

PENGUJIAN VAKSIN BAKTERI *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* SEROTYPE 1, 2, 3, 4, 5, DAN 7

ERNES ANDESFA, NENENG ATIKAH, MUTIA HAYATI, SARJI, DAN NI MADE RIA ISRIYANTHI

Unit Uji Bakteriologi

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH), Gunungsindur-Bogor 16340

ABSTRAK

Pengujian vaksin bakteri *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) serotipe 1, 2, 3, 4, 5 dan 7 telah dilakukan di unit uji bakteriologi – BBPMSOH. Pengujian yang dilakukan meliputi uji umum, uji sterilitas, uji keamanan menggunakan babi dan tikus, serta uji potensi menggunakan babi, dimana penilaian hasil serologis menggunakan metode *indirect Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)*. Hasil uji umum meliputi uji fisik hasilnya sesuai dengan standar mutu dan pada uji kemurnian hasilnya hanya ditemukan bakteri yang terkandung dalam vaksin. Hasil uji sterilitas tidak ditemukan pertumbuhan jasad renik dan jamur pada media *Trypticasein Soy Broth (TSB)* dan *Blood Agar* baik dalam kondisi aerobik dan anaerobik. Pada uji keamanan, didapatkan 100% babi dan tikus hidup dan tidak ditemukan gejala klinis penyakit *Porcine Pleuropneumoniae* selama periode observasi. Pada uji potensi dengan menggunakan *ELISA* didapatkan babi kelompok vaksinasi adalah positif terbentuk antibodi dan terjadi peningkatan nilai *Optical Density (OD)* setelah vaksinasi pertama dan *booster*.

Kata kunci: vaksin *Actinobacillus pleuropneumoniae*, uji keamanan, uji potensi, *ELISA*.

ABSTRACT

Bacterial vaccine assay of Actinobacillus pleuropneumoniae (App) serotypes 1, 2, 3, 4, 5, and 7 has been carried out in bacteriology assay unit at NVDA. The assay consisted of general test, sterility test, safety test using pigs and rats, and potential test using pigs, where serological test result was determined using the indirect ELISA. The general test confirmed the physical test where the result was met in accordance with the standards of quality and purity test resulted only original bacteria contained in the vaccine. The sterility test showed there was not found any microorganisms and fungi growths on Trypticasein Soy Broth (TSB) and Blood media for both aerobic and anaerobic conditions. In safety tests was obtained 100% live pigs and rats and no clinical signs of Porcine Pleuropneumoniae disease during the observation period. In potential test using indirect ELISA which was used vaccinated pigs group formed positive antibody and increased in Optical Density (OD) values after vaccination and booster.

Keywords : *Actinobacillus pleuropneumoniae* vaccines, safety test, potential test, *ELISA*.

PENDAHULUAN

Actinobacillus pleuropneumoniae (App) adalah bakteri penyebab penyakit *porcine pleuropneumonia*, penyakit ini memiliki dampak kerugian ekonomi yang sangat besar di seluruh dunia dalam peternakan babi. Penyakit ini pertama kali diidentifikasi pada tahun

1957 di Inggris oleh Pattison dan Cowokers ^(18,20). Bakteri ini memiliki inang yang sangat spesifik yaitu babi, akan tetapi pernah diisolasi pada domba ⁽²⁷⁾. *Actinobacillus pleuropneumoniae* termasuk dalam anggota *Haemophilus – Actinobacillus – Pasteurella* (HAP) grup famili *Pasteurellaceae* ⁽¹⁷⁾. *App* adalah bakteri gram negatif, non motil, non spora, *coccoid* kecil atau bentuk batang. Bakteri tumbuh pada *Blood Agar Plate* yang akan terlihat zona β *hemolysis*, pertumbuhan tergantung pada *Nicotinamide Adenine Dinucleotide* (NAD), bersifat *anaerobic* fakultatif dan membutuhkan CO₂ untuk pertumbuhan utamanya ⁽¹⁵⁾.

Ada 12 serotipe *App*, distribusi serotipe secara umum dipengaruhi oleh lokasi geografi. Serotipe 1, 3, dan 5 prevalensinya tinggi di Kanada ^(18,9), serotipe 1, 5, dan 7 prevalensinya tinggi di Amerika, serotipe 2 dan 9 prevalensi tinggi pada populasi babi di Eropa ⁽¹⁵⁾. Terdapat perbedaan virulensi yang signifikan diantara 12 serotipe, serotipe 1, 5, 9, dan 11 memiliki virulensi yang tinggi, menyebabkan *outbreak* dengan mortalitas yang tinggi dan lesi paru-paru yang parah. Beberapa serotipe secara umum kurang virulen dengan mortalitas rendah walaupun tetap menyebabkan lesi paru-paru ⁽²⁰⁾.

Keparahan gejala klinis dalam suatu populasi babi tergantung serotipe yang terlibat dan serotipe 1 telah dinyatakan sebagai serotipe yang paling patogen ⁽⁴⁾. Serotipe 2, 5, 9, 10, dan 11 adalah serotipe dengan faktor virulensi sedang, adapun serotipe 3, 6, 7, dan 12 yang paling tidak virulen ⁽⁸⁾. Infeksi bakteri ini mengakibatkan kerusakan pada paru-paru, babi yang terinfeksi tidak berkembang baik, penambahan bobot rata-rata menurun dan angka konversi pakan akan meningkat. Keparahan penyakit tergantung pada jumlah paparan (*dose exposure*) dan tingkat kesehatan/imunitas babi, infeksi *multiple* serotipe *App* dapat berada dalam satu populasi ^(2,5).

Pada saat terjadi *outbreak Porcine Pleuropneumonia* pada suatu kelompok ternak, tingkat infeksi dapat terjadi dalam beberapa tingkat keparahan yaitu ditandai adanya gejala klinis, termasuk per akut, akut, sub akut dan pneumonia kronis. Penyakit ini menyerang babi semua umur dan babi umur 12–16 minggu paling sering terkena penyakit ini ⁽⁸⁾. Pada bentuk akut, terjadi stres respirasi yang parah, sianosis, muntah, demam dan mati dalam 24–48 jam. *Gold standard* pengujian bakteri *App* adalah isolasi dan identifikasi bakteri dari *pleuropneumonic* pada paru – paru ⁽⁸⁾.

Laporan atau kejadian penyakit *Porcine Pleuropneumonia* di Indonesia masih sangat sedikit. Vaksin *App* yang sedang proses registrasi ini mengandung serotipe 1, 2, 3, 4, 5, dan 7. Pengujian vaksin *App* bertujuan untuk mengetahui mutu vaksin yang akan beredar di Indonesia.

MATERI DAN METODE

MATERI

Bahan yang digunakan dalam pengujian mutu vaksin *App* adalah empat botol vaksin *App*, babi 6 ekor umur 4-5 bulan dengan berat badan (BB) minimal 30 kg, 12 ekor mencit BB 18-22 gram, ELISA Kit *App ID Vet*, pewarna giemsa, media TSB, dan media *blood agar*. Peralatan yang digunakan adalah siring 5 mL dan 10 mL, gelas objek, tabung reaksi, cawan petri, tips, *multi channel*, *anaerob pitcher*, mikroskop, incubator, dan ELISA reader.

METODE

Berikut adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui mutu vaksin *App* dan metode yang digunakan.

1. Uji Umum yaitu Uji Fisik dan Uji Kemurnian.

Uji Fisik meliputi warna, homogenitas dan adanya partikel asing. Persyaratan uji fisik yaitu warna vaksin harus sesuai dengan warna yang tercantum dalam dokumen obat hewan, vaksin harus homogen dan tidak ditemukan partikel asing dalam vaksin.

Uji Kemurnian yaitu dibuat preparat ulas dan difiksasi dengan pemanasan dan pewarnaan dengan Giemsa (1:20) dan pengamatan 30 lapang pandang di bawah mikroskop. Persyaratan uji kemurnian yaitu hanya mengandung bakteri yang terkandung dalam vaksin.

2. Uji Sterilitas.

Sebanyak 0.5 ml vaksin diinokulasikan pada 20 buah tabung reaksi yang berisi @ 20 ml medium TSB dan diinkubasi selama 14 hari pada suhu 30 - 35°C. Observasi dilakukan terhadap pertumbuhan bakteri dan jamur. Dua buah tabung reaksi berisi @ 20 ml medium TSB tanpa diinokulasi vaksin sebagai kontrol. Sebanyak 0.25 ml vaksin diinokulasikan pada 20 buah tabung reaksi yang berisi @ 50 ml medium TSB dan inkubasi selama 14 hari pada suhu 20-25°C. Observasi dilakukan terhadap pertumbuhan bakteri dan jamur. Dua buah tabung reaksi berisi @ 50 ml medium TSB tanpa diinokulasi vaksin sebagai kontrol.

Pada hari ke -7 dan ke -11 lakukan subkultur dari tiap tabung reaksi. Ambil minimum 2 ml medium dari setiap tabung reaksi uji dan inokulasikan masing-masing 1 ml ke dalam 2 *plate blood agar* dan inkubasi pada suhu 30-35°C. Pada hari ke-14, satu dari 2 lempeng

agar tersebut diinkubasi dalam kondisi anaerob menggunakan *anaerobic pitcher* dihitung sebagai hari pertama uji. Pemeriksaan *plate blood agar* dan tabung reaksi yang berisi TSB untuk mengetahui adanya pertumbuhan dari bakteri & jamur selama masa inkubasi berlangsung. Tabung reaksi yang berisi kultur yang tidak diinokulasi digunakan sebagai control terhadap kesalahan teknik. Persyaratan uji sterilitas yaitu tidak ditemukan pertumbuhan bakteri, jamur dan ragi dalam media TSB dan *blood agar* selama periode observasi pada kondisi aerob dan anaerob.

3. Uji Keamanan.

Delapan ekor tikus vaksinasi diinokulasi 0,5 ml vaksin secara intraperitoneal atau subkutan dan diobservasi selama 7 hari. Empat ekor tikus kontrol tidak divaksinasi, dan diobservasi selama 7 hari (9 *Code of Federal Regulation* (CFR) 113.33)⁽³⁾. Dua ekor babi umur 4-5 bulan dengan BB sekitar 30 kg diinokulasi vaksin dengan dosis minimum yang direkomendasikan perusahaan yaitu 2 dosis (BB > 40 kg = 2 ml) yaitu 4 ml *Intra Muscular* (IM) dan diobservasi selama 21 hari. Satu ekor babi kontrol tidak divaksinasi, diobservasi selama 21 hari (9 CFR 113.44)⁽³⁾. Persyaratan uji keamanan tikus dan babi 100% babi hidup dan tidak ditemukan gejala klinis penyakit *porcine pleuropneumoniae*.

4. Uji Potensi.

Dua ekor babi umur 4-5 bulan dengan BB sekitar 30 kg diinokulasi vaksin dengan dosis minimum yang direkomendasikan perusahaan (BB sampai 40 kg = 2 ml) yaitu 2 ml IM dan diobservasi selama 14 hari. Satu ekor babi kontrol tidak divaksinasi, dan diobservasi selama 21 hari. Setelah observasi 14 hari dilakukan *booster* pada babi vaksinasi dengan 1 dosis (2 ml IM), dan diobservasi 14 hari. Dilakukan pengambilan darah dilakukan 4 kali yaitu saat babi baru datang (dikarantina 3 minggu), 21 hari pre vaksinasi, 14 hari pasca vaksinasi pertama dan 14 hari pasca *booster*.

Uji serologis untuk mengetahui potensi vaksin dilakukan dengan Kit ELISA *indirect spesific* untuk *App* serotipe 1 – 12. Seratus (100) µl kontrol negatif pada *well* A1 & B1, 100 µl kontrol positif pada *well* C1 & D1. Masukkan 250 µl *dilution buffer* 2 masing-masing 5 µl pada *well* ELISA dan diinkubasi 30 menit ($\pm$ 3 menit) 21°C ($\pm$ 5°C). Kosongkan *well* dan pencucian dengan *wash solution* @ 300 µl pada tiap *well*. Pencucian dilakukan 3 kali. Hindari *well* kering pada jarak antar pencucian. Tambahkan @ 100 µl *conjugate* pada setiap *well* ELISA dan diinkubasi 30 menit ($\pm$ 3 menit) 21°C ($\pm$ 5°C). Kosongkan *well* dan pencucian dengan *wash solution* @ 300 µl pada tiap *well*. Pencucian

dilakukan 3 kali. Tambahkan @ 100 µl *substrate solution* pada setiap *well* ELISA dan diinkubasi 15 menit (± 2 menit) 21°C ($\pm 5^\circ$ C), selama inkubasi simpan di tempat yang gelap. Tambahkan @ 100 µl *stop solution* pada setiap *well* untuk menghentikan reaksi. Baca dan catat pada ELISA *reader* dengan panjang gelombang 450 nm.

Interpretasi hasil ELISA *indirect* dengan menghitung ratio S/P yang didapat dengan cara :

$$S/P = \frac{D \text{ sampel} - OD}{(OD \text{ Positif kontrol} - OD \text{ Negatif kontrol})}$$

Antibodi terhadap toksin Apx I, Apx II dan Apx III diukur menggunakan ELISA dengan mengukur *end point titer* (Log 2) untuk sampel serum, tingkat titer antibodi dilihat dari hasil OD yang diperoleh dalam sampel serum. Interpretasi hasil yang diperoleh perbandingan S/P adalah jika $S/P < 25\%$ statusnya negatif, jika hasil $25\% \leq S/P < 30$ statusnya *suspect*, jika $S/P \geq 30\%$ statusnya positif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji umum vaksin dinyatakan memenuhi syarat karena dari hasil uji fisik didapatkan warna vaksin kuning pucat sama dengan yang tercantum pada dokumen obat hewan, vaksin homogen dan tidak ditemukan partikel asing apabila warna vaksin sama dengan yang tercantum pada dokumen obat hewan. Dari uji kemurnian, vaksin dinyatakan memenuhi syarat uji kemurnian jika hasil dari 30 lapang pandang hanya menunjukkan bakteri yang sama dengan bakteri yang dipakai dalam produksi vaksin tersebut ⁽⁶⁾. Berdasarkan hasil uji kemurnian didapatkan dari 30 lapang pandang menunjukkan hanya terdapat bakteri yang terkandung dalam vaksin, artinya vaksin ini benar – benar murni hanya mengandung bakteri yang terkandung dalam vaksin sehingga dinyatakan memenuhi syarat uji kemurnian.

Uji sterilitas dilakukan untuk mengetahui apakah benar vaksin tersebut steril dari jasad renik (bakteri dan atau jamur) selain bakteri yang terkandung di dalam vaksin tersebut sehingga dalam aplikasinya pada hewan target tidak ditemukan efek samping yang tidak diinginkan ⁽⁶⁾. Hasil dari uji sterilitas yaitu tidak ditemukan pertumbuhan bakteri, jamur atau ragi pada media TSB dan *Blood Agar* pada kondisi aerob dan anaerob selama periode observasi, sehingga dapat disimpulkan bahwa vaksin *App* benar – benar steril, tidak mengandung kontaminan bakteri, jamur atau ragi.

Berdasar Tabel 1 dan Tabel 2. didapatkan 100% tikus dan babi hidup dan tidak ditemukan gejala klinis penyakit *porcine pleuropneumoniae*. Hal ini menunjukkan bahwa

vaksin ini aman digunakan pada hewan percobaan juga pada hewan target dengan dosis 0.5 ml IP pada tikus sedangkan pada babi 2 dosis (4 ml).

Tabel 1. Data Uji Keamanan Pada Tikus (9 CFR 113.33)

Perlakuan	No	Gejala Klinis	Hasil Pengamatan Jumlah Kematian						
			7 – 13 September 2011						
Tikus Vaksinasi	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	7	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	8	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Tikus Kontrol	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Hasil : 100 % tikus hidup dan tidak ada gejala penyakit <i>porcine pleuropneumoniae</i>									
Penilaian : Vaksin aman									

Tabel 2. Data Uji Keamanan Pada Babi (9 CFR 113.44)

Babi	No	GK	Tanggal Pengamatan Bulan September 2011																						
			7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27		
Babi Vaksinasi	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Kontrol	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Hasil : 100 % babi hidup dan tidak ada gejala penyakit <i>porcine pleuropneumoniae</i>																									
Penilaian : Vaksin aman																									

Untuk uji potensi didapatkan bahwa 100% babi hidup dan tidak ditemukan gejala klinis penyakit *porcine pleuropneumoniae* selama periode observasi. Penentuan potensi dilakukan dengan uji serologis dengan menggunakan ELISA *indirect*. Pengambilan darah

sebanyak 3 kali diuji dengan ELISA *indirect*, hasil OD terdapat dalam Tabel 3 yang berisi Data Uji Potensi *Optical Density*.

Tabel 3. Data Uji Potensi *Optical Density* (OD)

Perlakuan	Nilai <i>Optical Density</i> (%)		
	21 hari Pre Vaksinasi	14 hari pasca Vaksinasi pertama	14 hari Pasca <i>Booster</i>
Babi Vaksinasi 1	<25	86.18	98.88
Babi Vaksinasi 2	49.44	79.44	68.54
Rataan	49.44	165.62	167.42
Babi Kontrol	56.18	< 30	<25

Keterangan: Jika nilai OD : $S/P < 25\%$ = negatif, $25\% \leq S/P < 30$ = suspect, $S/P \geq 30\%$ = positif

ELISA merupakan salah satu uji serologis untuk memantau hasil vaksinasi dengan melihat gambaran titer antibodi yang dihasilkan oleh tubuh. ELISA juga mempunyai keunggulan yaitu tingkat sensitifitas dan spesifisitas yang tinggi serta mampu mendeteksi beberapa jenis antibodi yang dihasilkan oleh beberapa serotype *App*.

Berdasarkan nilai OD dari 3 kali pengambilan darah pada Tabel 3. menunjukkan adanya peningkatan nilai OD yang sangat signifikan yaitu pre vaksinasi 47.44% (babi ke-2 telah memiliki antibodi sebelum vaksinasi) setelah vaksinasi yaitu 2 minggu pasca vaksinasi pertama nilai OD meningkat menjadi 165,62% dan terus meningkat 2 minggu pasca *booster* yaitu 167,42%. Babi kontrol yang tidak mendapatkan perlakuan vaksinasi pada pemeriksaan pertama menunjukkan nilai OD 56.18% dan 4 minggu setelah pemeriksaan antibodi yang pertama sudah tidak lagi ditemukan antibodi (< 25%). Sehingga dapat disimpulkan bahwa vaksin *App* ini memenuhi syarat uji potensi dalam hal terbentuknya antibodi yaitu babi yang divaksinasi vaksin *App* akan memiliki antibodi yang terus meningkat hingga 4 minggu pasca vaksinasi pertama, sedangkan babi yang tidak divaksinasi tidak akan memiliki antibodi walaupun telah memiliki titer antibodi alami namun 4 minggu kemudian tidak lagi ditemukan antibodi.

Satu ekor babi kontrol dan satu ekor babi vaksinasi telah memiliki antibodi sebelum dilakukan vaksinasi. Adanya antibodi ini bukan berasal dari maternal antibodi karena babi sudah berumur 3 bulan sedangkan maternal antibodi hanya bertahan sampai babi berumur empat minggu. Adanya antibodi ini dapat disebabkan karena babi yang digunakan bukan babi *Specific Pathogenic Free (SPF)* namun sebelum vaksinasi dilakukan karantina selama tiga minggu (21 hari) untuk memastikan bahwa babi dalam kondisi sehat pada saat dilakukan pengujian. Antibodi yang terbentuk dapat disebabkan infeksi alami di lapangan tetapi infeksi

yang terjadi ringan karena kondisi babi sehat, nafsu makan baik dan tidak ada gejala klinis penyakit *Porcine pleuropneumoniae*.

Vaksin *App* ini memiliki *band* dengan *range* protein 110 + 20 KDa diambil dari kultur supernatan bakteri serotipe 1, 3, 7 ini artinya ada keberadaan Apx toxin I, II, dan III atau sitotoksin dalam bentuk toksoid (Apx I, Apx II, Apx III) yang menstimulasi sejumlah respon imunologis pada babi dan berhubungan dengan faktor virulensi lain yang mampu memberikan proteksi terhadap serotipe homolog (Dokumen Obat Hewan).

Vaksin yang mengandung toksin Apx I, Apx II, Apx III dan eksternal membran protein 42 KDa memberikan proteksi yang sangat efisien dari infeksi semua serotipe dan biovars *App*^(7,16,29). Vaksinasi pada anak babi umur 6 dan 10 minggu signifikan menurunkan *outbreak* tahap per akut dan akut karena kematian paling banyak terjadi pada tahap ini. Bentuk kronis biasanya tidak menampilkan gejala klinis tetapi bisa ditandai dengan meningkatkan biaya pakan (*feed consumption rate*)^(20, 21).

Sistem imunitas humoral merupakan bagian perlindungan *host* terhadap bakteri *App* dan IgG berperan sangat besar^(1,13,15). Sirkulasi antibodi dapat dideteksi dengan *complement fixation test* dalam 10 hari setelah percobaan infeksi. Titer antibodi maksimum terlihat pada saat 3 sampai 4 minggu setelah infeksi dan tetap ada selama beberapa bulan^(1,15). Berdasarkan hasil uji potensi yang didapat pada kelompok babi yang divaksinasi terjadi peningkatan nilai OD pasca vaksinasi pertama dan pasca *booster* yaitu 165,62 % menjadi 167,2 %. Induk babi yang terdeteksi seropositif terhadap *App* akan memberikan maternal antibodi dengan konsentrasi tinggi via kolostrum terhadap anaknya, namun proteksi maternal antibodi akan hilang sekitar umur 4 minggu, bukti menunjukkan bahwa titer antibodi sudah tidak tampak pada umur 9 minggu⁽⁸⁾.

Jalan utama terjadinya infeksi adalah melalui droplet infeksi dalam udara suatu kandang atau melalui kontak langsung dengan babi yang terinfeksi⁽²⁷⁾. Pada *outbreak* akut, bakteri dapat berpindah dari satu babi ke babi lainnya, menunjukkan bahwa perpindahan melalui aerosol atau pekerja peternakan yang membawa eksudat terkontaminasi babi yang terinfeksi dapat terjadi⁽²⁰⁾.

Walaupun antibiotik dapat diaplikasikan pada peternakan babi guna menurunkan mortalitas dan meningkatkan rata-rata pertumbuhan berat badan harian (antibiotik *growth promotor*), namun penyakit *porcine pleuropneumoniae* tetap merupakan bahaya yang bersifat laten yang dapat menjadi sumber infeksi bagi babi yang lain. Masalah lain terjadi peningkatan resistensi strain antibiotik terhadap bakteri *App*^(9,11,12). Hewan yang menjadi *Asymptomatic carrier* yaitu hewan yang terkena penyakit *porcine pleuropneumoniae* tanpa

terlihat gejala klinis akan suatu kumpulan yang tidak terproteksi sehingga dapat menjadi sumber *outbreak* ⁽²⁸⁾.

Vaksinasi adalah cara kontrol yang paling praktis dan mampu menurunkan insiden pleuritis sehingga pertambahan berat badan dapat tercapai dengan optimal ⁽²⁵⁾. Sistem manajemen pemeliharaan yang baik dengan memperhatikan ventilasi, mengurangi kepadatan dalam kandang, mengurangi tingkat debu adalah hal yang sangat penting dalam mengontrol terjadinya penyakit *porcine pleuropneumoniae* ⁽²⁵⁾.

Nielsen (1982) telah melakukan percobaan penelitian tentang perlindungan vaksin inaktif *App*, vaksin ini mengandung bakteri *App* yang telah dikultur selama 6 jam dengan *Freund's incomplete adjuvant* dan menunjukkan hasil vaksinasi 90 % terlindungi terhadap *challenge App* serotipe yang homolog. *Cross protection* dapat terjadi melalui infeksi alami terhadap infeksi bakteri *App* serotipe homolog dan heterolog. Akan tetapi untuk vaksinasi tidak terjadi *cross immunity* antara serotipe ⁽²⁴⁾, oleh karena itu pemilihan serotipe vaksin bakteri *App* harus sama dengan serotipe yang terdapat pada populasi babi yang akan divaksinasi. Umumnya dalam satu peternakan terdapat lebih dari satu serotipe.

Screening test menggunakan ELISA sangat membantu sehingga ada *recording* serologis untuk mencegah atau mengurangi dampak *outbreak*. Pemberian vaksin supaya efektif harus disesuaikan dengan serotipe yang berada pada populasi tersebut karena itu harus ada identifikasi jika ada suatu kasus *porcine pleuropneumonic*. Status serologis pada suatu *breeding* dan peternakan babi dapat membantu menjelaskan waktu terjadinya *outbreak* ⁽⁸⁾.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji umum, uji sterilitas, uji keamanan, dan potensi vaksin ini memenuhi semua persyaratan yang telah ditentukan.

SARAN

Sebelum memilih serotipe vaksin yang akan diberikan pada peternakan babi perlu dilakukan pengujian jenis serotipe yang ada di lapangan dengan menggunakan diagnosa *gold standard* melalui isolasi kultur dan identifikasi dari paru-paru kasus *porcine pleuropneumonic*, hal ini sangat menentukan keberhasilan dalam program vaksinasi. Konfirmasi juga dengan uji serologi untuk masing-masing serotipe yang diisolasi di masing-masing populasi mungkin dibutuhkan dua atau lebih uji serologis ketika 2 atau lebih bakteri *App* yang ditemukan di suatu populasi ⁽⁶⁾.

DAFTAR PUSTAKA

1. **Bosse, J.T., R.P.Johnson, M. Nemec, and S. Rosendal.** 1992. Protective Local and Systemic Antibody Responses of Swine Exposed To an Aerosol of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Serotype 1. *Infect. Immun.* 60, 479-484.
2. **Bossé JT, Johnson RP, Rosendal S.** 1990. Serodiagnosis of Pleuropneumonia Using Enzyme Linked Immune Sorbent Assay With Capsular Polysaccharide Antigens of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Serotypes 1, 2, 5, and 7. *Can J Vet Res* 54: 427–431.
3. **Code of Federal Regulation.** Parts 9. Office of the Federal Register National Archives and Records Administration. 2001 : 568 – 573.
4. **Desrosiers R.** 1986. Therapeutic Control and Economic Aspects of Porcine Pleuropneumonia In Finishing Units. *Vet Rec* 119:89–90.
5. **Falk K, Lium BM.** 1991. An Abattoir Survey of Pneumonia and Pleuritis In Slaughter Weight Swine from 9 Selected Herds. III. Serological Findings and Their Relationship to Pathomorphological and Microbiological Findings. *Acta Vet Scand* 32:79–88.
6. **Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI).** Jilid I. Edisi 3. Direktorat Jenderal Peternakan. Departemen Pertanian. Tahun 2007 : 138 – 139.
7. **Frey J.** (1995a): Exotoxins of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. In: Donachie W. et al: *Haemophilus, Actinobacillus and Pasteurella*. Plenum Press, New York. 101–113.
8. **Gardner IA, Bossé JT, Sheldrake RF, Rosendal S, Johnson RP.** 1991. Serological Response to *Actinobacillus pleuropneumoniae* Seroovar 7 Infection in a Commercial Pig Herd. *AustVet J.* 68:349–352.
9. **Gilbride KA, Rosendal S.** 1984. Antimicrobial Susceptibility of 51 Strains of *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Can J Comp Med* 48: 47-50.
10. **Hennessy, K.J., J.J. Iandolo, and B.W. Fenwick.** 1993. Serotype Identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* by Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction. *J. Clin. Microbiol.* 31, 1155-1159.
11. **Higgins R, Lariviere S, Mittal KR, Martineau GP.** 1983. Sensibilite de *Haemophilus pleuropneumoniae* a 1982. *Med Vet Quebec* 13: 41-43.
12. **Hirsch DC, Martin LD, Libal MD.** 1982. Plasmid-Mediated Antimicrobial Resistance In *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Am J Vet Res* 43: 269-272.
13. **Inzana, T.J., J.M.A, T.Wrokman, R.P.Gogolewski, and P. Anderson.** 1988. Virulence Properties and Protective Efficacy of The Capsular Polymer of *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* serotype 5. *Infect. Immun.* 56, 1880-1889.

14. **Inzana, T. J., J. Todd, and H. Veit.** 1991. Characterization of a Non-Hemolytic Mutant of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Serotype 5: Role of The 110 Kilodalton Hemolysin In Virulence and Immunoprotection. *Microb. Pathog.* 10:281-296.
15. **Jansen, R., J. Briaire, A. B. Van Geel, E. M. Kam, A. L. Gielkens, and M. A. Smits.** 1994. Genetic Map of The *Actinobacillus pleuropneumoniae* RTX-toxin (Apx) Operons: Characterization of the ApxIII Operons. *Infect. Immun.* 62, 4411-4418.
16. **Kobisch M., Van den Bosch J.F.** 1992. Efficacy of an *Actinobacillus pleuropneumoniae* Subunit Vaccine. 12th Int. Pig Vet. Soc. Congress. Hague, Netherlands. Proceedings, p. 216.
17. **Mannheim, W.** 1994. Family III. Pasteurellaceae. In: N. R. Krieg und J. G. Holt (Hrsg.): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 550-575. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
18. **Matthew, P. R. and I. H. Pattinson.** 1961. The Identification of a *Haemophilus*-like Organism Associated With Pneumonia and Pleurisy In The Pig. *J. Comp. Pathol.* 71, 44-52.
19. **Mulks, M.H., and J.M. Buysse.** 1992. A Targeted Mutagenesis System for *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Gene*. 165, 61-66.
20. **Nicolet, J.** 1992. *Actinobacillus pleuropneumoniae* In: A. D. and B. Straw: *Diseases of Swine* 7th ed., Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A.: 215-225, 401-408
21. **Nielsen R., Omsen A.D., Vesterlund S.D.** 1976. Pleuropneumonia Caused by *Haemophilus parahaemolyticus*. An Attempt To Control The Disease At Two Progeny Testing Stations By Serological Blood Testing Followed By Removal of The Seropositive Animals And Litter Mates. *Nord. Vet. Med.*, 28, 349-352.
22. **Nielsen R.** 1979. *Haemophilus parahaemolyticus* Serotypes. Pathogenicity and Cross Immunity. *Nord Vet Med* 1979; 31: 413-417.
23. **Nielsen R.** 1982. *Haemophilus pleuropneumoniae* Infection in Pigs. PhD Thesis. Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark.
24. **Nielsen R.** 1984. *Haemophilus pleuropneumoniae* Serotypes-cross Protection Experiments. *Nord Vet Med* 36: 221-234.
25. **Nielsen R.** 1985. *Haemophilus pleuropneumoniae* Diagnosis, Immunity and Control. In: *Compendium on Swine Haemophilus pleuropneumoniae*. Annu Meet Am Assoc Swine Pract, Des Moines, Iowa. 18-22.
26. **Nielsen, R.** 1986. Serological Characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Strains and Proposal of a New Serotype: Serotype 12. *Acta. Vet. Scand.* 27, 453-455.
27. **Torremorell, M., C. Pijoan, K. Janni, R. Walker, and H. S. Joo.** 1997. Airborne Transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* and Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus in Nursery Pigs. *Am. J. Vet. Res.* 58, 828-832.

28. **Sebunya, T. N. K., and J. R. Saunders.** 1983. *Haemophilus pleuropneumoniae* Infections in Swine: A Review. Am. J. Vet. Res. 182:1331-1337.
29. **Van den Bosch J.F., Jongelen I.M.C.A., Pubben A.N.B., Van Vugt F.G.A., Segers R.P.A.M.** 1992. Protection Induced by a Trivalent *A. pleuropneumoniae* subunit vaccine. In: 12th Int. Pig Vet. Soc. Congress. Hague, Netherlands. Proceedings, p. 94. Schweiz. Arch. Tierh., 111, 166–174.

Note : ernesandesfha@ymail.com