ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *PASTEURELLA MULTOCIDA* DARI SAPI BALI DI KUPANG, NUSA TENGGARA TIMUR*)

ENDHIE D. SETIAWAN dan A. SJAMSUDIN
Balai Penelitian Veteriner, Bogor

ABSTRACT

This study is to isolate and identify the serotype of *Pasteurella multocida* from healthy Bali cattle and those clinically suffering from Haemorrhagic Septicaemia (HS). Specimens comprising blood and nasopharyngeal swabs were taken from 10 cattle clinically suffering from HS in East Kupang District and 24 healthy Bali cattle slaughtered in the abattoir of Kupang. Bacteriological examinations were conducted in the Research Institute for Veterinary Science, Bogor, including identification of the serotype of the isolated microorganisms. The result showed that 3 (30%) of the cattle clinically suffering from HS produced the isolation of *Pasteurella multocida* type B, while the healthy cattle did not.

PENDAHULUAN

Pasteurella multocida adalah bakteri penyebab penyakit Septicaemia Epizootica (SE) pada sapi, berbentuk kokus basilus bipoler dan bersifat Gram negatif.

Penyakit SE pada sapi umumnya bersifat akut, tidak sedikit menimbulkan kerugian ekonomi dan menghambat laju peningkatan populasinya akibat kematian. Di Indonesia diperkirakan kerugian akibat penyakit SE mencapai 5,4 milyar rupiah pertahun (Mangkoewidjojo *et al.*, 1982).

Atas dasar struktur antigenik dan sifat-sifat biologik lainnya, *P. multocida* dibagi atas beberapa serotipe. Pembagian yang dianut sampai sekarang adalah secara Roberts dan Carter. Roberts (1947) membaginya berdasarkan uji perlindungan pasif pada mencit atas 4 serotipe, yaitu tipe I, II, III dan IV, sedangkan Carter (1955) membaginya berdasarkan adanya antigen kapsul (K-antigen) secara uji aglutinasi tidak langsung atas 5 serotipe, yaitu 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 Eropa (Prodjohardjono *et al.*, 1974; Brogden & Packer, 1979; Bain *et al.*, 1982).

Diagnosis penyakit SE belum cukup jika hanya berdasarkan anamnesis dan pengenalan tanda-tanda klinis, justru yang paling penting adalah isolasi dan identifikasi bakteri penyebabnya. Demikian pula penentuan serotipe isolat adalah penting dalam penanganan penyakit, karena dengan menggunakan vaksin dan serum kebal yang sesuai dengan tipe isolat penyebab, diharapkan dapat menimbulkan daya perlindungan yang tinggi.

Tulisan ini mengulas tentang isolasi, identifikasi dan penentuan serotipe isolat *P. multocida* dari sapi Bali di Kupang, Nusa Tenggara Timur.

BAHAN DAN CARA

Bahan

Bahan untuk pemeriksaan (spesimen) adalah darah dan sediaan usap kapas nasofaring dari setiap ekor sapi Bali, baik yang klinis sakit SE maupun yang sehat. Sepuluh ekor sapi yang memperlihatkan tanda-tanda klinis SE di Kecamatan Kupang Timur dan 24 ekor sapi sehat yang dipotong di Rumah Potong Hewan (RPH) Kupang diambil spesimennya.

Cara

Rangkaian kegiatan terdiri dari penelitian lapangan (pengamatan tanda-tanda klinis SE pada sapi dan pengambilan spesimen) dan penelitian laboratorium, yaitu pemeriksaan bakteriologik yang meliputi pembiakan, mikroskopik, biokimiawi, biologik dan penentuan serotipe isolat (Osbaldiston, 1973; Carter, 1975; Carter & Chengapa, 1981; Bain *et al.*, 1982; Nagy *et al.*, 1982).

Pengamatan tanda-tanda klinis SE. Untuk menguatkan diagnosis penyakit SE pada sapi, selain berdasarkan anamnesis dari petugas dinas peternakan setempat dan peternak, juga dilakukan pengamatan tanda-tanda klinis SE di lokasi wabah.

Pengambilan (pengumpulan) spesimen. Spesimen darah diambil secara aseptik dari vena jugularis dengan jarum dan tabung venojek. Sediaan usap nasofaring diambil dengan mengusap kapas steril bertangkai pada selaput lendir ruang nasofaring. Semua spesimen selama masih berada di lapangan ditumbuhkan pada media transpor Amies atau Stuart.

Pemeriksaan bakteriologik. Segera setelah sampai di laboratorium Balai Penelitian Veteriner Bogor,

*) Karya tulis ini pernah disajikan pada Kongres Nasional ke IV Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia dan Pertemuan Pertama Mikrobiologi ASEAN di Jakarta, 2 - 4 Desember 1985.

spesimen dibiakkan pada medium pelat agar darah dan agar MacConkey. Koloni yang tumbuh diamati bentuk, warna, bidang permukaan dan baunya. Untuk melihat bentuk dan sifat Gramnya, dibuat sediaan mikroskopik dan diwarnai dengan pewarnaan Gram. Setelah diperoleh isolat murni, pekerjaan dilanjutkan dengan uji biokimiawi pada medium gula-gula (glukosa, laktosa, sukrosa, manitol dan sebagainya). Untuk mengetahui sifat patogenisitasnya dilakukan uji biologik dengan menyuntikkan suspensi koloni pada mencit. Setelah diperoleh isolat *P. multocida*, lalu ditentukan tipenya dengan menggunakan antiserum *P. multocida* standar tipe B dan E secara agar gel presipitasi (AGP).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanda-tanda Klinis SE pada Sapi

Dari sekelompok sapi Bali yang diberitakan ter-serang penyakit SE di Kecamatan Kupang Timur, ditemukan 10 ekor yang memperlihatkan tanda-tanda klinis, yaitu depresi, badan gemetar, mata sayu dan air mata keluar, nafsu makan dan memamah biak berkurang, oedema di daerah kepala, tenggorokan, leher bagian bawah dan gelambir, nafas ngorok, dari hidung dan mulut keluar lendir dan berbusa. Tanda-tanda ini sesuai benar dengan tanda-tanda klinis SE pada sapi (Golloway, 1974; Hungerford, 1975; Bain *et al.*, 1982).

Isolasi dan Identifikasi *P. multocida*

Dari 10 ekor sapi Bali dengan tanda-tanda klinis SE setelah spesimennya dibiakkan, tumbuh 3 isolat tersangka *P. multocida* dari 3 ekor (30%). Sedangkan dari 24 ekor sapi Bali normal yang dipotong di RPH Kupang, semuanya negatif *P. multocida*. Ketiga isolat tersebut yang masing-masing diberi kode K14, K17 dan K18, bentuk koloninya kecil, terang tembus, tidak menghemolisis eritrosit dan berbau khas. Sifat-sifat biokimiawi lainnya dari ketiga isolat tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Uji biologik pada mencit menunjukkan bahwa isolat K14 dan K17 bersifat patogenik, sedangkan isolat K18 tidak patogenik. Tidak semua galur *P. multocida* patogenik pada mencit, sehingga tidak mutlak atau harus dilakukan uji biologik pada mencit dalam mengisolasi dan mengidentifikasi *P. multocida* (Roberts, 1947; Bain *et al.*, 1982).

Dengan memperhatikan biakan, koloni, bentuk dan sifat Gram, sifat-sifat biokimiawi, biologik dan sesuai dengan uraian Osbaldiston (1973), Buchanan dan Gibbons (1975) dan Carter (1975) dapat dipastikan bahwa ketiga isolat tersebut adalah *P. multocida*.

Tabel 1. Sifat-sifat biokimiawi isolat tersangka *Pasteurella multocida*

Sifat-sifat isolat	Macam isolat		
	K14	K17	K18
Bentuk	kbb	kbb	kbb
Motilitas	-	-	-
Aerob	+	+	+
Pewarnaan Gram	-	-	-
MacConkey agar	-	-	-
Indol	+	+	+
Urease	-	-	-
Glukosa	+	+	+
Laktosa	-	-	-
Sukrosa	+	+	+
Manitol	+	+	+

kbb = kokus basilus bipoler; + = reaksi positif
- = reaksi negatif

Jenis spesimen yang menghasilkan isolat *P. multocida* adalah 2 dari sediaan usap nasofaring dan 1 dari darah (Tabel 2).

Terisolasinya *P. multocida* dari darah, karena sapi yang klinis SE ada dalam stadium bakteriemia, sedangkan terisolasinya dari sediaan usap nasofaring karena bakteri komensal di dalam saluran pernafasan, oleh karena sesuatu sebab menjadi patogenik dan menimbulkan penyakit SE (Bain *et al.*, 1982).

Beberapa faktor yang menyebabkan *P. multocida* menjadi patogenik dan menimbulkan penyakit SE pada sapi antara lain stress, terlalu banyak dipekerjakan, kurang makan dan perubahan iklim (Hungerford, 1975).

Tabel 2. Jenis spesimen sapi Bali yang klinis SE yang menghasilkan isolat *P. multocida*

Jenis spesimen	Kode Isolat	Sapi Klinis SE		
		No.	Umur (bln)	Kelamin
Darah	K14	14	6	Betina
Usap nasofaring	K17	17	6	Jantan
Usap nasofaring	K18	17	5	Jantan

Penentuan Serotipe Isolat *P. multocida*

Setelah ditentukan tipenya dengan menggunakan antiserum *P. multocida* tipe B dan E secara AGP, ternyata bahwa ketiga isolat *P. multocida* tersebut termasuk tipe B (Tabel 3). Hasil penentuan serotipe ini ternyata sangat sesuai dengan pendapat para peneliti lain bahwa *P. multocida* tipe B adalah penyebab utama penyakit SE di Asia, termasuk Indonesia (Prodjohardjono *et al.*, 1975; Carter & Chengapa, 1981; Bain *et al.*, 1982).

Tabel 3. Hasil penentuan serotipe isolat-isolat *P. multocida* secara AGP

Kode isolat	Antiserum <i>P. multocida</i> *)	
	Tipe B	Tipe E
K14	+	-
K17	+	-
K18	+	-

+ = reaksi positif; - = reaksi negatif.

*) Produk Welcome Biotechnology Ltd., London.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dalam batas-batas penelitian ini dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Dari kejadian penyakit SE pada sapi Bali di Kupang Timur, Provinsi Dati I Nusa Tenggara Timur dapat diisolasi dan diidentifikasi *P. multocida* sebanyak 30%.
2. Penentuan tipe isolat menunjukkan bahwa isolat tersebut adalah *P. multocida* tipe B.

Sebagai saran dapat dikemukakan hal-hal berikut:

1. Perlu penelitian lanjutan untuk mempelajari sifat-sifat biologik, serologik dan imunologik dari isolat untuk merintis pembuatan vaksin dan antisera yang sesuai dengan sifat-sifat dan tipe isolat.
2. Perlu diambil langkah-langkah pengamanan penyakit SE pada sapi, antara lain dengan vaksinasi, serum kebal, sanitasi dan hygiene perkandangan seta menghilangkan faktor-faktor predisposisi lain yang dapat menimbulkan penyakit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada Drh. A.R. Bale dan Drh. Umbu Nggiku, Staf Kesehatan Hewan Dinas Peternakan Provinsi Dati I Nusa Tenggara Timur atas bantuannya selama penelitian lapangan dilaksanakan, kami ucapkan

terima kasih. Ucapan yang sama juga ditujukan kepada Ny. Kusminah dan Sdr. Gerhat, teknisi pada Laboratorium Referensi Balitvet, atas bantuannya selama penelitian laboratorium dilaksanakan.

DAFTAR PUSTAKA

- BAIN, R.V.S., M.C.L. DE ALWIS, G.R. CARTER, and B.K. GUPTA. 1982. Haemorrhagic Septicaemia. FAO. UN. Rome.
- BROGDEN, A.K., and R.A. PACKER. 1979. Comparison of *Pasteurella multocida* serotyping systems. *Am. J. Vet. Res.* 9: 1332-1335.
- BUCHANAN, R.E., and N.E. GIBBONS. 1975. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, USA.
- CARTER, G.R. 1955. Studies on *Pasteurella multocida*. I. A haemagglutination test for the identification of serological types. *Am. J. Vet. Res.* 16: 481-484.
- CARTER, G.R. 1975. *Diagnostic Procedures in Veterinary Microbiology*. 2nd ed. Charles C. Thomas Publisher. Springfield, Illinois, USA.
- CARTER, G.R., and M.M. CHENGAPA. 1981. Identification of type B and E *Pasteurella multocida* by counterimmunoelectrophoresis. *Vet. Rec.* 14: 145-146.
- GOLLOWAY, J.H. 1974. *Farm Animals Health and Disease Control*. Lea and Febiger, Philadelphia, USA.
- HUNGERFORD, T.G. 1975. *Diseases of Livestock*. 8th ed. McGraw Hill Company, Sydney.
- MANGKOEWDIJOJO, S., A. BANGUN dan S. NITISUWIRJO. 1982. Beberapa penyakit ruminansia dan aspek penelitiannya. *Peremuan Ilmiah Ruminansia Besar. Cisarua, Bogor. 6-7 Desember*.
- NAGY, L.K., T. MACKENZIE, and K.R. PAINTER. 1982. Gell-Diffusion Test for Identification of *Pasteurella multocida* Type B and E (Carter). Welcome Biotechnology Ltd., London.
- OSBALDISTON, G.W. 1973. *Laboratory Procedure in Clinical Veterinary Bacteriology*. University Park Press. Baltimore, 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 septica*. *J. Comp. Path. & Therap.* 57: 261-278.