

# IDENTIFIKASI *PASTEURELLA MULTOCIDA* TYPE A DARI TONSIL SAPI SEHAT DI PROVINSI BALI, NTB DAN NTT TAHUN 2016 DAN 2017

Ni Luh Dartini, I Ketut Narcana, Anak Agung Gde Semara Putra

Balai Besar Veteriner Denpasar  
niluhdartini@yahoo.co.id, i.ketut.narcana.rara@gmail.com, aagputra@gmail.com

## ABSTRAK

*Pasteurella multocida* (*P.multocida*) merupakan bakteri patogen pada ternak ruminansia dan unggas. Beberapa penyakit yang disebabkan oleh *P.multocida* adalah *Septicaemia Epizootica* (SE) / *Haemorrhagic septicaemia* (HS) dan *septicaemia pasteurellosis* pada sapi dan kerbau, pneumonia dan *septicaemia pasteurellosis* pada kambing dan domba, pneumonia, *atropic rhinitis* dan *septicaemia* pada babi, serta *fowl cholera* pada unggas. *P.multocida* sering ditemukan sebagai flora normal pada nasopharyng dan saluran pernapasan bagian atas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan *P.multocida* pada sapi sehat. Sampel tonsil diambil dari beberapa rumah potong hewan (RPH) di Provinsi Bali, NTB, dan NTT tahun 2016 dan 2017. Di Laboratorium sampel tonsil dikultur pada media agar darah, koloni yang dicurigai *P.multocida* di subkultur untuk pemurnian dan identifikasi lebih lanjut. Identifikasi *P.multocida* dilakukan berdasarkan sifat koloni, morfologi, dan uji biokimia. Isolat *Pasteurella multocida* yang diidentifikasi selanjutnya dilakukan typing dengan diuji PCR menggunakan primer spesifik untuk *P.multocida* type B penyebab SE (KTSP61 dan KTT72) dan *P.multocida* type A (RGPMA5 dan RGPMA6). Dari 619 sampel tonsil dapat diidentifikasi 8 *P.multocida*. Hasil PCR menunjukkan bahwa semua isolat *P.multocida* yang diuji adalah type A, dengan memperlihatkan pita fragment sekitar 564-bp. Semua sampel negatif *P.multocida* type B penyebab SE.

Kata-kata kunci : *Pasteurella multocida* type A, PCR, tonsil sapi

## PENDAHULUAN

*P. multocida* dibagi menjadi berbagai serotipe dan masing-masing serotipe akan menggambarkan sifat penyakitnya. Berdasarkan sistem Carter, identifikasi serotipe dengan metode uji hemaglutinasi tidak langsung membagi *P. multocida* ke dalam 5 tipe antigen kapsul, yaitu tipe A, B, D, E dan F, sedangkan menurut sistem Heddleston, dengan metode gel diffusion precipitin test kuman ini dibagi menjadi 16 tipe antigen somatik, yaitu tipe 1 sampai 16. *P.multocida* dapat hidup secara normal di dalam saluran pernafasan bagian atas. Jika kondisi tubuh menurun, maka kuman ini akan bersifat pathogen dan menimbulkan gejala penyakit seperti napsu makan menurun, penurunan berat badan, bulu kusam dan berdiri, oedem, dan diare. Jika penyakit berlanjut dapat menimbulkan kematian. *P.multocida* merupakan bakteri patogen pada ternak ruminansia dan unggas. Beberapa penyakit yang disebabkan oleh *P.multocida* adalah *Septicaemia Epizootica* (SE) / *Haemorrhagic septicaemia* (HS) dan *septicaemia pasteurellosis* pada sapi dan kerbau, pneumonia dan *septicaemia pasteurellosis* pada kambing dan domba, pneumonia, *atropic rhinitis* dan *septicaemia* pada babi, serta *fowl cholera* pada unggas (Sugun MY, et. al.2016), *snuffles* pada kelinci (Krishna S.V. et. al.2017).

Di Indonesia, SE dikenal sebagai penyakit ngorok, disebabkan oleh *P.multocida* type B2, merupakan salah satu penyakit menular pada ruminansia terutama pada ternak sapi dan kerbau yang bersifat akut dan fatal (OIE, 2010; Jaglic *et al.*, 2006). Situasi penyakit ini secara umum di beberapa Negara Asia dan Afrika, termasuk di Indonesia masih bersifat endemis dan terkadang mewabah (Benkirane and Alwis, 2002). Penyakit ini secara ekonomis sangat merugikan. Selain akibat kematian yang ditimbulkan juga karena turunnya produktifitas ternak, hilangnya tenaga kerja, dan tingginya biaya untuk penanggulangannya, (Farooq *et al.*, 2007). Penyakit ini dikenal lama di Indonesia sebagai penyakit merugikan secara ekonomi, akibat dari kematian ternak, penurunan berat badan, kehilangan tenaga kerja (pembajak), dan biaya untuk pencegahan maupun pengobatannya.

Sebagai salah satu penyakit strategis di Indonesia, SE merupakan penyakit yang harus mendapat prioritas dalam penanggulangan dan pemberantasannya. Program pengendalian dan pemberantasan SE di Indonesia secara umum masih difokuskan pada kegiatan pencegahan wabah melalui vaksinasi massal hanya di kantung-kantung penyakit di suatu wilayah. Kegiatan ini masih belum efektif karena belum dilakukan secara intensif dan berkelanjutan. Keberhasilan untuk menciptakan suatu wilayah atau pulau yang bebas dari SE dapat diwujudkan dengan melakukan program pemberantasan yang terencana, melaksanakan program vasinasi massal yang mencakup seluruh populasi, dan dilanjutkan dengan program monitoring dan surveilans yang intensif terhadap keberadaan *P.multocida* pada hewan rentan. Untuk mengetahui keberadaan *P.multocida* pada sapi sehat di wilayah kerja BBVet Denpasar, maka telah dilakukan survei di Rumah Potong Hewan (RPH) di Provinsi Bali, Nusa Tenggara Barat (NTB), dan Nusa Tenggara Timur (NTT). Sampel tonsil diambil dari beberapa rumah potong hewan (RPH) di Provinsi Bali, NTB, dan NTT pada tahun 2016 dan 2017

## MATERI DAN METODE

**Sampel dan lokasi:** sampel tonsil diambil dari sapi sehat di Rumah Potong Hewan (RPH) di Provinsi Bali, NTB, dan NTT. Sampel tonsil yang telah diambil disimpan dalam keadaan beku sampai dibawa ke laboratorium.

**Isolasi dan identifikasi *P.multocida*:** sampel tonsil untuk isolasi dan identifikasi *P.multocida* diuji dengan cara kultur pada media agar dan uji biokimia (Cowan and Stell, 1974; Carter and Cole., 1990). Sampel dikultur pada media agar darah, kemudian diinkubasikan pada 37°C semalam. Koloni yang dicurigai *P.multocida* dilakukan subkultur pada media BA dan MC, inkubasikan pada 37°C semalam, untuk pemurnian dan mengetahui pertumbuhannya pada media MC. Koloni yang dicurigai diwarnai dengan pewarnaan Gram's dan amati morfologinya secara mikroskopis dengan menggunakan minyak immersi dan pembesaran mikroskop 1000x.

*P.multocida* adalah Gram's negatif, ovoid, pendek, bipolar yang sering dilihat coccoid. Selanjutnya dilakukan uji biokimia dan gula-gula. *P.multocida* yang diidentifikasi selanjutnya disimpan dalam media glycerol deef untuk pengujian selanjutnya.

**Polymerase chain reaction (PCR):** Primer yang digunakan untuk deteksi *P.multocida* type A dan *P.multocida* type B penyebab SE (OIE, 2012) adalah:

1. Primer sequences untuk HS-causing type-B-specific PCR  
KTT72 5'-AGG-CTC-GTT-TGG-ATT-ATG-AAG-3'  
KTSP61 5'-ATC-CGC-TAA-CAC-ACT-CTC-3'
2. Primers sequences untuk *Pasteurella multocida* tipe A spesifik PCR  
RGPMA5: 5'-AAT-GT-TTG-CGA-TAG-TCC-GTT-AGA-3'  
RGPMA6: 5'-ATT-TGG-CGC-CAT-ATC-ACA-GTC-3'

Semua PCR dilakukan dalam final volume 25ul, DNA template (50 ng) ditambahkan ke dalam campuran PCR (volume total 25 µl) yang mengandung 1 × buffer PCR, 200 µm setiap dNTPs, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 20 pmol masing-masing primer dan 1 unit Taq DNA polymerase. Kondisi amplifikasi adalah sebagai berikut: denaturasi awal pada 95°C selama 10 menit; 30 siklus 94°C untuk 1menit untuk denaturasi, aneling 55°C selama 1 menit, ekstension 72°C selama 2 menit, dilanjutkan dengan PCR final step 72°C selama 10 menit. Produk yang diperkuat dipisahkan dengan gel agarose elektroforesis (gel agarose 1,5%) dalam buffer 0,5 x TBE pada 5 v / cm selama 2 jam. Amplifikasi PCR menghasilkan produk sebesar 564 bp untuk *P.multocida* type A dan 620bp untuk *P.multocida* type B penyebab SE.

## HASIL

Sebanyak 619 sampel tonsil yang diterima selama tahun 2016 dan 2017, tiga ratus tujuh puluh tiga (373) tahun 2016 dan dua ratus dua puluh enam (226) tahun 2017. Dari 619 tonsil yang diuji dapat diidentifikasi 8 *P.multocida*, yaitu 7 isolat tahun 2016 dan satu (1) tahun 2017 (Tabel 1). Koloni yang dicirigai *P.multocida* dengan ciri berwarna putih keabu-abuan, tidak tumbuh pada media MC, tidak menghemolise darah pada media BA, dengan pewarnaan Gram's adalah gram's negative, cocco-bacilli dan kadang-kadang terlihat bipolar, catalase positif, dan oxidase positif. Hasil PCR menunjukkan bahwa semua isolat *P.multocida* yang diuji adalah type A, dengan memperlihatkan pita fragment sekitar 564-bp. Semua sampel negatif *P.multocida* type B penyebab SE.

Tabel 1. Jumlah sampel dan hasil isolasi identifikasi *P.multocida* tahun 2016-2017

Provinsi	Tahun 2016		Tahun 2017	
	Jumlah Sampel	Jumlah Positif <i>P.multocida</i>	Jumlah Sampel	Jumlah Positif <i>P.multocida</i>
Bali	269	6 (2,23%)	50	0
NTB	49	1 (2,04%)	80	1 (1,25%)
NTT	75	0	96	0
<b>Jumlah</b>	<b>393</b>	<b>7 (1,78%)</b>	<b>226</b>	<b>1 (0,44%)</b>

## PEMBAHASAN

Pada tahun 2016 dapat diisolasi 7 *P. multocida* dari sampel tonsil sapi secara klinis sehat yang diambil dari RPH Tabanan dan Gianyar semuanya *P. multocida* type A, tidak ditemukan *P. multocida* tipe B2 (penyebab SE). Hal ini sesuai dengan hasil Penelitian Dartini, *et al.*, 1996, menemukan bahwa *P. multocida* dapat diisolasi dari beberapa RPH yang ada di Provinsi Bali, setelah dilakukan uji typing dengan metode *indirect haemagglutinas*i dan *HS antigen ELISA* semua isolate yang diperoleh adalah *P. multocida* tipe A bukan tipe B2 penyebab SE. Hasil penelitian Shayegh J, *et al.*, 2010 di Iran menemukan bahwa dari 166 sampel yang diuji dapat diidentifikasi 26 *P. multocida*, dua puluh dua (22) isolat dari sapi dan kerbau sehat. Diantara 22 isolat tersebut 7 isolat *P. multocida* type A, masing-masing satu isolate dari sapi sehat, satu isolate dari sapi dengan pneumonia, satu isolate dari sapi dengan mastitis dan empat (4) isolat dari kerbau sehat. *P. multocida* umumnya merupakan bakteri pathogen dan dapat dideteksi pada sampel tracheobronchial lavage sebesar 26,4% dari sapi sehat, 32,6% dari sapi suspected sakit, dan 42,3% dari sapi sakit (Dabo S.M, 2008).

*P. multocida* dapat hidup secara normal di dalam saluran pernafasan bagian atas. Jika kondisi tubuh menurun, maka kuman ini akan bersifat pathogen dan menimbulkan gejala penyakit seperti napsu makan menurun, penurunan berat badan, bulu kusam dan berdiri, oedem, dan diare. Jika penyakit berlanjut dapat menimbulkan kematian. Bakteri tersebut dapat menyebabkan beberapa panyakit penting pada hewan, antara lain pneumonia pada sapi dan SE pada sapi dan kerbau. Ada lima type *P. multocida* berdasarkan antigen kapsulnya yaitu type A, B, D, E dan F, dengan metode IHA dan PCR. *P. multocida* type A merupakan salah satu bakteri yang berhubungan dengan pneumonia pada sapi. Bakteri tersebut sering dapat diisolasi dari kasus pneumonia sapi dan sapi sehat (Shayegh J, *et al.*, 2010).

*P. multocida* adalah bakteri Gram-negatif patogen diklasifikasikan menjadi lima serotipe kapsuler dan 16 serotipe somatik. *P. multocida* serotipe A komensal pada nasofaring sapi, patogen pada sapi dan sering

dapat diisolasi dari bovine respiratory disease (BRD), *P.multocida* type A merupakan salah satu penyebab utama kasus bovine respiratory disease (BRD) (Dabo S.M, 2008), *P.multocida* type A merupakan penyebab penyakit pada hewan antara lain *snuffles* infeksi saluran pernapasan bagian atas pada kelinci (Krishna S.V. *et. al.*2017), juga berhubungan dengan bovine pneumonia, dan *P.multocida* type A sering dapat diisolasi dari kasus pneumonia pada sapi dan sapi sehat (Shayegh J, *et al.*, 2010). Kasus penyakit saluran pernapasan dapat berkontribusi terhadap kerugian ekonomi dan pembangunan socio-ekonomi pada peternak (Kabeta T. *et. al.* 2015). Kasus penyakit yang disebabkan oleh *P.multocida* type A di Provinsi Bali, NTB, dan NTT belum pernah dilaporkan. Untuk itu perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui patogenitas *P.multocida* type A.

## KESIMPULAN

Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa:

1. Semua isolate *P.multocida* yang dapat diisolasi dari tonsil sapi secara klinis sehat dari beberapa RPH di Provinsi Bali, NTB, dan NTT tahun 2016 dan tahun 2017 adalah *P.multocida* type A.
2. Tidak ditemukan *P.multocida* type B penyebab SE.

## SARAN

Untuk mengetahui peranan/patogenitas *P.multocida* type A yang teridentifikasi terhadap ternak sapi, kerbau dan ternak lainnya, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Benkirane A. and De Alwis M.C.L. (2002). Haemorrhagic Septicaemia, Its Significance, Prevention and Control in Asia. *Vet.Med-Czech*.47(8): 234-240.
- Carter.G.R. and Cole J.R. (1990). Diagnostic Procedures in Veterineray Bakteriologu and Mycology. 5<sup>th</sup> ed. Academic Press inc. San Diago, California. Hal. 129 – 139.
- Cowan.S.T. and Steel's (1974). Manual for the Identification of Medical Bacteria. 2<sup>nd</sup> ed.Cambridge University Press.93-95.
- Dabo S.M; Taylor J.D; and Confer A.W. (2008). Pasteurella multocida and bovine respiratory disease. *Animal Health research Reviews* 8(2):129-150. DOI:10.1017/S1466252307001399.

- Dartini N.L. and Ekaputra A 1996. Abatoar Survei. Kumpulan Abstrak. International Workshop on Diagnosis and Control of Haemorrhagic Septicaemia. Kuta, Denpasar, Bali 28-30 Mei 1996.
- Farooq U., Hussain M., Irshad H., Badar N., Munir R., and Ali Q. 2007. Status Haemorrhagic Septicaemia Based On Epidemiology In Pakistan. *Pakistan Vet.J.* 27(2):67-72.
- Jaglic Z., Kucerova Z., Nedbalcova K., Kulich P., and Alexa P. 2006. Characterisation of *Pasteurella multocida* Isolated from Rabbits in the Czech Replublic. *Veterinarni Medicina.*51(5):278-283
- Kabeta T; Fikuda T; Zenebe T; and Kebede G. (2015). Review on the Pneumonic Pasteurellosis of Cattle. *Academic Journal of Animal Disease* 4(3):177-184.DOI: 10.5829/idosi.ajad.2015.4.3.9674.
- Krisna S.V.; Agarwal R.K.; and Nagaleekar V.K. (2017). Capsular Typing and antibiogram Study of *Pasteurella multocida* Isolates of Rabbit Origin *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.*6(12): 4352 4357.<https://doi.org/10.20546/ijcems.2017.612.499>.
- OIE,(2012). *Haemorrhagic Septicaemia*. Terrestrial Manual 2012. Chapter 2.4.12. hal. 1- 13.
- Sugun MY; Kwaga JKP; Kazeem MH; Ibrahim NDG. And Turaki AU (2016) Isolation of Uncommon *Pasteurella multocida* Strains from Cattle in North Central Nigeria. *J Vaccines Vaccin* 7.3
- Shayegh J; Atashpaz S; Salehi T.Z; and Hejazi M.S. (2010) Potential of *Pasteurella multocida* isolated from healthy and diseased cattle and buffaloes in induction of diseases. *Bull Vet Inst Pulawy* 54 (299-304).