PENGUJIAN POTENSI VAKSIN *Pasteurella multocida* ISOLAT LOKAL YANG DIBUAT DENGAN EKSTRAKSI POTASIUM TIOSIANAT (KSCN) PADA BABI

THE EVALUATION OF POTASIUM THIOCYANATE EXTRACTED *Pasteurella multocida* VACCINE ON PIG

E.S. PRIBADI, C.S.U PRAMONO, M. PARTADIREDJA, M.B.M. MALOLE[1]

ABSTRAK

Isolat P. *multocida* diperoleh dari babi-babi di peternakan di daerah Kapuk yang diduga menderita pasteurellosis. Dari isolat yang sama dibuat vaksin dengan mengekstraksinya dalam larutan potasiurn tiosianat dan potensi vaksin diuji pada kelompok babi percobaan. Sebanyak 17 ekor babi yang berumur tiga sampai empat bulan dibagi menjadi empat kelompok, yaitu (i) kelompok kontrol, (ii) kelompok yang diberi vaksin, (iii) kelompok yang diberi vaksin dan uji tantang dan (iv) kelompok yang hanya menerima uji tantang saja. Percobaan berlangsung selama 30 hari dan seluruh hewan percobaan mendapatkan makan dan minum ad *libitum.*

Titer antibodi untuk seluruh kelompok percobaan tidak berbeda nyata hingga pemeriksaan hari ke-21. Sejak hari ke-23 barulah ada perbedaan titer antibodi antara hewan percobaan yang divaksinasi dan hewan percobaan yang tidak divaksinasi, yaitu kelompok percobaan yang divaksinasi mempunyai titer antibodi yang lebih tinggi dibandingkan kelompok percobaan yang tidak divaksinasi.

Pada kelompok hewan yang menerima uji tantang, tanda klinis yang terlihat adalah menurunnya nafsu makan, melakukan pernafasan perut dengan cepat dan beberapa ekor mengeluarkan lendir dari lubang hidungnya. Perubahan patologis anatomis yang teramati adalah dermatitis lokal superfisialis, limfadenitis, udem di daerah ventral leher, trakeitis, laringitis, pleuropneumoni, emfisema pulmonum, pleuritis, perkarditis, epikarditis, hipertrofi ventrikel kanan, dilatasi ventrikel kiri, splenitis, enteritis kataralis, teflitis, kolitis, sistitis, miositis nekrotikans, gastritis kataralis dan gangrenosa, degenerasi parenkhimatosa, hidronefrosis, sinusitis kataralis, pneumoni lobuler dan epiglositis. Perubahan histopatologis yang dapat didiagnosa adalah adanya kerusakan alveoli dari organ paru dan pembentukan pusat-pusat germinal pada organ limpa dan limfoglandula yang terlihat lebih parah pada

[1] Staf Pengajar Jurusan Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Jl. Taman Kencana 3 Bogor 16151. Indonesia

kelompok yang hanya menerima uji tantang saja dibandingkan ketiga kelompok lainnya. Dari hasil pemeriksaan bakteriologis dapat diisolasi bakteri *P. multocida* dari organ-organ yang mengalami kelainan asal kelompok yang menerima perlakuan.

Sedangkan dari kelompok hewan yang menerirna vaksinasi, gejala klinis yang terlihat lebih ringan. Perubahan patologis anatomis yang diperoleh dari kelompok ini sama dengan kclompok yang hanya menerima uji tantang hanya pada kelompok yang menerima vaksinasi tidak ditemukan udem di daerah ventral leher. Pengamatan hasil histopatologis dari kelompok hewan yang hanya menerima uji tantang dan kelompok yang menerima vaksinasi memberikan hasil yang sama, hanya perubahan histopatologis pada kelompok hewan yang divaksinasi bersifat kronis. Hasil pemeriksaan bakteriologis terhadap organ dari kelompok hewan yang menerima vaksinasi tidak ditemukan P. *multocida.*

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan bahwa (i) vaksin yang dibuat dinyatakan murni dan tidak bersifat toksik dan (ii) vaksin yang dibuat dapat memberikan perlindungan 100 % pada hewan percobaan babi selama 30 hari penelitian.

ABSTRACT

Pasteurella multocida has been isolated from pigs at Kapuk Farm West Jakarta that had been diagnosed pasteurellosis. These isolates were extracted with potassium thiocyanate (KSCN) and has been evaluated as vaccine for pig. Seventeenth 3-4 years-old pigs were used for experiment and they were divided to four groups. i.e (i) control, (ii) vaccination, (iii) vaccination and challenge and (iv) challenge groups. All pigs were fed and receive water *ad libitum*. The experiment was carried out for 30 days.

All experiment groups showed no difference statistically for antibody titer until days-21. At days-23, vaccination groups showed antibody titer higher than non vaccination groups.

Challenge groups showed clinical sign i.e. anorexia, abdominal respiration, rhinitis and demonstrated pathological changes i.e. local dermatitis superficialis, limphadenitis, oedem cervicalis ventral, trcheitis, laryngitis, pleuropneumoni, emphysema pulmonum, pleuritis, pericarditis, epicarditis, hipertrophy ventricle dextra, dilatation ventricle sinistra, splenitis, anteritis catarhalis, tephlitis, colitis, cystitis,, myositis necroticans, gastritis catarhalis and gangrenosa, degeneration parenchymatosa. hidronephrosis, sinusitis catarhalis, pneumoni lobuler and epiglositis. Histopathological changes showed alveoli damaged, germinal centers formation in spleen and limphoglandulae which was more severe in the challenge groups. *P. multocida* was isolated from visceral organs that showed pathology and histopathology changes.

Mild clinical signs was observed in the vaccination groups. This groups showed similar pathological changes as other groups but there were no oedema at cervicalis region. This group showed chronic histopathological changes. No *P. multocida* was isolated from visceral organs.

It can be concluded that all vaccinated pigs was protected by vaccine during the 30 days experiment.

PENDAHULUAN

Salah satu kendala yang sering ditemukan dalam peternakan babi adalah bcrjangkitnya penyakit menular, diantaranya adalah penyakit menular *pasteurellosis* yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Pasteurella multocida.* Penyakit ini juga dikenal dengan nama *haetnorrhagic septichaemia, atrophic rhinitis, pneumonic pasteurellosis,* dan *shipping fever pneumonia.* Pada peternakan babi, penyakit ini dapat mendatangkan kerugian yang cukup tinggi yaitu meliputi kerugian akibat gangguan pertumbuhan, angka konversi makanan yang linggi, juga timbulnya ancaman penyebaran penyakit di dalam kelompok ternak baik di dalam maupun di luar suatu peternakan. Menurut Buddle (1985). bila penyakit ini menyerang peternakan babi, angka kematian dapat mencapai lima prosen dari angka kesakitan yang 40 %. Infeksi oleh *P. multocida* yang terjadi pada babi dapat secara kontak, aerogen atau peroral (Carter, Claus dan Rikihisa, 1986). Pada umumnya pasteurellosis yang terjadi pada babi ini diikuti oleh infeksi *Mycoplasma hyopneumoniae,* sehingga menimbulkan gejala pneumoni yang komplek. Penyakit ini dikenal dengan sebutan *swine pneumoni complex* (Buddle. 1985).

Ternak yang terserang atau hewan penderita merupakan sumber infeksi utama untuk ternak di sekitarnya. Selain itu, pasteurellosis dapat berjangkit dari infeksi laten pada ternak-ternak yang mengalami stres. Faktor stres selain karena adanya perubahan cuaca dan kesalahan manajemen, juga sering berkaitan erat dengan stres akibat perjalanan jarak jauh dari dacrah asal ternak ke rumah potong hewan. Tindakan pengendalian terhadap penyakit pasteurellosis dan semacamnya yang dapat diandalkan adalah tindak pencegahan dengan cara vaksinasi. Berbagai vaksin yang pernah digunakan pada babi adalah bakterin, vaksin alum-precipitated, vaksin oil adjuvant, vaksin hidup, vaksin kombinasi, vaksin *crude cytotoxin.* vaksin ribosomal. vaksin ribosom-lipopolisakarida, P. *multocida* DNT-toksoid.

Agrcsin yang dibuat dari biakan *P. multocida* memberikan perlindungan *pada* sapi yang menerima uji tantang dengan menggunakan galur virulen dari B. *bronchoseptica* yang diinokulasikan lewat mulut. Sapi yang tidak diberi agresin mati semua ketika ditantang dengan tnikroorganisme yang sama (Gochnour, 1924 *dalam* Mosier *et al.*, 1989). Dalam penelitian dengan menggunakan vaksin hidup terhadap septikemik hemoragik, seluruh sapi yang divaksinasi mengalami sakit walaupun tidak sampai mati (Buckley dan Gachenour, 1924 *dalam* Mosier *et al.*, 1989). Vaksinasi dengan menggunakan vaksin hidup dari bakteri I-'. *multocida* ternyata meningkatkan juga respon tanggap kebal yang cukup tinggi terhadap antigen somatik dan ini dapat meningkatkan ketahanan terhadap infeksi tantang yang diberikan. Pemberian vaksin dilakukan dengan cara aerosol, subkutanus dan intradermal (Pancicrra *et al.*, 1984 *dalam* Mosicr *et al.*, 1989). Akan tetapi menurut percobaan yang dilakukan oleh Ringler *et al.*, (1985) dengan menggunakan hewan percobaan kelinci diperoleh data bahwa vaksin ini ridak memberikan perlindungan yang menyeluruh karena masih ditemukan beberapa lesi paru pada kelinci yang divaksinasi dengan vaksin ini. Vaksin hidup yang pernah dicoba pada sapi yang memberikan hasil bahwa vaksin ini tidak memberikan perbedaan yang nyata pada penampilan. tingkat morbiditas dan mortalitas sapi yang divaksinasi dua minggu sebelum pengapalan dibandingkan dengan kontrol. Modifikasi terhadap vaksin hidup pernah juga dibuat untuk meningkatkan daya tahan ternak yang menerima vaksin ini. Percobaan pun pernah dilakukan dengan menggunakan vaksin I-'. *multocida* yang dibiakkan pada media yang mengandung akriflavin hidroklorida dan menggunakan mutan I? *multocida* yang membutuhkan strcplomisin (*streptomycin-dependent* *mutant*). Ternyata vaksin modifikasi ini lebih baik daya perlindungannya dibandingkan dengan bakteri P. *multocida*.

Dengan menggunakan antiserum septikemik hemoragik yang diberikan sebelum pengapalan ternyata dapat mengurangi jumlah sapi yang sakit bila dibandingkan dengan sapi yang tidak menerima antiserum tersebut. Walaupun antiserum ini memberikan efek yang kurang memuaskan juga, namun pada saat itu tetap dianggap lebih efektif (Schipper *et al.,* 1962 *dalam* Mosier *et al.,* 1989).

Rice *et al.* (1955 *dalam* Mosier *et al.,* 1989) pernah menggunakan bakterin P. *multocida* untuk memvaksin sapi sebelum pengapalan. Ternyata tingkat kematian pada sapi yang divaksinasi ini lebih rendah dibandingkan dengan sapi yang tidak divaksinasi.

Vaksin *kombinasi virus-hnkteri* pernah juga dibuat untuk mencegah pasteurellosis. Vaksinasi dua dosis PI_3 inaktif dengan bakteri *P. multocida* menyebabkan peningkatan titer terhadap PI3 dan berkurangnya lesi pada paru bila dibandingkan dengan kelompok kontrol setelah diadakan infcksi tantang dengan memberikan stres dan P. *multocida* dan PI_3 (Matsuoka *et al.*. 1966 *dalam* Mosier *et al,* 1989).

Vaksin terhadap pasteurellosis juga dibuat dari komponen-komponen bakteri. Antigen permukaan mempunyai kemampuan mencegah pneumoni oleh pasteurellosis (Kodama, Matsumoto, dan Snow. 1981). Ekstrak *P. multocida* dengan potasium tiosianat (KSCN) yang diberikan secara subkutan. aerosol dan intramuskular dapat meningkatkan *tingkat pembersihan* bakteri pulmonar *dan* respon aglutinasi, hemaglutinasi, bakterisidal dan antibodi homositotipik (Yates *et al.,* 1983a *dalam* Mosier *et al.,* 1989). Vaksin ini dapat menurunkan kematian, kesakitan dan lesi pulmonar. Ringler *et al.* (1985) *dan* Ryu dan Kaberle (1985) mcmbuktikan bahwa vaksin yang dibuat dari P. *multocida* dengan cara mengekstraksinya dalam KSCN juga telah memberikan kekebalan yang baik pada mencit dan kelinci.

Kapsul *P. multoida* merupakan suatu glikoprotcin yang dapat diekstraksi oleh ion *chaotropic* (Mukkur. 1979). Ion potasium yang terdapat di dalam larutan potasium tiosianat akan niendcnaturasi protein yang menyebabkan adanya perubahan struktur molekul namun tidak memutuskan ikatan peptida yang terdapat pada protein tersebut (Cheftel, Cuq dan Lorient, 1985). Terjadinya denaturasi ini akan menurunkan derajat kelarutan dari protein sehingga setelah dilakukan sentrifugasi protein tersebut dapat dipisahkan dari komponen selaput luar baktcri lainnya (Harper *et nl.,* 1979). Komponen lain di selaput luar yang bersifat antigcnik dapat diambil untuk disiapkan menjadi vaksin.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk melihat potensi dan tingkat keamanan vaksin yang dibuat dari ckstrak kuman *Pasteurella multocida* dalam KSCN. Vaksin ini diharapkan dapat menjadi salah satu vaksin yang digunakan dalam usaha pencegahan pastcurellosis pada babi.

Dalam penelitian ini dikemukakan hipotesis bahwa ckstrak bakteri P. *multocida*. dalarn KSCN dapat memberikan daya perlindungan tcrhadap infeksi tantang dengan baktcri *P. multocida*, tanpa reaksi sampingan yang merugikan.

METODE PENELITIAN

1. Persiapan

1.1. Identifikasi dan **Karakterisasi** *P. multocida*

Isolat P. *multocida* yang diperoleh dari peternakan babi di Kapuk Jakarta Barat dan Gunungsindur Kabupaten Bogor dibiakkan kembali pada agar darah domba 5 % yang kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada koloni kuman yang muncul dilakukan pemeriksaan baku untuk identifikasi dan karakterisasi (Holt, 1984).

1.2. Mempersiapkan Organisme Penantang

Kuman ditumbuhkan pada media tryptose soy agar dengan 5 % darah sapi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Biakan tersebut kemudian dipanen dalam larutan garam fisiologis, disentrifugasi dan diencerkan secara desimal.

Setiap pengenceran disuntikkan ke lima ekor mencit dengan dosis 0,1 ml suspensi bakteri secara intraperitoneal dan diamati selama satu minggu. Kemudian dilakukan pencatatan gejala klinis yang timbul pada mencit untuk mendapatkan MID.

Dosis yang akan digunakan dalam uji tantang adalah 1000 MID_{50} (Bain *et al.*. 1982).

1.3. Hewan Percobaan

Sebagai hewan percobaan dipakai babi umur antara tiga sampai empat bulan yang didatangkan dari peternakan babi di Desa Kemang Parung. Babi yang digunakan untuk hewan percobaan adalah babi yang bebas infeksi P. *multocida.* Pernyataan bebas *P. multocida* ini diadakan setelah pemeriksaan bakteriologik terhadap usapan mukosa dan pemerikaan serologik, keduanya dinyatakan negatif.

2. Pembuatan **Vaksin**

2.1. Propagasi

Dari sediaan *P. multocida* diambil satu koloni yang kemudian ditanamkan pada 5 ml media BHIA (Diffco) dengan 0.5 % ekstrak khamir (Difco) dan 5 % serum sapi steril (BHISY) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama empat jam. Kemudian biakan tersebut ditambahkan 95 ml BHISY dan waktu inkubasi ditambah empat jam lagi (Ringler *et al.*, 1985 dan Ryu dan Kaeberle. 1988).

2.2. Pembuatan Vaksin

Hasil inkubasi terakhir pada tahap propagasi P. *multocida* ditambahkan enam mililiter NaCl 0.08 M dan enam mililiter KSCN 0,5 M. Suspensi tersebut diinkubasi dalam *shaking waterbath* pada suhu 37 °C selama lima jam. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 17.300 x *g* selama 30 menit. Supernatan diambil dan disaring dengan menggunakan filter yang berukuran 0,45 mm. Filtrat didialisis dengan cara menambahkan enam mililiter NaCl 0.32 M buffer tris HCl (pH 8.0) pada suhu empat derajat Celcius selama lima hari. Buffer diganti dua kali sehari.

Untuk mengetahui bahwa KSCN telah hilang dari kantong dialisa. larutan hasil dialisa diperiksa dengan cara mereaksikannya dengan $FeSO_4$. Ion Fe^{++} akan bereaksi dengan ion SCN^- yang akan membentuk warna merah bata. Bila tidak terbentuk warna merah bata berarti di dalam larutan yang diperiksa tidak terdapat senyawa KSCN.

Konsentrasi protein dan karbohidrat dihitung dengan metode yang telah dilakukan oleh Ringler et *al.,* (1985) dan Ryu dan Kaeberle (1986) untuk menentukan dosis vaksin yang akan disuntikkan.

3. Pengamatan Hasil Vaksinasi pada Babi

3;1. **Rancangan Percobaan**

Hewan percobaan dibagi dalam empat kelompok percobaan. Kelompok pertama terdiri dari dua ekor babi. Kelompok ini tidak menerima perlakukan vaksinasi dan uji tantang sehingga kelompok ini dipakai sebagai kelompok kontrol. Seluruh babi dalam kelompok ini dibunuh dan dilakukan bedah bangkai dalam jangka waktu yang sama seperti pada kelompok ketiga.

Kelompok kedua terdiri dari tiga babi. Kelompok ini tidak menerima uji tantang dengan kuman P. *multocida* tetapi menerima vaksinasi dengan ekstrak KSCN. Seluruh babi dalam kelompok ini dibunuh dan dilakukan bedah bangkai dalam jangka waktu yang sama dengan kelompok ketiga.

Kelompok ketiga terdiri dari enam ekor babi. Pada kelompok ini dilakukan vaksinasi dengan ekstrak KSCN secara intramuskular dengan dosis satu miligram per mililiter. Dua minggu setelah vaksinasi. babi dari kelompok ini ditantang dengan kuman P. *multocida.* Dua mingy kemudian babi dalam kelompok ini dibunuh dan dilakukan bedah bangkai.

Kelompok keempat terdiri dari enam ekor babi. Kelompok ini merupakan kelompok yang menerima uji tantang saja, yaitu diinfeksi dengan P. *multocida.* Babi yang mati segera dilakukan bedah bangkai untuk diperiksa adanya perubahan patologis anatomis dan histopatologis dan yang tahan segera dibunuh dalam waktu dua minggu setelah ditantang untuk selanjutnya dilakukan bedah bangkai.

3.2. **Uji Toksisitas**

Tiga ekor babi masing-lasing disuntik ekstrak KSCN dengan dosis 625 mg protein, satu miligram protein dan satu mililiter larutan garam fisiologis. Babi diamati dalam jangka waktu 40 hari.

3.3. **Pengumpulan Sampel** Serum

Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-0 (pada saat diberikan perlakuan), hari ke-5. hari ke-9. hari ke-14. hari ke-19. hari ke-21. hari ke-23 dan hari ke-29. Darah diambil dari vena jugularis kemudian dimasukkan ke dalam botol sampel dan dibiarkan membeku untuk diambil serumnya. Serum ini dipakai untuk mengukur titer antibodi.

3.4. **Pengukuran Titer** Antihodi

Pengukuran titer antibodi dilakukan terhadap sampel serum darah. Pengukuran titer antibodi dilakukan dengan menggunakan teknik ELISA yang dikembangkan olch Balai Penelitian Vetcrincr (BALITVET) Departemen Pcrtanian.

3.5. **Analisis** Statistika

Analisis statistik dilakukan terhadap data yang diperoleh. Penyebaran kelompok yang dicoba diuji terhadap perbedaan nyata dengan menggunakan *uji nonparametrik Kruskal-Wallis* yang tidak membutuhkan asumsi kenormalan dan keragaman yang sama (Steel dan Torric, 1980).

3.6. **Pemeriksaan Patologi**

Terhadap babi yang mati dilakukan bedah bangkai dan dilihat perubahan patologi yang ada. Selain dilakukan pemeriksaan patologis anatomis juga dilakukan pemeriksaan histopatologis.

Organ yang diperiksa antara lain organ paru dan pleura, hati, jantung, limpa, saluran pencernaan, laring, trakhea dan rongga hidung.

3.7. Isolasi Bakteri

Untuk memastikan bahwa perubahan patologis anatomis yang timbul disebabkan oleh bakteri P. *multocida* maka dari bahan nekropsi dilakukan pengisolasian bakteri dari darah jantung, paru, nasofaring dan limfoglandula di daerah sekitar saluran pernafasan. Koloni bakteri diidentifikasikan dengan metode yang baku dan dilakukan inventarisasi bakteri (Ringler et *al.*, 1985).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Bibit Vaksin

Hasil identifikasi dan karakterisasi dari isolat yang berasal dari daerah Kapuk Jakarta Barat menunjukkan sifat-sifat sebagai berikut : tumbuh pada agar darah, membentuk koloni yang relatif kecil. bulat dan tepinya rata, permukaan cembung, warna putih keabu-abuan, tidak membentuk zona hemolisis dan berbau khas seperti bau sperma. Secara mikroskopis dengan menggunakan pewarnaan Gram, bakteri isolat menunjukkan sifat Gram negatif, berbentuk batang ovoid dan bipoler. Dari uji biokimiawi, bakteri tersebut menunjukkan sifat-sifat sebagai berikut: indol positif; menghasilkan katalase, oksidase, urease; mereduksi nitrat; menggunakan pepton; mencairkan gelatin; memfermentasi arabinosa, laktosa, maltosa, manitol, rafinosa, salisin sorbitol, sukrosa, trehalosa, xylosa dan aeskulin (Holt, 1984).

Secara serologis, isolat *P. multocida* ini tergolong serotipe D. Uji biologis yang dilakukan dengan cara inokulasi sebanyak 0,1 ml suspensi bakteri isolat pada hewan percobaan mencit mengakibatkan kematian 24 jam setelah inokulasi. Tanda-tanda pasca mati menunjukkan adanya pembesaran limfoglandula dan pembengkakan hati. Serotipe D merupakan bakteri P. *multocida* yang dominan berada di saluran pernafasan babi dan bakteri yang menyerang babi menghasilkan toksin dermonekrotik yang pada babi secara klinis menyebabkan kemerahan pada kulit. Oleh sebab itu, pasteurellosis pada babi di beberapa daerah disebut dengan nama *penyakit merah*.

2 Evaluasi Vaksin

Sebelum digunakan, produk vaksin tersebut perlu diuji kemurnian, keamanan serta potensinya baik dalam skala laboratorium maupun dalam skala lapangan. Dalam penelitian ini pengujian potensi vaksin hanya dilakukan dalam skala laboratorium.

Pada uji kemurnian vaksin yang dilakukan dengan cara menginokulasikan suspensi produk vaksin pada agar darah dan dieramkan pada suhu 37 ^{o}C selama 24 jam, ternyata tidak ditemukan pertumbuhan koloni bakteri maupun mikroba lainnya pada agar darah. Dengan demikian produk vaksin yang diperiksa dapat dinyatakan murni karena hanya berisi hasil ekstraksi dan tidak disertai pertumbuhan bakteri baik bakteri P. *multocida* maupun bakteri lainnya.

Uji keamanan dilakukan dengan cara menginokulasikan suspensi produk vaksin pada dua ekor hewan percobaan babi dengan dosis masing-masing 625 mg dan satu rniligram protein. Babi ketiga disuntik dengan NaCl fisiologis. Dari hasil uji keamanan ini tidak didapatkan satu ekor babi pun yang menunjukkan gejala menyimpang. Yang dimaksud dengan gejala menyimpang dalam hal ini adalah timbulnya *shock* yang bisa disebabkan oleh endotoksin dan timbulnya warna merah pada kulit yang disebabkan oleh toksin dermonekrotik. yang keduanya dapat dihasilkan oleh P. *multocida* serotipe D. Dari hasil penelitian ini produk vaksin yang dihasilkan berarti sudah aman.

Untuk uji potensi, vaksin dari hasil penelitian ini semula disiapkan untuk 20 ekor babi. Sebelum diadakan uji potensi, tiga ekor babi mati. Dari hasil pemeriksaan patologis anatomis, histopatologis dan bakteriologis dari ketiga ekor babi yang mati tersebut tak seekor pun kematiannya yang disebabkan oleh pasteurellosis. Dari pengamatan tersebut diasumsikan bahwa babi-babi lainnya bebas pasteurellosis dan siap dipakai untuk percobaan uji potensi.

Tujuh belas ekor hewan percobaan babi dibagi dalam empat kelompok perlakuan. Kelompok pertama tidak diberi vaksin maupun uji tantang (dua ekor), kelompok kedua hanya diberi vaksinasi saja (tiga ekor). kelompok ketiga diberi vaksinasi dan uji tantang (enam ekor) dan kelompok keempat hanya diberi uji tantang saja (enam ekor). Hasil kompilasi setelah pengamatan selama 42 hari dapat dibaca pada Tabel 3.

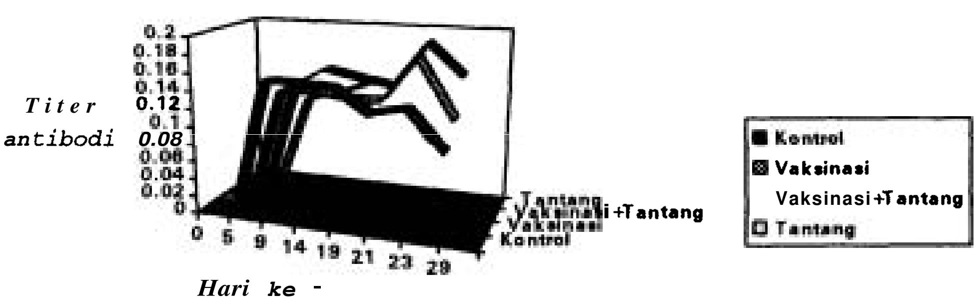
Tabel 1. Hasil Pengamatan Kematian Hewan Setelah 42 Hari pada Kelompok Hewan Penerima Perlakuan

No	Kelompok	Jumlah (ekor)	Hidup (ekor)	Mati (ekor)
1	Tanpa vaksinasi dan uji tantang	2	2	0
2	Divaksin	3	3	0
3	Divaksinasi dan ditantang	6	6	0
4	Ditantang	6	0	6

Dari Tabel 1 dapat dibaca bahwa kelompok kontrol (kelompok pertama) dan kelompok yang divaksinasi baik yang tidak diberi uji tantang (kelompok kedua) maupun yang diberi uji tantang (kelompok ketiga) dapat bertahan hidup, sedangkan kelompok babi yang tidak diberi vaksinasi tetapi tidak diberi uji tantang (kelompok keempat) mati semua. Kematian kelompok keempat ini terjadi secara bertahap, yaitu dua ekor pada hari kedua setelah pemberian dosis tantang dan empat ekor mati pada hari ketiga setelah pemberian dosis tantang

Babi yang digunakan dalam penelitian disyaratkan tidak mempunyai titer antibodi terhadap P. *multocida*. Karena dalam penelitian diharapkan keempat kelompok penelitian yang berbeda memperlihatkan kadar titer antibodi yang berbeda pula. Hari ke-0 (pada saat dilakukan vaksinasi) dan hari kc-5 tidak tcrdeteksi adanya titer antibodi pada semua kelompok pcrcobaan. Diduga belum ada reaksi dari hasil vaksinasi karena biasanya reaksi vaksinasi muncul kurang lebih pada hari ke-10 sampai hari kc-14 (Tizard, 1982). Pada hari kc-9 barulah terlihat adanya antibodi yaitu kelompok kontrol terdeteksi mempunyai titer antibodi yang paling tinggi. Hasil ini merupakan hasil yang tidak diharapkan. Babi pada kclompok kontrol ini kemungkinan *terinfeksi* dan sekaligus mendapatkan vaksinasi secara acrosol. Hal ini mungkin terjadi karena selama pemeliharaan jarak antar kelompok tidak tcrlalu jauh. Dugaan ini muncul karena berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Thompson, Chanter dan Wathes (1992), bahwa *P. multocida* dapat diisolasi kembali dalam waktu yang singkat setelah diinokulasi. Hinga pada hari ke-14, titer antibodi semua kelompok tetap dan pada hari ke-14 ini dilakukan uji tantang untuk kelompok ketiga dan keempat. Pengukuran titer antibodi tidak dilanjutkan lagi untuk kelompok keempat karena pada hari ke-19 seluruh babi dari kelompok ini telah mati semua. Sampai hari ke-21, belum terlihat adanya kenaikan titer antibodi sebagai reaksi terhadap uji tantang. Barulah pada hari ke-23, terlihat adanya kenaikan titer antibodi dari ketiga kelompok tersebut.

Titer antibodi menurun kembali ketika dilakukan pengukuran pada hari ke-29 dan titcr antibodi pada kelompok kontrol (kelompok kesatu) merupakan yang terendah. Fluktuasi titer antibodi seluruh kelompok perlakuan selama penelitian terpapar pada Gambar 1.



Gambar 1. Titer Antibodi dari Scluruh Kclompok Perlakuan

Bcrdasarkan uji statistik dcngan mcnggunakan Uji Nonparametrik Kruskal-Wallis, titcr antibodi kelompok pcrlakuan ini tidak bcrbcda nyata hingga hari kc-21. Barulah pada hari kc-23 dan ke-29 didapatkan pcrbcdaan titcr antibodi yang nyata antara kclompok kontrol. kclompok vaksinasi dan kclompok vaksinasi yang mcncrima uji tantang.

5. **Tanda Penyakit**

Di akhir penelitian. seluruh babi yang masih hidup dieuthanasia dengan menggunakan chloral hydrat 30 % sebagai penenang dan dilanjutkan dengan penyembelihan. Seluruh babi yang mati dan dimatikan dilakukan pemeriksaan bedah bangkai di Laboratorium Patologi FKH - IPB untuk memperoleh diagnosa anatomi dan histologi. Tanda-tanda penyakit yang muncul, baik dalam bentuk klinis, patologis anatomis dan histopatologis, pada kelompok yang menerima perlakuan disarikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Tanda Penyakit yang Diamati pada Hewan Percobaan

Tanda Penyakit	Kelompok			
	Pertama	Kedua	Ketiga	Keempat
Klinis			+	+
Patologis anatomis	+		+	+
Histopatologis	+		+	+

5.1. Klinis

Pada hari ke-15, beberapa ekor babi dan kelompok vaksinasi dan uji tantang dan yang menerima uji tantang saja memperlihatkan gejala sakit berupa menurunnya nafsu makan, melakukan pernafasan perut dengan cepat dan beberapa ekor pada keiompok yang menerima uji tantang saja mngeluarkan lendir dari hidung Lendir yang keluar tersebut diambil dengan menggunakan kapas steril bergagang untuk selanjutnya diperiksa secara mikrobiologis terhadap kemungkinan adanya ekskresi bakteri P. multoctda dari hidung. Ternyata. tidak ditemukan bakteri P. *multocida* dan bakteri yang tumbuh setelah diidentifikasi adalah bakteri Streptococcus sp. dan Proteus sp.. Tanda-tanda klinis ini mengarah kepada penyakit rinitis atropik. Gejala klinis lebih jelas lagi terlihat pada kelompok yang menerima uji tantang saja.

Kelompok penerima vaksinasi dan uji tantang juga memperlihatkan gejala sakit, namun tidak ada yang mati dan dapat bertahan hidup sampai akhir waktu penelitian. Hal yang sama juga terjadi pada kelompok kontrol dan kelompok yang menerima vaksinasi saja. Satu ekor babi dari kelompok yang menerima vaksinasi ditemukan mati pada hari ke-19.

5.2. *Patologis anatomis*

Seluruh babi dari kelompok yang menerima uji tantang saja memperlihatkan perubahan patologis anatomis yang sama berupa dermatitis lokal superfisialis, limfadenitis, udem di daerah ventral leher, trakheitis, laringitis, pleuropneumoni, emfisema pulmonum, pleuritis, perikarditis, epikarditis, hipertrofi ventrikel kanan, dilatasi ventrikel kiri, splenitis, enteritis katarhalis, teflitis, kolitis, sistitis, miositis nekrotikan, gastritis katarhalis dan gangrenosa, degenerasi perenkhimatosa hati, hidronefrosis, sinusitis katarhalis, pneumoni lobuler dan epiglositis.