

## **Laporan Kasus *Newcastle Diseases* Dan *Avian Influenza* Pada Ayam Buras**

*(CASE REPORT OF NEWCASTLE DISEASES AND AVIAN INFLUENZA IN NATIVE CHICKEN)*

**Wahid Danang Pranatha<sup>1</sup>, Rajiman Irhas<sup>1</sup>, Haru Nira Putra Arhiono<sup>1</sup>, Ni Wayan Helpina Widyasanti<sup>2</sup>, I Made Kardena<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Pendidikan Profesi Dokter Hewan, <sup>2</sup>Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana,

Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234; Telp/Fax: (0361) 223791

<sup>3</sup>Mahasiswa Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Indonesia  
e-mail: wdpranatha@gmail.com

### **ABSTRAK**

Ayam buras (bukan ras) merupakan salah satu sumber plasma nutfah yang mempunyai potensi penggerak ekonomi pedesaan. *Newcastle Disease* (ND) dan *Avian influenza* (AI) merupakan penyakit fatal yang menginfeksi ayam buras. Kedua virus ini termasuk jarang menginfeksi unggas dalam waktu bersamaan karena memiliki virulensi yang tinggi dan dapat mengakibatkan kerugian ekonomi yang besar pada peternakan unggas. Pada kasus ini dari 120 ekor ayam, 62 ekor ditemukan sakit dan 27 ekor mati. Hasil tes laboratorium dengan uji HA/HI menunjukkan ayam kasus terinfeksi virus *Newcastle Disease* dan *Avian Influenza*. Hasil pengamatan sampel organ secara Patologi Anatomi (PA) diketahui bahwa otak, jantung, dan hati normal; trakea, paru-paru, dan usus mengalami hemorrhagi; proventrikulus menunjukkan ptekie. Sedangkan pemeriksaan secara Histopatologi (HP) pada otak terdapat vaskulitis dan *edema*; trakea hemorrhagi dan *edema*; paru-paru hemorrhagi; miokardium jantung *edema*; mukosa usus infiltrasi sel radang makrofag dan nekrosis difusa; hati menunjukkan adanya kongesti pada vena ventralis dan kapiler; proventrikulus terdapat pelebaran dan perlekatan epitel satu sama lain, nekrosis dan adanya nucleus eritrosit.

Kata-kata kunci: perubahan anatomi, ayam buras, *Newcastle Disease*, *Avian Influenza*

### **ABSTRACT**

Native chicken is one source of germplasm which has potential to drive the rural economic. *Newcastle Disease* (ND) and *Avian influenza* (AI) are fatal diseases in native chicken. Both of these viruses are including rare to infect poultry at the same time. Since both of these viruses have a high virulence and it can result in substantial economic losses in poultry farms as a result of the death of infected poultry. In these cases of 120 chickens, 62 were found sick and 27 have died. Results of laboratory tests with test HA / HI showed that the chicken's cases were infected by *Newcastle Disease* and *Avian Influenza* virus. The result of organs samples Pathology Anatomy (PA) observation was known that the brain, heart, and liver were normal; trachea, lung, and intestine hemorrhagic; proventrikulus ptekie. Meanwhile in the histopathology examination (HP) on native chicken there are brain vasculitis and *edema*; trachea hemorrhagi and *edema*; lungs hemorrhage; heart myocardial *edema*; intestinal mucosa in cell inflammatory and necrosis defuse; liver showed congestion in the veins and capillaries ventralis; proventrikulus nucleus in epitel widening and adhesion each other, necrosis and there was presence of erythrocytes.

Keywords: anatomy changes, native chicken, *Newcastle Disease*, *Avian Influenza*

## PENDAHULUAN

Penyakit yang disebabkan oleh virus yang sering terjadi pada ayam buras adalah *Newcastle Disease* (ND) dan *Avian influenza* (AI). Di Indonesia penyakit ND dikenal juga dengan sebutan penyakit *tetelo*, sedangkan di Bali lebih dikenal dengan istilah penyakit *gerubug*. Kejadian penyakit bersifat akut sampai kronis, dapat menyerang semua jenis unggas terutama ayam, baik ayam ras maupun ayam bukan ras (buras). Oleh karena itu kasus ND merupakan ancaman serius bagi industri peternakan di Indonesia Kencana *et al.*, 2017). *Mortalitas* maupun *morbiditas* penyakit ND dapat mencapai 50-100% akibat infeksi VND strain velogenik terutama pada kelompok ayam yang peka, 50% pada strain mesogenik dan 30% pada infeksi virus strain *lentogenik* (Risa *et al.*, 2014).

Penyakit AI masih bersifat *endemik* di Indonesia sehingga dilakukan pelacakan kasus flu burung pada ayam dengan RT-PCR (Kencana *et al.*, 2012). Virus AI terutama subtype H5 dan H7 yang termasuk *High Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) mampu menyebabkan *morbiditas* dan *mortalitas* yang tinggi pada unggas komersial di Indonesia (Wasito *et al.*, 2014). Sedangkan infeksi *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) diketahui menyebabkan *morbiditas* tinggi (>50%) dan *mortalitas* rendah (<5%), tetapi laju *mortalitas* dapat sangat tinggi jika disertai infeksi patogen sekunder atau LPAI menginfeksi unggas muda (Swayne and Pantin-Jackwood, 2008).

Virus ND dan Virus AI kadang-kadang secara bersamaan menginfeksi unggas dan memiliki kesamaan yang signifikan dalam menyebabkan kematian pada unggas. Gejala klinis infeksi virus AI biasanya pada *saluran pernapasan*, *gastro-intestinal* dan *susunan syaraf*. Hal yang serupa juga terjadi pada penyakit ND yang menyebabkan gangguan yang sangat berat pada *system pernapasan*, *syaraf* dan *pencernaan* (Hewajuli and Dharmayanti, 2008). Gejala klinis pada ayam ditandai dengan penurunan nafsu makan, jengger dan pial sianosis, pembengkakan di daerah kepala, bersin, batuk, ngorok, dan diare putih kehijauan. Infeksi virus strain velogenik bersifat fatal, seringkali diikuti dengan angka kematian yang tinggi. Gejala tersebut sangat bervariasi, diawali dengan konjungtivitis, diare serta diikuti dengan gejala saraf seperti tremor, tortikolis, atau kelumpuhan pada leher dan sayap (Hewajuli dan Dharmayanti, 2011).

Perubahan patologi anatomi yang patognomonis pada penyakit ND ditandai dengan *ptechie* pada proventikulus, ventrikulus, usus, seka tonsil, trakea, dan paru-paru

(Kencana dan Kardena, 2011). Gejala yang tampak pada kasus ayam buras dengan antara lain lemah, nafsu makan berkurang, adanya leleran dari hidung, bulu kusam, sayap terkulai lemas, feses berwarna putih kehijauan dan mengalami kematian tiga hari setelah muncul gejala tersebut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui patologi anatomi dan histopatologi *Newcastle Diseases* dan *Avian Influenza* pada ayam buras.

### **METODE PENELITIAN**

Penelitian bertujuan untuk mengetahui gambaran Patologi Anatomi (PA) dan Histopatologi (HP) ayam buras yang terinfeksi virus ND dan virus AI yang di konfirmasi dengan uji HA/HI. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Veteriner FKH Universitas Udayana dan Laboratorium Virologi Veteriner FKH Universitas Udayana, Denpasar, Bali. Pengambilan sampel organ di desa Timuhun, Kabupaten Klungkung, Bali. Sampel organ yang diambil adalah otak, trakea, jantung, paru-paru, hati, usus dan proventrikulus. Dalam kasus ini dari 120 ekor ayam, 62 ekor diantaranya ditemukan sakit dan 27 ekor dalam keadaan mati dalam kurun waktu satu minggu sehingga di peroleh tingkat *morbiditas* kasus 51,6%, tingkat *mortalitas* 13,3% dan 25,8% *Case Fatality Rate*. Semua sampel yang diambil menunjukkan gejala penyakit ND dan AI.

Organ yang diambil dengan ukuran 1 x 1 x 1 cm, kemudian difiksasi dengan cara merendam kedalam larutan *Natural Buffer Formalin* (NBF) 10%. Organ yang mengalami perubahan selanjutnya dipotong kecil lagi untuk disimpan dalam *tissue cassette*. Penyimpanan dalam *tissue cassette* juga diikuti sertakan nomor protokol hewan kasus. Setelah di fiksasi, dilakukan proses dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat (70 %, 80 %, 90 %, 96 %, dan alkohol absolut). Perendaman secara bertahap dilakukan setiap 2 jam yang kemudian dilanjutkan dengan merendam organ dalam toluena (*clearing*). Setelah tahapan *clearing* selesai spesimen organ selanjutnya di infiltrasi dengan parafin cair (*blocking*) menggunakan alat *embedding set*, kemudian disimpan didalam lemari pendingin selama 24 jam. Blok parafin yang sudah dingin kemudian di *sectioning* menggunakan *microtome* dengan ketebalan pemotongan  $\pm$  5 mikron. Setelah pemotongan dengan ketebalan 5 mikron didapatkan maka selanjutnya diletakkan mengambang pada waterbath (waterbathing) beberapa detik dengan temperatur hangat (37-39 °C). Potongan spesimen pada waterbath diletakkan pada gelas objek kemudian diinkubasikan. Preparat

kemudian di dehidrasi bertingkat menggunakan Xylol I, II dan III (masing-masing selama 5 menit), Etanol I dan II selama 5 menit dan Aquades selama 1 menit. Tahapan terakhir yaitu pewarnaan (*staining*) menggunakan Hematoxylin–Eosin. Hematoxylin selama 15 menit sedangkan Eosin selama 3 menit. Preparat didehidrasi dan di *clearing* kembali kemudian dikeringkan untuk selanjutnya dilakukan *mounting* media preparat histopatologi sudah dapat diamati di bawah mikroskop (400X) dan perubahan mikroskopik yang ditemukan dicatat.

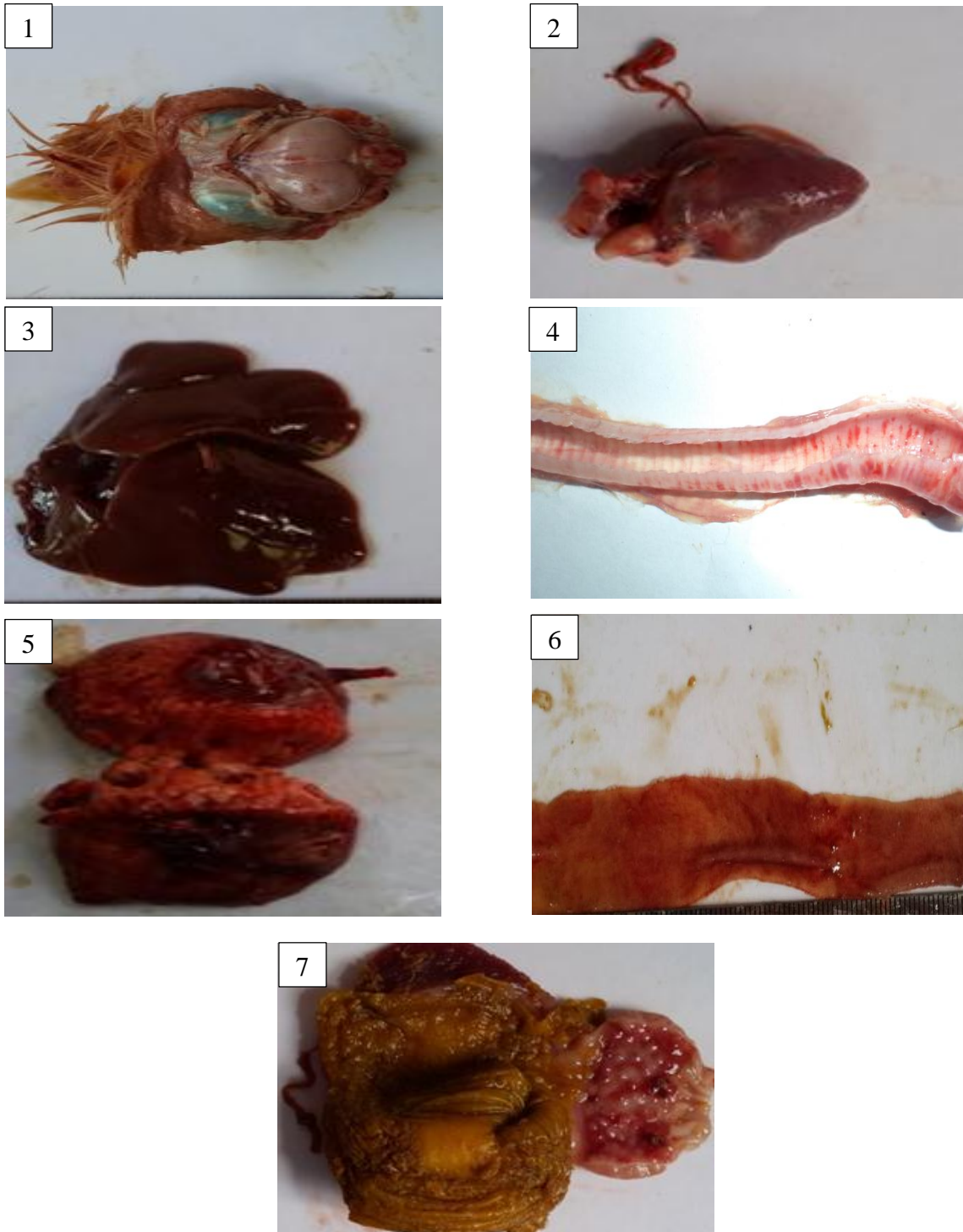
Kasus dugaan Newcastle Disease dan Avian Influenza dikonfirmasi dengan pemeriksaan uji HA/HI yang berfungsi untuk mendeteksi ada tidaknya antigen virus. Beberapa virus memiliki sifat yang dapat menghemaglutinasi sel darah merah hewan tertentu. Hemaglutinasi terjadi akibat adanya aktifitas hemaglutinin pada dinding virus. Adanya aktivitas hemaglutinasi dari virus ND dan AI sehingga mampu mengaglutinasi sel darah merah hewan tertentu, menjadi prinsip dasar dalam uji hemaglutinasi (HA). Hasil positif pada uji hemaglutinasi ditandai dengan adanya aktivitas hemaglutinasi dari virus ND dan AI sehingga mampu menghemaglutinasi sel darah merah dan menghambat pengendapan sel darah merah sehingga tidak terbentuk endapan pada dasar sumuran (WHO, 2013). Pada prinsipnya uji HI adalah reaksi ikatan antara antibodi yang terkandung dalam serum yang diperiksa dan jumlah antigen hemaglutinin ND dan AI yang digunakan sebanyak 4 HU (*Haemagglutination Unit*). Perlekatan spesifik antara antibodi dan antigen pada molekul HA akan menghambat perlekatan antara HA virus dan reseptor pada eritrosit. Efek penghambatan hemaglutinasi ini yang dijadikan dasar untuk uji HI (Hewajuli dan Dharmayanti, 2008).

Uji Rapid HA dilakukan pada ayam buras dengan menggunakan spesimen cairan alantois TAB dan diperoleh hasil positif yang ditandai dengan tidak terbentuknya endapan pada dasar mikrolate. Pada uji HA, didapatkan titer antigen virus HA adalah  $2^6$ . Pengujian rapid HI dilakukan dengan menggunakan serum antibodi virus ND dan AI. Hasilnya positif yang ditandai dengan terjadi pengendapan sel darah merah dengan menggunakan antibodi ND dan AI. Hal ini mengindikasikan adanya virus ND dan AI.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pengamatan patologi sampel organ otak, hati, jantung, trakea, paru-paru, usus, dan proventrikulus ayam buras menunjukkan adanya perubahan signifikan pada beberapa organ. Patologi Anatomi (PA) organ otak, jantung, dan hati tidak mengalami perubahan (Gambar 1.1, 1.2, dan 1.3). Pada kasus AI yang sifatnya perakut umumnya tidak ditemukan perubahan PA yang menciri. Namun pada kasus AI yang sifatnya akut pada ayam, perubahan organ ditandai dengan terjadinya *kongesti*, *perdarahan* serta *edema* yang berat ditemukan pada paru-paru. Organ lain secara umum tampak normal dan tidak mengalami perubahan yang menciri. Infeksi oleh galur virus ND yang kurang ganas biasanya PA hanya terbatas pada kongesti dan eksudat mukoid yang ditemukan pada saluran pernapasan serta kekeruhan dan penebalan kantong udara. Pemeriksaan sampel organ proventrikulus menunjukkan adanya perdarahan *ptekie* (Gambar 1.7). Proventrikulus mengalami perdarahan *ptekie* merupakan ciri patognomonis penyakit ND (Kencana, 2012). Trakea, paru-paru, dan usus mengalami perdarahan (Gambar 1.4, 1.5, dan 1.6). Trakea, paru-paru, dan usus mengalami perdarahan merupakan salah satu ciri khas penyakit ND dan AI.

Pengamatan histopatologi pada otak terlihat adanya reaksi peradangan (*vaskulitis*) dan *edema* (Gambar 2.1). Trakea mengalami hemoraghi dan *edema* (Gambar 2.2). *Hemoragi* dan *edema* pada trakea menandakan bahwa terdapat virus avian influenza. Menurut Stiawaty (2012) pada unggas terdapat kecocokan reseptor virus avian influenza pada epitel bersilia. Selain hemorhagi trakea pengamatan histopatologi ayam buras kasus diamati juga terjadi *hemorhagi* paru-paru (Gambar 2.3). Hemoragi adalah keadaan keluarnya darah dari pembuluh darah. *Hemoragi* dapat disebabkan karena adanya proses inflamasi. Pelebaran sel endotel pada proses inflamasi akan meningkatkan volume darah dalam pembuluh. Volume darah yang meningkat di jaringan dapat menimbulkan perdarahan (Baratawidjaja and Iris, 2012). Perdarahan terjadi karena peregangan sel endotel, sehingga apabila jaraknya terlalu lebar sel darah merah dapat keluar dari pembuluh darah. *Hemoragi* akibat ND pada paru-paru juga ditemukan pada penelitian Putra *et al.* (2012).



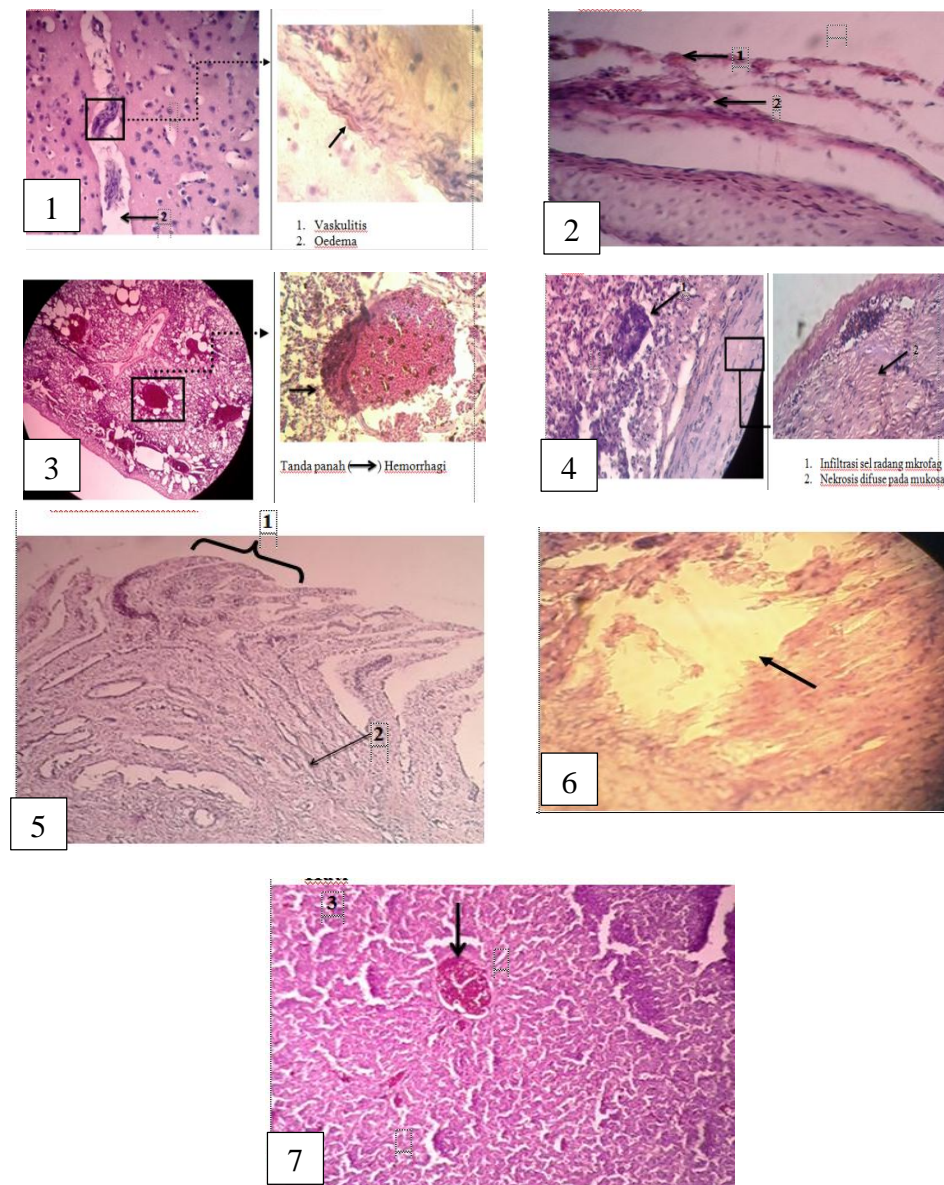
**Gambar 1.** Patologi anatomi hewan kasus. Otak normal (1); jantung normal (2); hati normal (3); trakea *hemoragi* (4), paru-paru *hemoraghi* (5), usus *hemoraghi* (6); proventrikulus perdarahan *ptekie* (7).

Pengamatan histopatologi pada usus menunjukkan adanya infiltrasi sel radang makrofag dan *nekrosis difuse* pada mukosa usus (Gambar 2.4). Gambaran nekrosis juga ditemukan pada penelitian Alexander and Senne dalam Putra *et al.* (2012). 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*. Proventrikulus teramati terjadinya pelebaran dan perlekatan epitel satu sama lain serta *nekrosis* (Gambar 2.5). Pada kasus AI, perdarahan lebih terjadi di proventrikulus bagian depan dan cenderung pada perbatasan proventrikulus dan oesophagus (kerongkongan, *red*). Hal ini dikarenakan virus AI memiliki sifat tidak tahan asam. Jika ND yang menyerang maka besar kemungkinan peradangan terjadi pada puncak/bintik-bintik proventrikulus, namun ketika serangan sudah parah maka peradangan bisa menyeluruh pada proventrikulus (Info Medion Online, 2010).

Selain pemeriksaan histopatologi otak, trakea, paru-paru, usus, dan proventrikulus. Hasil pengamatan yang didapat, jantung terjadi *edema* pada miokardium akibat adanya inflamasi (Gambar 2.6). 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* (Galen dalam Baratawidjaya and Iris, 2012). Kongesti pada vena ventralis dan kapiler hati (Gambar 2.7). Terjadi karena adanya perlambatan aliran darah pada pembuluh darah. Penelitian ini menunjukkan hasil yang sama pada penelitian yang dilakukan oleh Putra *et al.* (2012), yang mana jaringan hati dari embrio ayam yang diinfeksi virus ND isolat Salatiga secara mikroskopis lesi yang teramati adanya kongesti berat pada jaringan hati.

Hasil pemeriksaan Uji HA/HI menggunakan spesimen cairan alantois TAB (Telur Ayam Berembrio) (Gambar 3.1 dan 3.2). Uji Rapid HA memperoleh hasil positif ND dan AI ditandai dengan terjadinya haemaglutinasi sel darah merah. Uji HA Mikrotiter memperoleh hasil positif ND dan AI ditandai terjadinya endapan sel darah merah pada *microplate*.





**Gambar 2.** Gambaran histopatologi dari hewan aksus. Otak *vasculitis* dan *edema* (Pewarnaan *H&E*; Perbesaran 400x) (1); trakea *hemoragi* dan *edema* (Pewarnaan *H&E*; Perbesaran 400x) (2); paru-paru *hemoragi* (Pewarnaan *H&E*; Perbesaran 400x) (3); histopatologi usus infiltrasi sel radang makrofag dan *nekrosis difuse* pada mukosa (Pewarnaan *H&E*; Perbesaran 400x) (4); proventrikulus mengalami pelebaran dan perlekatan epitel satu sama lain serta terjadi *nekrosis* (Pewarnaan *H&E*; Perbesaran 400x) (5); jantung *edema* pada miokardium (Pewarnaan *H&E*; Perbesaran 400x) (6); ayam mengalami kongesti pada vena ventralis dan kapiler (Pewarnaan *H&E*; Perbesaran 400x) (7).



### Hasil Uji Rapid HI

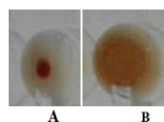


#### Keterangan :

- A. Positif ND
- B. Positif AI
- C. Antigen
- D. PBS

1

### Hasil Uji Rapid HA



#### Keterangan :

- A. Kontrol Negatif (Sel darah unggas 1% +PBS)
- B. Positif Rapid HA (antigen +PBS + sel darah merah unggas) tidak terbentuk endapan sel darah merah

2

**Gambar 3.** Hasil uji *Rapid* HA/HI menggunakan specimen allantois TAB. Hasil uji Rapid HA terjadi hemaglutinasi sel darah merah (1); hasil uji HI terjadi endapan sel darah merah dengan menggunakan antibodi ND dan AI (2).

## SIMPULAN

Ayam buras dinyatakan terinfeksi *Newcastle Disease* dan *Avian Influenza*. Patologi Anatomi diketahui bahwa otak, jantung, dan hati normal; trakea, paru-paru, dan usus mengalami hemorrhagi; ptekie pada proventrikulus. Pemeriksaan secara Histopatologi pada otak ayam buras terdapat vaskulitis dan *edema*; trakea hemorrhagi dan *edema*; paru-paru hemorrhagi; miokardium jantung *edema*; mukosa usus infiltrasi sel radang makrofag dan nekrosis difusa; hati menunjukkan adanya kongesti pada vena ventralis dan kapiler; proventrikulus pelebaran dan perlekatan epitel satu sama lain, nekrosis dan adanya nucleus eritrosit.

## SARAN

Pencegahan penyebaran penyakit *Newcastle Disease* dan *Avian Influenza* lakukan dengan meningkatkan *biosecurity*, pengendalian lalu lintas ayam, dan vaksinasi sehingga berdampak baik terhadap kesehatan ternak, peternak, dan lingkungan sekitar serta mampu meminimalisir kerugian ekonomi akibat jumlah mortalitas yang tinggi.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Yohana Maria F. Bollyn, SKH yang telah membantu kami sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

### DAFTAR PUSTAKA

- Baratawidjaja KG, Iris R. 2012. *Imunologi Dasar Edisi Ke-10*. Jakarta: FKUI.
- Hewajuli DA, Dharmayanti NPLI. 2011. Patogenitas Virus Newcastle Disease pada Ayam. *Wartazoa* 21(2).
- Hewajuli DA, Dharmayanti NPLI. 2008. Karakteristik dan Identifikasi Virus Avian Influenza. *Wartozoa*. 18(2).
- Info Medion Online. 2010. *Sudah Tepatkah Diagnosa ND, AI atau IB?* <http://info.medion.co.id>. Diakses pada 20 Maret 2016.
- Kencana GAY, Kardena IM. 2011. Gross pathological observation of acute Newcastle disease in domestic chicken. Prosiding Seminar Internasional Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (PERMI) dan International Union of Microbiological Societies (IUMS). Denpasar, 22-24 Juni 2011.
- Kencana GAY, Kardena IM, Mahardika IGNK. 2012. Peneguhan Diagnosis Penyakit Newcastle Disease Lapang pada Ayam Buras di Bali Menggunakan Teknik RT-PCR. *Jurnal Kedokteran Hewan* 6(1)
- Kencana GAY, Suartha IN, Nainggolan DRB, Lumban AS, Tobing. 2017. Respons Imun Ayam Petelur Pascavaksinasi Newcastle Disease dan *Egg Drop Syndrome*. *Jurnal Sain Veteriner* 35(1).
- Kencana GAY. 2012. *Penyakit Virus Unggas*. Denpasar: Udayana University Press.
- Putra HH, Michael HW, Tri K. 2012. Studi Lesi Makroskopis dan Mikroskopis Embrio Ayam yang Diinfeksi Virus Newcastle Disease Isolat Lapang yang Virulen. *Jurnal Sain Veteriner* 30(1).
- Risa E, Semaun, Rahmawati, Novita ID. 2014. Evaluasi Penurunan Angka Mortalitas dan Morbiditas Ayam Pedaging yang Mendapatkan Penambahan Tepung Lempuyang (*Zingiber Aromaticum Val*) Dalam Ransum. *Jurnal Galung Tropika* 3(3).
- Setiawaty V. 2012. Virulensi dan Transmisi Virus Influenza pada Manusia, Hewan Mamalia dan Unggas. *Media Litbang Kesehatan* 22(3).
- Swayne DE, Pantin-Jackwood M. 2008. *Pathobiology of Avian Influenza Virus Infection in Birds and Mammals*. Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional.
- Wasito R, Wuryastuti H, Tjahyowati G, Irianingsih SH, Tyasasmaya T, Maes RK. 2014. Detection and Deferentiation of Pathogenic H5 and H7 Influenza A Virus Subtypes in Indonesian Poultry by Multiplex Reverse Transcription-Polymerase Cahin Reaction. *Biochem and Biotech. Res.* 2(2): 27.31.
- WHO. (2013). *Serological detection of Avian Influenza (H7N9) Virus infection by Turkeys Haemmaglutination-Inhibition Assay*. National Institute for Viral Disease Control and Prevention, China CDC.