ISSN 0216 - 7662

Volume XVII
No. 30
Semester II th. 1985

PENYAKIT HEWAN

BALAI PENELITIAN VETERINER
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
DEPARTEMEN PERTANIAN

PEMBUATAN ANTISERA *PASTEURELLA MULTOCIDA* TIPE B PADA KELINCI

ENDHIE D. SETIAWAN, A. SJAMSUDIN DAN GERHAT
Balai Penelitian Veteriner, Bogor

ABSTRACT

Antisera of *Pasteurella multocida* (Carter's type B) have been prepared in rabbits for serotyping isolates of *P. multocida* in Indonesia. A reference strain of *P. multocida* type B (NCTC 10323) and rabbits New Zealand White cross breed used. The specificity of antisera was tested by agar gell precipitation with different types of antigen. The results indicated that antisera reacted only to a specific antigen. This means that this antisera can be used for serotyping isolates of *P. multocida* because there is no cross reaction.

PENDAHULUAN

Pasteurella multocida adalah kuman penyebab penyakit Septicaemia Epizootica (SE) pada sapi, kerbau dan babi dan Kolera Unggas pada itik dan ayam. Kuman ini bersifat Gram negatif, berbentuk kokus basilus dan bipoler.

Penyakit SE umumnya bersifat akut dan sering menimbulkan kematian pada ternak. Penyakit ini dapat menghambat lajunya peningkatan populasi ternak dan tidak sedikit menimbulkan kerugian ekonomi. Diperkirakan kerugian ekonomi yang ditimbulkan akibat penyakit SE di Indonesia mencapati 5,4 milyar rupiah per tahun (Mangkuwidjojo *et al.*, 1982).

Berdasarkan kepada struktur antigen dan sifat-sifat biologik lainnya. *P. multocida* dibagi ke dalam beberapa serotipe. Pembagian yang dianut sampai sekarang adalah menurut Roberts dan Carter. Roberts (1947) membagi berdasarkan uji perlindungan pasif pada mencit, ke dalam 4 serotipe (tipe I, II, III dan IV). Carter (1955) membagi berdasarkan antigen kapsul (K—antigen) secara uji aglutinasi tidak langsung, ke dalam serotipe (tipe A, B, C, D dan E). Kesamaan (keidentikan) antara kedua pembagian tersebut, untuk tipe I (Roberts) sama dengan tipe B (Carter) dan tipe tersebut dikenal sebagai penyebab SE di Asia dan Eropah (Prodjohardjono *et al.*, 1974; Bain *et al.*, *1982;* Brogden *et al.*, 1979).

Diagnosa penyakit SE dewasa ini belum cukup hanya dengan isolasi kuman, penyebab, namun tidak kurang pentingnya adalah penentuan serotipe isolat dalam hubungannya dengan patogenitas kuman tersebut.

Demikian pula upaya penanggulangannya, apabila menggunakan vaksin dan serum kebal dari isolat yang setipe atau sesuai dengan isolat penyebab, diharapkan dapat menimbulkan daya perlindungan yang cukup tinggi.

Tujuan percobaan ini adalah untuk pembuatan antisera *P. multocida* tipe B, dalam hubungannya untuk pembuatan serotipe isolat *P. multocida* di Indonesia.

BAHAN DAN CARA

Kuman

Untuk pembuatan antisera digunakan galur standar kuman *Pasteurella multocida* tipe B (NCTC 10323).

Media dan reagen

Untuk pembuatan antigen digunakan media Glukose serum broth (GSB), pelat agar darah dan larutan PBS ph 7,4. Untuk uji sensitifitas antisera digunakan agarose agar 1% dalam buffer barbital ph 8,2.

Hewan percobaan

Dalam percobaan ini digunakan enam ekor kelinci keturunan NEW Zealand White, berat ± 2 kg dan ditempatkan dalam kandang besi.

Cara kerja

Cara yang digunakan untuk pembuatan antisera *P. multocida* tipe B adalah modifikasi cara (Roberts, 1947; Carter, 1955; Prodjohardjono *et. al.*, 1974). Rangkaian percobaan terdiri dari pembuatan antigen, penyuntikan antigen pada kelinci dan pengujian spesifitas antisera yang dihasilkan dengan agar gel presipitasi.

Pembuatan antigen. *P. multocida* ditumbuhkan pada media GSB, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24—48 jam. Setelah tumbuh diperiksa kemurniannya berdasarkan bentuk dan

sifat Gramnya. Kemudian diputar dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang dan sedimen dilarutkan dengan PBS pH 7,4. Selanjutnya dipanaskan dalam penangas air bersuhu 70°C selama 1 jam. Diperiksa kembali pertumbuhan kuman pada pelat agar darah dan bila sudah mati, antigen sudah siap untuk disuntikkan pada kelinci.

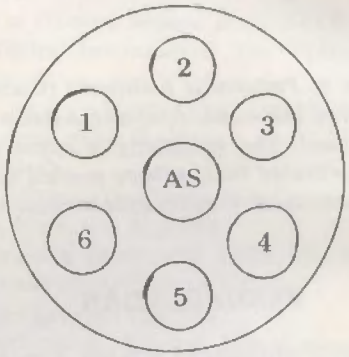
Penyuntikan antigen pada kelinci. Antigen disuntikkan dengan dosis bertingkat, mulai dari 0,5 ml sampai 3,0 ml secara intra vena telinga dengan selang penyuntikan 3 hari (Gambar 1 dan Tabel 1). Seminggu setelah penyuntikan terakhir darah kelinci diperiksa terhadap terbentuknya antibodi, bila sudah terbentuk kelinci diambil serumnya.

Gambar 1. Penyuntikan antigen pada vena telinga kelinci

Tabel 1. Jadwal penyuntikan antigen pada kelinci

Penyuntikan (ke)	Hari (ke)	Dosis (ml)	Cara
I	1	0,5	intra vena telinga
II	4	1,0	intra vena telinga
III	7	2,0	intra vena telinga
IV	10	3,0	intra vena telinga
V	13	3,0	intra vena telinga

Uji spesifitas antisera. Untuk melihat ada tidaknya reaksi silang antara antisera yang dihasilkan dengan antigen *P. multocida* tipe lain (tipe A, D dan E), dilakukan uji spesifitas dengan agar gel presipitasi (imunodifusi ganda) menurut Ouchterlony (Nagy *et al.*, 1982). Pelat agarose agar 1% dalam buffer barbital pH 8,2 dilubangi dengan *puch gel*, jarak antar lubang 4 mm dan diameter lubang 6 mm (Gambar 2).



Gambar 2. Lubang pada agar gel presipitasi

Dengan mengikuti pola pada Gambar 2, lubang di tengah diisi Antisera (AS) *P. multocida* dari kelinci yang akan diuji spesifitasnya. Lubang 1, 3 dan 5 diisi Antigen (Ag) *P. multocida* tipe B. Lubang 2 diisi Ag tipe A, lubang 4 diisi Ag tipe D dan lubang 6 diisi Ag tipe E. Setelah lubang terisi, selanjutnya diinkubasi dalam kotak lembab pada suhu kamar 24—48 jam. Reaksi spesifik ditandai terbentuknya garis presipitasi di antara lubang berisi As dengan Ag yang setipe. Semua Ag standar yang digunakan dalam percobaan ini adalah produksi Wellcome Biotechnology Ltd.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 6 ekor kelinci yang digunakan dalam percobaan ini, 4 ekor (66,66%) dapat menghasilkan antisera *P. multocida* tipe B dan kelinci sisanya mati sebelum diambil antiseranya.

Pada percobaan-percobaan sebelumnya, antisera yang dihasilkan masih bereaksi silang dengan antigen *P. multocida* tipe lain. Menurut hipotesa para peneliti hal tersebut dimungkinkan karena ada perubahan konfigurasi molekul protein antigen yang terjadi pada waktu proses pembuatan antigen (pemanasan atau penambahan formal salin), sehingga penentu antigenik yang asli hilang dan timbul penentu antigenik yang baru (Cambell *et al.*, 1970; Bellanti, 1971; Roit, 1977).

Antisera yang diperoleh dari percobaan ini berdasarkan uji spesifitas secara agar gel presipitasi (AGP), memperlihatkan tidak ada reaksi silang dengan antigen *P. multocida* tipe A, D dan E. Reaksi yang terjadi merupakan reaksi spesifik antara Ag *P. multocoda* tipe B dengan As *P. multocida* tipe B dari kelinci (Gambar 3 dan Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa antisera yang terbentuk sesuai dengan antigennya.

Gambar 3. Reaksi spesifik As. P. *multocida* tipe B dengan Ag P. *multocida* tipe B (terbentuk garis presipitasi)

Tabel 2. Hasil uji spesifitas antisera *P. multocida* tipe B dari kelinci

Antisera	Tipe antigen *P. multocida*	Hasil
P. multocida tipe B	Tipe B	Positif
P. multocida tipe B	Tipe A	Negatif
P. multocida tipe B	Tipe D	Negatif
P. multocida tipe B	Tipe E	Negatif

Kelinci sebagai hewan percobaan yang baik untuk pembuatan antisera, telah dilaporkan oleh beberapa penelitian terdahulu bahwa mereka dengan menggunakan kelinci berhasil membuat berbagai tipe antisera *P. multocida* (Roberts, 1947; Carter, 1955; Prodjohardjono *et al.*, 1974).

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil percobaan ini dapat disimpulkan bahwa kelinci keturunan New Zealand White merupakan salah satu hewan percobaan yang cukup baik untuk pembuatan antisera *P. multocida* tipe B.

Antisera yang dihasilkan sudah cukup memadai dan dapat digunakan untuk diagnosa terutama untuk penentuan serotipe isolat *P. multocida.*

Penelitian lanjutan masih perlu kiranya dikembangkan dan pembuatan antisera sejenis dengan berbagai tipe dalam hubungannya untuk pembuatan vaksin dan studi epidemiologi penyakit SE di Indonesia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Dr. Richard Philip dari bantuan tehnik Inggris yang telah mensponsori percobaan ini. Demikian juga kepada Ny Kusminah, Tehnisi Disiplin Laboratorium Referensi Balitvet yang telah membantu percobaan ini, diucapkan terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

BAIN, R.V.S., M.C.L. de ALWIS, G.R. CARTER and B.K. GUPTA. 1982. Haemorrhagic Septicaemia. FAO UNO, Rome.

BELLANTI, J.A.. 1971. Immunology. Igaku Shoin Ltd., Tokyo.

BROGDEN, A.K. and R.A. PACKER. 1979. Comparison of *Pasteurella multocida* serotyping systems. Am. J. Vet. Res., 9 : 1332 - 1335.

CAMBELL, D.H., J.S. GARVEY, N.E. CRAMER and D.H. SUSSDORF. 1970. Methods in Immunology. 2nd Ed. W.A. Benyamin Inc., New York.

CARTER, G.R. 1955. Studies on *Pasteurella multocida.* I. A Haemaglutination Test for the identification of serological types. Am. J. Vet. Res., 16 : 481 - 484.

MANGKUWIDJOJO, S., A. BANGUN dan NITISUWIRJO. 1982. Beberapa penyakit ruminansia dan aspek penelitiannya. Pertemuan Ilmiah Ruminansia Besar. Puslitbangnak, Bogor.

NAGY, L.K., T. MACKENZIE and K.R. PAINTER. 1982. Gelldiffusion test for identification of *Pasteurella multocida* type B and E (Carter). Wellcome Biotechnology Ltd., London.

PRODJOHARDJONO, S., G.R. CARTER and G.H. CONNER. 1974. Serology study of bovine strain of *Pasteurella multocida.* Am. J. Vet. Res., 35 : 111.

ROBERTS, R.S. 1947. An immunological study of *Pasteurella multocida.* J. Comp. Path. and Therap., 57 : 261 - 278.

ROITT, I. 1977. Essential Immunology. 3 rd Ed. Blackwell Scientific Publication, London.