



e-Journal
FADET UNUD

e-Journal

Peternakan Tropika

Journal of Tropical Animal Science

email: peternakantropika_ejournal@yahoo.com

email: jurnaltropika@unud.ac.id



Universitas
Udayana

Submitted Date: February 7, 2018

Editor-Reviewer Article; I Made Mudita

Accepted Date: February 8, 2018

Seroprevalensi dan Deteksi Antigen Virus Newcastle Disease (ND) Pada Ayam Buras di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat

Hamdani, Y¹., dan G. A. Y. Kencana²

¹Program Magister Kedokteran Hewan. Fakultas Kedokteran Hewan Unud Jl. P.B. Sudirman, Denpasar Bali

²Laboratorium Virologi Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Udayana Jl. Raya Sesetan, Gang Markisa, No.6 Denpasar, Bali.

*Corresponding author: yusuf.hamdani23@yahoo.co.id Telp. 085338582097

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seroprevalensi dan deteksi antigen virus ND pada ayam buras di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat. Sebanyak 6 (enam) Desa, dijadikan sebagai lokasi penelitian yakni, Desa Labuan Tereng, Desa Lembar Selatan, Desa Lembar, Desa Jembatan Kembar, Desa Jembatan Kembar Timur, dan Desa Nyiur Lembang. Sampel penelitian berupa serum, swab kloakadan swab trakea yang diambil dengan cara *simple random sampling*. Sebanyak 150 ekor ayam buras masing-masing diambil serum, swab kloaka, dan swab trakea sehingga jumlah sampel menjadi 150 sampel serum, 150 sampel swab kloaka, dan 150 sampel trakea. Serum diperiksa dengan uji serologi Hambatan Hemaglutinasi (HI) sedangkan deteksi antigen dilakukan dengan uji hemaglutinasi (HA) yang dilanjutkan dengan uji *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). Hasil uji serologi dari 150 sampel serum menunjukkan sebanyak 50 sampel serum (33%) positif ND dengan titer $2^2 - 2^9$ HI unit. Hasil uji antigen dari 15 sampel *pooled* menunjukkan sebanyak empat sampel positif uji HA dan hasil uji RT-PCR menunjukkan ada empat sampel yang positif dengan panjang basa 380bp. Disimpulkan bahwa infeksi virus ND pernah terjadi di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat yang sebelumnya belum dilaporkan secara resmi.

Kata Kunci: Seroprevalensi, Deteksi Antigen, Newcastle Disease, Ayam Buras, Lombok Barat

Seroprevalence of Newcastle Disease (ND) Virus and Detection of Antigen on Domestic Chicken in District Lembar, West Lombok

ABSTRACT

This study to determine seroprevalence of newcastle disease (ND) virus and detection of antigen on domestic chicken in district lembar, west lombok regency. A total of 6 (six) villages, serve as research sites namely Labuan Tereng Village, Lembar Selatan Village, Lembar Village, Jembatan Kembar Village, East Jembatan Kembar Village, and Nyiur Lembang Village. The samples were sera cloaca swab and tracheal swab taken by simple random sampling. A total of 150 poultry chickens each were taken sera, cloaca swab, and tracheal swab so that the number of samples to 150 sera samples, 150 samples of cloaca swabs, and 150 tracheal samples. Sera was examined by serological test of haemagglutination inhibition (HI) test while antigen detection

was performed by hemagglutination (HA) test followed by Reverse Transcriptase Polymrase Chain Reaction (RT-PCR) test. Serology test results from 150 sera samples showed as many as 50 sera samples (33%) positive ND with titer of 22-29 HI units. While the antigen test results from 15 pooled samples showed as many as four positive samples of HA test and RT-PCR test showed a positive four samples with 380bp base length. It is concluded that ND virus infections have occurred in dstrict Lembar, West Lombok regency which hasbeen officially not yet reported.

Keywords: Seroprevalence, antigen detection, Newcastle Disease, domestic chicken, West Lombok.

PENDAHULUAN

Penyakit *Newcastle Disease* (ND), termasuk dalam kategori penyakit hewan menular strategis (PHMS), berdampak besar bagi kerugian ekonomi. Angka kematian yang ditimbulkan penyakit ND tinggi (mencapai 100%) dan waktu penyebaran penyakit yang sangat cepat (Ditjennakkeswan, 2015).

Ayam sebagai salah satu hospes dari penyakit ND. Gejala klinis pada ayam yang teramati keluar leleran dari hidung, suara ngorok, kaki terseret sampai kepala terpeluntir atau yang disebut dengan tortikolis. Pada anak ayam, gejala klinis seperti ini dapat segera berakhir dengan kematian, sedangkan pada unggas dewasa, kematian biasanya terjadi dua sampai tiga hari setelah gejala pertama kali terlihat (Kencana, 2012).

Penyakit ND disebabkan oleh Avian Paramyxovirus type-1 (APMV-1), genus Avulavirus, familia Paramyxoviridae. Avian *Paramyxovirus* terdiri dari sembilan serotype yakni APMV-1 sampai APMV-9 (OIE, 2012). Virus ND termasuk kelompok virus RNA dengan genom berserat tunggal (single stranded/ss) dan berpolaritas negatif, berbentuk bulat dengan diameter 100-500 nm, beberapa diantaranya berbentuk filament dan beramplop (Kencana, 2012).

Di Indonesia penyakit ND masih endemis di beberapa daerah seperti Provinsi Sumbar, Provinsi Riau, Provinsi Jambi dan Provinsi Kepulauan Riau. Dimana pada Tahun 2013, seroprevalensi ND di Provinsi Riau sebesar 30%, seroprevalensi ND di Provinsi Sumatera Barat 33 %, Provinsi Jambi dengan seroprevalensi 49 % dan Provinsi Kepulauan Riau dengan seroprevalensi 59% (Ditjennakkeswan, 2015).

Di Lombok Barat, salah satu sumber protein hewani yang banyak di kembangkan oleh masyarakat setempat adalah ternak ayam buras, begitu pula di Kecamatan Lembar dan di 6 (enam) desa didalamnya, yakni Desa Lembar Selatan, Utara, Kembar, Kembar Timur, Jembatan

Gantung dan Desa Tereng. Dimana dengan perkiraan populasi peternakan ayam buras pada 6 (enam) Desa ini adalah sebanyak 3600 ekor. Dengan jumlah populasi diperkirakan setiap desa adalah sebanyak 600 ekor, dimana setiap dusun rata-rata terdiri dari 120 KK. Dari 120 jumlah KK per dusun yang memelihara ayam buras sekitar 50%. Dengan kepemilikan ayam buras per KK 2 – 4 ekor (rata-rata 2 ekor). Masyarakat lebih memilih untuk memelihara ayam buras, karena cara pemeliharaannya yang relatif mudah dibandingkan ternak yang lain dan tidak memerlukan biaya yang banyak dalam pemeliharaannya. Di samping itu hasilnya dapat diperoleh dalam kurun waktu yang relatif singkat, baik berupa telur maupun daging. Beternak ayam buras juga dapat membantu masyarakat dalam memenuhi kebutuhan protein dan menambah penghasilan keluarga (Darmono, 2001).

Sistem peternakan ayam buras di Keamatan Lembar, masih tradisional yakni dengan memanfaatkan sisa-sisa makanan sebagai pakan dan dengan cara diumbar untuk mencari makanan sendiri dan tanpa dibuatkan kandang permanen, dengan memanfaatkan pepohonan untuk ternak ayam tidur pada malam hari, dan tidak dilakukan vaksinasi.

Mengingat cara pemeliharaan ayam buras yang tradisional dan belum adanya data yang memadai tentang Seroprevalensi dan Deteksi antigen virus *Newcastle Disease* pada ayam buras di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat sehingga perlu dilakukan penelitian. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seroprevalensi dan deteksi antigen virus *Newcastle Disease* (ND) pada ayam buras di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat.

MATERI DAN METODE

Lokasi Sampling

Penelitian ini dilakukan secara survei dengan pengambilan sampel secara *simple random sampling*. Sebanyak 150 ayam buras, sampel yang diambil berupa 150 serum, 150 swab kloaka, dan 150 swab trakea di 6 (enam) Desa di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat yakni, Desa Labuan Tereng, Lembar Selatan, Lembar, Jembatan Kembar, Jembatan Kembar Timur, dan Desa Nyiur Lembang. Sampel diuji di Laboratorium Virologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Pengambilan sampel telah dilakukan pada bulan September sampai dengan bulan Desember 2017.

Pengambilan Sampel Serum, Swab Kloaka dan Trakea

Sebanyak 1 – 1,5 ml darah ayam burasdiambil melalui vena brachialis menggunakan spuit 3 ml. Spuit yang telah berisi darah unggas diletakkan dalam posisi horizontal, agar serum dapat terpisah dari plasma dengan sempurna. Serum yang telah terpisah kemudian ditempatkan pada tabung mikro 1,5 ml, kemudian disimpan dalam suhu 2 – 8 °C sampai dipergunakan. Swab kloaka dan trakea diambil dari ayam burasdengan menggunakan *cotton bud*, kemudian dimasukkan kedalam tabung mikro yang telah berisi transport medium. Tabung kemudian diletakkan didalam *cool box* untuk dibawa ke Laboratorium Virologi Universitas Udayana, Denpasar Bali.

Variabel Penelitian

Variabel Bebas

Dalam penelitian ini yang digunakan sebagai variabel bebas adalah periode pengambilan sampel dan lokasi pengambilan sampel.

Variabel Tergantung

Seroprevalensi dan deteksi antigen virus *Newcastle Disease* pada ayam buras.

Definisi Operasional Variabel

Seroprevalensi adalah jumlah unggas yang mengandung antibodi positif terhadap penyakit ND dibandingkan dengan jumlah unggas yang diperiksa. Periode pengambilan sampel adalah bulan pengambilan sampel dari bulan Oktober sampai Desember 2017.

Propagasi Virus ND

Masing-masing sampel swab kloaka dan trakea disentrifuse selama 5 menit dengan kecepatan 5000 rcf, kemudian dilakukan penggabungan sampel (*pooling*) yang disesuaikan dengan asal unggas. Sampel yang telah di-*pooling* selanjutnya ditambahkan antibiotik (penicilin dan streptomisin) sebanyak 150 µl dengan konsentrasi akhir 2500 µl. Dengan menggunakan spuit 1 ml, sebanyak 0,2 ml sampel disuntikkan ke dalam ruang alantois telur ayam bertunas (TAB) kemudian dicandling setiap hari, jika ada TAB yang mati dilakukan pemanenan cairan alantois. Namun jika embrio masih hidup, maka telur dipanen 3 hari pasca inokulasi.

Uji Hemaglutinasi Cepat

Sebanyak 25 µl NaCl 0,9% dimasukkan ke dalam sumuran plate berbentuk U, kemudian ditambahkan antigen NDV yang berasal dari cairan alantois. Suspensi eritrosit konsentrasi 0,5% ditambahkan ke dalam lubang sebanyak 50 µl. Mikroplate diayak selama 30 detik lalu diinkubasikan selama 30 menit pada suhu kamar. Pembacaan dilakukan setelah sel darah merah kontrol mengendap.

Uji Hambatan Hemaglutinasi

Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI) dilakukan dengan cara mengisi 0,025 ml NaCl 0,9% ke dalam sumuran plate mikro dengan bentuk U mulai dari sumuran pertama sampai sumuran ke-12. Sumuran pertama kemudian ditambahkan serum unggas yang telah diencerkan 10 kali sebanyak 0,025 µl, lalu dilakukan pengenceran bertingkat dengan mengambil 0,025 cairan pada sumuran pertama dan ditambahkan pada sumuran ke-2 demikian seterusnya sampai sumuran ke-11. Sebanyak 25 µl Antigen ND 4 HA ditambahkan dari sumuran pertama sampai sumuran ke-11. Mikroplate kemudian diayak selama 30 detik lalu diinkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit. Suspensi eritrosit konsentrasi 0,5% ditambahkan ke semua sumuran sebanyak 50 µl. Mikroplate kembali diayak dan diinkubasikan selama 30 menit. Pembacaan dilakukan setelah sel darah merah kontrol mengendap. Kriteria hasil pemeriksaan yang digunakan yakni serum yang diperiksa positif bila hasil uji HI menunjukkan titer antibodi $\geq 2^2$ (Kencana, 2012).

Isolasi RNA Virus

Sebanyak 250 µl campuran cairan swab kloaka dan trakea ditambahkan dengan 750 µl *Trizol LS Reagen* (Invitrogen). Campuran divortek selama 1 menit kemudian diinkubasikan dalam suhu kamar selama 5 menit, kemudian ditambahkan dengan 200 µl kloroform, lalu divortek selama 15 detik. Setelah itu campuran disentrifuse dengan kecepatan 12000 rcf selama 15 menit sampai terbentuk bagian aquaeus. Bagian bawah aquaeus dipindahkan ke tabung mikro 1,5 ml yang steril dan ditambahkan dengan 500 µl isopropil alkohol. Larutan diinkubasi dalam suhu kamar selama 10 menit, kemudian disentrifuse dengan kecepatan 12000 rcf selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dibuang kemudian ditambahkan 1000 µl alkohol 70%. Suspensi kemudian disentrifuse dengan kecepatan 7500 rcf selama 5 menit. Supernatan kemudian dibuang dan dilakukan *air dry*. Setelah cairan dalam tabung agak mengering kemudian ditambahkan 20 µl aquabidest steril, kemudian disimpan dalam freezer sampai digunakan.

Uji Reverse Transkriptase-Polymerase Chain Reaction

Uji *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dilakukan dengan mencampurkan 5 µl Rmix (Invitrogen) (mengandung 0,2 mM dNTP, 1,6 mM MgSO₄, dan buffer), Primer yang digunakan sepasang yaitu oligonukleotida yang mempunyai sekuen yang identik dengan salah satu rantai DNA cetakan pada ujung 5'-fosfat dan oligonukleotida yang kedua identik dengan sekuen pada ujung 3'-OH rantai DNA cetakan dengan volume masing-masing primer 0,6 µl (10mM), 0,25 µl enzim Super Script™ III One-Step RT-PCR System with Platinum® Taq DNA Polymerase (Invitrogen), 1 µl RNA cetakan, dan aquabidest sampai volume menjadi 10 µl, ke dalam tabung PCR. Campuran tadi kemudian dimasukkan ke dalam mesin *Termocycler* yang telah diprogram dengan kondisi 1) 50°C selama 1 jam, 2) 95°C selama 7 menit, 3) 94°C selama 45 detik, 4) 55°C selama 45 detik, 5) 72°C selama 1 menit, siklus kemudian diulang dari tahapan ke-3 sampai tahapan ke-5 sebanyak 39 kali, 6) 72°C selama 5 menit, dan 7) 22°C selama-lamanya.

Untuk mengetahui hasil uji RT-PCR maka dilakukan elektroforesis. Sebelum dilakukan elektroforesis maka terlebih dahulu dibuat media elektroforesis berupa gel agarose 1% (caranya dengan melarutkan 1 gram agarose dengan 100 ml 1 kali Tris Acid Edta (TAE)). Larutan kemudian dipanaskan sampai mendidih dan berwarna bening. 3 µl *ethidium bromide* ditambahkan ke dalam larutan. Larutan kemudian dicetak pada cetakan agar. Setelah mengeras gel agarose diletakkan ke dalam mesin elektroforesis yang telah mengandung 1 kali TAE. Produk hasil RT-PCR sebanyak 4 µl, ditambahkan dengan 1 µl 10 kali *Bluejuice™ Gel Loading Buffer*(Invitrogen) (mengandung *Bromphenol-blue* dan *Cyline Cyanol*). Lubang pertama pada gel agarose dimasukan 100 bp DNA ladder (Invitrogen) yang berfungsi sebagai marker untuk menentukan panjang basa, lubang selanjutnya dimasukan DNA produk RT-PCR. Mesin elektroforesis kemudian diberi tegangan 100 Volt selama 30 menit. Visualisasi DNA dilakukan dengan meletakkan gel agarose diatas *Ultra Violet Transluminator*, kemudian didokumentasikan menggunakan kamera digital.

Analisis Data

Seroprevalensi dan deteksi Antigen virus *Newcastle Disease* pada ayam buras di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat ditabulasikan dan selanjutnya dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Hasil Pemeriksaan Serum

Hasil pemeriksaan 150 sampel serum darah ayam buras yang diuji HI menunjukkan bahwa 50 sampel serum memiliki titer antibodi dengan kisaran $2^3 - 2^9$ HI unit dan dinyatakan seropositif, sebanyak 100 sampel memiliki titer antibodi $2^0 - 2^2$ HI unit dan dinyatakan seronegatif (OIE, 2012). Hasil tersebut dimuat pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil pemeriksaan titer antibodi ND dengan uji HI terhadap sampel serum ayam buras di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat.

LS	KS	Titer		KS	Titer		KS	Titer		KS	Titer		KS	Titer	
		+	-		+	-		+	-		+	-		+	-
D L T	1	2^8		6	2^9		11	2^5		16	2^0		21		2^0
	2	2^4		7	2^9		12	2^6		17	2^0		22	2^8	
	3	2^5		8		2^0	13	2^9		18	2^5		23		2^0
	4	2^5		9		2^0	14		2^0	19		2^0	24		2^0
	5		2^0	10	2^4		15	2^5		20		2^0	25		2^0
D L S	26	2^6		31		2^0	36		2^0	41	2^6		46	2^5	
	27	2^8		32		2^0	37	2^7		42	2^4		47	2^4	
	28		2^2	33		2^0	38		2^0	43	2^5		48		2^0
	29	2^7		34		2^0	39		2^0	44	2^4		49		2^0
	30		2^0	35		2^0	40		2^0	45	2^5		50		2^1
D L	51		2^2	56		2^0	61		2^0	66		2^0	71		2^1
	52		2^2	57		2^1	62	2^5		67		2^0	72	2^9	
	53		2^0	58	2^5		63	2^5		68		2^0	73		2^0
	54		2^0	59		2^0	64		2^0	69		2^0	74		2^0
	55		2^0	60		2^0	65		2^0	70		2^0	75		2^0
D J K	76		2^0	81	2^3		86	2^5		91		2^0	96		2^0
	77		2^0	82	2^4		87		2^0	92		2^0	97		2^1
	78		2^0	83		2^0	88		2^0	93		2^0	98	2^6	
	79		2^0	84	2^4		89		2^0	94		2^0	99	2^7	
	80		2^0	85	2^3		90		2^0	95		2^0	100		2^0
D J K T	101		2^0	106		2^0	111	2^4		116	2^5		121		2^0
	102		2^0	107		2^0	112	2^7		117	2^6		122		2^0
	103		2^0	108		2^0	113	2^5		118		2^0	123		2^0
	104		2^0	109		2^0	114		2^0	119	2^5		124		2^0
	105	2^5		110		2^0	115	2^5		120	2^9		125		2^0
D N L	126		2^0	131		2^0	136		2^0	141		2^0	146	2^7	
	127	2^5		132	2^6		137		2^0	142		2^0	147	2^6	
	128		2^0	133		2^0	138		2^0	143		2^0	148		2^0
	129		2^0	134		2^0	139		2^0	144		2^0	149	2^5	
	130		2^0	135		2^0	140	2^5	2^0	145		2^0	150		2^0

Keterangan; LS = lokasi sampel, DLT = Desa Labuan Tereng, DLS = Desa Lembar Selatan, DL = Desa Lembar, DJK = Desa Jembatan Kembar, DJKT = Desa Jembatan Kembar Timur, DNL = Desa Nyiur Lembang, KS = kode sampel.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 150 sampel yang diambil, 50 sampel dinyatakan positif sedangkan 100 sampel dinyatakan negatif. Titer antibodi ND dari jumlah sampel serum ayam buras yang positif pada uji HI terlihat bervariasi. Serum ayam buras yang positif menunjukkan titer antibodi ND sebesar 2^3 HI unit sebanyak 2 sampel, titer 2^4 HI unit sebanyak 8 sampel, titer 2^5 HI unit sebanyak 20 sampel, titer 2^6 HI unit sebanyak 7 sampel, titer 2^7 HI unit sebanyak 5 sampel, titer 2^8 HI unit sebanyak 3 sampel dan titer 2^9 HI unit sebanyak 5 sampel (Tabel 1). Variasi ini dipengaruhi oleh beberapa kondisi seperti kesehatan ayam, jumlah virus yang menginfeksi dan perbedaan waktu infeksi (Purnamawati dan Sudarnika, 2008). Adanya titer antibodi NDsebar 2^9 HI unit kemungkinan karena ayam buras tersebut terinfeksi oleh virus ND dan kemudian sembuh kembali. Pembentukan antibodi dan mulai tampak dalam serum memerlukan waktu 6 – 10 hari dan akan mencapai puncaknya pada 3 – 4 minggu, sedangkan antibodi mengalami penurunan setelah kira-kira 3 – 4 bulan dan sudah tidak terdeteksi setelah 8 – 12 bulan (Amanu dan Rohi, 2005).

Titer antibodi ayam buras di Kecamatan Lembar, dari 2^0 – 2^9 HI unit. Hal ini membuktikan bahwa ayam ayam buras di Kecamatan Lembar, Lombok Barat pernah terpapar virus ND secara alami karena informasi dari peternak ayam buras peliharaannya tidak divaksinasi. Adanya antibodi terhadap virus ND pada ayam yang tidak divaksinasi menunjukkan bahwa ayam tersebut pernah terinfeksi virus ND. (Wambura,2010) menyatakan bahwa adanya infeksi virus ND pada berbagai burung liar dengan mengukur titer antibodi, hasilnya adalah titer antibodi HI terhadap virus ND terdeteksi pada 10 sampai 75% sampel yang diperiksa. Sedangkan menurut (Darminto *et al.*, 1993), unggas yang terinfeksi virus ND pada taraf sub-klinis namun tidak memperlihatkan gejala sakit yang mungkin karena memiliki titer antibodi sehingga unggas tersebut dapat bertindak sebagai *carrier* virus tersebut dan dikhawatirkan dapat menjadi sumber penularan virus ND bagi unggas lain yang masih peka.

Hasil seroprevalensi ND pada ayam buras di 6 (enam) Desa di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat persentase seropositif adalah 33 %, seronegatif 67%. Persentase sampel seropositif terbanyak ditemukan di Desa Labuan Tereng (52%) terendah (16%) di Desa Lembar sedangkan di desa lain dibawah 50% seperti dimuat pada Tabel 2.

Hasil penelitian seroprevalensi ND yang tinggi (Tabel 2) ditemukan di 2 lokasi yakni, di Desa Labuan Tereng sebanyak 13 sampel dan Lembar Selatan sebanyak 11 sampel. Berdasarkan

keterangan dari pemilik ayam buras, sekitar dua bulan yang lalu di lokasi tersebut di Desa Labuan Tereng, terjadi kasus kematian ayam buras secara mendadak. Menurut informasi peternak pernah membeli ayam pejantan dari pasar unggas yang kemudian dikawinkan dengan ayam miliknya, diantara ayam ayam betina yang dikawinkan dengan pejantan yang dibeli kemudian ada yang sakit sampai terjadi kematian dan ada yang sembuh kembali. Kemungkinan ayam pejantan tersebut telah terinfeksi virus ND yang pada akhirnya juga menginfeksi ayam lainnya. Seperti diketahui penyebaran virus di pasar unggas dapat terjadi melalui perantara manusia (pedagang, pengepul, pembeli) maupun melalui peralatan kandang yang terkontaminasi oleh feses yang terinfeksi virus. Peristiwa tersebut dapat diperparah lagi oleh manajemen yang buruk, baik di pasar, peternakan, maupun kendaraan yang tidak didesinfeksi secara rutin akan dapat meningkatkan kemungkinan virus berkembang dan menyebar (Widyastuti *et al.*,2008).

Tabel 2. Hasil seroprevalensi ND dengan uji HI pada serum ayam buras di 6 (enam) Desa di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat.

Lokasi Sampel	Jumlah Samapel	Hasil Pemeriksaan	
		Seropositif	Seronegatif
Desa Labuan Tereng/DLT	25	13 (52%)	12 (48%)
Desa Lembar Selatan/DLS	25	11 (44%)	14 (56%)
Desa Lembar/DL	25	4 (16%)	21 (84%)
Desa Jembatan Kembar/DJK	25	7 (28%)	28 (72%)
Desa Jembatan Kembar Timur/DJKT	25	9 (36%)	16 (64%)
Desa Nyiur Lembang/DNL	25	6 (24%)	19 (76%)
Total	150	50 (33%)	100 (67%)

Terdeteksinya antibodi terhadap virus ND pada ayam buras di Kecamatan Lembar, menunjukkan telah terjadi infeksi secara alami. Hal tersebut didukung karena dari ayam buras yang dipakai sampel belum pernah divaksinasi. Pemeliharaan ayam buras secara tradisional, kontak secara langsung diantara ayam yang terinfeksi dan sehat, berpeluang dalam penyebaran virus. Pencegahan terhadap penyakit ND dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya dengan melakukan monitoring oleh Dinas Pertanian Kabupaten Lombok Barat secara rutin agar cepat dapat diketahui apabila terjadi infeksi penyakit ND. Selain itu, tindakan biosekuriti juga penting dilakukan dalam upaya pencegahan terhadap penyakit (Lima *et al.*, 2004). Jika tindakan

pencegahan ini dilaksanakan secara baik dan benar, maka penularan dan penyebaran penyakit ND menurun (OIE, 2009).

Hasil seroprevalensi ND yang rendah didapatkan di Desa Lembar menunjukkan nilai seronegatif 84% dari total 25 ekor sampel yang diperiksa. Kemungkinan ini terjadi karena beberapa faktor diantaranya, informasi dari peternak di lokasi tersebut jarang terjadi wabah penyakit. Faktor yang lainnya, ayam buras yang dipelihara kebanyakan secara semiintensif sehingga serangan terhadap penyakit bisa diminimalisir. Ini menunjukkan bahwa didalam tubuh ayam tersebut tidak ditemukan adanya antibodi terhadap virus ND, kemungkinan juga karena ayam belum pernah terinfeksi virus ND (Andrewes, 2011).

Adapun ditemukannya titer antibodi ND yang tinggi pada ayam buras sampai titer 2^9 HI unit di beberapa Desa di Kecamatan Lembar, kemungkinan ini terjadi karena di daerah tersebut memang sudah endemik penyakit ND, kemudian ayam yang sudah terinfeksi ada yang mati dan ada pula yang masih bisa bertahan hidup atau sembuh kembali, sehingga memiliki antibodi alami dalam tubuhnya karena terpapar oleh virus lapang. Adanya titer antibodi pada ayam buras di 6 (enam) Desa di Kecamatan Lembar secara alamiah didapat dari lingkungan karena di sepanjang tahun kasus ND selalu ada meski tidak ada laporan resmi dari petugas atau instansi yang terkait. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Tizard, 1988) bahwa adanya antibodi dalam serum menunjukkan bahwa virus mungkin masih ada dalam tubuh sehingga keberadaan antibodi berfungsi untuk melawan infeksi atau kemungkinan juga virus sudah tidak ada lagi dalam tubuh karena sudah tereliminasi oleh antibodi.

Berdasarkan kenyataan di lapangan, terbentuknya titer antibodi pada ayam buras di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat terjadi secara alami, ternak yang terpapar virus ND dapat membangkitkan respon pertahanan tubuh ayam. Hasil titer antibodi ND tidak seragam dan belum tentu protektif karena antibodi yang terbentuk bukan dari vaksinasi. Ketidakteragaman yang rendah ini kemungkinan karena tidak adanya vaksinasi pada ternak, kondisi individu ternak yang berbeda-beda, dan kondisi lingkungan pemeliharaan ternak ayam yang ada pada masing-masing Desa. Hal ini sesuai dengan pendapat (White dan Fenner, 2006) bahwa keseragaman hasil titer antibodi berkaitan erat dengan respon pembentukan antibodi pada tiap individu ternak. Respon dalam membentuk antibodi sifatnya individual dan dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti kondisi kesehatan hewan secara umum, genetik, umur, asupan nutrisi dari pakan, stres, kondisi lingkungan dan cara pemeliharaan.

b. Hasil Deteksi Antigen ND

Hasil uji antigen ND empat sampel positif HA yaitu, dua di Desa Labuan Tereng dan dua di Desa Lembar Selatan dengan titer antigen $2^2 - 2^3$ seperti yang dimuat pada Tabel 3.

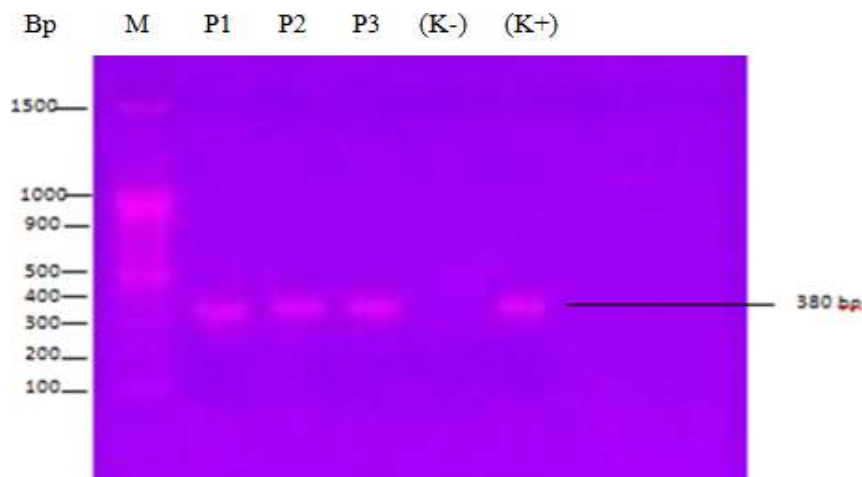
Tabel 3. Hasil uji Hemaglutinasi deteksi antigen ND dari sampel swab kloaka dan swab trakea pada ayam buras di 6 (enam) Desa di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat.

Lokasi	Jumlah		Positif (+)	Negatif (-)	Kode <i>Pooled</i>	Titer antigen
	Sampel	<i>Pooled</i>				
Desa Labuan Tereng	25	P1,2,3	2	1=P2	P1 (c,d) P3 (b,c)	$2^2, 2^3$
Desa Lembar Selatan	25	P4,5,6	2	1=P6	P4 (b,c) P5 (a,d)	$2^2, 2^3$
Desa Lembar	25	P7,8,9		3	P7,8,9	-
Desa Jembatan Kembar	25	P10,11,12		3	P10,11,12	-
Desa Jembatan Kembar Timur	25	P,13,14,15		3	P13,14,15	-
Desa Nyiur Lembang	25	P,16,17,18		3	P16,17,18	-
Total	150	18 (75 TAB)	4	14	75 TAB	4

Keterangan; Satu sampel pooled berisi 8 sampel dan diinokulasikan pada empat butir TAB (a, b, c, dan d).

Hasil uji RT-PCR

Untuk deteksi lebih lanjut dilakukan uji RT-PCR. Hasil uji RT-PCR menunjukkan sampel P1, P2, dan P3 positif. Pita terlihat sejajar dengan kontrol positif dengan panjang pita produk PCR 380 bp, seperti dimuat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Uji RT-PCR ND pada gel agarose 1% sampel swab kloaka dan trakea ayam buras di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat dengan panjang pita produk PCR 380 bp.

Keterangan : M (Marker); P1 (sampel pooled nomor 1 dan 3); P2 (sampel pooled nomor 4); P3 (sampel pooled nomor 5); (K-) (Kontrol Negatif); (K+) (Kontrol Positif).

Antigen ND dapat dideteksi dengan HA/HI dan secara molekuler dengan RT-PCR. Uji HA/HI digunakan karena virus paramyxovirus (ND) dapat mengaglutinasi sel darah merah unggas. Proses hemaglutinasi terjadi akibat aktivitas hemaglutinin yang terdapat pada amplop virus tersebut. Aktivitas hemaglutinasi berlangsung maksimal selama satu jam karena dipengaruhi oleh kerja enzim *neuraminidase* yang merusak ikatan pada reseptor eritrosit dengan hemaglutinin dari virus familia Paramyxoviridae (Kencana, 2012). Sedangkan keunggulan menggunakan uji RT-PCR dibandingkan dengan HA/HI adalah karena hasil uji lebih cepat dan lebih sensitif. Uji RT-PCR dikatakan lebih sensitif oleh karena hanya memerlukan volume sampel antigen yang lebih sedikit dibandingkan dengan uji HA/HI. Keunggulan yang lain adalah bahwa uji RT-PCR juga dapat dipakai untuk menentukan subtipe N1 pada virus AI sedangkan H5 bisa ditentukan baik dengan uji HA/HI maupun dengan RT-PCR (OIE, 2009).

Hasil deteksi antigen ND dengan uji Hemaglutinasi (HA) maupun uji RT-PCR (Tabel 3), empat sampel *pooled* positif yakni, dua di Desa Labuan Tereng dan dua di Desa Lembar Selatan, kemungkinan ini disebabkan lokasi kedua Desa tersebut bersebelahan sehingga penyebaran virus mudah terjadi dan dapat terdeteksi antigen ND. Mengingat jarak kedua desa yang sangat berdekatan. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Carlender, 2002) bahwa virus dapat ditransmisikan secara langsung melalui inhalasi aerosol atau debu yang terkontaminasi, secara tidak langsung melalui air minum dan makanan yang terkontaminasi atau karkas yang terinfeksi. Menurut (Darminto *et al.*, 1993) mengemukakan bahwa pembuatan pagar sebagai pembatas disekeliling peternakan merupakan salah satu langkah tepat untuk menghindari unggas lain sebagai sumber penyebaran penyakit masuk ke daerah peternakan lain.

Transmisi virus dari suatu tempat ke daerah lainnya terutama disebabkan oleh perpindahan unggas terinfeksi, makanan, peralatan dan kendaraan dapat mempermudah penyebaran virus ke area yang lebih luas. Ditambahkan oleh (Halvorson, 2002) bahwa secara alami, keterpaparan virus ND dapat membangkitkan respon pertahanan tubuh yaitu pertahanan seluler dan pertahanan humoral. Pertahanan seluler diperankan oleh sel pertahanan inang yang ditujukan untuk membunuh virus yang berada di dalam sel inang. Pertahanan humoral diperankan oleh antibodi untuk menangkap virus yang terlarut di dalam cairan seperti di dalam darah, antibodi dapat mengenal antigen yang merangsang pembentukannya.

Kondisi lapangan sangat dipengaruhi oleh sistem biosekuriti yang diterapkan di lokasi peternakan. Menurut (Tabbu, 2000) yang mengatakan bahwa faktor yang berpengaruh memberikan sumbangan terhadap sistem kekebalan unggas ialah lingkungan sebesar 70% sedangkan 30% yang lainnya adalah genetik.

Sebagian besar peternakan ayam buras di Kecamatan Lembar tidak menerapkan biosekuriti. Kenyataan di lapangan ini tidak sesuai dengan pernyataan (Payne dan Venugopal, 2000) bahwa biosekuriti adalah suatu konsep yang merupakan bagian integral dari suksesnya sistem manajemen produksi suatu peternakan unggas.

Monitoring keberadaan virus ND di lapangan dapat dilakukan dengan deteksi antibodi pada serum (seroprevalensi) dan deteksi antigen (seroantigenik) (Surtha *et al.*, 2010). Monitoring seroprevalensi dan seroantigenik virus ND di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat belum pernah dilakukan di daerah tersebut.

Pemantauan terhadap penyakit ND hendaknya dilakukan secara berkesinambungan disertai dengan penyuluhan yang berulang-ulang untuk meningkatkan pemahaman masyarakat akan kerugian ekonomi yang ditimbulkan. Langkah-langkah antisipasi terhadap penyakit ND perlu dilakukan untuk mencegah dampak buruk yang tidak diinginkan, berupa kematian ternak yang berdampak pada kerugian ekonomi. Pemahaman masyarakat akan penyakit ND sangat diperlukan dalam upaya mengatasi ancaman penyakit. Perlu diwaspadai pula bahwa proses penularan virus ND secara cepat banyak terjadi di pasar unggas akibat adanya kontak langsung antar unggas sakit dengan unggas yang sehat (Suartha *et al.*, 2010).

Cara pemeliharaan unggas terutama pada peternakan rakyat yang masih tradisional berpeluang besar tertular penyakit ND. Sistem pemeliharaan ternak yang berbaur dalam satu lokasi juga dapat mempercepat proses penyebaran virus ND (Kencana *et al.*, 2012). Kemungkinan titer antibodi maupun antigen ND yang ditemukan pada penelitian ini didapatkan akibat infeksi alami.

SIMPULAN

Hasil penelitian terhadap 150 sampel ayam buras yang diambil di 6 (enam) desa di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat, ditemukan sebanyak 50 sampel positif (seroprevalensi 33%). Hasil deteksi antigen ND ditemukan di Desa Labuan Tereng dan Desa

Lembar Selatan. Disimpulkan bahwa ayam buras di Kecamatan Lembar, Kabupaten Lombok Barat pernah terinfeksi ND.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak yang telah membantu dari proses pengambilan sampel sampai proses penelitian di Laboratorium Virologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.

DAFTAR PUSTAKA

- Amanu, S. dan O. K. Rohi 2005. Studi serologi dengan uji hambatan hemaglutinasi terhadap angsa yang dapat bertindak sebagai pembawa ND di D.I. Yogyakarta. *J. Sain Vet.* 1:8-12.
- Andrewes, S.C. and Preira H. G., 2011. *Viruses of Viruses of Vertebrates*. 3rd ed. Published in the United States of America by the Williams and Wilkins Compaay, Baltimore. Pp. 234-236.
- Carlender, 2002. Detection and Diffrentiation of Pathogenicity of Avian Paramyxoviruses Serotype 1 From Field Cases Using One Step Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction. *Avian Pathol.* Oct, 13(5):493-9.
- Darmono. 2001. Prospek Pengembangan Agribisnis Perunggasan Berbasis Sumber Daya Lokal. Seminar Nasional Pengembangan Agribisnis Peternakan. Fakultas Peternakan Universitas Jendral Soedirman, Purwokerto.
- Darminto, P., W. Daniel and P. Ronohardjo. 1993. Studies on the epidemiology of newcastle disease in eastern Indonesia by serology and viral characterization using panels of monoclonal antibodies. *Penyakit Hewan* 46: 67—75.
- Ditjennakkeswan, 2015. Buletin informasi Kesehatan Hewan. BEVET Bukit Tinggi. Vol.17.No.9.
- Kencana GAY, 2012. Buku penyakit virus unggas. Udayana University Press. ISBN 978-602-7776-01-2
- Kencana GAY, Kardena IM, dan Mahardika I G. N. K. 2012. Peneguhan diagnosis penyakit *Newcastle Disease* lapang pada ayam buras di bali menggunakan teknik RT-PCR. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 6 (1) : 23-32.
- Lima, F.S., E. Santin, A.C. Paulillo, L.D. Junior, V.M.B. de Moraes, N.M.Q. Gama, and R.P.S. Iturino. 2004. Evaluation of different programs of Newcastle disease vaccination in japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *International J. Poultry Science* 3(5):354-356.
- OIE. 2009. Office International des Epizooties (OIE). Terrestrial Manual: Chapter 2.3.4. Avian Influenza. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Helth_standars/tahm/2.03.04_AI.pdf.

- Payne, L.N. and K. Venugopal. 2000. Neoplastic disease: Marek's Disease, Avian Leucosis and Reticuloendotheliosis 2: 544-554.
- Suartha I N, Antara I M D, Wiryana I KS, Sukada I M, Wirata I W, Dewi N M R K, Mahardika IG N K. 2010. Peranan Pedagang Unggas dalam Penyebaran Virus ND/AI. *Jurnal Veteriner* Vol.11 (4): 220-225.
- Tabbu, 2000. *Penyakit Ayam dan Penanggulangannya 1, Penyakit Bakterial, Mikal dan Viral*. 232-244. Kanisius Yogyakarta.
- Tizard, IR. 1988. *Pengantar Immunologi Veteriner*. Soehardjo H dm Masduki P, Penerjemah. Surabaya. Airlangga Press. Terjemahan dari: *Veterinary Immunology*.
- Wambura PN, 2010. Detection of antibody to Newcastle Disease virus in semidomesticated.
- White, D.O. and F.J. Fenner. 2006. *Medical Virology*. Academic Press. USA.
- Widyastuti N D W, Basri C, Naipospos T S P, Bleich E G. 2008. Tinjauan sistem beternak ayam danitik secara lepas di Indonesia dan penilaian implikasinya terhadap penyebaran virus ND maupun AI. *KIVNAS* 19th – 22th.