Clostridium perfringens YANG BERHASIL DIASINGKAN DARI KASUS KEMATIAN BABI BABI DI IRIAN JAYA

GOZALI MOEKTI, DARSYAH A. LUBIS. E. E. WORRALL, KOKO BARKAH
dan R. G. HIRST

Balai Penelitian Veteriner, Bogor

ABSTRACT

Thirty two samples taken from a case of previously suspected antrax were examined in the anaerobic bacteriology unit at the Research Institute for Animal Disease (Balitvet).

From twelve samples (3 from dead pigs, 9 from healthy human faecal swabs), *Clostridium perfringens* was isolated. All strains were identified using the combination of biochemical reactions and neutralization tests in mice (Wellcome). Of the isolates tested, one proved to be *Clostridium perfringens* type C and the remainder were type A. The isolates were all cultivated in a 3% proteose peptone broth under optimum conditions for the production of lethal toxins. All isolates produced alpha-toxin of low potency LD50 0.3. The type C, however, proved to be quite toxigenic producing beta-toxin MLD of 10^3 mouse lethal doses 18-20 g.

PENDAHULUAN

Tindakan pengisolasian kuman mungkin masih dapat diharapkan menjadi salah satu cara dalam mencari jawaban dari sebab-sebab kejadian penyakit, walaupun hasil pemeriksaan tersebut memerlukan sokongan upaya lain, seperti uji serologik dan biokhemik (Popoff, 1979). Dan untuk jenis kuman yang dikategorikan ganas karena letalitas beberapa racun yang dihasilkannya, maka uji penentu yang diperlukan baginya adalah pemeriksaan imunotoksikologik, seperti uji netralisasi toksin-antitoksin pada hewan percobaan.

Kuman-kuman yang diduga terlibat dalam kasus ini adalah *Bacillus anthracis* dan *Clostridium perfringens*, dimana kuman clostridia selain merupakan jasad renik toksigenik juga bersifat sangat tidak toleran terhadap oksigen (anaerobik). Dengan demikian maka untuk menentukan keganasan kuman clostridia perlu dilakukan pemeriksaan khusus terhadap toksin-toksin letal yang dihasilkannya (Egerton dan Walker, 1964).

Uji serologik lainnya yang pernah dikembangkan dalam menegakan kuman clostridia asing adalah uji aglutinasi dan teknik fluoresen antibodi (Yamagishi *et al* 1971). Dengan melakukan uji tersebut, *Clostridium perfringens* tipe C dan D dapat segera ditetapkan, sehingga mungkin metoda semacam ini sangat diperlukan bagi daerah-daerah yang pernah dilaporkan sebagai wilayah sporadik enteritis nekrotikans seperti Afrika, Asia Tenggara dan Amerika (Lawrence dan Walker, 1976).

Antara tahun 1971-1979, Balitvet telah berhasil mengasingkan enam isolat *Cl. perfringens* dari sapi dan satu isolat dari domba (Hardjoutomo, 1981). Oleh sebab itu, tulisan ini diharapkan dapat menambah kepustakaan mengenai penyakit-penyakit yang disebabkan oleh kuman clostridia di Indonesia.

BAHAN DAN CARA

Material yang diperiksa berupa tiga belas potongan organ seperti daging, tulang dan kulit babi-babi yang diduga tertular, serta sembilan belas sediaan ulas (basah dan kering) dari kotoran penduduk setempat yang tidak sakit. Pengambilan spesimen tersebut dilakukan sehubungan dengan terjadinya kematian babi-babi milik penduduk Desa Kebo I, Kecamatan Piniai Timur Irian Jaya.

Media

Media yang digunakan dalam identifikasi kuman antara lain 'gelatin stab', serum dari Loeffler, "lithmus milk", gula-gula seperti glukosa, maltosa, sukrosa, laktosa dan salisin dengan indikator "bromocresol purple".

Antitoksin

Antitoksin *Clostridium perfringens* diperoleh dari Wellcome melalui proyek bantuan Pemerintah Kerajaan Inggris.

Isolat Kuman

Semua contoh yang akan diperiksa dipupuk didalam medium cair modifikasi dari "Robertson's Cooked Meat", kemudian dieramkan pada suhu 37° C secara anaerobik selama 18-24 jam (Hobbs *et al*, 1971). Setelah tampak tanda-tanda pertumbuhan, pupukan selanjutnya dibiakkan pada medium agar darah 5% dan juga dieramkan pada suhu 37° C secara anaerobik. Koloni tunggal kuman yang tumbuh pada medium agar darah tadi dipindahkan ke dalam medium cair kembali serta dieramkan seperti semula. Pupukan yang sudah murni kemudian ditentukan sifat spesiesnya dengan uji-uji biokhemik.

Penentuan Tipe

Semua isolat kuman clostridia dibiakkan di dalam medium cair yang mengandung 3% proteosa pepton (Difco), 0,5% NaCl dan 0,2% Na₂HPO₄ dengan pH 7,5. Pengeraman dilakukan pada suhu 37°C secara anaerobik selama 4-6 jam, dan selanjutnya fraksi cair dari biakan tersebut dipisahkan dari sel-sel bakterinya dengan cara pemusingan (3000 pusingan per menit). 0,5 ml dari cairan hasil pemisahan di atas kemudian dicampur dengan 0,1 ml antitoksin *Cl. perfringens* dari masing-masing tipe A, C dan D (Wellcome) dan dibiarkan pada temperatur kamar selama 30 menit. Setelah itu 0,1-0,2 ml dari campuran tersebut disuntikan pada mencit (18-20 g) secara *intra vena*.

Penentuan Kekuatan Toksin

Kekuatan racun isolat kuman diukur dengan cara menentukan dosis letal minimal (MLD) dan letal dosis 50 (LD₅₀) pada mencit yang memiliki bobot 18-20 gram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pemeriksaan biokhemik, sebelas kuman asing dapat ditegaskan sebagai *Clostridium perfringens*. Dan setelah dilakukan pentipean (uji netralisasi pada mencit) terbukti bahwa satu diantaranya adalah tipe C, sedangkan yang lainnya merupakan tipe A. Hasil pentipean tersebut selengkapnya disajikan dalam Lampiran 1.

Walaupun toksin *beta* (B toxin) dari *Cl. perfringens* tipe C asing tampak cukup kuat dengan dosis letal minimal 10³ mencit MLD per ml, toksin *alpha* yang

dihasilkan isolat lainnya masih jauh lebih lemah (LD₅₀ = 0,3). Dan memang menurut sebagian peneliti terdahulu tipe A bukan merupakan galur yang teramat ganas. Hal tersebut didasarkan atas kenyataan bahwa kuman dari galur ini sering ditemukan sebagai mikroflora normal di saluran pencernaan (terutama kambing). Namun demikian 'Medical Research Committee' pada tahun 1919 pernah menegaskan bahwa *Cl. perfringens* tipe A sangat erat hubungannya dengan kejadian enterotoksemia pada anak-anak domba. Hal tersebut mungkin dapat dijadikan bahan pertimbangan lain dalam menentukan tingkat keganasan kuman tipe A, karena seperti halnya *Cl. perfringens* tipe A asing yang walaupun hanya mampu menghasilkan toksin *alpha* yang tidak begitu letal, namun hampir semua mencit yang digunakan pada percobaan (penentuan LD₅₀) menunjukkan tanda-tanda hematuria.

Walker et al, (1971) pernah menegaskan bahwa toksin *beta* yang dihasilkan *Cl. perfringens* tipe C mampu mengakibatkan enterotoksemia pada domba, anak sapi dan anak babi. Selain itu juga Egerton dan Walker (1964) telah berhasil mengasingkan kuman tersebut dari usus kecil manusia yang menderita enteritis nekrotikans (pigbel) di Papua-New Guinea, dan ketika pengisolasian kuman dilakukan mereka pun telah mendapatkan beberapa isolat *Cl. perfringens* tipe A dari babi-babi yang diduga ada hubungannya dengan kejadian penyakit. Melihat pada kenyataan demikian dengan tidak cukup banyak tipe C yang berhasil diasingkan, mungkin belum dapat dikatakan bahwa tipe kuman tersebut hadir di dalam contoh-contoh yang diperiksa. Hal ini hanya menunjukkan

Lampiran 1. Hasil Pentipean Kuman *Clostridium perfringens* yang Diasingkan dari Kasus Kematian Babi-babi di Desa Kebo I Irian Jaya

No. spesimen	Jenis sediaan (organ*)	Tipe kuman <i>Cl. perfringens</i> asing	Toksin letal yang dihasilkan kuman			
			α	β	ε	ζ
IH 1	ulas rektal manusia	A	+	-	-	-
IH 2	ulas rektal manusia	A	+	-	-	-
IH 3	ulas rektal manusia	A	+	-	-	-
IH 4	ulas rektal manusia	A	+	-	-	-
IH 5	ulas rektal manusia	A	+	-	-	-
IH 6 ^a	ulas rektal manusia	C	tr	+++	-	-
IH 6 ^b	ulas rektal manusia	A	+	-	-	-
IH 8	ulas rektal manusia	A	+	-	-	-
IH 9	ulas rektal manusia	A	+	-	-	-
E 005 G	daging babi	A	+	-	-	-
E 003 K	tulang babi	A	+	-	-	-
E 005 K	tulang babi	A	+	-	-	-

*organ dari babi yang sudah dikonsumsi penduduk
tr = titer rendah
a = sediaan ulas kering (tanpa medium transport)
b = sediaan ulas di dalam medium transport

gambaran hubungan antara tipe A dan C, dimana mereka sering ditemukan dan mampu hidup bersama, walaupun tipe A umumnya tumbuh lebih cepat dibanding tipe C.

Faktor yang sering mempengaruhi rendahnya titer toksin *alpha* dan *beta* adalah enzim-enzim proteolitik sehingga kejadian penyakit yang disebabkan *Cl. perfringens* (terutama tipe C) sangat erat hubungannya dengan jumlah kandungan protein di dalam pakan, karena dengan rendahnya tingkat protein yang dikonsumsi titer enzim protease di dalam lumen usus akan menurun (Lawrence dan Walker, 1976).

RINGKASAN

Telah berhasil diasingkan kuman *Clostridium perfringens* tipe A dan C dari spesimen-spesimen yang diambil dari Desa Kebo I, Kecamatan Piniai Timur Irian Jaya. Upaya pengasingan kuman ini dilakukan guna memberi kejelasan tentang kematian babi-babi milik penduduk di daerah tersebut pada bulan Juni 1984.

DAFTAR PUSTAKA

- EGERTON, J.R. and P.D. WALKER, 1964. The Isolation of *Clostridium perfringens* Type C from Necrotic Enteritis of Man in Papua-New Guinea. *J. Path. Bact.*, 88, 1, pp. 275-278.
- HARDJOUTOMO, S., 1981. Clostridial Diseases of Sheep in Indonesia. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 93, (1-2), pp. 125-130.
- HOBBS, G., KATHLEEN WILLIAMS and A.T. WILLIS, 1971. Basic Methods for the Isolation of Clostridia. In : Isolation of Anaerobes edited by Shampton and Board. 2nd. Ed., Academic Press, London, New York.
- LAWRENCE, G. and P.D. WALKER, 1976. Pathogenesis of Enteritis Necroticans in Papua-New Guinea. *The Lancet*, 17, pp. 125-126.
- Medical Research Committee, 1919. Reports of the Committee upon Anaerobic Bacteria and Infection, HMSO.
- POPOFF, M., 1979. Enterotoxaemia due to *Clostridium perfringens* and Glycosuria in Sheep. *Abstr. 3927, Vet. Bull.*, 50, 1.
- WALKER, P.D., E. HARRIS and W.B. MOORE, 1971. The Isolation of Clostridia from Animal Tissues. In : Isolation of Anaerobes edited by Shampton and Board 2nd. Ed., Academic press, London, New York.
- YAMAGISHI, T., J. YSHIZAWA, M. KAWAI, N. SEO and S. NISHIDA, 1971. Identification of Isolates of *Clostridium perfringens* Types C and D by Agglutination and Fluorescent-Anti-body Methods. *Appl. Microbiol.* 21, 5, pp. 787-793.