

**SERODETEKSI PENYAKIT TETELO
PADA AYAM DI TIMOR LESTE**

Muhammad Ulqiya Syukron¹, I Nyoman Suartha², Nyoman Sadra Dharmawan³.

¹ Mahasiswa FKH Unud, ² Lab Penyakit Dalam Veteriner,
³ Lab Patologi Klinik Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
Jl. P.B.Sudirman Denpasar Bali tlp, 0361-223791
Email : qiya_soft@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kejadian penyakit tetelo pada ayam di Timor Leste. Penelitian ini menggunakan sampel serum ayam yang diambil dari distrik di Dili, Los Palos, Suai dan Maliana. Setiap distrik diambil 15 serum sampel. Sampel yang digunakan merupakan koleksi tim Hama Penyakit Hewan Karantina (HPHK) Universitas Udayana tahun 2010. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji *Hemaglutinasi Inhibisi* (HI). Hasil yang didapat dalam penelitian ini menunjukkan bahwa nilai titer antibodi antara 2¹ sampai 2⁸ di Timor Leste. Simpulan penelitian ini adalah di Negara Timor leste terjangkit penyakit tetelo secara endemik.

Kata kunci : Penyakit tetelo, Ayam, Timor Leste dan HI.

PENDAHULUAN

Timor Leste atau yang lebih lengkap disebut Republik Demokratik Timor Leste, juga disebut Timor Lorosae adalah negara kecil di sebelah utara Australia dan bagian timur pulau Timor. Sebelum merdeka, Timor Leste bernama Provinsi Timor Timur, merupakan salah satu provinsi di Indonesia. Timor Leste secara resmi merdeka pada tanggal 20 Mei 2002. Sebagai negara yang relatif baru, secara formal Pemerintah Timor Leste belum memiliki peraturan khusus karantina yang dapat dipakai acuan dasar untuk menangkal masuknya Hama Penyakit Hewan Karantina (HPHK) ke wilayah negara tersebut (Dharmawan *et al.*, 2010). Yang dimaksud HPHK adalah semua hama penyakit dan penyakit hewan yang berdampak sosio-

ekonomi nasional dan perdagangan internasional serta menyebabkan gangguan kesehatan masyarakat veteriner yang dapat digolongkan menurut tingkat resikonya (Balai Karantina Hewan Kelas I Ngurah Rai, 2006).

Penggolongan HPHK dibuat oleh setiap negara berdasarkan kondisi yang nyata ada. Hal ini sesuai dengan Kesepakatan tentang Penerapan Ketentuan Sanitasi dan Fitosanitasi, disebut sebagai 'Kesepakatan SPS' dari Organisasi Perdagangan Dunia (*World Trade Organisation*, atau WTO). Salah satu Kesepakatan SPS menyebutkan bahwa anggota WTO mempunyai hak menjalankan ketentuan sanitasi dan fitosanitasi yang diperlukan, untuk melindungi kehidupan atau kesehatan manusia, hewan, tumbuhan, selama ketentuan tersebut tidak bertentangan dengan persyaratan yang ada. Mengingat pentingnya suatu negara memiliki peraturan khusus karantina tentang HPHK, maka pembuatan dokumen peraturan khusus tersebut di Timor Leste sangat mendesak dan perlu mendapat prioritas.

Dalam rangka mempersiapkan dokumen dimaksud, dibuat kerjasama antara *Ministério da Agricultura e Pescas* (Kementerian Pertanian dan Perikanan) Timor Leste dengan Universitas Udayana, Bali, Indonesia. Salah satu isi kerjasama tersebut adalah pembuatan Daftar HPHK Timor Leste yang dibuat dengan cara studi ilmiah. Penelitian Serodeteksi penyakit tetelo pada ayam di Timor Leste ini merupakan salah satu studi untuk mengetahui kejadian penyakit tetelo di Timor Leste, yang diantaranya dapat dipakai untuk melengkapi daftar HPHK yang akan disusun tersebut.

Dari uraian latar belakang di atas, dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut: apakah penyakit tetelo pada unggas khususnya ayam ditemukan di Timor Leste.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kejadian penyakit tetelo pada ayam di Timor Leste. Hasil dari penelitian ini bermanfaat memberi informasi tentang keberadaan tetelo di Timor Leste, penelitian ini juga akan dimanfaatkan sebagai bukti ilmiah untuk menyusun daftar HPHK dalam rencana penyusunan peraturan khusus karantina di Timor Leste.

METODE PENELITIAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum ayam yang merupakan koleksi Tim HPHK Universitas Udayana tahun 2010. Serum ayam yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari ayam di Timor Leste pada tahun 2010. Pengambilan sampel dilakukan di 4 distrik, dengan tiap distrik akan diambil sebanyak 15 sampel. Distrik pengambilan sampel yaitu : Dili, Los Palos, Maliana dan Suai. Distrik-distrik tersebut dipilih karena dianggap sebagai gudang ternak di Timor Leste.

Isolasi Serum

Darah diambil dari vena sayap (V. brachialis). Bulu sekitar vena brachialis dicabut dan didesinfeksi dengan alkohol. Pengambilan darah pada vena brachialis dengan spuit 3 cc. Setelah didapatkan darah diletakkan pada suhu kamar $\pm 1-2$ jam setelah itu diletakkan pada suhu 4°C selama 18-24 jam. Kemudian serum dipisahkan dari bekuan darah. Serum ditampung pada tabung eppendorf steril. Serum disimpan pada suhu -20°C sampai digunakan.

Uji Hemaglutinasi

Uji Hemaglutinasi (HA) : Tambahkan 25 μl NaCL fisiologis ke dalam sumuran 1 sampai dengan 12. Kemudian tambahkan 25 μl antigen ke dalam sumuran 1 dan 11. Setelah itu encerkan kelipatan 2 antigen dari sumuran 1 sampai dengan 10. Dari sumuran 10 buang 25 μl . Sedangkan sumuran 11 sebagai kontrol antigen dan 12 sebagai kontrol sel darah merah. Lalu tambahkan 25 μl NaCL fisiologis ke dalam sumuran 1 sampai dengan 10. Setelah itu tambahkan 50 μl s.d.m 1 % ke dalam sumuran 1 sampai dengan 12 dan campur isi mikroplate dengan mikro plate shaker atau menggoyangkannya dengan tangan. Setelah itu inkubasikan mikroplate pada suhu ruang sekitar 15 - 60 menit dan kemudian baca hasilnya. Dalam membaca hasil dari uji Hemaglutinasi (HA) dinyatakan valid apabila pada sumuran 12 (kontrol sel darah merah / RBC) setelah inkubasi terjadi hambatan sel darah merah / *red blood cell*

(RBC) mengendap sempurna. Sedangkan HA sempurna apabila terjadi aglutinasi dimana eritrosit terlihat merata (difusi) tanpa terjadi pengendapan berbentuk titik ditengah lubang. Jika aglutinasi terjadi sampai dengan sumuran ke 8 (1 : 256) maka berarti bahwa antigen tersebut mengandung 256 (2^8) HA unit. Pada hasil akhir uji HA antigen virus ND dibuat dalam konsentrasi 2^2 atau 4 HA unit. Selanjutnya digunakan untuk uji titerasi dengan uji hemaglutinasi inhibisi (HI).

Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI)

Hemaglutinasi Inhibisi (HI) : Cara kerja uji HI untuk menentukan titer antibodi. Pertama tambahkan 25 μ l pengencer NaCL fisiologis ke dalam sumuran 1 sampai dengan 12. Lalu tambahkan 25 μ l serum uji kedalam sumuran 1. Setelah itu encerkan kelipatan 2 serum uji dari sumuran 1 sampai dengan 10 dari sumuran 10 buang 25 μ l. Kemudian tambahkan 25 μ l antigen 4 HA unit ke dalam sumuran 1 sampai dengan 11. Selanjutnya campur isi semua sumuran dengan cara menggoyang dengan mikroplate shaker atau dengan tangan. Setelah tercampur kemudian inkubasikan mikroplate pada suhu ruang minimum 30 menit. Setelah masa inkubasi selesai tambahkan 50 μ l RBC ayam 1 % kedalam masing-masing sumuran 1 sampai dengan 12. Campur isi mikroplate dengan cara menggoyangnya. Setelah itu inkubasikan kembali mikroplate pada suhu ruang selama 15 - 60 menit atau sampai kontrol sel darah merah pada sumuran 12 mengendap dan kemudian baca hasilnya. Untuk membaca hasil pada uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) dinyatakan valid hasilnya apabila pada sumuran 11 (kontrol antigen) dan 12 (kontrol RBC) setelah inkubasi terakhir RBC mengendap sempurna. Serum uji dinyatakan positif antibodi apabila pada sumuran 1 atau sumuran selanjutnya terjadi hambatan aglutinasi sel darah merah sehingga terjadi pengendapan sel darah merah. Nilai titer antibodi tergantung sampai sumuran mana masih terjadi hambatan aglutinasi sel darah merah. Sedangkan untuk menentukan titer antibodi pada serum uji harus ditentukan dahulu end point pada uji. End point uji HI adalah sumuran terakhir dimana masih terjadi hambatan aglutinasi

sdm Apabila end point sudah ditentukan maka kebalikan angka pengenceran serum pada sumuran end point dinyatakan sebagai titer antibodi pada serum. Dengan ketentuan nilai HI titer untuk ND dinyatakan negatif jika kurang dari 1:8 (2^3) dan positif jika bernilai 1:8 (2^3) atau lebih (OIE, 2009) yang telah dimodifikasi oleh Laboratorium Biomedik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai titer antibodi penyakit tetelo yang terdeteksi dengan uji HI pada serum sampel di wilayah Timor Leste adalah kisaran antara 2^1 sampai 2^8 . Berdasarkan uji HI 6 sampel dinyatakan positif. Hasil positif pada distrik Dili sebanyak 1 sampel, Los palos 3 sampel, Suai 2 sampel dan Maliana (0). Nilai titer penyakit tetelo yang diperoleh dengan uji HI terhadap sampel serum pada masing-masing distrik dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Nilai titer antibodi ND yang diperoleh dengan uji *Hemaglutinasi Inhibisi*.

No.	Distrik	No. Sampel	Keterangan	Nilai titer
1	Dili	2	+	128
2	Los Palos	6	+	64
		12	+	64
		14	-	2
		15	+	256
3	Suai	2	-	2
		7	+	32
		15	+	64
4	Maliana	0	-	0
Jumlah sampel (+)			6	

Keterangan : (+/-) positif/negatif

Di antara penyakit-penyakit ayam, penyakit tetelo merupakan penyakit yang sangat penting di Indonesia, karena telah menyebar di seluruh Indonesia dan menimbulkan kerugian besar (Darmawan, 1985). Penyakit ini menimbulkan kerugian sosio-ekonomi yang sangat besar karena memiliki tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi (Darminto dan Ronohardjo, 1996).

Keberadaan virus penyakit tetelo pada suatu wilayah dapat dideteksi dengan isolasi virus dari sampel feses (swab kloaka) atau swab nasofaring dan deteksi antibodi dari serum (*serologis*). Adanya virus penyakit tetelo dapat dideteksi dengan uji Hemaglutinasi dan Hemaglutinasi Inhibisi (Allan *et al.*, 1978).

Penyakit tetelo terdeteksi secara serologis di tiga distrik dari empat distrik yang telah ditentukan untuk pengambilan sampel yang ada di Dili, Los palos, Suai dan Maliana. Titer yang terdeteksi bervariasi dari 2^1 sampai 2^8 . Nilai titer antibodi tertinggi di distrik Los palos yaitu 2^8 . Titer antibodi protektif terhadap kematian akibat ujiantang penyakit tetelo berkisar 2^3 atau lebih (Nahamya *et al.*, 2006). Sedangkan menurut Allan (1978), pembacaan hasil secara garis besar bisa sebagai berikut : pada ujiantang penyakit tetelo, ayam yang mengandung Ab kurang dari 2^2 mengakibatkan kematian 100%. Titer antibodi (Ab) antara 2^2 sampai 2^4 angka kematian mencapai 10%, titer Ab 2^5 sampai 2^6 angka kematian 0%. Titer Ab 2^6 sampai 2^8 angka kematian 0%, tetapi pada ayam petelur menyebabkan penurunan produksi. Titer Ab 2^9 sampai 2^{11} angka kematian 0%, produksi telur tidak turun dan angka kesembuhan mencapai titer Ab 2^{11} sampai 2^{12} . Titer Ab 2^{11} sampai 2^{13} ayam akan bebas dari wabah penyakit tetelo dan tidak akan ada penurunan produksi telur lebih dari 6 bulan. Karena sampel yang diambil adalah ayam yang tidak divaksinasi maka, sampel yang memiliki nilai titer 2^3 dinyatakan positif. Nilai titer antibodi yang terbaca belum tentu akibat terjangkit penyakit tetelo, karena bisa juga akibat vaksinasi. Sedangkan terbacanya titer yang rendah dibawah (2^3) diduga akibat terjadi paparan virus pada pengambilan sampel. Persentase sampel serum uji yang dinyatakan positif berdasarkan uji HI pada masing-masing distrik dapat dilihat pada Tabel 4.2

Tabel 4.2. Persentase sampel yang positif secara *Hemaglutinasi Inhibisi*.

No.	Distrik	Sampel positif (%)
1.	Dili	10
2.	Los palos	20
3.	Suai	13,33
4.	Maliana	0
	Rataan	10,83

Deteksi titer yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji *Hemaglutinasi Inhibisi* (HI). Uji ini telah digunakan dan keberadaannya menjadi wajib di tiap laboratorium yang memeriksa titer penyakit penyakit tetelo karena sifatnya yang lebih spesifik dan tidak memerlukan peralatan khusus sehingga lebih ekonomis. Prinsip dari uji HI adalah hambatan aglutinasi sel darah merah (RBC) oleh virus akibat terikatnya virus tersebut oleh antibodi spesifik. Oleh karena itu uji HI hanya bisa digunakan untuk virus yang mengagglutinasi sel darah merah (RBC), metode kerja uji HI adalah pengenceran bertingkat serum sampel hingga pengenceran terbesar yang masih sanggup menghambat agglutinasi (RBC) oleh antigen, sehingga dapat diketahui nilai titer antibodi dari serum sampel. Uji deteksi serologis yang lain adalah ELISA dan AGPT. *Enzym Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), uji ini memiliki beberapa keunggulan yaitu cepat, akurat, mampu menghitung titer (kuantitatif) dan dapat menguji sampel dalam jumlah banyak, namun demikian harga kit yang digunakan mahal. *Agar Gel Precipitation Test* (AGPT), uji ini menggunakan teknik presipitasi (pengendapan) antigen oleh antibodi yang sesuai, namun uji AGP hanya bersifat kualitatif yaitu hanya mengetahui keberadaan antibodi spesifik terhadap antigen (Medion, 2009).

Untuk memastikan adanya virus penyakit tetelo beredar pada suatu wilayah dilakukan dengan isolasi virus dari sampel feses (swab). Hasil sampel itu ditanam

pada telur ayam bertunas (TAB), kemudian diteruskan untuk uji HA dan uji HI. Metode diagnosa yang lain menggunakan teknik biologi molekular yaitu *Nested Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (Nested RT-PCR), metode ini dipakai untuk melacak asam nukleat virus penyakit tetelo dari hasil pemamenan virus pada cairan *allantois* telur ayam berembrio. Metode ini mempunyai sensitifitas dan keakuratan serta cepat, namun dibutuhkan peralatan khusus serta teknisi yang ahli (Adi *et al.*, 2008).

Penyebaran penyakit tetelo melalui kontak langsung dengan ayam yang sakit, kotoran, ransum, air minum, kandang, tempat ransum atau minum, peralatan lainnya yang tercemar oleh kuman penyakit, melalui pengunjung, serangga, burung liar dan udara. Penyebaran melalui udara dapat mencapai radius 5 km. Virus penyakit tetelo dapat diisolasi dengan titer tinggi selama masa inkubasi sampai masa kesembuhan. Virus penyakit tetelo terdapat pada udara yang keluar dari pernafasan ayam, kotoran, telur-telur yang diproduksi selama gejala klinis dan dalam karkas selama infeksi akut sampai kematian (Poultry Indonesia, 2011).

SIMPULAN

Dari hasil pembahasan diatas dibuat kesimpulan sebagai berikut : Ayam yang dipelihara di Timor Leste terjangkit oleh penyakit tetelo.

SARAN

Dari kesimpulan diatas maka dapat disarankan : Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui berapa banyak tingkat kejadian penyakit tetelo di Timor Leste, karena dalam penelitian ini jumlah sampel yang digunakan dan distrik yang di pilih terbatas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan kepada *Ministério da Agricultura e Pescas* (Kementerian Pertanian dan Perikanan) Timor Leste atas bantuan dananya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adi AAAM, Astawa NM, Putra KSA dan Yasunobu M. 2008. Jurnal Veteriner September 2008 Vol. 9 No. 3 : 128-134. (Deteksi Virus Penyakit Tetelo Isolat Lapangan dengan Metode *Nested Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction*).
- Allan WH, Lancaster JH and Toth B. 1978. Newcastle Disease Vaccines. Their Production DAN Use. FAO of the United Nations,Rome.
- Balai Karantina Hewan Kelas I Ngruh Rai. 2006. Kumpulan Peraturan Perundang-undangan Karantina Hewan Denpasar.
- Darmawan. 1985. *Masa kekebalan Vaksin ND galur Komorov. Vetma. No 3/VII Pusvetma*. Surabaya.
- Darminto dan Ronohardjo P. 1996. *Newcastle Disease Pada Unggas di Indonesia : Situasi Terakhir dan Relevansinya Terhadap Pengendalian Penyakit*. Balai Penelitian Veteriner. p : 65-84.
- Dharmawan NS, Damriyasa IM, Suartha IN, Agustina KK. 2010. List of HPH and HPHK in Timor Leste. Paper presented in. International Seminar on Timor Leste's Quarantine Regulation Plant Pest and Animal Diseases. Dili, 26-8-2010.
- Medion Online. 2009. Serologis Pendukung Diagnosa. Info Medion Edisi September 2009 (<http://info.medion.co.id>).
- Nahamya FH, Mukiibi-Muka G, GW Nasinyama dan Kabasa JD. 2006. Assessment of the cost effectiveness of vaccinating free range poultry against Newcastle disease in Busedde sub-county, Jinja district, Uganda In *Livestock Research for Rural Development* 18 (11) 2006. (<http://www.lrrd.org/lrrd18/11/naha18158.htm>).
- OIE. 2009. *OIE Terrestrial Manual* 2009. Chapter 2.3.14. Newcastle disease.
- PoultryIndonesia. 2011. Penyakit Tetelo (Newcastle Disease).
www.poultryindonesia.com.(18 juni 2011).