

PENGEMBANGAN VAKSIN KHOLERA UNGGAS: II. PATOGENITAS DAN DAYA PROTEKSI VAKSIN *PASTEURELLA MULTOCIDA* ISOLAT LOKAL PADA ITIK PERCOBAAN

SUPAR, YUDI SETIADI, DJAENURI, NINA KURNIASIH, B. POERWADIKARTA, dan SJAFEL

Balai Penelitian Veteriner
Jalan R.E. Martadinata No. 30, P.O. Box 151, Bogor 16114, Indonesia

(Diterima dewan redaksi 21 Nopember 2000)

ABSTRACT

SUPAR, YUDI SETIADI, DJAENURI, NINA KURNIASIH, B. POERWADIKARTA, and SJAFEL. 2001. The development of fowl cholera vaccine: II. Pathogenicity and vaccine protection of *Pasteurella multocida* local isolates in experimental ducks. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 6(2):120-125.

Pasteurellosis or fowl cholera in ducks occurs sporadically along the year in many high duck population areas of Java and other parts of Indonesia. Some isolates of *Pasteurella multocida* from ducks and chicken are kept at the BALITVET culture collection. The aims of this research were to evaluate the pathogenicity of local isolates and imported strains of *P. multocida* and to study the pasteurellosis local isolate vaccine and protection assay in ducks. Two imported strains of *P. multocida* (BCC 1359, BCC 1362) and 6 local isolates (BCC 299, BCC 2331, DY1, DY2, 12TG, 15TG) were used in this study. In the pathogenicity assays the imported strains and local isolates were activated in mice and in duct and then in brain hearth infusion broth containing 5% normal sheep serum. Each of broth culture was diluted, each dilution (10^2 and 10^4) of strains or isolates was injected intraperitoneally into a group of normal ducks. Antigen for vaccine, each was produced in sheep blood (5%) agar. Cells were harvested and killed with 0.1% formalin. Monovalent, bivalent, and polyvalent vaccines were prepared, at concentration equal to the Macfarland standard tube No 10, and each was adjuvanted with alhydrogel at final concentration of 1.5%. Each vaccine type was injected into a group of 10 week old ducks (8 animals per group), with 0.2 ml/injection. Four weeks later each animal in group were boosted with the same vaccine, dose, route as the previous injection. Before vaccination each animal was bleed through wing vena, then every two weeks, serum was collected and stored at -20°C . Two weeks after boosted, three days after the last blood sample collection, half animal of each group were challenged intraperitonelly with the BCC 2331 and half with DY2 live broth culture. The pathogenicity assays showed the only BCC 2331 and DY2 killed the experimental ducks, the other did not. The animals vaccinated with either BCC 2331, DY2 or bivalent (BCC 2331+DY2) vaccines were protected with either life bacterial challenged of either BCC 2331 or DY2 local isolates. It is likely, *P. multocida* BCC 2331 and DY2 isolates can be used for pasteurellosis candidate vaccine used in Indonesia, but it still needs more studies in the immunological of protective antigens.

Key words: *Pasteurella multocida*, fowl cholera, ducks, vaccine, protection

ABSTRAK

SUPAR, YUDI SETIADI, DJAENURI, NINA KURNIASIH, B. POERWADIKARTA, dan SJAFEL. 2001. Pengembangan vaksin kholera unggas: II. Patogenitas dan daya proteksi vaksin *Pasteurella multocida* isolat lokal pada itik percobaan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 6(2):120-125.

Pasteurellosis pada itik terjadi secara sporadis sepanjang tahun di daerah-daerah pengembangan itik di pulau Jawa dan daerah lain. Beberapa isolat *Pasteurella multocida* yang dapat diisolasi dari itik dan ayam disimpan pada unit BALITVET culture collection. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui sifat patogenitas *P. multocida* isolat lokal dan galur impor pada itik, pembuatan vaksin isolat lokal, dan uji proteksi vaksin pada itik. Dua galur acuan impor (BCC 1359 dan BCC 1362) dan 6 isolat lokal (BCC 299, BCC 2331, DY1, DY2, 12TG, 15TG) dipakai dalam penelitian ini. Dalam uji patogenitas bakteri diaktifkan pada hewan percobaan mencit dan itik dan ditumbuhkan secara *in vitro* pada media *brain hearth infusium* (BHI) + serum domba normal. Tiap isolat atau galur diinjeksikan pada kelompok itik (10 ekor/kelompok). Itik yang mati akibat suntikan, bakteri dilakukan reisolasi dan reidentifikasi. Pengamatan dihentikan sampai itik suntikan tidak ada yang mati. Antigen untuk vaksin dibuat dari sel yang ditumbuhkan secara *in vitro* pada media agar darah domba 5%, sel dimatikan dengan formalin 0,1%. Vaksin monovalen, bivalen, dan polivalen dibuat dari galur impor dan isolat lokal dan diemulsikan dalam alhidrogel pada konsentrasi akhir 1,5% dan konsentrasi sel setara dengan kekeruhan tabung MacFarland No 10. Tiap kelompok itik percobaan vaksin diinjeksi 1 jenis vaksin, dosis 0,2 ml, aplikasi subkutan. Empat minggu berikutnya itik diinjeksi vaksin *booster* dengan dosis dan rute yang sama seperti sebelumnya. Dua minggu setelah vaksin *booster*, separoh kelompok itik yang divaksin ditantang dengan isolat *P. multocida* (BCC 2331) dan separoh yang lain dengan isolat DY2. Darah itik sebelumnya divaksinasi diambil 1 ml per ekor, selanjutnya setiap minggu, serum dipisahkan dan disimpan pada suhu (-20°C) sampai saat uji serologik dilakukan. Dalam uji patogenitas isolat lokal BCC 2331 dan DY2 dapat membunuh itik percobaan berturut-turut dalam waktu 4 hari dan 7 hari.

Isolat yang lain dan galur impor tidak membunuh itik. Hasil uji proteksi pada itik yang diinjeksi vaksin monovalen terhadap isolat lokal patogen menunjukkan adanya proteksi (67%) pada kelompok itik divaksin dengan antigen inaktif BCC 2331 dan DY2 ditantang dengan galur homolog. Kelompok itik yang diinjeksi vaksin dari isolat lokal yang lain dan galur impor tidak ada terproteksi terhadap uji tantang isolat BCC 2331 dan atau DY2. Proteksi silang hanya terjadi pada kelompok itik diinjeksi vaksin BCC 2331 atau DY2 (33-67%). Vaksin bivalen (BCC 2331 dan DY2) terproteksi 67% terhadap BCC 2331 atau DY2. Pada kelompok vaksin bivalen yang lain (lokal dan impor) tidak ada proteksi. Pada kelompok vaksin polivalen proteksi hanya 25-30%. Dari percobaan ini disimpulkan hanya vaksin isolat lokal BCC 2331 dan DY2 yang memberikan proteksi, baik dalam bentuk monovalen dan bivalen. Kedua isolat lokal tersebut dapat dijadikan kandidat vaksin untuk itik, namun masih perlu penelitian lebih lanjut pada jumlah hewan yang lebih banyak dan pemeriksaan imuno proteksi.

Kata kunci: *Pasteurella multocida*, fowl cholera, ducks, vaccine, protection

PENDAHULUAN

Industri perunggasan di Indonesia mengalami pasang surut dalam dua dekade terakhir ini (DIRJENAK, 1990). Berbagai kendala wabah penyakit masih merupakan masalah yang perlu diatasi. Salah satu penyakit unggas yang mempunyai nilai ekonomis ialah pasteurelosis, *fowl cholera* atau kholera unggas. Penyakit ini menyerang itik dan ayam dengan prevalensi sekitar 30-50%, pada kejadian wabah akut dapat mencapai 60-80% (POERNOMO, 1980; RHOADES dan RIMLER, 1990; SINURAT *et al.*, 1992).

Kholera unggas yang disebabkan oleh infeksi *Pasteurella multocida* dikenal sejak lebih seratus tahun yang lampau. Pertama kali dilaporkan terjadi wabah menyerang ayam di negara-negara di Eropa tahun 1728 dan di Amerika Serikat tahun 1867 (LAYTON, 1984). Semua serogroup *P. multocida*, kecuali group E dapat diisolasi dari berbagai jenis unggas (RHOADES *et al.*, 1989), akan tetapi yang sering menginfeksi dan menimbulkan penyakit pasteurelosis pada unggas ialah serogroup A (RIMLER dan RHOADES, 1987). Manifestasi gejala klinis akibat infeksi *P. multocida* pada unggas yang akut ialah septicemia dengan koagulasi darah intravaskular, hemoragik petechial, multivokal hepatik, splenik nekrosis, dan fibrinous pneumonia. Infeksi yang bersifat kronis pada itik menunjukkan adanya lokalisasi fibrino purulen (nanah) atau nekrosis pada beberapa bagian organ diantaranya di daerah kepala/sinus hidung, kantong hawa, paru, jengger, telapak kaki, tulang, dan persendian. Dari unggas dengan gejala klinis kronis tersebut dapat diisolasi *P. multocida* (SUPAR *et al.*, 2000).

Sejak penemuan bakteri tersebut banyak dilakukan penelitian pembuatan vaksin untuk pengendalian penyakit, terutama pada kalkun. Pada awalnya vaksin dibuat dalam bentuk aktif (hidup) dari galur yang non virulen (AVIKIAN *et al.*, 1989), namun kejadian kholera pada unggas masih terdapat dimana-mana, termasuk di Indonesia (POERNOMO, 1980; SUPAR *et al.*, 2000), walaupun antibiotik dan vaksin telah diteliti dan dipakai pada peternakan unggas. Mekanisme ketidak sesuaian antara vaksin dan permasalahan pasteurelosis tidak diketahui, sampai saat ini kholera unggas menyebabkan

kerugian ekonomi pada usaha peternakan ayam atau itik.

Dalam penelitian vaksin *P. multocida* untuk itik di Indonesia dilaporkan bahwa vaksin pasteurelosis otogenes inaktif dapat melindungi itik yang terserang wabah pada kondisi lapang (SJAMSUDIN, 1980). Penelitian di luar negeri diketahui bahwa vaksin pasteurelosis yang dibuat dalam bentuk mati dari bakteri yang ditumbuhkan secara *in vitro* di bawah kondisi laboratorium tidak dapat memberikan proteksi silang terhadap uji tantang galur yang heterolog. Sementara itu, vaksin hidup *P. multocida* dari galur patogen yang dilemahkan dapat memberikan proteksi silang terhadap uji tantang galur yang heterolog (RIMLER dan RHOADES, 1987). Dengan demikian terdapat faktor antigen protektif yang terbentuk secara *in vivo*. Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa vaksin yang dapat memberikan proteksi silang apabila bakteri dipropagasi atau diinokulasikan ke dalam tubuh kalkun atau ayam. Apabila ayam/unggas tersebut diberi pengobatan antibiotika secara sistemik, respon proteksi silang dari vaksin hidup *P. multocida*, respon yang diekspresikan dalam respon antibodi yang terbentuk sangat rendah (HEDDLESTON dan REBERS, 1972; DERIEUX, 1977).

Dewasa ini Balai Penelitian Veteriner (BALITVET) mempunyai banyak isolat *P. multocida* yang disimpan pada unit BALITVET *culture collection* (BCC), isolat-isolat tersebut diisolasi dari ayam, itik, dan tukar menukar antar institusi sejenis dari luar negeri. Plasma nutfah veteriner tersebut dapat dikembangkan dalam pembuatan produk biologik vaksin, untuk pengendalian penyakit kholera itik di lapangan. Tujuan penelitian ini ialah untuk mendapatkan data patogenitas atau keganasan isolat *P. multocida* pada itik, membuat vaksin isolat lokal monovalen, bivalen, dan polivalen, serta mengetahui sifat proteksinya pada itik.

MATERI DAN METODE

Isolat bakteri yang dipakai

Isolat *P. multocida* yang akan diteliti ialah isolat hasil identifikasi fenotipik dan uji patogenitas pada mencit dan ayam (BCC 299, BCC 2331, DY1, DY2,

12TG, 15TG) dan galur impor (BCC 1359 dan BCC 1362). Bakteri diaktifkan dengan menyuntikan pada mencit, dan itik, bakteri diisolasi kembali dari darah jantung atau cairan perikardium, ditaruh dalam gliserin dan disimpan pada suhu -20°C , disubkultur pada media *brain hearth infusion* (BHI) ditambah serum domba normal. Cara penyiapan inokulum seperti pada uji patogenitas pada mencit dan ayam, kultur diencerkan 10^{-2} - 10^{-6} (SUPAR *et al.*, 2000). Inokulum untuk uji patogenitas itik ialah enceran kultur 10^{-2} dan 10^{-4} . Bakteri yang diasingkan dari cairan perikardium dan dari darah jantung untuk pembuatan antigen untuk vaksin dan untuk uji tantangan.

Itik percobaan

Anak itik sebanyak 350 ekor umur 2 hari (DOD) dibeli dari tempat penetasan itik di daerah Cirebon. Setelah sampai BALITVET, umur 5 hari divaksin ND secara tetes mata, dan di *booster* empat minggu berikutnya. Setelah vaksinasi dan diberi jamu godok (Cap Timbangan), untuk menambah napsu makan pada umur 10 minggu dikelompokkan masing-masing 10 ekor/kelompok sebanyak 8 kelompok, diusahakan besarnya seragam. Untuk uji vaksin diperlukan 14 kelompok masing-masing 8 ekor.

Uji patogenitas isolat *P. multocida* pada itik

Untuk uji patogenitas 6 isolat lokal, dan 2 galur impor dibutuhkan 8 kelompok itik, masing-masing 10 ekor per kelompok, tiap kelompok dibagi menjadi 2 subkelompok masing-masing 5 ekor. Setiap sub kelompok diinjeksi suspensi enceran 10^{-2} dan 10^{-4} secara intraperitoneal dengan dosis 0,1 ml per ekor. Setiap sub kelompok dipelihara dalam satu kotak, diamati terjadinya kematian itik selama 2 minggu, dengan asumsi bila bakteri yang diuji patogen dalam periode waktu tersebut hewan suntikan sudah mati. Hewan yang mati diautopsi, sampel darah jantung/cairan pericardium diambil untuk reisolasi dan reidentifikasi bakteri *P. multocida*.

Pembuatan antigen *P. multocida* untuk vaksin

Isolat atau galur dari pengaktifan dan uji patogenitas tersebut di atas dipakai untuk produksi antigen untuk vaksin ialah (BCC 299, BCC 2331, DY1, DY2, 12TG, 15TG) dan galur impor (BCC 1359 dan BCC 1362). Untuk menumbuhkan bakteri tersebut secara singkat sebagai berikut: Isolat ditumbuhkan pada media cair *brain heart infsion* (BHI), diinkubasikan didalam inkubator pada suhu 37°C selama satu malam (16 jam). Kemudian kultur cair tersebut diinokulasikan pada media agar darah 5% (darah domba) yang disiapkan pada cawan petri (tiap isolat 10 media agar darah).

Media agar darah yang sudah diinokulasi diinkubasikan seperti sebelumnya. Bakteri yang tumbuh pada permukaan agar dibilas dengan larutan NaCl (5 ml per cawan) yang mengandung formalin 0,1%. Suspensi sel dari 10 cawan disimpan dalam botol dan disimpan di dalam lemari es selama satu malam. Suspensi sel disentrifugasi pada kecepatan 8.000 rpm suhu 4°C selama 15 menit. Supernatan dibuang, endapan sel (pelet sel) dicuci dengan NaCl fisiologis steril 2 kali, sel diperoleh kembali dengan sentrifugasi seperti sebelumnya. Perlakuan ini untuk menghilangkan formalin dan sisa-sisa media. Endapan sel terakhir dilarutkan dalam larutan garam NaCl non pyrogenik steril sebanyak 1/5 dari larutan aslinya. Suspensi sel terakhir yang diperoleh disimpan dalam lemari es (sebagai sel stok) untuk vaksin.

Vaksin monovalen

Vaksin monovalen dibuat sebanyak 8 macam (BCC 299, BCC 2331, DY1, DY2, 12TG, 15TG) dan galur impor (BCC 1359 dan BCC 1362). Konsentrasi sel terakhir dalam vaksin setara dengan kekeruhan tabung standard MacFarland No 10. pada kondisi hidup, konsentrasi ini kira-kira setara dengan 4×10^9 sel per ml. Vaksin dibuat dari sel stok yang disiapkan di atas sebanyak 10 ml, mengacu pada banyaknya volume sel stok yang dipakai untuk penentuan konsentrasi sel tersebut di atas. Sejumlah volume sel stok tersebut diemulsikan dalam aluminium hidroxidgel (Merk 1088) dengan konsentrasi akhir 1,5% dan kandungan sel bakteri *P. multocida* setara dengan tabung MacFarland No 10. Setelah dicampur dengan alat magnetik *stirrer* selama 2 jam, diperiksa sterilitasnya dan selanjutnya disimpan di dalam lemari es sampai saatnya untuk dipakai.

Vaksin bivalen galur impor

Cara pembuatan vaksin bivalen seperti pada pembuatan monovalen. Dalam vaksin bivalen mengandung 2 komponen antigen galur acuan impor BCC 1359 dan BCC 1362. Konsentrasi sel dari kedua jenis antigen disetarakan dengan tabung Macfarland No 10.

Vaksin bivalen isolat lokal

Terdiri 3 macam kombinasi (BCC 2331 + DY2), (BCC 299 + DY1) dan (12TG dan 15TG). Cara pembuatannya seperti di atas.

Vaksin polivalen isolat lokal

Satu macam vaksin polivalen terdiri 6 isolat lokal BCC 299, BCC 2331, DY1, DY2, 12TG, dan 15TG. Pembuatannya mengacu pada perhitungan kekeruhan

sel pada vaksin monovalen. Masing-masing komponen antigen dicampur, sehingga campuran sel tersebut mengandung proporsi sel yang sama dari tiap komponen antigen. Setelah itu dibuat vaksin menurut keperluan untuk volume 20 ml dan diemulsikan dalam aluminium hidroksidgel pada konsentrasi akhir 1,5%.

Uji vaksin pada itik dan ujiantang

Setiap vaksin monovalen dan bivalen diinjeksikan pada satu kelompok itik terdiri dari 8 ekor, setiap kelompok dipelihara dalam satu petak kandang. Menjelang ditantang setiap kelompok yang divaksin dengan satu jenis vaksin dibagi menjadi 2 sub kelompok kelompok 4 ekor, satu sub kelompok ditantang dengan isolat lokal BCC 2331, sub kelompok yang lain ditantang DY2 pada enceran kultur bakteri umur 18 jam 10^{-4} , dosis 0,1 ml secara subkutan. Alokasi pemakaian hewan percobaan vaksin ialah 8 kelompok untuk vaksin monovalen, 3 kelompok untuk vaksin bivalen isolat lokal, 1 kelompok untuk bivalen galur impor, 1 kelompok vaksin polivalen, dan 1 kelompok kontrol tidak divaksin.

Cara vaksinasi

Anak itik umur 10 minggu yang dialokasikan untuk uji vaksin dikelompokkan masing-masing 8 ekor per kelompok, disimpan dalam kotak kandang terpisah. Sebelum itik divaksin darah diambil melalui vena sayap sebanyak 1 ml dan selanjutnya setiap selang waktu 2 minggu. Serum dipisahkan dan disimpan pada suhu -20°C sampai saatnya uji serologik dilakukan.

Tiga hari setelah darah diambil, tiap ekor itik dalam kelompok diinjeksi vaksin monovalen, bivalen atau polivalen, dilakukan pada tanggal 4 Januari 2000. Dosis 0,2 ml, aplikasi secara subkutan. Satu kelompok tidak divaksin untuk kontrol. Empat minggu berikutnya (31

Januari 2000) darah diambil seperti sebelumnya dan setelah itu diinjeksi vaksin *booster*, dosis, dan aplikasi seperti sebelumnya. Dua minggu setelah pemberian vaksin *booster* darah diambil (tanggal 17 Februari 2000).

Uji tantang

Tiga hari sesudah itik diambil darah terakhir. Tiap kelompok itik atau ayam di bagi menjadi dua sub kelompok dan dikandangkan dalam kotak kandang yang terpisah. Satu sub kelompok ditantang dengan galur lokal patogen BCC 2331 dan sub kelompok yang lain ditantang dengan isolat DY2. Dalam periode vaksinasi pertama sampai saat injeksi vaksin *booster* terjadi pengurangan jumlah itik (akibat dimakan/diserang tikus liar), sehingga jumlah itik dalam sub kelompok ada yang kurang dari 4 ekor.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji patogenitas beberapa isolat lokal *P. multocida* secara ringkas dapat dilihat pada Tabel 1. Pengamatan sampai pada hari ke-8 pasca inokulasi menunjukkan bahwa pada perlakuan galur impor BCC 1362 hanya menunjukkan kematian satu ekor itik (20%) pada tiap pengenceran pada hari ke-5, untuk galur impor BCC 1359 mati 1 ekor pada hari ke-10 (Data tidak ditunjukkan dalam Tabel 1). Galur acuan *P. multocida* BCC 1359 termasuk serogroup A serotipe 1 dan galur acuan BCC 1362 termasuk serogroup A serotipe 6 dalam klasifikasi HEDDLETSON (HEDDLETSON dan REBERS, 1978), sampai pengamatan dihentikan, 2 minggu pascainokulasi pada kelompok itik tersebut tidak ada yang mati. Namun peneliti lain melaporkan bahwa *P. multocida* serogroup A 1 dapat menimbulkan pasteurelosis pada unggas (RIMLER dan RHOADES, 1987).

Tabel 1. Uji patogenitas *P. multocida* galur impor dan isolat lokal pada itik

Nomor galur/isolat	Level enceran	Banyak itik mati sesudah injeksi <i>P. multocida</i> hari							
		ke-1	ke-2	ke-3	ke-4	ke-5	ke-6	ke-7	ke-8
BCC 1359	10^{-2}	0	0	0	0	0	0	0	0
	10^{-4}	0	0	0	0	0	0	0	0
BCC 1362	10^{-2}	0	0	0	0	1	0	0	0
	10^{-4}	0	0	0	0	1	0	0	0
BCC 299	10^{-2}	0	0	0	1	0	0	0	0
	10^{-4}	0	0	0	0	1	1	0	0
BCC 2331	10^{-2}	3	2	-					
	10^{-4}	0	1	1	3	-			
DY1	10^{-2}	0	0	0	0	0	0	0	0
	10^{-4}	0	0	0	0	0	0	0	0
DY2	10^{-2}	0	0	0	0	2	2	1	-
	10^{-4}	0	0	0	4	0	1	-	
12TG	10^{-2}	0	0	0	0	0	0	0	0
	10^{-4}	0	0	0	0	0	0	0	0
15TG	10^{-2}	0	0	0	0	0	0	0	0
	10^{-4}	0	0	0	0	0	0	0	1

Perlakuan isolat lokal BCC 299 pada enceran 10^{-2} hari ke-4 mati 1 ekor (20%) dan pada enceran 10^{-4} sampai hari ke-5 mati 1 ekor, hari ke-6 mati 1 ekor (kematian seluruhnya 40%). Pada perlakuan isolat DY1 pada enceran 10^{-2} dan 10^{-4} tidak ada yang mati. Dari 2 isolat dari Jawa Tengah yang diuji 1 isolat (15TG) pada enceran 10^{-4} mati 1 ekor (20%) sampai pada hari ke-8, isolat 12 TG tidak ada yang mati.

Isolat lokal BCC 2331 sangat patogenik semua itik mati (100%) pada semua enceran sampai hari ke-4. Pada perlakuan isolat DY2 menunjukkan kematian 2 ekor (40%) hari ke-5, 2 ekor hari ke-6 mati, dan 1 ekor pada hari ke-7 pada perlakuan enceran kultur bakteri penantang 10^{-2} semua itik mati, sedangkan pada enceran 10^{-4} semua itik mati sampai hari ke-8 (100%). Kedua isolat yang menunjukkan sifat yang sangat patogen, akan dipakai untuk uji proteksi vaksin isolat lokal.

Dari percobaan ini menunjukkan bahwa *P. multocida* isolat lokal lebih patogen dibandingkan galur impor, isolat BCC 2331 paling patogen disusul urutan kedua isolat DY2. Berdasar hasil uji patogenitas kedua

isolat tersebut mirip dengan hasil percobaan pada mencit dan ayam (SUPAR *et al.*, 2000).

Hasil uji daya proteksi vaksin *P. multocida* monovalen, bivalen, dan polivalen pada itik terhadap uji tantang dengan isolat lokal dapat dilihat pada Tabel 2. Dari data yang sangat minim dapat diinterpretasikan tidak terjadi proteksi silang. Pada perlakuan vaksin BCC 2331 dan DY2 pada uji tantang dengan isolat homolog terdapat proteksi 67%. Untuk jenis vaksin monovalen yang lain baik isolat lokal ataupun galur impor tidak menunjukkan adanya proteksi. Itik yang ditantang mati dalam waktu 1-2 hari pasca tantang, seperti halnya pada kelompok itik kontrol yang tidak divaksin. Hasil tersebut mirip dengan penelitian sebelumnya yang dilaporkan oleh HEDDLETSON dan REBERS (1972) dan BROGDEN dan RIMLER (1982), pada penggunaan vaksin inaktif. Akan tetapi pada vaksin yang dibuat dari isolat BCC 2331 dan DY2 terjadi proteksi silang 33-67%. Namun hasil tersebut mungkin masih sangat bias, hanya dengan hewan perlakuan yang sangat sedikit.

Tabel 2. Hasil uji proteksi vaksin pasteurelosis mono, bivalen, dan polivalen terhadap uji tantang galur lokal patogen pada itik

Jenis vaksin pasteurelosis	Alokasi itik percobaan		Daya proteksi vaksin terhadap tantangan BCC 2331		Daya proteksi vaksin terhadap tantangan isolat DY2	
	Jumlah itik divaksin	Jumlah itik ditantang	Banyaknya itik ditantang dengan BCC 2331	Proteksi terhadap tantangan BCC 2331 (%)	Banyaknya itik ditantang dengan DY2	Proteksi terhadap tantangan DY2 (%)
Monovalen:						
1. BCC 299	8	6	3	0 (0)	3	0 (0)
2. BCC 2331	8	6	3	2 (67)	3	1 (33)
3. DY1	8	7	3	0 (0)	4	1 (25)
4. DY2	8	6	3	2 (67)	3	2 (67)
5.12TG	8	6	3	0 (0)	3	0 (0)
6.15TG	8	4	2	0 (0)	2	0 (0)
7.Impor 1359	8	7	3	0 (0)	4	4 (0)
8.Impor 1362	8	8	4	0 (0)	4	4 (0)
Bivalen impor:						
1359 dan 1362	8	8	4	0 (0)	4	4 (0)
Bivalen lokal:						
BCC 2331 dan DY2,	8	6	3	2 (67)	3	2 (67)
BCC 299 dan DY1,	8	6	3	0 (0)	3	0 (0)
12TG dan 15TG,	8	6	3	0 (0)	3	0 (0)
Polivalen:						
(BCC 299, 2331, DY1, DY2, 12TG, 15TG)	8	7	3	1 (33)	4	1 (25)
Kontrol tidak divaksin	8	8	4	0 (0)	4	0 (0)

Uji vaksin bivalen galur impor dan isolat lokal menunjukkan hasil serupa, semua tidak memberikan proteksi terhadap isolat yang sangat patogenik BCC 2331 dan DY2, kecuali vaksin bivalen yang tersusun dari komponen antigen inaktif BCC 2331 dan DY2. Pada perlakuan vaksin monovalen yang mengandung antigen inaktif *P. multocida* non patogenik dan patogenik hanya memberikan proteksi lebih rendah dibandingkan vaksin bivalen BCC 2331 dan DY2 (Tabel 2). Faktor yang berpengaruh pada vaksin polivalen yang memberikan proteksi lebih rendah dari bivalen BCC 2331 + DY2 tidak diketahui, perlu penelitian lebih lanjut.

Pengamatan respon antibodi pada hewan itik belum dapat dikemukakan saat ini demikian halnya untuk mengetahui daya proteksi secara *immunoblotting* dari serum hewan yang divaksin belum dilakukan.

KESIMPULAN

Dari penelitian patogenitas *P. multocida* isolat lokal dan galur impor ini diketahui isolat lokal lebih patogenik dibandingkan galur impor, BCC 2331 dan DY2 sangat patogenik terhadap itik. Vaksin pasteurelosis inaktif monovalen dari BCC 2331 dan DY2 memberikan proteksi terhadap ujiantang isolat homolog 67%, terhadap isolat lokal heterolog 33-67%, vaksin polivalen isolat lokal memberikan proteksi terhadap isolat tersebut hanya 25-33%. Vaksin bivalen inaktif yang mengandung antigen BCC 2331 dan DY2 paling baik untuk kondisi laboratorium untuk aplikasi di lapangan masih perlu penelitian lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- AVIKIAN, A.P., J.W. DICK, and D.T. DERIEUX. 1989. Fowl cholera immunity induced by various vaccine in broiler minibreeder chickens, determined by enzymed linked immunosorbent assay. *Avian Dis.* 33:97-102.
- BROGDEN, K.A. and RIMLER. 1982. Lysate of turkey ground *Pasteurella multocida*: Partial solubilization of cross-protection factor(s). *Am. J. Vet. Res.* 43:1781-1785.
- DERIEUX, Wt. 1977. Immune response of medicated turkeys vaccinated with live *Pasteurella multocida*. *Am J. Vet. Res.* 38:487-197.
- DIREKTOTAT JENDERAL PETERNAKAN. 1990. *Buku Statistik Peternakan*. Direktorat Bina Produksi, Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian Republik Indonesia.
- HEDDLESTON, K.L. and P.A. REBERS. 1972. Fowl cholera: Cross-immunity induced in turkeys with formaline killed *in vivo* propagated *Pasteurella multocida*. *Avi. Dis.* 16:578-586.
- LAYTON, H.W. 1984. Efficacy of broth grown *Pasteurella multocida* bacterins in ducklings. *Avian Dis.* 24:1086-1096.
- RHOADES, K.R. and R.B. RIMLER. 1987. Effect of *Pasteurella multocida* endotoxin on turkey poults. *Avian Dis.* 31: 523-526.
- RHOADES, K.R., G.Y. GHZIKHANIAN, and R.P. CHIN. 1989. Virulent and infectivity of A:14 strains of *Pasteurella multocida* for turkey. *Av. Path.* 18:597-603.
- RHOADES, K.R. and R.B. RIMLER. 1990. Somatic serotypes of *Pasteurella multocida* strains isolates from avian hosts (1976-1988). *Avian Dis.* 34:193-195.
- RIMLER, R. and RHOADES. 1987. Serogroup F: A new capsule serogroup of *Pasteurella multocida*. *J. Clinic. Microbiol.* 25:615-618.
- SINURAT, A.P., B. WIBOWO, MIFTAH, dan T. PASARIBU. 1992. Pemanfaatan itik jantan lokal untuk produksi daging. Pros. Lokakarya Penelitian Komoditas dan Studi Khusus. Departemen Pertanian dan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi-Departemen Pertanian. Vol. I:395-412.
- SJAMSUDIN, A. 1980. Vaksin kolera unggas otogenes (VKUO) dan penggunaanya. *Bulletin LPPH XII* (20):101-105.
- POERNOMO, SRI. 1980. Kasus *Pasteurella multocida* pada itik. *Bulletin LPPH XII* (19):42-56.
- SUPAR, YUDI SETIADI, DJAENURI, NINA KURNIASIH, dan BHAKTI POERWADIKARTA. 2000. Patogenesis *Pasteurella multocida* isolat lokal pada mencit dan ayam. *J. Ilmu Ternak Vet.* 5(1):59-64.