

## **KHOLERA UNGGAS DAN PROSPEK PENGENDALIANNYA DENGAN VAKSIN *Pasteurella multocida* ISOLAT LOKAL**

TATI ARIYANTI dan SUPAR

*Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. R.E. Martadinata No. 30, Bogor 16114*

(Makalah diterima 10 Desember 2007 – Revisi 4 Pebruari 2008)

### **ABSTRAK**

Penyakit pasteurellosis atau kholera unggas yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Pasteurella multocida* grup A dan D, terjadi secara sporadis di daerah-daerah pengembangan itik dan ayam di berbagai belahan dunia termasuk di Indonesia. Patogenitas infeksi *P. multocida* pada unggas ditentukan oleh antigen lipopolisakarida (LPS) kapsul A, D, dan faktor resistensi terhadap komplemen *mediated* bakteriolisis. Pengendalian penyakit bakterial pada peternakan intensif dilaporkan menggunakan antibiotik yang dicampurkan dalam pakan dan air minum, namun kasus pasteurellosis masih sering terjadi. Pengendalian kholera unggas di luar negeri dengan menggunakan vaksin kholera inaktif telah lama dilakukan tetapi vaksin kholera inaktif tersebut dilaporkan tidak efektif karena tidak memberikan proteksi silang terhadap galur atau isolat yang heterolog. Beberapa isolat *P. multocida* dari ayam dan itik dari beberapa tempat di Indonesia telah dikarakterisasi sifat antigenisitas dan imunogenitasnya dalam bentuk vaksin monovalen atau bivalen. Hanya vaksin kholera inaktif monovalen BCC 2331 atau DY2 yang mempunyai sifat imunoprotektif terhadap ujiantang galur homolog dan heterolog. Prototipe vaksin bivalen (BCC 2331+DY2) mempunyai daya imunoprotektif terhadap ujiantang bakteri hidup secara individu atau campuran BCC 2331+DY2, rata-rata 60 – 75% dan 75 – 100%. Vaksin monovalen dan bivalen dari isolat lain dan galur acuan impor tidak ada yang memberikan proteksi. Dari studi retrospektif ini disimpulkan bahwa *P. multocida* isolat lokal BCC 2331 dan DY2 kemungkinan dapat dipakai sebagai kandidat prototipe vaksin atau *master seed* vaksin kholera unggas, namun diperlukan uji efektivitasnya pada kondisi lapang yang lebih luas.

**Kata kunci:** *Pasteurella multocida*, isolat Indonesia, vaksin inaktif, kholera unggas

### **ABSTRACT**

#### **FOWL CHOLERA AND ITS CONTROL PROSPECT WITH LOCALLY ISOLATED *Pasteurella multocida* BIVALENT VACCINES**

Pasteurellosis or fowl cholera disease which associated with *Pasteurella multocida* group A and D infections occurred sporadically in many parts of the world, including in Indonesia. The pathogenic activity of *P. multocida* in chickens were based on lipopolysaccharide (LPS) antigens associated with group A and D capsules, and the resistance factor of complement mediated bacteriolysis in animals. In order to reduce common bacterial infections, antibiotics were routinely used as feed additive or by drinking water, but fowl cholera cases still occur. Fowl cholera control by vaccinations have been used more than a hundred years ago by means of inactive vaccine, but imported inactive vaccine was reported not effective due to lack of cross protection against heterologous serotype. At present, many local *P. multocida* isolates from chicken and ducks from many areas in Indonesia were characterised for their antigenicity, immunogenicity and prepared as monovalent or bivalent vaccine. Only the monovalent vaccine prepared from BCC 2331 or DY2 demonstrated the presence of immunoprotection against homologous and heterologous challenged with live bacteria. The prototype bivalent vaccine consisting of BCC 2331 + DY2 demonstrated high degree of cross protection against challenged individual with or mixed of BCC 2331 + DY2 at average of 60 – 75% and 75 – 100%, respectively. Monovalent and bivalent vaccine prepared from other isolates including imported reference strains of *P. multocida* demonstrated no protection in experimentally vaccinated ducks and chicken against challenged with live bacteria of neither BCC 2331 nor with DY2. From these retrospective studies, it was concluded that the local isolates *P. multocida* designated as BCC 2331 and DY2 could be used as candidates of prototype vaccine or master seed vaccine but their effectiveness still need to be evaluated under field conditions.

**Key words:** *Pasteurella multocida*, Indonesian isolates, inactive vaccines, fowl cholera

### **PENDAHULUAN**

Penyediaan protein hewani sangat penting dalam rangka mendukung sumber daya manusia. Unggas merupakan salah satu sumber protein hewani yang

cukup murah, sehingga pengadaannya perlu ditingkatkan untuk memenuhi kebutuhan. Namun demikian, para peternak unggas banyak menghadapi berbagai kendala penyakit, salah satu penyakit yang sering dilaporkan adalah penyakit kholera unggas atau

pasteurellosis. Kholera unggas disebabkan oleh infeksi bakteri *Pasteurella multocida* serotipe A : 1 (RHOADES dan RIMLER, 1990) dan dikenal sejak lebih dari seratus tahun yang lampau. Pertama kali dilaporkan terjadi wabah yang menyerang ayam di negara-negara di Eropa pada tahun 1728 dan di Amerika Serikat pada tahun 1867 (LAYTON, 1984). Penyakit tersebut juga sering menyerang peternakan itik segala umur dengan prevalensi sekitar 30 – 50%. Tingkat kematian itik karena kholera di daerah Jawa Barat dan Jakarta sekitar 30 – 50% (SINURAT *et al.*, 1992). Sebelumnya telah dilaporkan oleh POERNOMO (1980), bahwa kematian akibat pasteurellosis pada peternakan itik intensif mencapai 62% dari populasi 1400 ekor. Itik merupakan jenis unggas yang paling rentan terhadap kholera (RHOADES dan RIMLER, 1990), kasus penyakit dapat ditemukan dalam bentuk perakut, akut dan kronis. Mortalitas pada itik muda dapat mencapai 100%.

Penanggulangan penyakit kholera pada peternak ayam atau praktisi industri perunggasan dilakukan dengan penggunaan obat-obat antibiotik *broad spectrum* yang dicampur dalam pakan atau air minum. Efektivitas penggunaan antibiotik tersebut tidak pernah dilakukan *monitoring* dan keluhan dugaan terjadinya infeksi kholera masih sering dilaporkan (SUPAR *et al.*, 2000). Pencegahan penyakit kholera unggas dengan vaksin kholera impor pernah dicoba pada ayam percobaan akan tetapi hasilnya kurang efektif, karena tidak ada reaksi proteksi silang di antara serotipe (SJAMSUDIN, 1985; CHOI *et al.*, 1989; MATSUMOTO *et al.*, 1991; COY *et al.*, 1997). Masalah kholera unggas dengan penyebab bakteri *Pasteurella* spp. perlu dikaji lebih seksama sifatnya, karena menimbulkan masalah pada industri perunggasan. Sifat-sifat bakteri yang perlu dikaji lebih lanjut adalah sifat-sifat antigenisitas dan imunitasnya untuk pengembangan vaksin. Telah lama diketahui bahwa aplikasi antigen bakterin yang disiapkan dari *P. multocida* asal itik penderita kholera dapat memberikan proteksi yang efektif terhadap kholera itik dan ayam (HILBERT dan TAX, 1938).

Pada makalah ini dikemukakan kajian retrospektif tentang berbagai aspek etiologi penyakit kholera pada ayam dan itik serta pengembangan vaksin kholera unggas isolat lokal yang telah diuji pada ayam maupun itik pada kondisi laboratorium.

## ETIOLOGI KHOLERA UNGGAS

Lebih dari satu abad yang lampau, Louis Pasteur telah melakukan penelitian pengembangan vaksin dari berbagai jenis bakteri, salah satunya ialah vaksin kholera unggas (*Pasteurella multocida*) pada tahun 1878 (LAYTON, 1984). *P. multocida* termasuk dalam famili Pasteurellae bersifat Gram-negatif, fakultatif anaerob dan fermentatif, dapat menimbulkan berbagai penyakit, seperti: septisemia, penyakit pernafasan pada

berbagai jenis hewan mamalia, unggas dan hewan liar. Bakteri kelompok tersebut terdiri dari 3 genus, yakni: Pasteurella, Haemophilus dan Actinobacillus. Seperti telah didiskripsi dalam *Bergey's manual of determinative bacteriology* (HOLT *et al.*, 1994), genus Pasteurella terdiri dari 6 spesies yang mempunyai sifat-sifat beta hemolisis, adanya pertumbuhan pada media Mc Conkey, membentuk indol, pembentukan gas dari karbohidrat, asam dari laktosa dan manitol. Spesies penting dari genus Pasteurella, yakni: *P. multocida*, *P. haemolytica*, *P. urea*, *P. aerogenes* dan *P. gallinarum*. Dua spesies yang mempunyai arti secara ekonomi penting dalam bidang peternakan ialah *P. haemolytica* dan *P. multocida*, karena sering menimbulkan kematian ternak ruminansia dan unggas.

*P. multocida* secara konvensional berdasarkan sifat antigen kapsul/sifat reaksi hemaglutinasinya dibedakan menjadi 5 serogrup yaitu A, B, D, E atau F (CARTER dan RUNDEL, 1975; RHOADES dan RIMLER, 1990). Sedangkan berdasarkan sifat-sifat antigen somatik, strain *P. multocida* dapat dibedakan menjadi 16 serotipe atas dasar reaksi difusi presipitasi (HEDDLESTON *et al.*, 1972). Semua serotipe kecuali grup E dilaporkan dapat diisolasi dari berbagai jenis unggas (RHOADES *et al.*, 1989). *P. multocida* serogrup B dan E menyebabkan *hemorrhagic septicaemia* (HS) atau septisemia epizootika (SE) pada ternak ruminansia, dan serogrup A menyebabkan pleuropneumonia fibrosa (CARTER dan De ALWIS, 1989). *P. multocida* serogrup A (serotipe 1, 3, 4) menyebabkan penyakit kholera unggas atau *fowl cholera* pada ayam dan kalkun yang ditandai juga dengan septisemia akut dengan gejala spesifik adanya koagulasi darah pada pembuluh darah (RHOADES dan RIMLER, 1987). Dalam upaya pengendalian penyakit kholera unggas maka dibuat vaksin yang sesuai dengan sifat-sifat antigenisitas dan imunogenisitasnya yang mempunyai daya proteksi yang efektif (MAHERAWAN *et al.*, 1992; DABO *et al.*, 1997). Dilaporkan oleh POERNOMO (1980) bahwa pengendalian masalah wabah penyakit *fowl cholera* pada peternakan itik di Indonesia dapat dikendalikan secara efektif dengan vaksin otogenus (SJAMSUDIN, 1980).

## Imunogen *Pasteurella multocida*

Lipopolisakarida (LPS) dari beberapa galur *P. multocida* mempunyai sifat kimia dan biologis serupa dengan R-type LPS dari Gram negatif yang lain (LUGTENBERG *et al.*, 1984). LPS dari *P. multocida* bersifat antigenik akan tetapi imunogenisitasnya tergantung pada spesies hewan, tipe LPS, rute inokulasi dan metode inokulasi (RIMLER dan PHILIP, 1986). LPS dilaporkan merupakan komponen imunogen penting yang dapat menginduksi kekebalan pada ayam kalkun (TSUJI dan MATSUMOTO, 1988), akan tetapi pada mamalia tidak memberikan imunoproteksi pada uji tantangan terhadap *P. multocida* serotipe non homolog

(RIMLER dan ROADHES, 1989). LPS-antibodi monoklonal mempunyai efek bakterisidal pada mencit yang ditantang dengan *P. multocida* homolog (WIJewardana *et al.*, 1990).

Komponen antigen lain berupa *outer membrane protein* (OMP) dilaporkan dapat menimbulkan respon antibodi yang bersifat imunoprotektif terhadap ujiantang bakteri aktif *P. multocida* yang homolog, terdiri dari fraksi OMP yang mempunyai berat molekul 27, 37, 49, 59 dan 64 kilo Dalton (kD) (LU *et al.*, 1988). Protein yang berbobot 37 kD bersifat imunoprotektif pada mencit dan kelinci terhadap ujiantang galur yang homolog (RIMLER dan RHOADES, 1989). Disamping itu, *P. multocida* tertentu yang tergolong dalam serogrup A dan D mempunyai protein toksin dengan berat molekul 145 kD, bersifat toksik terhadap jaringan paru embrio sapi dan sel Vero, mempunyai efek lethal terhadap mencit dan unggas, menginduksi lisis turbinat babi serta menyebabkan hemoragik dan nekrosis pada kulit marmot (RIMLER dan BROGDEN, 1986). Serotipe *P. multocida* toksigenik tersebut juga bersifat patogenik dan menyebabkan *atropic rhinitis* pada babi. Akan tetapi toksin tersebut tidak bersifat ekstraselular (THURSTON *et al.*, 1991).

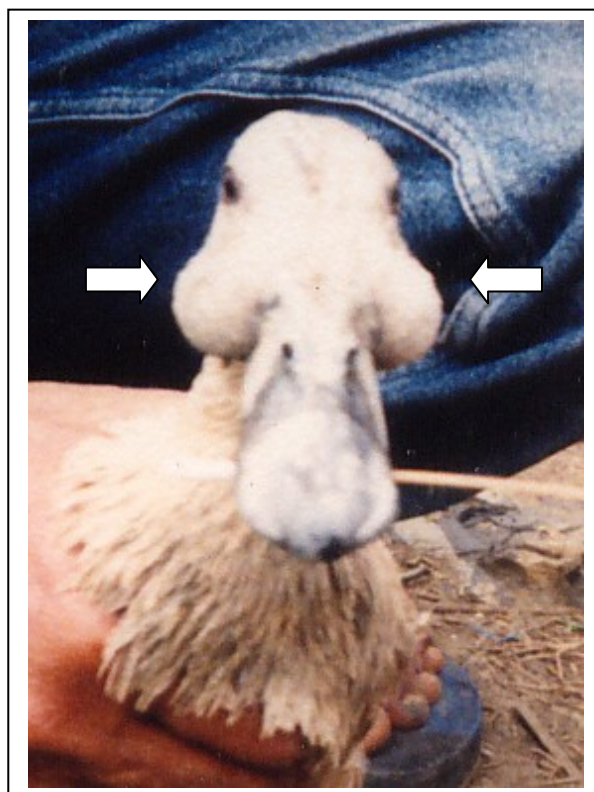
#### **Patogenesis galur *P. multocida* pada unggas**

Manifestasi gejala klinis dan patologik akibat infeksi *P. multocida* pada unggas diantaranya ialah septisemia, koagulasi darah intravaskular, hemoragik *petechiae*, multifokal hepatik, splenik nekrosis dan pneumonia fibrinosa. Infeksi yang kronis menunjukkan adanya lokalisasi fibrinopurulen (nanah) atau nekrosis pada daerah kepala atau sinus hidung yang berupa pembengkakan kepala (Gambar 1). Apabila swab sinus hidung atau cairan hidung tersebut ditumbuhkan secara *in vitro* pada medium agar ditambah darah domba, kultur murni bakteri *P. multocida* akan tumbuh pada medium tersebut setelah inkubasi 37°C selama 24 jam (SUPAR *et al.*, 2000). Lokasi fibrinopurulen juga dapat ditemukan pada daerah organ lain seperti kantong hawa, paru-paru, jengger, telapak kaki, tulang dan persendian (CARTER dan DE ALWIS, 1989).

Faktor virulensi dari *P. multocida* yang penting dalam menimbulkan penyakit ialah antigen LPS (RIMLER *et al.*, 1984), kapsul (TSUJI dan MATSUMOTO, 1988), plasmid dan faktor resistensi terhadap komplemen *mediated* bakteriolisis (LEE *et al.*, 1991), namun demikian mekanisme terjadinya penyakit pada hewan terinfeksi tidak banyak diketahui.

Faktor virulensi LPS dilaporkan oleh RIMLER *et al.* (1984) dan HEDDLESTON *et al.* (1972) bahwa LPS dari 13 serotipe *P. multocida* dapat diekstraksi dengan menggunakan bahan campuran ekstraksi *phenol-chloroform-petroleum* (PCP) sedangkan 3 serotipe *P. multocida* lainnya yaitu serotipe 3, 9 dan 13 hanya dapat

diekstraksi dengan campuran air dan phenol. Semua LPS mengandung glukosa, 2-keto-3-deoxyoctanate dan heptose. Heptose terdiri dari 2 isomer yaitu D-glycero-D-mannoheptose dan L-glycero-D-mannoheptose. Dua isomer tersebut dideteksi dari serotipe 2 dan 5. LPS dari serotipe 2 bersifat imunoprotektif terhadap serotipe 5 dan disinyalir LPS tersebut berhubungan dengan penyebab hemoragik, septikemia dan *fowl cholera*. Rhamnosa merupakan komponen serotipe 9 dan galaktose terdapat pada semua jenis LPS kecuali serotipe 11. LPS dari *P. multocida* mempunyai *buoyant* densitas dalam C<sub>5</sub>Cl antara 1,40 ± 0,0148 g/ml dan semuanya menghemolisis sel darah merah ayam, kalkun, biri-biri atau kuda.



**Gambar 1.** Pembengkakan daerah kepala pada itik yang terinfeksi kronis *P. multocida* (Foto dibuat di peternakan itik yang terserang wabah *fowl cholera* dengan populasi tinggal 20%, di daerah Brebes pada bulan Januari 1999)

Seperti telah disebutkan di atas bahwa *P. Multocida* mempunyai pembungkus ekstraselular berupa kapsul yang terdiri dari tipe A, B, D, E atau F. Keterkaitan yang penting dengan penyakit yang ditimbulkan adalah tipe A berasosiasi dengan *fowl cholera*, tipe B dan E dengan septikemia dan tipe D dengan atropik rhinitis karena bersifat toksigenik. Kapsul merupakan *highly hydrated polysaccharides* di luar sel dan melekat pada dinding sel dan diduga

berfungsi melindungi sel bakteri terhadap kekeringan, pengaruh fagositose dan aktivitas reaksi komplemen dari serum hospes. Kapsul tersebut terdiri dari asam hialuronat yang dapat memberikan manifestasi pertumbuhan *in vitro* berupa sifat koloni yang mukoid. *P. multocida* berkapsul (*wild type*) ini dapat tumbuh dengan baik dalam jaringan otot, sebaliknya apabila kapsul *P. multocida* dihilangkan dan ditumbuhkan dalam jaringan otot, bakteri tersebut tidak dapat tumbuh dengan baik. Oleh karena itu, kapsul diduga merupakan material pelindung sel bakteri atau faktor virulensi bakteri tersebut (CHUNG *et al.*, 2001).

#### Antigen protektif *P. multocida* galur unggas

Dalam pengembangan vaksin *P. multocida* untuk penanggulangan penyakit dilaporkan bahwa vaksin kholera unggas yang dibuat dalam bentuk inaktif menggunakan bakteri *P. multocida* yang ditumbuhkan secara *in vitro* di bawah kondisi laboratorium tidak dapat memberikan proteksi silang terhadap bakteri ujiantang galur yang heterolog. Sedangkan vaksin aktif *P. multocida* dari galur patogenik yang dilemahkan dapat memberikan proteksi silang pada ujiantang terhadap galur yang heterolog. Dengan demikian terdapat faktor antigen protektif yang terbentuk secara *in vivo* (RIMLER dan RHOADES, 1987).

Pengembangan vaksin kholera yang baik dan cocok untuk pengendalian penyakit kholera sebaiknya ditentukan oleh antigen yang dapat menginduksi kekebalan yang bersifat protektif atau imunoprotektif baik terhadap yang homolog atau proteksi silang terhadap patogen heterolog. Dilaporkan oleh SYUTO dan MATSUMOTO (1982) bahwa *P. multocida* (P109) yang ditumbuhkan dalam medium bakteri ditambah darah kalkun atau ayam dapat membentuk protein yang mempunyai berat molekul 44, 31 dan 25 kD dan bersifat imunoprotektif. Peneliti lain melaporkan bahwa, fraksi dari *lysate turkey grown P. multocida* yang dianalisis secara sukrosa gradien sentrifugasi (fraksi bagian atas dan bawah) dapat memberikan proteksi silang terhadap ujiantang galur bakteri *P. multocida* heterolog. Akan tetapi bila ditumbuhkan dalam medium agar tanpa darah ayam atau kalkun di laboratorium, proteksi silang tidak terjadi (BROGDEN dan RIMLER, 1982). Antigen imunoprotektif yang berhubungan dengan faktor proteksi silang dari kultur *in vivo* galur *P. multocida* merupakan fraksi protein, setelah dianalisis secara SDS-PAGE dan *immunoblotting* menunjukkan berat molekul antara 59 – 65 kD dan 39 kD bertanggung jawab terhadap imunoproteksi silang (RIMLER, 1994).

Dari kajian retrospektif diketahui bahwa vaksin yang dapat memberikan proteksi silang, bakteri dalam vaksin harus dipropagasi atau diinokulasikan ke dalam tubuh kalkun atau ayam. Namun apabila ayam atau

kalkun tersebut diberi pengobatan antibiotika secara injeksi atau peroral sebagai *feed additive*, maka respon proteksi silang (respon antibodi yang terbentuk) dari vaksin aktif *P. multocida*, sangat rendah atau kurang protektif (HEDDLESTON *et al.*, 1972; DERIEUX, 1977).

### WAKSIN KHOLERA UNGGAS

Penggunaan vaksin kholera unggas di luar negeri telah dilakukan sejak agen penyebab penyakit tersebut ditemukan pertama kali. Pada awalnya vaksin inaktif kholera unggas yang digunakan berupa vaksin *P. multocida* otogenus inaktif atau mati, vaksin tersebut dapat memberi proteksi yang baik di tempat terjadinya wabah kholera unggas (HILBERT dan TAX, 1938). Akan tetapi vaksinasi dengan vaksin inaktif tersebut tidak dapat memberikan proteksi silang. Vaksin inaktif isolat *P. multocida* yang ditumbuhkan dalam medium yang ditambah dengan darah kalkun atau ditumbuhkan dalam telur kalkun berembrio dapat memberikan proteksi silang, tetapi tidak protektif pada hewan percobaan mencit (HEDDLESTON dan REBERS, 1973). Selanjutnya dilaporkan bahwa vaksin aktif galur *P. multocida* yang dilemahkan dapat memberikan proteksi silang terhadap galur heterolog. Namun penggunaan vaksin aktif *P. multocida* avirulen dapat memberikan efek negatif, yakni penurunan bobot badan dan penyebaran bakteri di lapangan (HOPKIN dan OLSON, 1997). Vaksin aktif kholera unggas yang telah diteliti dan digunakan pada peternakan kalkun dapat menimbulkan problem lesi di tempat injeksi vaksin pada persendian lutut dan bagian sternum daerah bursal. Hal ini diduga terjadi karena antibodi sulit mencapai daerah bursal maupun sendi lutut dan bakteri dapat hidup di tempat tersebut. Mekanisme ketidaksesuaian antara vaksin dan permasalahan pasteurellosis yang berkaitan dengan proteksi silang tidak diketahui, walaupun banyak vaksin hidup atau vaksin kholera inaktif diproduksi dan dipakai untuk pengendalian penyakit kholera unggas (HOMCHAMPA *et al.*, 1997). Hal ini kemungkinan akibat efikasi vaksin aktif atau inaktif komersial tidak baik sehingga masih perlu penelitian dan pengembangan vaksin kholera unggas dengan daya proteksi yang baik. Daya proteksi vaksin yang dibuat dari galur *wild type* lebih baik karena dapat memberikan imunoproteksi terhadap galur sejenis yang telah mengalami pasase *in vitro* secara berulang-ulang.

Di Indonesia pada periode 1970-an terjadi wabah kholera itik yang menimbulkan banyak kematian pada sebuah peternakan itik intensif di daerah Tangerang, Jawa Barat (POERNOMO, 1980). Kematian itik pada wabah kholera unggas tersebut dapat dikendalikan dan dihentikan dengan aplikasi vaksin kholera otogenus (SJAMSUDIN, 1980). Selanjutnya SJAMSUDIN (1985) melaporkan tentang studi komparasi antara vaksin

kholera komersial dengan vaksin kholera isolat lokal. Hasil uji menunjukkan bahwa vaksin komersial hanya memberikan proteksi 33% pada ayam percobaan yang ditantang dengan isolat lokal (kode: 57/79). Sedangkan pada kelompok ayam yang diinjeksi dengan 2 dosis vaksin inaktif isolat lokal dapat memberikan proteksi 50%. Setelah 3 tahun kemudian dilakukan pengujian ulang dengan isolat yang sama, hasil proteksinya tetap yaitu 50% (SYAMSUDIN, 1988). Penelitian SJAMSUDIN (1980; 1985; 1988) belum dapat memberikan petunjuk bahwa isolat yang diuji dapat memberikan proteksi yang lebih baik bila akan diuji di lapang. Vaksin tersebut masih perlu diteliti lebih lanjut tentang sifat virulensi, antigenitas dan imunogenitasnya.

Kebanyakan vaksin kholera unggas dibuat dalam bentuk inaktif, namun demikian vaksin tersebut tidak dapat memberikan proteksi silang terhadap ujiantang galur *P. multocida* yang berbeda atau heterolog (RIMLER, 1994). Dari hasil penelitian RAMDANI (1997) dilaporkan bahwa vaksin SE inaktif isolat lapang dapat memberikan imunoprotektif yang lebih baik. Dengan demikian untuk meningkatkan efektivitas vaksin kholera unggas inaktif perlu dipertimbangkan dan dibuat vaksin yang terdiri dari beberapa serotipe atau isolat lapang yang sesuai dengan penyebaran serotipe *P. multocida* di lapang.

#### ***Vaksin kholera isolat lokal untuk ayam dan itik di Indonesia***

Dewasa ini Balai Besar Penelitian Veteriner (Bbalitvet) mempunyai banyak isolat *P. multocida* dan galur acuan yang berasal dari ayam dan itik yang disimpan pada unit Bbalitvet *Culture Collection* (BCC). Sebagian isolat lokal *P. multocida* dari itik telah dipelajari sifat patogenitasnya pada hewan coba mencit, ayam dan itik (SUPAR *et al.*, 2000). Penelitian pengembangan vaksin kholera unggas di Indonesia didasarkan pada hasil respon antibodi dan ujiantang terhadap isolat lokal (BCC 299, BCC 2331, DY1, DY2, 12TG, 15TG) dan galur acuan impor (BCC 1359 dan BCC 1362). Vaksin inaktif, diinjeksikan pada hewan ayam dan itik di bawah kondisi laboratorium, untuk mengetahui daya antigenitas, imunogenitas dan daya proteksinya terhadap ujiantang isolat lokal *P. multocida* yang paling patogenik (BCC 2331 dan DY2). Selain dibuat vaksin monovalen, juga dibuat vaksin bivalen isolat lokal (BCC 2331 + DY2, BCC 299 + DY1, 12TG + 15TG) dan vaksin bivalen galur acuan impor (BCC 1359 dan 1362) (SUPAR *et al.*, 2001a).

Monitoring respon antibodi ayam yang divaksin kholera unggas monovalen terhadap antigen somatik dari isolat lokal (BCC 2331 dan DY2) pada umumnya cukup baik. Akan tetapi respon antibodi ayam terhadap antigen ekstraselular (toksin ekstraselular yang dibuat

dari isolat lokal BCC 2331 atau DY2) dari kelompok ayam yang divaksin monovalen BCC 299, DY1, 12TG, 15TG, galur acuan impor BCC 1359 dan BCC 1362, dan vaksin bivalen isolat BCC 299 + DY1, 12TG + 15TG dan bivalen galur acuan impor BCC1359 + 1362 hampir tidak ada atau tidak terdeteksi secara ELISA. Sedangkan ayam yang divaksin monovalen BCC 2331 dan DY2 dan vaksin bivalen BCC 2331 + DY2 menunjukkan respon antibodi terhadap antigen toksin ekstraselular sangat tinggi. Oleh karena itu, setelah ayam percobaan tersebut divaksin dan ayam kontrol ditantang dengan bakteri hidup BCC 2331 dan atau DY2 semuanya mati, kecuali kelompok ayam yang divaksin monovalen BCC 2331, DY2 dan kelompok bivalen BCC 2331 + DY2 memberikan proteksi rata-rata 75 – 100%. Dari percobaan ini menunjukkan bahwa kedua isolat lokal *P. multocida* dengan kode BCC 2331 dan DY2 mempunyai antigen virulensi yang bersifat imunoprotektif dan tidak ditemukan dalam isolat lokal yang lain maupun dari galur acuan impor (SUPAR *et al.*, 2001a).

Pengujian daya proteksi vaksin bivalen *P. multocida* isolat lokal pada itik memberikan hasil serupa dengan hasil pada ayam yakni vaksin monovalen dan vaksin bivalen dapat memberikan daya proteksi silang 67% terhadap ujiantang isolat heterolog dan campuran (BCC 2331 + DY2). Sedangkan vaksin kholera unggas galur impor dan isolat yang lain tidak memberikan proteksi silang terhadap ujiantang isolat BCC 2331 dan atau DY2 (SUPAR *et al.*, 2001b). Prospek aplikasi vaksin untuk pengendalian penyakit masih perlu diteliti lebih lanjut terutama mengenai uji efikasi vaksin kholera unggas di lapang.

#### **KESIMPULAN**

Dari kajian retrospektif ini disimpulkan bahwa kholera unggas menimbulkan masalah pada industri perunggasan di dunia maupun di Indonesia; sifat fenotipik dan biokhemik yang sama dari *P. multocida* yang diidentifikasi di berbagai negara menunjukkan sifat virulensi yang berbeda; sifat virulensi berhubungan dengan berat molekul antigen LPS dan tipe antigen kapsul (A, B, C, D, E); beberapa isolat *P. multocida* asal unggas di Indonesia dan galur acuan impor menunjukkan adanya variasi patogenitas, antigenitas dan imunogenitasnya. Pengembangan vaksin kholera unggas yang menggunakan isolat lokal mempunyai daya proteksi lebih baik dibandingkan dengan galur acuan impor setelah ditantang dengan isolat Indonesia.

Vaksin *P. multocida* BCC 2331 dan DY2 inaktif dari isolat tersebut dapat memberikan imunogenitas, imunoproteksi yang baik, dapat memberikan proteksi silang dan dapat dikembangkan menjadi *master seed*

vaksin kholera unggas. Vaksin kholera bivalen yang dihasilkan dari kedua isolat lokal tersebut disarankan dapat dipakai untuk pengendalian penyakit kholera ayam dan itik pada kondisi lapangan pada waktu yang akan datang, untuk mengurangi ketergantungan pemakaian antibiotika di bidang industri perunggasan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- BROGDEN, K.A. and K.R. RIMLER. 1982. Lysate of turkey grown *Pasteurella multocida*: Partial solubilization of cross-protection factors. *Am. J. Vet. Res.* 43: 1781 – 1785.
- CARTER, G.R. and M.C.L. DE ALWIS. 1989. *Haemorrhagic septicaemia*. In: *Pasteurella and pasteurellosis*. ADLAM, C. and J.M. RUTTER (Eds.). Academic Press London. pp. 132 – 160.
- CARTER, G.R. and S.W. RUNDELL. 1975. Identification of type strains of *Pasteurella multocida* using staphylococcal hyaluronidase. *Vet Rec.* 96: 43.
- CHOI, K.H., M.S. MAHESWARAN and L.J. FELICE. 1989. Characterization of outer membrane protein enriched extract from *Pasteurella multocida* isolate from turkeys. *Am. J. Vet. Res.* 50: 676 – 683.
- CHUNG, J.Y., V.I. WILKIE, J.D. BOYCE, K.M. TOWNSEND, A.J. FROST, M. GHODDUSI and B. ALDER. 2001. Role the capsule in the pathogenesis of fowl cholera caused by *Pasteurella multocida* serogroup A. *Infect. Immun.* 69(4): 2482 – 2492.
- COY, S.L., M.D. LEE and J. SAUNDER. 1997. Intrastrain variation of lipopolysaccharide of *Pasteurella multocida*. *Am. J. Vet. Res.* 58: 755 – 759.
- DABO, S.M., A.W. COFER and G.L. MURPHY. 1997. Outer membrane protein of bovine *Pasteurella multocida* serogroup A isolate. *Vet. Microbiol.* 54: 167 – 183.
- DERIEUX, W.T. 1977. Immune response of medicated turkeys vaccinated with live *Pasteurella multocida*. *Am. J. Vet. Res.* 38: 487 – 497.
- HEDDLESTON, K. and L.P.A. REBERS. 1973. Fowl cholera bacterins: Host-specific-cross-immunity induced in turkeys with *Pasteurella multocida* propagated in embryonating turkey eggs. *Avian Dis.* 18(2): 213 – 219.
- HEDDLESTON, K.L., J.E. GALLAGER and D.P.A. REBER. 1972. Fowl cholera gel diffusion precipitin test for serotyping *Pasteurella multocida* from avian species. *Avian Dis.* 16: 529 – 534.
- HILBERT, K.F. and H. TAX. 1938. The value of chemically-killed cultures for control of cholera in duck. *Cornel Vet.* 28: 275.
- HOLT, J.G., N.R. KRIEG, P.H.A. SNEATH, J.T. SALEY and S.T. WILLIAMS. 1994. *Bergey's manual of Determinative Bacteriology*, 9<sup>th</sup> Edition. pp. 194 – 196.
- HOMCHAMPA, P., R.A. STRUGNELL and B. ALDER. 1997. Crossprotective immunity conferred by a marker free *aroA* mutant of *Pasteurella multocida*: *Vaccine* 15(2): 203 – 208.
- HOPKINS, B.A. and L.D. OLSON. 1997. Comparison of live avirulent PM-1 and CU fowl cholera vaccine in turkeys. *Avian Dis.* 40: 317 – 325.
- LAYTON, H.W. 1984. Efficacy of broth grown *Pasteurella multocida* bacterin in ducklings. *Avian Dis.* 24: 1086 – 1096.
- LEE, M.D., R.E. WOOLY, J. BROWN and J.R. GLISSON. 1991. Survey of potential virulent markers from avian strains of *Pasteurella multocida*. *Vet. Microbiol.* 26: 213 – 225.
- LU, Y.S., S.J. AFENTIS and S.P. PAKES. 1988. Identification of immunogenic outer membrane proteins of *Pasteurella multocida* 3 A. *Infect. Immun.* 56: 1532 – 1537.
- LUGTENBERG, K.D., R. VAN BOXEL and M. De JONG. 1984. Atrophic rhinitis in swine: Correlation of *Pasteurella multocida* pathogenicity with membrane protein and polysaccharide pattern. *Infect. Immun.* 46: 48 – 54.
- MAHERAWAN, K.D., J. WEISS, M.S. KAUMAN, E.L. TOWNSEND, K.R. REDDY, L.O. WHITELY and S. KUMARAN. 1992. The effect of *Pasteurella haemolytica* A1 leucotoxin on bovine neutrophil degranulation and generation oxygen derived free radicals. *Vet. Immun. Immunopathol.* 33: 51 – 68.
- MATSUMOTO, M., J.G. DTRAIN and H.N. ENGEL. 1991. The fate of *Pasteurella multocida* after intranasal inoculation into turkeys. *Poult. Sci.* 70: 2259 – 2266.
- POERNOMO, S. 1980. Kasus *Pasteurella multocida* pada itik. *Bull. LPPH.* XII(19): 42 – 56.
- RAMDANI. 1997. Pengembangan vaksin SE dari isolat lokal untuk pencegahan penyakit ngorok pada sapi dan kerbau. *Pros. Simposium Sehari Penyakit Ngorok (Septicaemia epizootica, SE)*. Dalam rangka Pelepasan Purna Bakti Ahli Peneliti Utama Drh A. Sjamsudin. Bogor 19 Agustus 1997. Balai Penelitian Veteriner, Bogor. hlm. 44 – 46.
- RHOADES, K.R. and R.B. RIMLER. 1987. Effect of *Pasteurella multocida* endotoxin on turkey poults. *Avian Dis.* 31: 523 – 527.
- RHOADES, K.R. and R.B. RIMLER. 1990. Somatic serotype of *Pasteurella multocida* isolated from avian hosts (1976 – 1988). *Avian Dis.* 34: 193 – 196.
- RHOADES, K.R., G.Y. GHZIKHANIAN and R.P. CHIN. 1989. Virulent and infectivity of A: 14. strain of *Pasteurella multocida* for Turkeys. *Avian Pathol.* 18: 597 – 603.
- RIMLER, R.B. 1994. Partial purification of cross-protection factors from *Pasteurella multocida*. *Avian Dis.* 38: 778 – 789.
- RIMLER, R.B. and K.A. BROGDEN. 1986. *Pasteurella multocida* from rabbit and swine: Serologic types and toxin production. *Am. J. Vet. Res.* 47: 730 – 737.

- RIMLER, R.B. and K.R. RHOADES. 1989. Solubilization of membrane associated cross protection factors of *Pasteurella multocida*. *Avian Dis.* 33: 258 – 263.
- RIMLER, R.B. and K.R. ROADHES. 1987. Serogroup F: A new capsule serogroup of *Pasteurella multocida*. *J. Clinic. Microbiol.* 25: 615 – 618.
- RIMLER, R.B. and M. PHILIP. 1986. Fowl cholera: Protection against *Pasteurella multocida* by ribosome lipopolysaccharide vaccine. *Adc. Diag.* 30: 409 – 419.
- RIMLER, R.B., P.A. REBERS and M. PHILIP. 1984. Lipopolysaccharide of the Heddleston serotype of *Pasteurella multocida*. *Am. J. Vet. Res.* 47: 730 – 737.
- SINURAT, A.P.B., WIBOWO, MIFTAH dan T. PASARIBU. 1992. Pemanfaatan itik jantan lokal untuk produksi daging. Pros. Lokakarya Penelitian Komoditas dan Studi Khusus. Departemen Pertanian dan Direktorat Jenderal Perguruan Tinggi Departemen Pendidikan, Jakarta. hlm. 395 – 405.
- SJAMSUDIN, A. 1980. Vaksin kholera unggas otogenus (VKUO). *Bull. LPPH XII(20)*: 101 – 105.
- SJAMSUDIN, A. 1985. Penelitian pendahuluan vaksin kholera unggas. *Penyakit Hewan XVII(30)*: 58 – 61.
- SJAMSUDIN, A. 1988. Perbandingan daya melindungi vaksin kholera unggas alum-presipitat dan adjuvant minyak pada ayam. *Penyakit Hewan XX(36)*: 59 – 62.
- SUPAR, Y. SETIADI, DJAENURI, N. KURNIASIH dan B. POERWADIKARTA. 2000. Patogenesis of *Pasteurella multocida* isolat lokal pada mencit dan ayam. *JITV* 5(1): 59 – 64.
- SUPAR, Y. SETIADI, DJAENURI, N. KURNIASIH, B. POERWADIKARTA dan SJAFAEI. 2001a. Pengembangan vaksin kholera unggas: I. Proteksi vaksin *Pasteurella multocida* isolat lokal pada ayam terhadap uji tantang dengan galur homolog dan heterolog. *JITV* 6(1): 59 – 67.
- SUPAR, Y. SETIADI, DJAENURI, N. KURNIASIH, B. POERWADIKARTA dan SJAFAEI. 2001b. Pengembangan vaksin kholera unggas: II. Patogenitas dan proteksi vaksin *Pasteurella multocida* isolat lokal pada itik percobaan. *JITV* 6(2): 120 – 125.
- SYUTO, B. and M. MATSUMOTO. 1982. Purification of a protective antigen from a saline extract of *Pasteurella multocida*. *Infect. Immun.* 37: 1218 – 1226.
- THURSTON, J.R., R.B. RIMLER, M.R. ACHERMANN, N.F. CHERVILLE and J.M. SACKS. 1991. Immunity induced in rats vaccinated with toxoid prepare from heat labile toxin produce by *Pasteurella multocida*. *Vet. Microbiol.* 27: 169 – 174.
- TSUJI, M. and MATSUMOTO. 1988. Evaluation of relationship among three purified antigen from *Pasteurella multocida* P.105 and the protective capacity in Turkeys. *Am. J. Vet. Res.* 49: 1516 – 1521.
- TSUJI, M. and MATSUMOTO. 1989. Pathogenesis of fowl cholera: Influence of encapsulated on the fate of *Pasteurella multocida* after intravenous inoculation into Turkey. *Avian Dis.* 33: 238 – 247.
- WIJEWARDANA, T.G., G.C.F. WILSON, N.J. GILMOUR and I.R. POXTON. 1990. Production of a mouse monoclonal antibody of type A and th immunological properties of a protective anti-polysaccharide antibody. *J. Med. Microbiol.* 33: 217 – 222.