

Studi Vaksin Erysipelas: Immunogenisitas Tiga Fraksi Kultur Isolat Lokal *Erysipelothrix rhusiopathiae* Serotipe 2 pada Babi

SITI CHOTIAH

Balai Besar Penelitian Veteriner, P.O. Box 151, Bogor 16114

(Diterima dewan redaksi 27 Nopember 2007)

ABSTRACT

CHOTIAH, S. 2008. Study of erysipelas vaccine: Immunogenicity of three culture fractions of *E. rhusiopathiae* serotype 2 local isolate on swine. *JITV* 13(1): 74-81.

Erysipelothrix rhusiopathiae as the causal agent of erysipelas was isolated from swine in Indonesia. The aims of this study were to develop a local isolate vaccine for erysipelas and determine its immunogenicity in swine. Three types of fractionated culture of local isolate *E. rhusiopathiae* serotype 2 consisting of whole culture (WCu), whole cell (WCe) and culture filtrate (CF) were made into an oil adjuvant at a final bacteria concentration about 10^{10} colony forming unit (CFU). Four groups of swine (12 swines/group) were vaccinated intra muscularly with WCu, WCe and CF containing 2 ml per dose respectively, and K as a control group without vaccination. The vaccine was injected twice with three weeks interval. All groups were challenged with local isolates of *E. rhusiopathiae*; serotype 1 (heterologous) and serotype 2 (homologous) at five weeks after second vaccination except CF group was challenged at twelve weeks after the second vaccination by $10^{7.5}$ CFU. The specific antibody responses were monitored every two weeks by ELISA technique, and protective responses were determined by clinical signs of erythema urticaria or mortality during the observation for 14 days. The results showed that the antibody responses of WCu, WCe, and CF groups against extract antigen were not different. The protective responses of groups WCu, WCe, CF, and K against challenged local isolate of homologous serotype and heterologous were 83.3, 83.3, 91.7 and 0% respectively, with average value of optical density 0.492, 0.454, 0.529 and 0.3450 respectively, at the time of challenge. Cross protection occurred on all culture fractions tested. In conclusion, the three culture fractions of local isolate of *E. rhusiopathiae* serotype 2 containing protective antigen and could be used for vaccine candidate in Indonesia.

Key Words: *Erysipelothrix rhusiopathiae*, Local Isolate, Immunogenicity, Swine, Vaccine

ABSTRAK

CHOTIAH, S. 2008. Studi vaksin erysipelas: Immunogenisitas tiga fraksi kultur isolat lokal *Erysipelothrix rhusiopathiae* serotipe 2 pada babi. *JITV* 13(1): 74-81.

Erysipelothrix rhusiopathiae sebagai agen penyebab penyakit erysipelas telah diisolasi dari babi di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pembuatan vaksin erysipelas dan mengetahui immunogenisitasnya pada babi. Tiga fraksi kultur isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 2 yaitu *whole* kultur (WK), *whole sel* (WS) dan filtrat kultur (FK) dalam bentuk suspensi ajuvan minyak dengan konsentrasi akhir mengandung bakteri kurang lebih 10^{10} colony forming unit diinjeksikan kepada masing-masing kelompok babi (12 ekor/kelompok), kecuali kelompok K sebagai kontrol, dosis 2 ml secara intra muskuler. *Booster* vaksin diberikan tiga minggu kemudian dengan dosis yang sama. Ujiantang terhadap isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 1 (heterolog) dan 2 (homolog) dilakukan 5 minggu setelah injeksi *booster* kecuali pada kelompok FK diberikan setelah 11 minggu. Respon antibodi dipantau setiap dua minggu dengan metode ELISA dan respon proteksi ditentukan berdasarkan gejala klinis berupa eritema urtikaria atau kematian yang diamati selama 14 hari setelah diujiantang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa respon antibodi yang ditimbulkan dari tiga fraksi kultur tersebut terhadap antigen ekstrak tahan panas menunjukkan pola yang sama. Respon proteksi terhadap ujiantang isolat serotipe homolog dan heterolog pada babi dalam kelompok WK, WS, FK dan K masing-masing berurutan sebanyak 83,3; 83,3; 91,7 dan 0%, dengan rata-rata nilai densitas optikal sewaktu dilakukan ujiantang masing-masing berurutan 0,492; 0,454; 0,529 dan 0,345. Proteksi silang terjadi pada semua fraksi kultur yang diuji. Dari hasil penelitian tersebut diketahui tiga fraksi kultur isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 2 tersebut mengandung antigen protektif dan dapat dipakai untuk kandidat vaksin di Indonesia.

Kata Kunci: *Erysipelothrix rhusiopathiae*, Isolat Lokal, Immunogenisitas, Babi, Vaksin

PENDAHULUAN

Erysipelothrix (*E.*) *rhusiopathiae* merupakan bakteri gram positif yang dapat menyebabkan penyakit erysipelas pada berbagai hewan dan erisipeloid pada

manusia (WOOD, 1999). Berdasarkan sistem numerik yang diperkenalkan oleh KUCSERA (1973) hingga saat ini bakteri *E. rhusiopathiae* mempunyai 26 serotipe dan sebagian besar (70-80%) isolat yang berasal dari babi termasuk dalam serotipe 1 dan 2 (WOOD dan

HARINGTON, 1978; TAKAHASHI, *et al.*, 1996). Di Indonesia serotipe 2 merupakan serotipe yang paling dominan. (ZARKASIE *et al.*, 1991; CHOTIAH, 1994)

Erysipelas pada babi telah tersebar diseluruh dunia dan dapat menimbulkan kerugian ekonomi yang berarti, terutama disebabkan oleh bentuk kronis dan akut dapat mewabah terus-menerus disuatu daerah endemik. (WOOD, 1999). Sifat akut ditandai dengan septikemia, demam akut dan mati mendadak. Pada stadium subakut akan menyebabkan kenaikan suhu tubuh, eritema dan urtikaria pada kulit dan apabila penyakit berjalan lebih lanjut akan terjadi arthritis dan endokarditis (WOOD, 1999).

Kejadian erysipelas di Indonesia bersifat sporadis. Pertama kali dilaporkan terjadi di Cibinong, Jawa Barat tahun 1964, kemudian di Kapuk, Jakarta Barat tahun 1979, di Bali tahun 1980 (ANONIMUS, 1980), di Manado, Sulawesi Utara tahun 1982 (SULAIMAN *et al.*, 1983), di Temanggung, Jawa Tengah tahun 1991 (POERMADJAYA *et al.*, 1991) dan di Batang, Jawa Tengah tahun 1994 (CHOTIAH, 1998a).

Penanggulangan penyakit erysipelas dilakukan melalui pengobatan dan pencegahan. Pengobatan pada babi penderita erysipelas akut biasanya tidak memberikan hasil yang baik karena babi mati mendadak tanpa menunjukkan gejala klinis. Oleh karena itu pencegahan dengan vaksinasi merupakan cara yang terbaik. Vaksinasi sangat membantu terutama pada kelompok babi potong. Vaksin erysipelas yang digunakan di dunia saat ini terdiri dari dua jenis yaitu vaksin yang berasal dari organisme yang dibunuh (vaksin mati) dan vaksin hidup yang berasal dari organisme yang telah dilemahkan. Vaksin yang beredar di Indonesia merupakan vaksin mati dalam bentuk bakterin berasal dari luar negeri dan sudah lama digunakan sebagai kontrol penyakit di peternakan-peternakan babi berskala besar. Walaupun demikian efektifitasnya belum pernah dilaporkan.

Antibodi terhadap *E. rhusiopathiae* telah diketahui memegang peranan penting dalam pertahanan tubuh terhadap penyakit erysipelas (WOOD, 1984; YOKOMIZO dan ISAYAMA, 1972). Metode serologis yang digunakan untuk diagnosa erysipelas diantaranya uji aglutinasi (KITAJIMA *et al.*; 1989; SAWADA *et al.*, 1979); uji lateks agglutinas (SATO *et al.*, 1998), dan *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) (ROSSKOPF-STREICHER *et al.*, 2001; KITAJIMA *et al.*, 2000; IMADA *et al.*, 1999; DAHMS *et al.*, 1989; SKIRCHHOFF *et al.*, 1985).

Pada studi immunogenisitas ini telah digunakan teknik ELISA untuk deteksi antibodi yang ditimbulkan oleh tiga fraksi kultur isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 2, menggunakan antigen somatik tahan panas. Kekebalan yang ditimbulkan diuji dengan tiga macam isolat yang telah diketahui patogenisitasnya (CHOTIAH,

1998b). Antibodi yang ditimbulkan dibandingkan dengan kekebalan terhadap uji tantang dengan parameter berupa kematian atau gejala klinis yang patognomonis (lesi eritem urtikaria atau yang biasa disebut *diamond skin*).

MATERI DAN METODE

Isolat bakteri

Bakteri isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 2 nomor laboratorium T2 J2 hasil isolasi dari tonsil babi sehat dipakai untuk pembuatan vaksin erysipelas pada studi ini. Isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 1 nomor laboratorium T1J1 hasil isolasi dari babi sehat dan nomor laboratorium JB (BCC B2449) hasil isolasi dari babi kasus septikemi di suatu peternakan babi, dan isolat lokal serotipe 2 nomor laboratorium T2J1 (BCC B2450) dipakai untuk uji tantang. Antigen dalam uji ELISA dipakai isolat lokal serotipe 2 nomor laboratorium T2J2. Isolat-isolat lokal tersebut telah diuji sifat fenotifik dan patogenisitasnya dalam penelitian sebelumnya (CHOTIAH, 1994; CHOTIAH, 1998a; CHOTIAH, 1998b)

Pembuatan antigen untuk vaksin

Bakteri *E. rhusiopathiae* serotipe 2 dengan nomor kode T2 J2 dalam stok kering beku disuspensikan dalam medium kaldu *brain heart infusion* (BHI), kemudian dibiakkan dalam medium agar darah domba 5% dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu ruang 37°C dengan kandungan gas CO₂ 5%. Beberapa koloni murni yang tumbuh dikembang-biakan dalam medium kaldu BHI selama 24 jam pada suhu ruang 37°C dengan kandungan gas CO₂ 5%. Panenan biakan setelah diketahui jumlahnya 10¹⁰ *colony forming unit* (CFU)/ml, dibunuh dengan formalin 0,5% (v/v) disebut *whole* kultur (WK). Biakan bakteri yang telah dibunuh, disentrifuge 12000 x g selama 20 menit pada suhu 4°C, kemudian disaring dengan memakai membran filter ukuran 0,22 µm (EKWIP, Australia). Supernatan yang diperoleh, dikonsentrasikan menjadi 10% dari volume semula dengan memakai ultrafiltrasi membran semipermeabel (Milliphore, USA) disebut filtrat kultur (FK). Pelet dari hasil sentrifuge tadi dibuat suspensi dalam *phosphate buffer saline* (PBS) steril dengan kekeruhan tertentu kira-kira mengandung kuman 10¹⁰ CFU/ml disebut *whole* sel (WS). Ketiga fraksi vaksin tersebut masing-masing diemulsikan dalam ajuvan minyak yang mengandung 3% arlasek A sebagai *emulsifier*, dengan perbandingan 1 : 1.

Hewan percobaan

Babi lepas sapih, bobot hidup tidak seragam, umur diatas 2 bulan sebanyak 48 ekor galur campuran berasal dari beberapa peternakan komersial yang mempunyai sejarah tidak pernah terserang penyakit erysipelas telah dipakai dalam penelitian ini. Babi dibagi dalam empat kelompok yaitu kelompok WK, WS, FK sebagai kelompok divaksinasi dan kelompok K sebagai kelompok kontrol tidak divaksinasi. Masing-masing kelompok ditempatkan di dalam kandang yang terpisah dan setiap babi diberi nomor tato pada telinganya. Menjelang dilakukan ujiantang masing-masing kelompok dibagi menjadi empat sub kelompok WK1, WK2, WK3, WS1, WS2, WS3, FK1, FK2, FK3, K1, K2, dan K3; masing-masing terdiri dari 4 ekor dan ditempatkan secara terpisah.

Prosedur pemberian vaksin dan pengamatan hewan percobaan

Babi pada kelompok WK, WS dan FK masing-masing secara berurutan diinjeksi dengan antigen fraksi WK, WS dan FK, dosis 2×10^{10} CFU secara intra muskuler dan *booster* vaksin diberikan 3 minggu setelah vaksinasi pertama. Lima minggu setelah *booster* vaksin diberikan, semua babi dalam sub kelompok WK1, WS1 dan K1 ditantang terhadap isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 2 nomor laboratorium T2J1 (BCC B2450), sub kelompok WK2, WK2 dan K2 ditantang terhadap isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 1 nomor laboratorium JB (BCC B2449), dan sub kelompok WK3, WS3 dan K3 ditantang terhadap isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 1 nomor laboratorium T1J1 dengan dosis $10^{7.5}$ CFU secara intra muskuler. Selebihnya sub kelompok divaksinasi dengan vaksin FK ujiantang yang sama dilakukan pada waktu 11 minggu setelah *booster* vaksin diberikan. Pengamatan terhadap gejala klinis eritema urtikaria dan kematian dilakukan setiap hari selama 14 hari. Babi yang mati diotopsi dan dari organ jantung dilakukan isolasi dan identifikasi terhadap *E. rhusiopathiae*. Pengamatan terhadap respon antibodi yang terjadi pada semua babi percobaan dilakukan dengan menggunakan metode ELISA yang dilakukan setiap dua minggu sampai percobaan selesai.

Pembuatan antigen ELISA

Isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 2 (T2J2) dibiakkan dalam medium agar darah domba 5%, diinkubasikan selama 24 jam pada suhu ruang 37°C dengan kandungan gas CO_2 5%. Beberapa koloni murni

dikembang-biakan ke dalam medium kaldu BHI dengan tambahan 10% serum kuda, 0,2% glukosa, dan 2% protease pepton, diinkubasikan selama 24 jam pada suhu ruang 37°C dengan kandungan gas CO_2 5%. Panenan biakan dibunuh dengan fenol sampai konsentrasi akhir menjadi 1%, kemudian disentrifuge pada $3000 \times g$, selama 20 menit. Endapan yang terjadi dicuci 3 kali dengan larutan PBS pH 7,3 dengan tambahan 0,2% fenol. Endapan sel bakteri disuspensikan dalam air deionisasi dengan perbandingan 1 g : 30 ml. Kemudian diautoklaf pada suhu 120°C selama 20 menit. Setelah dingin disaring dengan filter ukuran $0,450 \mu\text{m}$ (Milliphore, USA). Supernatan disimpan pada suhu 4°C untuk digunakan kemudian.

Prosedur ELISA

Sebelum prosedur ELISA dilakukan, semua reagensia yang akan dipakai distandardisasi terlebih dahulu dengan titrasi *checkerboard* antigen, serum dan konjugat. ELISA dilakukan dengan menggunakan cawan mikro 96 lubang, tipe dasar cekung (Maxi Sorp NUNC).

Prosedur ELISA yang digunakan berdasarkan CHOTIAH dan SUDIBYO (1995). Sebanyak $50 \mu\text{l}$ antigen enceran optimal dalam larutan *coating buffer* PBS pH 7,2 dimasukkan kedalam setiap lubang cawan, lalu dieramkan selama 1 malam pada suhu 4°C . Kemudian setiap lubang cawan dicuci sebanyak 3 kali dengan PBST (PBS dengan tambahan 0,05% Tween 20). Sampel serum enceran optimal dalam larutan PBST sebanyak $50 \mu\text{l}$ dimasukkan ke dalam lubang cawan (masing-masing sampel dikerjakan duplo), lalu dieramkan pada suhu kamar selama 1 jam sambil dikocok perlahan-lahan memakai *shaker*. Cawan dicuci sebanyak 3 kali dengan PBST. Kemudian kedalam setiap lubang cawan dimasukan $50 \mu\text{l}$ konjugat *rabbit anti pig IgG peroxidase* (Silenus, Australia) enceran optimal dalam PBST, lalu dieramkan pada suhu kamar selama 1 jam sambil dikocok perlahan-lahan. Setelah dicuci dengan PBST sebanyak 3 kali, kedalam setiap lubang cawan dimasukan $100 \mu\text{l}$ substrat 1 mM ABTS (2,2-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline 6 sulphonate) dalam 0,1 M *buffer* asam sitrat pH 4,2 dengan tambahan 2,5 mM H_2O_2 . Satu jam setelah penambahan substrat densitas optikal ditentukan memakai mesin pembaca ELISA (Titertek Multiskan, MCC 340 Flow Laboratories, USA) dengan panjang gelombang 415 nm. Setiap cawan mikro berisi kontrol konjugat, kontrol serum negatif dan kontrol serum positif dalam pengenceran seri kelipatan dua.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Raspon antibodi

Kuantitas antibodi spesifik yang ditimbulkan oleh tiga macam fraksi kultur isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 2 terhadap antigen serotipe 2 pada kelompok yang divaksinasi dan kelompok kontrol dinyatakan dalam nilai densitas optikal. Respon antibodi IgG pada kelompok babi yang divaksinasi dengan tiga fraksi kultur isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 2 dan kontrol dipaparkan di dalam Gambar 1. Rataan nilai densitas optikal antibodi IgG dari masing-masing kelompok WK, WS, FK dan K pada pengamatan sebelum dilakukan vaksinasi menunjukkan perbedaan, kecuali pada kelompok WK dan kelompok K hampir sama. Fenomena ini mungkin disebabkan antara lain oleh faktor kekebalan bawaan (PASTORET *et al.*, 1999) dan infeksi alami.

Dalam kelompok WS pembentukan antibodi IgG mencapai puncak pada pengamatan 1 minggu setelah *booster* vaksin diberikan, dengan rata-rata nilai densitas optikal 0,551. Sementara itu, kelompok WK puncak pembentukan antibodi dicapai pada pengamatan 3 minggu setelah *booster* vaksin diberikan, dengan rata-rata nilai densitas optikal 0,494. Selanjutnya kelompok FK puncak pembentukan antibodi dicapai pada pengamatan 7 minggu setelah *booster* vaksin diberikan, dengan rata-rata nilai densitas optikal 0,562. Perbedaan waktu dalam pencapaian puncak pembentukan antibodi IgG dari tiga fraksi tersebut di atas disebabkan karena perbedaan struktur imunogenik dari masing-masing fraksi.

Rataan nilai densitas optikal antibodi IgG yang dibentuk oleh ketiga fraksi kultur tersebut di atas tidak tinggi. Kemungkinan hal tersebut disebabkan oleh antigen ELISA yang dipakai merupakan antigen ekstrak tahan panas yang kandungan proteinnya belum dimurnikan dan masih bercampur dengan karbohidrat dan fosfat (CHIN dan EAMENS, 1986). Walaupun demikian jika dibandingkan dengan kelompok K sebagai kontrol terlihat jauh lebih tinggi. Dalam studi ini tidak terlihat adanya perbedaan dalam pola respon antibodi yang ditimbulkan oleh tiga fraksi kultur tersebut dan ketiganya mengandung antigen yang bersifat imunogenik.

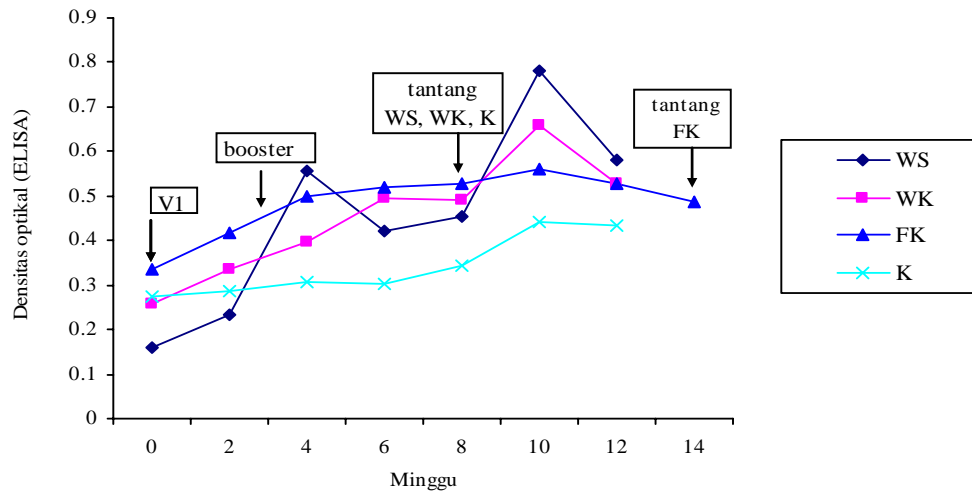
Respon proteksi

Pada studi ini respon proteksi ditentukan berdasarkan kemampuan untuk mencegah terjadinya gejala klinis eritema urtikaria atau kematian yang ditimbulkan akibat uji tantangan. Pada kelompok WK, WS dan FK, gejala klinis eritema urtikaria ditemukan

berurutan sebanyak 16,7%; 16,7% dan 0%, sedangkan kematian masing-masing berurutan sebanyak 16,7%; 8,3% dan 8,3% setelah diuji tantangan terhadap isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 1 dan 2 (Tabel 1). Rataan nilai densitas optikal pada saat dilakukan uji tantangan masing-masing berurutan 0,492, 4,54, 0,529 dan 0,345 (Gambar 1). Sebaliknya pada kelompok kontrol (K) gejala klinis eritema urtikaria ditemukan sebanyak 100% dan kematian sebanyak 66,7% (Tabel 1). Dari pengamatan tersebut maka respon proteksi babi dalam kelompok WK, WS, FK dan K masing-masing berurutan sebanyak 83,3, 83,3, 91,7 dan 0%. Tiga fraksi kultur tersebut menunjukkan sedikit perbedaan dalam kemampuan untuk mencegah babi terhadap gejala klinis eritema urtikaria atau kematian. Menurut SAWADA *at al.* (1987) tingkat kekebalan dapat disebabkan oleh banyaknya perbedaan sifat antigenisitas antara strain vaksin dan strain untuk uji tantangan.

Imunogenisitas pada babi kelompok divaksinasi dengan tiga fraksi kultur isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 2 dan kelompok kontrol dipaparkan di dalam Tabel 1. Pada saat dilakukan uji tantangan terhadap isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 2 (serotipe homolog) dengan rata-rata nilai densitas optikal pada sub kelompok WK1, WS1 dan FK1 masing-masing: 0,634, 0,488 dan 0,508; menunjukkan semua (100%) babi mampu mencegah terjadinya gejala klinis eritema urtikaria dan kematian. Sebaliknya pada sub kelompok K1 dengan rata-rata nilai densitas optikal 0,327 tidak satupun (0%) babi mampu mencegah terjadinya gejala klinis eritema urtikaria dan hanya sebanyak 25% babi mampu mencegah terjadinya kematian.

Sementara itu, pada saat dilakukan uji tantangan terhadap 2 isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 1 (heterolog) yang berbeda patogenesisitasnya hasilnya bervariasi. Pada sub kelompok WK2 dan WK3 dengan rata-rata nilai densitas optikal masing-masing 0,392 dan 0,449 ternyata hanya sebanyak 75% babi mampu mencegah terjadinya gejala klinis eritema urtikaria dan kematian. Pada sub kelompok WS2 dan WS3 dengan rata-rata nilai densitas optikal masing-masing 0,452 dan 0,374, ternyata sub kelompok WS2 mampu mencegah terjadinya gejala klinis eritema urtikaria dan kematian sebanyak 75% dan sub kelompok WS3 mampu mencegah terjadinya gejala klinis eritema urtikaria sebanyak 75% tanpa diikuti dengan kematian. Pada sub kelompok FK2 dan FK3 dengan rata-rata nilai densitas optikal masing-masing 0,352 dan 0,599, ternyata sub kelompok FK2 mampu mencegah terjadinya gejala klinis eritema urtikaria sebanyak 100% dan kematian sebanyak 75%, dan sub kelompok FK3 mampu mencegah terjadinya gejala klinis eritema urtikaria dan kematian sebanyak 100%.



Gambar 1. Respon antibodi IgG pada kelompok babi divaksin dengan tiga fraksi kultur isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 2 dan kontrol

Tabel 1. Imunogenisitas pada babi kelompok divaksin dengan tiga fraksi kultur isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 2 dan kelompok kontrol

Kelompok (n=12)	Sub kelompok (n=4)	Rataan nilai densitas optikal (ELISA) antibodi IgG			Respon babi setelah uji tantang:		
		2 minggu sebelum uji tantang	waktu uji tantang	2 minggu setelah uji tantang	Jumlah babi		Reisolasi <i>E. rhusiopathiae</i>
					gejala klinis*	mati	
WK	WK1	0,573	0,634	0,768	0	0	0
	WK2	0,448	0,392	0,655	1	1	+
	WK3	0,461	0,449	0,547	1	1	+
WS	WS1	0,430	0,488	0,470	0	0	0
	WS2	0,612	0,452	1,051	1	1	+
	WS3	0,423	0,374	0,780	1	0	0
FK	FK1	0,530	0,508	-	0	0	0
	FK2	0,467	0,352	-	0	1	+
	FK3	0,586	0,599	-	0	0	0
K	K1	0,203	0,327	0,461	4	3	+++
	K2	0,313	0,298	0,351	4	4	++++
	K3	0,303	0,310	0,442	4	1	+

Keterangan: WK = whole kultur; WS = whole sel; FK = filtrat kultur; K = kontrol

1 = Ditantang terhadap serotipe 2 (homolog) asal babi sehat

2 = Ditantang terhadap serotipe 1 (heterolog) asal babi septikemi

3 = Ditantang terhadap serotipe 1 (heterolog) asal babi sehat

= 2 minggu

* = Patognomonis eritema urtikaria

- = Data tidak diperoleh

Sebaliknya pada sub kelompok K2 dan K3 dengan rataan nilai densitas optikal masing-masing 0,298 dan 0,310, ternyata tidak satupun (0%) babi dalam sub kelompok K2 mampu mencegah terjadinya gejala klinis eritema urtikaria dan kematian. Sedangkan pada sub kelompok K3 tidak satupun (0%) babi mampu mencegah terjadinya gejala klinis eritema urtikaria dan hanya 75% mampu mencegah kematian.

Banyaknya variasi serotipe pada *E. rhusiopathiae* (26 serotipe) merupakan masalah dalam pencegahan erysipelas pada babi. Sebagian besar dari serotipe tersebut adalah patogen pada babi (NORRUNG, 1979). Berdasarkan studi epidemiologi sedikitnya 3 sampai 4 wabah erysipelas disebabkan oleh serotipe 1 dan 2 (TAKAHASHI *et al.*, 1986). Pada studi ini, fraksi WK, WS dan FK memperlihatkan respon proteksi terhadap tantangan serotipe homolog (serotype 2) dan heterolog (serotipe1), walaupun terlihat ada perbedaan respon kebal terhadap ujiantang serotipe homolog dan heterolog. Keadaan yang demikian sesuai dengan peneliti terdahulu yang menunjukkan adanya proteksi terhadap tantangan serotipe heterolog (WOOD, 1979; SAWADA *et al.*, 1986; TIMONEY dan GROSCHUP, 1993; CHOTIAH, 2004).

Pada studi ini terlihat rataan nilai densitas optikal antibodi mulai dari 0,488 mampu mencegah terjadinya gejala klinis eritema urtikaria dan kematian. Fenomena tersebut menunjukkan bahwa besaran nilai densitas optikal antibodi pada waktu dilakukan ujiantang berbanding lurus dengan kemampuan untuk mencegah terjadinya gejala klinis eritema urtikaria dan kematian.

Reisolasi bakteri *E. rhusiopathiae*

Bakteri *E. rhusiopathiae* dapat diisolasi kembali dari organ jantung yang diambil dari semua babi percobaan yang mati. Biakan bakteri tersebut didapat dalam kumpulan koloni murni pada medium agar yang mengandung 5% darah domba setelah diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 37°C dengan CO₂ 5%. Karakteristik dari bakteri tersebut adalah Gram positif, non motil, oksidase dan katalase negatif dan pertumbuhan pada medium agar *Mc Conkey* negatif. Pertumbuhan pada medium agar darah membentuk koloni sangat tipis, halus dan transparan, serta menghasilkan zona hemolisis dan berwarna agak kehijauan. Dalam medium gelatin *stabs* yang diinkubasikan pada suhu 22°C selama 4-8 hari menunjukkan *test tube brush* positif. Dapat memproduksi hidrogen sulfida pada medium TSIA.

Dari pengamatan tersebut diatas terlihat bahwa tiga fraksi kultur isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 2 yang diteliti yaitu WK, WS dan FK mengandung antigen yang bersifat protektif dan imunogenik. Menurut SATO *et al.* (1995) ada dua struktur protein

dengan berat molekul 64 kD dan 43 kD hasil analisis dari fraksi filtrat kultur yang berhubungan dengan stimulasi efek protektif pada mencit. Pernyataan tersebut didukung oleh penelitian IMADA *et al.* (1999) yang membuktikan bahwa SpaA (*surface protective antigen*) adalah antigen protektif yang umum dari *E. rhusiopathiae* serotipe 1 dan 2 pada babi dan menjadi komponen yang berguna untuk pengembangan vaksin baru dan perangkat diagnostik untuk mengontrol penyakit erysipelas.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa *whole* kultur, *whole* sel dan filtrat kultur isolat lokal *E. rhusiopathiae* serotipe 2 mampu mencegah terjadinya gejala klinis eritema urtikaria atau kematian masing-masing berurutan sebanyak 83,3, 83,3 dan 91,7% terhadap tantangan isolat serotipe homolog maupun heterolog. Respon antibodi yang ditimbulkan dari tiga fraksi kultur tersebut terhadap antigen ekstrak menunjukkan pola yang sama. Besaran rataan nilai densitas optikal antibodi pada waktu dilakukan ujiantang berbanding lurus dengan kemampuan untuk mencegah terjadinya gejala klinis eritema urtikaria atau kematian. Tiga fraksi kultur isolat lokal tersebut mengandung antigen yang bersifat protektif dan imunogenik sehingga dapat dijadikan kandidat vaksin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Sdr. Yusuf Mukmin dan Sdr. Sukatma yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini dan Sdr. M. Ropik yang telah membantu dalam pemeliharaan hewan percobaan.

DAFTAR PUSTAKA

- ANONIMUS. 1980. Pedoman pengendalian penyakit hewan menular. Direktorat Jenderal Peternakan. Departemen Pertanian RI. Jakarta. Jilid 2: 74-81.
- CHIN, J.C. and G.J. EAMEN. 1986. Immunoreactivity of fractionated antigens obtained from autoclaved extracts of arthritogenic isolate of *Erysipeloytrix rhusiopathiae*. *Aust. Vet. J.* 63: 355-359.
- CHOTIAH, S. 1998a. Isolasi dan Karakterisasi *Erysipeloytrix rhusiopathiae* dari kasus erysipelas babi di Kabupaten Batang, Jawa Tengah. Pros. Seminar Hasil-hasil Penelitian Veteriner. Bogor 18-19 Pebruari 1998. Balai Penelitian Veteriner. Bogor. hlm. 79-86
- CHOTIAH, S. 1998b. Patogenisitas Isolat Lokal Serotipe-serotipe 1, 2, 6, 11, 12 dan tipe N Pada Mencit dan Babi. *JITV.* 3(4): 251-256.

- CHOTIAH, S. 2004. Proteksi silang pada babi vaksinasi dengan vaksin erysipelas isolate lokal. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor 4-5 Agustus 2004. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Bogor. hlm. 651- 655
- CHOTIAH, S. dan A. SUDIBYO. 1995. Sero Epidemiologi Erysipelas pada Babi di Beberapa Daerah di Indonesia. Pros. Seminar Nasional Teknologi Veteriner. Cisarua, Bogor 22-24 Maret 1995. Balai Penelitian Veteriner. Bogor. hal. 154-158.
- DAHMS, H., W. F. SCHILLOW, and G. HAGEMANN.. 1989. Detection of *Erysipelothrix rhusiopathiae* in the serum of experimentally infected swine by ELISA and immunoblotting. *Arch. Veterinarmed.* 43: 907-916.
- IMADA, Y., N. GOJI, H. ISHIKAWA, M. KISHIMA and T. SEKIZAKI.1999. Truncated surface protective (Spa A) of *Erysipelothrix rhusiopathiae* serotype 1a elicits protections against challenge with serotypes 1a and 1b in pig. *Infect Immune.* 67: 4376-4382.
- KIRCHHOFF, H., H. DUBENKROPP, G. KERLEN, H.W. STEFFENS, W. HERMANN, G. TRAUTWEIN and K.H. BOHM. 1985. Application of indirect enzyme immunoassay for the detection of antibodies against *Erysipelothrix rhusiopathiae*. *Vet. Microbiol.* 10: 549-559.
- KITAJIMA, T., E. OISHI, K. AMIMOTO, S. UI. H. NAKAMURA, K. ODA, S. KATAYAMA, A. IZUMIDA, and Y. SHIMIZU. 2000. Quantitative diversity of 67 kDa protective antigen among serovar 2 strain of *Erysipelothrix rhusiopathiae* and its implication in protective immune response. *J. Vet. Med. Sci.*62:1073-1077.
- KITAJIMA, T., E. OISHI, K. AMIMOTO, S., UI. H. NAKAMURA, N.OKADA, O. SASAKI, and H. YASUHARA. 1989. Protective effect of NaOH extracted *Erysipelothrix rhusiopathiae* vaccine in pig. *J. Vet. Med. Sci.* 60:9-14.
- KUCSERA, G. 1973. Proposal for standardization of the designations use for serotypes *Erysipelothrix rhusiopathiae* (Migula) Buchanan. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 23: 184-188.
- NORRUNG,V. 1979. Two new serotypes *Erysipelothrix rhusiopathiae*. *Nord. Vet. Med.* 22:240-245.
- PERSAERT, M. and K. VAN REETH. 1999. Vaccine for swine. *Veterinary Vaccinology*. P.P. PASTORED, J. BLANCOU, P. VANIER and C. VERSE HEUREN (Eds.). ELSEVIER SCIENCE B.V. Amsterdam. Netherlands. pp. 372-390.
- POERMADJAYA, B., S. WITONO, W. SUBEKTI dan S. WICAKSONO (1991). Isolasi dan identifikasi *Erysipelothrix rhusiopathiae* pada babi. Balai Penyidikan Penyakit Hewan Wilayah IV Yogyakarta. *Buletin Laboratorium Veteriner.* 1(1): 1-4.
- ROSSKOPF-STREICHER, U., S. JOHANNES, M. WILHELM and C. CUSSLER. 2001. Quality control erysipelas vaccines result of an international collaborative study to establish a new regulatory test. *Vaccine.* 19: 1477-1483.
- SATO, H., K. HIROSE and H. SAITO. 1995. Protective achuity and antigenic analysis of fractions culture filtrates of *Erysipelothrix rhusiopathiae*. *Vet. Microbiol.* 43: 173-182.
- SAWADA, T., M. MURAMATSU and K. SETO. 1979. Response of growth agglutinating antibody and protection of pig inoculated with swine erysipelas live vaccine. *Japan J. Vet. Sci.* 41: 593-600.
- SAWADA, T., T. TAKAHASHI and Y. TAMURA. 1986. Antiserum against culture filtrate is cross protective for various serovars of *Erysipelothrix rhusiopathiae*. *Vet. Microbiol.* 14: 87-93.
- SAWADA, T., T. TAKAHASHI and Y. TAMURA. 1987. Protective Effect of Sera from Swine Immunized with Different Fractions from broth culture of an attenuated strain of *Erysipelothrix rhusiopathiae*. *Japan. J. Vet. Sci.* 49: 37-42.
- TAKAHASHI, T., N. NAGAMINE, M. KIJIMA, S. SUZUKI, M. TAKAGI, Y. TAMURA, M. NAKAMURA, M. MURAMATSU and T. SAWADA. 1996. Serovar of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolated from pig effected with erysipelas in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*58: 587-589.
- TAKAHASHI, T., T. SAWADA, K. OHMAE, M. TAKAGI, M. MURAMATSU, N. TERAKADO, K. SETO, T. MARUYAMA and. M. KANZAKI. 1986. Serotypes and antibiotic resistance of *Erysipelothrix rhusiopathiae* strains isolated from pig effected with chronic erysipelas. *J. A. R. Q.* 19: 287-294.
- TIMONEY, J.F. and M.M. GROSCUP. 1993. Properties of a protective protein antigen of *Erysipelothrix rhusiopathiae*. *Vet. Microb.* 37: 381387.
- WOOD, R.L. 1979. Specificity in response of vaccinated swine and mice to challenge exposure with strain of *Erysipelothrix rhusiopathiae* of various serotypes. *Am. J. Vet. Res.* 40: 795-801.
- WOOD, R.L. 1984. Swine erysipelas. A review of prevalence and research. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 184: 944-949.
- WOOD, R.L. 1999. Erysipelas. In: *Diseases of Swine*. B.E. STRAW, S. D'ALLAIRE, W.L. MENGELING and D.J. TAYLOR (Eds.). Iowa State University Press, Ames, IOWA 5014. pp: 419-430.
- WOOD, R.L. and R.J. HARRINGTON. 1978. Serotype of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolated from swine and from soil and manure of swine pens in the United States. *Am. J. Vet. Res.* 39: 1833-1840.
- YOKOMIZO, Y. and Y. ISAYAMA. 1972. Antibody activity of IgM and IgG fraction from rabbit antisera. *Res. Vet. Sci.* 13: 294-296.
- ZARKASIE, K., T. TAKAHASHI, S. MARIANA and SUMADI. 1991. Isolation, serotyping, antimicrobial minimum inhibitory concentration and pathogenicity determination of *Erysipelothrix rhusiopathiae* from tonsils of apparently healthy slaughter pigs. *Hemera Zoa.* 74(1): 15-20.