mudah ditemui di seluruh penjuru dunia.



Gambar 1. Sapi perah jenis Friesian Holstein
(Sumber : Holstein Cross 2008)

Menurut Sigit (2004), klasifikasi sapi perah adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Fillum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Artiodactyla
Subordo	: Ruminansia
Familia	: Bovidae
Subfamilia	: Bovinae
Genus	: <i>Bos</i>
Spesies	: <i>Bos taurus</i>

Sapi jenis ini berwarna putih dan hitam atau berwarna coklat dan putih (Gambar 1). Sapi FH merupakan ras sapi perah yang memproduksi susu dengan jumlah paling banyak dibandingkan dengan jenis sapi perah lainnya (Tyler dan Ensminger 2006). Sapi FH dara dapat dikawinkan pertama kali pada umur 15 bulan, ketika berat badan mencapai 250 kg. Sapi FH dapat hidup lebih lama, namun umur produktif sapi ini hanya sampai 6 tahun (Ansi-Okstate 2008). Berat badan betina dan jantan dewasa masing-masing berkisar antara 300-680 kg dan 300-1000 kg dengan konsumsi energi sebesar 15 kalori/ kgBB/ hari (Smith dan Mangkoewidjojo 1988). Data biologis sapi FH dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Data biologis sapi (Smith dan Mangkoewidjojo 1988)

Lama bunting	: 280 hari (275-283)
Berat dewasa	: 300-680 kg betina, 350-1000 kg jantan
Berat lahir	: 22-50 kg
Jumlah anak	: 1, kadang-kadang 2 ekor
Suhu (rektal)	: 38,0 ⁰ C - 39,0 ⁰ C (rata-rata 38,6 ⁰ C)
Pernafasan	: 27 - 40/ menit
Denyut jantung	: 40 - 58/ menit
Tekanan darah	: 121 - 166 sistol, 18 - 120 diastol
Konsumsi energi	: kira-kira 15 kalori/ kg/ hari
Immunitas pasif	: hanya melalui usus, dari kolostrum

Rata-rata produksi susu FH di Amerika Serikat mencapai 23.382 pound atau 10.606 kg susu dalam satu masa laktasi, dengan kadar lemak relatif rendah berkisar antara 3,5-3,7% (USDA 2004). Produksi susu rata-rata di Indonesia dapat

mencapai 6360 kg/tahun (Sutardi 1983). Sapi perah mengalami cekaman panas yang berakibat pada menurunnya produktivitas jika berada di lokasi dengan suhu tinggi dan kelembaban udara yang tidak mendukung (Ismail 2008).

2.2. Kolostrum

Kolostrum merupakan sekresi kelenjar ambing yang terkumpul selama beberapa minggu terakhir masa kebuntingan, dan dikeluarkan dari aliran darah di bawah pengaruh hormon estrogen dan progesteron (Tizard 2004). Kolostrum adalah cairan pra-susu yang dihasilkan oleh induk mamalia dalam 24-48 jam pertama setelah partus. Kolostrum mensuplai berbagai faktor kekebalan dan faktor pertumbuhan pendukung kehidupan ditambah dengan kombinasi zat gizi (nutrien) yang sempurna (Sanken 2008). Lebih dari 90 bahan bioaktif alami terkandung di dalam kolostrum. Di samping itu juga kolostrum mengandung limfosit, monosit dan neutrofil serta protein (terutama albumin dan globulin). Kolostrum juga mengandung vitamin A, E, karoten dan riboflavin dengan konsentrasi tinggi (Frandsen 1992). Kolostrum merupakan bahan yang mengandung faktor kekebalan, faktor pertumbuhan dan faktor nutrisi. Faktor-faktor tersebut bekerja secara sinergis dalam memulihkan dan menjaga kesehatan tubuh hewan neonatus (Scott *et al.* 1979; Frandsen 1992; Thapa 2005; Sanken 2008).

a. Faktor kekebalan

Sekitar 90% penyakit masuk melalui gastrointestinal (usus) terutama pada anak yang baru lahir (neonatus) sehingga dibutuhkan suatu perlindungan yang mampu mencegah hal tersebut. Kondisi demikian memerlukan faktor kekebalan yang dapat menghalangi kuman patogen masuk ke dalam saluran gastrointestinal (usus). Faktor kekebalan ini dapat diperoleh dalam bentuk kolostrum dari induk. Menurut Thapa (2005), kolostrum sapi mengandung 20% IgG sedangkan kolostrum manusia hanya mengandung 2% IgG. Kolostrum sapi mengandung IgG dengan konsentrasi 4-40 kali lebih banyak dibandingkan dengan kolostrum manusia (Sanken 2008).

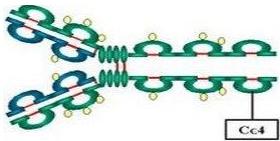
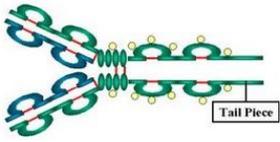
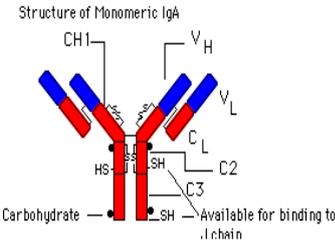
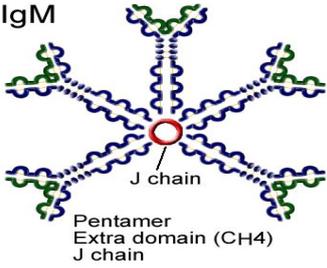
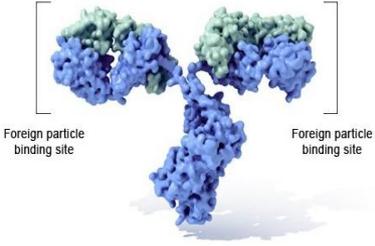
Studi membuktikan bahwa IgG dalam kolostrum sapi mampu melawan bakteri, jamur, virus. Imunoglobulin dalam kolostrum telah banyak digunakan

untuk pengobatan *trombositopenia*, anemia, *neutropenia*, *myastenia gravis*, *guillain barre syndrom*, *systemic lupus*, *rheumatoid arthritis*, *bullous pamphigoid*, *kawasaki's syndrome*, sindrom kelelahan (*fatigue*) kronik & penyakit Crohn (Thapa 2005).

Kolostrum mengandung imunoglobulin G (IgG), imunoglobulin M (IgM), imunoglobulin A (IgA), imunoglobulin E (IgE), laktoferin, transferin, glikoprotein, laktoalbumin, sitokin dan oligosakarida. Menurut Tizard (2004), imunoglobulin utama di dalam kolostrum hewan domestik pada umumnya adalah IgG, yaitu 65-90% dari total antibodi. Imunoglobulin G berperan dalam menetralkan toksin dan kuman patogen yang berbahaya (Tizard 2004). Imunoglobulin G terdiri dari 2 macam sub-kelas yaitu IgG1 dan IgG2. Perbedaan pada keduanya terletak pada rantai H (Tabel 2) yang berhubungan dengan beberapa fungsi biologis tertentu (Butler 1983). Imunoglobulin G1 berperan di dalam pengaturan respon kekebalan sekunder, fiksasi komplemen, bertindak sebagai opsonin oleh makrofag, dan imunoglobulin utama yang berperan dalam transfer kekebalan pasif untuk anak baru lahir (Butler 1983; Roit *et al.* 1998; Tizard 2004). Imunoglobulin G2 berperan dalam fiksasi komplemen, sebagai mediator sitoksisitas sel neutrofil PMN (*polymorphonuclear*) dan presipitasi agen (Butler 1983). IgA berperan dalam melindungi selaput lendir, menetralkan toksin atau virus dan mencegah perlekatan toksin atau virus pada permukaan sel sasaran. IgA juga dapat meningkatkan efek bakteriolitik dengan cara mengaktifkan komplemen. IgM berperan sebagai pengontrol antibodi yang terdiri atas lima monomer (pentamer) dengan berat molekul sekitar 900 kDa (Larson 1992), sedangkan IgE berperan terhadap respon alergi.

Komponen lain yang terdapat di dalam kolostrum adalah laktoferin, transferin, glikoprotein, laktoalbumin, dan sitokin (Tabel 3). Laktoferin adalah antioksidan alami yang paling kuat dalam mencegah radikal bebas. Transferin mengikat dan mengangkut zat besi (Fe) dan oligosakarida yang merupakan sakarida dari karbohidrat yang mengikat bakteri penyerang dinding usus dan esofagus (Stott *et al.* 1981).

Tabel. 2. Jenis dan bentuk imunoglobulin dalam kolostrum (Roitt *et al.* 1998)

No	Jenis dan Bentuk Imunoglobulin	Keterangan
1	Imunoglobulin E 	Berperan terhadap respon alergi.
2	Imunoglobulin D 	Rantai δ mempunyai berat molekul 60.000-70.000 dan 12% terdiri dari karbohidrat. Fungsi utama IgD belum diketahui tetapi merupakan imunoglobulin permukaan sel limfosit B bersama IgM dan diduga berperan dalam diferensiasi sel.
3	Imunoglobulin A 	Terdiri dari 2 jenis yaitu IgA dalam serum dan IgA dalam mukosa. IgA berbentuk dimer yang terdiri dari 2 molekul monomer, dan sebuah komponen sekretori serta sebuah rantai J dengan berat molekul sekitar 385 kDa.
4	Imunoglobulin M 	Kandungan dalam kolostrum sekitar 7%. Terdiri atas lima monomer (pentamer) dengan berat molekul sekitar 900 kDa. Molekul monomer dihubungkan satu dengan lainnya dengan ikatan disulfida pada domain CH4 menyerupai gelang dan tiap monomer dihubungkan satu dengan lain pada ujung permulaan dan akhirnya oleh protein J yang berfungsi sebagai kunci.
5	Imunoglobulin G 	Merupakan komponen utama dalam kolostrum sapi yaitu sekitar 85-90%. Terdiri dari 2 rantai berat H dan 2 rantai ringan L. IgG pada sapi terdiri dari 2 macam sub-kelas yaitu IgG1 dan IgG2 dengan berat molekul 150 kDa.

Tabel 3. Perbedaan konsentrasi imunoglobulin antara kolostrum dengan susu (Tizard 2004).

Imunoglobulin	Kolostrum (mg/100 ml)	Susu Biasa (mg/100 ml)
IgA	100-700	10-50
IgM	300-1300	10-20
IgG	3400-8000	50-750

Tabel 4. Perbandingan Komposisi Kolostrum dan Susu Sapi (Blum dan Hammon 2000)

Kriteria	Kolostrum sapi	Susu sapi
Bahan kering (g/l)	245	122
Abu (g/l)	18	7
Energi (MJ/l)	6	2.8
Lemak (g/l)	64	39
Protein (g/l)	133	32
Asam amino esensial (mmol/l)	390	ND
Asam amino non esensial (mmol/l)	490	ND
Imunoglobulin G (g/l)	81	<2
Laktoferin (g/l)	1.84	ND
Transferin (g/l)	0.55	ND
Insulin ($\mu\text{g/l}$)	65	1
Glukagon ($\mu\text{g/l}$)	0.16	0.01
Prolaktin ($\mu\text{g/l}$)	280	15
Hormon pertumbuhan ($\mu\text{g/l}$)	1.4	<1
<i>Insulin-like growth factor-I</i> ($\mu\text{g/l}$)	310	<2
<i>Insulin-like growth factor-II</i> ($\mu\text{g/l}$)	150	ND

Keterangan : ND = tidak terukur.

b. Faktor pertumbuhan

Kolostrum mengandung faktor-faktor pertumbuhan untuk otot, tulang, jaringan saraf, jaringan ikat, tulang rawan dan kulit. Kolostrum dapat digunakan untuk penyembuhan luka akibat trauma atau pembedahan. Faktor pertumbuhan kolostrum meliputi *transforming growth factor* (TGF) a dan b, *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) dan IGF-2, dan *growth hormone* (Sanken 2008).

c. Faktor nutrisi

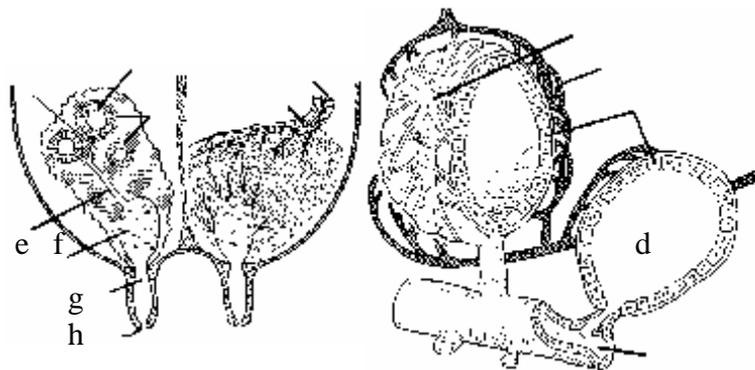
Faktor nutrisi di dalam kolostrum meliputi vitamin, mineral dan asam amino yang berguna untuk melengkapi kandungan kolostrum menjadi lebih sempurna. Vitamin dalam kolostrum terdiri dari vitamin B1, B2, B6, B12, E, A dan *retinoic*

acid. Kolostrum juga mengandung mineral seperti kalsium (Ca), zat besi (Fe), magnesium (Mg), *phospor* (P), dan *zinc* (Zn). Kolostrum juga mengandung asam amino esensial dan non-esensial. Asam amino esensial terdiri dari lisin yang berfungsi membantu penyerapan Ca dan mengatur antibodi. Asam amino non-esensial yang terkandung antara lain adalah sistin, tirosin dan prolin. Prolin (*Proline Rich Polipeptide/ PRP*) berguna untuk mengaktifkan sistem imun yang menurun dan menekan sistem imun yang terlalu aktif (Sanken 2008).

2.3. Kolostrogenesis

Kelenjar ambing digolongkan ke dalam kelenjar pelengkap sistem reproduksi karena hubungannya yang erat dengan hormon dan fungsi-fungsi reproduksi. Susu dibuat oleh kelenjar ambing. Ambing sapi terbagi dua yaitu ambing kiri dan ambing kanan. Masing-masing ambing terbagi dua yaitu kuartir depan dan kuartir belakang (Gambar 2). Sekresi kelenjar ambing menjamin terjadinya transfer kekebalan pasif dan sebagai penyedia nutrisi untuk neonatus (Hidayat *et al.* 2009).

Kolostrogenesis merupakan bagian dari laktogenesis atau pembentukan susu. Laktogenesis terdiri atas dua tahap yaitu laktogenesis tahap I dan laktogenesis tahap II. Laktogenesis tahap I ditandai dengan produksi suatu cairan yang disebut pre-kolostrum. Laktogenesis tahap II dimulai segera sebelum induk melahirkan, ketika kelenjar ambing pertama kali melepaskan kolostrum sampai kelenjar ambing menghasilkan susu non-kolostrum. Kolostrogenesis diatur oleh hormon laktogenik diantaranya adalah estrogen, progesteron, dan prolaktin. Transfer imunoglobulin dari sirkulasi darah ke sekresi susu atau kolostrum terjadi segera sebelum, sewaktu dan sesudah induk melahirkan (Toelihere 2006). Selama masa kebuntingan terjadi, proliferasi seluler saluran ambing dan alveoli berada di bawah pengaruh hormon progesteron dan estrogen yang berasal dari ovarium dan plasenta (Hidayat *et al.* 2009).

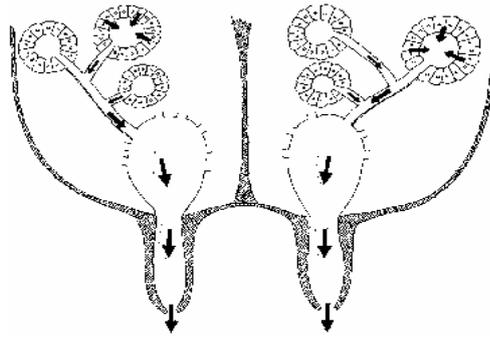


Gambar 2. Penampang Kelenjar Ambing (Hidayat *et al.* 2009)

- | | |
|-----------------------------|-------------------|
| a. Pembuluh darah | e. Saluran susu |
| b. Sel epitel | f. Ruang kisterna |
| c. Alveole (gelembung susu) | g. Ruang puting |
| d. Ruang alveole | h. Lubang puting |

Kolostrogenesis terjadi pada waktu kelahiran bersamaan dengan penurunan kadar progesteron dan estrogen di dalam darah dan peningkatan kadar prolaktin atau hormon laktogenik dari kelenjar hipofisa. Prolaktin dibutuhkan untuk memulai sekresi susu dan mempertahankan laktasi. Peningkatan prolaktin didukung oleh stimulasi ambing melalui penghisapan dan pengeluaran kolostrum atau air susu dari alveoli kelenjar susu (Hidayat *et al.* 2009).

Susu mengalir melalui saluran-saluran halus dari gelembung susu ke ruang sisterna dan ruang puting susu. Dalam keadaan normal, lubang puting susu akan tertutup. Lubang puting menjadi terbuka akibat rangsangan syaraf atau tekanan sehingga air susu dari ruang sisterna dapat mengalir keluar (Hidayat *et al.* 2009). Gerakan menyusui dari pedet, usapan atau basuhan air hangat pada ambing merupakan rangsangan pada otak melalui jaringan syaraf (Gambar 3). Selanjutnya otak akan mengeluarkan hormon oksitosin ke dalam darah. Hormon oksitosin menyebabkan otot-otot pada kelenjar susu bergerak dan lubang puting membuka sehingga susu mengalir keluar (Hidayat *et al.* 2009).

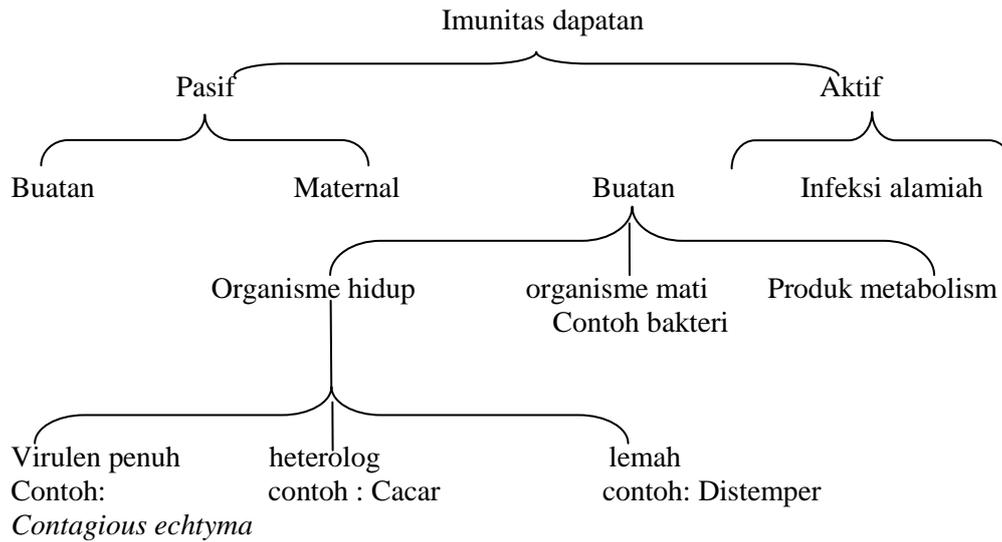


Gambar 3. Proses Pengeluaran Susu (Hidayat *et al.* 2009)

2.4. Vaksinasi

Vaksinasi adalah pemberian vaksin ke dalam tubuh individu untuk memberikan kekebalan terhadap suatu penyakit (Kreier dan Mortensen 1990). Pemberian vaksin pada prinsipnya dapat mencegah terjadinya infeksi. Pencegahan dengan vaksinasi akan memberikan dampak yang lebih baik karena tidak menimbulkan resistensi dan tidak meninggalkan residu pada ternak (Soeripto 2001). Vaksinasi dapat menggunakan vaksin aktif atau vaksin inaktif/ pasif (Soeripto 2001; Tizard 1987).

Kekebalan atau sistem imun yang terbentuk dapat terjadi secara pasif dan aktif (Gambar 4) (Tizard 1987). Antibodi yang dipindahkan secara pasif memberikan perlindungan cepat, tetapi karena cepat dikatabolisis, perlindungan ini makin berkurang dan akhirnya resipien menjadi rentan lagi terhadap infeksi ulang. Imunisasi aktif melibatkan pemberian antigen kepada hewan sehingga hewan menanggapi dengan meningkatkan tanggapan kebal protektif berperantara antibodi atau sel atau kedua-duanya. Imunisasi ulang atau keterpaparan pada infeksi akan mengakibatkan tanggapan kebal sekunder. Kerugian dari bentuk imunisasi aktif adalah perlindungan tidak dibentuk segera. Namun, sekali terbentuk akan berlangsung lama dan berkemampuan perangsangan ulang (Tizard 1987).



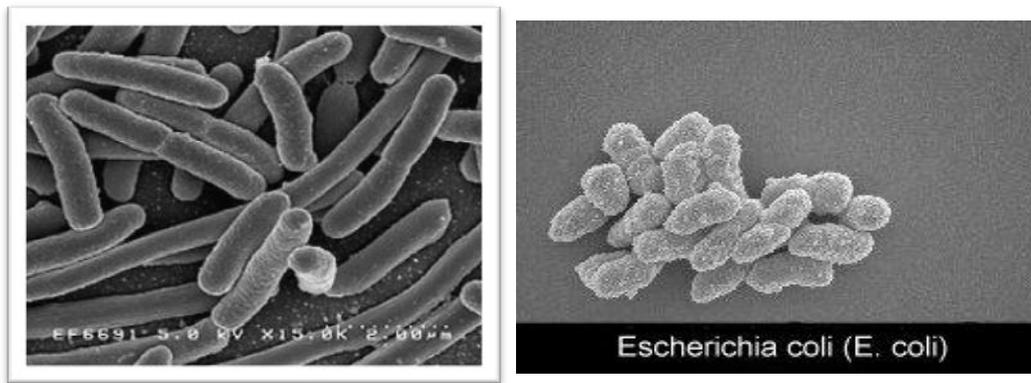
Gambar 4. Klasifikasi tipe imunitas dapatan dan cara yang digunakan untuk membuat perlindungan (Tizard 1987).

2.5. *Escherichia coli*

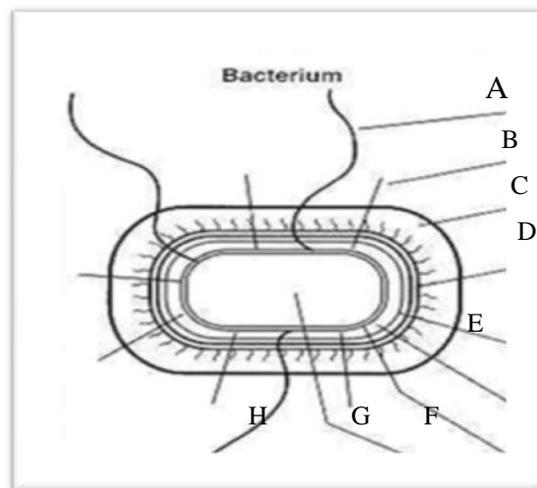
Escherichia coli merupakan bakteri non-spora dan termasuk ke dalam bakteri Gram negatif yang bergerak dengan flagella peritrikus. Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob dengan menghasilkan gas dari fermentasi karbohidrat. Berukuran panjang 2,0-6,0 μm dan lebar 1,1-1,5 μm , bentuk bervariasi mulai dari bentuk kokus (bulat), sampai berbentuk filamen panjang (Gambar 5). Beberapa strain mukoid menghasilkan polimer ekstraseluler yang secara umum di kenal sebagai antigen K dan asam polisakarida yang tersusun oleh *solanic acid* yang di kenal dengan antigen M. Bakteri ini menghasilkan berbagai jenis fimbriae yang penting selama penetrasi ke sel inang, dengan struktur dan antigen fimbriae yang berbeda pada setiap strain *E. coli* (Percival 2004). Bakteri ini mempunyai flagella yang berfungsi sebagai alat gerak, fimbriae dan mempunyai ruang periplasmik (Gambar 6).

Klasifikasi *E. coli* menurut Todar (2008) sebagai berikut:

Kingdom : Bakteria
Fillum : Proteobacteria
Kelas : Gamma Proteobacteria
Ordo : Enterobakteriales
Familia : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*



Gambar 5. Morfologi *Escherichia coli*.
(Sumber : Anonim 2009)



Keterangan gambar :
A. flagella
B. fimbriae
C. kapsul/mikrokapsul
D. *outer membrane*
E. lapisan tipis yang keras (*thin rigid layer*)
F. ruang periplasmik
G. *inner membrane*
H. sitoplasma

Gambar 6. Struktur *Escherichia coli*
(Sumber : Anonim 2009)

E. coli pertama kali diidentifikasi oleh Theodor Escherich yang mempelajari flora yang ada di dalam usus. Escherich menggambarkan organisme *bacterium coli* yang menyebabkan infeksi ekstraintestinalis. Sampai dengan tahun 1940, *E. coli* diklasifikasikan lebih dari 70 serogrup khususnya berdasarkan

antigen O (Percival 2004). *E. coli* mempunyai antigen O, H dan K. Dewasa ini telah ditemukan 150 tipe antigen O, 90 tipe antigen K dan 50 tipe antigen H. Antigen K dibedakan lagi berdasarkan sifat-sifat fisiknya menjadi 3 tipe yaitu: L, A, dan B (Karsinah *et al.* 1994) .

Bakteri ini diklasifikasikan sebagai mikroba normal pada manusia yang tidak berbahaya, yang terletak di bagian distal traktus intestinal. Bakteri ini sering menyebabkan diare pada hewan yang baru lahir baik melalui *fecal oral* dari induk maupun terpapar dari lingkungan. Namun kebanyakan strain *E. coli* tidak bersifat patogen. Dampak individu/ hewan yang terpapar *E. coli* adalah infeksi akut pada traktus urinari dan juga dapat menyebabkan sepsis. Selain itu dapat juga terjadi enteritis akut, *traveller's diare*, disentri, dan *colitis haemorrhagic* yang biasanya disebut sebagai diare berdarah (*blood diarrhea*). Derajat infeksi yang dibutuhkan untuk menghasilkan diare dan infeksi setiap strain adalah level 10^5 - 10^{10} untuk strain EPEC, 10^8 - 10^{10} untuk strain ETEC, dan 10^8 untuk strain EIEC. Jumlah ini tergantung dari umur, jenis kelamin, dan keasaman lambung (Percival 2004).

Faktor- faktor patogenitas menurut Karsinah *et al.* (1994):

1. Antigen permukaan

Terdapat dua jenis tipe fimbriae pada *E. coli* yaitu tipe mannosa sensitif (pili) dan tipe mannosa resisten (CFAs I dan II). Kedua fimbriae ini digunakan sebagai faktor kolonisasi (*Colonization factor*) yaitu perlekatan sel kuman pada jaringan inangnya.

2. Enterotoksin

Enterotoksin yang telah diisolasi dari *E. coli* ada dua yaitu toksin LT (*heat labil/termolabil*) dan ST (*heat stabil/ termostabil*). Kedua toksin ini diatur oleh plasmid yang mampu pindah dari satu sel kuman ke sel kuman lainnya. Terdapat dua macam plasmid yaitu 1 plasmid yang mengkode pembentukan toksin LT dan ST dan 1 plasmid lainnya mengatur pembentukan ST saja.

E. coli diklasifikasikan berdasarkan ciri khas sifat-sifat virulensinya dan setiap grup menimbulkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda, antara lain:

Enterotoxigenic E. coli (ETEC)

ETEC menghasilkan satu atau dua jenis toksin protein yaitu *heat labil* (LT) dan *heat stabil* (ST). Faktor virulensi tambahan dari ETEC adalah *Colonization factor* (CFA-I dan CFA-II). Faktor virulensi LT, ST, CFA-I serta CFA-II dikode oleh plasmid yang dapat dipindahkan (Karsinah *et al.* 1994).

Toksin LT bekerja merangsang enzim adenil siklase yang terdapat di dalam sel epitel mukosa usus halus, menyebabkan peningkatan aktivitas enzim tersebut dan terjadinya peningkatan permeabilitas sel epitel usus. Hal ini akan menyebabkan terjadinya akumulasi cairan di dalam usus dan berakhir dengan diare. Toksin ST bekerja dengan cara mengaktivasi enzim guanilat siklase menghasilkan siklik guanosisin monofosfat, menyebabkan gangguan absorpsi klorida dan natrium dan menurunkan motilitas usus halus (Karsinah *et al.* 1994).

Patogenesis diare yang terjadi akibat ETEC meliputi terjadinya kolonisasi pada usus kecil dan produksi serta aksi enterotoksin yang bertanggung jawab dalam merusak keseimbangan pergerakan cairan dan elektrolit di dalam epitel usus. Kolonisasi pada usus kecil oleh ETEC tergantung pada pili. Pili berperan dalam penempelan yang spesifik oleh bakteri pada titik sel epitel. Pili K99 ditemukan pada ETEC dari serogrup 8, 9, 20, 64, dan 101. Produksi antigen K99 dimediasi oleh plasmid dan bergantung pada suhu. Strain dari O grup 101 menghasilkan K99 yang paling banyak dibandingkan dengan strain yang lain dari grup O (Gyles dan Charles 1993).

Enteropathogenic E. coli (EPEC)

Enteropathogenic E. coli menyebabkan diare yang berakhir pada kematian yang menyerang individu, dengan dosis infeksi berkisar antara 10^8 - 10^{10} organisme. Transmisi terjadi secara kontak langsung dari individu yang terinfeksi ke individu yang lain tanpa melalui air yang terkontaminasi. Strain ini terdiri dari beberapa serogrup yaitu O55 H6, NM, O86 H34, NM O111 H2, H12, NM O119

H6, NM O125ac H21, O126 H27, NM O128 H2, H12 O142 H6 (Percival 2004). Strain ini juga merupakan penyebab penyakit enteritis akibat diare perjalanan (*traveller's diarrhoea*). Onset penyakit berkisar antara 17-72 jam dengan durasi selama 6 jam sampai 3 hari. Terjadinya diare karena strain ini menyerang sel mukosa usus dengan menggunakan Tir (*translocated intimin reseptor*) sehingga terjadi perubahan struktur sel usus (Bell dan Kyriakides 1998). Perubahan pada ultrastruktur sel usus merupakan penyebab utama terjadinya diare (Gyles and Charles 1993).

Enteroinvasive E. coli (EIEC)

Pasien yang terinfeksi dengan EIEC ditandai dengan diare berair sampai berkembang menjadi diare berdarah. Dosis infeksi berkisar antara 10^6 - 10^{10} organisme. Masa inkubasi di dalam saluran pencernaan berkisar antara 1-3 hari, dengan durasi infeksi selama 1-2 minggu (Percival 2004). Strain ini menginvasi sel di kolon dan menyebar secara lateral dari satu sel ke sel yang lain. Gejala yang ditimbulkan hampir sama dengan *Shigella* yaitu diare profus (disentri), kedinginan, demam, sakit kepala, kelemahan otot dan kram (Bell dan Kyriakides 1998).

Enterohaemorrhagic E. coli (EHEC)

Jenis strain ini menghasilkan *shiga-like toxin* yang bersifat sitotoksik. Masa inkubasi berkisar antara 3-8 hari dengan durasi infeksi 1-12 hari. Strain ini juga menyebabkan dua kondisi yang berbeda yaitu *colitis haemorrhagic* dan *haemolytic uraemic syndrome* (HUS). Kondisi HUS ditandai dengan terjadinya trombositopenia, mikroangiopati, anemia hemolitik dan gagal ginjal (Bell dan Kyriakides 1998).

Enteraggative E. coli (EAEC)

Strain ini menyebabkan diare berair yang tidak mengandung darah dan tidak diikuti dengan demam. Strain ini melekat di usus halus dan menghasilkan toksin (Bell dan Kyriakides 1998).

2.6. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Menurut Tizard (1987), ELISA merupakan salah satu jenis uji primer. Uji jenis ini merupakan uji yang mengukur tanggap kebal humoral yang paling peka dibandingkan dengan uji yang lain. Beberapa kelebihan yang dimiliki oleh uji ini adalah *reagen* yang dipergunakan lebih tahan lama dan beragam, mulai dari uji yang paling sederhana hingga uji yang paling rumit (Voller dan Bidwell 1986), sangat sensitif dan tidak berbahaya sebab tidak menggunakan bahan radioaktif (Suwarno 2003).

Prinsip dasar ELISA adalah mengukur interaksi antara antigen dan antibodi. Ligan mengikat antibodi atau antigen yang akan dideteksi oleh antibodi yang telah dikonjugasi dengan enzim. Enzim akan menginduksi perubahan warna dari substratnya dan kemudian diukur oleh spektrofotometer (*reader*) secara otomatis. Substrat yang digunakan harus dipilih yang cocok dengan enzim untuk mengkonjugasi. Kromogen yang terdapat dalam substrat merupakan indikator warna terjadinya reaksi enzim dengan substrat. Tingkat perubahan warna sebagai indikator reaksi enzim dengan substrat tersebut merupakan penanda konsentrasi antigen/ antibodi yang diukur (Murtini 2004).

ELISA merupakan salah satu uji serologis yang dapat dimanfaatkan dengan berbagai tujuan. Dalam diagnosis penyakit infeksi, ELISA dapat digunakan untuk mendeteksi adanya antigen dan antibodi. Uji inipun dapat digunakan untuk mendiagnosa penyakit non infeksi, evaluasi program vaksinasi, memonitor hormon, obat-obatan, antibiotik, toksin, pestisida, komponen serum, protein onkofetal, sitokin dan penyakit-penyakit autoimun. Penggunaan ELISA yang tepat akan menghasilkan pengujian yang sensitif, spesifik, prediktif, dan praktis untuk sampel yang banyak (Burgess 1995; Suwarno 2003).

BAB III

BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan April 2008 - September 2009. Penelitian dilakukan di Kandang Hewan Laboratorium Ruminansia Besar Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Laboratorium Terpadu FKH IPB Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesmavet FKH IPB.

3.2 Bahan dan Alat

Hewan coba yang digunakan adalah induk sapi Friesian Holstein (FH) bunting trimester akhir sebanyak enam ekor. Induk sapi yang digunakan dipilih yang sehat secara klinis, dan berada pada laktasi kedua sampai dengan ketiga. Induk sapi berasal dari Kawasan Usaha Peternakan Sapi Perah (KUNAK) di Cibungbulang Bogor.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah vaksin *E.coli* polivalen inaktif, larutan buffer karbonat bikarbonat pH 9,6, larutan *phosphate buffer saline* (PBS), larutan 0,05% *Phosphate Buffer Saline Tween-20* (PBST), larutan PBS skim 5%, konjugat *rabbit anti bovine IgG peroxidase* (Cat. No. A-5295, Sigma Chemical Co), substrat ABTS (*2,2'-azino-di [3-ethyl-benzithiazoline sulfonate]*).

Alat-alat yang digunakan adalah lemari pendingin, *freezer*, penangas air, tabung mikro, pipet mikro, cawan polysterene 96 sumuran (Nunc^(R)), *aluminium foil*, inkubator, dan alat pembaca mikro-ELISA.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1 Pemeliharaan hewan coba

Induk sapi bunting dipelihara sejak masa kering kandang sampai melahirkan. Selama percobaan berlangsung induk sapi diberi pakan dua kali

sehari pada pagi dan sore hari dengan pakan hijauan, konsentrat dan ampas tahu. Air minum diberikan secara *ad libitum*.

3.3.2 Vaksinasi

Vaksin yang digunakan pada penelitian ini adalah vaksin *E. coli* polivalen yang berisi sel bakteri *enterotoxigenic E. coli* K99, F41 dengan K99 dan F41 (serogroup O9, 101), formalin 0,02%, dan alhidrogel 1,5%, F41 inaktif yang diemulsikan ke dalam alhidrogel. Vaksinasi dilakukan terhadap induk sapi sebanyak 3 kali yaitu pada 8, 6, dan 4 minggu sebelum induk sapi diperkirakan melahirkan. Vaksinasi dilakukan secara intramuskular dengan dosis 5 ml/ ekor.

3.3.3 Pengambilan dan penyimpanan kolostrum

Kolostrum yang digunakan pada penelitian ini adalah kolostrum yang berasal dari induk sapi yang divaksin (n=6) dan induk sapi yang tidak di vaksin (kontrol; n=6). Koleksi kolostrum dilakukan segera setelah induk sapi melahirkan sampai dengan lima hari setelah induk melahirkan. Kolostrum kemudian disimpan dalam sebuah wadah plastik dan diberi label dan dimasukkan ke dalam *freezer* (-20⁰C) sampai analisis dilakukan.

3.3.4 Deteksi antibodi anti-*E. coli* K99 dalam kolostrum dengan ELISA

Antigen K99 diencerkan dalam larutan buffer karbonat bikarbonat pH 9,6 dengan perbandingan 1:5000. Sumuran-sumuran cawan ELISA kemudian dilapisi dengan antigen tersebut sebanyak 100 µl/ sumur (*coating*) menggunakan pipet mikro, kemudian cawan dibungkus dengan aluminium foil, lalu diinkubasi semalam pada suhu 4⁰C.

Sumuran-sumuran cawan ELISA dicuci dengan 0,05% PBST sebanyak tiga kali setelah diinkubasi selama semalam, dan dimasukkan 100 µl PBS Skim 5% ke dalam sumuran-sumuran cawan ELISA (*blocking*). Cawan dibungkus seperti sebelumnya dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 1 jam. Cawan ELISA selanjutnya dicuci kembali tiga kali sesuai dengan prosedur di atas.

Sumur cawan nomor 1 dan 2 dari baris A diisi dengan 100 µl PBS sebagai kontrol negatif. Sumuran nomor 1 dan 2 dari baris B sampai G diisi dengan 100 µl sampel kolostrum sapi untuk menentukan nilai *cut off*. Sumur yang lain masing-masing diisi dengan 100 µl sampel kolostrum yang akan di uji. Setiap sampel kolostrum diperiksa dua kali (duplo). Cawan ELISA diinkubasi lagi dalam suhu 37⁰C selama satu jam lalu dilakukan pencucian seperti diatas.

Sebanyak 100 µl suspensi konjugat *rabbit anti-bovine IgG peroxidase* konsentrasi 1:10000 dimasukkan ke dalam setiap sumur sebelum diinkubasi pada suhu 37⁰C selama satu jam. Cawan ELISA dicuci lagi tiga kali dengan PBST dan sebanyak 100 µl substrat ABTS dimasukkan ke dalam setiap sumur. Cawan ELISA kemudian dinkubasikan ke dalam ruangan gelap pada suhu 37⁰C selama 30 menit sampai ada perubahan warna. Hasil reaksi di ukur dengan alat pembaca ELISA pada panjang gelombang 405 nm, berupa kerapatan optik (*Optical Density*) dalam bentuk nilai absorbansi.

3.3.5. Pengukuran konsentrasi IgG total dalam kolostrum dengan ELISA

Anti-IgG sapi (*anti-bovine IgG*) diencerkan dengan larutan buffer karbonat bikarbonat pH 9,6 dengan perbandingan 1:10000. Sumuran-sumuran cawan ELISA kemudian dilapisi dengan anti-IgG tersebut sebanyak 100 µl/ sumur (*coating*). Plate kemudian dibungkus dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam pada suhu 4⁰C.

Sumuran-sumuran cawan ELISA dicuci dengan 0,5% PBST sebanyak tiga kali setelah diinkubasi selama semalam, dan dimasukkan 100 µl PBS Skim 5% ke dalam sumuran-sumuran cawan ELISA (*blocking*). Cawan dibungkus seperti sebelumnya dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 1 jam. Cawan ELISA selanjutnya dicuci kembali tiga kali sesuai dengan prosedur di atas.

Sumuran cawan nomor 1 dan 2 dari baris A diisi dengan 100 µl PBS sebagai kontrol negatif. Sumuran nomor 1 dan 2 dari baris B sampai G diisi dengan 100 µl IgG sapi dengan konsentrasi 1, 0,5, 0,125, 0,0625, 0,0312 yang digunakan sebagai stándar. Sumur yang lain masing-masing diisi dengan 100 µl sampel kolostrum yang akan di uji. Setiap sampel kolostrum diperiksa dua kali (duplo).

Cawan ELISA diinkubasi lagi dalam suhu 37⁰C selama satu jam lalu dilakukan pencucian seperti diatas.

Sebanyak 100 µl suspensi konjugat *rabbit anti-bovine IgG peroxidase* konsentrasi 1:10000 dimasukkan ke dalam setiap sumur sebelum diinkubasi pada suhu 37⁰C selama satu jam. Cawan ELISA dicuci lagi tiga kali dengan PBST dan sebanyak 100 µl substrat ABTS dimasukkan ke dalam setiap sumur. Cawan ELISA kemudian diinkubasikan ke dalam ruangan gelap pada suhu 37⁰C selama 30 menit sampai ada perubahan warna. Hasil reaksi di ukur dengan alat pembaca ELISA pada panjang gelombang 405 nm, berupa kerapatan optik (*Optical Density*) dalam bentuk nilai absorbansi. Berdasarkan nilai absorbansi standar dihitung konsentrasi IgG total dalam kolostrum menggunakan persamaan regresi linear, dengan nilai absorbansi sebagai Y dan X sebagai konsentrasi.

3.4. Analisis data

Analisis hasil diamati secara deskriptif `menggunakan Tabel dan Gambar yang menyajikan nilai absorbansi dari setiap sampel kolostrum yang diperiksa.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keberadaan antibodi sebagai respon terhadap vaksinasi dapat dideteksi melalui pengujian dengan teknik ELISA. Metode ELISA yang digunakan adalah metode tidak langsung. ELISA tidak langsung digunakan sebagai uji serologik karena cepat, sederhana dan relatif murah (Parede & Ginting 1996). Hasil ELISA yang diperoleh diekspresikan dalam nilai absorbansi. Nilai absorbansi menunjukkan konsentrasi antibodi yang dideteksi. Makin tinggi nilai absorbansi, makin tinggi konsentrasi antibodi yang terkandung di dalam kolostrum. Hasil ELISA secara tidak langsung dari beberapa sampel kolostrum ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi lebih pekat yang menunjukkan bahwa nilai absorbansi semakin besar. Kekuatan warna ini tergantung dari banyaknya substrat yang terurai. Banyaknya substrat yang terurai tergantung dari banyaknya enzim dalam larutan. Kekuatan warna ini menunjukkan jumlah ikatan antigen-antibodi primer (Indardi 2005). Semakin pekat warna yang terbentuk, menunjukkan nilai absorbansi yang semakin besar (Gambar 7).



Gambar 7. Hasil ELISA

Nilai absorbansi yang diperoleh merupakan nilai kuantitas dan sebanding dengan konsentrasi antibodi yang terdapat di dalam kolostrum induk sapi. Induk sapi FH bunting trimester akhir divaksin dengan menggunakan vaksin *E. coli* polivan pada penelitian ini. Vaksin adalah bahan antigenik yang digunakan untuk menghasilkan kekebalan aktif terhadap suatu penyakit sehingga dapat mencegah atau mengurangi pengaruh infeksi oleh organisme patogen. Vaksinasi adalah

pemberian vaksin ke dalam tubuh seseorang atau individu untuk memberikan kekebalan terhadap suatu penyakit (Kreier dan Mortenseng 1990). Menurut Barrington *et al.* (2001), keterpaparan induk sapi terhadap antigen (vaksin) akan menyebabkan diproduksi antibodi spesifik oleh induk yang akan ditransfer dari darah induk menuju kolostrum di dalam kelenjar ambing sebelum induk melahirkan, melalui mekanisme transpor khusus. Transfer antibodi dari induk ke anak pada ruminansia terjadi secara *transmammary*, yaitu melalui pemberian kolostrum.

Kolostrum merupakan sekresi yang dihasilkan kelenjar ambing mamalia pada tahap akhir kebuntingan sampai beberapa hari setelah melahirkan (Tizard 2004). Kolostrum berperan dalam proses transfer kekebalan pasif yang diperoleh pedet dari induk, karena fetus tidak mendapatkan transfer antibodi sewaktu dalam kandungan induk. Transfer antibodi maternal pada ruminansia (sapi) tidak terjadi secara transplasenta, karena spesies ini memiliki tipe plasenta *syndesmochorial* (Tizard 2004). Plasenta jenis ini memiliki struktur yang sangat tebal, terdiri atas enam lapisan yang membatasi antara sirkulasi darah induk dan fetus, sehingga tidak memungkinkan terjadinya transfer antibodi dari induk ke fetus. Keenam struktur itu adalah endotel kapiler induk, jaringan ikat uterus, epitel endometrium, *trophoblast* atau *chorion*, *mesenchym* dan endotel kapiler fetus (Toelihere 2006).

Antibodi dalam kolostrum didapatkan dari sirkulasi darah induk melalui proses transfer imunoglobulin sebelum kelahiran melalui proses kolostrogenesis (Barrington *et al.* 2001). Kolostrogenesis pada ruminansia dimulai pada beberapa minggu sebelum kelahiran (Larson *et al.* 1980; Barrington *et al.* 2001). Krissanti (2008) melaporkan bahwa antibodi spesifik terhadap *E. coli* K99 yang terbentuk melalui vaksinasi *E. coli* polivalen inaktif sebelum induk sapi melahirkan dapat dideteksi di dalam darah pada satu minggu setelah vaksinasi pertama dan bertahan di dalam darah sampai dengan lima minggu setelah vaksinasi pertama. Menurut Parakkasi (1998), kolostrum tersusun dari beberapa zat penyusun serum darah (terutama imunoglobulin dan protein serum lainnya) yang berakumulasi dalam kelenjar ambing. Menurut Toelihere (2006), globulin berasal langsung dari darah, namun kebanyakan fraksi globulin dari kolostrum disintesis oleh sel-sel plasma di dalam kelenjar ambing dari asam amino bebas di dalam darah. Sebagian besar

immunoglobulin yang berada di dalam sekresi kelenjar ambing pada ruminansia berasal dari darah, dan dibawa secara selektif melalui sel-sel sekretori ambing menuju kolostrum melalui mekanisme transpor intraseluler (Larson *et al.* 1980).

Tabel 5. Nilai absorbansi sapi kontrol

Induk sapi ke-	Rataan absorbansi
1	0,079
2	0,072
3	0,125
4	0,072
5	0,09
6	0,067
Rata-rata	0,084
SD	0,022
X ± SD	0,106

Nilai *cut off* merupakan batas nilai positif dan negatif adanya antibodi anti *E. coli* K99. Nilai *cut off* ini ditentukan dengan cara menghitung rata-rata nilai absorbansi yang diperoleh dari sampel kolostrum sapi kontrol kemudian ditambahkan dengan standar deviasi dari rata-rata absorbansi sampel kolostrum sapi kontrol. Tabel 5 memperlihatkan nilai absorbansi sapi kontrol (induk sapi yang tidak divaksin). Sampel kolostrum dikatakan bernilai positif jika nilai absorbansi lebih besar dari nilai *cut off* ($\geq 0,106$) dan akan bernilai negatif jika nilai absorbansi kurang dari nilai *cut off* ($< 0,106$).

Hasil pengujian ELISA terhadap kolostrum yang memperlihatkan rataan nilai absorbansi dan interpretasi berdasarkan nilai *cut off* yang diperoleh dari sampel kolostrum sapi FH yang divaksin dapat dilihat pada Tabel 6. Absorbansi bernilai positif tampak pada kolostrum hasil pemerahan ke-1 sampai dengan pemerahan ke-9. Hal ini menunjukkan bahwa IgG anti-*E. coli* di dalam kolostrum masih bisa dideteksi sampai dengan pemerahan hari ke-5 (pemerahan ke-9). Menurut Ruckebusch *et al.* (1991), kolostrum disekresikan sekitar 2-3 hari pertama setelah melahirkan. Sanken (2008) melaporkan bahwa kolostrum adalah cairan yang keluar dari kelenjar susu selama 2-4 hari (48 jam) setelah partus, dan mengandung faktor imunitas, faktor pertumbuhan dan faktor nutrisi. Sapi kontrol

yang tidak diberikan vaksinasi *E. coli* (Tabel 6) memperlihatkan tidak adanya IgG dalam kolostrum ini. Hal ini terlihat dari rendahnya nilai absorbansi sapi kontrol dibandingkan dengan nilai *cut off*.

Rataan absorbansi kolostrum yang divaksin dengan *E. coli* polivalen hasil pemerahan ke-1 sampai pemerahan ke-9 berturut-turut adalah 0,181, 0,137, 0,232, 0,294, 0,109, 0,109 dan 0,108. Rataan nilai absorbansi tersebut disajikan pada Tabel 6. Nilai absorbansi tersebut menunjukkan konsentrasi antibodi yang terdapat dalam kolostrum. Immunoglobulin/antibodi yang terdeteksi di dalam kolostrum dipengaruhi oleh kerja hormon laktogenik yaitu hormon estrogen, progesteron dan prolaktin. Hormon estrogen dan progesteron diperlukan untuk memulai proses transfer imunoglobulin G1 (IgG1) ke dalam kelenjar ambing yang merupakan imunoglobulin utama dalam kolostrum, sedangkan prolaktin disekresikan untuk mengatur penghentian proses transfer IgG1 menjelang kelahiran (Winger *et al.* 1995). Transfer IgG1 menuju kelenjar ambing dipengaruhi oleh jumlah dan afinitas reseptor sel epitel kelenjar ambing terhadap IgG1 (Larson 1992). Menjelang kelahiran transfer IgG1 akan dihentikan karena terjadi penurunan estrogen dan progesteron di dalam darah serta adanya peningkatan hormon laktogenik yang mengatur penghentian transfer IgG1 ke kelenjar ambing (Hidayat *et al.* 2009). Oleh karena itu, ketika induk menyusui, imunoglobulin sudah tersedia di dalam ambing dan akan disekresikan bersama kolostrum.

Tabel 6. Nilai absorbansi kolostrum sapi FH yang divaksin dengan *Escherichia coli* polivalen

Kolostrum Ke-	Rataan Absorbansi	Interpretasi
1	0,181	+
2	0,137	+
3	0,232	+
4	0,294	+
6	0,109	+
7	0,109	+
9	0,108	+

Interpretasi : (+) → jika rata-rata nilai absorbansi $\geq 0,106$
 (-) → jika rata-rata nilai absorbansi $< 0,106$

Tabel 7. Rataan absorbansi standar dan persamaan regresi linear.

Sampel Uji Kontrol	Rataan Absorbansi (y)	x
PBS*	0.099	0
1	0.108	1
2	0.104	0.5
3	0.108	0.25
4	0.102	0.125
5	0.1	0.0625
6	0.089	0.0312

Persamaan regresi linear $\rightarrow y = a+bx$

Keterangan : * *Phosphate buffer saline* (sebagai kontrol negatif)

y = nilai absorbansi standar

x = konsentrasi standar IgG

a = 0,011

b = 0,098

Tabel 8. Rata-rata konsentrasi IgG total ($\mu\text{g}/100 \mu\text{l}$) dalam kolostrum hasil pemerahan ke-1 sampai dengan ke-3.

Kolostrum ke-	Konsentrasi IgG total
1	1,129 \pm 0,005
2	1,075 \pm 0,002
3	1,054 \pm 0,0006

Berdasarkan hasil penghitungan konsentrasi IgG kontrol dengan menggunakan persamaan regresi linear ($y= a+bx$) diperoleh rata-rata absorbansi

0,099, 0,108, 0,104, 0,108, 0,102, 0,1 dan 0,089. Rataan nilai absorbansi kontrol IgG sapi disajikan pada Tabel 7. Berdasarkan hasil tersebut, diketahui nilai konsentrasi IgG total dalam kolostrum. Tabel 9 memperlihatkan konsentrasi IgG total dalam kolostrum hasil pemerahan ke-1 sampai dengan ke-3. Konsentrasi IgG ini diperoleh dari hasil perhitungan dari persamaan regresi linear. Konsentrasi antibodi di dalam kolostrum hasil pemerahan pertama sampai dengan ketiga berturut-turut sebesar $1,129 \pm 0,005 \mu\text{g}/100 \mu\text{l}$, $1,075 \pm 0,002 \mu\text{g}/100 \mu\text{l}$, dan $1,054 \pm 0,0006 \mu\text{g}/100 \mu\text{l}$. Konsentrasi total IgG mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya waktu pemerahan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa konsentrasi IgG total di dalam kolostrum sapi FH mencapai nilai tertinggi pada pemerahan pertama yaitu sebesar $1,129 \pm 0,005 \mu\text{g}/100 \mu\text{l}$, dengan kisaran antara $1,054$ - $1,129 \mu\text{g}/100 \mu\text{l}$ (Tabel 9). Konsentrasi IgG menunjukkan penurunan yang berarti pada pemerahan kedua menjadi $1,075 \pm 0,002 \mu\text{g}/100 \mu\text{l}$ atau mengalami penurunan sebesar $0,054 \mu\text{g}$. Selanjutnya konsentrasi IgG total hasil pemerahan ketiga mengalami penurunan sebesar $0,021 \mu\text{g}$ setelah 24 jam pertama induk sapi melahirkan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Esfandiari (2005), bahwa seiring bertambahnya waktu laktasi konsentrasi IgG total dalam kolostrum semakin menurun. Konsentrasi IgG total dari kolostrum hasil pemerahan ke-1 sampai dengan ke-10 berturut-turut adalah $19,67 \text{ mg/ml}$, $8,29 \text{ mg/ml}$, $4,56 \text{ mg/ml}$, $3,76 \text{ mg/ml}$, $3,31 \text{ mg/ml}$, $2,84 \text{ mg/ml}$, $2,55 \text{ mg/ml}$, $2,35 \text{ mg/ml}$, $2,07 \text{ mg/ml}$, dan $1,69 \text{ mg/ml}$. Hal yang sama dilaporkan oleh Foley dan Otterby (1978) bahwa konsentrasi IgG pada pemerahan pertama adalah sebesar 32 mg/ml , kemudian mengalami penurunan pada pemerahan ketiga menjadi 15 mg/ml atau menurun sekitar $53,13\%$ dalam 24 jam pertama setelah induk melahirkan. Stott *et al.* (1981) melaporkan bahwa konsentrasi berbagai komponen utama di dalam kolostrum paling tinggi terdapat pada kolostrum hasil pemerahan pertama dan akan mengalami penurunan dengan cepat menuju konsentrasi normal setelah pemerahan keempat. Menurut Toelihere (2006), jumlah dan kualitas kolostrum dipengaruhi oleh bangsa (ras) dan individu ternak, tingkatan energi yang dikonsumsi, jumlah dan kualitas kandungan protein, jumlah mineral, garam, dan air yang dikonsumsi, termasuk faktor-faktor lingkungan, manajemen dan penyakit.

Konsentrasi IgG total mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya waktu pemerahan. Penurunan konsentrasi IgG total yang terjadi setelah pemerahan pertama diduga disebabkan karena telah berkurang atau berhentinya proses kolostrogenesis setelah induk sapi melahirkan. Cadangan kolostrum yang terkumpul dari proses kolostrogenesis umumnya akan dikeluarkan melalui mekanisme laktasi sebesar-besarnya pada pemerahan pertama (Esfandiari 2005). Kolostrogenesis terjadi pada waktu kelahiran bersamaan dengan penurunan kadar progesteron dan estrogen di dalam darah dan peningkatan kadar prolaktin atau hormon laktogenik dari kelenjar hipofisa (Hidayat *et al.* 2009). Menurut Lazzaro (2000), kolostrum mulai diproduksi sekitar 3-6 minggu sebelum partus. Kolostrum disimpan dalam kelenjar ambing selama sekitar 2-7 hari terakhir masa kebuntingan dan disekresikan sekitar 2-3 hari pertama setelah melahirkan (Ruckebusch *et al.* 1991).

Faktor lain yang juga mempengaruhi jumlah dan kualitas kolostrum adalah umur induk. Sapi yang berada pada laktasi 2 dan 3 memiliki kemampuan untuk menghasilkan kolostrum dan sistem transpor antibodi yang lebih baik serta memiliki kandungan IgG yang lebih tinggi dan antibodi spesifik terhadap jenis penyakit yang lebih banyak (Quigley *et al.* 1994). Volume kolostrum juga mempengaruhi kemampuan menghasilkan antibodi karena jumlah kolostrum yang banyak akan menurunkan konsentrasi imunoglobulin dalam kolostrum. Selain itu juga dipengaruhi oleh periode kering kandang, pengalaman keterpaparan induk terhadap penyakit, sejarah vaksinasi dan waktu pemerahan setelah induk melahirkan (Olson *et al.* 1981).

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

- Induk sapi bunting trimester akhir yang divaksin dengan vaksin *Escherichia coli* polivalen mampu memproduksi antibodi spesifik terhadap *E. coli* K99 di dalam kolostrum,
- Antibodi spesifik dapat dideteksi di dalam kolostrum hasil pemerahan ke-1 sampai dengan ke-9,
- Konsentrasi IgG total dalam kolostrum hasil pemerahan ke-1 sampai dengan ke-3 berkisar antara 1.054-1.129 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$.

Saran

- Perlu dilakukan penelitian dengan jumlah sampel kolostrum yang lebih banyak untuk mendapatkan data yang lebih akurat,
- Penggunaan vaksin *E. coli* polivalen pada induk bunting sebagai alternatif pencegahan kolibasilosis,
- Perlu adanya sosialisasi kepada peternak untuk memberikan kolostrum pada neonatus.

DAFTAR PUSTAKA

- [Anonim]. 2009. *Morfologi Escherichia coli*. <http://www.wikipedia.com> (26 Februari 2009).
- [Anonim]. 2009. *Struktur Escherichia coli*. <http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch025.htm> [23 Juli 2009].
- [Anonim]. 2000. Dalam Jurnal *Budidaya Ternak Sapi Perah*. <http://www.ristek.go.id>.
- Ansi-Okstate. 2008. Breeds of Livestock Holstein Cattle. <http://www.ansi.okstate.edu/breeds/cattle/Holstein>. [9 Feb 2008].
- Artama W. 1995. *Teknologi ELISA Dalam Diagnosis Dan Penelitian*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Barrington GM, McFadden TB, Huyler MT, Besser TE. 2001. Regulation of Colostrogenesis in Cattle. *Livestock Prod Sci* 70:95-04. <http://www.elsevier.com/locate/livprodsci> [19 Juni 2008].
- Bell, Kyriakides. 1998. *Serogroups and diseases association of E. coli*. Di dalam buku *Microbiology of Waterborne Disease*. India: Elsevier Academic Press.
- Blum JW, Hammon H. 2000. Colostrum effect on the gastrointestinal tract, and on nutritional, endocrine and metabolic parameter in neonatal calves. *Livestock Production Science* 66:151-159.
- Burgess GW. 1995. *Teknologi ELISA dalam Diagnosis dan Penelitian*. Yogyakarta: UGM Press.
- Butler JE. 1983. Bovine Immunoglobulin : An Augmented Review. *Vet Immunol and Immunopathol* 4:43-152.
- Esfandiari A. 2005. Studi Kinerja Kesehatan Kambing Peranakan Etawah (PE) Neonatal Setelah Pemberin Berbagai Sediaan Kolostrum. [Disertasi]. Bogor: Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Frandsen, RD. 1992. *Anatomi dan Fisiologi Ternak* Ed Ke-4. Yogyakarta : Gajah Mada University Press.
- Foley JA, Otterby DE. 1978. Availability, Storage, Treatment, Composition, and Feeding Value of Surplus Colostrum. *J Dairy Sci* 61:1033-1060.
- Ganong WF. 2002. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed ke-20. Widjajakusumah D, editor. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: *Review of Medical Physiology*.

- Gross WB, HJ Barnes. 1997. *Colibacillosis in Disease of Poultry*. 10th Ed. Calnek *et al.* editor. USA: Iowa University Press.
- Gyles CL, Charles OT. 1993. *Pathogenesis of Bacterial Infection in Animal* Ames: Iowa State University.
- Hidayat, Effendi P, Asep AA. 2009. *Buku Petunjuk Praktis untuk Peternak Sapi Perah tentang Manajemen Kesehatan Pemerahan Bab 2 (Proses Pembentukan Susu)*. Dinas Povinsi Jawa Barat.
- Holstein Cross. 2008. <http://ahfd.ap.nic.in/igcarl/holstein.html>. [Juli 2009].
- Indardi. 2005. Efek Sistemik Pemberian Imunoglobulin Y (IgY) anti Enteripathogenic *Escherichia coli* (EPEC) Peroral pada Mencit. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Ismail R. 2008. Beternak Sapi Perah. <http://arifiuz.wordpress.com/2008/01/10/bangsa-sapi-perah/>[Juni 2009].
- Kandun N. 2000. Manual Pemberantasan Penyakit Menular Ed ke-017: Hlm 160-172.
- Karsinah, Lucky HM, Suharto, Mardiasuti HW. 1994. *Bakteri Gram Negatif* Didalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta : Binarupa Aksara.
- Kreier JP, Mortenseng RF. 1990. Infection, Resistance, and Immunity. New York: Harper and Row.
- Krissanti I. 2008. Deteksi Antibodi Anti-*Escherichia coli* K99 dalam Serum Induk Sapi Perah Bunting Post Vaksinasi *E. coli* Polivalen dengan Teknik ELISA. [Skripsi]. Bogor. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Larson BL, Heary HL, Devery JE. 1980. Immunoglobulin Production and Transport by the Mammary Gland. *J Dairy Sci* 63:665-671.
- Larson BL. 1992. Immunoglobulin of The Mammary Secretion. Di dalam: Fox PF, editor. *Advanced Dairy Chemistry Vol 1 : Protein*. Great Britain: Elsevier Science Publishers LTD. Hlm 231
- Lazzaro J. 2000. Colostrum/ Supplementing Colostrum. wichway@saanendoah.com. [7 Februari]
- Murtini S. 2004. Tata Cara Pengambilan, Pengiriman, dan Pemeriksaan Bahan Asal Hewan di Laboratorium. Di dalam: Workshop Penyakit-Penyakit Eksotik dan Penyakit-penyakit Penting Pada Hewan Bagi Petugas Dokter Hewan: Bogor, 12-15 Januari 2004. Bogor: FKH IPB dan Badan Karantina Deptan.

- Olson DP, Woodar LF, Bull RC, Everson DO. 1981. Immunoglobulin Levels in Serum and Colostral Whey of Protein Metabolisable Energy Restricted Beef Cows. *Res Vet Sci* 30:49-52.
- Parakkasi A. 1998. *Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak Ruminansia*. Jakarta: UI Press.
- Parede L, Ginting N. 1996. Pendeteksian Titer Antibodi *Swollen Head Syndrome* dengan Uji ELISA Tak Langsung. *J Ilmu Ternak dan Veteriner* 1: 174-177.
- Percival S. 2004. *Microbiology of Waterborne Disease*. India: Elsevier Academic Press.
- Quigley JDIII, Martin KR, Dowlen HH, Wallis LB, Lamar K. 1994. Immunoglobulin Concentration, Specific Gravity, and Nitrogen Fraction of Colostrum from Jersey Cattle. *J Dairy Sci* 78:1573-1577.
- Roitt IM, Brostoff J, Male DK. 1998. *The Basic of Immunology. Specific Acquired Immunity*. 5th Ed. Dalam *Essensial Immunology*. London: Blackwell hlm 15-30.
- Ruckebusch Y, Phaneuf LP, Dunlop R. 1991. Lactation Di dalam Physiologi of Small and Large Animal. Philadelphia-Hamilton: B.C. Decker, Inc. hlm 617-618.
- Sanken. 2008. Kolostrum Bovine - 3 Faktor Prima Pendukung Kehidupan Sempurna. <http://www.zorpia.com/qolostra/journals/4931> [16 juli 2008].
- Scott GH *et al.* 1979. Colostral Immunoglobulin Transfer in Calves I. Period of Absorption. *J Dairy Sci* 62: 1632-1638.
- Sigit K. 2004. Bahan Kuliah Biologi Hewan Ana 111 : Klasifikasi dan Filogeni. Bogor: bagian Anatomi, Departemen Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan, Dan Penggunaan Hewan Percobaan Di Daerah Tropis*. Jakarta: UI Press.
- Soeripto. 2001. Vaksin Bakteri untuk Ternak. *Infovet* Ed 083: Hlm 40-41.
- Stott GH, Fleenor WA, Kleese WC. 1981. Colostral Immunoglobulin Concentration in Two Fraction of First Milking Postpartum and Five Additional Milking. *J Dairy Sci* 64:459-465.
- Supar. 1986. Penggunaan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) untuk Deteksi Antigen Pili K99, K88 pada *Escherichia coli* dari Anak Sapi dan Anak Babi Diare. *Penyakit hewan* 17:159-168.

- Supar, Hirst RG, Patten BE. 1990. Antimicrobial Drug Resistance in *Enterotoxigenic Escherichia coli* K99, F41 and 987P Isolated From Piglets in Indonesia. *Penyakit hewan* 22: 13-19.
- Supar, Arifin Z, Kurniasih N, Djaenuri, Ramli G. 1993. Studi Epidemiologi dan Dampak Kolibasilosis pada Sapi Perah. Laporan Penelitian tahun Anggaran 1992/ 1993. Balai Penelitian Veteriner.
- Supar, Kusmiyati, Poerwadikarta MB. 1998. Aplikasi Vaksin *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC) K99, F41 Polivalen pada Induk sapi Perah Bunting dalam Upaya Pengendalian Kolibasilosis dan Kematian Pedet Neonatal. *JITV* 3:27-33.
- Supar. 2001. Pemberdayaan Plasma Nutfah Mikroba Veteriner dalam Pengembangan Peternakan: Harapan Vaksin *Escherichia coli Enterotoxigenic*, Enteropatogenik dan Verotoksigenik isolat lokal untuk Pengendalian Kolibasilosis Neonatal pada Anak Babi dan Sapi. *Wartazoa* 11:33-43.
- Sutardi T. 1983. Sapi Perah dan Pemberian Makanannya. Ceramah Ilmiah Pengelolaan Tata Laksana Makanan dan Kesehatan Sapi perah. Perhimpunan Dokter Hewan Indonesia Cabang Jawa Barat.
- Suwarno. 2003. Prinsip Dasar, Optimalisasi dan Interpretasi Hasil Uji ELISA. Surabaya: Lab Virologi dan Immunologi FKH Unair.
- Thapa BR. 2005. *Health Factors in Colostrum. Indian Journal of Pediatric* 72 : 579-581.
- Tizard, I. 1987. *Pengantar Immunology Veterinar*. Ed ke-3. Penerjemah Masduki Partodiredjo Surabaya.: Airlangga University Press. Terjemahan dari *An. Introduction to Veterinary Immunology*.
- Tizard, I. 2004. *Pengantar Immunology Veterinar*. Ed ke-7. Penerjemah Masduki Partodiredjo Surabaya.: Airlangga University Press. Terjemahan dari *An. Introduction to Veterinary Immunology*.
- Todar K. 2008. *Todar's online Textbook of Bacteriology*. Juli 2008].
- Toelihere MR. 2006. Ilmu Kebidanan pada Ternak Sapi dan Kerbau. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Tyler H, Ensminger ME. 2006. *Dairy Cattle Science*. Ed ke-4. USA: Pearson Prentice Hall.
- Utomo B, Prawirodigdo S, Sarjana, Sudjatmogo. 2006. Performan Pedet Sapi Perah dengan Perlakuan Induk Saat Masa Akhir. Di dalam Prosiding

seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2006. Bogor :
Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Hlm 76-81.

[USDA] United States Department of Agriculture. 2004. *Animal Improvement Program Laboratory Means (Ibs) for Calculating PTA% for the May 2004 Run*. http://www.aipl.arsusda.gov/dynamic/summary/current/yld_mean.htm[21 Mei 2008].

Voller A, Bidwell D. 1986. *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*. Di dalam: *Manual of Clinically Laboratory Immunology*. Ed ke-3. USA: American Society for Microbiology.

Wahid. 2009. *Manajemen Sapi Perah pada Peternakan Rakyat*. <http://wahidwordpress.com/beternak-sapi-tanpa-rumput>. [11 April 2009].

Winger K, Gay CC, Besser TE. 1995. Immunoglobulin G1 Transfer into Induced Mammary Secretion: the Effect of Dexamethason. *J Dairy Sci* 78:1306-1309.

Zein U, Sagala HK, Ginting J. 2004. Diare Akut Disebabkan Bakteri. Fakultas Kedokteran Divisi Penyakit Tropik dan Infeksi Bagian Ilmu Penyakit Dalam Univ Sumatera Utara.