

PEMBERDAYAAN PLASMA NUTFAH MIKROBA VETERINER DALAM PENGEMBANGAN PETERNAKAN: HARAPAN VAKSIN *ESCHERICHIA COLI* ENTEROTOKSIGENIK, ENTEROPATOGENIK DAN VEROTOKSIGENIK ISOLAT LOKAL UNTUK PENGENDALIAN KOLIBASILOSIS NEONATAL PADA ANAK BABI DAN SAPI

SUPAR

Balai Penelitian Veteriner
Jl.R.E. Martadinata 30 Bogor, P.O. Box 151, Bogor 16114

ABSTRAK

Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC) merupakan penyebab diare utama pada anak babi dan anak sapi neonatal. Prevalensi diare dan kematian anak babi antara 13,4%-43,7% dan 12,2%-31,6%. Prevalensi diare sapi perah 20-31%, dan kematian berkisar 19-24% per tahun. Bakteri ETEC penyebab diare pada babi mempunyai antigen perlekatan 987P, F41, K99 atau K88 atau lebih dari satu macam antigen K88K99 atau K99F41. *E. coli* K99, F41 atau K99F41 dapat diisolasi dari anak sapi perah diare di bawah umur 5 hari. Pengendalian infeksi ETEC pada babi dan sapi dengan obat antibiotika tidak efektif. Uji antibiogram isolat *E. coli* K88, K99, F41 dan 987P terhadap obat antibiotika menunjukkan tingkat multiple resisten yang sangat tinggi, antara 4-6 macam antibiotika, antara lain: streptomisin, ampisilin, neomisin, eritromisin, oksitetrasiklin, kanamisin, trimethoprim-sulfametoksazole, sulfonamida dan khloramfenikol. *E. coli* K99 menunjukkan tingkat resistensi sampai 9-15 macam antibiotika yang sering dipakai di lapangan. Dengan demikian strategi pengendalian alternatif dengan vaksin ETEC perlu dikembangkan. Vaksin ETEC multivalen dibuat dari galur lokal ETEC K88, K99, F41, dan 987P. Vaksin dibuat dalam bentuk mati dan diemulsikan dalam alhidrogel pada konsentrasi akhir 1,5% dan konsentrasi sel setara dengan tabung standar Mcfarland no. 10. Dua dosis vaksin ETEC (@ 2 ml) diinjeksikan secara subkutan pada induk babi umur kebuntingan 6 dan 2 minggu sebelum partus. Anak babi yang lahir dibiarkan menyusu induknya di bawah kondisi lapangan. Vaksin ETEC untuk sapi dibuat dari isolat lokal ETEC K99, F41 dan K99F41, dan dikombinasikan dengan EPEC yang bersifat verotoksigenik. Dua dosis (@ 5 ml) vaksin diinjeksikan pada induk sapi secara subkutan 6 dan 2 minggu sebelum prakiraan partus. Anak sapi perah diberi kolostrum atau susu dari induknya. Vaksin inaktif ETEC K88, K99, F41 dan 987P multivalen yang diinjeksikan pada induk babi menginduksi respon antibodi (IgG dan IgA) dalam serum dan kolostrum. Dalam serum didominasi oleh IgG dan di dalam susu IgA dan IgG. Dengan kata lain, vaksin ETEC yang diinjeksikan pada induk babi memberikan proteksi pasif pada anak babi yang menyusu pada pasca partus. Proteksi serupa terjadi pada induk sapi. Aplikasi 2 dosis vaksin ETEC multivalen pada induk babi tingkat akhir kebuntingan dapat menurunkan diare dan kematian anak babi secara drastis dari 30% menjadi 5%. Aplikasi vaksin ETEC sapi plus EPEC pada induk bunting dapat menurunkan kematian pedet dari 13% menjadi 0,7%. Vaksin ETEC mempunyai prospek yang baik sebagai pengganti antibiotika impor dalam pengendalian kolibasilosis pada babi dan sapi. Plasma nutfah ETEC, EPEC dan VTEC tersebut disimpan pada unit Balitvet culture collection (BCC) Bogor.

Kata kunci: Anak babi, sapi, plasma nutfah mikroba, ETEC, EPEC, VTEC, kolibasilosis, vaksin, pengendalian lapang

ABSTRACT

THE VETERINARY MICROBAL GERM PLASM APPLICABILITY ON ANIMAL HUSBANDRY DEVELOPMENT: THE FUTURE EXPECTATION OF ENTEROTOXIGENIC, ENTEROPATHOGENIC AND VEROTOXIGENIC LOCALLY ISOLATED *ESCHERICHIA COLI* VACCINES FOR CONTROLLING NEONATAL COLIBACILLOSIS IN PIGLETS AND CALVES

Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) strains are the major causes of neonatal diarrhoea in piglets and calves. The prevalence of diarrhoeal cases and mortality in neonatal piglets were reported to occur between 13 to 44% and 12 to 32% respectively. Similar problems were observed in neonatal dairy calves, at which the diarrhoeal cases and mortality were reported at an average of 20 to 30% and 24% respectively. ETEC containing either K88, K99, F41 or 987P fimbrial antigen isolates were commonly associated with piglet diarrhoea, whereas ETEC bearing K99, F41 or K99F41 fimbrial antigens associated with calf diarrhoea. Both of the ETEC isolates were known to exhibit multiple resistance between 4 to 6 antibiotic drugs, or even up to 9 to 15 antibiotic drugs commonly used in the field. These indicated that antibiotics were no longer effective to be used to treat and to control piglet and calf diarrhoea associated with ETEC. Inactivated multivalent ETEC vaccine containing K88, K99, F41 and 987P antigens was developed from local isolates and adjuvanted with aluminium hydroxide gel at final concentration of 1,5% and

cell concentration was equal to the number 10 of the McFarland tubes standard. Two doses of 2 ml vaccine were subcutaneously injected into pregnant sows at 6 weeks and 2 weeks before expected date of farrowing. New born piglets were allowed to suckle their own mother under field conditions. Similar vaccine was prepared from ETEC K99, F41, K99F41 and verotoksigenik *E. coli* (VTEC) field isolates originated from calves with diarrhoea as described above. Two doses of 5 ml ETEC vaccine were injected subcutaneously of pregnant dairy cows of 6 weeks and 2 weeks before expected date of calving. Calf born from vaccinated cow was given colostrum of its own mother by the milk man. A killed whole cell multivalent ETEC vaccine containing K88, K99, F41 dan 987P injected intramuscularly or subcutaneously into pregnant sows induced antifimbrial IgG and IgA responses both in serum which was predominated by IgG, and in the mammary secretions were both IgA and IgG. In other words such vaccines provided passive protection to piglets which be able to suckle colostrum at birth. Similar antibody responses were demonstrated in dairy cows vaccinated with ETEC containing K99, F41 fimbrial antigens and *E. coli* producing verotoxin antigen (VTEC). Vaccine field trials to control piglet neonatal colibacillosis in swine that two doses of multivalent vaccine given four weeks apart in pregnant sows at late gestation provided dramatically reduced piglet diarrhoea and mortality from 30% (unvaccinated) to 5% (vaccinated). The use of 2 doses of ETEC K99, F41 and VTEC in pregnant dairy cows at late gestation reduced the calf diarrhoea and mortality from 13.0% annually (before vaccine application) to 0.7% (vaccine application period). The two types of vaccine (multivalent ETEC for pigs and ETEC+VTEC for cattle) demonstrated a good prospect, since these whole cell vaccines are highly efficacious in controlling neonatal piglet and calf diarrhoea and mortality. These vaccines could be used to replace antibiotic therapy in the future. The ETEC, EPEC and VTEC local isolates are preserved at the Balitvet culture collection (BCC) Bogor.

Key words: Piglets, calves, microbial germ plasm, ETEC, EPEC, VTEC, colibacillosis, vaccines, field control

PENDAHULUAN

Penelitian bidang veteriner (penyakit hewan) yang dilakukan di Indonesia dalam waktu dua dekade terakhir ini sebagian besar berorientasi pada suatu target hasil berupa publikasi ilmiah. Hasil penelitian tersebut tersimpan di berbagai perpustakaan baik di dalam negeri maupun di luar negeri yang berguna untuk para peneliti dan pemegang kebijakan. Dengan demikian hasil penelitian tersebut belum menyentuh pada sasaran pokok untuk meningkatkan produksi peternakan di Indonesia, antara lain vaksin yang menggunakan isolat lokal bakteri dan virus. Salah satu pokok bahasan pada kesempatan ini ialah penelitian plasma nutfah *Escherichia coli* penyebab penyakit kolibasilosis pada ternak terutama pada periode *neonatal*. Penelitian dimulai dari pengamatan masalah di lapang, dilanjutkan isolasi patogen, identifikasi faktor virulensi, faktor antigen protektif, pembuatan vaksin, pengujian di laboratorium dan prospek penggunaan vaksin di bawah kondisi lapangan. Hasil penelitian yang diperoleh dipublikasi dalam terbitan ilmiah primer nasional atau internasional, seperti tercantum dalam daftar pustaka pada bagian akhir makalah ini.

Balai Penelitian Veteriner (BALITVET) memiliki unit koleksi mikroba yang disebut dengan BALITVET *culture collection* (BCC). Unit tersebut sudah dikenal secara internasional namun secara nasional kurang populer (BAHRI *et al.*, 1998). Aset Balai yang berupa plasma nutfah mikroba (bakteri, virus, parasit dan cendawan) dilestarikan pada unit ini. Plasma nutfah veteriner tersebut merupakan aset biologik sebagai salah satu hasil penelitian di BALITVET yang perlu dimanfaatkan secara optimal, profesional, berdaya guna dan berhasil guna. Salah satu dari mikroba veteriner ialah enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC),

enteropatogenik *E. coli* (EPEC) dan verotoksigeni *E. coli* (VTEC)

Makalah ini merupakan suatu tinjauan sekilas tentang penelitian ETEC, EPEC dan VTEC, masalahnya pada produksi peternakan dan harapan penggunaan vaksin isolat lokal tersebut sebagai pengganti antibiotik dan vaksin impor.

KEBIJAKAN UMUM DALAM PENGENDALIAN PENYAKIT TERNAK

Hasil penelitian veteriner menunjukkan bahwa agen penyebab penyakit ternak di Indonesia sangat banyak ragamnya, berupa agen penyakit yang bersifat menular (bakteri, virus dan parasit) dan agen penyebab yang tidak menular akibat keracunan. Beberapa penyakit penting yang dapat dikemukakan, antara lain: penyakit pasteurellosis (SE) (PRIADI dan NATALIA, 2000), brucellosis, kolibasilosis, salmonellosis (SUPAR *et al.*, 1995), tetelo atau *New Castle Disease* (ND) (DARMINTO dan RONOARDJO, 1995), *infectious bursal disease* (kegagalan respon tanggap kebal) (PAREDE *et al.*, 1994), penyakit cacing hati dan berbagai penyakit parasit lainnya (PARTOUTOMO *et al.*, 1995). Penyakit tersebut sangat mengganggu pada produksi dan produktivitas ternak dan menyebabkan kerugian ekonomi. Masing-masing agen penyebab penyakit tersebut memiliki sifat patogenitas berbeda-beda, sehingga mengakibatkan masalah yang berlainan. Oleh sebab itu, teknologi untuk pengobatan dan pengendaliannya bermacam-macam sesuai dengan sifat-sifat karakteristiknya, namun secara keseluruhan tidak dikemukakan pada makalah ini.

Pengobatan dan pengendalian penyakit infeksius (bakterial) secara medikasi dengan sediaan obat-obatan antibiotik bukan lagi menjadi pilihan yang terbaik, selain karena kurang efektif sehubungan dengan keberadaan resistensi multipel (SUPAR *et al.*, 1990; POERNOMO *et al.*, 1992), juga menyebabkan bahaya sampingan yang cukup

potensial berkaitan dengan cemaran, residu antibiotika dan kimia toksik pada ternak dan produk-produknya (WIDIASTUTI dan MURDIATI, 1995). Untuk mengatasi hal itu, pengendalian penyakit dengan vaksin yang mempunyai daya lindung optimal merupakan cara yang lebih layak, aman dan efisien. Dengan demikian dapat diproduksi bahan pangan asal ternak yang bersih dari cemaran obat dan residu bahan kimia toksik. Contoh yang dikemukakan pada makalah ini adalah vaksin ETEC dan EPEC untuk pengendalian kolibasilosis yang mengancam ternak sejak lahir.

Pada hakekatnya semua penyakit infeksius dapat dikendalikan atau dicegah dengan vaksin yang sesuai, seperti penyakit pes babi atau (*hog cholera*) yang sangat ganas akhir-akhir ini menyerang ternak babi, atau penyakit lain yang menyerang sapi atau unggas. Dewasa ini BALITVET memiliki kekayaan plasma nutfah mikroba yang dikoleksi dari berbagai penjuru Indonesia dan disimpan dalam bentuk kering beku atau suhu rendah pada unit BCC. Pemanfaatan mikroba tersebut untuk kandidat vaksin akan sangat berguna dalam pengendalian penyakit ternak. Vaksin isolat lokal lebih sesuai dengan struktur antigenik agen penyakit di lapangan, Produksi vaksin isolat lokal dapat dilakukan di dalam negeri (BALITVET, PUSVETMA dan Perusahaan Swasta)

untuk substitusi impor dan dapat menghemat devisa. Sebagai contoh vaksin isolat lokal tersebut adalah ETEC dan EPEC. Efikasi vaksin ETEC multivalen galur lokal lebih baik dibanding vaksin sejenis yang diimpor (SUPAR dan HIRST, 1990).

SIFAT-SIFAT ETEC, EPEC DAN VTEC SERTA DISTRIBUSINYA

Penyakit merupakan salah satu kendala penting yang dapat menghambat perkembangan populasi ternak. Salah satu diantaranya ialah kolibasilosis *neonatal* yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Escherichia coli* enterotoksigenik (ETEC) yang mempunyai antigen perlekatan atau *fimbriae* atau pili K88 (F4), K99(F5) (SUPAR, 1996b), 987P (F6) dan F41 (SUPAR *et al.*, 1989a, 1991). Anak sapi rentan terhadap infeksi ETEC yang mempunyai antigen *fimbriae* K99 atau F41 (SUPAR *et al.*, 1988) dan galur *E. coli* yang bersifat verotoksigenik dan enteropatogenik (EPEC) (KUSMIYATI dan SUPAR, 1998). Berbagai serotipe yang berhasil diisolasi dari berbagai tempat di Indonesia tertulis pada Tabel 1.

Tabel 1. Variasi ETEC isolat anak babi/sapi penderita diare dan distribusinya

Asal	Antigen pili/ sifat hemolitik	Enterotoksin	O-serogroup
ETEC/EPEC dari anak babi:			
DKI Jakarta	K88 hemolitik	LT dan ST	O _{108,138,149,157}
	K99 non hemolitik	ST	O _{9,20,64,101}
	K99F41 non hemolitik	ST	O ₁₀₁
	F41 non hemolitik	ST	O _{9, 101}
	K88K99 hemolitik	LT dan ST	O ₁₀₈
	987P non hemolitik	ST	O _{9,20, 141}
Bogor	K88 hemolitik	LT dan ST	O _{138,149,157}
	K99 non hemolitik	ST	O _{9,20,101}
	F41 non hemolitik	ST	O _{9, 101}
	987P non hemolitik	ST	O _{9,20, 141}
Tangerang	K88 hemolitik	LT dan ST	O _{138,149,157}
	K99 non hemolitik	ST	O _{9,64,101}
	K99F41 non hemolitik	ST	O ₁₀₁
	F41 non hemolitik	ST	O ₁₀₁
	987P non hemolitik	ST	O _{9,20, 141}
Sumatera Utara	K88 hemolitik	LT dan ST	O _{138,149,157}
	K99 non hemolitik	ST	O _{9,64,101}
	F41 non hemolitik	ST	O _{9, 101}
	987P non hemolitik	ST	O _{9,20,}
ETEC pada sapi			
Jawa Tengah	F41 non hemolitik	ST	O ₁₀₁
Jawa Barat	F41 non	ST	O ₁₀₁
	K99 non hemolitik	ST	O _{9, 10}
	K99F41 non hemolitik	ST	O ₁₀₁
	Alfa hemolitik	Verotoksin	tidak diuji

Keterangan: LT: toksin tidak tahan panas ST: toksin tahan panas

Sumber: SUPAR (1986; 1987a,b; 1993; 1994), SUPAR *et al.* (1988; 1989a,b; 1991), KUSMIYATI dan SUPAR (1998)

E. coli K88 mampu memproduksi enterotoksin yang tidak tahan panas atau *heat labile toxin* (LT) (SUPAR *et al.*, 1987b) dan tahan panas atau *heat stable toxin* (ST) (SUPAR *et al.*, 1987a). Sementara itu *E. coli* K99, F41 atau 987P memproduksi enterotoksin ST. Anak babi atau anak sapi dapat terinfeksi ETEC segera setelah dilahirkan, umur 1-3 hari dengan waktu inkubasi yang sangat singkat. Infeksi ETEC banyak menimbulkan diare pada periode *neonatal* dan banyak menimbulkan kematian. Anak sapi rentan terhadap infeksi ETEC K99 atau F41 pada umur 5 hari pertama (SUPAR *et al.*, 1989b; SUPAR, 1996a).

Infeksi ETEC baik pada anak sapi maupun anak babi mekanismenya serupa. ETEC menempel pada permukaan mukosa usus halus dengan perantaraan antigen perlekatan atau *fimbriae* K88, K99, F41 atau 987P, setelah menempel berkembang biak dan memproduksi toksin LT atau ST. Aktifitas LT atau ST seperti toksin kolera yaitu menstimulasi sekresi cairan tubuh dan elektrolit secara berlebihan. Oleh karena sekresi terjadi lebih banyak dari absorpsi, maka terjadilah diare profus dan dehidrasi dan hewan yang terinfeksi cepat mati (SUPAR, 1987a, SUPAR 1987b).

E. coli verotoksigenik secara *in vitro* dapat memproduksi toksin sitopatik pada sel VERO (*Africa green monkey kidney*) *monolayer* (KUSMIYATI dan SUPAR, 1998). Bakteri ini bersifat enteroinvasif, sehingga dapat menyebabkan diare berdarah atau disentri yang mengakibatkan hewan terserang menderita diare berkepanjangan dan mempertinggi kasus kematian (SUPAR, 1996a; SUPAR *et al.*, 1999).

Antigen perlekatan K88, K99, F41, 987P dan verotoksin diketahui merupakan komponen antigen protein yang mempunyai berat molekul berbeda-beda dan mempunyai sifat antigenisitas dan imunogenisitas berbeda (SUPAR dan HIRST, 1991a). Dari penelitian diketahui antigen perlekatan atau antigen verotoksik bersifat imunoprotektif (SUPAR dan HIRST, 1991b; SUPAR *et al.*, 1999). Oleh karena itu antigen tersebut dapat dikembangkan untuk vaksin.

MASALAH DIARE DAN KEMATIAN TERNAK AKIBAT INFEKSI ETEC DAN EPEC

Escherichia coli enterotoksigenik (ETEC) yang mempunyai antigen perlekatan atau *fimbria* K88, K99, F41 dan 987P merupakan penyebab utama diare profus pada anak babi dan menyebabkan banyak kematian pada periode *neonatal*. Antigen *fimbria* tersebut berasosiasi dengan antigen somatik atau antigen O-^{9, 20, 64, 101, 108, 138, 149} atau 157 (SUPAR *et al.*, 1988) (Tabel 1). Oleh karena itu, kejadian kolibasilosis pada anak babi sangat kompleks. Kasus diare pada anak babi dapat dijumpai setiap saat sampai umur 3 minggu pertama dengan prevalensi antara 14-30%. Kematian akibat diare profus dan dehidrasi berkisar antara 12-27% pada

periode tersebut, dan masalah itu dihadapi peternak babi sepanjang tahun, baik peternak intensif atau tradisional (SUPAR *et al.*, 1988, SUPAR, 1993, 1994).

Diare pada anak sapi neonatal yang disebabkan oleh infeksi ETEC K99 dan F41 berasosiasi dengan somatik antigen O-^{9, 20} atau 101. Prevalensi kasus diare pada anak sapi pada daerah sentra pengembangan sapi perah (Jawa Barat) berkisar antara 19-40%, dengan kematian pedet dibawah umur 1 bulan berkisar antara 8-19% dapat terjadi sepanjang tahun (SUPAR *et al.*, 1989b; SUPAR 1996).

PENGOBATAN DAN RESISTENSI ETEC TERHADAP ANTIBIOTIKA

Dalam 2 dekade terakhir antibiotika banyak dipakai untuk pengobatan diare pada anak babi atau anak sapi, tetapi hasilnya tidak baik, karena kasus diare dan mortalitas tetap tinggi (SUPAR *et al.*, 1989; SUPAR, 1993). Uji sensitifitas isolat ETEC K88, K99, F41, K99F41 dan 987P dari berbagai daerah menunjukkan multipel resisten 2-9 macam obat-obatan yang sering dipakai di lapangan, yakni sebesar 96% (480/500), dan secara rinci dapat dilihat pada Tabel 2. Resistensi ETEC dari berbagai daerah terhadap antibiotika menunjukkan pola serupa. Hal ini memberikan petunjuk bahwa pemakaian obat-obatan antibiotika tidak efektif, mahal dan perlu pengawasan dan dikendalikan (SUPAR *et al.*, 1990; SUPAR, 1993, 1994). Pemantauan antibiogram isolat ETEC pada babi yang dilakukan secara periodik dalam waktu 5 tahun terakhir menunjukkan multipel resistensi sampai 16 dari 20 macam antibiotik yang diujikan (Tabel 3) (SUPAR 1999. Data tidak dipublikasi).

PENGEMBANGAN VAKSIN ETEC DAN EPEC

Pencegahan kolibasilosis dengan vaksin ETEC menjadi penting artinya dengan semakin meluasnya multipel resistensi ETEC terhadap antibiotika yang sering dipakai pada peternakan. Di samping itu, penggunaan antibiotik terus menerus pada ternak sebagai pengobatan atau sebagai *feed additive* akan menaikkan residu antibiotik dalam daging. Aplikasi vaksin ETEC untuk pengendalian kolibasilosis makin terbuka setelah diketahui berbagai macam antigen perlekatan *E. coli* yang berkaitan dengan sifat imunogenisitas dan imunoproteksinya.

Komposisi vaksin ETEC galur lapang untuk penelitian pengendalian diare dan kematian anak babi neonatal terdiri dari ETEC K88 berasosiasi dengan berbagai serogrup O-^{108, 138, 149, 157}. ETEC K99, F41, K99F41 dan 987P tersebar dalam serogrup O-^{9, 20, 64, 101} (SUPAR dan HIRST, 1990).

Tabel 2. Multiple resistensi terhadap obat antibiotika dari 500 isolat *E. coli* K88, K99, F41 dan 987P dari anak babi terhadap antibiotika

	AM	S	N	OT	E	K	SXT	C	SSS	GM	FT	PB
500												
AM	139	122	109	131	25	109	52	62	125	1	1	-
S		310	228	302	67	216	90	75	285	-	1	-
N			272	270	60	219	90	76	270	1	-	-
OT				479	101	221	94	76	333	1	1	-
E					116	38	17	9	90	-	1	-
K						226	101	72	205	-	1	-
SXT							109	61	105	-	-	-
C								81	75	1	1	-
SSS									333	1	1	-
GM										1	-	-
FT											1	-
PB												-

Keterangan: Am : Ampisilin SXT : Trimetoprim sulfametoksazole
S : Streptomisin PB : Polimisin B sulfate
N : Neomisin C : khloramfenicol
OT : Oksitetrasiklin SSS : Sulfonamida
E : Eritromisin GM : Gentamisin
K : Kanamisin FT : Nitrofurantoin

Sumber: SUPAR *et al.*, 1989b

Tabel 3. Perbedaan resistensi *E. coli* K88,K99 dan *E.coli* 987P isolat tahun 1991, 1997 dan 1999 terhadap 20 macam antibiotik

Nama antibiotik yang diujikan	Kode	% Resistensi	% Resistensi	% Resistensi	
		<i>E. coli</i> K88,K99 isolat tahun 1999	<i>E. coli</i> 987P isolat tahun 1999	<i>E. coli</i> K88, K99 987P tahun 1991	1997
Gentamisin	GN	100	85	0	24
Kanamisin	K	100	90	28	90
Apromisin	APR	100	58	td	td
Neomisin	N	95	45	td	td
Doxisilin	D	82	65	td	td
Chlortetrasiklin	CH	91	99	td	td
Oxitetrasiklin	OT	100	99	93	100
Streptomisin	SPT	77	45	93	24
Lincomisin/ spectinomisin	L/SP	100	80	td	td
Colistin	CL	91	63	0	0
Sulfamonomethoxin	SX	100	100	td	td
Sulfaquinoksalin	SQ	100	100	td	td
Sulfadiazin	SD	100	100	td	td
Enrofloksasin	EN	82	40	td	td
Cyprofloksasin	CY	77	30	0	83
Ampisilin	AM	95	83	75	90
Amoxisilin	AMX	95	83	td	td
Cefaleksin	CEF	14	5	td	td
Amproprim (trimetoprim+ sulfamethoxazole)	SXT	100	99	78	69
Tylosin	TY	100	100	td	td

Keterangan: td: tidak diuji (1991, SUPAR 1993); isolat 1997 dan 1999, data tidak dipublikasi

Terjadi tendensi kenaikan pemakaian antibiotik akibatnya terjadi kenaikan resistensi yang hebat dampaknya aplikasi antibiotik tidak efektif lagi.

Komposisi vaksin ETEC untuk pengendalian kolibasilosis pada anak sapi terdiri ETEC K99, F41, K99F41 tergolong dalam serogroup O-9, 20, 101, (SUPAR *et al.*, 1998). Galur antigen vaksin EPEC untuk pengendalian disentri *E. coli* dapat disatukan dengan antigen ETEC. Pemakaian vaksin tidak aktif yang mengandung berbagai jenis antigen tidak ada yang bersifat negatif diantara individu komponen antigen yang saling menghambat dalam pembentukan antibodi (SUPAR *et al.*, 1999)

Vaksin ETEC babi atau sapi dibuat dalam bentuk mati tidak aktif dan diemulsikan dalam adjuvan alhidrogel pada konsentrasi akhir 1,5% dan mengandung antigen *fimbriae* (pili) yang proporsional dan kepekatan sel setara dengan tabung standard Mcfarland No. 10. Adjuvan tersebut toksisitasnya paling rendah dan tidak menimbulkan efek samping pada hewan bunting.

APLIKASI VAKSIN ETEC MULTIVALEN

Pada babi

Pada tahap pertama tiap induk babi bunting diinjeksi vaksin ETEC pada umur kebuntingan 70-75 hari dengan dosis 2 ml per ekor. Pada umur kebuntingan 100-105 hari diinjeksi vaksin ke dua dengan dosis seperti yang pertama. Vaksin diinjeksikan di daerah leher di belakang telinga. Anak babi yang baru lahir diusahakan dapat menyusu induknya segera setelah dilahirkan. Kolostrum merupakan maternal antibodi yang dapat mencegah infeksi pada periode neonatal, dan daya proteksi antibodi dalam susu babi dapat mencapai 3-4 minggu (SUPAR dan HIRST, 1990, 1991a, SUPAR 1991b; SUPAR, 1993, SUPAR 1994, SUPAR 1995).

Pada sapi perah

Sapi perah bunting, pada saat kering kandang (7-8 bulan umur kebuntingan) diinjeksi vaksin ETEC K99F41 polivalen dengan dosis 5 ml secara subkutan di daerah leher di belakang telinga. Vaksin serupa diinjeksikan pada saat 2 minggu sebelum prakiraan partus. Anak sapi diberi kolostrum induknya segera setelah dilahirkan. Antibodi terhadap antigen *fimbria* (IgG) sangat tinggi dalam kolostrum sampai hari ke 5 pasca partus, sesudah itu IgG turun tetapi IgA naik (SUPAR *et al.*, 1998, 1999).

UJI PENGENDALIAN KOLIBASILOSIS DENGAN VAKSIN ETEC

Uji vaksin ETEC babi untuk pengendalian kolibasilosis dilakukan di sekitar daerah Jakarta, Bogor, Medan, dan Tangerang. Aplikasi vaksin ETEC pada induk babi bunting tidak menimbulkan aborsi dan tidak dijumpai efek samping lainnya. Aplikasi vaksin ETEC di daerah sekitar Jakarta dan Bogor dapat menurunkan kasus diare dari 26-36% (tidak divaksin) menjadi 7-5%, sedangkan kematian anak babi turun dari 17-26% (tidak divaksin) menjadi 4-6% (SUPAR dan HIRST, 1990). Dari data ini jelas terlihat bahwa apabila diare neonatal turun, maka kematian juga turun.

Percobaan di Medan memberikan hasil serupa (SUPAR, 1994). Percobaan di Tangerang dengan jumlah hewan yang lebih banyak memberikan hasil yang konsisten seperti percobaan sebelumnya, yakni kasus diare rata-rata turun dari 30% menjadi 4,2% dan kematian turun dari 21% menjadi 3,7% (SUPAR 1993, 1995). Hasil uji vaksin ETEC di bawah kondisi lapang memberikan petunjuk bahwa anak babi yang lahir dari hewan yang divaksinasi tumbuh lebih bagus dibandingkan dengan anak babi dari hewan kontrol. Di samping itu, dengan pemakaian vaksin ETEC dapat menekan pemakaian sediaan antibiotika impor.

Hasil uji lapang vaksin ETEC multivalen yang mengandung semua jenis antigen *fimbriae* dan semua jenis antigen somatik tersebut memberikan bukti tentang efektivitas vaksin ETEC untuk pengendalian kolibasilosis *neonatal*. Metode ini lebih murah dan dapat dipakai sebagai pengganti antibiotika.

Aplikasi beberapa ratus dosis vaksin ETEC pada sapi tidak ditemukan kasus aborsi atau efek negatif yang lainnya. Masalah diare dan kematian anak sapi *neonatal* akibat infeksi ETEC dapat ditekan dari 13% menjadi 0.7% setelah aplikasi vaksin pada induk (Tabel 4). Pemeriksaan antibodi terhadap antigen K99, F41 dan verotoksin dalam kolostrum dan susu menunjukkan bahwa terjadi peningkatan pada kelompok induk yang diinjeksi vaksin. Kolostrum atau susu yang mengandung antifimbrial antibodi dan antiverotoksik antibodi tersebut berfungsi sebagai proteksi pasif terhadap anak sapi pada periode *post natal* (SUPAR *et al.*, 1998).

Tabel 4. Aplikasi vaksin ETEC polivalen pada induk sapi bunting untuk pengendalian kematian pedet pada peternakan sapi perah PT TS. Sukabumi

Perlakuan	Waktu	Anak sapi lahir hidup	Anak sapi mati Banyaknya (%)
Non-vaksinasi	Januari 1996	22	3 (13,6)
	Februari 1996	13	1 (7,6)
	Maret 1996	23	3 (13,0)
	April 1996	20	1 (5,0)
	Mei 1996	27	5 (18,5)
	Juni 1996	32	8 (25,0)
	Juli 1996	31	3 (9,7)
	Agustus 1996	20	2 (10,0)
	September 1996	25	2 (8,0)
	Sub Jumlah	213	28 (13,1)
Vaksinasi	Oktober 1996		210 (0,0)
	Nopember 1996	31	0 (0,0)
	Desember 1996	32	0 (0,0)
	Januari 1997	28	1 (3,6)
	Februari 1997	26	0 (0,0)
		Sub Jumlah	138

Sumber: SUPAR *et al.* 1998

KESIMPULAN

Dari uraian singkat tentang kekayaan plasma nutfah mikroba veteriner ETEC, EPEC, VTEC isolat lokal untuk pembuatan vaksin ETEC tersebut di atas diketahui suatu formula vaksin ETEC isolat lokal lebih sesuai untuk kondisi di Indonesia. Penguasaan teknologi deteksi faktor virulensi *E. coli* yang dikembangkan kearah sifat imunogenisitas dan imunoprotektifnya dapat dimanfaatkan untuk memproduksi vaksin ETEC dan EPEC pada skala komersial. Pengendalian penyakit kolibasilosis pada ternak dengan vaksin ETEC, EPEC dan VTEC merupakan bagian dari strategi produksi pangan asal ternak yang bebas cemaran, residu antibiotika dan bahan kimia toksik. Plasma nutfah mikroba veteriner seperti ETEC, EPEC dan VTEC merupakan aset biologik yang perlu dilestarikan viabilitasnya, sehingga diharapkan dapat dikembangkan dan dipakai sebagai kandidat vaksin dalam pengendalian penyakit kolibasilosis yang ramah lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

BAHRI S., SUHARDONO dan S. HASTIONO (Eds). 1998. Kekayaan mikroba veteriner pada Balitvet culture collection. Balai Penelitian Veteriner (Balitvet) newsletter Vol 13(1).

DARMINTO dan P. RONOARDJO. 1995. New Castle Disease pada unggas di Indonesia. Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner Jilid I: 65-88.

KUSMIYATI dan SUPAR. 1998. *Escherichia coli* verotoksigenik dari anak sapi perah penderita diare. Prosiding seminar hasil-penelitian veteriner. Balai Penelitian Veteriner, Bogor. 103-108.

PAREDE L., P. RONOARDJO, H. HAMID, R. INDRIANI, SUDARISMAN, I. SALIHIN dan KUSMEIDI. 1994. Isolasi dan karakterisasi virus IBD dari kejadian akut wabah penyakit gumboro. *Penyakit Hewan*. 46: 2024.

PARTOUTOMO S., M. SOLEH, F. TOLITEDI, A. DAY, P. STEVENSEN, A. J. WILSON, D. B. COPEMAN and L. OWEN. 1994. The epidemiology of *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma theleri* in cattle and buffalo in small holder farms in Java. *Penyakit Hewan*. 48: 41-46.

POERNOMO S., SUTARMA, JAENURI dan ISKANDAR. 1992. Kolibasilosis pada unggas di Indonesia. II. Uji kepekaan *Escherichia coli* asal peternakan ayam di berbagai wilayah Jawa dan Bali terhadap beberapa antibiotika. *Penyakit Hewan*. 43A: 39-43.

PRIADI A. dan L. NATALIA. 2000. Patogenesis *Septicaemia epizootica* (SE) pada sapi, kerbau: Gejala klinis, perubahan patologis, Reisolasi, deteksi *Pasteurella multocida* dengan media kultur dan Polymerase Chain Reaction (PCR). *J. Ilmu Ternak dan Vet.* 5(1): 65-71.

- SUPAR. 1986. Penggunaan metode *enzyme linked immuno-sorbenassay* (ELISA) untuk deteksi antigen pili K99, K88 pada *Escherichia coli* dari anak sapi dan anak babi diare. *Penyakit Hewan XVIII* (32): 159-168
- SUPAR. 1987a. Diagnosis kolibasilosis pada pada anak sapi: Penggunaan anak mencit untuk identifikasi enterotoksin tahan panas. *Penyakit Hewan XIX* (34): 54-57
- SUPAR. 1987b. Studi perbandingan uji ELISA dan biakan sel jaringan Y1 pada enterotoksin yang tidak tahan panas kuman *Escherichia coli* berasal dari anak babi penderita diare. *Penyakit Hewan XIX* (34): 58-68.
- SUPAR. 1993. Prospek pengendalian kolibasilosis neonatal dengan vaksin *Escherichia coli* multivalen pada peternakan babi intensif di Tangerang, Jawa Barat. *Penyakit Hewan XXV* (46): 114-119.
- SUPAR, 1994. Distribusi infeksi *Escherichia coli* enterotoksigenik pada anak babi di Sumatera Utara dan prospek pengendaliannya dengan vaksin. Prosiding Seminar nasional teknologi veteriner untuk meningkatkan kesehatan hewan dan keamanan bahan pangan asal ternak. Cisarua, Bogor. 173-179.
- SUPAR. 1995. Studies on piglet diarrhoea associated with enterotoxigenic *Escherichia coli* and its control by vaccination. *Hemera Zoa 77* (2): 66-77.
- SUPAR. 1996a. Studi kolibasilosis pada anak sapi perah dan deteksi *Escherichia coli* K99, F41 dan K99F41. Prosiding Temu Ilmiah Bidang Veteriner. Balai Penelitian Veteriner, Bogor, 148-155.
- SUPAR. 1996b. Deteksi gen pengendali sintesis antigen perlekatan K88, K99 dan enterotoksin pada *Escherichia coli* yang diisolasi dari anak babi dan anak sapi penderita diare. *Junal Ilmu Ternak dan Vet.* 2 (1): 60-65
- SUPAR and R. G. HIRST. 1990. Development of a whole cell vaccine from *Escherichia coli* bearing K88,K99, F41 and 987P fimbrial antigens: Vaccine field trials to control piglets neonatal colibacillosis. *Penyakit Hewan XXIII* (40):69-75.
- SUPAR and R. G. HIRST. 1991a. Development of a whole cell vaccine from *Escherichia coli* bearing K88,K99, F41 and 987P fimbrial antigens: Studies on the immunogenicity of the fimbrial antigens. *Penyakit Hewan XXIII* (41): 1-10.
- SUPAR and R. G. HIRST. 1991b. Development of a whole cell vaccine from *Escherichia coli* bearing K88,K99, F41 and 987P fimbrial antigens: The relationships between colostral IgA and IgG antifimbrial antibodies and protections. *Penyakit Hewan XXIII* (41): 1-10.
- SUPAR, R. G. HIRST and B.E PATTEN. 1988. K-Adhesins and O-serogroups of *Escherichia coli* in calves and piglets with diarrhoea. Proceedings 6th Federation of Asian Veterinary Association Congress. Denpasar, Bali, Indonesia: 479-485.
- SUPAR, R. G. HIRST and B. E. PATTEN. 1989a. The detection of enterotoxic *Escherichia coli* with F41 fimbrial antigen from pig in Indonesia. *Penyakit Hewan.* XXI (37): 13-17.
- SUPAR, R. G. HIRST and B. E. PATTEN. 1989b. Studies on the epidemiology of neonatal colibacillosis in food producing animals in Indonesia. Proceedings of the first national Seminar on Veterinary Epidemiology. December 1989. Yogyakarta: 103-132.
- SUPAR, R. G. HIRST and B. E. PATTEN. 1990. Antimicrobial drug resistance in enterotoxigenic *Escherichia coli* K88, K99, F41 and 987P isolated from piglets in Indonesia. *Penyakit Hewan.* XXII (39): 13-19.
- SUPAR, R. G. HIRST and B. E. PATTEN. 1991. The importance of enterotoxigenic *Escherichia coli* containing 987P fimbrial antigen in causing neonatal colibacillosis in piglets in Indonesia. *Vet. Microbiol.* (26): 393-400.
- SUPAR, S. CHOTIAH dan G. MOEKTI. 1995. Penyakit-penyakit infeksius pada babi dan upaya pengendaliannya. Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner Jilid I: 319-344.
- SUPAR, KUSMIYATI dan B. POERWADIKARTA. 1998. Aplikasi vaksin enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC) K99, F41 polivalen pada induk sapi perah bunting verotoksigenik: respon antiverotoksik antibodi pada hewan percobaan mencit, kelinci dan sapi perah. *Jurnal Ilmu Ternak dan Vet.* 4 (1): 35-47.
- SUPAR, B. POERWADIKARTA,N. KURNIASIH dan DJAENURI. 1999. Pengembangan vaksin *Escherichia coli* alfa hemolytic verotoksigenik: Respon antibodi pada hewan percobaan mencit, kelinci dan sapi perah. *J. Ilmu Ternak dan Vet.* 4(1): 35-47.
- WIDIASTUTI R. dan T. B. MURDIATI. 1995. Residu sulfonamida pada telur ayam ras. Prosiding Seminar Penelitian peternakan dan Veteriner. Jilid 2: 1011-10

