



Received: 28 Jan 2024; Accepted: 24 March 2024; Published: 7 April 2024

NEWCASTLE DISEASE AND AVIAN INFLUENZA IN BROILER THAT VACCINATED ON ONE DAY OLD

Newcastle disease dan avian influenza pada broiler yang telah divaksinasi pada umur satu hari

Ni Putu Dewi Setia Sari^{1*}, Ida Bagus Kade Suardana², Ida Bagus Oka Winaya³, Putu Henrywaesa Sudipa⁴, Nyoman Adi Suratma⁵

¹Mahasiswa Pendidikan Profesi Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

²Laboratorium Virologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

³Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

⁴Laboratorium Bakteriologi dan Mikrobiologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

⁵Laboratorium Parasitologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

*Corresponding author email: putudewisetia@gmail.com

How to cite: Sari NPDS, Suardana IBK, Winaya IBO, Sudipa PH, Suratma NA. 2024. Newcastle disease and avian influenza in broiler that vaccinated on one day old. *Vet. Sci. Med. J.* 6(04): 363-375. <https://doi.org/10.24843/vsmj.2024.v06.i04.p09>

Abstract

Newcastle disease and *Avian Influenza* are highly contagious viral diseases that can affect poultry with high mortality rates, and are zoonotic diseases that endanger humans. In this case study, broiler chickens aged 12 days were vaccinated at hatching and came from Yangapi Village, Tembuku, Bangli showed clinical symptoms of drooping neck or torticollis, no appetite, and greenish white diluted feces. Examinations are continued at each laboratory to obtain a definite diagnosis. The methods used are anatomical pathology examination, histopathology preparations, HA-HI examination, bacterial identification, and qualitative examination for paracites. The results of anatomical pathology examination found pathognomonic lesions, like ptechie in the proventriculus and ventriculus, enlargement and congestion in the lungs, hemorrhagic trachea, and hyperemic intestines. The results of histopathological examination showed marked changes with single-core inflammatory cells or lymphoid suggesting an infectious agent in the form of a virus. The results of the virology laboratory examination with the HA and HI test showed that the case chicken was positively infected by Newcastle Disease and Avian Influenza viruses. Bacteriology laboratory by culture of lung and intestinal organ samples was carried out on Nutrient Agar, followed by selective media Eosin Methylene Blue Agar, primary tests, gram staining, biochemical tests and sugar

tests until the results showed that *Escherichia coli* bacteria grew from the chicken intestines and were classified as normal flora. The results of the examination related to parasites in the feces of case chickens by qualitative methods, natif, sedimentation concentration, and floating were confirmed not to be found worm eggs or coccidia. From this case study, it can be concluded that the case chicken was infected with Newcastle Disease and Avian Influenza viruses.

Keywords: Pathological changes, Newcastle Disease, Avian Influenza; broiler

Abstrak

Newcastle disease (ND) dan *Avian Influenza* (AI) merupakan penyakit virus yang sangat menular yang dapat menyerang unggas dengan angka kematian yang tinggi, serta bersifat zoonosis yang membahayakan manusia. Pada studi kasus ini, *broiler* berumur 12 hari sudah vaksinasi yang berasal dari Desa Yangapi, Tembuku, Bangli menunjukkan gejala klinis leher terpluntir (*tortikolis*), penurunan nafsu makan, dan feses berwarna putih kehijauan. Pemeriksaan dilanjutkan ke setiap laboratorium untuk mendapatkan diagnosa definitif. Metode yang digunakan yaitu pemeriksaan patologi anatomi, preparat histopatologi, pemeriksaan HA-HI, identifikasi bakteri, serta pemeriksaan feses secara kualitatif. Hasil pemeriksaan patologi anatomi ditemukan lesi yang patognomonik yaitu *ptechie* pada proventrikulus dan ventrikulus, pembesaran dan kongesti pada paru-paru, trakea hemoragi, dan usus hiperemi. Hasil pemeriksaan histopatologi menunjukkan perubahan ditandai dengan ditemukannya sel-sel radang yang didominasi berinti sel satu (limfoid) yang menjurus disebabkan agen infeksius virus. Hasil pemeriksaan dari laboratorium virologi dengan uji HA/HI menunjukkan ayam kasus positif terinfeksi virus *Newcastle Disease* dan *Avian Influenza*. Pemeriksaan bakteri, dilakukan kultur sampel organ paru-paru dan usus pada media umum *Nutrient Agar* (NA), dilanjutkan dengan media selektif *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), uji primer, pewarnaan gram, uji biokimia dan uji gula-gula hingga didapati hasil terdapat bakteri *Escherichia coli* yang tumbuh dari usus ayam dan tergolong flora normal. Hasil pemeriksaan terkait parasit pada feses ayam kasus dengan metode kualitatif yaitu natif (langsung), konsentrasi sedimentasi, dan konsentrasi apung dipastikan tidak ditemukan telur cacing maupun *coccidia*. Dari studi kasus ini dapat disimpulkan bahwa ayam kasus terinfeksi virus *Newcastle Disease* dan *Avian Influenza*.

Kata kunci: Perubahan patologi; *Newcastle Disease*; *Avian Influenza*; broiler

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan jumlah penduduk terbanyak di dunia. Pertambahan penduduk menyebabkan kebutuhan pangan akan semakin meningkat. Produksi ayam pedaging (*broiler*) terus meningkat guna memenuhi kebutuhan protein asal hewani bagi masyarakat Indonesia (Umam et al., 2014). Usaha ternak ayam pedaging akan berhasil apabila peternak memiliki kemampuan manajemen yang baik, mulai dari manajemen produksi, keuangan, sumber daya manusia, hingga pada tahap pemasaran (Simanjuntak, 2018). Ayam pedaging yang memiliki penampilan dan kualitas yang bagus dapat dicapai dengan pemakaian bibit unggul, pemberian pakan berkualitas, serta sistem perkandangan yang memperhatikan kenyamanan dan kesehatan ternak (Puspani et al., 2012). Namun, peternakan ayam pedaging (*broiler*) tidak terlepas dari adanya risiko karena sewaktu-waktu timbul berbagai kendala contohnya wabah penyakit menular. Penyakit yang menyerang unggas salah satunya disebabkan oleh virus *Newcastle Disease* dan *Avian Influenza*.

Newcastle disease (ND) adalah penyakit yang sangat menular yang dapat menyerang unggas dengan angka kematian yang tinggi dan disebabkan oleh virus genus *Paramyxovirus*, famili *Paramyxoviridae* (Susanti et al., 2021). Di Indonesia penyakit ND dikenal dengan penyakit

tetelo, sedangkan di Bali disebut penyakit *gerubug*. Masa inkubasi dan gejala klinis penyakit ND pada ayam bervariasi tergantung pada *strain* virus dan status kekebalan ayam saat terinfeksi. Berdasarkan tingkat virulensinya dikelompokkan menjadi tiga patotipe yaitu *lentogenic* (kurang virulen), *mesogenic* (virulensi sedang), dan *velogenic* (virulensi ganas) (Etriwati *et al.* 2017). Strain velogenik dibedakan menjadi dua yaitu bentuk neurotrofik (gangguan saraf dan pernafasan) dan bentuk viserotrofik (kelainan sistem pencernaan). Gejala saraf menunjukkan ataksia, tremor, kehilangan keseimbangan, kepala berputar-putar tidak beraturan (tortikolis), paralisis kaki, dan kelumpuhan pada leher dan sayap Ekaningias *et al* (2017) dan Ghiamirad *et al* (2010). Gangguan pada sistem pernafasan ditunjukkan dengan ngorok dan batuk. Cara penularan dapat terjadi secara kontak langsung dari satu hewan ke hewan lainnya, ekskreta dari ayam sakit baik melalui pakan, air minum, lendir, feses, udara yang telah tercemar, peralatan, dan pekerja kandang (Kencana *et al.*, 2012).

Avian Influenza merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus Influenza tipe-A, termasuk famili *Orthomyxoviridae*. Berdasarkan tingkat keganasannya, virus AI dibedakan menjadi *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) yang menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang tinggi dan sering menimbulkan wabah (ganas), serta *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) yang menyebabkan gejala ringan atau tidak memiliki gejala pada ayam yang terinfeksi (Isnawati *et al.*, 2019). Virus AI subtipe H5N1 adalah virus yang ganas dan bersifat zoonosis. Virus AI dan ND berkembang di saluran pernapasan karena kecenderungan bereplikasi di sel-sel epitelia bersilia (Costa *et al.*, 2012). Gejala klinis dari penyakit yang disebabkan oleh AI mirip dengan NDV. Menurut Wibawa *et al* (2012) unggas yang terinfeksi virus AI subtype H5N1 menunjukkan gejala tortikolis, tremor, sulit berdiri, kehilangan keseimbangan, dan kasus parah yang berujung kematian.

Pengusaha dan peternak telah melakukan program pencegahan dengan melakukan vaksinasi secara rutin pada unggas baik itu pada peternakan skala industri maupun peternakan rakyat. Selain melakukan program vaksinasi, penting pula dilakukannya biosekuriti dan sanitasi yang ketat di peternakan guna mencegah virus menginfeksi unggas kembali. Penulisan ini bertujuan untuk memberikan informasi terkait temuan kejadian *Newcastle Disease* dan *Avian Influenza* pada broiler yang telah divaksinasi saat umur satu hari pada salah satu peternakan di Desa Yangapi, Tembuku, Bangli (OIE, 2012).

METODE PENELITIAN

Objek Penelitian

Hewan kasus adalah broiler yang sakit, diambil dari peternakan berlokasi di Banjar Suka Jiwa, Desa Yangapi, Kec. Tembuku, Bangli. Jumlah ayam yang dipelihara sebanyak 12.000 ekor dan sudah divaksin. Ayam berumur 26 hari dan semuanya telah diberikan vaksin. Dari 12.000 ayam terhitung sudah ada 250 ekor yang sudah mati dan 300 ekor yang teramati sakit (per tanggal 14 November 2023). Sistem pemeliharaannya menggunakan kandang tertutup (*close house*). Ayam kasus yang diambil sebelumnya sudah dipisahkan dengan ayam yang sehat. Adapun riwayat vaksin saat DOC diberikan vaksin hatchery yang dipakai vaksin triple (*Newcastle Disease*, *Gumboro*, dan *Infectious Bronchitis*). Saat berumur 12 hari diberikan vaksin pengulangan menggunakan vaksin *Gumboro* via air minum. Gejala yang muncul dari ayam kasus yaitu tortikolis, tidak nafsu makan, lemas, dan sulit untuk bergerak.

Metode Koleksi Data

Seekor ayam broiler yang baru mengalami kematian dibawa ke Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana untuk dilakukan proses nekropsi. Dari nekropsi ini dilakukan pengamatan patologi anatomi dan koleksi sampel untuk keperluan pemeriksaan lab virologi, lab bakteriologi, lab parasitologi, dan pemeriksaan histopatologi.

Pemeriksaan Patologi Anatomi dan Pembuatan Preparat Histopatologi

Ayam kasus dinekropsi untuk diambil organnya yaitu otak, trakea, esofagus, paru-paru, jantung, hati, ginjal, limpa, proventrikulus, usus, dan bursa fabrisius. Nekropsi dilakukan untuk mengamati gambaran perubahan patologi anatomi yang terjadi pada hewan kasus. Diambil gambar dari masing-masing organ yang selanjutnya dideskripsikan adanya perubahan yang terjadi,

Masing-masing sampel organ kemudian dipotong tipis ukuran 1x1x1 cm dan fiksasi dengan merendamnya dalam larutan *Neutral Buffered Formaldehyde* (NBF) 10%. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam *tissue processor*, didehidrasi dengan menggunakan alkohol yang konsentrasinya bertingkat yakni alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 96%, toluene 1 dan 2 selama ± 2 jam. Langkah berikutnya *clearing* yaitu proses penghilangan udara dari jaringan dengan menggunakan mesin vakum selama 30 menit. Setelah itu *tissue cassette* disimpan pada suhu 60°C sebelum dicetak dengan paraffin cair. Jaringan kemudian dimasukkan ke dalam blok parafin. Selanjutnya proses *cutting* yaitu memotong jaringan dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3-4 μm . Hasil potongan diapungkan dalam air hangat (*waterbath*) bersuhu 46°C. Sediaan kemudian diangkat, dikeringkan dan diletakkan pada gelas obyek dan diwarnai dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE). Setelah dilakukan pewarnaan HE, preparat kemudian diletakkan dalam *object glass*. Kemudian lakukan proses *mounting* yaitu menutup preparat menggunakan *cover glass* yang diberi cairan perekat yaitu entellan (Kiernan, 2015). Preparat diamati di bawah mikroskop.

Pemeriksaan Identifikasi Virus (Metode HA-HI)

Pembuatan Inokulum

Sampel untuk bahan pembuatan inokulum diambil dari organ yang mengalami perubahan patologi anatomi. Sebanyak satu gram organ diambil dan dipotong kecil-kecil dengan menggunakan gunting, kemudian dimasukkan ke dalam tabung *Eppendorf* lalu dihancurkan menggunakan stik. Sampel yang telah halus ditambahkan PBS hingga tercampur rata dan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 2.500 rpm. Supernatant diambil sebanyak 0,8 mL dimasukkan ke tabung *Eppendorf* baru ditambahkan 0,2 ml antibiotik *penicillin* dan *streptomycin*, dikocok membentuk angka 8. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam inkubator suhu 37°C selama 30 menit.

Penanaman Inokulum pada Telur Ayam Bertunas (TAB)

Penanaman inokulum dilakukan secara *in vivo* dengan menginokulasikan virus pada TAB berumur 9 hari. Sebelum diinokulasi, telur diperiksa menggunakan teropong (*candler*) dalam ruangan gelap. Cangkang telur diusap dengan kapas beralkohol, daerah kantung udara ditandai menggunakan pensil. Lubang pada cangkang telur dibuat diatas perbatasan antara kantung udara. Inokulum disuntikkan menggunakan *tuberculin syringe* 1 ml ke dalam ruang allantois dengan dosis 0,1 ml per butir telur. Lubang tempat penyuntikan ditutup dengan kuteks. Telur diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°C dan diamati setiap hari. Telur ayam bertunas dipanen pada hari ke-3 pascainokulasi dalam keadaan mati

Uji Hemaglutinasi (HA)

Uji HA adalah uji untuk mendeteksi keberadaan virus dengan menggunakan teknik mikrotiter. Sebanyak 0,025 ml PBS diisi ke plate mikro "U" 96 sumuran 1-12 dengan menggunakan mikropipet. Sumuran pertama dan kedua ditambahkan 0,025 mL antigen virus ditambahkan.

Selanjutnya dilakukan pengenceran berseri kelipatan dua dimulai dari sumuran ke-2 sampai sumuran ke-11, sedangkan lubang 12 digunakan untuk control sel darah merah (tanpa antigen). PBS dimasukkan kembali sebanyak 0,025 ml ke dalam setiap sumuran plat mikro lalu diayak (*shaker*) selama 30 detik. Selanjutnya semua sumur ditambahkan 0,025 mL sel darah merah unggas 1%, dan kemudia diayak (*shaker*) selama 30 detik. Selanjutnya plat mikro diinkubasikan pada suhu ruang selama (20°C) 40-60 menit dan diamati setiap 15 menit. Hasil positif terdapat bentukan kristal pada dasar sumuran plat mikro sebagai akibat adanya reaksi hemagglutinin dengan sel darah merah 1%. Titer antigen dinyatakan sebagai pengenceran tertinggi dari antigen yang masih memiliki kemampuan mengagglutinasi sel darah merah ayam (Wisnantari *et al.*, 2022). Titer HA yang diperoleh selanjutnya diencerkan menjadi 4 unit HA untuk digunakan pada uji HI.

Uji Rapid Hambatan Hemagglutinasi (HI)

Uji rapid hambatan hemagglutinasi (HI) adalah uji cepat untuk mengetahui adanya antibodi dalam serum yang menghambat virus untuk menghemagglutinasi sel darah merah (Joao *et al.*, 2022). Langkah pertama, PBS sebanyak 0,025 mL ditambahkan ke dalam plate mikro "U" 96 sumuran plat mikro 1-4. Setelah itu serum antibodi ND ditambahkan pada sumuran pertama, serum antibodi AI H₅N₉ ditambahkan di sumuran kedua dengan masing-masing sebanyak 0,025 mL. Selanjutnya antigen 4HA sebanyak 0,025 mL ditambahkan pada sumuran 1-3, diayak (*shaker*) selama 30 detik dan diinkubasikan pada suhu ruangan selama 10 menit. Langkah berikutnya suspensi eritrosit 1% sebanyak 0,05 mL ditambahkan pada sumuran 1-4 dan pengayakan selama 30 detik. Plat mikro diinkubasikan kembali pada suhu kamar maksimal satu jam dan amati perubahan setiap 15 menit. Hasiil uji dinyatakan positif apabila terjadi endapan pada dasar sumuran yang mengindikasikan bahwa antibodi yang berasal dari serum mengikat antigen sehingga sel darah merah bebas untuk mengendap.

Pemeriksaan adanya Infeksi Sekunder

Identifikasi Bakteri

Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Media. Pengujian diawali dengan penanaman sampel paru-paru dan usus pada media *Nutrien Agar* (NA). Kultivasi bakteri dilakukan dengan cara mengusapkan ose steril pada sampel organ paru-paru dan usus lalu diinkubasi selama 24 jam. Secara makroskopis terkait bentuk, warna, permukaan, dan diameter koloni. Koloni tunggal dari media NA diambil menggunakan ossa steril kemudian diusap pada media EMBA dengan metode *streak line*, inkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Uji selanjutnya dilakukan uji primer seperti uji katalase dan pewarnaan gram dilakukan melihat bentuk dan warna koloni. Pewarnaan gram pada bakteri menggunakan beberapa bahan yaitu crystal violet, lugol, alkohol dan safranin. Uji biokimia juga dilakukan meliputi *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Simmons Citrate Agar* (SCA), *Sulfide Indole Motility* (SIM), *Methyl Red* (MR), *Voges-Proskauer* (VP), dilanjutkan uji glukosa.

Pemeriksaan Feses

Pemeriksaan feses dilakukan dengan menambahkan larutan NBF 10% saat dilakukan nekropsis, kemudian dilakukan pemeriksaan kualitatif meliputi metode natif, sedimentasi, dan pengapungan.

Analisis data

Seluruh data epidemiologi, patologi anatomi, histopatologi, hasil pemeriksaan pada laboratorium virologi, laboratorium bakteriologi dan mikrobiologi, serta laboratorium parasitologi-dilakukan analisis secara deskriptif kualitatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Berdasarkan wawancara yang dilakukan di peternakan, diketahui populasi ayam dikandang sebanyak 12.000 ekor, sakit 300 ekor, mati 250 ekor. Gejala klinis tortikolis, tidak nafsu makan, lemas, sulit bergerak. Dari data tersebut didapati nilai morbiditas (2,5%), mortalitas (2,08%), dan *case fatality rate* (CFR) (83,3%).

Berdasarkan pemeriksaan patologi anatomi terjadi perubahan pada beberapa organ (Gambar 1). Otak mengalami kongesti dan edema, trakea hemoragi, terjadi perdarahan paru-paru dan pembesaran pada paru-paru bagian kanan, limpa mengalami pembesaran, terjadi pendarahan *petechiae* pada proventrikulus, dan usus mengalami pendarahan. Berdasarkan pemeriksaan histopatologi ditemukan lesi dan perubahan mikroskopis pada organ otak, jantung, trakea, paru-paru, limpa, proventrikulus, dan usus (Gambar 2 dan 3). Infiltrasi sel radang terjadi pada organ jantung, limpa, paru-paru, trakea, dan proventrikulus. Pada otak terjadi edema, gliosis, dan demielinasi. Beberapa organ mengalami kongesti seperti limpa, paru-paru, trakea, proventrikulus, dan usus. Organ usus mengalami nekrosis pada bagian vili.

Hasil pemeriksaan laboratorium virologi yaitu pengujian HA dan HI didapati hasil yang positif. Pada hasil uji HA didapati titer HA 2^4 (Gambar 4). Hasil pemeriksaan laboratorium bakteriologi didapati bahwa pada media umum yaitu *Nutrient Agar* (NA) hanya tumbuh koloni dari organ usus. Ciri dari koloni yang tumbuh yaitu berbentuk bulat, berdiameter $\pm 1-3$ mm berwarna putih susu, permukaan halus, tepi rata. Hasil biakan sampel organ usus halus dari media NA kemudian dibiakan pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dan hasilnya tumbuh koloni berwarna hijau metalik. Pada pewarnaan gram dan setelah dicek dibawah mikroskop ditemukan bakteri bercirikan berbentuk batang pendek, tunggal, berwarna merah/merah muda yang tergolong bakteri gram negatif. Hasil pemeriksaan laboratorium parasitologi tidak ditemukan adanya telur cacing maupun *coccidia*.

Pembahasan

Hasil perhitungan epidemiologi menunjukkan angka morbiditas 2,5%, mortalitas 2,08%, dan *Case Fatality Rate* (CFR) 83,3%. Angka ini diamati selama 26 hari pada Broiler umur 26 hari. Ayam kasus yang diambil sebelumnya sudah dipisahkan dengan ayam yang sehat dan ditempatkan di kandang isolasi dengan pemberian obat antibiotik dan asupan multivitamin. Vaksinasi dilakukan pada umur 1 hari dan dibooster umur 12 hari lewat air minum, dari data ini ada indikasi pada vaksinasi booster melalui air minum broiler tidak merata mendapatkan dosis vaksin. Pada broiler yang dosis vaksinnya kurang mengakibatkan respon imunnya rendah dan antibodi yang terbentuk juga rendah. Broiler yang memiliki titer antibodi dibawah 16 HI unit akan rentan terinfeksi virus ND atau AI. Penelitian dari Kencana et al (2016) menyebutkan bahwa penurunan titer antibodi AI pada minggu ke-4 pascavaksinasi disebabkan oleh adanya waktu paruh antibodi yakni waktu yang dibutuhkan titer antibodi untuk berkurang setengahnya dari titer antibodi awal. Hanya kekurangan dari kasus ini adalah tidak dilakukannya pemeriksaan antibodi. Berdasarkan hasil penelitian oleh Suardana et al (2023) waktu terbaik memberikan vaksinasi ND adalah saat ayam berumur 14 hari karena maternal antibodinya sudah rendah sehingga respon imunnya akan lebih baik. Hal ini didukung dengan hasil penelitian oleh Hartaputera et al (2023) ayam pedaging yang diberi perlakuan vaksinasi pada umur 14 hari lebih baik daripada vaksinasi pada umur satu hari karena menghasilkan titer antibodi yang tinggi.

Tanda klinis yang teramati salah satunya yaitu gejala saraf berupa tortikolis (terpuntirnya kepala ke belakang). Tortikolis terjadi ketika virus menyerang otak kecil dan *brain stem sell* yang selanjutnya menghasilkan nodul glial multifokal dan nekrosis di samping edema

submeningeal, infiltrasi limfositik ringan, demielinasi dan degenerasi sel Purkinje di otak kecil (Okoye *et al.*, 2000). Adanya feses putih kehijauan menunjukkan terganggunya hati dan pancreas dalam memproduksi empedu dan enzim pencernaan. Replikasi virus ND terutama terjadi di saluran pencernaan bagian atas yaitu esophagus, tembolok dan proventrikulus apabila infeksi virus melalui mulut, sedangkan replikasi virus ND pada saluran pencernaan bagian bawah yaitu duodenum, jejunum, ileum dan caecum terjadi sebagai akibat viremia (Hewajuli dan Dharmayanti, 2008)

Perubahan patologi anatomi yang patognomonis pada penyakit ND ditandai dengan *petechiae* pada proventrikulus, ventrikulus, usus, seka tonsil, trakea, dan paru-paru (Kencana dan Kardenia, 2011). Berdasarkan Pudjiatmoko *et al* (2014) ayam yang diduga terinfeksi virus *Avian Influenza* memiliki ciri perdarahan, edema, dan *petechiae* pada hampir seluruh bagian tubuh sehingga sulit dibedakan dengan infeksi virus ND. Pada trakea dan paru-paru ditemukan perdarahan yang mengakibatkan terganggunya proses respirasi. Selain itu, paru-paru bagian kanan ditemukan mengalami pembengkakan dan nekrosis. Virus memiliki sifat suka organ limfoid hal tersebut mengakibatkan ditemukan lesi pada organ limfoid seperti pada limpa dan seka tonsil. Virus ND bersifat pantropik yaitu menyukai semua organ sehingga lesi dapat ditemukan hampir pada semua organ. Perubahan yang terjadi secara patologi anatomi akan tercermin pada gejala klinis yang ditimbulkan oleh kerusakan organ tersebut (Suardana & Putra, 2016). Lesi patologis anatomis dan histopatologis pada organ paru berupa kongesti berat dan hemoragi pada ayam petelur dengan gejala penurunan produksi dapat digunakan sebagai pendukung peneguhan diagnosa cepat pada kasus virus *Avian Influenza* di lapangan (Isnawati *et al.*, 2019).

Patologi anatomi organ sistem pencernaan mengalami banyak kerusakan yaitu terjadi perdarahan serta nekrosis dan infiltrasi sel radang di esofagus dan proventrikulus, serta hemoragi dan nekrosis pada usus. Perubahan patologi pada saluran pencernaan dimanifestasikan dengan gejala klinis diare putih kehijauan. Replikasi strain virus ND virulen pada organ visceral akan menyebabkan kerusakan jaringan, perdarahan dan nekrosis pada saluran usus, respiratori dan caeca tonsil (Napriila & Prasetyo, 2022). Limpa yang dimiliki oleh ayam kasus mengalami pembengkakan (*splenomegali*) yang dipengaruhi oleh fungsi limpa bertambah di mana disebabkan oleh respon terhadap NDV yang merangsang sel-sel limfosit dalam organ limfoid untuk membentuk antibodi dalam melawan infeksi NDV (Etriwati *et al.*, 2018).

Hasil pemeriksaan histopatologi menunjukkan hampir semua organ terdapat sel-sel radang yang didominasi oleh sel berinti satu (limfoid) yang membuktikan bahwa peradangan disebabkan oleh agen infeksius berupa virus. Pada otak ditemukan lesi kongesti, edema perivascular dan proliferasi glial (gliosis). Avian Paramyxovirus tipe 1 tipe velogenik dan mesogenik juga dilaporkan dapat mencapai otak dan bereplikasi pada jaringan otak (Adi dan Astawa, 2014). Secara mikroskopik ayam yang terinfeksi ND akan ditemukan edema perivaskuler, vasculitis, degenerasi neuron, nekrosis, dan proliferasi glial di otak besar, otak kecil, dan medula oblongata (Nakamura *et al.*, 2008; Purnasari *et al.*, 2017). Pada organ trakea, proventrikulus, paru-paru ditemukan lesi berupa kongesti, nekrosis, dan infiltrasi sel radang. Pemeriksaan histopatologis pada paru-paru, terlihat lesi berupa kongesti berat multifokal dengan ukuran bervariasi pada pembuluh darah dan parabronki, hemoragi (Isnawati *et al.*, 2019). Virus ND strain velogenik dan mesogenik dapat menyerang berbagai organ termasuk paru-paru, proliferasi pada paru-paru menyebabkan terjadinya nekrosis dan infiltrasi sel-sel radang (Samuel *et al.*, 2011).

Hasil pemeriksaan histopatologi organ jantung didapati lesi nekrosis, infiltrasi sel radang, dan edema pada myocardium akibat inflamasi. Pada proses inflamasi, pembuluh darah mengalami

vasodilatasi yang menghasilkan peningkatan volume darah di tempat. Permeabilitas vascular yang meningkat menimbulkan kebocoran cairan pembuluh darah yang menimbulkan edema. Organ yang mempunyai banyak vaskularisasi, seperti paru-paru dan jantung akan terpengaruh cukup fatal oleh infeksi AIV karena sel-sel endotelia pembuluh darah pada organ tersebut merupakan tempat utama reseptor AIV (Isnawati et al., 2020). Pengamatan histopatologi usus menunjukkan adanya infiltrasi sel radang dan nekrosis pada mukosa usus. Sel makrofag pada proses inflamasi berfungsi untuk mengeliminasi virus *Avian Influenza*, namun karena reaksi inflamasi yang berlebihan menyebabkan sel-sel yang terdapat pada mukosa usus mengalami nekrosis (Pranatha et al., 2018). Organ limpa secara mikroskopis terdapat deplesi sel-sel limfoid dan terjadinya kongesti. Peradangan pada limpa ditandai dengan lesi histopatologi pada pulpa merah yang berisi eritrosit bercampur dengan sel radang. Keberadaan VND pada jaringan limfoid dapat menyebabkan limfolisis pada tengah germinal center dan menghasilkan debris inti sel sehingga pada limpa terlihat nekrosis dan deplesi limfosit. Adi et al (2017) melaporkan bahwa antigen virus ND ditemukan pada makrofag dan sel-sel limfoid pada limpa, dan folikel bursa fabricious yang nekrotik. Deplesi limfosit pada jaringan-jaringan limfoid umumnya adalah suatu respons inflamasi akut karena migrasi heterofil dan limfosit dari organ-organ limfoid ke tempat inflamasi akibat rangsangan mediator inflamasi. Adanya lesi pada organ limpa akibat distribusi VND pada kedua organ limfoporetikuler mengindikasikan bahwa kemampuannya dalam melawan infeksi terganggu.

Pemeriksaan di laboratorium bakteriologi menggunakan organ paru-paru dan usus. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui adanya bakteri pada organ yang mengalami kelainan sebagai infeksi sekunder atau infeksi primer. Hasil kultur pada media umum *Nutrient Agar* (NA) didapati bahwa hanya organ usus yang tumbuh koloni bakteri kemudian dilanjutkan kultur ke media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) didapati koloni bakteri berwarna hijau metalik, dan dilanjutkan dengan pewarnaan gram serta uji biokimia. Dari hasil uji didapatkan jenis genus *Escherichia coli* pada usus. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri flora normal yang terdapat pada saluran pencernaan, sehingga bakteri ini bukan merupakan infeksi sekunder. Bakteri *Escherichia coli* termasuk bakteri golongan *enterobacteriaceae*, bakteri gram negatif, yang merupakan flora normal pada usus manusia dan hewan (Towoliu et al., 2013). Pemeriksaan feses ayam kasus di laboratorium parasitologi tidak ditemukan adanya telur cacing maupun *coccidia*. Pemeriksaan dilakukan secara kualitatif yaitu metode natif, konsentrasi sedimentasi, dan konsentrasi pengapungan garam jenuh.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan anamnesis, gejala klinis, epidemiologi, pemeriksaan patologi anatomi, histopatologi, isolasi dan identifikasi di laboratorium virologi, bakteriologi dan mikrobiologi, parasitologi maka dapat disimpulkan bahwa ayam kasus terinfeksi virus *Newcastle Disease* dan *Avian Influenza*.

Saran

Vaksinasi hendaknya dilakukan secara tepat, baik dari segi waktu pemberian, dosis, aplikasi dan pemilihan jenis vaksin. Sebelum dan sesudah vaksinasi sebaiknya dilakukan pemeriksaan titer antibodi. Untuk menunjang hasil vaksinasi perlu dilakukan manajemen beternak unggas yang baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pengajar beserta staff bagian Laboratorium Patologi Veteriner, Laboratorium Virologi Veteriner, Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Veteriner, Laboratorium Parasitologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas

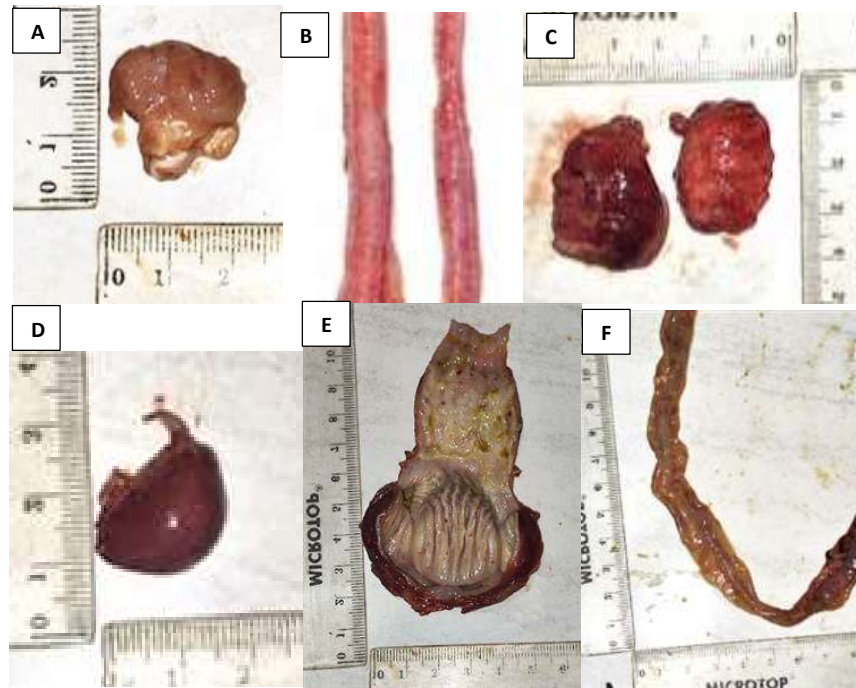
Udayana yang telah menyediakan fasilitas dalam melaksanakan seluruh kegiatan Koasistensi Diagnosis Laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

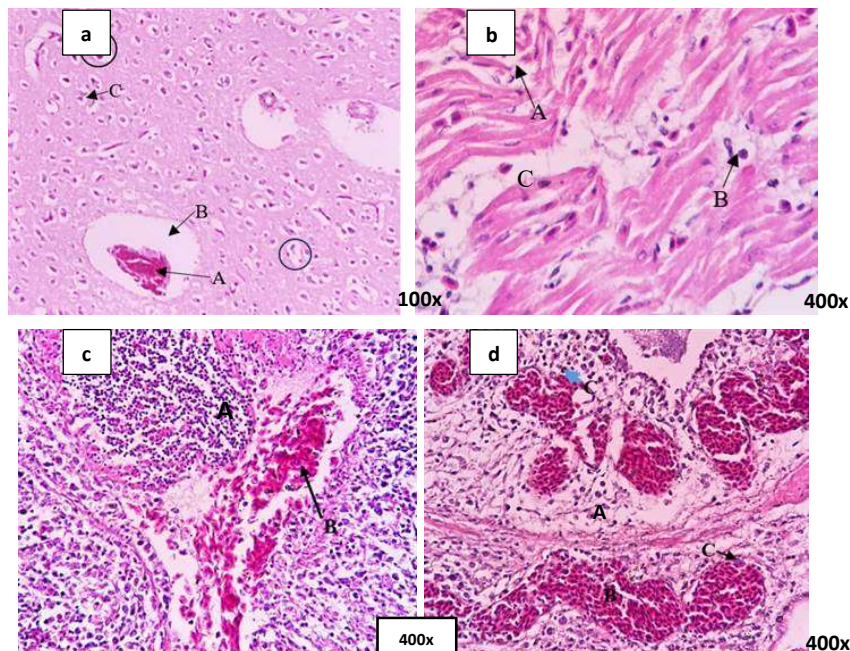
- Adi, A. A. A. M., Adi, A. A. A. M., Winaya, I. B. O., & Winaya, I. B. O. (2017). Pengaruh Virus Newcastle Disease Isolat Virulen Terhadap Gambaran Histopatologi Otak Dan Berat Embrio Ayam. *Indonesia Medicus Veterinus*, 6(2).
- Costa, T., Chaves, A. J., Valle, R., Darji, A., van Riel, D., Kuiken, T., Majó, N., & Ramis, A. (2012). Distribution patterns of influenza virus receptors and viral attachment patterns in the respiratory and intestinal tracts of seven avian species. *Veterinary Research*, 43(1), 28. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-28>
- Ekaningtias, M., Wuryastuty, H., & Wasito, W. (2017). Pendekatan Diagnosis Avian Influenza Virus dan Newcastle Disease Virus pada Kasus Lapangan Ayam Petelur: Imunopatologis Streptavidin Biotin. *Jurnal Sain Veteriner*, 35(1). <https://doi.org/10.22146/jsv.29299>
- Etriwati, E., Handharyani, E., & Setiyaningsih, S. (2018). Studi Histopatologi Limpa dan Bursa Fabricious Ayam Berpenyakit Tetelo (Newcastle Disease) pada Kasus Lapang. *Jurnal Veteriner*, 18(4). <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2017.18.4.510>
- Ghiamirad, M., Pourbakhsh, A., Keyvanfar, H., Momayaz, R., Charkhkar, S., & Ashtari, A. (2010). Isolation and characterization of Newcastle disease virus from ostriches in Iran. *African Journal of Microbiology Research*, 4(23), 2492–2497.
- Hartaputera, I. N. S. T., Suardana, I. B. K., & Nindhia, T. S. (2023). Perbedaan Titer Antibodi Penyakit Tetelo pada Ayam Pedaging yang Divaksinasi Umur Satu Hari dan 14 Hari. *Indonesia Medicus Veterinus*.
- Isnawati, R., Putu Cahyadi Putra, I., Dwi Susiani, R., Wuryastuti, H., & Wasito, R. (2020). Deteksi Virus Avian Influenza Pada Ayam Pedaging Komersial Yang Di Suplementasi Water Additive. *Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Saintek*.
- Isnawati, R., Wuryastuti, H., & Wasito, R. (2019). Peneguhan diagnosis Avian Influenza pada Ayam Petelur yang Mengalami Gejala Penurunan Produksi. *Jurnal Sain Veteriner*, 37(1). <https://doi.org/10.22146/jsv.40602>
- Kencana, G. A. Y., Kardena, I. M., & Kade Mahardika, I. G. N. (2012). Peneguhan Diagnosis Penyakit Newcastle Disease Lapang Pada Ayam Buras Di Bali Menggunakan Teknik RT-PCR. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 6(1), 50–53. <https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v6i1.349>
- Kencana, G. A. Y., Suartha, I., Paramita, N., & Handayani, A. (2016). Vaksin Kombinasi Newcastle Disease dengan Avian Influenza Memicu Imunitas Protektif pada Ayam Petelur terhadap Penyakit Tetelo dan Flu Burung. *Jurnal Veteriner*, 17(2), 257–264. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2016.17.2.257>
- Kiernan, J. A. (2015). *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. Scion Publishing.
- Nakamura, K., Ohtsu, N., Nakamura, T., Yamamoto, Y., Yamada, M., Mase, M., & Imai, K. (2008). Pathologic and immunohistochemical studies of Newcastle Disease (ND) in broiler chickens vaccinated with ND: Severe nonpurulent encephalitis and necrotizing pancreatitis. *Veterinary Pathology*, 45(6), 928–933. <https://doi.org/10.1354/vp.45-6-928>
- Napriila, Z. H., & Prasetyo, D. (2022). Profil titer antibodi newcastle disease dan patologi anatomi ayam layer di peternakan ayam perseorangan, Kambingan, Malang, Jawa Timur. *ARSHI Veterinary Letters*, 6(3), 51–52. <https://doi.org/10.29244/avl.6.3.51-52>

- OIE. (2012). Newcastle Disease. In *World Assembly of Delegates of the OIE*.
- Pranatha, W. D., Irhas, R., Arhiono, H. N. P., Widyastuti, N. W. H., & Kardena, I. M. (2018). Laporan Kasus Newcastle Diseases Dan Avian Influenza Pada Ayam Buras. *Indonesia Medicus Veterinus*, 7(5), 498–507.
- Pudjiatmoko, Muhammad, S., Nurtanto, S., Lubis, N., Syafrison, Yulianti, S., N., D. K., Yohana, C. K., Setianingsih, E., Nurhidayah, Efendi, D., & Saudah, E. (2014). *Manual Penyakit Unggas*. Kementerian Pertanian.
- Puspani, E., Nuriyasa, I. M., Wibawa, A. A. . P., & Candrawati, D. P. M. A. (2012). Pengaruh Tipe Lantai Kandang Dan Kepadatan Ternak Terhadap Tabiat Makan Ayam Pedaging Umur 2-6 Minggu. *Majalah Ilmiah Peternakan*, 11(1), 7–11.
- Samuel, A. S., Subbiah, M., Shive, H., Collins, P. L., & Samal, S. K. (2011). Experimental infection of hamsters with avian paramyxovirus serotypes 1 to 9. *Veterinary Research*, 42(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-38>
- Simanjuntak, M. C. (2018). Analisis Usaha Ternak Ayam Broiler Di Peternakan Ayam Selama Satu Kali Masa Produksi. *Jurnal Fapertanak*, 3(1), 60–81.
- Suardana, I. B. K., & Putra, I. P. C. (2016). *Isolasi dan Identifikasi Newcastle Disease Pada Ayam Buras*. Universitas Udayana.
- Suardana, I. B. K., Widyastuti, S. K., Pradnyadana, I. B. K., & Agustina, K. K. (2023). Effect of Age and Presence of Maternal Antibodies on Success of Avian Influenza and Newcastle Disease Vaccinations in Broiler. *International Journal of Veterinary Science*, 5(1), 44–47.
- Susanti, W. G., Wicaksono, A., & Basri, C. (2021). Kejadian Kasus Penyakit Newcastle di Peternakan Ayam Buras di Kabupaten Barru. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 26(3), 379–385. <https://doi.org/10.18343/jipi.26.3.379>
- Towoliu, S., Lintong, P., & Kairupan, C. (2013). Pengaruh Pemberian Lactobacillus Terhadap Gambaran Mikroskopis Mukosa Usus Halus Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinfeksi Dengan *Escherichia Coli*. *Jurnal E-Biomedik*, 1(2), 930–934. <https://doi.org/10.35790/ebm.1.2.2013.5480>
- Umam, M. K., Prayogi, H. S., Nurgartiningih, V. M. A., Setyo Prayogi, H., & Nurgartiningih, D. V. M. A. (2014). The performanse of broiler rearing in system stage floor and double floor. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 24(3), 79–87.
- Wibawa, H., Prijono, W. B., Dharmayanti, N. L. P. I., Irianingsih, S. H., Miswati, Y., Rohmah, A., Andesyha, E., Romlah, Daulay, R. S. D., & Safitria, K. (2012). Investigasi wabah penyakit pada itik di Jawa Tengah, Yogyakarta dan Jawa Timur: identifikasi sebuah clade baru virus Avian Influenza subtype H5N1 di Indonesia. *Buletin Veteriner*, 12, 2–9.

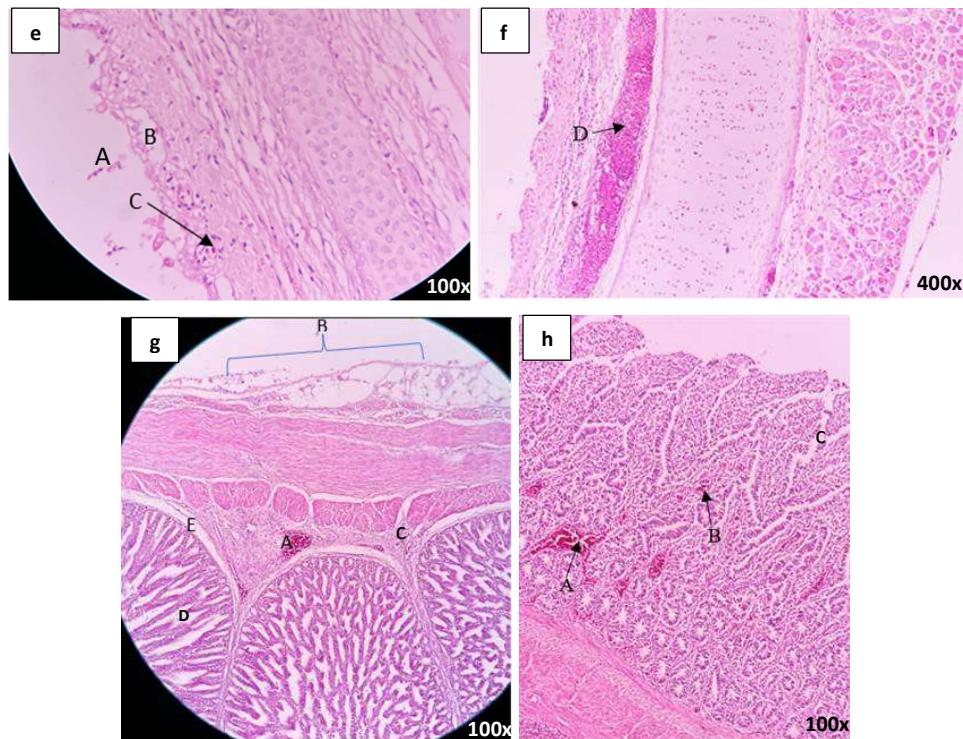
Gambar



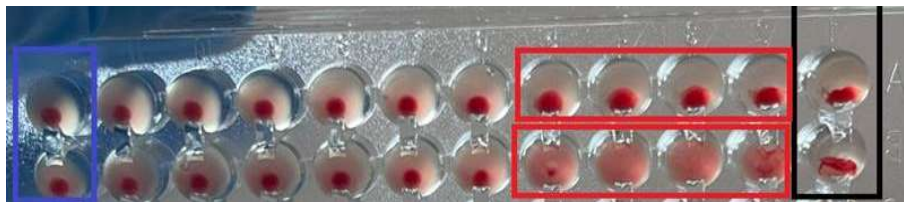
Gambar 1. Otak (A) yang mengalami kongesti dan edema, trakea (B) mengalami hemoragi, paru-paru (C) mengalami perdarahan disertai pembesaran pada paru-paru bagian kanan, limpa (D) mengalami pembesaran, proventrikulus (E) ditemukan adanya perdarahan *petechiae*, serta usus (F) yang mengalami perdarahan.



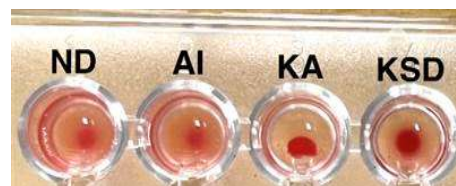
Gambar 2. Otak (a): *Encephalitis* (A), Edema perivascular (B), Proliferasi sel glia/gliososis (C), dan Demielinasi (lingkaran). Jantung (b): *Myocarditis hemorrhagica et necrotican* terdapat Nekrosis (A), Infiltrasi sel radang (B), Edema (C). Limpa (c): *Splenitis* terdapat Depleksi sel-sel limfoid (A) dan Kongesti (B). Paru-paru (d): *pneumonia et necrotican*: Nekrosis (A), Kongesti (B), Infiltrasi sel radang (C). H&E.



Gambar 3. Trakea (e, f): *Tracheitis et nekrotican* terdapat Nekrosis epitel mukosa (A), Edema (B), Infiltrasi sel radang (C), Kongesti (D). Proventrikulus (g): *Proventriculitis et necrotican*: Kongesti (A), Nekrosis pada epitel (B), Infiltrasi sel radang (C), Nekrosis (D), Edema (E). Usus (h) *Enteritis hemoragica et necrotican*: Kongesti (A), Hemoragi (B), Nekrosis pada vili (C). H&E.



Gambar 4. Hasil uji hemaglutinasi (HA) teknik microtiter (tampak bawah): kotak hitam (kontrol positif), kotak merah (titer HA 2^4), dan kotak biru (kontrol negatif)



Gambar 5. Hasil uji Hambatan hemaglutinasi (HI) keterangan : ND (Positif *Newcastle Disease*, terjadi hambatan hemaglutinasi), AI (Positif *Avian Influenza*, terjadi hambatan hemaglutinasi), KA (Kontrol antigen), dan KSD (Kontrol sel darah merah dengan PBS)



Gambar 6. Hasil Pewarnaan Gram dan penanaman media EMBA dari koloni bakteri yang berasal dari organ usus halus.