

**STUDI SEROLOGIS DENGAN UJI HAMBATAN HEMAGLUTINASI TERHADAP ANGSA
YANG DAPAT BERTINDAK SEBAGAI PEMBAWA NEWCASTLE DISEASE DI
D.I. YOGYAKARTA**

SEROLOGICAL STUDY WITH HEMAGLUTINATION INHIBITION TEST ON GOOSE THAT ACT AS
NEWCASTLE DISEASE CARRIER IN D.I. YOGYAKARTA

Surya Amanu¹, Oktavianus Kale Rohi²

¹Bagian Mikrobiologi FKH UGM

²Mahasiswa Tingkat Profesi Assisten Laboratorium Mikrobiologi FKH UGM

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian uji hambatan hemaglutinasi (HH) pada sera angsa untuk mengetahui adanya reaktor terhadap *Newcastle disease* (ND) di Daerah Istimewa Yogyakarta. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada yang bertujuan untuk memberikan informasi adanya reaktor terhadap ND pada angsa. Sebanyak 118 sampel sera angsa di daerah Istimewa Yogyakarta berasal dari Kabupaten Sleman 45 sampel, Kabupaten Kulonprogo 17 sampel, Kabupaten Bantul 28 sampel dan Kodya Yogyakarta 28 sampel, yang diuji HH dengan metode pelat mikro (Beard, 1980). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari sebanyak 118 sampel sera angsa yang diperiksa, yang memberikan reaksi positif pada uji HH atau sebagai reaktor sebanyak 88 sampel (74,57 %).

Kata kunci : Serum, Angsa, Hambatan Hemaglutinasi, Newcastle disease

ABSTRACT

It has been done a research on hemagglutination inhibition (HI) in order to know if there are reactors against *Newcastle diseases* (ND) in D.I. Yogyakarta. The research took place at Microbiologic Laboratory Faculty of Veterinary Medicine, Gadjah Mada University which aimed to give information about the existance of reactor against ND on goose. It has been checked for about 118 samples of goose sera from four districts in D.I. Yogyakarta. The distributions of those samples where Sleman 45 samples, Kulonprogo 17 samples, Bantul 28 samples, and Kodya Yogyakarta 28 samples. The test of its HI used Micro plate Methods (Beard, 1980). The result showed that from 118 samples of goose sera examined, these were 88 samples (74,57 %) of the total samples give positive reaction on this HI examination or as reactors.

Key words : Sera, Goose, Hemagglutination Inhibition, Newcastle disease.

PENDAHULUAN

Newcastle disease (ND) adalah penyakit respirasi dan bersifat sistemik yang sangat menular serta menimbulkan banyak kematian dan menyerang berbagai jenis unggas terutama ayam (Alexander, 1991). Di Indonesia *Newcastle disease* ditemukan oleh Kraneveld pada tahun yang sama Doyle melihat penyakit yang sama dekat Newcastle On Tyne, Inggris (Alexander, 1991, Beard dan Hanson, 1984).

Newcastle disease (ND) atau dikenal dengan nama penyakit tetelo merupakan salah satu penyakit unggas terutama ayam, yang sangat ditakuti oleh para peternak karena dapat menyebabkan kerugian ekonomis yang sangat besar (Ressang, 1984, Anonymous, 1997). Virus penyebab penyakit ini sangatlah menular dan dapat menyerang berbagai jenis unggas terutama sekali ayam (Allan *et al.*, 1978). Selain itu unggas lain yang peka adalah kalkun walaupun tanpa menunjukkan gejala klinis (Box *et al.*, 1970, McFerran dan McCracken, 1988), sedangkan itik dan angsa pada umumnya sangat tahan terhadap penyakit ini (Higgins, 1971).

Di Daerah Istimewa Yogyakarta, sebagian besar masyarakat banyak yang memelihara unggas diantaranya ternak ayam, itik, entok, angsa yang ditinjau dari cara pemeliharaannya, pada umumnya masyarakat dan petani peternak memelihara dengan membiarkan berkeliaran sesukanya, mencari makan sendiri dan sering ditemukan dipelihara dalam satu kandang. Hal ini akan memberikan peluang terjadinya penularan penyakit secara timbal balik. Dikatakan angsa adalah resisten terhadap penyakit tetelo dan tidak menunjukkan gejala klinis, sehingga angsa yang terinfeksi dapat bertindak sebagai pembawa penyakit atau karier dan sebagai sumber penyakit yang akan menyebarluaskan ke unggas lain yang peka terutama ayam. Penyebaran dan perluasan virus ND dapat terjadi secara kontak langsung antara unggas-unggas sehat dengan unggas penderita, bangkai penderita atau secara tidak langsung dengan sekresi, eksresi, daging yang tercemar, burung pembawa penyakit, serangga, petugas lapangan, peralatan kandang yang tercemar, juga melalui angin (Allan *et al.*, 1978, Ressang, 1984).

Di lapangan perlu kiranya secara dini untuk mengetahui adanya infeksi virus ND terutama pada jenis unggas yang tahan terhadap ND seperti angsa yang tidak menunjukkan gejala-gejala klinis sehingga dapat bertindak sebagai pembawa atau sumber penyakit dan dapat ditularkan ke unggas lain yang peka.

Penelitian ini didasarkan pada pemeriksaan serologik dengan menggunakan uji hambatan

hemaglutinasi (HH) dengan tujuan untuk mengetahui adanya antibodi di dalam tubuh angsa sebagai akibat infeksi alami oleh virus ND, dengan demikian dapat memperkecil penyebaran penyakit ini ke unggas lain yang lebih peka.

MATERI DAN METODE

Sampel

Dalam penelitian ini digunakan bahan berupa 118 sampel darah angsa yang diperoleh dari 4 Kabupaten di Daerah Istimewa Yogyakarta. Sampel darah angsa tersebut berasal dari Kabupaten Sleman 45 sampel, Kabupaten Bantul 28 sampel, Kabupaten Kulonprogo 17 sampel, Kotamadya Yogyakarta 28 sampel. Pengambilan sampel darah sangsa di lapangan dengan cara mendatangi langsung pemilik ternak angsa. Dengan menggunakan alat suntik sekali pakai (*disposable syringe*) volume 2,5 ml dan jarum berukuran 23 G steril, darah diambil melalui vena *brachialis* (pembuluh darah balik sayap) sebanyak 1,5-2 ml dan ditampung dalam tabung reaksi steril yang kemudian dibiarkan menjendal sampai serumnya keluar. Selanjutnya sampel darah dibawa dengan menggunakan termos es ke Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada untuk dipisahkan serum dari bekuan darahnya. Bagi sampel darah yang belum keluar serumnya, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Sampel serum angsa ditampung dalam tabung reaksi steril yang lain untuk keperluan pemeriksaan uji hambatan hemaglutinasi (HH). Sebelum dilakukan uji HH, sampel sera angsa harus dinaktivasi dalam penangas air suhu 56°C selama 30 menit dengan tujuan untuk menginaktifkan autohemolisin yang ada dalam serum.

Eritrosit ayam 05%

Suspensi eritrosit ayam 0,5% digunakan baik dalam pemeriksaan uji hemaglutinasi (HA) maupun hemaglutinasi inhibisi atau hambatan hemaglutinasi (HH). Pembuatan suspensi eritrosit 0,5% dengan cara sebanyak 5 ml darah ayam ditampung dalam tabung reaksi steril yang berisi antikoagulan berupa *alvever* sebanyak 5 ml. Setelah disentrifugasi, baik *buffy coat* maupun supernatan dibuang. Kemudian dilakukan pencucian eritrosit dengan cara menambahkan larutan *phosphate buffered saline* (PBS) steril dengan volume yang sama, dan disentrifugasi kembali, supernatan dibuang dan pencucian terhadap eritrosit tersebut dilakukan 3 kali.

Selanjutnya endapan eritrosit yang sudah dicuci dibuat suspensi dengan kadar 0,5% dalam larutan PBS.

Suspensi virus ND 4 HA

Suspensi virus ND 4 HA digunakan sebagai antigen dalam pemeriksaan uji HH yang dibuat dengan cara sebagai berikut : larutan PBS sebanyak 0,05 ml diisikan ke dalam lubang 1-12 pelat mikro. Kemudian suspensi virus ND sebanyak 0,05 ml diisikan hanya ke dalam lubang nomor 1 pelat mikro dengan memakai droper mikro 0,05 ml. Dengan menggunakan diluter volume 0,05 ml dicampur dengan cara memutar-mutar sebanyak 5 kali. Selanjutnya dari lubang nomor satu dengan diluter yang sama diambil 0,05 ml dan dimasukkan ke dalam lubang nomor 2, dicampur dan dipindahkan lagi, demikian seterusnya sampai lubang nomor 11, sedangkan lubang nomor 12 tidak diisikan suspensi virus tersebut. Suspensi eritrosit 0,5% diisikan ke semua lubang pelat mikro nomor 1-12 dengan memakai droper mikro sebanyak 0,05 ml. Kemudian dibiarkan sebanyak 30 menit dan pembacaan dapat dimulai bila lubang kontrol nomor 12 terjadi endapan eritrosit. Pengamatan hasil HA dilakukan dengan cara memiringkan pelat mikro kurang lebih 45° selama 5 menit dan hasil HA dinyatakan positif bila pada lubang pelat mikro tampak hemaglutinasi dan eritrosit tidak terlihat meleleh. Titer HA virus adalah kebalikan angka hasil pengenceran dimana pada lubang beberapa masih tampak adanya hemaglutinasi. Untuk membuat suspensi virus ND 4 HA, maka titer HA virus yang terhitung dibagi 4 yang diencerkan dalam larutan PBS.

Cara uji hambatan hemaglutinasi (HH)

Dalam penelitian ini digunakan pemeriksaan uji HH dengan pelat mikro (Beard, 1980) terhadap sampel sera angsa. Metode ini seperti tercantum dalam tabel 1. Pada semua lubang nomor 1-12 diisikan 0,025 ml larutan PBS dengan memakai droper mikro 0,025 ml. Selanjutnya pada lubang nomor satu diisi serum angsa sebanyak 0,025 ml dan dengan menggunakan diluter mikro dicampur dengan cara memutar-mutar diluter sebanyak lima kali. Dari lubang 1 dipindahkan lagi sebanyak 0,025 ml ke dalam lubang nomor 2 dengan diluter mikro 0,025 ml tersebut dan dicampur seperti cara pada lubang nomor 1. Pengenceran tersebut dilakukan seterusnya ke lubang nomor 3 sampai pada lubang nomor 10 dan dari lubang nomor 10 ini suspensi dibuang sebanyak 0,025 ml. Pada lubang nomor 1 sampai lubang nomor 11 diisikan suspensi virus ND 4 HA sebagai antigen sebanyak 0,025 ml, sedang pada lubang nomor 12 hanya diisikan 0,025

PBS, kemudian dibiarkan selama 15 menit dengan tujuan memberi kesempatan antigen dapat bereaksi dengan antibodi yang terdapat dalam serum. Setelah waktu tersebut, semua lubang nomor 1 sampai nomor 12 diisikan masing-masing 0,05 ml suspensi eritrosit 0,5%, sedikit digoyang-goyangkan dan diletakkan pada suhu kamar selama kira-kira 25 menit. Pembacaan hasil uji HH dilakukan bila pada lubang nomor 11 sudah tampak adanya aglutinasi eritrosit dan pada lubang nomor 12 tampak terlihat endapan eritrosit. Titer antibodi HH dinyatakan sebagai kebalikan angka pengenceran serum tertinggi yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian pemeriksaan sera angsa dengan menggunakan uji HH terhadap *Newcastle disease* (ND) sebanyak 118 sampel yang diambil dari Daerah Istimewa Yogyakarta, ternyata ditemukan menunjukkan hasil positif atau reaktor sebanyak 88 sampel (74,57%). Sampel sera angsa yang menunjukkan hasil positif tersebut secara keseluruhan berasal dari Kabupaten Sleman 35 sampel (77,78%), Kabupaten Kulonprogo 14 sampel (82,35%), Kabupaten Bantul 22 sampel (78,57%), dan Kodya Yogyakarta 17 sampel (60,71%), (Tabel 2).

Table 2. Hasil uji HH terhadap *Newcastle disease* (ND) sera angsa di tiga Kabupaten dan satu Kotamadya di Daerah Istimewa Yogyakarta.

No. Asal sampel	Jumlah Hasil uji HH		
	sampel	Positif	Negatif
1 Kab. Sleman	45	35 (77,78%)	10 (22,22%)
2 Kab. Kulon Progo	17	14 (82,35%)	3 (17,65%)
3 Kab. Bantul	28	22 (78,57%)	6 (21,43%)
4 Kodya Yogyakarta	28	17 (60,71%)	11 (39,29%)
Jumlah	118	88 (74,57%)	30 (25,43%)

Dalam hasil uji HH terhadap *Newcastle disease*, sampel yang diambil dari Kabupaten Sleman sebanyak 45 sampel atau 38,13% dari jumlah seluruh sampel menunjukkan hasil 35 sampel (29,66%) dinyatakan positif pada uji HH dan 10 sampel (8,48%) dinyatakan negatif. Di Kabupaten Kulonprogo 17 sampel yang diteliti atau 14,41% dari jumlah seluruh sampel, yang menunjukkan hasil uji HH positif 14 sampel (11,86%) dan 3 sampel

(2,54%) dinyatakan negatif. Di Kabupaten Bantul dari 28 sampel atau 23,73% dari jumlah seluruh sampel yang diperiksa, yang menunjukkan uji HH positif 22 sampel (18,64%) dan dinyatakan uji HH negatif 6 sampel (5,09%). Di Kodya Yogyakarta dari 28 sampel atau 23,73% dari jumlah seluruh sampel yang diperiksa, 17 sampel (14,41%) dinyatakan uji HH positif sedangkan 11 sampel (9,32%) dinyatakan negatif. Dilihat dari prosentase yang menunjukkan hasil positif pada uji HH dari masing-masing Kabupaten di Daerah Istimewa Yogyakarta, maka dapat dikatakan bahwa kejadian infeksi ND pada angsa paling banyak ditemukan di Kabupaten Kulonprogo sedangkan kejadian infeksi paling rendah ditemukan di Kodya Yogyakarta (Tabel 2).

Sampel sera angsa yang diperoleh dari 3 Kabupaten dan 1 Kotamadya di Daerah Istimewa Yogyakarta berasal dari 24 petani peternak, tidak satupun para petani peternak yang angsanya bebas oleh infeksi virus ND. Dalam hal ini virus ND sudah tersebar luas dimana-mana dan dapat menginfeksi berbagai jenis unggas termasuk angsa (Allan *et al.*, 1978).

Kebanyakan petani peternak dalam memelihara angsanya sering dibiarkan berkeliaran ke mana-mana dan juga sering dikandangan bersama-sama dengan unggas lain seperti ayam, entok dan itik. Dalam hal ini akan memberikan peluang terjadinya infeksi oleh virus ND baik secara langsung dengan penderita maupun tidak langsung melalui makanan, minuman dan tempat yang tercemar (Hofstad *et al.*, 1972, Allan *et al.*, 1978, Ressay, 1984). Vaksinasi pada angsa dengan vaksin ND tidak pernah dilakukan, oleh karena itu sampel sera angsa yang diberikan reaksi positif pada uji HH dinyatakan sebagai reaktor terhadap ND, yang ditunjukkan oleh adanya antibodi terhadap ND di dalam tubuh angsa-angsa tersebut yang kemungkinan besar disebabkan karena telah terjadi atau pernah terinfeksi secara alami oleh virus ND.

Titer antibodi HH dari jumlah sampel sera angsa yang memberikan hasil positif pada uji HH terlihat bervariasi. Sera angsa yang berasal dari Kabupaten Sleman menunjukkan titer antibodi HH 2^4 , 2^6 , 2^7 dan 2^8 berturut-turut masing-masing sebanyak 2, 16, 7, 10 sampel. Dari Kabupaten Kulonprogo 2^5 , 2^6 , 2^7 , 2^8 berturut-turut masing-masing 2, 2, 6, 4 sampel. Dari Kabupaten Bantul 2^5 , 2^6 , 2^7 , 2^8 berturut-turut masing-masing sebanyak 4, 5, 5, 3 sampel. Secara keseluruhan variasi titer antibodi HH sera angsa yang tertular di Daerah Istimewa Yogyakarta diperoleh 2^4 sebanyak 2 sampel, 2^5 sebanyak 13 sampel, 2^6 sebanyak 29 sampel, 2^7 sebanyak 23 sampel dan 2^8 sebanyak 21 sampel.

Adanya variasi titer antibodi HH yang terukur tersebut sangatlah tergantung pada lamanya kejadian angsa terinfeksi oleh virus ND. Variasi titer antibodi HH 2^4 , 2^5 , 2^6 , 2^7 dinilai masih rendah dan kemungkinan angsa baru terinfeksi atau sudah lama terinfeksi sehingga antibodinya sudah menurun. Sedangkan titer antibodi HH 2^8 yang terukur dinilai cukup tinggi yang menunjukkan bahwa angsa belum begitu lama terinfeksi oleh virus ND, yang kemungkinan titer antibodinya masih akan mencapai puncaknya atau sudah mengalami sedikit penurunan. Dikatakan pembentukan antibodi dan mulai tampak dalam serum memerlukan waktu 6-10 hari setelah infeksi serta antibodi akan mencapai puncaknya memerlukan waktu 3-4 minggu. Sebaliknya antibodi akan mulai mengalami penurunan setelah kira-kira 3-4 bulan dan sudah tidak terdeteksi kira-kira setelah 8-12 bulan (Beard dan Hanson, 1984).

Sampel sera angsa yang memberikan reaksi negatif pada uji HH menunjukkan bahwa di dalam tubuh angsa tersebut tidak ditemukan adanya antibodi terhadap ND. Beberapa kemungkinan yang terjadi bahwa angsa belum pernah terinfeksi virus ND sehingga dalam tubuhnya tidak ditemukan antibodi atau angsa terinfeksi oleh virus ND tetapi antibodi belum terbentuk atau masih sedikit sehingga tidak cukup memberikan hasil reaksi positif pada uji HH. Kemungkinan yang lain bahwa angsa pernah terinfeksi oleh virus ND namun kejadiannya sudah lama sekali sehingga antibodi dalam tubuhnya sudah menurun atau tinggal sedikit serta tidak mampu memberikan hasil reaksi positif pada uji HH. Penelitian ini menunjukkan bahwa uji HH merupakan salah satu uji serologis yang cepat dan sederhana untuk mendiagnosa adanya infeksi ND pada angsa atau pada unggas lainnya, karena angsa telah dicurigai sebagai penular terselubung (Andrewes and Pereira, 1972). Kesimpulan hasil penelitian yang dilakukan terhadap 118 sampel sera angsa dengan uji HH terhadap ND di Daerah Istimewa Yogyakarta, ternyata ditemukan reaktor sebanyak 74,57%. Dalam hal ini angsa telah terinfeksi secara alami oleh virus ND, yang kejadiannya cukup tinggi tanpa menunjukkan gejala-gejala klinis sehingga dapat bertindak sebagai sumber infeksi yang dapat menularkan serta menyebarkan ke unggas-unggas lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrewes, S.C. and Pereira H. G., 1972. *Viruses of Vertebrates*. 3rd ed. Published in the United States of America by The Williams and Wilkins Company, Baltimore. Pp. 234-236.
- Alexander, D. J., 1991. *Newcastle disease* and other *Paramyxovirus* infections. In *Disease of poultry*. 9th ed. Edited by Calnek, B.W., H.J. Barnes, C.W. Beard, W.M. Reid and H.W. Yoder, Jr. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. Pp. 498-519.
- Allan, W.H., J.E. Lancaster and B. Toth, 1978. The production and use of *Newcastle disease* Vaccine. Rome, Food and Agriculture Organization of United Nations. Pp. 1-108.
- Anonymous, 1997. *Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular*. Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian, Jakarta, hal. 5-7.
- Beard, C.W., 1980. Serologic Procedures. In *Isolation and Identification of Avian Pathogens*, Edited by Graham, H., Stephen, B. Hitchner, C.H. Domermuth, Purchase and J.E. Williams, Creative Printing Company, Inc, Endwell, New York. Pp. 129-134.
- Beard, C.W., and R.P. Hanson, 1984. *Newcastle disease*. In *Disease of Poultry*. 7th ed. M.S. Hofstad, ao eds. Iowa State University Press, Ames. Pp. 452-467.
- Box, P.G., B.I. Helliwell and P.H. Helliwell, 1970. *Newcastle disease* in Turkeys. *Vet. Rec.* 86: 524-527.
- Higgins, D.A., 1971. Nine disease outbreak associated with *myxoviruses* among ducks in Hongkong. *Trop. Anim. Health Prod.* 3: 232-240.
- Hofstad, M.S., B.W. Calnek, C.F. Hemboldt, W.M. Reid, and H.W. Yoder, Jr., 1972. *Disease of Poultry*. 7th ed. Iowa State University Press, Ames. 118: 513-532.
- Ressang, A.A., 1984. *Patologi Khusus Veteriner*. 2nd Ed. Bali Cattle Disease Inverstigation Unit, Denpasar, Bali, hal. 567-576.