

2. TINJAUAN PUSTAKA

A. Etiologi

Botulism adalah keadaan keracunan yang disebabkan toksin yang diproduksi oleh C. botulinum atau C. paratobotulinum, kedua nama ini dibedakan atas sifatnya dalam memecah protein, dimana C. botulinum bersifat non-proteolitik sedangkan C. paratobotulinum bersifat proteolitik (28,37).

C. botulinum mempunyai 7 tipe antara lain tipe A, B, C, D, E dan F (11,23,33,37), sedangkan Brandly et al. (1966) membedakan tipe C menjadi 2 subtype yaitu C_a dan C_b (6). Tipe A, B dan E terpenting dalam hubungannya dengan kejadian botulism pada manusia, sedangkan tipe C dan D berhubungan dengan botulism pada hewan (6,10,11,28,31).

Tipe C_a menyebabkan botulism pada bebek liar, burung kua dan anak ayam, tipe C_b menyebabkan botulism pada mink, sapi dan kuda, tipe D menyebabkan botulism pada sapi, sedangkan tipe F pernah menyebabkan botulism pada manusia di Argentina (31).

C. botulinum secara normal terdapat dalam saluran pencernaan kuda, sapi dan babi, sedangkan dalam usus manusia mungkin juga terdapat karena manusia biasanya makan sayuran (29). Tipe A dan B terdapat pada buah-buahan sedangkan tipe E terdapat di dalam saluran pencernaan ikan (33).

a. Sejarah Kejadian Botulism

Kejadian botulism pada hewan sering pada anak ayam dan burung air liar, sedangkan kejadian pada sapi relatif sedikit. Selama terjadi kasus di Amerika Barat 10.000 sampai 50.000 burung musnan (31).

Kejadian botulism di Afrika Selatan biasanya dipercepat dengan kekurangan fosfor di dalam tanah, sedangkan di Australia biasanya dipercepat oleh defisiensi karbohidrat dan protein (7).

Pada tahun 1895 terjadi wabah di Ellezelles, Belgia, dimana 3 dari 34 musikus telah menderita botulism karena telah makan ham yang disimpan selama 10 hari dan 10 orang lainnya telah mati. Dari semua yang makan ham tersebut menunjukkan gejala neuroparalisis (6).

Pada tahun 1896 van Ermengem telah mengisolasi kuman penyebab dan diberi nama *C. botulinum*. Botulinum diambil dari bahasa Latin botulus yang berarti sosis (6,23). Isolasi berikutnya dilakukan oleh Landman dari kasus botulism yang diakibatkan memakan makanan selain dari ikan dan daging. Kasus tersebut terjadi di Darmstadt, Jerman, ketika 11 dari 12 orang yang telah makan sayuran yang terdiri dari buncis yang dikalengkan dan disimpan lama, telah meninggal dunia. Sedang-

kan yang masih hidup karena terlambat datang sehingga sayuran telah dihangatkan terlebih dahulu (6,21).

Pada tahun 1910, Leuchs bekerja sama dengan van Ermengem dan Landmann telah berhasil mengisolasi bakteri tersebut dan membuktikan bahwa toksin tersebut secara imunologi berbeda, sehingga anti-toksin yang dihasilkan tidak dapat melindungi terhadap toksin yang lain. Dari biakan yang dihasilkan oleh van Ermengem membedakan ada bakteri yang bersifat proteolitik yang diberi nama tipe B dan yang bersifat nonproteolitik disebut tipe A (6,21). Menjelang tahun 1913 telah terjadi wabah di Amerika Serikat yang mengakibatkan kematian yang tinggi. Kasus tersebut karena makan buah-buahan yang dikalengkan tetapi tidak diasamkan. Kematian terbesar terjadi di California (6,21). Pada tahun 1921 dan 1922 Meyer, Geiger dan Dubovsky melaporkan adanya kejadian yang luas dari tipe A dan tipe B di Amerika Serikat, Canada dan beberapa negara di Eropa (6). Pada tahun 1922, Bengston menemukan tipe C yang diisolasi dari lalat hijau (Lucilia caesar), sehingga diberi nama C. lucidae (6,23). Pada tahun yang sama Seddon mengisolasi tipe ke-4 yang secara imunologi berbeda dengan tipe yang

lain, dari sapi yang menderita paralisis bulbaris. Tipe terakhir diberi nama C. botulinum tipe C_a dan tipe C_b (6).

Theiler dan Robinson, menisolasi tipe ke-5 dari sapi di Afrika Selatan yang menyebabkan lam-ziekte. Tipe ini mempunyai toksin yang spesifik dan disebut C. botulinum tipe D (6,34). Gunnison, Cumming dan Meyer telah mengisolasi tipe E dari ikan yang diasap pada tahun 1932. Tipe E ini sampai tahun 1964 telah menyebabkan wabah pada 84 orang di Jepang, Amerika Serikat, Canada, Rusia, Denmark dan Norwaygia. Hampir semua kejadian botulism yang disebabkan oleh tipe E ada hubungannya dengan ikan dan mamalia laut. Secara normal tipe ini ditemukan dalam intestin ikan laut, ikan air tawar, mamalia dan burung. Tipe ini berbeda dengan tipe lain dalam kepekaannya terhadap panas dan dapat berkembang biak serta membentuk toksin diluar keadaan anaerob, dan toksin akan meningkat daya racunnya jika diberi trypsin (6).

Menurut laporan Lida et al. yang dikutip oleh Schwabe pada tahun 1957 di Jepang terjadi kasus dimana 60 orang yang memakan Isuzhi, 30 diantaranya menunjukkan gejala sakit kepala, nausea dan vomitus, dengan diagnosa klinik adalah botulism (30).

Brandly et al. menyatakan bahwa Dolman telah mengidentifikasi tipe F pada tahun 1961 dari media yang diisolasi oleh Moller dan Schaebel di Denmark dari home-made liver paste. Sifat toksin dari tipe ini hampir sama dengan tipe A (6).

US. Department of Health Education and Welfare (1971) yang dikutip oleh Zottola, melaporkan bahwa 5 dari 7 anggota keluarga menderita botulism setelah makan saus cabe yang dikalengkan. Satu dari kelima anggota keluarga tersebut meninggal dunia dan empat lainnya sembuh kembali. Kejadian ini merupakan wabah ke-10 yang terjadi pada tahun 1971 dan merupakan kasus terbesar sejak tahun 1965. 5 dari 10 wabah tersebut disebabkan oleh makanan yang dikalengkan di rumah dan 1 wabah yang disebabkan oleh makanan yang dikalengkan secara komersial (38). Botulism pada manusia di Amerika Serikat antara tahun 1950-1969 terbesar disebabkan oleh tipe A kemudian tipe E, B dan F. Pada umumnya wabah tersebut berhubungan dengan sayur-sayuran. Dari 212 wabah yang terjadi antara tahun 1899-1969 terbesar disebabkan oleh sayur-sayuran dan buah-buahan (38). Tipe toksin yang menyebabkan botulism pada tahun 1950-1969 dapat dilihat pada tabel 1 dan hasil makanan yang diolah sebagai penyebab botulism

pada tahun 1899-1969 dapat dilihat pada tabel 2.

Pada tahun 1979 di Medonza, Argentina terjadi kasus dimana 9 dari 10 orang yang telah makan makanan kaleng yang terdiri buncis, wortel dan kentang di dalam suatu pesta malam menunjukkan gejala botulism (5).

Tabel 1. Tipe Toksin Yang Menyebabkan Wabah Botulism di Amerika Serikat Antara Tahun 1950-1969 (Zottola, E.A., 1972) (38)

Tipe Toksin	Wabah	Kasus	Mati	Mortalitas
A	22	60	22	38 %
B	12	25	6	24 %
E	15	56	24	43 %
F	1	3	0	0 %
Tidak diketahui	119	225	70	27 %
Total	169	399	122	31 %

Keterangan : Mortalitas = $\frac{\text{Kematian}}{\text{Kasus}} \times 100 \%$.

Tabel 2. Hasil Makanan Penyebab Botulism di Amerika Serikat Antara Tahun 1899-1969 (Zottola, E.A., 1972) (38)

Bahan makanan :	Tipe					Jumlah
	A	B	E	F	A&B	
Sayuran	90	21	1	-	10	122
Buah-buahan	22	4	-	-	-	26
Daging sapi	5	1	-	1	-	7
Daging babi	2	1	-	-	-	3
Unggas	-	1	-	-	2	3
Ikan dan hasil olahannya	6	2	16	-	-	24
Susu dan hasil olahannya	2	2	-	-	-	4
Saus	12	2	-	-	-	15
Lain-lain	8	-	-	-	-	8
Total	147	34	17	1	13	212

b. Sifat Bakteri

C. botulinum berbentuk batang dengan membulat pada ujungnya, panjang 3-8 μ dan lebar 0,5-0,8 μ , gram positif dan mempunyai 4-8 flagela.

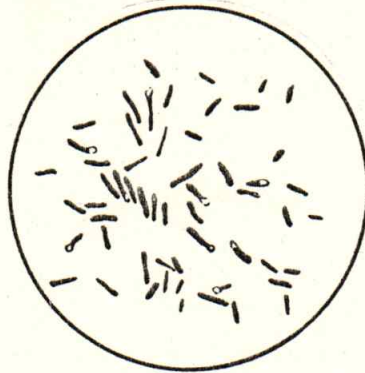
Pada media padat membentuk koloni berwarna suram dan bergerigi pada pinggirnya (32).

Bakteri tersebut bersifat anaerob, tumbuh baik pada temperatur 25-35° C., pada temperatur diatas 35° C. tidak dapat tumbuh dengan baik. Untuk pertumbuhan optimum dibutuhkan pH netral atau sedikit alkalis atau antara 6-7 (32)

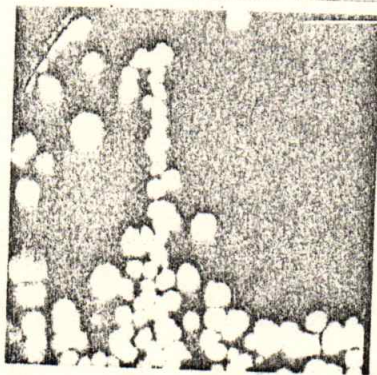
Morfologi bakteri ini dapat dilihat pada gam-

bar 1 dan bentuk koloni pada media padat dapat dilihat pada gambar 2 dan gambar 3.

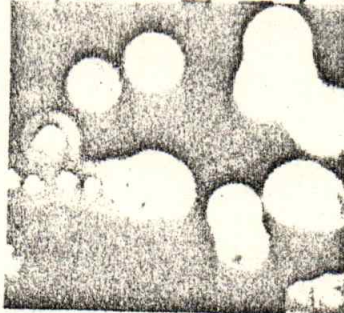
Gambar 1. Morfologi C. botulinum (Jawetz, E.J. et al., 1960) (18)



Gambar 2. Bentuk Koloni C. botulinum tipe A dan B (Smith et al., 1960) (32)



Gambar 3. Bentuk Koloni C. botulinum Tipe C dan D (Smith et al., 1960) (32)



C. botulinum dan C. parabotulinum dibedakan atas sifatnya dalam memecah protein, dimana C. parabotulinum dapat mencairkan medium putih telur yang dikoagulasikan (Proteolitik), sedangkan C. botulinum tidak dapat mencairkan medium putih telur yang dikoagulasikan (nonproteolitik). Yang termasuk C. parabotulinum adalah semua tipe A dan B di Amerika dan tipe A di Eropa, sedangkan yang termasuk C. botulinum adalah tipe B di Eropa dan semua tipe C dan tipe D (23)

Selain perbedaan tersebut diatas antara C. parabotulinum dan C. botulinum dapat dibedakan atas kemampuannya mencerna media dan perubahan yang dihasilkan. Dimana C. botulinum membentuk gas yang berbau asam butirrat tetapi C. parabotulinum membentuk gas yang berbau busuk. C. botulinum tidak mengakibatkan perubahan pada media susu, cooked meat, Löffler's serum dan tidak dapat mencerna putih telur dan serum yang dikoagulasikan serta da-

pat mencerna gelatin secara cepat, sedangkan C. parbotulinum dapat mencerna putih telur dan susu, daging serta dapat mencairkan serum yang dikoagulasikan dan gelatin secara cepat. Dari sifat biokimianya dapat juga dibedakan dimana C. botulinum membentuk gas dan asam dari media glukosa, fruktosa, maltosa, sukrosa, dekstrin, adonitol dan inositol, tetapi tidak dapat memfermentasi laktosa, xilosa dan salisin. Sedangkan C. parbotulinum dapat memfermentasi salisin, laktosa dan xilosa, tetapi tidak mampu memfermentasi sukrosa (32).

Menurut Merchant dan Packer (1961), bahwa C. botulinum dari strain yang berbeda akan menghasilkan perubahan yang tidak sama dalam media karbohidrat dan protein. Tipe A menghasilkan gas dan asam dari glukosa, fruktosa, dekstrin dan gliserol. Tipe B dan C tidak memfermentasi salisin dan tipe C dapat memfermentasi gliserol (23).

Tidak satupun dari tipe-tipe yang ada dapat memfermentasi raffinosa, inulin, manitol, dulcitol, xilosa, rhamnosa dan arabinosa. C. botulinum tipe A dan B dapat mencerna cooked meat-medium sehingga menghasilkan perubahan berwarna hitam. Tetapi perubahan ini tidak dapat dihasilkan oleh tipe C, D dan E (23).

c. Daya Tahan

C. botulinum tipe A dan B mempunyai daya tahan terhadap panas yang lebih tinggi dibandingkan dengan tipe lain (32). Menurut Esty dan Meyer yang dikutip oleh Bruner et al. (1966), bahwa tipe A mempunyai daya tahan yang luar biasa terhadap panas, tipe ini tahan selama 5½ jam pada suhu 100° C. sedangkan tipe lain akan mudah dimusnahkan pada suhu mendidih dalam waktu yang pendek (7). Smith et al. menyatakan bahwa menurut Esty (1923) dan Meyer (1922) daya tahan 112 strain yang dipelajari bervariasi antara 3 sampai 110 menit, jika dipanaskan pada suhu 105° C. di dalam larutan fosfat dengan pH 7,0 (32).

Spora C. botulinum dapat bertahan pada temperatur 100° C. selama 330 menit, 105° C. selama 110 menit, 110° C. selama 33 menit dan 120° C. selama 4 menit. Spora tipe C paling tidak tahan terhadap pemanasan (32).

Menurut Denny (1966) dan Schmidt (1967) yang dikutip oleh Schwabe (1969), bahwa spora C. botulinum tipe E kurang tahan terhadap pemanasan. Decimal reduction time (d.r.t.) 80° C. untuk C. botulinum tipe E dalam media fosfat buffer pada pH 7 adalah 0,6-3,3 menit, sedangkan dalam ikan lebih

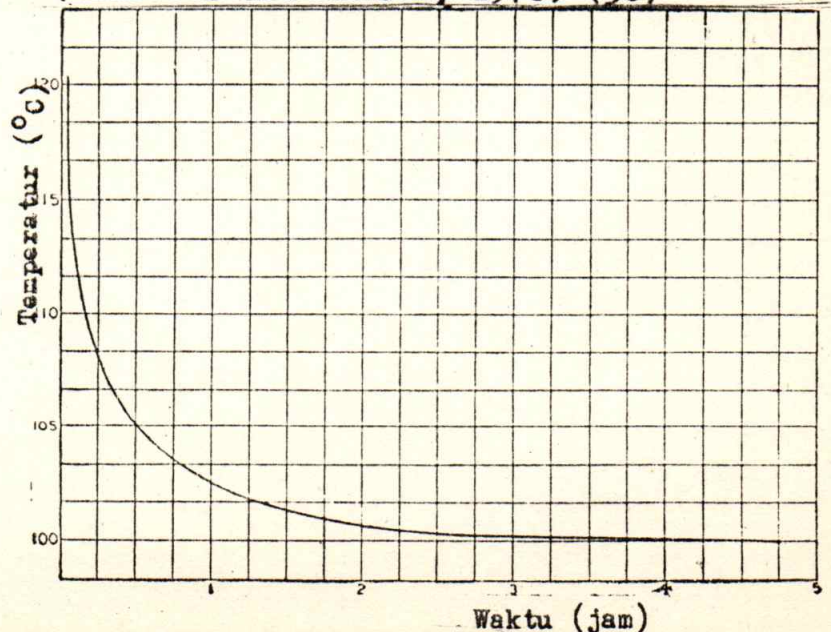
5 menit (30).

Wilcock et al. (1971) menyatakan bahwa menurut Weiss thermal death point C. botulinum bervariasi tergantung dari umur spora, jumlah spora, strain, kelembaban dan lain-lain. Dari penelitian Weiss bahwa C. botulinum dalam suspensi dengan air dapat bertahan selama 5 jam pada temperatur 100° C, 40 menit pada 105° C., 15 menit pada 110° C dan 6 menit pada 120° C. Lebih lanjut Weiss berpendapat bahwa spora yang masih muda lebih tahan dibandingkan dengan spora yang sudah tua; spora kering lebih sulit dibunuh dibandingkan dengan spora yang basah; asam dan rupa-rupa senyawa kimia misalnya nitrit dan NaCl besar pengaruhnya untuk mengurangi daya tahan C. botulinum terhadap panas (36). Grafik thermal death point dapat dilihat pada gambar 4.

Menurut Morgan dan Reed (1954), Kempe et al. (1954), Kempe dan Graikasli (1956), Ingram dan Thornley (1961) yang dikutip Schwabe, bahwa C. botulinum adalah mikroorganisme dalam makanan yang paling tahan terhadap radiasi. Pada umumnya tipe A lebih tahan terhadap radiasi dibandingkan dengan tipe B. Dosis minimum yang diperlukan untuk sterilisasi dengan radiasi adalah 4,5-5,5 megarad.

Dan menurut Schmidt et al. (1962), Schmidt (1964) dan Kempe (1965) yang dikutip oleh Schwabe (1969) dosis radiasi yang diperlukan untuk sterilisasi terhadap tipe E hanya setengah dosis untuk tipe A dan B. Selanjutnya Schwabe menyatakan bahwa menurut Schmidt pertumbuhan C. botulinum tipe A dan B pada media di laboratorium akan dihambat oleh 10% NaCl(w/v) atau 50% sukrosa (w/v), yang sama dengan aktifitas air sebesar 0,93-0,94. Sukrosa tidak mempunyai pengaruh terhadap tipe E, tetapi di dalam laboratorium 4,5-5,0 % (w/v) NaCl yang identik dengan aktifitas air sebesar 0.97 dapat menghambat pertumbuhan tipe E (30). Toleransi C. botulinum terhadap NaCl dan NaNO₂ dapat dilihat pada tabel 3 dan 4.

Gambar 4. Grafik Thermal Death Point C. botulinum (Wilcocks and Manson, 1976) (36)



Tabel 3. Toleransi C. botulinum Terhadap NaNO_2 (Roberts, T.A. et al., 1979)
(25)

Tipe :	Dipanaskan *)		Tidak dipanaskan *)		Pustaka
	pH 6	pH 7	pH 6	pH 7	
A.	20		240		Roberts et al. 1974
	5	40	160	2560	Perigo et al. 1968
			300		Roberts et al. 1973
B.	20	80	160	1280	Perigo et al. 1968
			300		Roberts et al. 1973
E.	10	20	80	320	Perigo et al. 1968
	15		160		Roberts et al. 1974
			50		Roberts et al. 1973
			200		Baird et al. 1973
F.	10	80	120	2560	Perigo et al. 1968
			150		Roberts et al. 1973
			200		Baird et al. 1973

Keterangan: *) : Konsentrasi NaNO_2 dalam ppm.

Tabel 4. Toleransi *C. botulinum* Terhadap NaCl (Roberts et al., 1979) (25)

Tipe; Konsentrasi: NaCl (%w/v)		pH ; Suhu Inkubasi (°C) :		Pustaka	
A.	6,1	7,0	30	Baird-Parker et al.	1967
	4,58	6,0	30	Baird-Parker et al.	1967
	8,0	7,0	40	Ohye et al.	1967.
	6,0	6,0	35	Roberts et al.	1973
	6,0	6,0	25	Baird-Parker et al.	1973
B.	6,1	7,0	30	Baird-Parker et al.	1967
	9,4	7,0	40	Ohye et al.	1967
	4,58	6,0	30	Baird-Parker et al.	1967
	6,0	6,2	35	Roberts et al.	1973
	6,0	6,0	25	Baird-Parker et al.	1973
C.	2,0-2,5	7,2	30	Segner et al.	1971
E.	4,5	7,0	30	Segner et al.	1966
	4,58	7,0	30	Baird-Parker et al.	1967
F.	5,1	7,0	35	Ohye et al.	1967
	2,9	6,0	30	Baird-Parker et al.	1967
	4,0	6,0	35	Roberts et al.	1973
	4,5	6,0	25	Baird-Parker et al.	1973
	6,0	6,2	35	Roberts et al.	1973
	4,5	6,0	25	Baird-Parker et al.	1973

B. Toksin dan Antitoksin

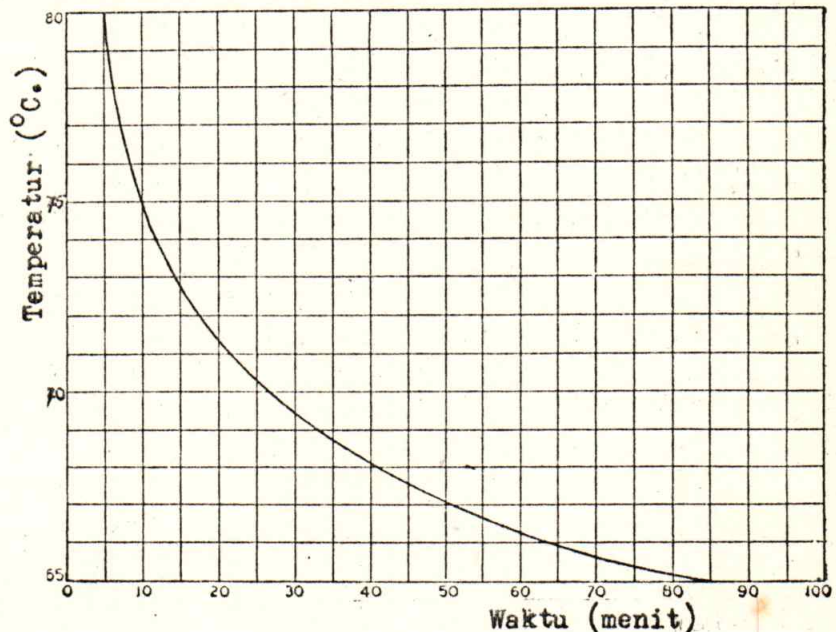
Toksin yang dihasilkan oleh semua tipe dari C. botulinum menyebabkan gejala yang sama pada hewan dan manusia, tetapi antitoksin yang diakibatkan pada umumnya tidak dapat menetralkan toksin dari tipe lain (7).

Waktu dan temperatur yang diperlukan organisme tersebut untuk memproduksi toksin berbeda-beda tergantung dari tipenya, tetapi rata-rata toksin dapat dihasilkan dalam beberapa jam pada temperatur 26,7-32,2° C. (6,21).

Toksin tersebut mudah rusak oleh pemanasan. Pada tahun 1897 van ermengem menunjukkan bahwa toksin akan rusak pada suhu 80° C. selama 30 menit. Wilcock et al. menyatakan bahwa 20 strain yang diteliti oleh Thom et al. akan rusak jika dipanaskan 80° C. selama 2 menit, 70° C. selama 10 menit dan 65° selama 85 menit (36) Grafik hubungan antara waktu dan temperatur untuk merusak toksin dapat dilihat pada gambar 5.

C. botulinum tipe A biasanya menghasilkan toksin dengan toksisitas yang paling tinggi dibandingkan dengan tipe lain, bahkan toksisitasnya dinyatakan $\pm 20 X$ dari toksin tetanus. Menurut Wentzel et al. yang dikutip oleh Bruner et al. (1961), bahwa amonium sulfat dapat menurunkan toksisitas toksin yang dihasilkan oleh C. botulinum (7)

Gambar 5. Grafik Hubungan Antara Waktu dan Temperatur Untuk Merusak Toksin C. botulinum (Wilcocks dan Manson. 1976) (36)



Bruner et al. (1961) menyatakan bahwa menurut Lammanna toksin dari tipe A dapat mengaglutinasikan sel darah merah ayam, marmot, kelinci, domba dan manusia. Aglutinasi ini dapat dicegah dengan antitoksin tipe A saja. Tetapi aglutinasi yang disebabkan oleh toksin dari tipe D dapat dihambat oleh antitoksin tipe A dan tipe B (?).

Dari hasil penelitian Pfenninger (1936) yang dikutip oleh Jansen dapat disimpulkan bahwa antitoksin C_a dapat menetralkan toksin C_a dan C_b , sedangkan antitoksin C_b hanya dapat menetralkan toksin dari strain yang homolog. Tetapi dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Jansen (1971), bahwa anti toksin tipe C_a

dapat menetralkan toksin tipe C_a , C_b dan D, sedangkan antitoksin C_b hanya dapat menetralkan toksin dari tipe yang homolog dan antitoksin tipe D dapat menetralkan toksin tipe C_a dan D (14).

Hasil percobaan Manson dan Robinson (1935) yang dikutip oleh Jansen (1971), bahwa tipe C menghasilkan 3 komponen toksin yaitu faktor C_1 , faktor C_2 dan sejumlah kecil faktor D, sedangkan tipe D mengandung 2 komponen toksin yaitu faktor D dan sejumlah kecil faktor C (14,16).

Jansen et al. (1976) mengadakan percobaan dengan hasil bahwa respon antibodi sapi terhadap C. botulinum dapat dirangsang dengan pemberian toksoid yang diencerkan dengan adjuvan $AlPO_4$ atau emulsi air dalam minyak. Dari percobaan diatas dapat ditarik kesimpulan bahwa toksoid yang diencerkan dengan emulsi air dalam minyak mengakibatkan antibodi dengan titer yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang diencerkan dengan adjuvan $AlPO_4$. Dalam percobaan diatas dilakukan 2 kali penyuntikan dimana penyuntikan ke-2 dilakukan 6 minggu setelah penyuntikan pertama, ternyata titer antibodi tertinggi diperoleh 2 minggu setelah penyuntikan ke-2 (17).

Toksin tipe E yang diisolasi dari ikan dan menyebabkan wabah di Rusia dan Amerika pada tahun 1936 mengakibatkan patogenesis yang bervariasi pada hewan per-

cobaan, tetapi antitoksinnya dapat saling menetralkan. Toksin tipe E tidak dapat dinetralkan oleh antitoksin dari ke-4 tipe yang lain. (7).

Jansen (1971) mengadakan percobaan dengan prosedur sebagai berikut: pertama menggunakan filtrat toksin dengan pH 7,5. Filtrat tersebut ditambah 0,1% tripsin dan dipanaskan dalam penangas air pada temperatur 37°C . selama lebih dari 30 menit, kemudian filtrat tersebut digunakan untuk menentukan LD_{50} pada tikus (MLD_{50}). Kedua dan ketiga masing-masing menggunakan 50 ml. filtrat dengan prosedur sama seperti perlakuan pertama, hanya setelah pemanasan pada temperatur 37°C . yang kedua disimpan pada temperatur 4°C dan yang ketiga pada suhu kamar. Yang keempat filtrat digunakan sebagai kontrol. Ternyata dengan perlakuan pertama akan meningkatkan toksisitasnya menjadi 10 X lipat dibandingkan dengan tanpa perlakuan. Dengan perlakuan kedua ternyata toksisitasnya tidak berubah dan dengan perlakuan ketiga toksisitasnya akan menurun dan setelah 8 minggu toksin tersebut tidak dapat dideteksi lagi. Kenaikan toksisitas tersebut diduga oleh Jansen sebagai akibat dari pelepasan toksin organisme lain yang hadir dalam kultur tersebut dan tidak dapat dirusak (12).

C. Botulism Pada Hewan dan Manusia

Toksin C. botulism masuk kedalam tubuh melalui saluran pencernaan, tetapi kerusakan yang diakibatkan pada sistim syaraf. Toksin tersebut menghambat pembentukan atau pelepasan acetylcholin pada motor end plate, sehingga rambatan impul pada ujung syaraf motor akan terganggu (7,30).

Perubahan patologik yang khas akibat penyakit ini tidak ada. Perubahan patologik yang mungkin ditemukan hanya akibat paralisis umum terutama pada alat respirasi (30).

a. Pada Ruminansia

Kejadian botulism pada ruminansia terbanyak pada sapi dan domba. Kasus botulism pada sapi di Afrika Selatan disebabkan oleh C. botulinum tipe D, biasanya kasus ini berhubungan dengan kekurangan fosfor dalam makanan ternak (rumput), sehingga sapi tersebut akan menunjukkan pula gejala defisiensi fosfor (7).

Selain tipe D, C. botulinum tipe C juga menyebabkan botulism pada sapi. Di Texas, Amerika Serikat terjadi beberapa kasus yang disebabkan oleh C. botulinum tipe C dan dikenal dengan loin disease. Selain di Texas kasus botulism akibat tipe C pernah dilaporkan di Montana, Amerika Serikat (7).

Gejala pada sapi dan domba timbul karena ker-

ja dari toksin pada syaraf periferi. Menurut Theiler et al. yang dikutip oleh Burnside et al. bahwa gejala yang patognomonis dari lamziekte adalah, tidak ada demam, paresis dan paralisis sistim lokomotor, serta paresis dan paralisis otot pengunyah dan kerongkongan. Selain gejala-gejala tersebut terdapat gejala lain seperti jalan kaku dengan kepala tertunduk, salivasi, keluar cairan mukus dari hidung, tetapi kadang-kadang cermin hidung kering, paralisis otot rahang bawah dan lidah tergantung keluar dan mulut terbuka (8).

Pada domba penyakit ini mempunyai masa inkubasi 12 jam-2 sampai 3 hari. Gejala yang diakibatkan antara lain gangguan alat gerak, paralisis dan tidak mampu bangun yang merupakan tanda dari kelemahan umum (22).

b. Pada Kuda

Secara normal C. botulinum terdapat dalam intestin kuda, tetapi kuda merupakan hewan yang sangat peka terhadap C. botulinum tipe A, B, C dan D. Botulism pada kuda terjadi karena makan rumput kering yang telah rusak, gandum dan bahan makanan lain yang tercemar oleh toksin C. botulinum. Pencemaran dapat terjadi karena bahan makanan tersebut tercemar oleh karkas bangkai tikus atau rodent-

sia lain (11,27,34)

Botulism pada kuda disebut juga forage poisoning. Beberapa laporan Meyer et al. yang dikutip oleh Udall (1978), pernah terjadi kasus pada 5 ekor keledai di Colorado, A.S., 40 ekor bagal di Kentucky, A.S., 9 ekor kuda dan bagal di Illinois, A.S. dan 2 ekor kuda di California, A.S. (34).

Gejala yang khas dari penyakit ini adalah paralisis lokomotor, kelemahan umum, sulit mengunyah dan menelan (35). Selain gejala-gejala tersebut diatas terdapat gejala lain seperti paralisis parynx dan otot lidah, lidah tergantung keluar mulut dan hewan berbaring karena terjadi kelemahan umum (11,34,35).

Menurut Theiler yang dikutip oleh Udall (1978), bahwa penyakit pada 40 bagal tersebut diatas dibagi menjadi beberapa bentuk yaitu perakut, akut dan kronis atau subakut. Pada keadaan kronis hewan tersebut masih dapat dibantu berdiri dan bergeser, tetapi beberapa saat kemudian hewan tersebut akan terjatuh kembali (34).

c. Pada Unggas

Botulism pada unggas dikenal juga dengan nama limberneck, western duck sickness dan alkali disease. Penyakit ini biasanya disebabkan oleh

toksin dari *C. botulinum* tipe A dan C. Organisme tersebut diatas terdapat di tanah dan mungkin mencemari bahan makanan (31).

Penyakit tersebut diata di Amerika bagian Barat dan Canada telah memusnahkan berjuta-juta unggas air liar karena air telah tercemari oleh toksin *C. botulinum* dari sayuran yang telah rusak (31).

Burung yang menderita botulism akan menunjukkan gejala tidak dapat berjalan, sayap jatuh dan bulu rontok. Jika otot leher telah terserang maka kepala akan lunglai, oleh karena itu disebut limberneck (21).

Dalam kasus yang ringan unggas-unggas tersebut akan sembuh 2-3 hari, tetapi dalam keadaan yang fatal unggas-unggas tersebut akan berbaring dengan lemah (21). Kematian biasanya disebabkan paralisis otot-otot respirasi (31).

c. Pada Manusia

Botulism pada manusia disebabkan oleh toksin *C. botulinum* tipe A, B, E dan F yang mencemari bahan makanan. Pencemaran ini terjadi karena bahan makanan tercemari oleh spora atau organismenya dan pada kondisi yang sesuai maka organisme tersebut akan tumbuh dan menghasilkan toksin (21).

Morbiditas botulism pada manusia relatif ren-

dah tetapi penyakit ini mengakibatkan mortalitas yang tinggi (21). Geiger yang dikutip oleh Wilcocks dan Manson (1976), melaporkan bahwa diantara 246 kasus yang mengakibatkan kematian sebesar 147 atau 85% (31), biasanya kematian terjadi antara hari ke-2 sampai hari ke-9, tetapi kematian dapat juga terjadi antara hari pertama sampai hari ke-16 (6).

Toksin ini masuk ke dalam tubuh dengan perantara makanan kaleng yang dimakan tanpa dimasak terlebih dahulu. Kebanyakan keracunan yang terjadi di Amerika karena makan sayuran, zaitun, jamur dan ikan yang dikalengkan (10).

Masa inkubasi pada umumnya antara 18-36 jam, setelah terjadi intoksikasi, tetapi dapat juga kurang dari 4 jam atau lebih dari 5 hari. Hal ini tergantung dari jumlah toksin yang masuk dalam tubuh dan toksitas dari toksin tersebut (31).

Kasus botulism dari tipe E yang terjadi di Jepang mempunyai masa inkubasi antara 6 sampai lebih 36 jam. Dari 35 kasus 7 diantaranya mempunyai masa inkubasi antara 6-10 jam, 8 kasus antara 11-15 jam, 14 kasus antara 16-20 jam, 3 kasus antara 21-25 jam, 1 kasus antar 26-30 jam, 1 kasus antara 30-35 jam dan 1 kasus mempunyai masa inkubasi lebih dari 35 jam (30).

Gejala penyakit ini bervariasi dalam kasus yang berbeda, mula-mula ringan dengan gejala capai, konstipasi gastrium, diare. Tetapi jika telah parah akan menimbulkan gejala paralisis otot mata dan parynx, sehingga mengakibatkan gangguan penglihatan, menelan dan berbicara. Jika paralisis sudah sampai alat-alat respirasi dan jantung kemungkinan besar pasien tersebut akan meninggal antara 1-8 hari atau jika mengalami persembuhan akan memakan waktu lebih dari 10 hari (6,24,33,34). Frekwensi gejala 35 kasus botulism tipe E di Jepang dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Frekwensi Gejala Botulism Tipe E di Jepang (Schwabe, 1969) (30)

Gejala	: Frekwensi (%)
Nausea dan vomitus	77,1
Konstipasi	51,5
Distensio abdominalis	60,0
Diare	37,1
Midriasis	62,9
Perubahan refleks terhadap cahaya	48,6
Pandangan kabur	34,3
Penglihatan kembar (diplopia)	28,6
Ptoisis	28,6
Mulut kering	88,6
Sulit menelan	48,6
Sulit berbicara	48,6
Pusing	60,0
Semi paralisis kaki	28,6
Kesulitan mengeluarkan air seni	22,9

D. Tehnik Pengalengan Makanan

Pada prinsipnya pengalengan makanan adalah sama untuk setiap jenis makanan, hanya metoda dan peralatan yang dipergunakan berbeda sesuai dengan jenis makanan yang akan dikalengkan.

Sebelum melakukan pengalengan kita harus yakin benar bahwa peralatan yang dipergunakan benar-benar bersih agar tidak terjadi kontaminasi dengan mikroorganisme yang tidak kita kehendaki kehadirannya.

a. Pengalengan Daging

Untuk mengalengkan daging dipergunakan 4 cara yaitu dikalengkan mentah, dipanaskan dengan mendidihkan, dipanggang atau diasap.

Metoda pengepakan daging mentah dapat dilakukan sebagai berikut: daging dibersihkan dari lemak dan dipotong-potong serta dimasukkan dalam kaleng atau jar. Kalau dipergunakan kaleng timah, daging yang dimasukkan sampai penuh permukaan, sedangkan kalau mempergunakan jar daging yang dimasukkan hanya sampai 2,5 Cm. dibawah permukaan jar. Kaleng tersebut dimasukkan dalam bejana yang berisi air sampai 5 Cm. dibawah permukaan kaleng atau jar, tutup bejana tersebut dan dipanaskan perlahan-lahan hingga temperatur daging dalam kaleng atau jar setinggi $76,7^{\circ}$ C. Proses selanjutnya kaleng atau

jar tersebut dipanaskan dalam pemanas bertekanan (steam pressure canner) pada tekanan 10 pound dan temperatur $115,5^{\circ}$ C. selama 75 menit untuk jar yang berukuran 0,568 l. (pint jar), 90 menit untuk jar berukuran 1,136 l. (quart jars), kaleng No. 2 $\frac{1}{2}$ dan 3, 65 menit untuk kaleng No. 2 (9).

Pengalengan daging panas (hot pack) dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: daging dipotong-potong setebal 5 Cm. dan dimasak dalam panci dengan menabahkan air, lada, garam dan bumbu lainnya. Daging tersebut dimasukkan dalam kaleng atau jar dan prosedur berikutnya seperti pengalengan daging mentah (9).

Prosedur pengalengan corned beef pada dasarnya sama dengan daging panas, hanya pada pengalengan corned beef, daging tersebut dicincang terlebih dahulu sebelum dikerjakan lebih lanjut (9).

b. Pengalengan Daging Ayam

Mengalengkan daging ayam dapat dengan tulangnya atau tanpa tulang. Pada pengalengan dengan tulangnya maka ayam tersebut dipotong menjadi beberapa bagian dan jika dikalengkan tanpa tulang maka daging ayam tersebut dipisahkan dengan tulangnya terlebih dahulu.

Potongan ayam tersebut dimasukkan dalam beja-

na dan disiram dengan air atau kaldu panas sampai potongan daging ayam tersebut terendam semuanya dan dipanaskan perlahan-lahan. Daging ayam yang telah direbus tersebut dimasukkan dalam kaleng atau jar seperti pada proses pengalengan daging dan ditambah garam sebanyak $\frac{1}{2}$ sendok teh pada jar berukuran 0,568 l. atau kaleng No. 2, $\frac{3}{4}$ sendok teh pada kaleng No. 3, semudian disegel.

Proses selanjutnya dipanaskan dalam alat pemanas bertekanan (steam pressure canner) dengan tekanan 10 pound dan temperatur $115\frac{1}{2}^{\circ}$ C. selama 65 menit untuk pint jar, 55 menit untuk kaleng No.2 dan 75 menitt untuk quart jars dan 90 menit untuk kaleng No. 2 $\frac{1}{2}$ dan 3. Sedangkan untuk ayam yang dikalengkan beserta tulangnya dipanaskan 65 menit untuk pint jars dan 90 menit untuk kaleng No. 2 $\frac{1}{2}$, 3 dan quart jars (9)

c. Pengalengan Ikan

Untuk mengalengkan ikan pertama kali dilakukan pembersihan sisik ikan, bagian viseral dan kepala dibuang. Ikan dalam keadaan bersih dimasukkan dalam larutan garam 70-80^o salinometer ($\frac{1}{2}$ cangkir garam dalam 1,136 l. air), selama 6 jam sampai kulitnya menjadi keriput atau berubah warna.

ikan tersebut dipotong-potong sesuai dengan

panjang kaleng atau jar yang dipergunakan. Ikan dimasukkan ke dalamnya dan kaleng atau jar ditutup tetapi tidak rapat. Kaleng atau jar dipanaskan selama 10 menit dan ditutup secara rapat.

Proses selanjutnya adalah pemanasan dengan pemanas bertekanan 15 pound dengan temperatur 121° C. selama 70 menit untuk pint jar dan 60 menit untuk kaleng No. 2 (9).

E. Proses Pencemaran Makanan Kaleng dan Pencegahannya

Faktor yang mempengaruhi kehadiran C. botulinum dalam makanan kaleng antara lain adalah kebersihan pada waktu memproses yang kurang terjamin, processing yang kurang sempurna seperti pemanasan yang kurang sempurna sehingga spora C. botulinum tidak mati. Sedangkan faktor yang mempengaruhi kelangsungan hidup dan produksi toksin C. botulinum adalah pH, kadar garam, jumlah spora, umur spora, oksigen, waktu dan temperatur penyimpanan (12,38).

Asam adalah faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan dan digunakan sebagai kontrol. Pada pH 7 (netral) merupakan pH yang optimum untuk pertumbuhan organisme tersebut, sedangkan pada pH dibawah 4,5 pertumbuhan organisme tersebut akan dihambat. Oleh karena itu pH bahan makanan mempengaruhi lama pemanasan untuk memusnahkan spora C. botulinum, pada pH 5 untuk memati-

kan spora memerlukan waktu 45 menit dalam air mendidih, sedangkan pada pH 7 (netral) untuk mematikan spora memerlukan waktu 5½ jam dalam air mendidih (12,38).

Temperatur dan lama penyimpanan merupakan faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan produksi toksin. Temperatur yang diperlukan untuk pertumbuhan dan produksi toksin bervariasi untuk setiap strain, tetapi pada umumnya tipe A dan B tumbuh baik pada temperatur 37° C. tetapi dapat juga tumbuh dibawah temperatur 10° C. atau lebih dari 48° C., tipe E tumbuh baik dan memproduksi toksin pada temperatur 30° C., tetapi dapat juga tumbuh dan memproduksi tokasin pada temperatur 3,3° C. (38).

Kondisi lain yang mempengaruhi pertumbuhan dan produksi toksin C. botulinum adalah kehadiran oksigen. Karena pada makanan kaleng kadar oksigen rendah sekali maka jika makanan kaleng tersebut terdapat spora C. botulinum akan bertunas dan tumbuh serta memproduksi toksin (38).

Sedangkan kondisi yang diperlukan untuk terjadi wabah botulism adalah sebagai berikut: mikroorganisme tersebut harus ada dalam makanan. Makanan dikalengkan dengan beberapa cara. Pemanasan atau proses lain tidak mencukupi untuk membunuh spora C. botulinum sehingga dalam makanan kaleng bertunas dan tumbuh serta memproduksi toksin. Makanan tidak dipanaskan sebelum di-

hidangkan (38)

Bila dalam makanan kaleng telah tercemar oleh mikroorganisme yang dapat tumbuh pada kondisi anaerob akan mengakibatkan perubahan-perubahan yang dapat diamati antara lain pembentukan gas sehingga kaleng akan menggelembung, berbau busuk karena terjadi pemecahan protein dari bahan makanan yang bersangkutan, berbau tengik, perubahan warna dan lain-lain (24,38). Tetapi kaleng yang tercemar C. botulinum kadang-kadang perubahan tersebut tidak dapat diamati, tetapi makanan tersebut beracun (34.38).

Pencegahan botulism dapat dilakukan dengan memati-kan dan menghindarkan kontaminasi spora C. botulinum, menghalangi pertumbuhan dan produksi toksin dan inaktivasi toksin C. botulinum dengan pemanasan.

Untuk membunuh dan menghindarkan kontaminasi spora C. botulinum dapat dilakukan dengan pemanasan, radiasi, pendinginan dan menjaga kebersihan alat yang dipergunakan. Lama perlakuan tersebut dipengaruhi oleh ketahanan spora, jumlah spora, umur spora, ukuran dan bahan bejana yang dipergunakan. Makin banyak jumlah spora makin lama waktu yang diperlukan untuk pemanasan dan spora muda lebih tahan terhadap pemanasan (24,38)

Untuk menghambat pertumbuhan bakteri dapat dilakukan dengan membatasi kandungan air dengan pengeringan, penambahan garam dan gula (24).

Menurut penelitian Roberts et al. (1981), bahwa kombinasi natrium chlorida ($2\frac{1}{2}$, $3\frac{1}{2}$, $4\frac{1}{2}$ % w/v dalam air), natrium nitrit (100, 200, 300 ug/g), natrium nitrat (0, 500 ug/g), natrium isoaskorbat (0, 100 ug/g) dan polifosfat (curaphos 700; 0, 0,3% w/v) mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan C. botulinum tipe A dan B. Menurut analisa statistik menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi garam atau nitrit, ditambah isoaskorbat atau nitrat baik dengan pemanasan ataupun tidak akan menurunkan produksi toksin C. botulinum. Sedangkan penambahan 0,3 % polifosfat akan meningkatkan produksi toksin (26). Jadi dengan demikian berarti bahwa kombinasi garam atau nitrit dengan isoaskorbat atau nitrat dapat dipergunakan untuk menghambat pembentukan toksin C. botulinum didalam makanan kaleng.

Pemanasan makanan kaleng sebelum dihidangkan terutama dilakukan jika kaleng makanan menunjukkan gejala-gejala yang mencurigakan. Pemanasan dilakukan selama 20 menit pada temperatur mendidih. Jika ternyata kerusakan pada makanan tidak dapat ditolelir maka makanan tersebut harus dibakar agar makanan tersebut tidak dimakan oleh ayam atau hewan lain (34).

Vaksinasi dengan toksoid efektif untuk merangsang pembentukan antitoksin, tetapi pencegahan dengan vaksinasi tidak dilakukan karena penyakit ini bersifat noninfeksius dan nonkontagius disamping kejadian yang

relatif sedikit (17).

Pengobatan botulism yang paling efisien dengan antitoksin polifalen dari C. botulinum. Antitoksin tersebut disesuaikan dengan tipe yang sering mengakibatkan botulism pada hewan yang bersangkutan. Umpamanya untuk ayam gabungan antitoksin tipe A dan C, sedangkan untuk manusia gabungan antara tipe A dan B (36)

Pada wabah botulism di Argentina pada tahun 1979 pada manusia dilakukan pengobatan dengan antitoksin tipe A dengan dosis 30.000 unit, penyuntikan diulangi 24 jam kemudian dengan dosis 10.000 unit dan diulangi lagi setiap 6 jam (5).