

# Buletin VETERINER FARMA



PUSAT VETERINER FARMA

1. Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Titer Antigen Newcastle Disease (ND)  
Penulis : Rinasti Rida Pangesti, Petri Nandatina Saputri, Evy Indah Setyorinie, Abd Manaf
2. Pengujian Masa Kadaluarsa Antigen Mycoplasma  
Penulis : Nur Sjolichah, Febri Hartanti, Yudi Winarko
3. Respon Imun terhadap Antigen AI H<sub>5</sub>N<sub>2</sub> Isolat Sidrap dan Isolat *South Sulawesi* pada Ayam yang Divaksinasi ND-AI H<sub>5</sub>N<sub>2</sub> Isolat Sidrap  
Penulis: Jossie Intan Cahyani dan Petri Nandatina Saputri
4. Surveilans PMK Berbasis Resiko Sebagai Upaya Pembuktian Ketidakberadaan Penyakit Mulut dan Kuku di Indonesia Tahun 2020.  
Penulis : Faizal Zakariya, Sapto Rini Budi Prasetyowati, Dwi Kurnia Lestari,

ISSN 1410-6280  
VOLUME : XVI NOMOR 1

2021

**BULETIN VETERINER FARMA**  
**Media Informasi Kegiatan**  
**Pusat Veteriner Farma**

**Pelindung :**

drh. Agung Suganda, M.Si.  
KEPALA PUSAT VETERINER FARMA

**Pemimpin Redaksi Penganggungjawab**

drh. Sapto Rini Budi Prasetyowati, M.Imun.

**Dewan Redaksi & Pelaksana**

drh. Wringati, M.Kes.  
drh. Ida Arlita Wulandari, M.Biotech.  
Dr.drh. Dewi Noor H, M.Kes.  
drh. Evy Indah Setyorinie, M.Sc.  
drh. Faizal Zakariya, M.Sc.  
drh. Dina Ristiana, M.Sc.  
drh. Febri Hartanti, M.Sc.  
drh. Dwi Kurnia Lestari, M.Si.

**Sekretariat**

Haris Firmansyah, S.Farm., Apt.  
Ari Wijayanto, S.Pd.

**Diterbitkan oleh**

Pusat Veteriner Farma

Jl. A. Yani 68 - 70 Surabaya 60231

Telp. (031) 8291124 - 25 Fax: (031) 8291183

Telp. Pengaduan : (031) 8291477

E-mail: [pusvetma@pertanian.go.id](mailto:pusvetma@pertanian.go.id), [pusvetma.kementan@yahoo.com](mailto:pusvetma.kementan@yahoo.com)

Website : [pusvetma.ditjennak.pertanian.go.i](http://pusvetma.ditjennak.pertanian.go.i)

## Surat Redaksi

Buletin Veteriner Farma merupakan media informasi kegiatan, kajian dan penelitian pada Pusat Veteriner Farma Surabaya. Pada penerbitan kali ini memuat tentang Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Titer Antigen *Newcastle Disease* (ND), Pengujian Masa Kadaluarsa Antigen Mycoplasma, Respon Imun terhadap Antigen AI H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> Isolat Sidrap dan Isolat *South Sulawesi* pada Ayam yang Divaksinasi ND-AI H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> Isolat Sidrap, Surveilans PMK Berbasis Resiko Sebagai Upaya Pembuktian Ketidakberadaan Penyakit Mulut dan Kuku di Indonesia Tahun 2020.

Semoga artikel-artikel yang dimuat dapat menambah wawasan dan manfaat bagi pembaca. Redaksi mengucapkan terimakasih kepada penulis dan mengundang partisipasi peneliti dan pembaca untuk mengirimkan hasil penelitian dalam bentuk artikel ilmiah serta saran dan kritik membangun untuk menyempurnakan penerbitan buletin selanjutnya.

Salam dari redaksi, Selamat membaca

**BBVF PUSVETMA**

## DAFTAR ISI

Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Titer Antigen <i>Newcastle Disease</i> (ND)....	1
Pengujian Masa Kadaluwarsa Antigen <i>Mycoplasma</i> .....	11
Respon Imun terhadap Antigen AI H9N2 Isolat Sidrap dan Isolat <i>South Sulawesi</i> pada Ayam yang Divaksinasi ND-AI H9N2 Isolat Sidrap .....	21
Surveilans PMK Berbasis Risiko Sebagai Upaya Pembuktian Ketidakberadaan Penyakit Mulut dan Kuku di Indonesia Tahun 2020. ....	33

Redaksi menerima tulisan/makalah dari pembaca, para ilmuwan dalam bidang pengendalian, pencegahan dan pemberantasan penyakit hewan sesuai dengan misi yang diemban Pusat Veteriner Farma Surabaya.

Makalah yang telah ditelaah oleh tim Editor dan telah direvisi oleh penulis segera dikembalikan ke alamat redaksi Buletin Veteriner Farma.

Jl. A. Yani 68 - 70 Surabaya

Telp. : (031) 8291125

Fax. : (031) 8291183

Email : [pusvetma@pertanian.go.id](mailto:pusvetma@pertanian.go.id)

[pusvetma.kementan@yahoo.com](mailto:pusvetma.kementan@yahoo.com)

BBVF PUSVETMA

\*Redaksi tidak bertanggung jawab atas isi naskah/makala

## **PENGARUH SUHU PENYIMPANAN TERHADAP TITER ANTIGEN *Newcastle Disease* (ND)**

Rinasti Rida Pangesti<sup>1</sup>, Petri Nandatina Saputri<sup>1</sup>, Evy Indah Setyorinie<sup>1</sup>, Abd Manaf<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Pusat Veteriner Farma

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan terhadap titer hemaglutinasi antigen *Newcastle Disease* (ND) strain Ishii produksi Pusvetma. Antigen yang digunakan bentuk kering beku yang disimpan pada 3 perlakuan suhu yang berbeda yaitu 37°C, 4°C dan -18°C selama 22 minggu. Hasil penelitian menunjukkan antigen ND stabil pada suhu penyimpanan 4°C, dan -18°C dengan nilai titer hemaglutinasi (HA) tetap sama dari awal penelitian sampai dengan minggu ke-22 penelitian yaitu 2<sup>11</sup> hemaglutinasi unit (HAU). Titer antigen ND pada suhu 37°C mulai terjadi penurunan titer pada minggu ke 6 dan terus turun sampai 2<sup>2</sup> pada akhir penelitian di minggu ke-22. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui masa expirasi antigen ND dan stabilitas penyimpanan pada suhu 4°C dan suhu -18°C.

Kata kunci : *Newcastle disease, uji hemaglutinasi, titer hemaglutinasi.*



**BBVF PUSVETMA**

## PENDAHULUAN

### LATAR BELAKANG

*Newcastle Disease* (ND) adalah penyakit penting dan sangat menular pada ayam di banyak negara. Penyakit ND disebabkan oleh virus ND Paramyxovirus tipe-1 (PMV-1) yang termasuk dalam keluarga *Paramyxoviridae* (Miller et.al., 2010). Virus ND menginfeksi ayam dapat dibagi dalam lima *pathotypes* yaitu 212 *vescerotropic-velogenic*, *neurotropic-velogenic*, *mesogenic*, *lentogenic* dan *asymptomatic*. *Velogenic* dan *mesogenic pathotypes* menyebabkan gejala penyakit pada ayam seperti; diare, gangguan pernafasan, gangguan syaraf dan tingkat kematian tinggi, sedangkan virus *lentogenic* tidak menyebabkan gejala penyakit (Beard and Hanson, 1984).

Pencegahan infeksi virus ND di Indonesia difokuskan pada biosekuriti dan vaksinasi menggunakan vaksin aktif dan inaktif. Vaksin ND digunakan secara luas untuk mengurangi gejala penyakit dari infeksi endemis dengan virulensi rendah, melindungi ayam terhadap penyakit yang tidak virulen (Shunlin et.al., 2010). Kasus ND di Indonesia menjadi endemik pada ayam, pada tahun 2007 di Bali terjadi kasus ND setiap bulan mencapai 1500-8000 ekor ayam (OIE, 2009) dan pada tahun 2009 – 2010 kasus ND juga terjadi pada ayam komersial di Indonesia dan menyebabkan kematian 70 – 80% (Xiao et.al., 2012). Isolat virus ND Indonesia telah banyak diperoleh dari lapang pada dekade 20-35 tahun yang lalu, namun informasi epidemiologi sangat terbatas.

Uji yang sering digunakan untuk mengetahui efektifitas vaksinasi adalah uji hemaglutinasi inhibisi (HI). Uji HI pada serum ayam menggunakan antigen homologus dan heterologus terhadap virus vaksin, dan prosedur mengikuti OIE (OIE, 2012). Kondisi optimum aktivitas HA diperlukan untuk produksi antigen guna keperluan uji hambatan hemaglutinasi. Uji HI akan menggambarkan status kekebalan dari ayam di suatu peternakan atau pengendalian penyakit serta dapat digunakan dalam evaluasi efikasi dari hasil vaksinasi (Lashgari and Newman, 1982)

Antigen ND digunakan sebagai antigen homolog yang akan mengikat antibodi yang dihasilkan oleh tubuh ayam, sehingga diketahui titer antibodi. Titer antibodi inilah yang digunakan sebagai acuan dalam penilaian keberhasilan vaksinasi. Antigen ND dihasilkan dari virus ND lentogenik, virus ini akan mudah mengalami penurunan titer hemaglutinasinya pada beberapa kondisi seperti perubahan suhu pada antigen dan paparan sinar matahari. Antigen ND bentuk beku-kering umumnya lebih stabil, namun pada kondisi yang telah dilarutkan, setelah penyimpanan atau terkena paparan suhu yang berbeda yang umumnya terjadi pada kondisi di lapangan daerah tropis akan mudah mengalami penurunan titer hemaglutinasi (HA). Titer antigen ND diharapkan stabil dan tinggi sehingga nantinya dapat digunakan di lapangan untuk pengujian HI setiap waktu. Kalibrasi antigenisitas antigen virus ND sangat penting dan harus dilakukan untuk dapat memaknai gambaran titer antibodi di dalam serum (Untari *et.al.*, 2002). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan terhadap titer haemaglutinasi antigen ND.

## **LANDASAN TEORI**

Penyakit Newcastle (ND) adalah anggota keluarga Paramyxoviridae dalam genus Avulavirus. Ada sepuluh serotipe dari avian paramyxovirus yang ditunjuk dari APMV-I hingga APMV-10 dan virus ND (NDV) telah ditetapkan sebagai APMV-1. NDV juga telah dikategorikan menjadi lima patotipe berdasarkan tanda klinis pada ayam yang terinfeksi, yaitu : velogenik viscerotropik, velogenik neurotropik, mesogenic, lentogenic, dan tanpa gejala. Virus ND dapat mati pada suhu 56 °C selama 3 jam atau 60 °C selama 30 menit, serta dinonaktifkan oleh pH asam  $\leq 2$ , peka terhadap bahan kimia atau disinfektan dan sensitif terhadap eter, dinonaktifkan oleh formalin, fenolat, dan zat pengoksidasi (misalnya Virkon®); klorheksidin, natrium hipoklorit (6%). Dapat bertahan dalam waktu lama pada suhu kamar, terutama pada feses unggas (Xiao *et.al.*, 2012).

Inang dari virus ND ini adalah banyak spesies burung, baik unggas domestik maupun unggas liar. Ayam sangat rentan terhadap penyakit; kalkun

cenderung tidak menunjukkan gejala yang parah, burung buruan (burung pegas, ayam hutan, burung puyuh dan ayam guinea) dan burung beo (ordo Psittaciformes) memiliki kerentanan yang bervariasi. Burung liar dan unggas air (ordo Anseriformes) mungkin mengandung virus secara subklinis. Manusia bisa terinfeksi; dimanifestasikan oleh kemerahan unilateral atau bilateral, lakrimasi berlebihan, edema pada kelopak mata, konjungtivitis dan perdarahan subkonjungtiva (Alexander, 2000). Penelitian Hewajuli dan Dharmayanti (2011) menunjukkan tingkat keparahan penyakit yang ditimbulkan oleh infeksi virus ND bervariasi, tergantung dari induk semang (jenis unggas) dan strain virus ND. ND sangat patogen terhadap ayam. Sistem kekebalan pada unggas merupakan suatu interaksi yang kompleks antara beberapa tipe sel yang berbeda dan faktor-faktor penting yang mampu meningkatkan efektivitas respon terhadap infeksi patogen. Respon kekebalan seluler dan kekebalan humoral berperan penting dalam melawan infeksi virus ND.

Genom virus ND bersifat *single-stranded* (ss), berpolaritas RNA negatif dengan panjang genom 15,186 nukleotida dan tidak bersegmen. Genom virus ini mempunyai 6 protein utama yang menyusunnya yaitu Nucleocapsid protein (N), Phosphoprotein (P), Matrix protein (M), Fusion protein (F), Hemagglutinin-neuraminidase protein (HN) dan *Large polymerase* protein (L) (Krishnamurthy dan Samal, 1998; De leeuw dan Peeters, 1999). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa protein HN dan F mempunyai kontribusi yang sangat signifikan dalam virulensi dan penyebaran virus ND dalam tubuh induk semang atau inang (Huang *et al.*, 2004).

Uji diagnosis yang paling banyak digunakan adalah uji HA dan HI atau tes penghambatan hemaglutinasi dan hemaglutinasi, prinsip kerja dengan mendeteksi respons antibodi terhadap virus glikoprotein (prediktor perlindungan terhadap penyakit). *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) juga biasa digunakan untuk deteksi virus ND dengan prinsip kerja seluruh virus digunakan sebagai antigen, mendeteksi antibodi terhadap semua protein virus (Beard 1975). Uji diagnosis penyakit ND menunjang keberhasilan program vaksinasi ND pada



ayam, sehingga perlu dihasilkan antigen berkualitas dalam menunjang keberhasilan diagnosa penyakit ND pada unggas.

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada Juli – Desember 2019. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Antigen ND Pusvetma produksi tahun 2019 expirasi tahun 2021, *phosphat buffer saline* (PBS), sel darah merah ayam 1%. Peralatan yang digunakan adalah *microplate*, *Multichannel* 10-100 µl tipe U, *Microplate shaker* dan fintip 10-100 µl.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah uji haemaglutinasi (HA Test) dengan teknik mikro. Dua puluh lima 25 µl NaCl fisiologis steril atau PBS steril pH 7,4 diisi dalam *microwell* (*mikroplate*) lubang pertama sampai 12 menggunakan mikropipet 25 µl. Suspensi virus ND sebanyak 25 µl suspensi virus ND atau antigen ND dan di masukkan kedalam lubang atau sumur pertama. Campurkan suspensi virus dengan PBS pada lubang atau sumur pertama dengan cara menghisap dan meneteskan cairan tersebut menggunakan mikropipet 25 µl, lakukan cara ini paling sedikit lima kali.

Suspensi antigen dan PBS sebanyak 25 µl dipindahkan dari lubang pertama ke lubang kedua dan dilakukan pencampuran seperti prosedur diatas. Selanjutnya 25 µl suspensi antigen dipindahkan ke lubang 3, begitu seterusnya sampai lubang ke 11. Dari lubang ke-11 diambil 25 µl dan dibuang. Pada lubang atau sumur ke-12 sebagai kontrol negatif hanya berisi PBS saja. suspensi sel darah merah 1% sebanyak 25 µl diteteskan ke seluruh lubang. Campuran suspensi antigen dan darah 1% dihomogenkan dengan cara menggoyangkan *microwell* (mikroplat) di *microplate shaker* lalu dinkubasi pada suhu 10°C selama 30 menit, hasil aglutinasi dapat dilihat setelah 30 menit. Nilai titer hemaglutinasi adalah pada titik aglutinasi terakhir.

Uji HA dilakukan pada antigen yang akan diuji, selanjutnya antigen yang tersisa diberi perlakuan dengan disimpan pada suhu penyimpanan yang berbeda yaitu suhu inkubator 37°C, suhu kulkas 4°C dan suhu freezer -18°C. Uji HA diulang setiap minggu, lalu setiap 2 minggu dan setiap 4 minggu sampai minggu ke 22.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Virus Antigen ND produksi Pusvetma yang digunakan berasal dari virus ND *apathogenic* strain RIVS-2 atau Ishii yang termasuk ke dalam *Genotype 1* (G1) dan telah diinaktivasi menggunakan formalin. Bentuk antigen ND berupa bentuk kering beku atau *freeze dried* dengan stabilizer. Semua virus ND pembuat antigen uji serologi HI untuk menguji titer antibodi menggunakan virus ND *apathogenic* strain RIVS-2 atau Ishii yang termasuk ke dalam *Genotype 1* (G1) (Beard *et al*, 1975). Virus ND strain avirulent (lentogenik dan mesogenik) digunakan sebagai vaksin hidup dan antigen diagnostic untuk meningkatkan pengendalian penyakit ND pada ayam tetapi pemilihan jenis vaksin tergantung pada kondisi penyakitnya. Vaksin inaktif juga digunakan dalam pengendalian penyakit ND (Alders Dan Spradbrow, 2001; OIE, 2008). ND ishii merupakan virus ND lentogenik yang berasal dari Jepang memiliki kemampuan mengaglutinasi rendah pada suhu 4°C tetapi menunjukkan kemampuan aglutinasi normal pada suhu 25°C dan 37°C (Boumart *et al* 2016). Penelitian dilakukan pada Januari 2020 sampai Mei 2020 di Laboratorium Produksi B, Pusat Veteriner Farma. Hasil uji hemaglutinasi antigen ND dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil titer HA Antigen ND pada penyimpanan suhu yang berbeda

Penyimpanan di suhu	Kode antigen	Hasil titer uji HA (HAU)									Mean	SD
		Minggu ke-0	Minggu ke-2	Minggu ke-4	Minggu ke-6	Minggu ke-8	Minggu ke-10	Minggu ke-14	Minggu ke-18	Minggu ke-22		
37°C	C1	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>9</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>3</sup>	2 <sup>3</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>7.4</sup>	2 <sup>3.7</sup>
	C2	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>7.2</sup>	2 <sup>2.7</sup>
	E1	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>7</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>9.6</sup>	2 <sup>7.5</sup>
	E2	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>7</sup>	2 <sup>7</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>7.2</sup>	2 <sup>3.0</sup>
4°C	A1	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>0</sup>
	A2	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>0</sup>
	B1	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>0</sup>
	B2	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>0</sup>
-18°C	D1	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>0</sup>
	D2	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>0</sup>
	F1	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>0</sup>
	F2	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>0</sup>

Berdasarkan tabel 1 dapat dilihat bahwa pada awal penelitian titer HA antigen ND adalah  $2^{11}$ , selanjutnya sampai minggu ke 3 titer HA antigen ND pada semua perlakuan suhu penyimpanan stabil di angka  $2^{11}$ . Pada suhu penyimpanan kulkas  $4^{\circ}\text{C}$  dan freezer  $-18^{\circ}\text{C}$  titer HA antigen ND stabil sampai minggu ke 22 dengan nilai titer HA di angka  $2^{11}$ . Virus ND memiliki kemampuan hebat untuk menahan paparan suhu tinggi dengan mempertahankan titer infeksiusnya. Stabilitas virus ND beku-kering pada  $4^{\circ}\text{C}$  tidak ada perbedaan signifikan yang diamati serta tetap stabil selama 6 bulan penyimpanan (Boumart *et al*, 2016). ND mempunyai sifat spesifik yakni dapat mengaglutinasi sel darah merah ayam, hal ini terjadi akibat adanya protein yang terdapat pada amplop virus yang disebut hemagglutinin. Proses terjadinya hemagglutinasi karena adanya ikatan antara hemagglutinin virus ND dengan reseptor sel, yaitu mukoprotein yang terdapat pada permukaan eritrosit (OIE, 2012).

Pada suhu penyimpanan  $37^{\circ}\text{C}$  atau suhu percepatan, titer virus ND mulai menurun pada minggu ke 6 lalu terus turun sampai pada angka terendah yaitu  $2^2$  di minggu ke 22. Uji stabilitas menggunakan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  adalah uji percepatan stabilitas (Untari *et al*, 2002). Hasil penelitian Boumart *et al* (2016) menunjukkan terjadi penurunan variabel dalam titer infektivitasnya ( $P, 0,05$ ) pada virus ND LaSota setelah saat diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dan kehilangan sekitar 2 log infektivitas, sedangkan Strain VG-GA dan B1 menunjukkan stabilitas menengah dengan penurunan titer kumulatif 16,2 dan 20,9, masing-masing, setelah 21 hari inkubasi.

Antigen ND Pusvetma tetap stabil pada suhu penyimpanan  $4^{\circ}\text{C}$  dan  $-18^{\circ}\text{C}$  dengan nilai titer HA  $2^{11}$ . Titer HA antigen ND yang direkomendasikan OIE minimal  $\geq 2^9$  sehingga antigen ND Pusvetma masih memenuhi syarat OIE pada penyimpanan suhu kulkas dan freezer sampai minggu ke 22 (OIE 2012). Sensitivitas virus ND peka terhadap suhu panas dan pH ekstrim, virus ND peka terhadap panas, cepat mati pada suhu di atas  $50^{\circ}\text{C}$  tetapi tahan 1 minggu pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , 2 bulan pada suhu  $22 - 28$  dan berbulan-bulan pada karkas beku.

Virus tahan pada perubahan pH 2-10, tetapi peka terhadap sinar ultra violet dan sinar matahari (Alders *et al.* 2001).

## KESIMPULAN

Penyimpanan antigen ND strain Ishii pada suhu 4°C dan suhu -18°C tidak mengalami perubahan secara fisik dan titer HA tetap stabil dari awal penyimpanan sampai akhir penyimpanan pada minggu ke-22. Pada penyimpanan di suhu 37°C mulai terjadi penurunan titer HA yang signifikan pada minggu ke 6. Penyimpanan suhu 4°C dan suhu -18°C merupakan penyimpanan yang baik untuk antigen ND.

## SARAN

Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui masa expirasi antigen ND, serta diperlukan waktu penelitian lebih lama untuk mengetahui stabilitas penyimpanan pada suhu 4°C dan suhu -18°C.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alders R, Spradbrow P. 2001. Controlling newcastle disease in village chickens. *A Field Manual*. ACIAR Monograph No. 82. ACIAR, Canberra.
- Alexander DJ. 2000. Newcastle disease and other avian paramyxovirus. *Rev.sci.tech.off.int.Epiz*: 19(2):443-462
- Beard CW, Hopkins SR, Hammond J. 1975. Preparation of Newcastle disease virus hemagglutination-Inhibition test antigen. *JSTOR*:19(4)-692-699
- Hewajuli DA dan Dharmayanti NLPI. 2011. Patogenitas virus *Newcastle disease* pada ayam. *Wartazoa*. 21 : 2
- Huang ZA, Panda S, Elankumaran D, Govindarajan DD, Rockeman, Samal SK. 2004. The Hemagglutinin-neuraminidase protein of Newcastle disease virus determines tropism and virulence. *J Virol*. 78: 4176 – 4184.
- Krishnamurthy S, Samal SK. 1998. Nucleotide sequences of the trailer, nucleocapsid protein gene and intergenic regions of Newcastle disease virus strain Beaudette C and completion of the entire genome sequence. *Gen Virol* 79: 2419-2424
- Lasghari MS, Newman JA. 1982. Preparing Hemagglutination antigen from isolate of Infectious Bronchitis Virus. 26:508-519

- Miller PJ, Decanini EL, Afonso CL. 2010. Newcastle disease: evolution of genotypes and the related diagnostic challenges. *Infect genet* .vol:10(1):26-35.doi:10.1016/j.2009.09.12
- OIE. 2009. NDV in Indonesia. Detailed country(ies) disease incidence. <http://www.oie.int/wahis/public.php>
- OIE.2012. Newcastle disease. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 2.3.14. <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrialmanual/access-online>.
- Peeters B, Verbruggen P, Nellisen F, De Leeuw O. 2004. The P gene of the Newcastle disease virus does not encode an accessory X protein. *J. Gen. Virol.* 5: 2375 – 2378. PEETERS, B.P.H., O.S. DE
- Shunlin H, Tongyan W, Yuliang L, Chun M, Xiaoquan W, Yantao W, Xiufan L. 2010. Identification of a Variable Epitope on the Newcastle Disease Virus Hemagglutinin-Neuraminidase Protein. *J. Vet. Microbiol.* 140(2): 92-97.
- Untari T, Nainggolan F. 2002. Pengaruh suhu penyimpanan terhadap titer hemaglutinasi antigen Newcastle disease Pusvetma. *J.Saint Vet: XX(2)*
- Xiao S, Paldurai A, Nayak B, Samuel A, Bharoto EE, Prajitno TY, CollinsP., and Samala SK. 2012. Complete genome sequences of newcastle disease virus strains circulating in chicken populations of Indonesia. *Journal of Virolog*: 5969-5970.
- Yachida SY, Iritani, Katagiri K. Three Substrains with Different Hemagglutination Patterns Isolated from a Japanese Lentogenic Strain of Newcastle Disease Virus Author. *Source: Avian Diseases*, Vol. 23, No. 4 (Oct. - Dec., 1979), pp. 979-982
- Zineb BA, Jihane H, Samira D, Amal E, Khalid OT, Mehdi EH. 2016. Thermal Stability Study of Five Newcastle Disease Attenuated Vaccine Strains. *AVIAN DISEASES* 60:000–000, 2016

BBVF PUSVETMA

## PENGUJIAN MASA KADALUWARSA ANTIGEN MYCOPLASMA

Nur Sjolichah<sup>1</sup>, Febri Hartanti<sup>1</sup>, Yudi Winarko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pusat Veteriner Farma

### ABSTRAK

*Mycoplasma gallisepticum* merupakan agen penyebab penyakit pernafasan kronis atau *Chronic Respiratory Disease* (CRD) pada ayam. Salah satu metode diagnosa penyakit ini dapat dilakukan dengan uji serologis sederhana atau uji cepat serum aglutinasi yang menggunakan antigen *Mycoplasma gallisepticum*. Antigen *Mycoplasma gallisepticum* produksi Pusvetma disimpan pada suhu 2-8°C dengan masa kedaluwarsa 1 (satu) tahun. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas antigen *Mycoplasma gallisepticum* yang telah melewati masa kedaluwarsa sebagai bahan pertimbangan dalam menentukan tambahan masa kedaluwarsa. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah antigen *Mycoplasma gallisepticum* produksi Pusvetma tahun 2016-2019 sebanyak 10 vial. Metode uji yang digunakan meliputi uji umum, uji identifikasi dan uji potensi sesuai standar FOHI (2013). Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji antigen yang telah melewati kadaluwarsa masih memenuhi syarat Antigen *Mycoplasma gallisepticum* produksi Pusvetma yang disimpan pada suhu 2-8°C selama 2 tahun 10 bulan dari masa produksi kualitas dan stabilitas masih terjaga sehingga antigen tersebut masih dapat diedarkan dengan masa kedaluwarsa 2 (dua) tahun.

**Kata kunci** : antigen, *Mycoplasma gallisepticum*, kedaluwarsa, stabilitas.



BBVF PUSVETMA

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Penyakit pernafasan kronis atau *Chronic Respiratory Disease* (CRD) pada ayam menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup tinggi pada dunia perunggasan. Kerugian ekonomi disebabkan oleh penurunan produksi telur, penurunan fertilitas dan daya tetas telur, kematian embrio serta terhambatnya kenaikan berat badan (Soeripto, 2009).

Diagnosa penyakit ini dapat dilakukan dengan uji cepat aglutinasi menggunakan antigen *Mycoplasma gallisepticum*. Antigen *Mycoplasma gallisepticum* produksi Pusvetma mempunyai masa kedaluwarsa 1 (satu) tahun. Antigen yang diuji dalam penelitian ini merupakan sampel per tinggal dalam setiap *batch* produksi dan disimpan pada suhu pada 2-8°C. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan pertimbangan untuk menentukan tambahan masa kedaluwarsa antigen *Mycoplasma gallisepticum* sehingga masa kedaluwarsa antigen yang diedarkan lebih dari 1 (satu) tahun).

### 1.2. Tinjauan Pustaka

*Mycoplasma gallisepticum* merupakan agen penyakit yang menyebabkan penyakit pernafasan kronis atau *Chronic Respiratory Disease* (CRD) pada ayam. *Mycoplasma* tergolong bakteri gram negatif yang merupakan organisme prokariot terkecil yang membelah sendiri dan mempunyai ukuran 0,25-0,50 mm, tidak mempunyai dinding sel, berbentuk kokoid (Yoder, 1980; Ley, 2008). Gejala penyakit ini yaitu ayam terlihat diam, lesu, dan kehilangan nafsu makan, tinja berbentuk cair dan berwarna putih, serta pada bagian sekitar anus tampak lengket dan terkena iritasi (Rasyaf, 2007). Penyebaran penyakit CRD dapat melalui udara atau percikan air liur ayam yang terinfeksi, pakan, air minum, dan peralatan yang tercemar (Ley, 2008). Serangan penyakit ini bisa menyebabkan tingkat morbiditas yang tinggi. Penyakit ini menyebabkan kerugian ekonomi karena penurunan produksi telur, penurunan fertilitas, penurunan daya tetas telur, kematian embrio serta terhambatnya kenaikan berat badan (Talkington, *et.al.*, 1985; Soeripto, 2009). Upaya pencegahan paling dini terhadap penyakit ini adalah penggunaan bibit yang



bebas CRD dan menjaga kebersihan kandang. Pengobatan CRD adalah dengan memberikan antibiotik seperti tetrasiklin, bacitracin dan tylocin yang diberikan ke dalam minuman, pakan, atau diberikan lewat injeksi (Rasyaf, 2007).

Diagnosa penyakit ini dapat dilakukan berdasarkan gejala klinik, perubahan patologi, uji serologis serta isolasi dan identifikasi bakteri. Uji serologis sederhana dan cepat yang dapat digunakan yaitu uji cepat serum aglutinasi. Pengujian ini mudah dilakukan karena agglutinin yang terjadi dapat dilihat langsung dalam waktu 2 (dua) menit setelah antigen antibodi tercampur (Yoder, 1980; Piela, *et.al.*,1984). Pengujian aglutinasi cepat akan diperoleh 3 kriteria yaitu (1) reaksi negatif yaitu campuran tetap homogen atau tidak terjadi aglutinasi; (2) reaksi positif (+) yaitu campuran terjadi aglutinasi yang jelas dengan sekelilingnya bening terang setelah pencampuran; dan (3) reaksi dubius ( $\pm$ ) yaitu reaksi-reaksi yang ada antara negatif dan positif, reaksi aglutinasi yang tidak spesifik dengan cairan sekelilingnya tetap keruh. Hasil uji dubius dianggap negatif apabila dalam reaksi tersebut tampak titik-titik yang amat lembut (*a very fine granulation*) dan dapat dilihat dengan mata telanjang atau titik-titik reaksi timbul pada tepi-tepi (*a very fine marginal flocculation*) saat sebelum campuran antigen dan antibodi menjadi kering (Anonimus, 2014).

### **1.3. Tujuan**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui stabilitas antigen *Mycoplasma gallisepticum* yang telah melewati masa kedaluwarsa sebagai bahan pertimbangan dalam menentukan tambahan masa kedaluwarsa antigen *Mycoplasma gallisepticum* produksi Pusvetma.

## **II. MATERI DAN METODE**

Pengujian antigen *Mycoplasma gallisepticum* dilakukan di Laboratorium Antigen, Bidang Pelayanan Produksi menggunakan antigen *Mycoplasma gallisepticum*, serum kontrol positif dan serum kontrol negatif yang diproduksi antara tahun 2016 sampai dengan 2019.

## A. Materi

Antigen *Mycoplasma gallisepticum* yang digunakan merupakan antigen *Mycoplasma gallisepticum* produksi Pusvetma antara tahun 2016 - 2019 dengan nomor *batch* 05.16, 06.16, 07.16, 08.16, 01.17, 01.18, 02.18, 03.19, 04.19 dan 05.19. Antigen *Mycoplasma batch* 05.19 yang belum melewati masa kedaluwarsa saat dilakukan penelitian digunakan sebagai bahan pembanding. Selain itu juga menggunakan serum kontrol positif dan serum kontrol negatif *Mycoplasma gallisepticum*.

## B. Metode

Pengujian antigen meliputi uji umum (uji fisik, uji sterilitas dan uji kemurnian) dan uji potensi.

### 1. Uji Umum

#### a) Uji Fisik

Uji fisik meliputi uji yang menunjukkan suspensi antigen berwarna ungu, homogen, tidak berbau asing dan tidak mengandung benda asing.

#### b) Uji Sterilitas

Antigen ditanam dalam media *Heart Infusion Agar*, *Sabauroud Dextrose Agar*, *Nutrient Agar* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Hasil uji harus menunjukkan tidak ada pertumbuhan mikroorganisme dan jamur (FOHI, 2013)

#### (c) Uji Kemurnian

Uji kemurniaan pada preparat ulas, antigen harus tidak mengandung bakteri selain *Mycoplasma gallisepticum* (FOHI, 2013).

### 2. Uji Identifikasi

Uji identifikasi dilaksanakan dengan cara aglutinasi cepat dengan menggunakan 3 standar serum positif, 3 standar serum negatif dan 3 sampel darah ayam negatif *Mycoplasma gallisepticum*. Dua tetes antigen ( $\pm$  0,06 ml), baik yang diuji maupun antigen pembanding masing-masing ditetaskan pada lempeng kaca secara berdampingan, kemudian ditetaskan 1 tetes ( $\pm$  0,03 ml) standar serum pada masing-masing antigen tersebut dan campur

dengan baik. Hal ini dilakukan pada semua serum standar dan sampel darah ayam negatif. Pengamatan waktu terjadinya aglutinasi dilakukan selama 2 menit. Antigen dinyatakan memenuhi syarat apabila terhadap serum positif menunjukkan aglutinasi dan terhadap serum negatif serta darah ayam yang negatif tidak menunjukkan adanya aglutinasi (FOHI, 2013).

### 3. Uji Potensi

#### a) Aglutinasi cepat

Antigen pembanding yang digunakan adalah antigen yang telah memenuhi syarat pada uji sebelumnya. Pada uji ini dipakai 8 ekor ayam positif *Mycoplasma gallisepticum* dan 4 ekor ayam yang negatif *Mycoplasma gallisepticum*. Dua tetes antigen ( $\pm 0,06$  ml), baik yang diuji maupun antigen pembanding masing-masing ditetaskan pada lempeng kaca secara terpisah, kemudian ditetaskan 1 tetes ( $\pm 0,03$  ml) darah ayam pada masing-masing antigen tersebut dan campur sampai homogen. Uji ini dilakukan pada suhu 25-30°C. Pengamatan waktu terjadinya aglutinasi dilakukan menggunakan pencatat waktu. Antigen dinyatakan memenuhi syarat apabila waktu terjadinya aglutinasi antigen yang diuji harus tidak jauh berbeda dibandingkan waktu terjadinya aglutinasi antigen pembanding dengan pengamatan selama 2 menit (FOHI, 2013).

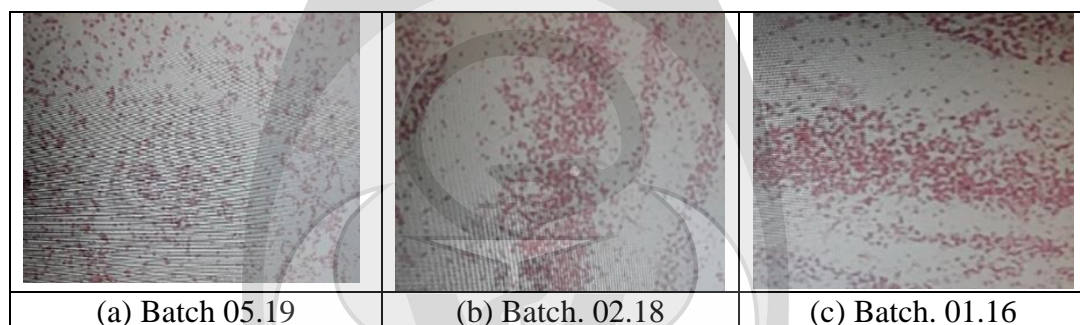
## III. HASIL

Hasil pengujian antigen *Mycoplasma gallisepticum* meliputi uji umum (uji fisik, uji sterilitas, uji kemurnian), uji identifikasi dan uji potensi terdapat dalam tabel di bawah ini.

Tabel 1. Hasil Uji Umum Sampel Antigen *Mycoplasma gallisepticum*

No	Nomor Batch	Uji fisik	Uji sterilitas	Uji kemurnian
1	05.16	warna ungu, homogen	steril	Murni <i>Mycoplasma g</i>
2	06.16	warna ungu, homogen	steril	Murni <i>Mycoplasma g</i>
3	07.16	warna ungu, homogen	steril	Murni <i>Mycoplasma g</i>

4	08.16	warna ungu, homogen	steril	Murni <i>Mycoplasma g</i>
5	01.17	warna ungu, homogen	steril	Murni <i>Mycoplasma g</i>
6	01.18	warna ungu, homogen	steril	Murni <i>Mycoplasma g</i>
7	02.18	warna ungu, homogen	steril	Murni <i>Mycoplasma g</i>
8	03.19	warna ungu, homogen	steril	Murni <i>Mycoplasma g</i>
9	04.19	warna ungu, homogen	steril	Murni <i>Mycoplasma g</i>
10	05.19	warna ungu, homogen	steril	Murni <i>Mycoplasma g</i>



Gambar 1. Uji kemurnian antigen *Mycoplasma* dengan pengecatan Gram.

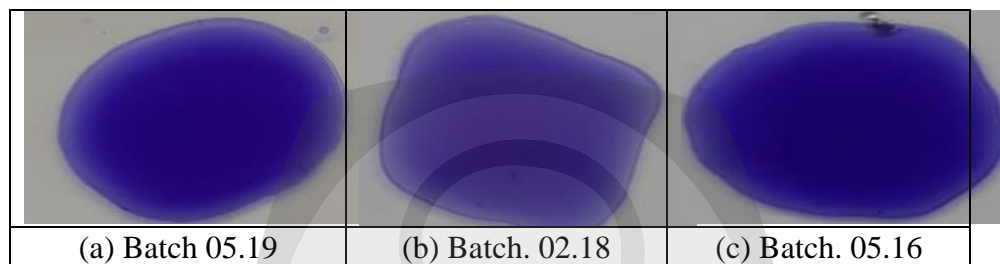
Berdasarkan hasil uji umum secara keseluruhan antigen *Mycoplasma gallisepticum* tampak homogen berwarna ungu, antigen steril tidak tampak adanya kontaminasi, dan uji kemurnian bakteri dengan pengecatan Gram tampak merupakan *Mycoplasma gallisepticum*.

## BBVF PUSVETMA

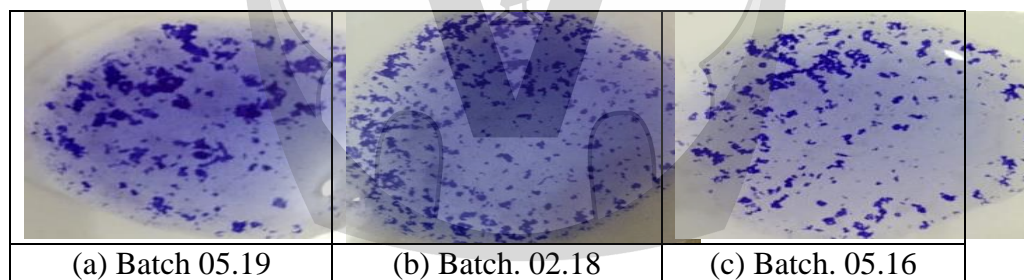
Tabel 2. Hasil Uji Identifikasi Sampel Antigen *Mycoplasma gallisepticum*

No	Nomor <i>Batch</i>	Uji identifikasi dengan Serum kontrol Positif	Uji identifikasi dengan Serum kontrol Negatif	Uji dengan Darah ayam negatif <i>Mycoplasma G</i>
1	05.16	Aglutinasi	Tidak aglutinasi	Tidak Aglutinasi
2	06.16	Aglutinasi	Tidak aglutinasi	Tidak Aglutinasi
3	07.16	Aglutinasi	Tidak aglutinasi	Tidak Aglutinasi
4	08.16	Aglutinasi	Tidak aglutinasi	Tidak Aglutinasi
5	01.17	Aglutinasi	Tidak aglutinasi	Tidak Aglutinasi

6	01.18	Aglutinasi	Tidak aglutinasi	Tidak Aglutinasi
7	02.18	Aglutinasi	Tidak aglutinasi	Tidak Aglutinasi
8	03.19	Aglutinasi	Tidak aglutinasi	Tidak Aglutinasi
9	04.19	Aglutinasi	Tidak aglutinasi	Tidak Aglutinasi
10	05.19	Aglutinasi	Tidak aglutinasi	Tidak Aglutinasi



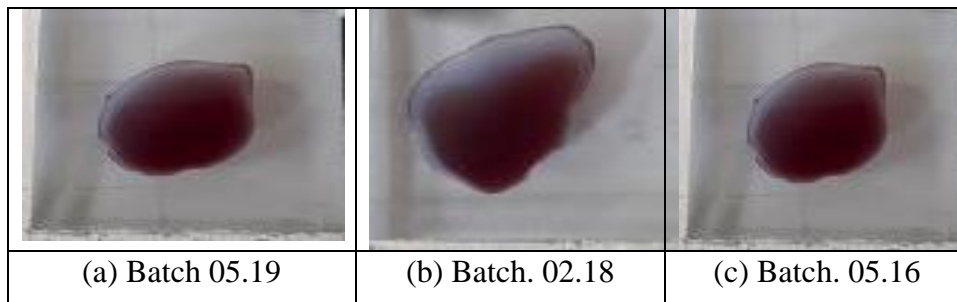
Gambar 2. Uji identifikasi dengan serum kontrol negatif *Mycoplasma gallisepticum*



Gambar 3. Uji identifikasi dengan serum kontrol positif *Mycoplasma gallisepticum*.



Gambar 4. Uji potensi dengan darah ayam positif *Mycoplasma gallisepticum*



Gambar 5. Uji potensi dengan darah ayam negatif *Mycoplasma gallisepticum*.

Tabel 3. Hasil Uji Potensi (Aglutinası Cepat) Antigen *Mycoplasma gallisepticum*

No	Nomor Batch	Uji dengan darah ayam positif <i>Mycoplasma g</i>	Uji dengan darah ayam negatif <i>Mycoplasma g</i>
1	05.16	Aglutinası	Tidak Aglutinası
2	06.16	Aglutinası	Tidak Aglutinası
3	07.16	Aglutinası	Tidak Aglutinası
4	08.16	Aglutinası	Tidak Aglutinası
5	01.17	Aglutinası	Tidak Aglutinası
6	01.18	Aglutinası	Tidak Aglutinası
7	02.18	Aglutinası	Tidak Aglutinası
8	03.19	Aglutinası	Tidak Aglutinası
9	04.19	Aglutinası	Tidak Aglutinası
10	05.19	Aglutinası	Tidak Aglutinası

Secara keseluruhan hasil uji potensi/aglutinası cepat antigen *Mycoplasma gallisepticum* dengan darah ayam yang positif *Mycoplasma gallisepticum* tampak terjadi aglutinası.

#### IV. PEMBAHASAN

Antigen *Mycoplasma gallisepticum* produksi Pusvetma merupakan suspensi kuman *Mycoplasma gallisepticum* yang sudah diinaktif dan diwarnai dengan zat warna larutan kristal violet dan memiliki masa kedaluwarsa 1 (satu) tahun.

Tabel 4. Rekapitulasi Hasil Uji Sampel Antigen *Mycoplasma gallisepticum*

No	Nomor Batch	Waktu Kedaluwarsa	Lama Kedaluwarsa *)	Hasil Uji
1	05.16	Desember 2017	2 tahun10 bulan	Memenuhi Syarat
2	06.16	Desember 2017	2 tahun10 bulan	Memenuhi Syarat
3	07.16	Desember 2017	2 tahun10 bulan	Memenuhi Syarat
4	08.16	Desember 2017	2 tahun10 bulan	Memenuhi Syarat
5	01.17	November 2018	2 tahun 3 bulan	Memenuhi Syarat
6	01.18	Mei 2019	1 tahun 5 bulan	Memenuhi Syarat
7	02.18	Mei 2019	1 tahun 5 bulan	Memenuhi Syarat
8	03.19	Juni 2020	4 bulan	Memenuhi Syarat
9	04.19	Agustus 2020	2 bulan	Memenuhi Syarat
10	05.19	Agustus 2020	2 bulan	Memenuhi Syarat

\*) = lama kedaluwarsa sampai dengan tanggal uji (bulan Oktober 2019).

Berdasarkan rekapitulasi hasil uji antigen *Mycoplasma* tampak bahwa antigen yang disimpan pada suhu 2-8°C dan telah melewati masa kedaluwarsa 1 (tahun) masih menunjukkan hasil uji baik. Kualitas dan stabilitas antigen *Mycoplasma* yang telah disimpan selama 2 tahun 10 bulan menunjukkan masih stabil dan memenuhi syarat uji sesuai standar FOHI (2013).

Antigen *Mycoplasma gallisepticum* ini digunakan untuk uji serologis penyakit pernafasan kronis atau *Chronic Respiratory Disease* (CRD) pada ayam dengan cara uji cepat aglutinasi. Aglutinasi merupakan proses pengikatan antigen oleh antibodi yang bersifat spesifik ini membentuk gumpalan-gumpalan yang besar. Apabila serum sampel yang diuji mengandung antibodi, maka penambahan antigen yang sudah diketahui sebagai antigen *Mycoplasma* akan menimbulkan ikatan antara antigen dan antibodi sehingga terbentuk gumpalan pada serum tersebut. Apabila tidak ada antibodi terhadap *Mycoplasma* maka tidak ada ikatan dengan antibodi sehingga sampel yang diuji tetap homogen (Soenarto,1993).

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Antigen *Mycoplasma gallisepticum* produksi Pusvetma yang disimpan pada suhu 2-8°C selama 2 tahun 10 bulan masih terjaga stabilitas dan kualitasnya sehingga produk antigen ini dapat diedarkan dengan tambahan masa kedaluwarsa menjadi 2 (dua) tahun.

### Saran

Kajian pengaruh eksternal terhadap antigen *Mycoplasma gallisepticum* dan monitoring penyimpanan antigen di konsumen perlu dilakukan sehingga dapat mengantisipasi adanya keluhan pelanggan.

## VI. DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2014. *Manual Penyakit Unggas*. Subdit Pengamatan Penyakit Hewan, Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian. Jakarta.
- Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid 1 (Sediaan Biologik). 2013. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. Jakarta.
- Ley, D.H. 2008. *Mycoplasma gallisepticum Infection In Disease of Poultry 12<sup>th</sup> Edition*. Blackwell Publishing Profesional, Ames, Iowa, USA.
- Piela, T.H.E.M, Gulka, V.K.T, and Chang, P.W. 1984. *Use of Egg Yolk in Serological Test (ELISA and HI ) to Detect Antibody to Newcastle Disease, Infectioris Bronchitis and Mycoplasma gallisepticum*. Avian Dis.28: 877-883.
- Rasyaf, M. 2007. *Panduan Beternak Ayam Pedaging*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Soenarto, A. 1993. *Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima*. Penerbit Erlangga, Jakarta
- Soeripto. 2009. *Chronic Respiratory Disease (CRD) Pada Ayam*. Bogor : Wartazoa Vol.19 No.3. Tahun 2009.
- Talkington, F.D, and Kleven, S.H, and Brown, J. 1985. *An Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay for the Detection of Antibodies to Mycoplasma gallisepticum in Experimentally Infected Chickens*. Avian Dis 29 : 53 – 70.
- Yoder, H.W.JR. 1980. *Mycoplasmosis in Isolation and Identification of Avian Pathogens*. S.B.Hitchner. American Association of Avian Pathologist. Department of Veterinary Microbiology Texas A and M University College Station, Texas. Pp 40- 42.



# **RESPON IMUN TERHADAP ANTIGEN AI H9N2 ISOLAT SIDRAP DAN ISOLAT *SOUTH SULAWESI* PADA AYAM YANG DIVAKSINASI ND-AI H9N2 ISOLAT SIDRAP**

Jossie Intan Cahyani<sup>1</sup> dan Petri Nandatina Saputri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pusat Veteriner Farma

## **ABSTRAK**

Kejadian sub tipe *low pathogenic* Avian Influenza H9N2 di Indonesia ditandai dengan munculnya kasus penurunan produksi telur pada tahun 2017. Infeksi tambahan yang sering kali muncul seperti Newcastle (ND) akan menyebabkan kerugian ekonomi yang besar bagi industri perunggasan dan mengganggu ketahanan pangan di Indonesia. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi respon imun vaksin bivalen ND LaSota-AI H9N2 isolat Sidrap terhadap virus atau antigen AI H9N2 dengan dua isolat berbeda yaitu isolat Sidrap dan isolat *South Sulawesi*. Hewan uji yang digunakan, ayam SPF berumur 21-28 hari, 10 ekor perlakuan divaksinasi sebanyak 0,5 ml/ekor secara intramuskular (IM) dan 10 ekor digunakan sebagai kontrol. Hasil titer antibodi HI terhadap AI H9N2 isolat Sidrap lebih dari sama dengan 7 log<sub>2</sub> dicapai pada minggu ke 3 dengan capaian persentase 100%, sedangkan titer antibodi HI lebih dari sama dengan 7 log<sub>2</sub> dapat dicapai pada minggu kedua dengan capaian 100% terhadap antigen yang menggunakan isolat *South Sulawesi*. Pemeriksaan respon imun pada ayam SPF yang divaksin dengan vaksin bivalen ND-AI H9N2 isolat Sidrap dapat memberikan respon imun terhadap AI H9N2 isolat Sidrap dan juga terhadap AI H9N2 isolat *South Sulawesi*.

Kata Kunci : Avian Influenza, H9N2, ND Lasota, Vaksin bivalen

**BBVF PUSVETMA**

## I. PENDAHULUAN

### I.1. Latar Belakang Masalah

Penyakit *Newcastle disease* (ND) adalah penyakit virus pada unggas yang dapat menyebabkan gangguan sistem pernafasan, pencernaan dan syaraf pada unggas. Menurut OIE (2012) berdasarkan atas virulensinya virus ND dapat dibedakan menjadi galur *velogenic*, *mesogenic*, dan *lentogenic*. Strain lentogenik umumnya menimbulkan gejala sub klinis, infeksi saluran pernafasan ringan. Strain Mesogenik dapat menyebabkan penyakit pernafasan akut dan gejala syaraf pada beberapa spesies unggas dengan tingkat kematian rendah (kurang dari 10%). Velogenik strain mempunyai mortalitas tinggi (100%) dengan kondisi tanpa vaksinasi yang tepat. gejala klinis terlihat pada sistem pernafasan dan atau dengan gejala syaraf, sistem pencernaan sampai dengan penurunan produksi telur secara tajam (OIE, 2012).

*Avian influenza* (AI) telah menjadi masalah global maupun nasional yang mengakibatkan kerugian besar bagi industri perunggasan. Sejak terjadi wabah AI pertama kali pada unggas di akhir tahun 2003, 30 dari 33 Provinsi di Indonesia telah tertular (OIE, 2015). Berdasarkan keganasannya, virus AI dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu, *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) dan *High Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) (Swayne *et al.*, 2016).

Kasus penurunan produksi telur hingga 80% pada ayam petelur produktif yang keberadaannya di Indonesia diketahui sejak akhir tahun 2016, diduga disebabkan oleh virus *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) yang bersifat menular (Muflihanah dkk., 2017). Virus subtype LPAI H9N2 tersebar luas di seluruh dunia, menjadi endemik pada populasi unggas di Asia dan Timur Tengah (Lee *et al.*, 2016). Infeksi virus AI H9N2 pada ayam pedaging menyebabkan penurunan tingkat pertumbuhan dan merugikan rasio konversi pakan. Selain itu, tingkat kematian yang

tinggi muncul dalam kasus koinfeksi dengan patogen lain seperti *Infectious bronchitis virus (IBV)*, *Newcastle disease virus (NDV)*, *Staphylococcus aureus*, *Ornitobacterium rhinotracheale*, dan *E. coli* atau juga penyakit immuno supresi yang memperburuk infeksi AI H9N2 pada ayam (Elbestawy *et al.*, 2018). Sampai saat ini virus AI H9N2 telah menyebar di banyak provinsi di Indonesia serta mempengaruhi peternakan ayam layer, pembibitan dan broiler dengan gejala utama penurunan produksi telur (Jonas *et al.*, 2018; Nugroho, 2018).

Upaya pencegahan terhadap penyakit ND maupun AI terus dilakukan secara teratur dengan meningkatkan *biosecurity* dan melakukan vaksinasi (Su *et al.*, 2015; Wakawa *et al.*, 2009). Gejala klinis penyakit ND dan AI sangat mirip (Fusaro *et al.*, 2011), di samping itu kedua virus tersebut juga bersifat endemik di Indonesia. Hal tersebut menyebabkan sulit untuk membedakan secara klinis kasus ND dan AI pada ternak unggas.

Untuk mengatasi penyakit endemik ini, vaksin bivalen inaktif telah banyak digunakan (Wakawa *et al.*, 2009). Seringkali penyakit ND dan AI terjadi secara bersamaan pada unggas sehingga mengakibatkan kerugian peternak unggas. Melakukan vaksinasi dengan vaksin bivalen sebagai upaya untuk meningkatkan keberhasilan program vaksinasi ND dan AI (Wakawa *et al.*, 2009). Vaksinasi pada ayam adalah metode yang paling efektif dan optimal untuk memerangi infeksi ND dan AI H9N2 (Jafari *et al.*, 2017). Vaksin bivalen ND-AI juga mempunyai beberapa keunggulan diantaranya adalah dapat diberikan sekaligus pada ayam sehingga akan menurunkan tingkat stres yang timbul pasca vaksinasi (Kencana *et al.*, 2017). Vaksin bivalen yang tersedia di Indonesia adalah vaksin bivalen ND-AI dengan subtipe H5N1 dan vaksin bivalen AI H5N1-AI H9N2 sedangkan vaksin bivalen ND-AI subtipe H9N2 belum tersedia di Indonesia sehingga perlu dikembangkan vaksin bivalen tersebut untuk mencegah penyakit ND sekaligus penyakit AI yang disebabkan subtipe

H9N2. Perbandingan respon imun terhadap ND dan AI H9N2 isolat Sidrap pada ayam yang divaksinasi vaksin bivalen ND LaSota-AI H9N2 isolat Sidrap telah dilakukan dalam penelitian sebelumnya (Cahyani, 2020). Terdapat beberapa isolat Virus AI H9N2 yang telah berhasil di isolasi dari berbagai daerah di Indonesia, contohnya isolat South Sulawesi dan isolat Sidrap yang telah dikarakterisasi oleh BPMSOH.

## **I.2. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka dapat disusun rumusan permasalahan yaitu apakah vaksin bivalen ND LaSota-AI H9N2 isolat Sidrap juga dapat memberikan respon imun terhadap virus/antigen AI H9N2 dari isolat lain selain isolat Sidrap yang digunakan sebagai kandidat antigen vaksin bivalen tersebut.

## **I.3. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi respon imun vaksin bivalen ND LaSota-AI H9N2 isolat Sidrap terhadap virus atau antigen AI H9N2 dengan dua isolat berbeda yaitu isolat Sidrap dan isolat South Sulawesi

## **I.4. Manfaat**

Vaksin bivalen ND-AI H9N2 yang dikembangkan Pusvetma diharapkan dapat menurunkan tingkat stres yang timbul pasca vaksinasi pada ayam petelur karena diberikan bersamaan dengan demikian produksi telur tidak mengalami penurunan.

## II. MATERI DAN METODE

Pembuatan vaksin bivalen ND LaSota - AI H9N2, uji Hemaglutinasi (HA), dan uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) dilakukan di Laboratorium Pusat Veteriner Farma Surabaya.

*Working Seed* yang digunakan merupakan kultur murni virus *Avian influenza* (AI) H9N2 isolat Sidrap A/chicken/Sidrap/07170094-44O/2017 dengan titer  $10^9$  EID<sub>50</sub> (*egg infective dose 50*) dan virus *Newscastle disease* (ND) strain *La Sota* dengan titer  $10^9$  EID<sub>50</sub>. Titer antigen (hemaglutinasi/HA) virus AI H9N2 isolat Sidrap adalah  $2^9$  dan untuk virus ND strain LaSota  $2^9$ . Vaksin merupakan vaksin inaktif yang diformulasi menggunakan adjuvan Montanide ISA70.

Untuk pembuatan vaksin dan uji inaktivasi menggunakan telur ayam berembrio (TAB) *specific pathogen free* (SPF) umur 10 hari yang didapatkan dari perusahaan Laboratorium Caprifarmindo, Indonesia. Hewan uji yang digunakan adalah ayam berumur 21-28 hari yang berasal dari TAB SPF berjumlah 20 ekor. Sebanyak 10 ekor ayam SPF divaksinasi sebanyak 0,5 ml/ekor secara intramuskular (IM) dan 10 ekor ayam SPF digunakan sebagai kontrol.

Respon imun vaksin bivalen ND-AI H9N2 isolat Sidrap terhadap antigen AI H9N2 isolat Sidrap dan antigen AI H9N2 isolat South Sulawesi dideteksi secara serologi dengan uji hambatan hemaglutinasi (HI). Titer antibodi protektif terhadap virus LPAI menurut OIE adalah  $7 \log_2$  (OIE, 2018).

### **Pengambilan dan Pemisahan Serum**

Pengambilan darah dilakukan pada minggu ke 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8 minggu setelah vaksinasi. Pengambilan darah sebelum vaksinasi dilakukan untuk mengetahui internal antibodi. Darah diambil dengan menggunakan spuit 3 ml melalui vena brachialis. Darah dibiarkan selama

beberapa jam sampai serumnya keluar, kemudian serum ditampung ke dalam tabung mikro.

### **Pembuatan Suspensi Eritrosit 1%**

Pembuatan suspensi eritrosit sesuai dengan prosedur OIE (2018). Darah ayam SPF dewasa sehat (*whole blood*) diambil dan dimasukkan ke dalam tabung venoject yang terdapat antikoagulan di dalamnya. Darah disentrifuse dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang dan endapannya dicuci dengan menambahkan NaCl fisiologis, kemudian disentrifuse lagi selama 15 menit. Pencucian dilakukan sebanyak tiga kali dengan cara yang sama, hasil pencucian RBC merupakan suspensi sel darah merah 100%. Untuk mendapatkan RBC 1% maka suspensi sel darah merah tersebut diencerkan hingga konsentrasi 1% (OIE, 2018).

### **Uji Hemaglutinasi (HA)**

PBS sebanyak 25  $\mu$ l dimasukkan ke dalam setiap sumuran mikroplat dengan dasaran berbentuk V. Suspensi virus sebanyak 25  $\mu$ l dimasukkan pada sumuran pertama dan dilakukan pengenceran menggunakan mikropipet dengan cara memindahkan 25  $\mu$ l campuran ke sumuran kedua dan seterusnya sampai sumuran kesebelas, sumuran ke-12 digunakan sebagai kontrol RBC. PBS 25  $\mu$ l dimasukkan ke setiap sumuran lalu RBC 1% dimasukkan ke setiap sumuran. Mikroplat digoyang perlahan atau menggunakan mesin penggoyang mikroplat agar RBC tercampur, kemudian di inkubasi pada suhu ruangan selama 30 menit. Hasil dinyatakan positif apabila terjadi aglutinasi. Uji HA digunakan untuk mengetahui titer antigen, dan mencari 4 HA unit untuk digunakan pada uji HI (OIE, 2018).

### **Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI)**

Titer antibodi ayam terhadap virus AI dapat diketahui dengan melakukan uji HI sesuai dengan prosedur OIE (2018). PBS dimasukkan ke dalam setiap sumuran mikropelat dengan dasaran V sebanyak 25  $\mu$ l. Serum ayam 25  $\mu$ l dimasukkan pada sumuran pertama dan dilakukan pengenceran menggunakan mikropipet dengan cara memindahkan 25  $\mu$ l campuran ke sumuran kedua dan seterusnya sampai sumuran kesebelas. Antigen 4 HA unit dimasukkan ke dalam sumuran satu sampai sebelas sebanyak 25  $\mu$ l, sumuran dua belas sebagai kontrol RBC. Mikropelat di inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. RBC 1% ditambahkan pada setiap sumuran dan campur perlahan lalu di inkubasi 30 menit pada suhu ruang. Titer HI dibaca dengan cara memiringkan mikropelat 45 derajat dan dilihat ada tidaknya endapan sel darah merah yang turun (*tear-shaped*) sebagai tanda uji HI positif. Titer HI ditentukan dengan cara melihat pengenceran tertinggi dari serum yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit 1% (OIE, 2015).

### **III. HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pemeriksaan titer antibodi dilakukan sebelum dan sesudah vaksinasi menggunakan uji HI. Pengambilan serum sebelum vaksinasi bertujuan untuk melihat ada tidaknya maternal antibodi pada ayam yang dapat mempengaruhi keberhasilan vaksinasi. Maternal antibodi dalam tubuh ayam dapat menetralisasi antigen dari vaksin yang berakibat pada berkurangnya respon vaksin yang diberikan sehingga menyebabkan kegagalan vaksinasi (Prabowo, 2003). Pemeriksaan serum setelah vaksinasi bertujuan untuk mengetahui respon imun ayam yang telah divaksinasi.

Hasil pemeriksaan serologi titer antibodi HI terhadap antigen AI H9N2 isolat Sidrap dan antigen AI H9N2 isolat *South Sulawesi* pada ayam

SPF yang divaksinasi vaksin bivalen ND-AI H9N2 isolat Sidrap sebelum dan setelah vaksinasi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata titer antibodi terhadap antigen AI H9N2 isolat Sidrap dan isolat South Sulawesi

Antigen	Pre-Vac	2 M	3 M	4 M	5 M	6 M	7 M	8 M
AI H9N2 isolat Sidrap	0	7,4	8,7	9,9	9,9	9	8,6	8,4
AI H9N2 isolat South Sulawesi	0	7,9	8,9	9,4	9,7	9,3	9	8,9
Ayam Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0

Hasil uji antibodi maternal menunjukkan titer 0, hal ini dapat diartikan tidak ada kandungan antibodi maternal pada ayam SPF yang digunakan. Antibodi maternal merupakan antibodi yang diturunkan dari induk ayam kepada anak melalui kuning telur dan antibodi ini hanya dapat bertahan beberapa minggu tergantung titer induk. Vaksinasi merupakan perlindungan lanjutan untuk meningkatkan kekebalan terhadap penyakit. Vaksin kombinasi yang digunakan adalah vaksin inaktif karena virus AI yang bersifat zoonosis.

Titer antibodi HI terhadap AI H9N2 isolat Sidrap menunjukkan peningkatan respon imun mulai minggu ke 2 sampai dengan puncaknya di minggu ke 4 (9,9 log<sub>2</sub>) yang bertahan hingga minggu ke 5, kemudian turun perlahan hingga akhir penelitian di minggu ke 8 setelah vaksinasi tetapi masih menunjukkan titer antibodi yang cukup tinggi (8,4 log<sub>2</sub>). Antigen H9N2 isolat *South Sulawesi* menunjukkan peningkatan respon imun titer antibodi HI pada minggu ke 2 sampai dengan puncaknya di minggu ke 5 (9,7 log<sub>2</sub>), kemudian turun sangat perlahan hingga akhir penelitian di minggu ke 8 setelah vaksinasi tetapi masih menunjukkan titer antibodi yang cukup tinggi (8,9 log<sub>2</sub>) bila dibandingkan dengan isolat Sidrap.



Vaksinasi menggunakan vaksin AI inaktif pada unggas selain memberikan proteksi terhadap penyakit AI juga dapat mengurangi ekskresi virus atau shedding virus, hal ini dapat mencegah infeksi virus dari hewan sakit atau karier virus AI pada unggas dalam satu kandang (Swayne, 2016). Persentase ayam SPF yang memiliki titer antibodi protektif terhadap AI H9N2 dengan menggunakan antigen isolat Sidrap dan isolat *South Sulawesi* disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Persentase ayam SPF yang memiliki titer antibodi protektif setelah vaksinasi

Antigen	2 minggu	3 minggu	4 minggu	5 minggu	6 minggu	7 minggu	8 minggu
<b>AI H9N2 isolat Sidrap</b>	60%	100%	100%	100%	100%	100%	90%
<b>AI H9N2 isolat <i>South Sulawesi</i></b>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Titer antibodi HI protektif pada kelompok ayam untuk AI LPAI adalah  $\geq 2^7$  dan tidak kurang dari 90%, sedangkan ayam kontrol (tidak divaksin) menunjukkan 100% titer  $< 2^2$  (FOHI, 2013; OIE, 2012; OIE, 2015). Hasil titer antibodi HI terhadap AI H9N2 isolat Sidrap  $\geq 7 \log_2$  dicapai pada minggu ke 3 dengan capaian persentase 100%, sedangkan titer antibodi HI  $\geq 7 \log_2$  dapat dicapai pada minggu kedua dengan capaian 100% terhadap antigen yang menggunakan isolat *South Sulawesi*. Titer antibodi HI yang dihasilkan oleh AI H9N2 isolat Sidrap dan isolat *South Sulawesi* telah sesuai dengan OIE dan FOHI. Capaian titer antibodi HI protektif terhadap AI H9N2 pada isolat Sidrap pada minggu kedua hanya mencapai 60% pada kelompok ayam yang divaksinasi tetapi pada minggu ketiga sudah mencapai 100%, sedangkan pada isolat *South Sulawesi* capaian titer antibodi HI pada kelompok ayam yang divaksinasi sudah mencapai 100% pada minggu kedua, hal ini menandakan bahwa vaksin bivalen ND LaSota-AI H9N2 isolat Sidrap juga mampu memberikan

respon imun dan mempunyai titer antibodi HI yang baik pada virus AI H9N2 isolat *South Sulawesi*.

Vaksinasi pada ayam adalah metode yang paling efektif dan optimal untuk memerangi infeksi ND dan AI H9N2 (Jafari *et al.*, 2017). Penelitian yang dilakukan Ali *et al.* (2017) menunjukkan vaksin multivalen memberikan respon imun yang lebih baik dibanding dengan vaksin monovalen. Vaksin bivalen ND-AI saat ini sangat diperlukan karena lebih efektif dan efisien dalam pemberian vaksin sehingga dapat mencegah stres pasca vaksinasi serta dapat menekan biaya produksi peternakan ayam. Penelitian vaksin bivalen ND-AI H9N2 yang dilakukan di Iran menunjukkan bahwa vaksin bivalen ND-AI H9N2 mampu menginduksi respon imun (Jafari *et al.*, 2017). Di China, vaksin bivalen ND-AI H9N2 mampu menginduksi respon imun tinggi dan berkepanjangan, dan potensial digunakan pada peternakan unggas untuk mencegah dan mengontrol penyakit ND dan AI H9N2 (Zhao *et al.*, 2017). Menggunakan kombinasi lebih dari satu organisme dalam pembuatan vaksin akan dapat pula mempengaruhi efektivitas vaksin dalam menginduksi pembentukan titer antibodi yang protektif (Kencana dkk, 2015).

## **IV. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **IV.1 KESIMPULAN**

Hasil pemeriksaan respon imun pada ayam SPF yang divaksin dengan vaksin bivalen ND-AI H9N2 isolat Sidrap dapat memberikan respon imun terhadap AI H9N2 isolat Sidrap dan juga terhadap AI H9N2 isolat *South Sulawesi*.

### **IV.2 SARAN**

Perlu dilakukan pemeriksaan respon imun dengan beberapa virus/antigen isolat lain untuk mengetahui efektivitas vaksin bivalen ND-

AI H9N2 terhadap virus/antigen AI H9N2 isolat lainnya, perlu dilakukan ujiantang ayam SPF yang telah divaksinasi terhadap virus AI H9N2 yang virulen dan dilanjutkan dengan uji lapang.

## V. DAFTAR PUSTAKA

- Ali, Z.M., Hassan, M.A.E.M, Hussein, A.H., Ahmed, B.M., and El Sanousi, A.A.E.G. 2017. "Protective Efficacy of Combined Trivalent Inactivated ISA 71 Oil Adjuvant Vaccine against Avian Influenza Virus Subtypes ( H9N2 and H5N1 ) and Newcastle Disease Virus" 10: 1212–20. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1212-1220>.
- Cahyani, J.I. 2020. Perbandingan Efikasi dan Keamanan Vaksin Bivalen Newcastle Disease LaSota-Avian Influenza H9N2 Isolat Sidrap dengan Dua Adjuvan Minyak Berbeda dan Ditantang Virus Newcastle Disease Virulen. Tesis. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia.
- Elbestawy, A.R., Al-Owaimer, A., Gado, A.R., Swelum, A.A., El-Hamid, H.S.A., El-Hack, M.E.A., Saadeldin, I.M., Hafez, H.M., and Ellakany, H.F. 2018. "Interaction between Avian Influenza Subtype H9N2 and Newcastle Disease Virus Vaccine Strain (LaSota) in Chickens." *BMC Veterinary Research* 14 (1): 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1689-4>.
- Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid 1 (Sediaan Biologik). 2013. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. Jakarta.
- Fusaro, A., I. Monne, A. Salviato, V. Valastro, G. M. Ziay, O. A. Khan, N. M. Amarin, et al. 2011. "Phylogeography and Evolutionary History of Reassortant H9N2 Viruses with Potential Human Health Implications." *Journal of Virology* 85 (16): 8413–21. <https://doi.org/10.1128/jvi.00219-11>.
- Jafari, M., Pour, M.M., Taghizadeh, M., Masoudi, S., and Bayat, Z. 2017. "Comparative Assessment of Humoral Immune Responses of Aluminum Hydroxide and Oil- Emulsion Adjuvants in Influenza ( H9N2 ) and Newcastle Inactive Vaccines to Chickens" 1401. <https://doi.org/10.3109/21691401.2015.1129626>.
- Jonas, M., Sahesti, A., Murwijati, T., Lestariningsih, C. L., Irine, I., Ayesda, C. S., Prihartini, W., Mahardika, G. N. 2018. Identification of avian influenza virus subtype H9N2 in chicken farms in Indonesia. *Preventive Veterinary Medicine*, 159, 99–105. doi:10.1016/j.prevetmed.2018.09.003
- Kencana, G.A.Y., Suartha, N., Simbolon, M.P., Handayani, A.N., Ong, S., Syamsidar, Kusumasturi, A. 2015. Respon Antibodi Terhadap Penyakit Tetelo pada Ayam yang Divaksin Tetelo dan Tetelo-Flu Burung. *Jurnal Veteriner* 16 (2): 283-290.
- Kencana, G.A.Y, I.N Suartha, N.MAS Paramita, and AN Handayani. 2017. "Vaksin Kombinasi Newcastle Disease Dengan Avian Influenza Memicu Imunitas Protektif Pada Ayam Petelur Terhadap Penyakit Tetelo Dan Flu Burung (COMBINED NEWCASTLE DISEASE (ND) AND AVIAN

- INFLUENZA (AI) VACCINES INDUCE PROTECTIVE IMMUNE RESPONSE IN COMMERCIA.” *Jurnal Veteriner* 17 (2): 257–64. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2016.17.2.257>.
- Lee, Dong-Hun, David E. Swayne, Poonam Sharma, Shafqat Fatima Rehmani, Abdul Wajid, Claudio Afonso, and David L. Suarez. 2016. “H9N2 Low Pathogenic Avian Influenza in Pakistan (2012–2015).” *Veterinary Record Open* 3 (1): e000171. <https://doi.org/10.1136/vetreco-2016-000171>.
- Muflihanah, Andesfha, E., Wibawa, H., Zenal, F. C., Hendrawati, F., Siswani, Wahyuni, Kartini, D., Rahayuningtyas, I., Hadi, S., Poermadjaja, B., Mukartini, S., Tjatur Rasa, F. S. 2017. Kasus pertama low pathogenic avian influenza subtype H9N2 pada peternakan ayam petelur di Kabupaten Sidrap, Sulawesi Selatan, Indonesia. *Diagnosa Veteriner*. 16(1):1-13.
- Nugroho, C. M. H. 2018. Karakterisasi Molekuler Gen Hemagglutinin Virus AI Subtipe H9N2 Yang di Isolasi Dari Ayam Layer di Pulau Jawa. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- OIE. 2012. Newcastle Disease, Chapter 2.3.4.1, Terrestrial Manual 2012.
- OIE. 2015. Avian Influenza, Chapter 2.3.4, Terrestrial Manual 2015. [Http://Www.Oie.Int/Fileadmin/Home/Eng/Health\\_standards/Tahm/2.03.04\\_AI.Pdf](Http://Www.Oie.Int/Fileadmin/Home/Eng/Health_standards/Tahm/2.03.04_AI.Pdf), diakses tanggal 4 April 2017.
- OIE. 2018. Newcastle Disease (Infection With Newcastle Disease Virus), Chapter 3.3.14, Terrestrial Manual 2018.
- OIE. 2018. Avian Influenza (Infection With Avian Influenza Viruses), Chapter 3.3.4, Terrestrial Manual 2018.
- Prabowo, D. 2003. Maternal Antibodi Anak Ayam Pelung yang Induknya Divaksin dengan Vaksin ND Kombinasi. *J Anim Prod* 5(1): 11-18.
- Su, Shuo, Yuhai Bi, Gary Wong, Gregory C. Gray, George F. Gao, and Shoujun Li. 2015. “Epidemiology, Evolution, and Recent Outbreaks of Avian Influenza Virus in China.” *Journal of Virology* 89 (17): 8671–76. <https://doi.org/10.1128/jvi.01034-15>.
- Swayne, D. E. 2016. The Merck Veterinary Manual 11<sup>th</sup> Edition. Merck & Co. Inc. Kenilworth, NJ, USA.
- Wakawa, A. M., P. A. Abdu, J. U. Umoh, S. Lawal, and R. B. Miko. 2009. “Serological Evidence of Mixed Infections with Avian Influenza and Newcastle Disease in Village Chickens in Jigawa State, Nigeria.” *Veterinarski Arhiv* 79 (2): 151–55. <http://www.cabdirect.org/abstracts/20093142333.html>
- Zhao, Jing, Huiming Yang, Hongjun Xu, Zengbin Ma, and Guozhong Zhang. 2017. “Efficacy of an Inactivated Bivalent Vaccine against the Prevalent Strains of Newcastle Disease and H9N2 Avian Influenza.” *Virology Journal* 14 (1): 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0723-7>.

**SURVEILANS PMK BERBASIS RISIKO SEBAGAI UPAYA  
PEMBUKTIAN KETIDAKBERADAAN PENYAKIT MULUT DAN KUKU  
DI INDONESIA TAHUN 2020.**

Faizal Zakariya<sup>1</sup>, Sapto Rini Budi Prasetyowati<sup>1</sup>, Dwi Kurnia Lestari<sup>1</sup>,  
Rosmalina Sari Dewi Daulay<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Pusat Veteriner Farma

**ABSTRAK**

Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) telah menjadi penyakit yang endemik di sebagian besar negara di Dunia, Indonesia adalah salah satu negara di Asia yang saat ini masih dinyatakan bebas PMK oleh lembaga kesehatan hewan dunia (OIE). Sebagai upaya pembuktian ketidakberadaan PMK, pemerintah Indonesia melaksanakan Surveilans PMK berbasis risiko (*risk base surveillance*) secara sistematis, terpadu dan berkelanjutan. Tujuan Surveilans PMK Tahun 2021 adalah untuk pembuktian ketidakberadaan penyakit PMK di Indonesia, deteksi dini dan respon dini terhadap PMK.

Populasi sampling adalah kabupaten/ kota yang berisiko tinggi (bertetangga/berbatasan langsung dengan negara terinfeksi, daerah yang memiliki peternakan babi dengan pemberian pakan *swillfeeding* dan peternakan sapi yang berada disekitarnya, wilayah dengan Pelabuhan dan atau Bandara Internasional, wilayah yang mendapatkan daging *illegal* atau distribusi daging impor dari India dan atau negara yang bebas PMK dengan vaksinasi). Sebanyak 2713 sampling individu ternak dari 45 kabupaten/kota berisiko, dilakukan pengujian baik identifikasi antibodi, dengan non spesifik protein *Enzym Linkage Immunosorbent Assay* (NSP ELISA) PMK sebanyak 3.664 sampel dan Antigenik PMK dengan metode uji *real time Polymerase Chain Reaction* (rtPCR) sebanyak 44 sampel, Hasil dari semua pengujian menunjukkan seronegatif PMK dan diagnosa Negatif PMK.

Hasil Surveilans PMK berbasis risiko Tahun 2020 membuktikan bahwa wilayah Indonesia masih berstatus Bebas PMK tanpa vaksinasi. Pelaksanaan pengamatan wilayah di Indonesia terhadap PMK terus dilakukan dengan mengedepankan pelaporan negatif PMK iSIKHNAS dan pengawasan pemasukan daging ilegal atau tentengan dari negara tertular melalui Badan Karantina Pertanian.

Kata Kunci: *risk base surveillance*, PMK, *swill feeding*

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Penyakit mulut dan kuku merupakan salah satu penyakit yang paling *contagius* yang menyebabkan kerugian ekonomi yang sangat besar. Tingkat morbiditas Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) sangat tinggi akan tetapi tingkat mortalitasnya pada pada hewan yang dewasa sangat rendah, tapi sering menyebabkan mortalitas tinggi pada hewan muda karena *myocarditis*. Sapi selalu menjadi hospes utama meskipun beberapa *strain* bisa muncul pada babi, kambing dan domba. Satwa liar yang pernah dilaporkan tertular PMK adalah kerbau Afrika (*African Buffalo*).

Indonesia dinyatakan sebagai Negara bebas PMK pada tahun 1986 melalui Surat Keputusan Menteri Pertanian No.260/1986 dan kemudian diakui oleh OIE pada tahun 1990 dengan Resolusi Nomor XI, dan sampai saat ini status bebas tersebut masih dapat dipertahankan dengan diterbitkannya resolusi OIE secara berkala setiap tahun dan terakhir adalah resolusi OIE nomor 22 pada tahun 2018 dan resolusi OIE nomor 015 tahun 2019, untuk terbitnya resolusi OIE Indonesia bebas PMK tahun 2020, diperlukan adanya pertanggungjawaban pemerintah Indonesia untuk melakukan surveilans PMK yang terstruktur, sistematis, terpadu dan terus menerus di tahun 2020.

### B. Rumusan Masalah.

Melakukan surveilans PMK dengan pendekatan berbasis risiko (*risk based surveillance*), sehingga lebih memiliki nilai sensitifitas dan spesifisitas surveilans yang tinggi. Surveilans PMK di Indonesia berbasis risiko (*risk base surveillance*) adalah dengan melakukan pengambilan spesimen baik serum dan plasma darah dari hewan peka dan atau *swill feeding* pada populasi berisiko tertular sehingga dapat mencapai sensitifitas (probabilitas mendeteksi penyakit) yang lebih tinggi dengan ukuran sampel yang lebih kecil.

### C. Tujuan

Tujuan kajian observasional studi ini adalah untuk pembuktian ketidakberadaan penyakit PMK di Indonesia dan melakukan deteksi dini dan respon terhadap penyakit PMK di Indonesia dengan pendekatan berbasis risiko.

### D. Manfaat.

Surveilans PMK berbasis risiko di Indonesia Tahun Anggaran 2020 diharapkan dapat memperkuat justifikasi pada lembaga kesehatan hewan dunia (OIE) dan sebagai bukti pada dunia Internasional bahwa Indonesia masih berstatus bebas PMK dan diharapkan Indonesia dapat berperan dalam perdagangan dunia terutama terhadap eksportasi bahan asal hewan dan atau bahan olahan asal hewan terutama dari komoditas hewan berkuku belah di dunia Internasional.

### E. Tinjauan Pustaka

Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) disebabkan oleh virus Foot and Mouth Disease (FMD) yang masuk dalam kelompok enterovirus dari famili *Picornaviridae*, Genus *Aphthovirus* (MacLachlan and Dubovi 2017). Picornavirus masuk dalam virus kelas IV, memiliki genom plus-strand-RNA yang berfungsi sebagai mRNA. Terdapat tujuh tipe virus PMK, yakni A, O, C, Asia, *South African Territory* (SAT) 1, 2, 3. Setiap tipe virus PMK masih terbagi lagi menjadi sub tipe dan galur (*strain*). Virus penyebab PMK ini berdiameter 10 – 20 milimikron dan terbentuk dari *Ribonucleic acid* (RNA) serta diselubungi oleh protein. Apabila ada sel yang terinfeksi oleh virus PMK maka akan membentuk protein virus dan terjadi perbanyakan RNA virus.

Transmisi virus melalui kontak langsung antara hewan yang infeksi dan peka. Kontak langsung hewan yang terkontaminasi dengan bahan/alat yang terkontaminasi (tangan, sepatu, baju, peralatan dll). Pemberian pakan tanpa perlakuan berupa produk daging yang terkontaminasi virus khususnya pada babi, minum susu yang terkontaminasi, inseminasi buatan menggunakan semen

yang terkontaminasi, menghirup udara yang terkontaminasi (*airborne*) pada suhu yang sesuai biasanya mencapai 60 km di darat dan 300 km jika lewat laut.

Hewan yang terinfeksi baik pada masa inkubasi maupun sudah menunjukkan gejala klinis merupakan sumber penularan. Penularan dari pernafasan, saliva, feses, *urine*, susu, dan semen sampai 4 hari sebelum gejala klinis muncul. Selain itu penularan bisa dari daging dan produknya dengan pH di atas 6. Hewan karier yang sudah sembuh mengandung virus FMDV yang bertahan pada *oropharynx* lebih dari 28 hari. *Carrier* rata rata 15-50 % dari populasi tertular.

Virus FMD relatif tahan dalam lingkungan/alam yang juga tergantung pada kondisi suhu dan tingkat kemasaman lingkungan. Virus FMD lebih stabil dan infeksiif jika virus masih berada di dalam lapisan kulit, cairan lendir dan terhindar dari paparan sinar matahari atau pada suhu relatif rendah di lingkungan. Virus FMD dalam aerosol kurang stabil, tetapi pada kondisi kelembaban tinggi virus dapat bertahan hidup dalam waktu lama (McLachlan and Dubovi 2017). Stabilitas virus FMD tertinggi pada pH 7,4-7,6 tetapi segera mati pada PH asam. Virus FMD mati dengan desinfektan yang mengandung sodium carbonate/ washing soda (Pereira and Wildy 1974; Haskell 2014), sehingga desinfektan tersebut sangat baik digunakan untuk dekontaminasi.

## II. MATERI DAN METODA

### A. Surveilans Pembuktian Status Bebas Penyakit Mulut dan Kuku di Indonesia

Surveilans Pembuktian Status Bebas Penyakit Mulut dan Kuku di Indonesia Tahun Anggaran 2020 dilakukan dengan deteksi penyakit (*detect disease*) dengan metode berbasis risiko (*risk base Surveillans*) terutama pada peternakan dan wilayah disekitarnya yang menerapkan metode pemeliharaan dengan memberikan makanan sisa (*swill feeding*).

Pemberian pakan ternak dengan makanan sisa (*swill feeding*) di Inggris tahun 2001 telah mengakibatkan wabah penyakit Mulut dan Kuku dengan



kerugian ekonomi sebesar 3,1 Miliar Ponds sterling (Thompson D et all, 2001).

## **B. Metodologi**

Populasi sasaran yang akan disurvei pada surveilans PMK 2020 ini adalah daerah kabupaten/ kota yang berisiko tinggi yaitu daerah yang dianggap berisiko terpilih adalah daerah yang bertetangga/ berbatasan langsung dengan negara terinfeksi, daerah yang memiliki peternakan babi dengan pemberian pakan *swillfeeding* dan peternakan sapi yang berada disekitarnya, daerah dengan Pelabuhan dan Bandara Internasional, daerah yang mendapatkan daging *illegal* dan daerah yang mendapat distribusi daging impor dari India dan atau negara yang bebas PMK dengan vaksinasi.

Penentuan Kab/Kota terpilih dilakukan berdasarkan hasil skoring kuesioner yang diajukan di tiap Provinsi dengan pendekatan 1) Kab/Kota yang terdapat peternakan babi dengan *swill feeding* dan peternakan sapi yang berada di sekitarnya; 2) Kab/Kota yang Berbatasan dengan negara tertular PMK; 3) Kab/Kota dengan sebaran daging import dari India; dan 4) Kab/Kota yang banyak kunjungan wisata internasional terutama negara yang belum bebas PMK. Hewan yang peka terhadap penyakit mulut dan kuku sebagai target sampel yaitu sapi, babi, kambing, domba dan Kerbau.

Cara perhitungan besaran sampel Kab/Kota terpilih dan sampel uji ditentukan dengan perhitungan statistik menggunakan *toolbox* "<http://epitools.ausvet.com.au/content.php?page=FreeCalc2>". *Toolbox* ini digunakan supaya jumlah sampel yang harus diambil bisa mewakili jumlah populasi secara proporsional sesuai target yang ditentukan. Hasil perhitungan *toolbox epitools* adalah sampel yang dibutuhkan pada kabupaten berisiko adalah adalah 45. Dalam 1 kabupaten diambil pada 3 lokasi, masing-masing lokasi 18 sampel.

Waktu surveilans aktif dilaksanakan hingga Oktober 2020, namun tidak menutup kemungkinan adanya sampel pasif dari laporan masyarakat atau

instansi terkait terhadap adanya sindromatik yang mengarah pada PMK yang tetap akan diterima dan diuji diluar batas waktu yang telah ditentukan.

### **C. Prosedur Pengujian**

Prosedur pengujian PMK dilakukan dengan deteksi antigenik PMK melalui pengujian *Conventional Polimerase Chain Reaction* (cPCR) pada sampel yang didapatkan berupa plasma sel darah dan atau swab *swill feeding*, lepuh pada rongga mulut, lidah atau lipatan telapak kaki.

Deteksi antibody PMK dilakukan dengan metode uji ELISA NSP PMK yang digunakan untuk mendeteksi adanya kandungan antibodi terhadap protein non-struktural NSP PMK dalam serum hewan yang peka PMK. Metode uji ELISA NSP PMK dilakukan dengan prosedur produsen uji ELISA PMK Priocheck® FMDV NS ELISA *Blocking*

## **III. HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **A. Hasil Surveilans Pada Daerah Berisiko**

Hasil surveilans pada daerah berisiko PMK didapatkan bahwa terdapat 45 Kab/Kota berisiko dari 32 Provinsi dengan jumlah sampel individu hewan sebanyak 2753 sampel serum seronegatif PMK. Rincian Hasil surveilans pada daerah berisiko PMK dapat dilihat pada tabel 1

**Tabel 1.** Data sampel yang masuk dan hasil uji sampel dari Kabupaten/Kota berisiko

No	PROP	KAB/KOTA BERISIKO TERPILIH	$\Sigma$ Kab/ Kota	JUMLAH SERUM (Sampel)			DI UJI	HASIL UJI (Sampel)		KET	
				TARGET	REALISASI			Pos	Neg		
					Babi	Sapi					Kb
1	Jatim	Malang	2	54	50	7	-	57	-	57	
		Blitar		54	20	60	-	80	-	80	
2	Jateng	Karanganyar	3	54	39	17	-	56	-	56	
		Boyolali		54	-	54	-	54	-	54	
		Sukoharjo		54	22	38	-	60	-	60	
3	DIY	Bantul	1	54	-	54	-	54	-	54	
4	Jabar	Bogor	2	54	-	41	61	102	-	102	Domba 61
		Kerawang		54	50	-	-	50	-	50	
5	Banten	Kota Tangerang	1	54	74	-	-	74	-	74	
6	DKI Jakarta	Kota Jakbar	1	54	121	-	-	121	-	121	Swab 12+10
7	Sumut	Kota Medan	1	54	60	-	-	60	-	60	
8	Sumsel	Kota Palembang	1	54	-	30	-	30	-	30	
9	Kep. Babel	Belitung	1	54	64	-	-	64	-	64	
10	Lampung	Kota Bandar Lampung	1	54	5	-	-	5	-	5	
11	Riau	Kota	2	54	60	-	-	60	-	60	

No	PROP	KAB/KOTA BERISIKO TERPILIH	Σ Kab/ Kota	JUMLAH SERUM (Sampel)			DI UJI	HASIL UJI (Sampel)		KET	
				TARGET	REALISASI			POS	NEG		
					Babi	Sapi					Kb
		Pekanbaru									
		Kota Dumai		54	25	30	-	55	-	55	
12	Sumbar	Kota Padang	1	54	-	55	-	55	-	55	
13	Kepri	Kota Batam	1	54	-	20	-	20	-	20	
14	Jambi	Kota Jambi	1	54	-	55	-	55	-	55	
15	Kaltara	Tarakan	2	54	57	19	-	76	-	76	
		Nunukan		54	8	72	-	80	-	80	
16	Kalbar	Kota Pontianak	3	54	34	-	-	34	-	34	Swab 2
		Kota Singkawang		54	49	11	7	67	-	67	Kambing 7
		Sanggau		54	68	-	-	68	-	68	Swab 3
17	Kaltim	Bontang	2	54	52	13	-	63	-	63	Sampel TI 2
		Kota Samarinda		54	50	14	-	64	-	64	
18	Kalteng	Barito Timur	1	54	51	16	-	67	-	67	
19	Kalsel	Banjar Baru	1	54	40	-	-	40	-	40	
20	Bali	Kota Denpasar	1	54	60	-	-	60	-	60	
21	NTB	Lombok Barat	1	54	60	-	-	60	-	60	

22	NTT	Manggarai Barat	1	54	61	-	-	61	-	61	
23	Sulut	Kota Manado	2	54	51	9	-	60	-	60	
		Kota Tomohon		54	128	-	-	128	-	128	
24	Gorontalo	Kota Gorontalo	1	54	-	60	-	60	-	60	
25	Sultra	Kota Kendari	2	54	-	66	-	66	-	66	
		Kota Baubau		54	10	47	-	57	-	57	
26	Sulbar	Kota Mamuju	1	54	-	60	-	60	-	60	
27	Sulteng	Kota Palu	1	54	-	40	-	40	-	40	
28	Sulsel	Kab. Maros	1	54	-	-	11	11	-	11	Kambing 11
29	Maluku	Kota Ambon	1	54	18	47	-	60	-	60	Lisis 5
30	Malut	Kota Ternate	1	54	-	105	-	105	-	105	
31	Papua	Kab. Mimika	2	54	65	-	-	65	-	65	
		Kab. Jayapura		54	79	-	-	79	-	79	
32	Papua Barat	Kab. Manokwari	2	54	-	60	-	60	-	60	
		Kota Sorong		54	-	50	-	50	-	50	
<b>JUMLAH</b>			<b>45</b>	<b>2.430</b>	<b>1.531</b>	<b>1.150</b>	<b>79</b>	<b>2.753</b>	<b>0</b>	<b>2.753</b>	

BBVF PUSVETMA

Hasil pengujian surveilans pasif kiriman BBVet/BVet (Dinas yang membidangi fungsi Kesehatan Hewan serta Unit Pelaksana Teknis Karantina Pertanian) dapat dilihat pada tabel 2.



**Tabel 2.** Hasil pengujian surveilans pasif kiriman BBVet/BVet, Dinas yang membidangi fungsi Kesehatan Hewan serta Unit Pelaksana Teknis Karantina Pertanian.

No	PROP.	KAB/KOTA BERISIKO PASIF	Σ Kab/ Kota	JUMLAH SERUM (Sampel)			DIUJI	HASIL UJI (Sampel)		KET.	
				Target	REALISASI			Pos	Neg		
					Babi	Sapi					Kb
1	Riau	Pelalawan	1	-	-	22	-	22	22 Swab		
2	DKI Jakarta	Kota Jaktim	1	-	-	31	5	36	-	36	Kerbau 5
3	Sulsel	Enrekang	1	-	-	35	-	35	-	35	
4	Kalbar	Kubu Raya	1	-	-	33	-	33	-	33	
		Bekasi	1	-	-	41	-	41	-	41	
5	Jabar	Cirebon	1	-	-	150	-	150	-	150	
		Tasikma laya	1	-	-	151	-	151	-	151	Konfirmasi
		Bandung	1	-	-	155	-	155	-	155	
		Kuningan	1	-	-	55	-	55	-	55	
6	Sumsel	Ogan Komerling Ilir	1	-	-	51	-	51	-	51	
7	Sulteng	Sigi	1	-	-	28	-	28	-	28	
		Buol	1	-	-	34	-	34	-	34	
8	Kalbar	Kapuas Hulu	1	-	-	60	-	60	-	60	Bvet Bjb

9	Maluku	Maluku Tengah	1	-	-	60	-	60	-	60	Karantina
<b>JUMLAH</b>			<b>14</b>	<b>-</b>	<b>208</b>	<b>698</b>	<b>5</b>	<b>911</b>		<b>911</b>	

**Keterangan:**

Jumlah total sampel yang masuk, surveilans aktif 2.760 dan surveilans pasif 911, sehingga jumlah keseluruhan 3.671 sampel serum. Sampel teruji 3.664 sampel karena 7 sampel serum tidak dapat diuji (karena dua serum tanpa identitas dan lima serum lisis). Pengujian sampel serum NSP PMK dari kab. Pelalawan dilakukan berdasarkan hasil investigasi *syndromic Surveilans* dengan gejala lepuh-lepuh pada kaki dan terdapat kematian pada satu ekor sapi. Sampel dari Tasikmalaya merupakan sampel uji konfirmasi. Sampel dari RPH Kapuk merupakan sampel aktif karena pada tahun sebelumnya ada kasus *suspect*

**BBVF PUSVETMA**



## **B. Hasil Sero Surveilans Pada Propinsi Yang Menerima Distribusi Daging Kerbau Dari India**

Propinsi yang mendapat distribusi daging kerbau adalah propinsi Aceh, Sumatera Utara, Kepulauan Riau, Jambi, Sumatera Selatan, DKI, Jawa Barat, Banten, Jawa Tengah, DI Yogyakarta, Bali, Nusa Tenggara Barat, Sulawesi Selatan, Kalimantan Barat, Kalimantan Timur, Kalimantan Selatan. Hasil surveilans pada propinsi yang menerima distribusi daging dari India sebanyak 16 propinsi dan dengan tingkat kepercayaan 95% sebanyak 1.877 sampel aktif dan 127 sampel pasif sehingga total 2004 sampel hasilnya negatif terhadap antibodi PMK yang ditunjukkan dalam table sebagai berikut:



**Tabel 3.** Hasil uji sampel dari provinsi yang menerima distribusi daging kerbau dari India pada tahun 2020.

No	PROP	KAB/KOTA BERISIKO TERPILIH	Σ	JUMLAH SERUM			DIUJI	HASIL UJI (Sampel)		KET	
				Target	REALISASI			Pos	Neg		
					Babi	Sapi					Kb
1	Jateng	Karanganyar	3	54	39	17	-	56	-	56	
		Boyolali		54	-	54	-	54	-	54	
		Sukoharjo		54	22	38	-	60	-	60	
2	DIY	Bantul	1	54	-	54	-	54	-	54	
3	Jabar	Bogor	7	54	-	41	61	102	-	102	Domba 61
		Kerawang		54	50	-	-	50	-	50	
		Bekasi		-	41	-	-	41	-	41	
		Cirebon		-	-	150	-	150	-	150	
		Tasikmalaya		-	-	151	-	151	-	151	Konfirmas i
		Bandung		-	-	155	-	155	-	155	
4	Banten	Kota Tangerang	1	54	74	-	-	74	-	74	
		Kota Jakbar		2	54	121	-	-	121	-	121
5	DKI Jakarta	Kota Jaktim	2	-	-	31	5	36	-	36	Kerbau 5
		Kota Medan		1	54	60	-	-	60	-	60
7	Sumsel	Kota Palembang	2	54	-	30	-	30	-	30	
		Ogan Komering Ilir		-	51	-	-	51	-	51	

8	Kepri	Kota Batam	1	54	-	20	-	20	-	20	
9	Jambi	Kota Jambi	1	54	-	55	-	55	-	55	
No	PROP	KAB/KOTA BERISIKO TERPILIH	Σ	JUMLAH SERUM			Di UJI	HASIL UJI (sampel)		KET	
				TARGET	REALISASI			Pos	Neg		
					Babi	Sapi					Kb
10	Kalbar	Kota Pontianak	5	54	34	-	-	34	-	34	
		Singkawang		54	49	11	7	67	-	67	
		Sanggau		54	68	-	-	68	-	68	
		Kubu Raya		-	33	-	-	33	-	33	
		Kapuas Hulu		-	-	60	-	60	-	60	BVet Bjbr
11	Kaltim	Bontang	2	54	52	13	-	63	-	63	2 sampel TI
		Kota Samarinda		54	50	14	-	64	-	64	
12	Kalsel	Banjar Baru	1	54	40	-	-	40	-	40	
13	Bali	Kota Denpasar	1	54	60	-	-	60	-	60	
14	NTB	Lombok Barat	1	54	60	-	-	60	-	60	
15	Sulsel	Maros	2	54	-	-	11	11	-	11	
		Kab. Enrekang		-	-	35	-	35	-	35	
16	Sulteng	Kab. Buol	1	-	-	34	-	34	-	34	
<b>Jumlah</b>			<b>32</b>	<b>1.134</b>	<b>959</b>	<b>963</b>	<b>84</b>	<b>2.004</b>	<b>0</b>	<b>2.004</b>	

BBVF PUSVETMA

## C. Pemeriksaan Sampel Terhadap Antigen PMK dengan Metode Real Time PCR dan PCR konvensional

### C.1 Sampel Kasus Sidromik PMK Pelalawan

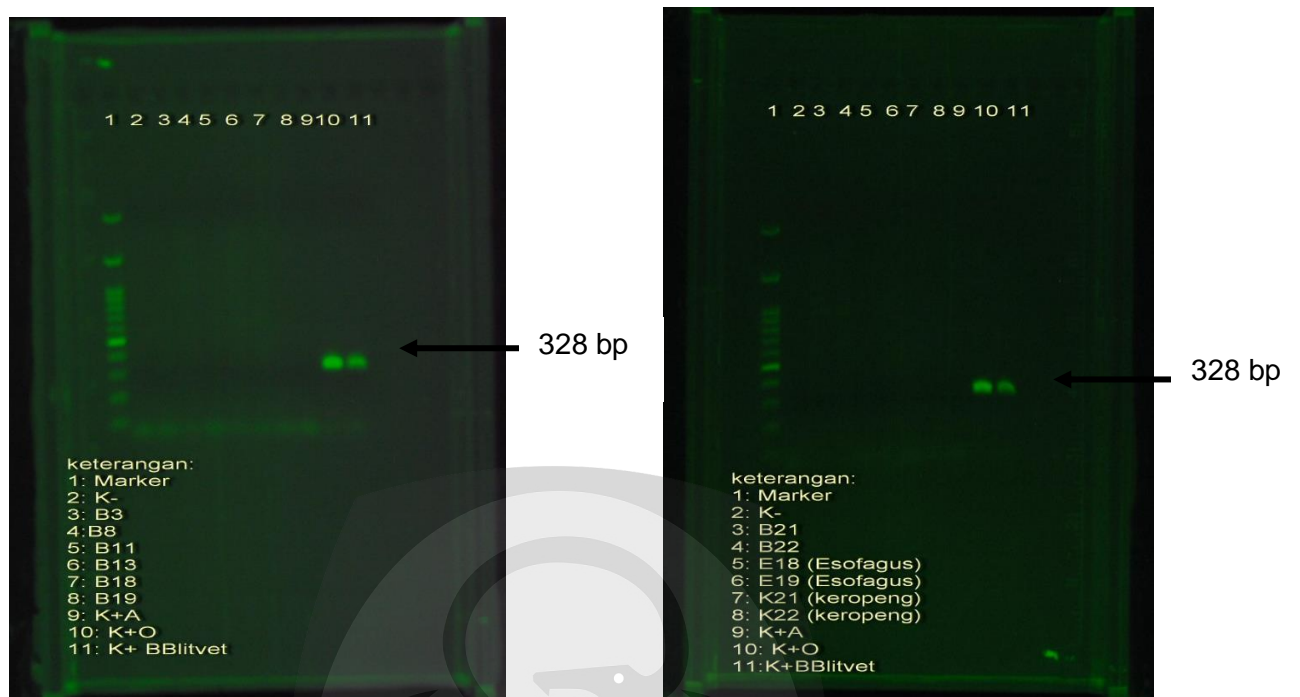
Sampel berasal dari kasus suspek sindromik Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) oleh tim Pusat Veteriner Farma Surabaya (Pusvetma) di Kabupaten Pelalawan 16 Januari 2020. Sampel yang diuji berupa swab 3 sampel, probang 2 sampel, darah utuh 17 sampel sehingga jumlah total 22 sampel.

**Tabel 4.** Hasil Uji PCR secara realtime dengan primer 3D

No.	Nama Sampel	Jenis Sampel	Ct	Hasil
1.	B 3	Darah	Undet	Negatif
2.	B 8	Darah	Undet	Negatif
3.	B 11	Darah	Undet	Negatif
4.	B 13	Darah	Undet	Negatif
5.	B 18	Darah	Undet	Negatif
6.	B 19	Darah	Undet	Negatif
7.	B 21	Darah	Undet	Negatif
No.	Nama Sampel	Jenis Sampel	Ct	Hasil
8.	B 22	Darah	Undet	Negatif
9.	E 18	Swab	Undet	Negatif
10.	E 19	Swab	Undet	Negatif
11.	K 21	Keropeng	Undet	Negatif
12.	K 22	Keropeng	Undet	Negatif
13.	K + serotype A ( $10^{-1}$ )	Kontrol Positif	31.662	Positif
14.	K + serotype O ( $10^{-1}$ )	Kontrol Positif	22.361	Positif
15.	K+ sintetik realtime BVet Subang ( $10^{-6}$ )	Kontrol Positif	25.6011	Positif
16.	K-	Kontrol Negatif	Undet	Negatif
17.	NTC	No Template Control	Undet	Negatif

**Tabel 5.** Hasil Pengujian Identifikasi Antigenik PMK *conventional* PCR (cPCR) sampel Investigasi Kasus Suspek Sindromik PMK di Kabupaten Pelalawan Provinsi Riau

No.	Asal Sampel	Sampel	Jumlah	cPCR
1.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_2	Darah (EDTA)	1	Negatif
2.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_3	Darah (EDTA)	1	Negatif
3.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_4	Darah (EDTA)	1	Negatif
4.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_6	Darah (EDTA)	1	Negatif
5.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_7	Darah (EDTA)	1	Negatif
6.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_8	Darah (EDTA)	1	Negatif
7.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_11	Darah (EDTA)	1	Negatif
8.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_12	Darah (EDTA)	1	Negatif
9.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_13	Darah (EDTA)	1	Negatif
10.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_14	Darah (EDTA)	1	Negatif
11.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_15	Darah (EDTA)	1	Negatif
12.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_16	Darah (EDTA)	1	Negatif
13.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_18	Darah (EDTA)	1	Negatif
14.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_19	Darah (EDTA)	1	Negatif
15.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_20	Darah (EDTA)	1	Negatif
16.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_21	Darah (EDTA)	1	Negatif
17.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_22	Darah (EDTA)	1	Negatif
18.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_19	Probang	1	Negatif
19.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_20	Probang	1	Negatif
No.	Asal Sampel	Sampel	Jumlah	cPCR
20.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_21	Swab	1	Negatif
21.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_22	Swab	1	Negatif
22.	Pelalawan/Kerumutan/Beringin Abadi_22	Swab	1	Negatif
<b>JUMLAH</b>			<b>22</b>	<b>Negatif</b>



**Gambar 1.** Hasil Visualisasi Uji Antigenik conventional PCR PMK Sampel Investigasi Kasus Suspek Sidromik PMK di Kabupaten Pelalawan, Provinsi Riau dengan intepretasi hasil uji sampel negative, pada besaran nilai kontrol positif 328 bp.

### C.2. Sampel Swab dari Kota Jakarta Barat

Pengambilan sampel swab dilakukan di RPH Kapuk karena pada tahun 2019 terdapat kasus suspek pada RPH tersebut untuk memastikan bahwa pada daerah tersebut tetap bebas dari PMK. Pengambilan sampel dilakukan oleh tim dari BVet Subang dan diserahkan ke Pusvetma pada tanggal 9 Juli 2020 sebanyak 12 pool swab babi dalam VTM dan tiap pool berisi 5 swab atau 60 sampel. Sampel diperiksa dengan metode Real time PCR dan PCR Konvensional.

**Tabel 6.** Hasil Pembacaan Uji PCR secara realtime dengan primer 3D

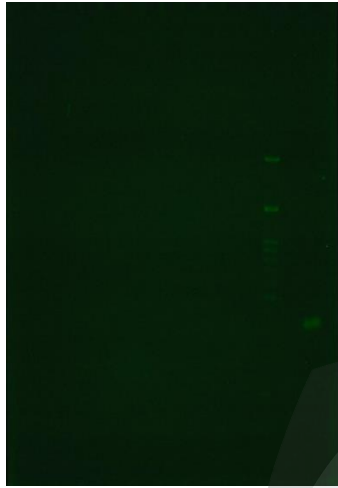
No.	Nama Sampel	Jenis Sampel	Ct	Hasil
1	Swab pool 13	Swab	Undet	Negatif
2	Swab pool 14	Swab	Undet	Negatif
3	Swab pool 15	Swab	Undet	Negatif
4	Swab pool 16	Swab	Undet	Negatif
5	Swab pool 17	Swab	Undet	Negatif
6	Swab pool 18	Swab	Undet	Negatif
7	Swab pool 19	Swab	Undet	Negatif
8	Swab pool 20	Swab	Undet	Negatif
9	Swab pool 21	Swab	Undet	Negatif
10	Swab pool 22	Swab	Undet	Negatif
11	Swab pool 23	Swab	Undet	Negatif
12	Swab pool 24	Swab	Undet	Negatif
13	K + serotype A ( $10^{-1}$ )	Kontrol Positif	31.2843	Positif
14	K + serotype O ( $10^{-1}$ )	Kontrol Positif	22.2648	Positif
15	K+ sintetik realtime BVet Subang ( $10^{-6}$ )	Kontrol Positif	24.3393	Positif
16	K-	Kontrol Negatif	Undet	Negatif
17	NTC	No Template Control	Undet	Negatif



**BBVF PUSVETMA**

## Pengujian PMK RT-PCR secara konvensional

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13



Keterangan gambar:

1. Swab pool 13
2. Swab pool 14
3. Swab pool 15
4. Swab pool 16
5. Swab pool 17
6. Swab pool 18
7. Swab pool 19
8. Swab pool 20
9. Swab pool 21
10. Swab pool 22
11. Swab pool 23
12. Swab pool 24
13. Marker
14. Kontrol negatif

**Gambar 2.** Hasil Visualisasi Uji Antigenik conventional PCR PMK Sampel dari Kota Jakarta Barat.

**Tabel 7.** Hasil Pengujian cPCR sampel Sampel PMK dari Kota Jakarta Barat

No.	Nama Sampel	Jenis Sampel	Hasil
1	Swab pool 13	Swab	Negatif
2	Swab pool 14	Swab	Negatif
3	Swab pool 15	Swab	Negatif
4	Swab pool 16	Swab	Negatif
5	Swab pool 17	Swab	Negatif
6	Swab pool 18	Swab	Negatif
7	Swab pool 19	Swab	Negatif
8	Swab pool 20	Swab	Negatif
9	Swab pool 21	Swab	Negatif
10	Swab pool 22	Swab	Negatif
11	Swab pool 23	Swab	Negatif
12	Swab pool 24	Swab	Negatif
13	K-	Kontrol Negatif	Negatif
14	K + serotype O	Kontrol Positif	Positif

Pada tanggal 9 November 2020 Bvet Subang mengantarkan ke Pusvetma untuk diuji PCR. Sampel berupa swab babi dalam VTM sebanyak 10 pool (tiap pool berisi 5



swab) dari RPH Kapuk. Uji PCR secara realtime dengan primer 3D dilakukan di Pusvetma pada tanggal 9 November 2020.

**Tabel 8.** Hasil uji sampel RPH Kapus bulan November metode *real time* PCR dengan primer 3D,

No.	Nama Sampel	Jenis Sampel	Ct	Hasil
1.	Pool 1 (1-5)	Swab	Undet	Negatif
2.	Pool 2 (6-10)	Swab	Undet	Negatif
3.	Pool 3 (11-15)	Swab	Undet	Negatif
4.	Pool 4 (16-20)	Swab	Undet	Negatif
5.	Pool 5 (21-25)	Swab	Undet	Negatif
6.	Pool 6 (26-30)	Swab	Undet	Negatif
7.	Pool 7 (31-35)	Swab	Undet	Negatif
8.	Pool 8 (36-40)	Swab	Undet	Negatif
9.	Pool 9 (41-45)	Swab	Undet	Negatif
No.	Nama Sampel	Jenis Sampel	Ct	Hasil
10.	Pool 10 (46-50)	Swab	Undet	Negatif
11.	K + serotype A	Kontrol Positif	27.7708	Positif
12.	K + serotype O	Kontrol Positif	19.9231	Positif
13.	K+ sintetik realtime BVet Subang	Kontrol Positif	14.862	Positif
14.	K+ sintetik konvensional BBlitvet	Kontrol Positif	Undet	Negatif

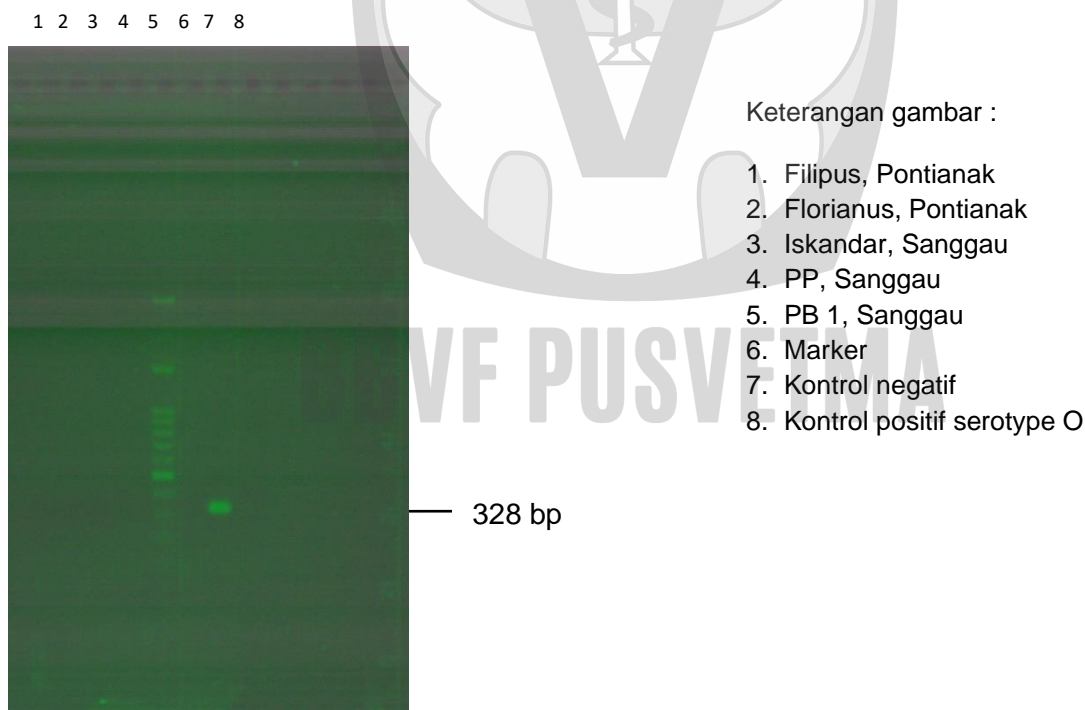
### C.3 Sampel Swab Pakan/*Swill Feeding* dari Kabupaten Sanggau dan Kota Pontianak

Pada tanggal 24 Agustus 2020 laboratorium PMK Pusvetma mengantarkan sampel dari Kab/Kota Sanggau dan Pontianak, Kalimantan Barat sebanyak 5 swab pakan/*swill feeding*. Dilakukan Uji PCR Konvensional di Pusvetma. Uji PCR secara *realtime* dengan primer 3D dilakukan di Pusvetma pada tanggal 19 November 2020.

**Tabel 9** Hasil Uji sampel *swill feeding* Kab, Sanggau dan kota Pontianak dengan metode *real time* PCR dengan primer 3D.

No.	Nama Sampel	Jenis Sampel	Ct	Hasil
1.	Filipus, Pontianak	Swab	Undet	Negatif
2.	Florianus, Pontianak	Swab	Undet	Negatif
3.	Iskandar, Sanggau	Swab	Undet	Negatif
4.	PP, Sanggau	Swab	Undet	Negatif
5.	PB 1, Sanggau	Swab	Undet	Negatif
6.	K + serotype A ( $10^{-1}$ )	Kontrol Positif	31.6104	Positif
7.	K + serotype O ( $10^{-1}$ )	Kontrol Positif	22.4036	Positif
8.	K+ sintetik realtime BVet Subang ( $10^{-6}$ )	Kontrol Positif	26.4228	Positif
9.	K-	Kontrol Negatif	Undet	Negatif
10.	NTC	<i>No Template Control</i>	Undet	Negatif

### Pengujian PMK PCR secara konvensional



**Gambar 3.** Hasil Visualisasi Uji Antigenik conventional PCR PMK Sampel Pakan / *Swill Feeding* dari Kabupaten Sanggau dan Kota Pontianak

**Tabel 10.** Data Hasil uji cPCR Sampel Swab Pakan / *Swill Feeding* dari Kabupaten Sanggau dan Kota Pontianak

No.	Nama Sampel	Jenis Sampel	Hasil
1	Filipus, Pontianak	Swab	Negatif
2	Florianus, Pontianak	Swab	Negatif
3	Iskandar, Sanggau	Swab	Negatif
4	PP, Sanggau	Swab	Negatif
5	PB 1, Sanggau	Swab	Negatif
6	Kontrol negative	Swab	Negatif
7	Kontrol positif serotype O	Swab	Positif

Pengujian PCR terhadap antigen PMK yang telah dilaksanakan sampai pada bulan Oktober 2020 adalah sampel dari Palelawan yang terdiri dari swab tiga sampel, probang dua sampel, darah utuh 17 sampel, 12 pool swab babi RPH Kapuk bulan Juli 2020 dan 10 swab bulan November 2020 dan lima swab sampel *swill feeding* dari Kab Sanggau dan Pontianak sehingga total jumlah 44 sampel.

#### IV. KESIMPULAN DAN SARAN

##### A. Kesimpulan

Sampai pada bulan November 2020, sampel yang diperoleh terdiri dari sampel deteksi antibodi berupa serum sebanyak 3.664 sampel dan sampel untuk deteksi antigen berupa swab, *probang*, plasma darah serta swab pakan *swillfeeding* sebesar 44 sampel, sehingga jumlah keseluruhan sampel yang diuji adalah 3.713 atau 123,77% dari target yang ditetapkan di RKAKL sebesar 3.000. Sampel berasal dari 45 kabupaten berisiko terpilih, dari 32 propinsi sesuai dengan kesepakatan hasil TM.

Seluruh hasil pemeriksaan sampel terhadap antibodi adalah negatif dengan tingkat kepercayaan 95 %. Hasil deteksi antigen PMK pada daerah berisiko tinggi yang dilakukan dengan metode *real time* PCR dan PCR konvensional dengan primer 3D (sesuai OIE 2018) adalah negatif pada semua sampel. Hal ini menunjukkan bahwa Indonesia masih bebas PMK.

## B. Saran

Untuk memperkuat pembuktian Indonesia bebas PMK, surveilans yang dilakukan tidak hanya sero Surveilans, namun perlu kombinasi dari berbagai metode surveilans seperti pelaporan masyarakat (yang dikenal dengan surveilans pasif), pelaporan negatif melalui perangkat iSIKHNAS yang dilakukan secara kontinu dan sistematis, surveilans di titik agregasi seperti pengamatan rutin di pasar hewan, di rumah potong dan di tempat2 dimana hewan bisa berkumpul (misalnya tempat penampungan pada saat menjelang iedul adha).

Untuk peningkatan kapasitas laboratorium rujukan PMK, maka dibutuhkan peningkatan kompetensi sumber daya manusia dengan menugaskan untuk mengikuti pelatihan di laboratorium rujukan regional serta pengadaan kontrol positif baik untuk PMK maupun penyakit diferensial diagnosa PMK dari laboratorium rujukan regional PMK.

## V. DAFTAR PUSTAKA.

- Cameron Angus. *Pedoman Surveilans Penyakit Hewan Tingkat Dasar*. 2011. Uni Africa
- Harada ,Y, Lekcharoensuk P, Furuta T, and Taniguchi T. (2015). *Inactivation of foot-and-mouth disease virus by commercially available disinfectants and cleaners*. *Biocon. Sci.* 20(3):205-208.
- Hartnett, E., Adkin A, Seaman, M., Cooper J., Watson E, Coburn H, England T, Marooney C, Anthony C, and Wooldridge M. (2007) *Kesiagaan Darurat Veteriner Indonesia. Seri: Penyakit Mulut dan Kuku (Kiat Vetindo PMK)*. Edisi 2.2. Jakarta (ID): Ditkeswan
- Sudarnika, Ancaman Masuknya Virus Penyakit Mulut dan Kuku Melalui Daging Ilegal di Entikong, Perbatasan Darat Indonesia dan Malaysia *The Threat of Foot and Mouth Disease Virus by the Illegal Meat Circulation at Entikong, a Borderland between Indonesia and Malaysia* Risma JP Silitonga<sup>1</sup> , Retno Damajanti Soejoedono<sup>2</sup> , Hadri Latif<sup>2</sup> , Etih Sudarnika, JSV 34 (2), DESEMBER 2016
- Thompson D, Muriel P, Russell D, Osborne P, Bromley A, Rowland M, Creigh-Tyte S, Brown C. *Economic costs of the foot and mouth disease outbreak in the United Kingdom in 2001*. *Rev Sci Tech Off Int Epiz.* 2002;21(3):675–87.