

ENTEROTOKSEMIA PADA SAPI IMPOR DI BANJARMASIN, KALIMANTAN SELATAN

LILY NATALIA, M. SYAFARUDIN, E.E. WORRALL dan SUPRODJO HARDJOUTOMO
Balai Penelitian Veteriner, Bogor

(Diterima untuk publikasi 8 Agustus 1989)

ABSTRACT

Clostridium perfringens type A was isolated from the small intestine of an imported Sahiwal Friesian cross cow. Sufficient *C. perfringens* alpha toxin was present in the body fluids of this animal to cause death. From the results of this investigation it is possible that transport stress and a gross change in diet induce rumen and intestinal stasis which provide a favourable environment for the proliferation of *C. perfringens* type A and also the production of alpha toxin. Considering that this animal had received prophylactic vaccination before shipment, the conclusion must be that this animal and possibly others in this outbreak do not have sufficient circulating alpha antitoxin to neutralise the quantities of alpha toxin absorbed from the small intestine.

ABSTRAK

Clostridium perfringens tipe A telah berhasil diisolasi dari usus halus seekor sapi impor silangan Sahiwal dengan Friesian Holstein. Dari cairan tubuh hewan yang mati ini dapat ditemukan sejumlah toksin alfa *C. perfringens* yang cukup banyak untuk menyebabkan kematian hewan. Dari hasil pengamatan, adalah mungkin bahwa stres yang dialami hewan selama perjalanan dan perubahan yang mendadak dari pakan yang diberikan dapat merangsang stasis rumen dan usus. Keadaan ini akan memberikan suatu lingkungan yang cocok untuk berkembangnya *C. perfringens* tipe A yang dapat menghasilkan toksin alfa. Mengingat bahwa hewan telah mendapatkan vaksinasi pencegahan sebelum hewan dikapalkan, maka dapat disimpulkan bahwa hewan yang mati ini atau juga hewan yang lain dalam kasus ini tidak mempunyai antitoksin yang cukup dalam tubuhnya untuk menetralkan sejumlah toksin alfa yang diserap dari usus halus.

PENDAHULUAN

C. perfringens tipe A telah dikenal sebagai salah satu penyebab terjadinya enterotoksemia pada hewan di samping juga merupakan bakteri yang dapat hidup secara komensal dalam saluran pencernaan hewan. Enterotoksemia yang disebabkan oleh toksin alfa *C. perfringens* tipe A telah pernah dilaporkan terjadi pada kerbau-kerbau impor di daerah Sukabumi, Jawa Barat (Worrall dkk., 1987). Sebelum itu, *C. perfringens* tipe A telah dilaporkan menyebabkan enterotoksemia pada domba, kambing, sapi dan rusa (McGowan dkk., 1958; Niilo dan Avery, 1963; Russell, 1970; Kummenje dan Baken, 1973).

Umumnya enterotoksemia dihubungkan dengan adanya perubahan iklim atau perubahan kondisi pakan secara mendadak, misalnya perpindahan hewan dari daerah yang keadaan pakannya serba kekurangan ke daerah yang keadaan pakan dan airnya berlebih atau tak terbatas. Perubahan semacam ini dapat merupakan penyebab gangguan dalam saluran pencernaan dan menciptakan suatu lingkungan yang baik untuk terjadinya multiplikasi organisme penyebab penyakit. Organisme ini kemudian dapat menghasilkan toksin yang kemudian diabsorpsi ke dalam sirkulasi darah hewan.

BAHAN DAN CARA

Sebanyak 1.200 ekor sapi silangan Sahiwal dengan Friesian Holstein yang sedang bunting dikirim dari Selandia Baru ke Banjarmasin, Kalimantan Selatan. Sebelum pengapalan, di daerah asalnya hewan ini telah mendapat vaksinasi terhadap penyakit klostridial dengan menggunakan vaksin Pentavac. Selama dalam perjalanan, hewan-hewan ini mendapat pakan berupa pellet dan rumput kering. Setibanya di tempat tujuan, mereka dibebaskan di padang penggembalaan yang ditumbuhi rumput *Brachiaria decumbens* dan mendapatkan juga air minum yang cukup.

Hewan mulai terlihat sakit dalam waktu tiga hari setelah tiba di tempat tujuan. Hewan yang tampak sakit memperlihatkan gejala kembung, indigesti, anoreksia, mata yang cekung dan sukar bernafas. Hewan ini umumnya tidak mau berdiri dan mencari tempat yang teduh. Terhadap hewan yang sakit diberikan antibiotik yang berspektrum luas. Sejak terlihatnya gejala sakit sampai kematian hewan lamanya kira-kira 2 hari atau kematian hewan dimulai 5 hari setelah hewan tiba di Banjarmasin.

Terhadap seekor sapi yang mati dilakukan pemeriksaan pasca mati. Contoh paru-paru, hati, usus halus, isi usus dan darah jantung diambil untuk dikirim

ke laboratorium. Contoh berupa usus halus, paru-paru dan hati diawetkan dalam 50% gliserol. Selain itu, diambil juga contoh darah dari 16 ekor hewan yang sakit dan kemudian serumnya dipisahkan. Selama pengiriman spesimen dari lapangan ke laboratorium, semua contoh disimpan dalam kotak pendingin. Sebanyak 16 contoh serum yang berasal dari hewan normal juga diambil untuk kemudian dibandingkan dengan serum yang berasal dari hewan sakit. Serum diawetkan dengan pembubuhan 0,01% thiomersal.

Pemeriksaan Bakteriologis dan Serologis

Semua contoh yang diambil diperiksa secara kultural dan mikroskopik untuk menemukan mikroorganisme penyebabnya. *Clostridium* sp. yang berhasil diisolasi, diuji patogenitasnya terhadap mencit.

Terhadap serum dan cairan tubuh dilakukan pemeriksaan dengan melakukan "mouse protection test" untuk penentuan penyebab penyakit dan tipe *Clostridium* penyebabnya.

Analisis Biokimiawi terhadap Serum

Serum yang berasal dari hewan yang sakit diukur kadar kalsium dan magnesiumnya. Ternyata pada 16 ekor hewan yang sakit ditemukan rata-rata kadar kalsium yang rendah (5,81 mg %). Selain itu, serum yang berasal dari hewan yang sakit umumnya sudah mengalami hemolisis.

Untuk mengetahui sebab dari rendahnya kadar kalsium dalam darah, maka dilakukan suatu pengamatan pengaruh toksin alfa dari *C. perfringens* tipe A yang berhasil diisolasi terhadap darah yang berasal dari empat ekor domba. Uji dilakukan dengan cara sebagai berikut :

Dari tiap ekor domba diambil darahnya sebanyak 10 ml. Darah ini kemudian dibagi menjadi dua kelompok. Kelompok pertama mendapat penambahan 1 ml kaldu pepton yang digunakan untuk menghasilkan toksin alfa. Kelompok kedua mendapat penambahan 1 ml toksin alfa yang berkekuatan 100 dosis kematian mencit minimum. Tiap tabung dari kelompok perlakuan dicampur merata dan dibiarkan membeku pada suhu kamar. Setelah itu, kadar kalsium darah masing-masing tabung diukur dengan spektrofotometer serapan atom di laboratorium Toksikologi Balitvet.

Pemeriksaan Adanya Toksin

Daerah yang hiperaemis di usus halus (kira-kira 27 cm²) dibilas berulang-kali dengan 2 ml larutan PBS

pH 7,4. Hasil bilasan ini kemudian diukur potensi kandungan toksinnya pada mencit. Selain itu, isi lumen usus juga diperiksa akan adanya toksin dengan cara melakukan filtrasi dan kemudian filtratnya disuntikkan pada mencit secara intravenus. Terhadap cairan paru-paru dan hati juga dilakukan pemeriksaan adanya toksin.

Pemeriksaan Potensi Antitoksin

Dengan menggunakan uji antihemolisin untuk antitoksin alfa dari *C. perfringens* dan membandingkannya dengan antitoksin alfa standar internasional untuk gas gangren, semua serum diuji terhadap adanya antitoksin alfa sebesar 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; dan 8,0 internasional unit (IU). Kontrol negatif dan positif selalu disertakan dalam setiap uji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan Bakteriologis

Dari hasil pemeriksaan mikroskopis (dengan pewarna Gram dan antibodi fluoresen) terhadap contoh hati dan paru-paru tidak ditemukan organisme patogenik yang dicurigai. *C. perfringens* tipe A yang toksigenik dapat diisolasi dari potongan usus halus dan isi usus. Mikroorganisme ini mampu menghasilkan toksin alfa sebesar 100 dosis kematian mencit minimum/ml.

Analisis Biokimiawi

Serum dari 16 ekor hewan sakit mempunyai rata-rata kadar kalsium darah sebesar 5,81 mg% dan 1,93 mg% untuk magnesium. Kadar kalsium darah ini lebih rendah dari normal (kadar normal kalsium darah 8 – 12 mg% dan magnesium darah 1,7 – 3,0 mg%) (Phillis, 1976; Svenson, 1977; Bauer dkk., 1981).

Hasil pengamatan pengaruh toksin alfa *C. perfringens* terhadap kadar kalsium darah domba dapat dilihat pada Tabel 1. Darah yang tidak mendapat penambahan toksin alfa (dengan penambahan kaldu pepton) membentuk bekuan darah dan serum yang normal, sedangkan darah yang mendapat penambahan toksin alfa tidak membentuk bekuan darah yang normal. Bekuan yang terbentuk pada darah yang mendapat penambahan toksin tetap lunak seperti gel dan serum yang dihasilkannya sangat terhemolisis.

Dalam tabel tersebut tampak bahwa toksin alfa berpengaruh menurunkan kadar kalsium dalam darah.

Tabel 1. Pengaruh toksin alfa *C. perfringens* terhadap kadar kalsium dalam darah domba

Domba no.	Kadar kalsium darah (mg%)	
	Tanpa toksin alfa (+ kaldu pepton)	Sesudah penambahan toksin alfa
1	8,4	6,4
2	8,3	5,9
3	8,4	5,9
4	8,5	6,4

Peranan kalsium dan seng dalam kerja toksin alfa *C. perfringens* telah dijelaskan oleh Bangham dan Dawson (1961), Ispolatovskaya (1971). Hal ini sangat penting diketahui untuk mencegah kekeliruan dalam mendiagnosis penyakit karena adanya kalsium darah yang rendah dan juga hewan menunjukkan gejala "transport tetany" yang diikuti kematian yang cepat.

Pemeriksaan Adanya Toksin

Dari hasil pembilasan dengan PBS terhadap daerah usus yang hiperemis, ternyata dapat diperoleh toksin alfa dari *C. perfringens* sebesar 500 dosis kematian mencit minimum/ml, sedangkan isi lumen usus hanya mempunyai toksin sebesar 10 dosis kematian mencit minimum/ml. Cairan paru-paru mempunyai toksin alfa dengan kekuatan 10 dosis kematian mencit minimum. Dari cairan hati tidak ditemukan adanya toksin alfa.

Kekuatan toksin alfa ini kelihatannya berhubungan dengan adanya dan banyaknya *C. perfringens* yang ditemukan pada lapisan mukosa kripti vili usus.

Dari hasil pemeriksaan di atas, ternyata toksin alfa *C. perfringens* dapat ditemukan pada seekor sapi yang mati. Pada waktu pengambilan contoh spesimen, karkas masih dalam keadaan segar, sehingga tidak memungkinkan adanya toksin disebabkan oleh hasil bakteri yang tumbuh setelah kematian hewan. *C. perfringens* tipe A hanya dapat diisolasi dari usus halus saja dan tidak ditemukan pada organ yang lain. Adanya toksin alfa dengan jumlah seperti disebutkan di atas dalam tubuh hewan menunjukkan bahwa hewan mati karena enterotoksemia. Darah yang diambil dari jantung tidak membentuk bekuan darah yang normal. Serum yang dihasilkan sudah terhemolisis. Hal ini dimungkinkan, karena toksin alfa dapat menghancurkan sel darah merah dan berpengaruh pada waktu yang diperlukan protrombin dalam proses pembekuan darah.

Urut-urutan faktor predisposisi terjadinya penyakit dan kematian sapi dalam kasus ini diperkirakan dimulai dari adanya stres berupa proses transportasi, suhu udara yang panas selama hewan berada di atas kapal dan pakan (pelet) dan rumput kering dengan air minum yang kurang. Di tempat tujuan, hewan mengalami perubahan yang mendadak dengan pakan berupa rumput segar dan air minum yang cukup banyak tersedia. Selain itu, hewan dapat juga bergerak dengan bebas. Akibat dari hal-hal tersebut di atas dapat terjadi stasis dari rumen dan usus dengan berkurangnya substrat dalam usus halus dan menurunnya kadar protease. Keadaan inilah yang kemudian cocok bagi terjadinya proliferasi *C. perfringens* tipe A dan produksi,

Tabel 2. Hasil pemeriksaan serum dari 16 ekor sapi sakit, satu ekor sapi mati dan 16 ekor sapi yang terlihat sehat

Hewan no.	Status	Kadar antitoksin alfa (I.U./ml)
1	sakit	ND
2	sakit	ND
3	sakit	2,0
4	sakit	ND
5	sakit	1,5
6	sakit	ND
7	sakit	4,0
8	sakit	ND
9	sakit	1,5
10	sakit	ND
11	sakit	2,0
12	sakit	4,0
13	sakit	0,5
14	sakit	1,5
15	sakit	0,5
16	sakit	ND
17	mati	ND
18	sehat	1,0
19	sehat	4,0
20	sehat	0,5
21	sehat	ND
22	sehat	1,5
23	sehat	2,0
24	sehat	ND
25	sehat	2,0
26	sehat	4,0
27	sehat	2,0
28	sehat	1,5
29	sehat	2,0
30	sehat	1,0
31	sehat	1,5
32	sehat	1,5
33	sehat	1,5

Keterangan :

ND : antitoksin tidak dapat dideteksi

absorpsi dari toksin alfa yang diikuti dengan kematian hewan.

Pemeriksaan Serologis

Contoh serum dari hewan sakit semuanya menunjukkan adanya hemolisis. Toksemia ringan dengan adanya toksin alfa yang mempunyai daya hemolitik memungkinkan terjadinya keadaan ini. Hasil pemeriksaan serum dengan uji antihemolisin dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil rata-rata kadar antitoksin dari hewan sakit adalah 1,09 I.U./ml, sedangkan hasil rata-rata kadar antitoksin hewan sehat adalah 1,62 I.U./ml. Jadi secara umum hewan sehat mempunyai kadar antitoksin alfa yang lebih tinggi dibandingkan dengan hewan yang sakit.

Pemberian vaksin klostroidium sebelum hewan di-transportasikan ternyata tidak menjamin hewan terhindar dari enterotoksemia. Gambaran secara menyeluruh dari pemeriksaan serologis menunjukkan bahwa kasus enterotoksemia hanya terjadi pada beberapa hewan yang diperiksa. Hal ini tampak dengan adanya kenaikan titer antibodi setelah hewan sembuh, yaitu setelah diadakan pemeriksaan ulangan terhadap beberapa hewan yang telah diperiksa terdahulu pada satu bulan kemudian (Tabel 3).

Tidak semua hewan yang sakit (pada pengambilan darah pertama) dapat diperiksa pada pengambilan darah kedua. Hal ini disebabkan karena 3 ekor hewan

yang sakit telah mati dan hewan sakit lainnya yang sembuh telah dialokasikan kepada petani ternak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Mr. R.B. Marshall yang telah membantu kami dalam pemeriksaan kadar kalsium dan magnesium darah. Terima kasih juga kami tuju-kan kepada Drh. Tarmudji, MS, kepala Subbalitvet Banjarbaru, Kalimantan Selatan dan semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- BANGHAM, A.D., R.M.C. DAWSON. 1961. Electrokinetic requirements for the reaction between *C. perfringens* alfa toxin (phospholipase C) and phospholipid substrates. *Biochem. Biophys. Acta* 59: 103-115.
- BAUER, B., L.R. McDOWELL, M. KOGER, J.K. LOOSLI, J.H. CONRAD. 1981. Mineral status of cattle in tropical lowlands of Bolivia. *Proc. of the 4th. International Symposium on Trace Element Metabolism in Man and Animals*. Perth, West Australia. 11 – 15 May 1981. Australian Academy of Science, Canberra.
- ISPOLATOVSKAYA, M.V. 1971. Type A *Clostridium perfringens* toxin. In: *Microbial Toxins*. S. Kadis, T.C. Montie and S.J. Ajl. (eds). Academic Press, New York.
- KUMMENJE, K., G. BAKKEN. 1973. *Clostridial perfringens* enterotoxaemia in reindeer. *Nord. Vet. Med.* 25: 196-202.
- MCGOWAN, G., J.E. MOULTON., S.E. ROOD. 1958. Lamb losses associated with *C. perfringens* type A. *J.A.V.M.A.* 132: 219-221.
- NILO, L. and R.J. AVERY. 1963. *Clostridium perfringens* types isolated from animal sources in Alberta and Saskatchewan. *Can. Vet. J.* 4: 31-36.
- PHILLIS, J.W. 1976. *Veterinary Physiology*. Wright Sciencetchnica, Bristol.
- RUSSELL, W.C. 1970. Type A enterotoxaemia in captive wild goats. *J.A.V.M.A.* 157: 643-646.
- SVENSON, M.J. 1977. *Duke's Physiology of Domestic Animals*. 9th. ed. Cornell University Press. Ithaca. London.
- WORRALL, E.E., L. NATALIA, P. RONOHARDJO, TARMUDJI, S. PARTOUTOMO. 1987. Enterotoxaemia in water buffaloes caused by *Clostridium perfringens* type A. *Penyakit Hewan* 19(33): 17-19.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan kadar antitoksin pada hewan yang sama satu bulan kemudian

Kadar no.	Kadar antitoksin pada pengambilan darah pertama (I.U./ml)	Kadar antitoksin pada pengambilan darah kedua (1 bulan kemudian) (I.U./ml)
1	ND	2,0
2	ND	1,0
11	2,0	5,0
12	4,0	7,0

Keterangan :

ND : antitoksin tidak dapat dideteksi