

PENCEGAHAN ENTEROTOKSEMIA PADA SAPI YANG DITRANSPORTASIKAN ANTAR PULAU

LILY NATALIA, SUDARISMAN, dan M. DARODJAT.

Balai Penelitian Veteriner
Jalan R.E. Martadinata 30, PO Box 52, Bogor 16114, Indonesia

(Diterima dewan redaksi 18 Desember 1995)

ABSTRACT

NATALIA, L., SUDARISMAN, and M. DARODJAT. 1996. Prevention of enterotoxaemia in transported cattle. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 2 (1).

Fatal enterotoxaemia of transported cattle is frequently reported in Indonesia. Acute enteritis and fatal enterotoxaemia of cattle and buffaloes in Indonesia are associated with toxigenic *Clostridium perfringens* type A. The outbreaks could have been caused by some kinds of stress, such as a possible change in nutrition or management as well as transportation. To reduce mortality rate caused by enterotoxaemia, an effective vaccine against the disease was produced. The vaccine was made in an alum precipitated toxoid form, prepared from *Clostridium perfringens* type A toxin, which was then tested for safety in mice and for its capacity in generating high immunity in cattle. The vaccine was then used to immunise transported cattle as an attempt to reduce mortality rate and to observe antibody response of cattle following vaccination. The results showed that mortality in vaccinated was lower than in non-vaccinated groups of cattle. From field observation, it was obvious that alum precipitated toxoid vaccine could produce good immune response against enterotoxaemia in cattle. It was also evidence that this vaccine could reduce mortality in transported cattle.

Key words: Enterotoxaemia, vaccine, transportation, cattle

ABSTRAK

NATALIA, L., SUDARISMAN, dan M. DARODJAT. 1996. Pencegahan enterotoksemia pada sapi yang ditransportasikan antar pulau. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 2 (1).

Kasus enterotoksaemia pada sapi dan kerbau yang ditransportasikan sudah sering dilaporkan di Indonesia. Enteritis akut dan enterotoksemia yang bersifat fatal ini di Indonesia pada umumnya disebabkan oleh *Clostridium perfringens* tipe A. Enterotoksemia tersebut terjadi jika hewan mengalami stres akibat perubahan pakan, manajemen, ataupun juga transportasi. Untuk mengurangi kerugian yang disebabkan oleh enterotoksemia tersebut, telah dibuat vaksin yang efektif untuk pencegahan penyakit. Vaksin ini dibuat dalam bentuk *alum precipitated toxoid* dari *Clostridium perfringens* tipe A, kemudian diuji baik keamanan dengan menggunakan mencit, maupun kemampuan menghasilkan respon kekebalan pada sapi percobaan. Vaksin ini digunakan untuk mengembalkan sapi-sapi yang ditransportasikan antar pulau sebagai upaya mengurangi tingkat kematian dan mengamati respon antibodi setelah vaksinasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat kematian sapi yang divaksinasi ternyata lebih rendah dibandingkan dengan tingkat kematian sapi yang tidak divaksinasi. Dari hasil penelitian di lapangan, ternyata bahwa vaksin ini dapat memberi respon kekebalan yang baik terhadap enterotoksemia pada sapi. Penelitian ini juga membuktikan bahwa vaksin ini dapat menurunkan kematian sapi yang ditransportasikan antar pulau.

Kata kunci: Enterotoksemia, vaksin, transportasi, sapi

PENDAHULUAN

Kejadian enterotoksemia pada sapi dan kerbau yang baru ditransportasikan sudah sering dilaporkan (VERMA, 1984; WORRALL *et al.*, 1987; NATALIA *et al.*, 1989; NATALIA, 1995). Penyebabnya adalah *Clostridium perfringens* tipe A. Diagnosis penyakit belum dapat dilakukan di laboratorium-laboratorium daerah, karena biasanya penyakit bersifat akut, gejala klinis tidak jelas dan kelainan patologik anatomi sering tidak tampak nyata atau tidak menciri. Diagnosis enterotoksemia harus berdasarkan pada isolasi toksin penyebab penyakit yang

disertai isolasi agen penyakit dari hewan yang mati. Selain itu, diperlukan juga sampel segar dari hewan yang mati (kurang dari 18 jam setelah kematian hewan) atau sampel tersebut harus diawetkan dengan gliserin atau disimpan dalam suhu dingin.

Penggunaan vaksin untuk pencegahan enterotoksemia pada hewan yang berisiko tinggi atau hewan yang mengalami stres diharapkan dapat mencegah kematian (STERNE, 1981; PRODJOHARDJONO, 1985). Di Australia, Selandia Baru, Amerika dan Inggris, vaksinasi untuk mencegah penyakit ini sudah rutin dilakukan untuk menghindari kerugian ekonomi yang tinggi

(GALLOWAY, 1974; HUNGERFORD, 1975; STERNE, 1981). Namun, vaksin yang diproduksi di luar negeri seringkali tidak memasukkan *Cl. perfringens* tipe A untuk pencegahan enterotoksemia, karena *Cl. perfringens* tipe A tidak banyak menimbulkan masalah (GALLOWAY, 1974), sehingga vaksin ini seandainya diimpor tidak dapat digunakan di Indonesia. Sementara itu, di Indonesia telah dibuat vaksin untuk mencegah enterotoksemia yang disebabkan oleh *Cl. perfringens* tipe A. Vaksinasi telah pula dilakukan pada sapi-sapi yang akan ditransportasikan antar pulau untuk menurunkan tingkat kematian pada hewan-hewan tersebut. Kemampuan itu ingin dibuktikan dalam penelitian ini.

MATERI DAN METODE

Pembuatan antigen untuk produksi vaksin

Galur *Cl. perfringens* tipe A isolat lokal digunakan sebagai bahan pembuatan vaksin. Antigen adalah filtrat dari biakan *Cl. perfringens* yang diinaktifkan dengan formalin dengan tidak mengurangi aktivitas imunogeniknya (ANON., 1977).

Prosedur pembuatan vaksin dibagi atas produksi antigen untuk pembuatan *alum precipitated toxoid* (APT) dan uji keamanan vaksin. Biakan *Cl. perfringens* tipe A diperiksa kemurniannya dan ditumbuhkan pada medium *Robertson's cooked meat medium* (RCMM) selama 4 jam pada suhu 37°C (WORRALL, 1986). Biakan ini kemudian digunakan untuk menginokulasi medium guna menghasilkan antigen yang terdiri dari proteose pepton 2,0%; laktalbumin 1,0%; *yeast extract* 0,5% dan natrium khlorida 0,4% (WORRALL, 1986) yang mengandung glukosa 1%. Setelah inokulasi, biakan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 4 - 5 jam dan pH dalam medium dipertahankan sekitar 7,0. Setelah inkubasi, biakan tersebut dibubuhi mertiolat pada konsentrasi akhir 0,01%, untuk menghentikan pertumbuhan. Selanjutnya biakan disentrifugasi pada kecepatan 7.000 rpm pada suhu 4°C selama 20 menit, dan supernatannya dipisahkan. Fraksi yang mengandung toksin alfa *Cl. perfringens* ini diuji toksisitasnya pada mencit. Setelah diketahui dapat membunuh mencit (melebihi 100 *mouse lethal doses* (MLD) /ml), supernatan tersebut dapat dipergunakan sebagai bahan pembuatan toksoid. Sebagian lagi dimurnikan untuk pembuatan antigen pelapis dalam *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA).

Toksoid dibuat dengan menambahkan formalin ke dalam supernatan yang berisi toksin pada konsentrasi

akhir 0,6%, dan dibiarkan semalam pada suhu 37°C. Ke dalam satu bagian supernatan yang mengandung toksin ditambahkan 1/2 bagian natrium hidrogen karbonat 1 M dan 1 bagian aluminium kalium sulfat 0,2 M, dikocok sekitar 30 menit sehingga campuran menjadi homogen. Endapan yang terjadi dipisahkan dan dicuci 3 kali dengan *phosphate buffered saline* (PBS) pH 7,2. Sebanyak 0,01% mertiolat ditambahkan ke dalam larutan sebagai bahan pengawet. APT yang terbentuk dalam proses tersebut merupakan vaksin yang mengandung toksoid.

Terhadap vaksin kemudian dilakukan uji keamanan (*safety test*) pada mencit dengan cara menyuntikkan 1,0 ml vaksin pada mencit secara subkutan (digunakan 4 kali ulangan). Jika semua mencit tetap hidup, maka hal ini memberi petunjuk bahwa vaksin telah aman digunakan.

Pengujian vaksin pada sapi percobaan

Penelitian ini dilakukan di Balai Penelitian Veteriner (Balitvet), dan untuk keperluan uji ini, dipergunakan 25 ekor sapi. Sebanyak 22 ekor sapi dimasukkan ke dalam kelompok yang divaksinasi 2 kali, yaitu vaksinasi yang dilakukan dengan selang waktu satu bulan. Dosis vaksin adalah 2,5 ml tiap ekor sapi, disuntikkan secara subkutan. Tiga ekor sapi lainnya dipergunakan sebagai kontrol dan tidak divaksinasi selama penelitian. Sampel darah dari sapi-sapi tersebut sebelum dan sesudah vaksinasi diambil, serumnya dipisahkan dan disimpan untuk pemeriksaan respon imunologik atau tanggap kebal. Pengujian tanggap kebal hewan dilakukan dengan ELISA.

Vaksinasi di lapangan

Vaksinasi dilakukan pada sapi yang akan ditransportasikan dari Propinsi Sulawesi Selatan ke Propinsi Riau, dari Madura ke Propinsi Sumatera Barat dan dari Madura ke Propinsi Lampung. Vaksinasi ini dilakukan sejalan dengan penyebaran bibit-bibit sapi dari program *International Foundation for Agriculture Development* (IFAD) dan Bantuan Presiden (Banpres) serta mendapat bantuan sepenuhnya dari pihak karantina hewan pusat dan daerah setempat. Sapi yang ditransportasikan pada umumnya sapi yang rata-rata berumur 2 tahun. Dosis vaksin yang digunakan adalah 2,5 ml dan disuntikkan secara subkutan.

1. Vaksinasi pada sapi Bali yang ditransportasikan dari Pare-pare (Sulawesi Selatan) ke Lubuk Dalam (Riau):

Jumlah hewan yang ditransportasikan secara keseluruhan adalah 561 ekor. Vaksinasi pertama dilakukan di Karantina Hewan Pare-pare. Hewan yang divaksinasi berjumlah 82 ekor, dan kelompok hewan kontrol atau hewan yang tidak divaksinasi juga berjumlah 82 ekor. Karena kondisi lapangan yang tidak memungkinkan, vaksinasi ulangan tidak dilakukan pada hewan-hewan ini. Tetapi pemantauan kenaikan tingkat kekebalan setelah vaksinasi tetap dilakukan. Pengambilan sampel serum sapi dilakukan 3 kali, yaitu pravaksinasi (di Karantina Hewan Pare-pare), 1,5 bulan pascavaksinasi (di Karantina Hewan Pekanbaru) dan 3 bulan pascavaksinasi (di daerah Lubuk Dalam, Desa Seminai, Kecamatan Siak Sri Indrapura, Kabupaten Bengkalis).

2. Vaksinasi pada sapi Madura yang ditransportasi dari Kalianget (Madura) ke Panjang (Lampung):

Jumlah sapi yang ditransportasikan adalah 627 ekor. Kelompok yang divaksinasi berjumlah 104 ekor, sedangkan kelompok kontrol (yang tidak divaksinasi) berjumlah 100 ekor. Vaksinasi pertama dilakukan di Karantina Hewan Kalianget. Vaksinasi kedua yang terpaksa dilakukan 16 hari setelah vaksinasi pertama, dilakukan di Karantina Hewan Panjang, Propinsi Lampung (menurut rencana, vaksinasi ulangan akan diberikan dengan selang waktu 1 bulan). Pengambilan sampel darah dilakukan 3 kali, yaitu pravaksinasi (di Kalianget, Madura), 16 hari pascavaksinasi (di Panjang, Propinsi Lampung) dan 2 bulan pascavaksinasi (di petani peternak, di Lampung Utara, Lampung Tengah dan Lampung Selatan).

3. Vaksinasi pada sapi Madura yang ditransportasikan dari Kalianget (Madura) ke Padang (Sumatera Barat):

Jumlah sapi yang ditransportasi adalah 500 ekor, yang rata-rata berumur 2 tahun. Kelompok hewan yang divaksinasi berjumlah 87 ekor dan kelompok kontrol yang tidak divaksinasi berjumlah 97 ekor. Vaksinasi pertama dilakukan di Karantina Hewan Kalianget (Madura) yang juga bersamaan dengan pengambilan sampel darah pravaksinasi. Vaksinasi ulangan dilakukan bersamaan dengan pengambilan darah kedua, yaitu pada hari ke-15 pascavaksinasi, di Karantina Hewan Padang. Pemantauan kenaikan tingkat kekebalan berikutnya tidak dapat dilakukan, karena sapi-sapi tersebut sudah berpindah tangan sehingga tidak dapat dilacak lagi lokasinya.

Serum yang diperoleh diuji dengan ELISA. Selain itu, tingkat kematian hewan selama perjalanan dari tempat asal sampai ke petani peternak dicatat.

Deteksi antibodi terhadap enterotoksemia

Prosedur yang digunakan adalah ELISA tak langsung yang telah dikembangkan NATALIA (1996), yaitu menggunakan antigen pelapis berupa toksin alfa *Cl. perfringens* tipe A yang telah dimurnikan, konjugat enzim (imunoglobulin anti-sapi yang dilabel dengan *horse radish peroxidase*) dan substrat 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) dalam buffer sitrat. Serum kontrol positif yang digunakan adalah serum sapi dengan kekuatan 4 *international unit* (I.U.), diencerkan secara seri, kemudian dijadikan pembanding bagi sampel serum yang diperiksa. Serum kontrol positif dan negatif selalu disertakan dalam tiap pengujian. Reaksi ELISA dibaca dengan menggunakan alat pembaca ELISA (Titertek MCC 340, Flow Laboratories, USA). Pembacaan dilakukan dengan panjang gelombang 414 nm. Dengan membandingkan nilai *optical density* (OD) dari serum yang diperiksa dengan serum kontrol positif, hasil pemeriksaan serum dapat dinyatakan dengan satuan I.U.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian keamanan vaksin pada mencit menunjukkan bahwa vaksin tersebut dapat digunakan, karena mencit yang disuntik vaksin dengan 4 kali ulangan tetap hidup. Setelah keamanannya terjamin, vaksin ini kemudian dipergunakan untuk mengembalkan sapi. Tanggapan kebal (*immune response*) vaksin toksoid *Cl. perfringens* tipe A pada sapi percobaan dapat dilihat secara ringkas pada Tabel 1.

Pada saat pravaksinasi, tingkat kekebalan sapi-sapi percobaan yang digunakan dalam penelitian ini telah cukup baik. Hal ini disebabkan karena kelompok hewan percobaan ini juga telah menerima vaksinasi enterotoksemia secara teratur setiap tahun. Vaksinasi tersebut dilakukan karena pada kandang yang berdekatan pernah terdapat 8 ekor kerbau yang mati mendadak akibat enterotoksemia.

Dari adanya kasus enterotoksemia yang menyerang sejumlah besar kerbau di daerah Kalimantan Selatan diketahui bahwa dengan tingkat kekebalan di atas 1.0 I.U./ml, hewan dapat bertahan terhadap serangan enterotok-

Tabel 1. Tanggapan kebal sapi yang disuntik dengan 2 dosis *alum precipitated toxoid* dari *Cl. perfringens* tipe A dan dideteksi dengan ELISA

	Jumlah hewan (ekor)	Kelompok vaksinasi (I.U./ml)	Jumlah hewan (ekor)	Kelompok kontrol (I.U./ml)
Pravaksinasi (vaksinasi I)	22	1,54 ± 0,87	3	1,14 ± 0,70
Pascavaksinasi (vaks. II/ 1 bln.)	22	3,98 ± 0,10	3	1,21 ± 0,43
Pascavaksinasi (2 bulan)	22	> 4,0	3	0,90 ± 0,43

semia (NATALIA *et al.*, 1989). Tingkat kekebalan yang lebih tinggi akan memberi daya tahan hewan yang makin tinggi terhadap penyakit tersebut. Untuk mendapatkan kekebalan yang efektif, biasanya diperlukan suntikan vaksinasi dua kali atau lebih dengan selang waktu tertentu. Vaksinasi ulangan ditujukan untuk mendapatkan kekebalan yang baik dan cukup lama (STERNE *et al.*, 1962; GALLOWAY, 1974; PRODJOHARDJONO, 1985; CLARKSON *et al.*, 1985). Dari hasil uji pendahuluan pada sapi-sapi di Balitvet, dapat dinilai bahwa vaksin yang digunakan dapat menimbulkan tanggapan kebal yang cukup baik (Tabel 1).

Kejadian kematian sapi-sapi yang ditransportasikan

Kematian sapi yang ditransportasikan pada saat penelitian ini dilakukan pada umumnya terjadi pada saat sapi-sapi tersebut tiba di tempat tujuan (di pelabuhan, karantina hewan dan pada petani peternak). Untuk sapi yang ditransportasikan dari Sulawesi Selatan ke Riau, kematian terjadi pada 9 ekor sapi dari kelompok sapi yang tidak divaksinasi, yakni 6 ekor mati dengan gejala berak darah, sedangkan 3 ekor lainnya mati dengan gejala kelemahan dan timpani.

Untuk sapi yang ditransportasikan dari Madura ke Lampung, kematian terjadi pada 25 ekor sapi yang tidak divaksinasi. Laporan petugas lapangan menyebutkan bahwa kematian tersebut terjadi oleh kelemahan, timpani, pneumonia dan gejala lain yang tidak jelas. Dalam kelompok yang divaksinasi, terjadi juga kematian sebanyak 3 ekor dengan keterangan petugas bahwa hewan tersebut mati oleh penyebab mekanis sewaktu hewan diturunkan dari kapal.

Untuk sapi yang ditransportasikan dari Madura ke Sumatera Barat, terjadi kematian pada 20 ekor sapi yang tidak divaksinasi. Penyebab kematian dilaporkan berupa kelemahan, timpani, pneumonia dan gejala lain yang tidak jelas (disambar petir).

NILO dan DORWARD (1971) menyatakan bahwa pada umumnya *Cl. perfringens* tipe A dapat menimbulkan gejala demam, diare yang bervariasi dan timpani. HELWIG *et al.* (1967) juga mengamati adanya gejala kembung dan kelainan paru-paru atau saluran pernapasan pada *bovine enterotoxaemia complex*. NATALIA *et al.* (1989) menyatakan bahwa gejala enterotoksemia tersebut berlangsung sekitar 2 hari sebelum hewan mati.

Pada Tabel 2 tampak bahwa kematian pada hewan yang divaksinasi lebih rendah dibandingkan dengan pada hewan yang tidak divaksinasi. Hal ini membuktikan bahwa vaksin yang digunakan dapat menurunkan kematian pada sapi yang ditransportasikan.

Tabel 2. Kematian hewan pada kelompok sapi yang divaksinasi dan yang tidak divaksinasi

Lokasi hewan	Kelompok divaksinasi		Kelompok tidak divaksinasi	
	Jumlah sapi (ekor)	Kematian (%)	Jumlah sapi* (ekor)	Kematian (%)
SulSel - Riau	82	0	479	9
Madura - Lampung	104	3	523	25
Madura - Sumbar	87	0	413	20

Keterangan: * = jumlah sapi keseluruhan dikurangi jumlah sapi yang divaksinasi

Evaluasi vaksinasi enterotoksemia pada sapi yang ditransportasikan

Pada sapi Bali yang ditransportasikan dari Sulawesi Selatan ke Riau, vaksinasi hanya dapat dilakukan satu kali pada awal pengamatan. Pada 6 minggu pascavaksinasi, tingkat kekebalan yang dicapai cukup baik (Tabel 3), tetapi pada 3 bulan pascavaksinasi terjadi penurunan tingkat kekebalan. Penurunan ini mungkin terjadi karena tidak dilakukan vaksinasi ulangan dan sebaliknya hewan mendapat stres selama perjalanan menuju Riau. Hal serupa juga dinyatakan oleh STERNE *et al.* (1962), bahwa vaksinasi pertama dapat memberi kekebalan, tetapi vaksinasi ulangan tetap diperlukan untuk dapat mempertahankan kekebalan yang baik dan cukup lama. Dari hasil ini terlihat bahwa vaksinasi yang dilakukan secara tunggal tidak menghasilkan kekebalan yang cukup lama.

Pada sapi Madura yang ditransportasikan dari Madura ke Lampung, vaksinasi dilakukan 2 kali dengan selang waktu 16 hari. Setelah vaksinasi pertama, kenaikan tingkat kekebalan cukup tinggi (rata-rata 1,203 ± 1,051 I.U./ml), tetapi setelah dilakukan vaksinasi kedua dan diadakan pemeriksaan 6 minggu sesudahnya, tingkat kekebalan itu menurun. Hal ini mungkin terjadi karena vaksinasi kedua dilakukan dengan selang waktu

Tabel 3. Evaluasi vaksinasi dengan ELISA pada sapi yang ditransportasikan antar pulau

Waktu pengambilan darah	Kelompok divaksinasi		Kelompok kontrol	
	I.U./ml	Jumlah hewan	I.U./ml	Jumlah hewan
Sulsel - Riau				
Pravaksinasi/Vaksinasi I (0 bulan)	0,190 ± 0,134	82	0,11 ± 0,124	82
Pascavaksinasi (1,5 bulan)	0,686 ± 0,791	40	0,192 ± 0,060	19
Pascavaksinasi (3 bulan)	0,525 ± 0,200	21	0,220 ± 0,056	11
Madura - Lampung				
Pravaksinasi/Vaksinasi I (0 bulan)	0,135 ± 0,065	104	0,132 ± 0,053	100
Pascavaksinasi/Vaksinasi II (0,5 bulan)	1,203 ± 1,051	82	0,156 ± 0,069	74
Pascavaksinasi (2 bulan)	0,435 ± 0,197	43	0,159 ± 0,075	76
Madura - Sumbar				
Pravaksinasi/Vaksinasi I (0 bulan)	0,181 ± 0,097	87	0,128 ± 0,064	95
Pascavaksinasi (0,5 bulan)	1,646 ± 1,183	78	0,138 ± 0,059	61

hanya 2 minggu setelah vaksinasi pertama, sehingga mungkin terjadi netralisasi antigen yang dimasukkan pada vaksinasi kedua oleh antibodi yang terbentuk akibat vaksinasi pertama, yang berakibat penurunan tingkat kekebalan (Tabel 3).

Pada sapi yang ditransportasikan dari Madura ke Sumatera Barat, evaluasi vaksinasi hanya dapat dilakukan 2 minggu setelah vaksinasi pertama. Pada Tabel 3 tampak bahwa tanggap kebal setelah vaksinasi cukup baik dan bahkan terbaik jika dibandingkan dengan hasil vaksinasi yang dilakukan di 2 lokasi lain (Lampung dan Riau).

Dari hasil pengamatan terhadap tanggap kebal sapi yang divaksinasi, APT dapat menimbulkan kekebalan yang cukup baik. APT dari *Cl. perfringens* tipe A yang dipakai dengan dosis tunggal tidak menghasilkan kekebalan yang cukup baik dan tidak bertahan lama (kurang dari 3 bulan). Vaksinasi ulangan dengan selang waktu yang singkat (2 minggu), menurunkan tingkat kekebalan yang sudah ada.

Hasil penelitian pendahuluan uji vaksin pada sapi di Balitvet menunjukkan bahwa vaksinasi pertama dan kedua dengan selang waktu satu bulan akan memberi kenaikan tingkat kekebalan yang cukup baik. Vaksinasi dengan cara ini sebaiknya juga dapat dilaksanakan di lapangan guna mendapatkan hasil vaksinasi yang baik.

Dari hasil penelitian yang telah dilaksanakan di Balitvet dan di lapangan dapat disimpulkan bahwa vaksin dapat menimbulkan respon imunologik yang baik, dan dapat menurunkan tingkat kematian pada sapi yang ditransportasikan antar pulau. Dengan demikian, vaksin ini perlu dimasyarakatkan untuk mencegah enterotoksemia oleh *Cl. perfringens* tipe A pada sapi yang akan ditransportasikan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih terutama kami tujukan kepada Kepala Karantina Hewan, Pusat Karantina Pertanian, Departemen Pertanian dan seluruh staf stasiun-stasiun karantina hewan yang telah membantu terlaksananya penelitian ini. Selain itu, kepada petugas lapangan dan staf dinas peternakan setempat yang telah terlibat dalam penelitian ini, juga kepada M. Syafarudin dan Wawan Sugiawan yang telah memberi bantuan teknis dalam pelaksanaan penelitian ini, kami ucapkan terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

- ANONYMOUS. 1977. Antisera dan Vaccines. *British Pharmacopoeia (Veterinary)*. Her Majesty's Stationery Office. London.
- CLARKSON, M.J., W.B. FAULL, and J.B. KERRY. 1985. Vaccination of cows with clostridial antigens and passive transfer of clostridial antibodies from bovine colostrum to lambs. *Vet. Rec.* 116:467-469.
- GALLOWAY, J.H. 1974. *Farm Animal Health and Disease Control*. Lea and Febiger. Philadelphia.
- HELWIG, D.M., J.H. THOMAS, and L.G. WILLIAMS. 1967. The bovine enterotoxaemia complex. *Aust. Vet. J.* 43:364-367.
- HUNGERFORD, T.G. 1975. *Diseases of Livestock*. 8th Ed. McGraw Hill Book. Sydney.
- NATALIA, L. 1995. Diagnosis enterotoksemia pada sapi dan kerbau di Indonesia. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Veteriner untuk Meningkatkan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak. Cisarua, Bogor 22-24 Maret 1994. Balai Penelitian Veteriner Bogor.
- NATALIA, L. 1996. Evaluasi respon antibodi sapi dan kerbau terhadap vaksin *Clostridium perfringens* tipe A dengan menggunakan ELISA. *J. Ilmu Ternak Vet.* 1 (3): 190-193.
- NATALIA, L., M. SYAFARUDIN, E.E. WORRALL, dan S. HARDJOUTOMO. 1989. Enterotoksemia pada sapi impor di Banjarmasin, Kalimantan Selatan. *Penyakit Hewan* 21(38):107-110.
- NILO, L. and W.J. DORWARD. 1971. The effect of enterotoxigenic *Clostridium welchii (perfringens)* type A on bovine intestine. *Res. Vet. Sci.* 12:376-378.

- PRODJOHARDJONO, S. 1985. *Ilmu Penyakit Ternak*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- STERNE, M., I. BATTY, A. THOMSON, and J.M. ROBERTSON. 1962. Immunisation of sheep with multicomponent clostridial vaccines. *Vet. Rec.* 74:909-913.
- STERNE, M. 1981. Clostridial infections. *Br. Vet. J.* 137(5):443-454.
- VERMA, N.D. 1984. Isolation and characterisation of *Clostridium perfringens* type A causing blackquarter-like disease of cattle in Manipur. *Indian J. Anim. Sci.* 54:1078-1080.
- WORRALL, E.E. 1986. *Diagnostic Handbook for Clostridia*. Balitvet-ODA. ATA 244, Project Phase II.
- WORRALL, E.E., L. NATALIA, P. RONOARDJO, TARMUJ, and S. PARTOUTOMO. 1987. Enterotoxaemia in water buffaloes caused by *Clostridium perfringens* type A. *Penyakit Hewan* 19(33):17-19.