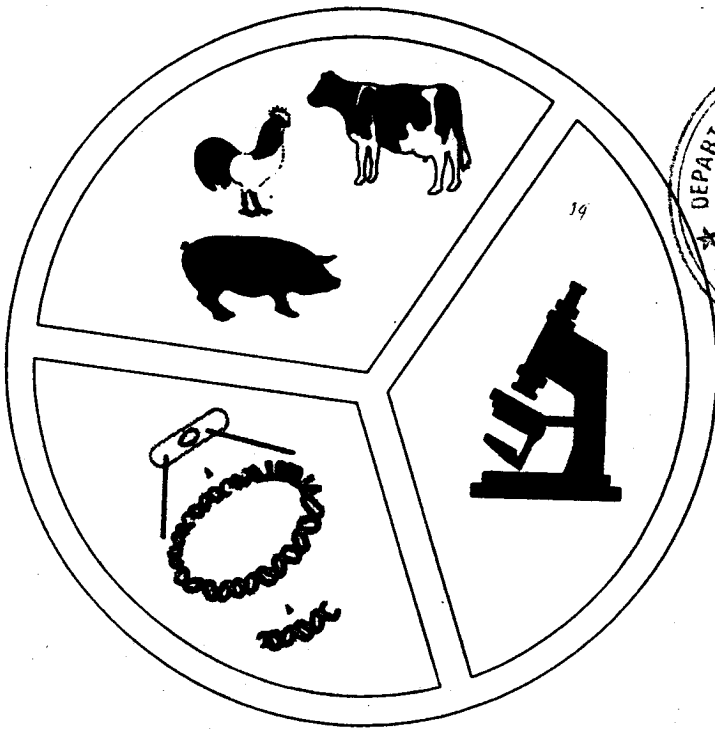
PROSIDING

SEMINAR NASIONAL TEKNOLOGI VETERINER UNTUK MENINGKATKAN KESEHATAN HEWAN DAN PENGAMANAN BAHAN PANGAN ASAL TERNAK

CISARUA, BOGOR 22 -24 MARET 1994



DEPARTEMEN PERTANIAN
59/PP/95
Penelitian
Veterinier
BADAN LITBANG PERTANIAN

BALAI PENELITIAN VETERINER
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
DEPARTEMEN PERTANIAN

BOGOR, 1995

DAFTAR ISI

Halaman

Kata Pengantar i
Materi Arahan Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian xiii

I. MAKALAH UNDANGAN

Pembinaan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak
(*Soehadji*)..... 1
Peranan Pusat Antar Universitas (PAU) - Bioteknologi dalam Menunjang Penelitian Teknologi Veteriner untuk Meningkatkan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak
(*Widya Asmara dan Wayan T. Artama*) 16
Peranan Perguruan Tinggi Dalam Pembinaan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak
(*Emir A. Siregar*) 20
Keterpaduan Penelitian Veteriner Dalam Kegiatan IPTEKVET untuk Menunjang Pembangunan Subsektor Peternakan pada Pelita VI
(*Sjamsul Bahri*) 29
Peluang Kerjasama Antar Swasta Nasional dan Lembaga Penelitian Pemerintah dalam Meningkatkan Upaya Pembinaan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak
(*Tjiptardjo Pronohartono*) 40
Peranan Lembaga Swadaya Masyarakat dalam Meningkatkan Upaya Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak
(*M. Yani*) 47
Peluang Kerjasama Penelitian Bidang Veteriner pada Tingkat Internasional
(*Jan Nari*) 51
The Application of Serological, Biochemical and Moleculer Techniques for The Differentiation of Stocks of *Trypanosoma evansi*
(*Tudor W. Jones*) 56
Validation of Enzyme Linked Immunosorbent Immunoassays in The Diagnosis and Control of *Trypanosoma evansi* in South East Asia
(*A. G. Luckins*)..... 62
The Development of Vaccines for The Control of *Fasciola hepatica* Infection in Ruminants
(*Terry W. Spithill*) 69
Residu dan Cemaran dalam Bahan Pangan Asal Hewan
(*T.B. Murdiati* dan *Sjamsul Bahri*) 74
Application of PCR to The Identification of Sheep Associated MCF Virus (SA-MCF) in Both Natural and Dead End Hosts
(*H.W. Reid* and *S.F. Baxter*) 82

Potensi pemakaian vaksin gomboro inaktif strain lokal pada ayam broiler yang ditantang dengan virus IBD lapang
(*Arini N., Sumpena N.J.* dan *Pudjiastono*) 149

B. Bakteriologi

Diagnosis Enterotoksemia pada Sapi dan Kerbau di Indonesia
(*L.Natalia*) 150
Seroepidemiologi Erysipelas pada Babi di Beberapa Daerah di Indonesia
(*S. Chotiah* dan *Agus Sudibyo*) 154
Studi Retrospektif Laboratorik Antraks di Indonesia 1973–1992
(*M. Bhakti Purwadikarta, S. Hardjoutomo* dan *E. Martindah*) 159
Kloning Molekul DNA Genomik *Escherichia coli* Enterotoksigenik Tipe 987p: Sebuah Kajian Mengenai Pengembangan Vaksin Secara Rekayasa Genetik
(*Kusmiyati, Supar* dan *G.R. Moekti*) 165
Distribusi Infeksi *Escherichia coli* Enterotoksigenik pada Anak Babi di Sumatera Utara dan Prospek Pengendaliannya dengan Vaksin
(*Supar*) 173
Evaluasi Mengenai Spesifisitas Antibodi Monoklonal K99 Terhadap Antigen Perekatan *Escheri coli* Enterotoksigenik
(*Gozali Moekti, Supar* dan *Kusmiati*) 180
Patogenitas kuman *Mycoplasma gallisepticum* pada ayam potong
(*Soeripto, M.B. Poerwadikarta* dan *Z. Layla*) 189
Vaksin Mati *Mycoplasma gallisepticum* untuk Penanggulangan Penyakit Pernafasan Menahun Kompleks pada Ayam
(*Soeripto*) 197
Pereaksi IPB-1 untuk Deteksi Mastitis Sub-klinis
(*Mirnawati S., C.S.Leksmono, D.W. Lukman* dan *M. Fahrudin*) 204
Membandingkan Mutu antara Tuberkulin PPD Bovine Buatan Balitvet Bogor dan Tuberkulin PPD Bovine Buatan CSL Melbourne
(*Suprodjo H.* dan *Agus Nurhadi*) 210
Sensitivitas Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) dalam Diagnosis Leptospirosis pada Manusia
(*M.Darodjat*) 218

C. Parasitologi

Gambaran Zat Anti *Toxoplasma Gondii* pada Kelompok Dokter Hewan di Jakarta
(*C.Kusharyono, W. Cecilia* dan *T. Indrianto*) 219
Potensi Berbagai Penyakit dalam Menurunkan Tingkat Produksi pada Sapi Perah di Kabupaten Sumedang
(*N.Supriatna*) 223
Penyakit pada Hewan Percobaan di Indonesia yang Dipelihara Secara Konvensional
(*Rabea P.J., M. Edhie Sulaksono, Siti Sundari* dan *Subahagio*) 229

DIAGNOSA ENTEROTOKSEMIA PADA SAPI DAN KERBAU DI INDONESIA

LILY NATALIA

Balai Penelitian Veteriner, Bogor

ABSTRAK

Sembilan ekor kerbau di daerah Cimanggu, kotamadya Bogor mati mendadak secara berturut-turut dalam jangka waktu beberapa hari. Setelah diadakan pemeriksaan pasca mati dan histopatologik dari tiga ekor kerbau yang mati, diagnosa diarahkan pada enterotoksemia. Pemeriksaan di laboratorium menguatkan diagnosa enterotoksemia dengan ditemukannya toksin alpha dari *Clostridium perfringens* tipe A dalam jumlah yang cukup tinggi dari berbagai contoh cairan tubuh hewan yang mati. Untuk mempermudah cara diagnosa enterotoksemia, telah juga dikembangkan ELISA untuk mendeteksi alpha toksin dari tubuh hewan yang mati.

ABSTRACT

Nine water buffaloes suddenly died in a period of survival days at Cimanggu, Bogor. Three of these buffaloes showed an acute enterotoxaemia at post mortem and histopathological examinations. *Clostridium perfringens* was isolated at bacteriological examinations which was highly toxigenic. The presence of *Cl. perfringens* in the intestine was highly significant. The toxin of *Cl. perfringens* could be isolated from intestinal and other body fluids. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) has been developed as an alternative test for the detection of alpha toxin of *Clostridium perfringens* in the intestinal contents of animals that have been died from enterotoxaemia.

PENDAHULUAN

Kejadian enterotoksemia pada hewan sapi dan kerbau belum banyak mendapat perhatian di Indonesia. Hal ini mungkin disebabkan karena umumnya penyakit ini bersifat akut, gejala klinis yang tidak tampak nyata, kelainan patologis anatomisnyapun sering tidak tampak jelas serta mudah dikelirukan dengan penyakit lain.

Diagnosa penyakit ini umumnya harus didasarkan atas penemuan adanya toksin penyebab penyakit serta isolasi agen penyakit. Hal ini umumnya masih sulit untuk dilaksanakan karena metoda isolasi toksin yang cukup rumit, dan sampai sekarang hal tersebut belum dapat dilaksanakan oleh laboratorium penyidikan penyakit di daerah. Selain itu, diperlukan juga contoh /spesimen yang segar untuk bahan pemeriksaan (sampel harus berasal dari hewan yang mati kurang dari 18 jam setelah kematian hewan), atau spesimen harus diawetkan dengan glycerin pada suhu rendah.

Kejadian enterotoksemia pada hewan sapi dan kerbau telah kerapkali dilaporkan terjadi di Indonesia dan disebabkan oleh *Clostridium perfringens* (*Cl. perfringens*) tipe A (Worrall dkk., 1987; Natalia dkk., 1989).

Tulisan ini melaporkan ditemukannya kembali kasus enterotoksemia pada kerbau dan juga pengembangan ELISA untuk mendeteksi alpha toksin yang diharapkan dapat mempermudah diagnosa, karena lebih praktis digunakan oleh laboratorium penyidikan penyakit hewan di daerah.

BAHAN DAN CARA

Dalam waktu satu minggu, di Cimanggu, kotamadya Bogor dilaporkan anak kerbau yang mati mendadak secara berurutan sebanyak 8 ekor. Contoh spesimen berupa cairan tubuh hewan (cairan perut, cairan paru-paru, darah hewan) dan usus telah diambil dari 2 ekor hewan yang mati untuk pemeriksaan bakteriologik dan isolasi adanya toksin. Selain itu dilakukan juga pemeriksaan patologis anatomik dan histopatologis dari hewan yang mati tersebut. Berdasarkan keterangan yang diperoleh, anak kerbau

tersebut baru saja disapih dari induknya, dan selanjutnya diberi makanan berupa rumput-rumputan tanpa konsentrat.

Selain itu, ditemukan juga satu ekor kerbau jantan dewasa jatuh dan dipotong paksa. Dari hewan ini juga dilakukan pemeriksaan patologik anatomik dan juga histopatologiknya. Untuk pemeriksaan bakteriologik , diambil cairan tubuh hewan dan ususnya. Berdasarkan keterangan yang diperoleh hewan tersebut baru saja dibeli oleh pemiliknya dan baru ditransportasikan ke tempat yang baru serta hanya diberi makan berupa rumput-rumputan.

Pemeriksaan bakteriologik

Pemeriksaan di laboratorium bakteriologi meliputi : pemeriksaan secara kultural dengan menggunakan media *robertson's cooked meat* yang telah dimodifikasi; lempeng agar darah, dan pemeriksaan mikroskopik (pewarnaan Gram dan *direct fluorescent antibody technique*).

Terhadap bakteri yang ditemukan dan untuk melakukan isolasi toksin dari sampel, dilakukan *typing* dengan uji serum netralisasi menggunakan diagnostik antisera dari tipe A, C dan D (Sterne dan Batty, 1975). Setelah toksin ditemukan dari contoh organ yang dicurigai, potensi kandungan toksinnya diukur pada mencit. Terhadap isi lumen usus juga diperiksa akan adanya toksin dengan cara melakukan filtrasi dan kemudian filtratnya disuntikkan pada mencit secara intravenus. Cucian mukosa usus dibuat dengan menambahkan 2 sampai 3 ml PBS pH 7,4 untuk disuntikkan pada mencit.

ELISA untuk mendeteksi toksin alfa *Cl. perfringens*

ELISA yang digunakan adalah *double sandwich* ELISA dengan mula-mula menggunakan antitoksin yang dihasilkan pada kelinci (dimurnikan dengan amonium sulfat jenuh, EDTA, TRIS pH 8.0) untuk melapis lempeng mikroplat ELISA. Sebagai coating buffer digunakan karbonat buffer pH 9,6. Lempeng yang telah dilapis dibiarkan semalam pada suhu lemari es. Keesokan harinya dilakukan pencucian dengan menggunakan larutan PBS yang mengandung Tween 20 sebanyak 0.05% (PBST). Setelah itu dilakukan blocking dengan menggunakan casein 0,5%, dan dilakukan pencucian lagi dengan PBST sebanyak 3 kali. .

Tahap selanjutnya adalah penambahan sampel (dapat berupa cairan tubuh yang dicurigai mengandung toksin). Digoyang selama 1 jam dalam suhu ruangan. Setelah itu dilakukan pencucian lagi sebanyak 3 kali.

Selanjutnya ditambahkan antitoksin yang dibuat pada sapi dengan enceran 1/200. Digoyang selama 1 jam pada penggoyang dalam suhu ruangan. Dicuci dengan PBST sebanyak 3 kali.

Berikutnya adalah penambahan konjugat yang berupa goat anti bovine IgG (Silenus) dalam enceran 1/3500. Digoyang kembali selama 1 jam. Dicuci dengan PBST sebanyak 3 kali. Yang terakhir adalah penambahan substrat yaitu ABTS.

Pembacaan dilakukan dengan plate reader dengan filter 415 nm.

Tiap kali pengujian harus selalu disertakan kontrol toksin positif, kontrol negatif dan kontrol konjugat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

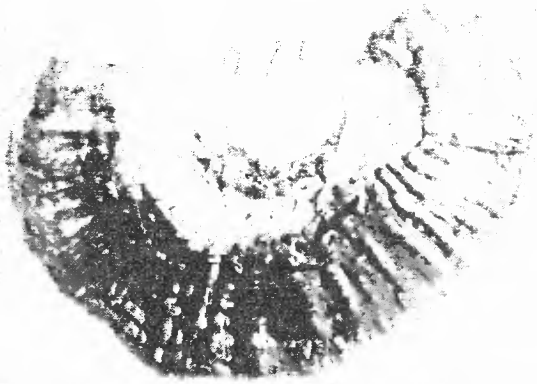
Dari pemeriksaan terhadap hewan kerbau yang mati umumnya diperoleh hasil sebagai berikut:

Terjadi kepucatan dari membran mukosa dengan adanya busa dari mulut dan hidung. Trakhea berisi busa, dan epiglottis sedikit hiperaemis. Pada paru-paru terjadi pembendungan, terisi cairan serofibrinous. Jantung terlihat

agak membesar dengan adanya fibrin di dalamnya. Usus kecil umumnya kosong, hiperaemis dan jelas terlihat perdarahan titik sampai perdarahan yang berupa garis-garis atau juga perdarahan penuh (Gambar 1.)

Mukosa usus terlihat berwarna merah. Caecum dan rectum terlihat hiperaemis dengan titik-titik nekrosa. Pada organ lainnya dapat terlihat perdarahan titik titik tergantung lama perjalanan penyakitnya (akut/perakut/subakut). Terjadi juga pembendungan pada hati.

Pada pemeriksaan histopatologik terlihat bahwa alveoli terisi cairan oedema dengan adanya neutrophil dan fibrin di dinding alveol. Infiltrasi limfosit terdapat pada usus kecil dan pada mukosa terdapat basilus gram positif. Pada usus besar terdapat focal nekrosis di lapisan ototnya dan ada infiltrasi neutrofil, makrofag dan limfosit. Dapat juga terlihat degenerasi sel otot dari usus besar. Pada limpa terlihat adanya hemosiderosis yang berat. Ditemukan juga hipertrofi dari kelenjar getah bening dan bertambahnya jumlah sel reticulo endothelial. Pada ginjal dapat ditemukan degenerasi parenkhim tubuli ginjal, dan pada hati dapat ditemukan degenerasi nekrotik.



Gambar 1. Perubahan patologi anatomis pada usus kerbau terserang penyakit enterotoksemia

Gambar 2. Pemeriksaan *Clostridium perfringens* menggunakan Flourescent antibody technique

Pemeriksaan bakteriologis

Dari pewarnaan gram dapat ditemukan mikroorganisme berbentuk batang, gram positif dan dengan pemeriksaan menggunakan direk FAT dapat dipastikan telah ditemukan bakteri *Clostridium perfringens* (Gambar 2.). Hasil *typing* terhadap bakteri ini menunjukkan bahwa yang ditemukan adalah *Cl. perfringens* tipe A.

Dari contoh spesimen yang masih segar, yaitu dari darah, cairan paru-paru, cairan rongga perut, cucian mukosa usus dan isi usus umumnya dapat dideteksi adanya toksin. Setelah dilakukan pengukuran potensi toksin pada mencit dari berbagai sampel yang berasal dari 3 ekor kerbau yang mati didapat hasil sebagai berikut:

- Isi usus mengandung : 50; 60; 70 MLD mencit/ml
- Cucian mukosa usus mengandung : masing-masing 25 MLD mencit/ml
- Cairan paru-paru mengandung : 25; 20 dan 30 MLD mencit/ml
- Cairan rongga perut mengandung : 40 ; 30 dan 40 MLD mencit/ml.

Darah mengandung: 10, 15 dan 25 MLD ml/ mencit

Dari hasil pemeriksaan yang telah dilakukan di atas dapat disimpulkan bahwa hewan tersebut mati karena enterotoksemia yang disebabkan oleh *Cl. perfringens* tipe A.

Faktor predisposisi bagi terjadinya penyakit tersebut dalam hal ini adalah terjadinya stres dan perubahan pakan yang sangat mendadak. Pada anak-anak kerbau yang baru disapih dan pakannya berubah menjadi rumput-rumputan tanpa pemberian konsentrat akan dapat mempengaruhi jumlah protease yang dihasilkan di dalam lambungnya. Demikian juga bagi kerbau yang baru ditransportasikan dan juga mengalami perubahan pakan yang mendadak. Protease ini dalam keadaan yang normal akan mampu memecah toksin alfa yang dihasilkan oleh *Cl. perfringens* tipe A dan merubahnya menjadi bentuk yang non toksik (Worrall, 1987). Untuk mencegah terjadinya enterotoksemia pada hewan, maka perlu dilakukan vaksinasi dengan menngunakan toksoid terhadap hewan yang beresiko tinggi.

Dari cara diagnosa di atas dirasakan adanya kesulitan dalam cara diagnosa karena ternyata memerlukan hewan percobaan yang cukup banyak, memerlukan berbagai diagnostik anti-sera dan memerlukan keterampilan khusus agar "typing" dan isolasi toksin dapat berjalan dengan baik dan benar. Hal ini ternyata masih dirasakan sulit bagi laboratorium di daerah. Untuk itu telah diupayakan penggunaan ELISA sebagai salah satu cara untuk diagnosa enterotoksemia. Diharapkan ELISA ini dapat dikembangkan lebih lanjut sehingga dapat mendeteksi semua toksin (alfa, beta dan epsilon) dari *Cl. perfringens*. Tetapi karena selama ini di Indonesia penyebab Enterotoksemia pada sapi dan kerbau yang utama adalah *Cl. perfringens* tipe A (Worrall dkk., 1987; Natalia dkk., 1989), maka yang pertama-tama dikembangkan adalah ELISA untuk mendeteksi toksin alfa yang dihasilkan oleh *Cl. perfringens* tipe A.

ELISA dengan cara yang telah disebutkan di atas sampai saat ini masih terus dikembangkan dan hasilnya cukup memuaskan. Pembacaan hasilnya pun dapat dilakukan dengan tanpa menggunakan "plate reader" karena ada perbedaan warna yang cukup jelas dan dapat dilihat dengan pembacaan oleh mata biasa.

Dengan telah dikembangkannya metoda diagnosa dengan menggunakan ELISA, diharapkan diagnosa enterotoksemia dapat dilakukan dengan lebih cepat dan mudah dilakukan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih atas segala bantuan yang telah diberikan kepada kami tujukan kepada Dr. Ng Ginting. Kepada M. Syafarudin dan Abdurahman yang telah berusaha membantu mengerjakan penelitian ini kami ucapkan juga terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

Martin, P.K., R.D. Naylor, R.T. Sharpe. 1988. Detection of *Clostridium perfringens* beta toksin by enzyme-linked immunosorbent assay. *Res. in. Vet. Sci.* 44:270-271.

Natalia, L. dan M. Syafarudin. 1988. Pengamatan terhadap penyebab terjadinya enterotoksemia pada kerbau di Sukabumi, Jawa Barat. *Penyakit Hewan* 20 (35):13-15.

Natalia, L., dan M. Syafarudin dan S. Hardjoutomo. 1989. Enterotoksemia pada sapi impor di Banjarmasin, Kalimantan Selatan. *Penyakit Hewan* 21 (38):107-110.

Naylor, R.D., P.K. Martin, R.T. Sharpe. 1987. Detection of Clostridium perfringens epsilon toxin by ELISA. *Res. in Vet. Sci.* 42:255-256.

Sterne, M., I. Batty. 1975. Pathogenic Clostridia. Butterworth and Company, London.

Worrall, E.E., LL. Natalia, P. Ronohardjo, Tarmuji, S. Partoutomo. 1987. Enterotoxaemia in Water Buffaloes caused by *Clostridium perfringens* type A. *Penyakit Hewan* 19 (33):17- 19.