

PENGAJIAN TITER ANTIBODI TERHADAP *Pasteurella multocida* (FOWL CHOLERA) DENGAN MENGGUNAKAN METODA ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY (ELISA) DI 5 PROPINSI DI JAWA.

Mariana S., Kartini D., Pancasunu H.S., Istiyaningsih., Maizir A., dan Ariyani N.
Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan, Gunungsindur, Bogor 16340
(National Veterinary Drug Assay Laboratory)

ABSTRACT

A serological study of *Pasteurella multocida* (Fowl Cholera) was conducted from 5 (five) provinces in Java, namely West Java, Banten, East Java, Yogyakarta and Central Java. A total of 815 sera sample from fowl cholera unvaccinated layer chickens were tested using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) technique. The result showed that 52.77 % out of 813 samples were positive against Fowl Cholera. Based on Sander, *et al.* (1988) protectivity titer 78.13 % of the samples were protective. However, based on vaccine potency testing report at National Veterinary Drug Assay Laboratory (unpublished data), only 48.04 % of the samples were protective.

ABSTRACT

Telah dilakukan pengkajian titer antibodi terhadap *Pasteurella multocida* (fowl cholera) pada 5 propinsi di Jawa pada tahun 2006. Sebanyak 815 spesimen serum ayam diambil dari Propinsi Jawa Barat, Banten, Jawa Timur, Yogyakarta dan Jawa Tengah. Pengkajian ini untuk mengetahui potensi vaksin Fowl Cholera pada ayam dengan mengukur titer antibodi menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Pada pengkajian ini didapat hasil bahwa terdapat kelompok ayam yang tidak dilakukan program vaksinasi Fowl cholera, namun dari hasil pemeriksaan antibodi dengan ELISA didapatkan sebesar 52,77 % ayam memiliki titer antibodi terhadap Fowl Cholera. Hal ini mungkin disebabkan oleh infeksi alam. Hasil pemeriksaan serologi didapat titer antibodi bervariasi. Berdasarkan pengelompokan titer protektif yang dikemukakan oleh Sander, *et al.*, (1998) menunjukkan bahwa 78,13 % ayam memiliki antibodi protektif, sedangkan menurut hasil pengujian di Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) titer antibodi protektif hanya 48,04 %.

PENDAHULUAN

Fowl cholera adalah penyakit bakteri pada unggas yang timbul dalam bentuk akut septikemia maupun bentuk kronis. Pada kejadian akut septikemia penyakit ini dicirikan dengan mortalitas dan morbiditas tinggi, sedangkan pada bentuk kronis dicirikan dengan terjadinya penurunan produksi. Prevalensi penyakit ini memperlihatkan bahwa ayam tua lebih rentan dibanding ayam yang lebih muda (Rhoades, *et al.*, 1991).

Agen penyebab Fowl Cholera adalah bakteri *Pasteurella multocida* dimana toksin yang dihasilkan oleh bakteri ini yang menyebabkan timbulnya lesi-lesi gejala klinis. Bakteri *Pasteurella* terdiri dari beberapa tipe, dalam hal ini Roberts (1947) membagi bakteri *P. multocida* menjadi 4 serotipe (tipe I-IV), yang kemudian ditambah lagi menjadi 5 serotipe, yaitu tipe A, B, C, D dan E, dimana pada perkembangan selanjutnya oleh sesuatu sebab tipe C dicabut dari pembagian. Sedangkan Namioka dan Murata (1964) membedakan bakteri *P. multocida* berdasarkan somatik antigennya dan dibagi menjadi 16 serotipe. Telah disetujui bahwa

serotipe suatu bakteri *P. multocida* ditentukan dengan mengkombinasikan tipe antigen somatik dengan tipe antigen kapsular.

Tidak semua bakteri *P. multocida* menyebabkan penyakit Fowl Cholera. Brogden, *et al.*, (1978), mengatakan bahwa penyebab utama penyakit Fowl Cholera adalah *P. multocida* kapsular tipe A, ditambahkan juga oleh Rhoades dan Rimler (1987) bahwa yang biasa menyebabkan penyakit Fowl Cholera adalah kapsular A dengan somatik tipe 1, 3 dan 4 meskipun serotipe 5 dan 9 pernah juga menimbulkan penyakit (Rimler, 1987).

Outbreak penyakit Fowl Cholera dapat terjadi mendadak dan biasanya terjadi setelah musim panas yang panjang pada daerah-daerah dengan populasi ayam yang cukup padat. Gejala klinis penyakit Fowl Cholera pada bentuk akut yaitu terjadi kematian yang diikuti dengan penularan yang cepat pada kelompok ayam dengan gejala klinis sulit berjalan, bulu berdiri, leleran mukus dari paruh, diare dan gangguan pernapasan, menjelang kematian terjadi perubahan warna kebiruan pada bagian pial. Diare bervariasi dari

keputihan sampai dengan kehijauan. Ayam sembuh dari infeksi ini bisa sembuh total bisa juga mengalami infeksi kronis. Kematian yang tinggi biasanya akibat stres, musim panas dan juga akibat efek *immunosuppressive* dari aflatoxin (Rhoades, *et al.*, 1991).

Gejala klinis dalam bentuk kronis tergantung dari lokasi bakteri dan organ yang terkena. Gejala yang biasa terlihat antara lain: pembengkakan pial dibagian bawah, sinus, bursa, *sternum*, *conjunctivitis* dan gangguan pernafasan. Pada bentuk kronis ini terjadi penurunan produksi dan mortalitas yang rendah dan dapat berlangsung sampai 2 bulan (Rhoades, *et al.*, 1991).

Vaksinasi merupakan salah satu cara pencegahan penting dari penyakit Fowl Cholera. Di Indonesia terdapat 2 macam vaksin yang beredar, yaitu: *killed vaccine* (vaksin inaktif) dan *live vaccine* (vaksin aktif). Vaksin inaktif yang beredar di Indonesia berisi campuran 3 galur bakteri yaitu tipe 1, 3 dan 4, sedangkan Vaksin aktif, merupakan vaksin tunggal yang berisi tipe 1.

Keberhasilan vaksinasi di lapangan sangat ditentukan oleh vaksin yang digunakan. Vaksin yang baik adalah vaksin yang dapat menimbulkan antibodi yang cukup dan dapat melindungi ayam dari infeksi lapangan yang dapat menyebabkan penyakit, sehingga untuk memperoleh vaksin yang baik harus digunakan seed bakteri yang homolog dengan bakteri yang ada di lapangan.

Untuk mengetahui titer antibodi terhadap *Pasteurella multocida* ada beberapa cara, antara lain *Inhibition Haemagglutination* (HI) dan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). ELISA merupakan metode yang praktis untuk pengukuran titer antibodi, karena itu pada pengkajian ini metode yang dipakai untuk pengukuran titer antibodi adalah ELISA.

MATERI DAN METODA

Pengambilan Spesimen Serum Ayam

Pengkajian penyakit Fowl Cholera ini dilakukan dari bulan Mei sampai dengan bulan September 2006 pada 5 propinsi di pulau Jawa, meliputi Jawa Barat, Banten, Jawa Timur, Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah. Spesimen serum ayam diambil oleh petugas Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan bersama petugas Dinas Peternakan dan Pertanian tingkat Propinsi dan Kabupaten setempat.

Setiap propinsi dipilih 4 kabupaten yang berbeda, dan masing-masing kabupaten dipilih 2 peternakan

ayam petelur yang berbeda. Untuk masing-masing peternakan diambil 20 sampel spesimen serum ayam. Spesimen serum ayam untuk Propinsi Jawa Barat diambil dari Kabupaten Bandung, Cianjur, Purwakarta dan Subang. Spesimen dari Propinsi Banten diambil dari Kabupaten Serang, Tangerang dan Kota Tangerang (2 kali pengambilan sampel). Jawa Timur diambil dari Kabupaten Jombang, Pasuruan (2 kali pengambilan) dan Blitar. Di Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta spesimen diambil dari Kabupaten Semarang, Boyolali, Demak dan Pati.

Pengambilan spesimen serum ayam dilakukan bersamaan dengan pengisian kuisioner tentang data-data ayam seperti umur ayam, sejarah vaksinasi dan sejarah penyakit yang pernah menyerang peternakan tersebut.

Kit ELISA

Pengujian untuk mengukur titer antibodi terhadap penyakit Fowl Cholera dilakukan dengan metode ELISA menggunakan *Pasteurella multocida* antibodi test kit, produksi Symbiotics.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada pengumpulan serum ayam dan hasil kuisioner dari 5 propinsi didapatkan hasil 815 spesimen serum ayam dari peternakan ayam petelur dengan tingkatan umur yang bervariasi antara 16 – 96 minggu (masing-masing propinsi sebanyak 160 spesimen). Ayam-ayam tersebut belum / tidak pernah divaksinasi dengan vaksin Fowl Cholera dan tidak pernah memiliki sejarah terkena penyakit Fowl Cholera.

Hasil pengujian dengan metode ELISA untuk mengukur respon imunitas ayam berupa titer antibodi terhadap Fowl Cholera dari spesimen yang diambil dapat dilihat pada Tabel 1. Dari data tersebut terlihat banyak ayam yang tidak divaksinasi dengan vaksin Fowl Cholera tetapi memiliki antibodi terhadap *Pasteurella multocida*. Dari 5 propinsi yang diambil sampelnya, propinsi Jawa Barat mempunyai persentase jumlah ayam dengan mempunyai titer antibodi positif *Pasteurella multocida* terbesar yaitu 61,33 %, diikuti oleh Jawa Tengah 56,875 %, Banten 56,25 %, Yogyakarta 46,875 % dan terakhir Jawa Timur 42,50 %. Titer antibodi dari hasil uji ELISA yang dilakukan bervariasi antara 28 – 17084. Hal ini mungkin disebabkan oleh adanya infeksi alam.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Sander, *et*

Tabel 1. Hasil uji ELISA Spesimen Serum Ayam dari 5 Propinsi

No Propinsi	Titer Antibodi		Keterangan
	Negatif (%)	Positif (%)	
1. Jawa Barat	38,67	61,33	Semua ayam yang
2. Banten	43,75	56,25	diambil spesimen
3. Jawa Timur	57,50	42,50	darahnya belum / tidak
4. Yogyakarta	53,125	46,875	pernah divaksinasi
5. Jawa Tengah	43,125	56,875	fowl cholera.
Rata-rata	47,234	52,766	

al., (1998), ayam-ayam yang protektif terhadap serangan penyakit fowl cholera memiliki titer antibodi terhadap *Pasteurella multocida* antara 1951 – 4346.

Tabel 2 menunjukkan hasil pengkajian titer antibodi yang positif terhadap *Pasteurella multocida* yang dikelompokkan sesuai dengan standar penelitian yang dilakukan oleh Sander, et al. (Sander, et al., 1998). Persentase titer antibodi yang dibawah standar minimum cukup tinggi, yaitu sebesar 74,72 % untuk Jawa Tengah, 73,33 % untuk Banten, sebesar 72,06 % untuk Jawa Timur, sebesar 65,94 % untuk Jawa Barat dan sebesar 64,0 % untuk DI Yogyakarta. Ayam yang mempunyai titer antibodi dibawah batas minimum dapat menimbulkan resiko terkena penyakit Fowl Cholera.

Tabel 2. Titer antibodi terhadap *Pasteurella multocida* dari spesimen yang berasal dari 5 propinsi berdasarkan batas titer antibodi protektif hasil penelitian Sander, et al., (1998).

No Propinsi	Titer antibodi		
	<1951	1951-4346	>4346
1. Jawa Barat	65,94 %	17,58 %	16,68 %
2. Banten	73,33 %	12,22 %	14,45 %
3. Jawa Timur	72,06 %	13,23 %	14,71 %
4. Yogyakarta	64,0 %	25,33 %	10,67 %
5. Jawa Tengah	74,72 %	8,80 %	16,48 %

Hasil pengujian potensi vaksin Fowl Cholera yang dilakukan di BBPMSOH, menunjukkan titer antibodi antara 5090 – 8959, ayam-ayam tersebut bertahan hidup terhadap uji tantang dengan *Pasteurella multocida* strain tipe 1. Pada Tabel 3 dapat terlihat titer antibodi yang terkandung dalam spesimen serum yang diambil dari 5 propinsi rata-rata menunjukkan >80% memiliki titer antibodi <5090 dengan prosentasi tertinggi adalah propinsi Jawa Timur sebesar 89,71 %, diikuti oleh D.I. Yogyakarta sebesar 89,33 %, Banten sebesar 87,78 %, Jawa Tengah sebesar 85,71 % dan Jawa Barat sebesar 85,86 %.

Tabel 3. Titer Antibodi terhadap *Pasteurella multocida* dari 5 propinsi berdasarkan batas titer antibodi protektif hasil pengujian di BBPMSOH

No Propinsi	Titer antibodi		
	< 5090	5090 - 8959	>8959
1. Jawa Barat	85,86 %	10,88 %	3,26 %
2. Banten	87,78 %	7,78 %	4,44 %
3. Jawa Timur	89,71 %	8,82 %	1,47 %
4. Yogyakarta	89,33 %	10,67 %	0 %
5. Jawa Tengah	85,71 %	9,89 %	4,40 %

Tabel 3. Titer Antibodi terhadap *Pasteurella multocida* dari 5 propinsi berdasarkan batas titer antibodi protektif hasil pengujian di BBPMSOH

No Propinsi	Titer antibodi		
	< 5090	5090 - 8959	>8959
1. Jawa Barat	85,86 %	10,88 %	3,26 %
2. Banten	87,78 %	7,78 %	4,44 %
3. Jawa Timur	89,71 %	8,82 %	1,47 %
4. Yogyakarta	89,33 %	10,67 %	0 %
5. Jawa Tengah	85,71 %	9,89 %	4,40 %

Dari hasil pengkajian tersebut terlihat di setiap propinsi banyak ayam yang memiliki titer antibodi positif terhadap *Pasteurella multocida*, meskipun tidak divaksin dengan Fowl Cholera. Hal ini disebabkan adanya infeksi alam, namun sebagian besar ayam tersebut tidak memiliki antibodi yang protektif terhadap Fowl Cholera, karena itu diperlukan program vaksinasi Fowl Cholera untuk meningkatkan titer antibodi pada level yang protektif.

KESIMPULAN

Dari pengkajian ini dapat disimpulkan : (1) banyak peternakan ayam petelur di propinsi Jawa barat, Banten, Jawa Timur, Yogyakarta dan Jawa tengah, tidak melakukan program vaksinasi Fowl Cholera; (2) di setiap propinsi terdapat banyak ayam-ayam yang memiliki titer antibodi positif terhadap *Pasteurella multocida* walau tidak dilakukan vaksinasi terhadap Fowl Cholera, hal ini diduga merupakan respon imunitas ayam terhadap infeksi alam, namun sebagian besar tidak memiliki titer antibodi yang protektif; (3) diperlukan program vaksinasi Fowl Cholera untuk mencegah terjadinya *out break* penyakit Fowl Cholera pada ke-5 propinsi tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada pelaksanaan pengkajian Fowl Cholera ini kami mengucapkan terima kasih kepada Dinas Pertanian dan Peternakan Tingkat Propinsi dan Kabupaten dari Jawa Barat, Banten, Jawa Timur, D.I.Yogyakarta dan Jawa Tengah yang telah membantu kami di lapangan dalam pengambilan spesimen serum ayam dan pengisian data kuisioner. Terima kasih juga kami ucapkan pada tim paramedik Unit Uji Bakteriologi yang telah membantu dalam proses pengujian spesimen serum ayam di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Avakian, A. P., J. W. Dick, and W. T. Derieux.** 1989. Fowl Cholera immunity induced by various vaccines in broiler minibreeder chickens determined by enzyme-linked immunosorbent assay. *Avian Dis.* 33: 97 – 102. 1989.
- Brogden, K. A., K. R. Rhoades, and K. L. Heddleston.** 1978. A new serotype of *Pasteurella multocida* associated with fowl cholera. *Avian Dis.* 22: 185 – 190.
- Hofacre, C. L., J. R. Glisson. and S. H. Kleven.** 1987. Comparison of vaccination protocols of broiler breeder hens for *Pasteurella multocida* utilizing enzyme-linked immunosorbent assay and virulent challenge. *Avian Dis.* 31: 260 – 263.
- Namioka, S., and M. Murata.** 1964. Serological studies on *Pasteurella multocida*. V. Some epizootiological findings resulting from O antigen. *Cornell Vet.* 51: 507- 521.
- Rhoades, K.R. and Rimler, R.B.** 1991. Pasteurellosis. In: B.W.Calnek, H.J. Barnes, L.W.Beard,W.M. Reid and H.W.Yoder (eds.), *Disease of Poultry.* Iowa State University Press, Ames, IA, pp. 145 – 162.
- Rimler, R. B.** 1987. Cross protection factor(s) of *Pasteurella multocida*: passive immunization of turkeys against fowl cholera caused by different serotypes. *Avian Dis.* 31: 884 – 887.
- Rimler, R. B., and K. R. Rhoades.** 1987. Serogroup F, a new capsule serogroup of *Pasteurella multocida*. *J. Clin. Microbiol.* 25:615-618.
- Roberts, R. S.** 10947. An Immunological study of *Pasteurella septica*. *Journal Pathol. Therap.* 57:261-278.
- Sander, J. E., Resurreccion, R. S., Waltman, W. D., and McMurray, B. L.** 1998. *Pasteurella* challenge and ELISA serology evaluation of broiler breeders vaccinated with live Cholera vaccine. *Avian Dis.* 42:190-193.