

Isolasi, Identifikasi, Sifat Fisik, dan Biologi Virus Tetelo yang Diisolasi dari Kasus di Lapangan

(ISOLATION, IDENTIFICATION, PHYSICAL, AND BIOLOGICAL CHARACTER
OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS ISOLATED FROM FIELD CASES)

Michael Haryadi Wibowo, Tri Untari, Anastasia Endang Tri Hastuti Wahyuni

Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada
Jl. Fauna 2, Karangmalang, Yogyakarta 55281. Email: bowomikro@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi, identifikasi secara serologis terhadap kasus tetelo pada suatu peternakan ayam petelur, ayam broiler dan ayam kampung. Virus tetelo yang diperoleh tersebut selanjutnya diuji sifat-sifat fisik dan biologiknya. Material inokulasi berupa paru dan swab kloaka khusus ayam yang menunjukkan tortikolis. Paru digerus menggunakan lumpang dan mortil steril, ditambahkan antibiotika dan antijamur, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 2 jam. Isolasi virus tetelo menggunakan telur ayam berembrio umur 11 hari *specific pathogen free*, Pertumbuhan virus tetelo ditentukan dengan uji hemaglutinasi, dan uji hemaglutinasi inhibisi menggunakan serum anti spesifik terhadap penyakit tetelo. Isolat virus tetelo yang diperoleh selanjutnya ditentukan sifat fisik virus, yaitu kecepatan elusi hemaglutinat dan stabilitas hemaglutinin pada suhu 56 ° C selama 30 menit, sedangkan sifat biologik virus ditentukan dengan melihat kemampuan hemaglutinasi virus tetelo tersebut pada eritrosit sapi, kuda, dan domba. Sebagai kontrol adalah virus tipe lentogenik digunakan galur *La Sota*. Berdasarkan data yang diperoleh dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa diantara 34 sampel yang diperiksa dapat diidentifikasi secara serologis sebagai virus tetelo sebanyak 13 sampel. Karakterisasi virus tetelo berdasarkan kemampuan menyebabkan kematian embrio dapat dibedakan virus patotipe moderat sebanyak 10 isolat dan virus patotipe kurang virulen sebanyak 3 isolat. Menurut kecepatan elusi diantara 13 isolat virus tetelo yang diteliti menunjukkan karakter virus virulen sebanyak 11 isolat sedangkan virus kurang virulen 2 isolat. Berdasarkan uji stabilitas HA, 2 isolat virus tetelo resisten pada pemanasan 56 ° C selama 30 menit, sedangkan 11 isolat menunjukkan sensitivitas pada pemanasan tersebut. Hasil uji biologis dengan melihat kemampuan HA virus tetelo pada eritrosit sapi, kuda, dan domba menunjukkan uji HA negatif diamati pada 10 isolat, sedangkan dua isolat yang memperlihatkan uji HA positif terhadap ketiga jenis eritrosit mamalia tersebut, serta satu isolat menunjukkan uji HA positif dengan eritrosit domba. Virus kontrol patotipe lentogenik galur *La Sota* menunjukkan uji HA dan HI positif, waktu elusi 29 menit, stabilitas hemaglutinat selama 2 menit dan HA positif terhadap eritrosit sapi, kuda, dan domba.

Kata kunci: virus *Newcastle disease*, virulensi, hemaglutinin, elusi.

ABSTRACT

The aim of this research was to confirm the causative agent of some outbreaks on layer, broiler and native chicken farm suspected to Newcastle disease (ND) virus infection. Specimens were taken and collected from the lung was further processed. Suspected materials were inoculated into allantoic sac in specific pathogenic free of 10 days embryonating egg chicken. The growth of the virus was determined with the ability to agglutinate the chicken red blood cells or hemagglutination test. Positive hemagglutination was performed with hemagglutinin inhibition test using specific antibody against ND virus. Method for ND virus isolation, propagation and identification were based on the standard procedure of serological identification for ND virus serological identification. 13 out of 34 samples were identified as ND viruses. Observation on the course and time of the virus to kill the chicken embryo could be differentiated into moderate virus patho-type were 10 isolates and a virulent strains were 3 isolates. Further characterization based on the elution time observation indicated 11 isolates were not pathogenic strain and 2 isolates were not virulent strain. Hemagglutinin stability study revealed that 11 isolates were sensitive being heated at 56°C for 30 minutes while 2 isolates were resistant. Biological characteristic of ND virus to hemagglutinate on various mammalian red blood cells indicating that most isolates were HA negative. Two isolates were HA positive with cattle, horse and sheep red blood cell, and one isolate indicated positive HA test by using sheep red blood cell. Control virus was lentogenic patho-type of *La Sota* strain showed HA and HI test positive, elution time was 29 minutes, stability on the hemagglutinin after heating was 2 minutes and HA positive with cattle, horse and sheep red blood cell.

Key words: Newcastle disease virus, virulence, hemagglutinin, elution

PENDAHULUAN

Newcastle disease biasa dikenal sebagai penyakit tetelo, merupakan penyakit unggas, khususnya ayam bersifat sangat mudah menular, akut serta menimbulkan gejala gangguan pencernaan, pernafasan dan syaraf. Penyakit tersebut disebabkan oleh virus tetelo, genus *Paramixovirus*, keluarga *Paramixoviridae*. Virus tetelo merupakan virus RNA yang mempunyai genom *single stranded* (SS) dengan polaritas negatif. *Paramixovirus* berbentuk sangat pleomorfik, antara bentuk membulat sampai filamen serta berdiameter 100 sampai 150 nm. Nukleokapsid bersimetri heliks dan dikelilingi oleh amplop yang berasal dari membran permukaan sel. Pada amplop tersebut menempel *spike* glikoprotein hemagglutinin (H/HA) dan neuraminidase (N/NA). *Spike* tersebut mempunyai peran dalam hemagglutinasi eritrosit dan proses elusi (Alexander, 1991; Alexander, 2003; Allan *et al.*, 1978; Fenner *et al.*, 1993), dan merupakan salah satu sifat virus tetelo yang dapat digunakan dalam karakterisasi biologi virus tersebut.

Hemagglutinin virus tetelo mempunyai kemampuan berikatan secara spesifik dengan reseptor asam sialat yang terdapat pada membran plasma sel darah merah (SDM) ayam, di samping SDM unggas, juga mengaglutinasi eritrosit marmot dan manusia. Beberapa strain tertentu mempunyai kemampuan mengagglutinasi SDM mamalia, yaitu sapi, kuda, domba dan babi (Alexateteloer, 2003), tikus putih, kelinci, dan kucing (Chu, 1948). Sifat tersebut dapat digunakan sebagai penanda strain virus tetelo meskipun tidak mempengaruhi perbedaan dalam uji serologi. Proses hemagglutinasi terjadi karena SDM yang dicampur dengan virus tetelo dalam proporsi yang seimbang. Koteteloisi tersebut dapat terjadi karena adanya kecocokan virus tetelo dengan reseptor yang terdapat pada permukaan SDM. Beberapa faktor yang memengaruhi uji HA tersebut, antara lain: konsentrasi SDM berkisar 1%, pelarut mengandung elektrolit (0,85% NaCl) dan partikel virus mencapai 10^5 sampai 10^6 per mL suspensi (NRC, 1971). Virus tetelo yang memperlihatkan uji HA positif dapat dihambat oleh antibodi spesifik yang dihasilkan oleh hemagglutinin virus tetelo. Aktivitas hambatan hemagglutinasi tersebut dapat digunakan sebagai dasar yang memungkinkan identifikasi virus tetelo (Alexander, 2003).

Hemagglutinat yang terbentuk pada HA

positif dapat terurai kembali oleh aktivitas enzim neuraminidase. Proses tersebut dinamakan elusi. Stabilitas hemagglutinat di antara virus tetelo bervariasi, beberapa strain virus tetelo menunjukkan elusi cepat kurang dari 24 jam tetapi beberapa strain menunjukkan elusi lambat, yaitu lebih dari 24 jam (Spalatin *et al.*, 1970). Menurut Ezeibe dan Ndeip (2005) waktu elusi beberapa virus tetelo bervariasi. Virus patotipe velogenik mempunyai waktu elusi dari 84 sampai 189 menit, sedangkan virus mesogenik mempunyai waktu elusi antara 43 sampai 78 menit. Virus yang termasuk lentogenik dalam penelitian tersebut dipakai strain *La Sota* mempunyai waktu elusi 20 sampai 45 menit. Proses elusi virus tetelo dapat meningkat pada suhu 37°C , tetapi dapat tertunda apabila ditempatkan pada suhu 4°C (Chu, 1948).

Virus tetelo apabila dipanaskan pada suhu 56°C dalam periode waktu tertentu dapat kehilangan kemampuan untuk dapat melakukan hemagglutinasi SDM, karena hemagglutinin rusak. Stabilitas hemagglutinin pada pemanasan tersebut berbeda-beda di antara strain. Strain virus tetelo dikatakan resisten apabila hemagglutinin tidak rusak oleh pemanasan suhu 56°C selama 30 menit, sedangkan dikatakan sensitif jika hemagglutinin rusak oleh pemanasan tersebut. Pemanasan 70°C selama 30 menit dapat menghilangkan kemampuan hemagglutinasi virus tetelo (Chu, 1948).

Isolasi virus tetelo dapat dilakukan secara *in ovo* menggunakan telur ayam berembrio umur 9-12 hari *specific pathogen free* atau setidaknya bebas antibodi terhadap virus tetelo. Sejauh ini inokulasi ditempatkan pada ruang alantois dianggap yang paling peka, meskipun inokulasi pada ruang amnion maupun pada *yolk sac* dapat juga dipertimbangkan (Alexander, 1989). Pertumbuhan virus dapat menyebabkan kematian embrio, meskipun antar strain virus tetelo juga bervariasi. Kematian embrio akibat infeksi virus tetelo tersebut dapat dipakai sebagai evaluasi virulensi virus yang dikenal dengan *chick embryo virulence* (CEV). Virus tetelo dikatakan virulen jika dapat menyebabkan kematian embrio dalam 48 jam, moderat jika mampu menyebabkan kematian 50% embrio dalam waktu 48 jam. Virus tersebut dikatakan kurang virulen jika tidak menyebabkan kematian embrio dalam waktu 48 jam. Alexander (2003) membedakan virus tetelo sebagai patotipe velogenik, mesogenik, dan lentogenik berdasarkan kemampuan

menyebabkan kematian embrio ayam berturut-turut kurang dari 60 jam, antara 60 sampai 90 jam dan di atas 90 jam. Kemampuan menyebabkan kematian embrio tersebut juga dapat dipakai untuk mengira patogenisitas virus pada ayam.

Pertumbuhan virus tetelo dalam cairan alantois diketahui dengan melihat kemampuan hemaglutinasi eritrosit. Identifikasi secara serologi menggunakan serum anti spesifik terhadap virus tetelo dengan uji hamaglutinasi inhibisi (HI) (Alexander, 1989; Fenner, 1993). Diagnosis yang dewasa ini banyak dikembangkan adalah dengan metode *reverse transcriptase polymerase chain* (RT-PCR). Cairan alantois yang memperlihatkan hasil uji HA dan HI positif tersebut, dapat dipreparasi RNA virus target dan selanjutnya dapat diamplifikasi dengan metode RT-PCR. Secara umum identifikasi molekuler ditujukan pada gen F (fusi) yang merupakan prekursor glikoprotein yang berperan dalam *cleavage* untuk proses fusi sel (Alexander, 2003). Sensitivitas diagnosis RT-PCR bervariasi pada berbagai tingkatan kasus klinis penyakit tetelo, yaitu 73,44% sampai 91,30% (Creelan *et al.*, 2002).

Gejala klinis akibat infeksi virus tetelo dapat bervariasi tergantung patotipe virus, kepekaan inang dan faktor pendukung lainnya. Penyakit tetelo tipe Asiaatik yang dikenal sebagai *very virulent* tetelo dapat menyebabkan kematian tinggi mencapai 100% pada unggas yang peka (Alexander, 2003) dan oleh sebab itu dapat menimbulkan kerugian ekonomi yang cukup nyata di sektor usaha peternakan unggas di Indonesia. Pada ayam kampung yang dikenal mempunyai resistensi yang tinggi terhadap berbagai penyakit unggas pun, infeksi virus tetelo mampu menyebabkan kematian mencapai lebih 50% populasi per tahun (Folitse *et al.*, 1998).

Sejauh ini usaha penanggulangan penyakit tetelo tersebut dilakukan dengan vaksinasi dan didukung dengan praktek manajemen yang optimal. Vaksinasi tetelo dilakukan dengan cara pemberian vaksin aktif dan inaktif pada berbagai tingkatan umur ayam. Meskipun berbagai usaha telah dilakukan dalam rangka penanggulangan penyakit tersebut, namun tidak bisa dipungkiri bahwa sampai saat ini kasus tetelo masih banyak ditemukan di lapangan. Kasus penyakit tetelo tersebut dapat muncul pada suatu peternakan yang telah menjalankan vaksinasi dengan baik maupun pada peternakan

ayam kampung yang belum melakukan program vaksinasi tetelo. Kondisi tersebut memberikan suatu alasan bahwa masih banyak permasalahan di lapangan, sehingga dapat terjadi kasus penyakit tetelo. Beberapa sebab yang mungkin terkait munculnya kasus tersebut adalah menyangkut masalah tata laksana peternakan, kualitas vaksin yang sangat bervariasi, serta variasi patotipe virus yang bersirkulasi di lapangan. Lebih dari itu telah muncul dugaan adanya virus tetelo yang berbeda dari yang selama ini dikenali, meskipun untuk tahu hal tersebut harus dilakukan karakterisasi lebih lanjut secara molekuler.

Penelitian ini dimaksudkan untuk melakukan isolasi dan identifikasi serologi pada kasus terdiagnosa penyakit tetelo pada peternakan ayam petelur, ayam pedaging, dan ayam kampung. Isolat virus yang diperoleh kemudian ditentukan sifat fisiknya, yaitu kecepatan elusi hemaglutinat dan stabilitas hemaglutinin pada suhu 56^o C, sedangkan sifat biologi virus ditentukan dengan melihat kemampuan virus tetelo tersebut dalam menimbulkan hemaglutinasi pada eritrosit kuda, sapi, dan domba.

METODE PENELITIAN

Sampel penelitian berupa organ paru dan *swab* kloaka dari kasus terdiagnosis penyakit tetelo pada ayam petelur, pedaging, dan ayam kampung sebanyak 34 sampel. Paru tersebut dipotong kecil-kecil, digerus menggunakan lumpang dan mortil steril serta ditambahkan *phosphate buffered saline* (PBS) steril sebanyak 3 sampai 5 mL. Hancuran jaringan ditampung pada tabung konikel untuk dilakukan sentrifugasi selama 15 menit. Supernatan ditampung dalam tabung eppendorf 2,5 mL, dan ditambahkan antibakteri-antijamur, kemudian diinkubasi selama dua jam pada suhu kamar. Demikian halnya sampel *swab* kloaka ditambahkan antibakteri-antijamur, kemudian diinkubasi selama dua jam pada suhu kamar. Untuk mengetahui sterilitas sampel inokulasi dilakukan kultur pada media plat agar darah, diinkubasi pada suhu 37^o C selama 24 jam. Sampel kultur yang masih menunjukkan adanya pertumbuhan mikroorganisme, ditambahkan kembali antibiotik dan antijamur kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama dua jam.

Isolasi dan propagasi virus menggunakan telur ayam berembrio (TAB) umur 10 hari, bebas antibodi terhadap tetelo (*cleaning egg*). Sampel inokulasi dideposisi dalam cairan alantois TAB. Pertumbuhan virus dalam cairan alantois ditentukan dengan uji hemaglutinasi (HA) dan hemaglutinasi inhibisi (HI). Prosedur isolasi, identifikasi serologis tersebut maupun determinasi HA pada beberapa spesies mamalia mengacu metode Beard (1989) dan Senne (1989). Determinasi stabilitas hemaglutinin pada

pemanasan 56° C selama 30 menit dan uji virulensi pada embrio ayam mengacu Alexander (2003).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini telah dikoleksi sampel paru ayam pedaging, ayam petelur, dan ayam kampung yang terdiagnosis sebagai penyakit tetelo sebanyak 34 sampel. Gejala klinis yang

Tabel 1. Data kematian embrio, uji HA, HI dengan serum antitetelo, dan waktu elusi

No	Sampel	Kematian embrio	Uji HA	Uji HI dg serum anti tetelo	Waktu Elusi
1	Potro/MHW/1a/2010	48 jam	+	+	410 menit
2	Potro/MHW/1b/2010	5 hari tidak mati	-	-	-
3	Potro/MHW/1c/2010	48 jam	+	+	410 menit
4	Potro/MHW/1d/2010	5 hari tidak mati	-	-	-
5	Potro/MHW/2a/2010	5 hari tidak mati	-	-	-
6	Potro/MHW/2b/2010	5 hari tidak mati	-	-	-
7	Torti/MHW/1a/2010	5 hari tidak mati	-	-	-
8	Torti/MHW/1b/2010	48 jam	+	+	410 menit
9	Torti/MHW/1c/2010	5 hari tidak mati	-	-	-
10	Torti/MHW/2/2010	5 hari tidak mati	-	-	-
11	Torti/MHW/3/2010	5 hari tidak mati	-	-	-
12	Hartono/MHW/1/2010	5 hari tidak mati	-	-	-
13	Hary/MHW/1/2010	48 jam	+	+	410 menit
14	Hary/MHW/2/2010	5 hari tidak mati	-	-	-
15	Hary/MHW/3/2010	5 hari tidak mati	-	-	-
16	Hary/MHW/4/2010	48 jam	+	+	125 menit
17	Gamping/MHW/1/2010	72 jam	+	+	22 menit
18	Gamping/MHW/2/2010	72 jam	+	+	22 menit
19	Kotagede/MHW/2010	48 jam	+	+	410 menit
20	Solotiga/MHW/1/2010	5 hari tidak mati	-	-	-
21	Solotiga/MHW/2/2010	5 hari tidak mati	-	-	-
22	Solotigo/MHW/3/2010	5 hari tidak mati	-	-	-
23	Romiteteloo/MHW/1/2010	72 jam	+	-	TD
24	Romiteteloo/MHW/2/2010	72 jam	+	-	TD
25	Pwkt/MHW/1/2009	72 jam72 jam72 jam72 jam	+	-	TD
26	Pwkt/MHW/2/2009	72 jam72 jam72 jam72 jam	+	-	TD
27	Solo/MHW/1/2010	72 jam72 jam72 jam72 jam	+	-	TD
28	Solo/MHW/2/2010	72 jam72 jam72 jam72 jam	+	-	TD
29	B-Maliteteloo/MHW/2010	48 jam	+	-	TD
30	Sci /MHW/28a/2010	48 jam	+	+	24 jam
31	Sci/MHW/28b/2010	48 jam	+	+	24 jam
32	Sci/MHW/2a/2011	48 jam	+	+	24 jam
33	Sci/MHW/2b/2011	48 jam	+	+	24 jam
34	Sci/MHW/2c/2011	72 jam	+	+	24 jam
35	<i>La Sota</i>	5 hari tidak mati	+	+	29 menit

Keterangan: TD = tidak dilakukan pengamatan

HA = hemaglutinasi

HI = hemaglutinasi inhibisi

teramati di lapangan sangat bervariasi, antara lain: ayam teramati menunjukkan kelemahan umum nafsu makan dan minum menurun, beberapa kasus teramati *tortikolis*, dan secara umum, teramati kematian ayam yang cukup signifikans. Beberapa spesimen pemeriksaan teramati lesi karakteristik penyakit tetelo yaitu, proventrikulitis nekrotik hemoragi dan enteritis nekrotik hemoragik. Secara umum sampel inokulasi berupa paru ayam dan beberapa *swab koaka* terutama pada kasus yang memperlihatkan gejala *tortikolis*. Isolasi pada TAB umur 10 hari SPF secara umum menyebabkan kematian embrio dalam waktu yang bervariasi. Isolasi dan identifikasi secara serologis memperlihatkan hasil positif HA dan HI dengan serum anti tetelo sebanyak 13 isolat lapangan dan satu virus *La Sota* sebagai kontrol virus lentogenik. Hasil secara lengkap disajikan pada Tabel 1.

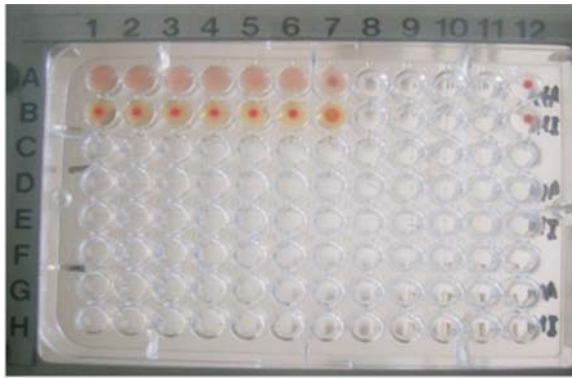
Hasil inokulasi sampel pada TAB menyebabkan kematian embrio selama 48 jam sebanyak 11 sampel dan terbukti dengan uji HA dan HI menggunakan serum anti tetelo positif. Satu di antara isolat tersebut negatif terhadap uji HI menggunakan serum anti spesifik virus tetelo. Hasil inokulasi yang memperlihatkan kematian embrio lebih dari 60 jam tetapi kurang dari 90 jam sebanyak sembilan sampel, tetapi enam sampel di antaranya memperlihatkan hasil uji HI dengan serum anti tetelo negatif. Hasil inokulasi yang tidak menyebabkan kematian embrio sebanyak 15 sampel yang menunjukkan hasil uji HA negatif dan oleh karenanya tidak dilanjutkan dengan uji HI, namun demikian satu isolat merupakan kontrol virus lentogenik yang menunjukkan hasil uji HA dan HI positif meskipun tidak menyebabkan kematian embrio. Contoh hasil uji HA dan HI dari sampel dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil uji HI dengan serum anti tetelo positif menunjukkan kecocokan antara virus dan serum anti yang dipakai dalam uji, oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa secara serologi positif virus tetelo. Dasar tersebut dapat digunakan dalam identifikasi virus tetelo (NRC, 1971). Beberapa sampel dengan hasil uji HA positif tetapi HI dengan serum anti tetelo negatif menunjukkan bahwa virus tersebut bukan tetelo. Beberapa analisis menyebutkan bahwa jika uji HA positif dan uji HI dengan serum anti tetelo negatif, menunjukkan kemungkinan adanya pertumbuhan Orthomyxovirus atau Adenovirus. Namun demikian, apabila dilihat dari gejala klinis pada kasus ini lebih cenderung

mengarah virus *avian influenza*, meskipun perlu dibuktikan dengan uji HI menggunakan serum anti terhadap virus tersebut.

Kematian embrio akibat infeksi virus tetelo tersebut dapat dipakai sebagai evaluasi virulensi virus yang dikenal dengan *chick embryo virulence* (CEV). Penentuan patotipe pada embrio tersebut juga mirip dengan batasan waktu kematian embrio akibat inokulasi virus tetelo pada TAB yang disampaikan oleh *Subcommittee on Avian Diseases, Committee on Animal Health, Agricultural Board National Research Council of America* yaitu virus tetelo yang termasuk velogenik dapat menyebabkan kematian embrio sekitar 50 jam, virus mesogenik menyebabkan kematian embrio antara 60 sampai 90 jam, sedangkan virus lentogenik menyebabkan kematian embrio di atas 100 jam (NRC, 1971).

Lesi embrio secara makroskopis teramati kekerdilan, pertumbuhan bulu minimal dan hemoragi pada kulit (Gambar 2). Kondisi tersebut teramati berbeda apabila dibandingkan dengan ayam yang diinfeksi virus galur *La Sota* yang dianggap sebagai kontrol virus yang tidak patogenik. Pertumbuhan Virus tetelo virulen dapat merusak sel-sel epitel, makrofag, fibroblast, endotel dan akhirnya menyebar ke seluruh embrio dan menyebabkan kematian embrio. Lesi tersebut menyebabkan gangguan pertumbuhan embrio sehingga kerdil, teramati tanpa bulu, dan mengalami hemoragi kulit. Lesi makroskopis embrio ayam karena pertumbuhan virus tetelo tersebut menunjukkan kemiripan dengan lesi yang ditimbulkan oleh virus AI, yaitu hemoragik kulit, kekerdilan embrio, dan gangguan pertumbuhan bulu (Wibowo *et al.*, 2006). Kondisi tersebut berbeda dengan virus vaksin atau galur lentogenik karena titer virus yang rendah dalam darah sehingga tidak dapat melewati barier *hyperplastic inner lining* dari kantong alantois dan oleh karenanya tidak dapat menyebabkan kematian embrio dengan cepa. Menurut Gotoh *et al.*, (1990) pertumbuhan *Paramyxovirus* dan *Orthomyxovirus* pada cairan alantois ayam berembrio ditentukan oleh suatu enzim yang disebut *virus activating protease* (VAP), yaitu sejenis Ca^{2+} dependent serin yang berperan dalam memfasilitasi proses *cleavage* virus tetelo.

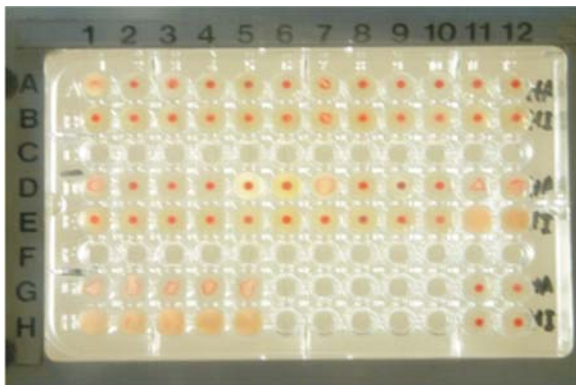
Pengamatan waktu elusi pada sampel positif tetelo menunjukkan hasil yang bervariasi antara 22 sampai 410 menit, sedangkan galur *La Sota* menunjukkan waktu elusi 29 menit (Tabel 1). Contoh proses elusi dalam penelitian



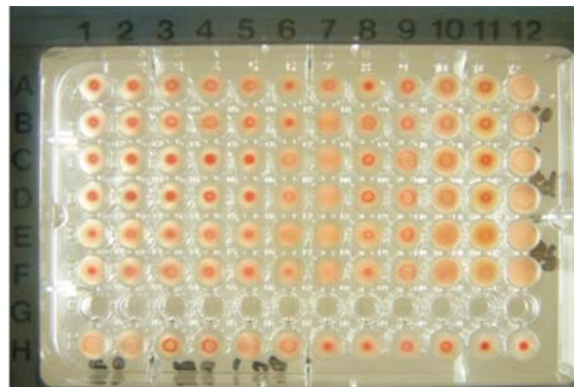
Gambar 1. Contoh hasil uji HA teramati positif pada lajur A, nomer 1 sampai 6. Hasil uji HI menggunakan serum anti tetelo positif teramati pada lajur B nomer 1 sampai 6, sedangkan lajur A dan B nomer 12 merupakan kontrol negatif



Gambar 2. Contoh lesi embrio akibat infeksi virus tetelo isolat lapangan dan kontrol virus lentogenik.



Gambar 3. Uji HA yang memperlihatkan elusi, lajur A1, D1, D7, D11, dan D12 menunjukkan proses elusi belum sempurna



Gambar 4. Uji HA beberapa isolat virus tetelo pada eritrosit sapi, kuda dan domba

ini disajikan pada Gambar 3. Stabilitas hemaglutinat antar virus tetelo bervariasi, beberapa galur virus tetelo menunjukkan elusi cepat, kurang dari 24 jam tetapi beberapa strain menunjukkan elusi lambat, lebih dari 24 jam (Spalatin *et al.*, 1970). Menurut Ezeibe dan Ndeip (2005) waktu elusi virus patotipe velogenik mempunyai waktu elusi 84 sampai 189 menit, sedangkan virus mesogenik mempunyai waktu elusi antara 43 sampai 78 menit. Virus yang termasuk lentogenik dalam penelitian tersebut dipakai galur *La Sota* mempunyai waktu elusi 20 sampai 45 menit. Berdasarkan waktu elusi isolat virus tetelo dalam penelitian ini dapat diklasifikasi sebagai virus virulensi rendah, yaitu di bawah 45 menit, dan virulensi tinggi, yaitu di atas 85 menit. Virus galur *La Sota* dalam penelitian ini memperlihatkan waktu

elusi sesuai dengan hasil penelitian sebagaimana dilaporkan oleh Ezeibe dan Ndeip (2005).

Uji stabilitas hemaglutinin dengan pemanasan 56° C selama 30 menit yang dilakukan terhadap 13 isolat virus tetelo yang teridentifikasi pada penelitian ini memperlihatkan bahwa waktu elusi sampai dengan lima menit sebanyak 10 isolat, 25 menit satu isolat, 305 menit dua isolat dan virus kontrol lentogenik dua menit. Sardjono (1990) melaporkan bahwa virus galur *La Sota* menunjukkan stabilitas hemaglutinat selama lima menit sedangkan isolat lapangan yang berhasil diidentifikasi menunjukkan stabilitas hemaglutinin 60 menit dan 120 menit. Menurut Ibu *et al.*, (2010) yang meneliti thermostabilitas hemaglutinin pada suhu 56° C dalam penangas air terhadap 12 isolat virus tetelo lapangan di Nigeria

memperlihatkan thermostabilitas yang bervariasi dari 5-40 menit. Strain virus tetelo dikatakan resisten apabila hemaglutinin tidak rusak oleh pemanasan suhu 56° C selama 30 menit, sedangkan dikatakan sensitif jika hemaglutinin rusak oleh pemanasan tersebut. Stabilitas hemaglutinin pada pemanasan berhubungan dengan virulensi virus tetelo. Kondisi tersebut sejalan dengan hasil penelitian Sardjono (1993) yang menyatakan bahwa salah satu virus tetelo dengan stabilitas hemaglutinin 120 menit telah dikarakterisasi sebagai virus tetelo yang virulen. Hal tersebut juga sesuai dengan NRC (1971) yang menyatakan bahwa virus patotipe lentogenik dan mesogenik stabil pada pemanasan 56° C selama 30 menit selama lima menit, sedangkan stabilitas HA virus patotipe velogenik mencapai 120 menit.

Uji aktivitas biologi virus tetelo pada beberapa eritrosit mamalia, yaitu sapi, kuda, dan domba, secara umum isolat virus tetelo dalam penelitian ini tidak menunjukkan uji HA positif. Dua isolat, yaitu Potro/MHW/1a/2010, Potro/MHW/1c/2010 (Gambar 4, kolom 7) dan Kotagede/MHW/2/2010 (Gambar 4, kolom 12) menunjukkan HA positif terhadap ketiga jenis eritrosit mamalia tersebut. Isolat Gamping/MHW/1/2010 (Gambar 4, kolom 6-E) menunjukkan HA positif dengan eritrosit domba, sedangkan virus galur *La Sota* menunjukkan HA positif pada eritrosit sapi dan domba (Gambar 4, kolom 1, 2 H dan 5, 6 H). Hasil uji HA negatif pada eritrosit sapi, kuda

dan domba tersebut teramati endapan eritrosit yang membulat dengan lubang ditengah (halo) teramati pada Gambar 4.

Hasil uji biologi ini juga sejalan dengan laporan Sardjono (1990) bahwa beberapa isolat virus tetelo tidak dapat menunjukkan uji HA positif dengan eritrosit kuda dan domba. Isolat Leles yang merupakan virus patotipe virulen tidak dapat menghemaglutinasi SDM kuda tetapi uji HA positif dengan eritrosit domba. Virus galur *La Sota* justru memperlihatkan HA positif dengan eritrosit kuda dan domba. NRC (1971) melaporkan virus *La Sota* menunjukkan uji HA positif dengan SDM sapi dan kuda, virus tipe mesogenik memperlihatkan kemampuan HA yang bervariasi, beberapa uji HA positif dengan eritrosit sapi, sedangkan virus tipe velogenik menunjukkan uji HA yang juga bervariasi. Berdasarkan data tersebut kemampuan virus tetelo dalam uji hemaglutinasi tampaknya tidak berhubungan dengan virulensi.

SIMPULAN

Berdasarkan data yang diperoleh dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa diantara 34 sampel yang diperiksa dapat diidentifikasi sebagai virus tetelo sebanyak 13 sampel. Karakterisasi virus tetelo berdasarkan kemampuan menyebabkan kematian embrio dapat dibedakan virus patotipe moderat

Tabel 2. Hasil uji stabilitas isolat virus tetelo pada suhu 56° C selama 30 menit

No	Isolat	Uji HA	Waktu Elusi
1	Sci/MHW/28a/2010	+	305 menit
2	Sci/MHW/28b/2010	+	4 menit
3	Sci/MHW/2a/2011	+	5 menit
4	Sci/MHW/2b/2011	+	5 menit
5	Sci/MHW/2c/2011	+	5 menit
6	Potro/MHW/1a/2010	+	5 menit
7	Potro/MHW/1c/2010	+	5 menit
8	Torti/MHW/1b/2010	+	25 menit
9	Hary/MHW/1/2010	+	305 menit
10	Hary/MHW/4/2010	+	5 menit
11	Gamping/MHW/1/2010	+	5 menit
12	Gamping/MHW/2/2010	+	5 menit
13	Kotagede/MHW/2/2010	+	5 menit
14	<i>La Sota</i>	+	2 menit

Keterangan : HA = hemaglutinasi

sebanyak 10 isolat dan kurang virulen sebanyak tiga isolat. Menurut kecepatan elusi di antara 13 isolat virus tetelo yang diteliti menunjukkan karakter virus virulen sebanyak 11 isolat sedangkan virus kurang virulen dua isolat. Berdasarkan uji stabilitas HA, dua isolat virus tetelo resisten pada pemanasan 56^o C selama 30 menit, sedangkan 11 isolat menunjukkan sensitivitas pada pemanasan tersebut. Hasil uji biologis dengan melihat kemampuan HA virus tetelo pada eritrosit sapi, kuda, dan domba menunjukkan uji HA negatif yang teramati pada 10 isolat, sedangkan dua isolat yang memperlihatkan uji HA positif terhadap ketiga jenis eritrosit mamalia tersebut, serta satu isolat menunjukkan uji HA positif dengan eritrosit domba. Virus tetelo kontrol *La Sota* menunjukkan HA positif terhadap eritrosit sapi dan kuda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada Dekan, Fakultas Kedokteran Hewan, UGM yang telah memberikan bantuan dana penelitian melalui Hibah Penelitian Fakultas 2010, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian, Nomer : / J.01.1.22/LK/2010, Tanggal 28 Juni 2010.

DAFTAR PUSTAKA

- Allan WH, Lancaster JE, Toth B. 1978. Newcastle Disease Vaccines, Their Production and Use Food and Agriculture Organization of the United Nation, Rome. Italy. Pp.: 1-5.
- Alexander DJ. 1989. Newcastle Disease. *In: A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogen*. Third Edition, The American Association of Avian Pathologist, Kendal Publishing Company, USA. Pp.: 114-120
- Alexander DJ. 1991. Newcastle and Other Paramixovirus Infection. *Dalam: Disease of Poultry*. Calnek, B.W., Barnes, H.J., Beard, C.W., Mc. Daugld, L.R., dan Saif, Y.M. (eds.). Tenth edition. Iowa State University Press., Ames, Iowa. Pp.: 496-513.
- Alexander DJ. 2003. Newcastle and Other Avian Paramixovirus and Pneumovirus Infection. *Dalam: Disease of Poultry*. Saif, Y. M., Barnes, H.J., Fadly, A.M., Glisson, J. R., McDaugld, L.R., and Swayne, D. E. (eds.). 11th edition. CD-ROM version produced and distributed by Iowa State University Press. Blackwell Publishing Company. Pp.: 63-85.
- NRC. 1971. Methods for Examining Poultry Biologics and for Identifying and Quantifying Avian Pathogens. Subcommittee on Avian Diseases, Committee of Animal Health, Agricultural Board, National Research Council of America. Academic of Science, Washinton D.C. Pp.: 66-108.
- Beard DJ. 1989. Serologic Procedures. *In: A Laboratory Manual for Isolation and Identification of Avian Pathogen*. Third Edition, The American Association of Avian Pathologist. Kendal Publishing Company, USA. Pp.:192-200.
- Creeland JL, Graham DA, McCullough SJ. 2002. Detection and Differentiation of Pathogenicity of Avian Paramyxovirus serotype 1 from field Cases Using One-step Reverse Transcriptase-polymerase Chain Reaction. *Avian Pathol.* 31: 493-499.
- Ezeibe MCO, Ndeip ET. 2005. Red Blood Cell Elution Time of Strain of Newcastle Disease Virus. *J. Vet. Sci.* 6(4): 287-288.
- Fenner FJ, Gibb EP, Murphy FA, Studdert MJ, and White DO. 1993. *Veterinary Virology*. Academic Press, Inc. Pp.: 471-481.
- Folitse R, Halvorson DA, Sivanandan V. 1998. Efficacy of Combined Killed-in-oil Emulsion and Live Newcastle Disease Vaccines in Chickens. *Avian Dis* 42: 173-178.
- Gotoh B, Ogasawara T, Toyoda T, Inocencio NM, Hamaguchi M, Nagai Y. 1990. An Endoprotease Homologous to The Blood Clotting Factor X as a Determinant of Viral Tropism in Chick. *The EMBO J.* 9 (12): 4189-41.
- Ibu OJ, Okoye JOA, Baba SS, Soyinka SVO, Chah KF, Antiabong J, Eze D, Oladele SB. 2010. Thermostability Profile of Newcastle Diseases Viruses Isolated from Wild Birds in Central Nigeria and the Selection of Thermostable Clone from the Sub-Population. *Int. J. of Poult. Sci.* 9 (8): 791-794.
- Sardjono. 1990. Virulensi dan Sifat-sifat Antigenik Isolat Virus Newcastle Disease Indonesia. Yogyakarta. Laporan Penelitian,

- PAU-Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada. Hal.: 13-33.
- Sardjono. 1993. Vaksin Iscom Glikoprotein Virus Newcastle Disease Isolat Indonesia. Yogyakarta. Laporan Penelitian, PAU-Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada. Hal.: 16-25.
- Spalatin J, Hanson RP, Beard PD. 1970. The Hemagglutination-elution Patterns as A Marker in Characterizing Newcastle Disease Viruses. *Avian Dis.* 14: 542-549.
- Senne DA. 1989. Virus Propagation in Embryonating Eggs. *In: A Laboratory Manual for Isolation and Identification of Avian Pathogen. Third Edition, The American Association of Avian Pathologist. Kendal Publishing Company, USA. Pp.:176-181.*
- Wibowo MH, Asmara W, Tabbu CR. 2006. Isolasi dan Identifikasi Serologis Virus *Avian Influenza* dari Sampel Unggas yang Diperoleh di Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah. *J Sain Vet* 24 (1): 77-83.