

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

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

**E.S. PRIBADI, C.S.U PRAMONO, M. PARTADIREDJA, M.B.M. MALOLE<sup>1</sup>**

**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 potasium 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, teftitis, kolitis, sistitis, miositis nekrotikans, gastritis kataralis dan gangrenosa, degenerasi parenkhimatos, 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

<sup>1</sup> 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 menerima vaksinasi, gejala klinis yang terlihat **lebih ringan**. **Perubahan** patologis **anatomis** yang diperoleh dari kelompok ini sama dengan kelompok 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, tephritis, 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 berjangkitnya **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 kompleks. **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 daerah **asal** ternak ke **rumah** potong **hewan**. **Tindakan** pengendalian terhadap **penyakit** pasteurellosis dan **semacamnya** yang dapat diandalkan adalah tindak **pengecahan** 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.

Agresin 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 mikroorganisme yang **sama** (Gochmour, 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 **dibicarakan**. Pemberian vaksin dilakukan dengan **cara** aerosol, subkutanus dan **intradermal** (Pancicra *et al.*, 1984 *dalam* Mosier *et al.*, 1989). Akan tetapi **menurut** percobaan yang dilakukan oleh Ringler *et al.*, (1985) dengan menggunakan **hewan** percobaan kelinci **diproleh** data **bahwa** vaksin ini tidak memberikan perlindungan yang menyeluruh karena masih ditemukan **beberapa lesi** paru **pada** kllinci 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 streptomisin (*streptomycin-dependent*

*mutant*). Ternyata vaksin modifikasi ini lebih baik daya perlingkungannya 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-hnktteri pernah** juga dibuat untuk mencegah pasteurellosis. Vaksinasi **dua dosis PI<sub>3</sub>** inaktif dengan bakteri *P. multocida* menyebabkan **peningkatan** titer terhadap PI<sub>3</sub> dan **berkurangnya** lesi pada **paru** bila dibandingkan dengan **kelompok** kontrol **setelah diadakan** infeksi **tantang** dengan **memberikan** stres dan *P. multocida* dan **PI<sub>3</sub>** (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) membuktikan bahwa vaksin yang dibuat dari *P. multocida* dengan **cara mengekstraksinya** dalam KSCN juga telah memberikan kekebalan yang baik pada mencit dan kelinci.

**Kapsul *P. multocida*** merupakan suatu glikoprotein yang dapat diekstraksi oleh ion **chaotropic** (Mukkur, 1979). Ion **potasium** yang terdapat di dalam **larutan** potasium tiosianat akan **niendnaturasi** 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 **bakteri** lainnya (Harper *et al.*, 1979). Komponen **lain** di selaput luar yang bersifat antigenik dapat **diambil** untuk disiapkan menjadi vaksin.

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

**Dalam penelitian ini dikemukakan hipotesis bahwa** ekstrak bakteri *P. multocida* dalam KSCN dapat **memberikan** daya **perlindungan** terhadap **infeksi tantang** dengan bakteri *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 ujiantang adalah 1000 MID<sub>50</sub> (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 pemeriksaan 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 (Difco) 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<sub>4</sub>. Ion Fe<sup>++</sup> akan bereaksi dengan ion SCN<sup>-</sup> 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 Kacberle (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 perlakuan vaksinasi dan ujiantang 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 ujiantang 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 minggu kemudian babi dalam kelompok ini dibunuh dan dilakukan bedah bangkai.

Kelompok keempat terdiri dari enam ekor babi. Kelompok ini merupakan kelompok yang menerima ujiantang 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-masing 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 oleh Balai Penelitian Veteriner (BALITVET) Departemen Pertanian.

#### 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 nekropsis dilakukan pengisolasian bakteri dari darah jantung, paru, nasofaring dan limfoglandula di daerah sekitar saluran pernafasan. Koloni bakteri diidentifikasi 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 bipolar. 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 °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 miligram 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**

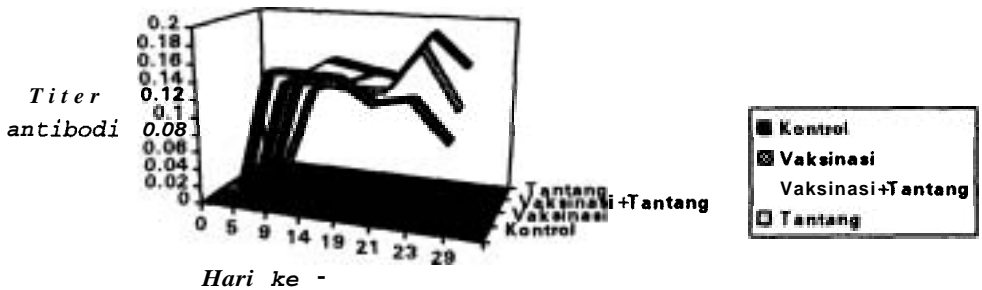
No	Ke l o m p o k	Jumlah (ekor)	Hidup (ekor)	Mati (ekor)
1	Tanpa vaksinasi dan uji tantang	2	2	0
2	Divaksin	3	3	0
3	Divaksinasi dan ditantang	6	6	0
4	Ditantang	6	0	6

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 ke-5 tidak terdeteksi adanya titer antibodi pada semua kelompok percobaan. Diduga belum ada **reaksi** dari **hasil** vaksinasi karena biasanya reaksi vaksinasi muncul kurang lebih pada hari ke-10 sampai hari ke-14 (Tizard, 1982). Pada hari ke-9 **barulah** terlihat adanya antibodi yaitu **kelompok** kontrol terdeteksi mempunyai titer antibodi yang paling tinggi. Hasil ini merupakan **hasil** yang tidak diharapkan. Babi pada **kelompok** kontrol ini **kemungkinan terinfeksi dan sekaligus** mendapatkan vaksinasi secara aerosol. Hal ini **mungkin** terjadi karena **selama pemeliharaan** jarak **antar** kelompok tidak terlalu 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. Hingga 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 titer antibodi pada kelompok kontrol (kelompok kesatu) merupakan yang terendah. **Fluktuasi** titer antibodi seluruh kelompok perlakuan **selama** penelitian terparap pada Gambar 1.



**Gambar 1. Titer Antibodi dari Seluruh Kelompok Perlakuan**

**Berdasarkan** uji statistik **dengan menggunakan Uji** Nonparametrik Kruskal-Wallis, titer antibodi kelompok **perlakuan** ini tidak **berbeda** nyata **hingga** hari ke-21. Barulah pada hari ke-23 dan ke-29 didapatkan **perbedaan** titer antibodi yang **nyata** antara kelompok kontrol, kelompok vaksinasi dan kelompok vaksinasi yang **menerima uji**antang.

## 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 kelompok yang menerima uji tantang saja mengeluarkan lendir dari hidung. Lendir yang keluar tersebut diambil dengan menggunakan kapas steril bergagang untuk selanjutnya diperiksa secara mikrobiologis terhadap kemungkinan adanya ekskresi bakteri *P. multocida* 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, tiflitis, kolitis, sistitis, miositis nekrotikan, gastritis katarhalis dan gangrenosa, degenerasi perengkimatosa hati, hidronefrosis, sinusitis katarhalis, pneumoni lobuler dan epiglositis.