

## **CASE OF AVIAN INFLUENZA IN BROILER CHICKEN AT JATILUWIH VILLAGE**

### **Kejadian *Avian Influenza* pada ayam broiler di desa Jatiluwih**

**Alya Nita Shena Gayanti<sup>1\*</sup>, I Gusti Ngurah Kade Mahardika<sup>2</sup>, Ida Bagus Oka Winaya<sup>3</sup>, I Gusti Ketut Suarjana<sup>4</sup>, Ida Ayu Pasti Apsari<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Pendidikan Profesi Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia;

<sup>2</sup>Laboratorium Virologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia;

<sup>3</sup>Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia;

<sup>4</sup>Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia;

<sup>5</sup>Laboratorium Parasitologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia;

\*Corresponding author email: [alyashenal@gmail.com](mailto:alyashenal@gmail.com)

How to cite: Gayanti ANS, Mahardika IGKN, Winaya IBO, Suarjana IK, Apsari IAP. 2024. Case of avian influenza in broiler chicken at Jatiluwih Village. *Bul. Vet. Udayana*. 16(2): 370-387 DOI: <https://doi.org/10.24843/bulvet.2024.v16.i02.p07>

### **Abstract**

Avian Influenza (AI) is still endemic in Bali. This disease is very dangerous and deadly, is zoonotic in birds and humans and causes high economic losses. AI disease in poultry is caused by the Influenza virus type A. The aim of the examination is to identify the agent that caused the death of the chicken in the case to determine a definite diagnosis. The case chicken sample was a 29 day old broiler chicken from a farm in Jatiluwih Village, Tabanan Regency, Bali. Clinical symptoms of chickens include: weak chickens, shaking, shortness of breath, no appetite for eating or drinking, dull feathers, pale bluish combs, runny discharge from the beak, and white-brown watery feces. Chicken death occurred 2 days after clinical symptoms appeared. After the chicken dies, a necropsy is carried out and the samples are examined in the histopathology, virology, bacteriology and parasitology laboratories to determine the agent that caused the death. Histopathological examination showed that all organs had lesions. The results of the HA/HI test showed that the chicken was a positive case of being infected with the Avian Influenza virus. Bacterial infection testing in the media test, selective test, primary test, secondary test and confectionery test identified the presence of *Staphylococcus* sp bacteria. in the liver and lungs. The results of fecal examination during parasite examination using native and concentration methods did not reveal any worm eggs or protozoa. It was concluded that the case chicken was infected with Avian Influenza with secondary bacterial infection, namely

*Staphylococcus* sp. It is recommended that breeders improve biosecurity and carry out routine and appropriate vaccinations to prevent Avian Influenza disease.

Keywords: Broiler chicken; Avian Influenza

### Abstrak

Penyakit *Avian Influenza* (AI) masih endemis di Bali. Penyakit ini sangat berbahaya dan mematikan, bersifat zoonosis pada unggas dan manusia serta mengakibatkan kerugian ekonomis yang tinggi. Penyakit AI pada unggas disebabkan oleh virus Influenza tipe A. Tujuan pemeriksaan adalah mengidentifikasi agen penyebab kematian ayam kasus untuk menentukan diagnosa pasti. Sampel ayam kasus merupakan ayam *Broiler* berumur 29 hari berasal dari peternakan di Desa Jatiluwih, Kabupaten Tabanan, Bali. Gejala klinis ayam diantaranya: ayam lemas, gemetar, sesak nafas, tidak nafsu makan dan minum, bulu kusam, jengger pucat kebiruan, keluar leleran dari paruh, dan feses encer berwarna putih kecokelatan. Kematian ayam terjadi 2 hari setelah muncul gejala klinis. Setelah ayam mengalami kematian, dilakukan nekropsi dan sampel dilakukan pemeriksaan pada laboratorium histopatologi, virologi, bakteriologi, dan parasitologi untuk mengetahui agen penyebab kematian. Pemeriksaan histopatologi menunjukkan seluruh organ mengalami lesi. Hasil tes uji HA/HI menunjukkan ayam kasus positif terinfeksi virus *Avian Influenza*. Pengujian infeksi bakteri pada uji media, selektif, uji primer, uji sekunder, dan uji gula-gula diidentifikasi adanya bakteri *Staphylococcus* sp. pada hati dan paru. Hasil pemeriksaan feses pada pemeriksaan parasit dengan metode natif dan konsentrasi tidak ditemukan adanya telur cacing maupun protozoa. Disimpulkan ayam kasus terinfeksi *Avian Influenza* dengan infeksi sekunder bakteri yaitu *Staphylococcus* sp. Disarankan agar peternak meningkatkan biosekuriti dan melakukan vaksinasi rutin serta tepat untuk mencegah penyakit *Avian Influenza*.

Kata kunci: Ayam broiler; *Avian Influenza*

### PENDAHULUAN

Penyakit *Avian Influenza* belum bisa diberantas di Indonesia dan penyakit ini masih endemis di Bali (Pratiwi et al., 2020). Sejak tahun 2002, virus AI menyebar hampir ke seluruh bagian dunia (Alexander, 2007) termasuk Indonesia (Kandun et al., 2006). Di Indonesia, penyakit ini di klasifikasikan sebagai salah satu penyakit infeksius yang perlu di prioritaskan dan di kontrol (Santhia et al., 2009). Virus AI tipe H5N1 mulai menjadi epidemi di Indonesia pada bulan Oktober 2003 (Santhia et al., 2009) dan di laporkan pertama kali di Wilayah Karangasem yang masuk melalui burung sakit berasal dari Jawa. Wabah yang sama mulai muncul di wilayah Tabanan dan akhirnya menyebar ke wilayah lain di Pulau Bali (Santhia et al., 2009). Antibodi AI sebagai indikasi unggas telah tertular virus AI yang terdeteksi pada ayam lokal, itik, angsa dan merpati. Dilaporkan pula seroprevalensi infeksi virus AI H5N1 di tiap kabupaten di Bali bervariasi dari 1,23% hingga 6,09% dengan proporsinya seroprevalensi pada ayam lokal (2,69%), unggas air (9%), dan berbagai unggas lainnya (8,06%). Rata-rata tingkat wabah sebesar 20,4%, tertinggi di Kabupaten Tabanan dan Karangasem masing-masing sebesar 48,4% dan 30,2% (Santhia dan Putra, 2004).

Wabah AI di Kabupaten Tabanan menimbulkan korban jiwa dan kerugian ekonomi. Pada tahun 2007, seorang warga yang bekerja sebagai pengepul unggas dari Kabupaten Kediri meninggal karena infeksi AI (Lestari, 2009). Selain itu, akibat wabah AI pada tahun 2012 ratusan ayam mati mendadak di Kecamatan Marga (Karminiasih et al., 2014). Virus AI-H5N1 sangat merugikan, antara lain berkurangnya jumlah peternak, menurunnya pendapatan peternak unggas, menurun penyediaan, impor dan ekspor DOC untuk kedua ayam broiler dan lapisan, serta harga masukan dan keluarannya bisnis unggas (Basuno, 2008).

Penyakit *Avian Influenza* (AI) disebabkan oleh virus yang tergolong dalam famili *Orthomyxoviridae* tipe A. Berdasarkan patogenisitasnya, VAI dibedakan menjadi *highly pathogenic Avian Influenza* (HPAI) menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang tinggi dan sering menimbulkan wabah dan *low pathogenic Avian Influenza* (LPAI) menyebabkan gejala ringan atau tidak memiliki gejala pada unggas yang terinfeksi (Alexander, 2000). Bentuk VAI yang sangat patogenik sampai saat ini ditimbulkan oleh subtipe H5 dan H7 (Wasito et al., 2014). Gejala klinis infeksi virus AI biasanya pada saluran pernapasan, gastro-intestinal dan susunan syaraf.

Ayam broiler merupakan salah satu ternak unggas yang bermanfaat bagi manusia dalam rangka penyediaan bahan makanan yang mengandung protein hewani yang berkualitas tinggi, harga relatif murah dan mudah diperoleh. Amrullah (2003) menyatakan bahwa potensi ayam broiler cukup besar di Indonesia, yaitu mempunyai arti ekonomi yang cukup tinggi sebagai penghasil protein hewani. Keuntungan dari pemeliharaan ayam broiler adalah menghasilkan daging dalam waktu yang relatif singkat. Serta pemeliharaannya hanya membutuhkan lahan yang relative sempit. Peternakan unggas di Indonesia, pada umumnya sampai saat ini masih mengalami kendala terutama dalam hal penanganan penyakit. Berbagai penyakit unggas setiap saat dapat mengancam dan sangat merugikan peternak. Salah satu diantaranya adalah penyakit yang disebabkan oleh virus yaitu *Avian Influenza*. Kedua penyakit tersebut merupakan penyakit virus unggas penting yang dapat mengakibatkan kerugian ekonomi sangat besar yang ditemukan hampir di seluruh peternakan ayam.

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. Penyakit *Avian Influenza* di lapangan sangat merugikan peternak karena tingkat kematian penyakit ini yang sangat tinggi. Untuk meneguhkan diagnosa penyakit *Avian Influenza* dapat dilakukan berdasarkan epizootologi, gejala klinis, patologis, virologis serta peneguhan diagnosa melalui pemeriksaan laboratorium dengan pemeriksaan serologis yaitu isolasi dan identifikasi (Adi et al., 2010). Ayam kasus dalam laporan ini mengalami gejala yang mirip dengan penyakit *Avian Influenza*. Oleh karena itu, identifikasi perlu dilakukan untuk mengetahui penyebab pasti suatu penyakit.

## METODE PENELITIAN

### Hewan Kasus

Hewan pada dengan nomor protokol 604/N/23 kasus ini adalah ayam broiler berumur 29 hari, jenis kelamin betina yang berasal dari peternakan di Desa Jatiluwih, Kecamatan Penebel, Kabupaten Tabanan, Provinsi Bali. Berdasarkan anamnesis, jumlah populasi ayam yang dipelihara oleh pemilik sebanyak 3000 ekor, 150 diantaranya teramati dalam keadaan sakit dengan penurunan nafsu makan dan terjadi diare yang dipisahkan ke dalam kandang afkir dengan kapasitas 200 ayam. Total 990 ayam mati dalam kurun waktu 9 hari. Sistem pemeliharaannya yaitu di dalam kandang di tepi sawah dan sudah tervaksinasi. Ayam kasus mulai menunjukkan gejala sakit yaitu ayam lemas, terlihat gemetar, sesak nafas, tidak nafsu makan dan minum, bulu kusam, jengger pucat kebiruan, dan feses encer berwarna putih kecokelatan dua hari sebelum ayam kasus akhirnya mati. Setelah mati, ayam di bawa ke Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana untuk dilakukan nekropsi serta pengamatan patologi anatomi dan koleksi sampel untuk keperluan pemeriksaan histopatologi.

### Histopatologi

Sampel organ yang mengalami perubahan secara patologi anatomi dipotong dengan ukuran 1x1x1 cm kemudian difiksasi dalam *neutral buffered formaldehyde* (NBF) 10%. Pembuatan

preparate histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana dengan tahap-tahapan sebagai berikut: dehidrasi dengan etanol bertingkat mulai dari 70%; 85%; 95%; dan etanol absolut. Kemudian dilanjutkan tahapan penjemihan menggunakan larutan *xylol*. Jaringan yang sudah matang kemudian diinfiltrasi menggunakan *paraffin* cair dan dilakukan *embedding* dalam *paraffin block*. *Paraffin block* kemudian dipotong dengan ketebalan 5  $\mu$  menggunakan mikrotom kemudian diwarnai menggunakan pewarnaan rutin Hematoksin dan Eosin (HE). Preparat yang telah dibuat kemudian diamati menggunakan mikroskop.

Spesimen berupa organ dipotong kecil-kecil dengan menggunakan gunting kemudian dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf* dan dihancurkan kembali menggunakan stik. Selanjutnya dilakukan penambahan larutan NaCl fisiologis dan disentrifugasi dengan kecepatan 2.500 rpm selama 15 menit. Dari inokulum diambil supernatannya dan dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf*, lalu ditambahkan antibiotik *penicillin* dan *streptomycin* masing-masing sebanyak 0,1 ml, kemudian divortek dan diinkubasikan pada inkubator selama 30 menit pada suhu 37°C.

### **Penanaman Inokulum pada Telur Ayam Bertunas (TAB)**

Penanaman inokulum dilakukan pada telur ayam bertunas (TAB) yang berusia 9 hari. Sebelum dilakukan inokulasi, dilakukan *candling* untuk mengetahui keadaan embrio dan batas daerah kantong udara menggunakan pensil, kemudian dilakukan penusukan dengan menggunakan alat penusuk telur pada cangkang telur di daerah atas garis perbatasan antara kantong udara dan daerah embrio. Inokulum disuntikkan menggunakan *tuberculin syringe* 1 ml ke dalam ruang alantois dengan dosis 0,2 ml setiap butir telur. Lubang ditutup pada kerabang menggunakan kutek dan diberikan label seperlunya, selanjutnya telur diinkubasikan pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan setiap hari dan pemanenan dilakukan pada hari ke-3 pasca inokulasi.

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

Uji hemaglutinasi dilakukan untuk mendeteksi keberadaan virus dengan menggunakan teknik mikrotiter. Beberapa jenis virus yang memiliki sifat mengaglutinasi sel darah merah diantaranya *Avian Influenza* dan *Newcastle Disease*. Sebanyak 0,025 mL *phosphate buffered saline* (PBS) ditambahkan kedalam setiap sumuran plat mikro 1-12 dengan menggunakan pipet mikro. Sebanyak 0,025 mL antigen virus ditambahkan pada sumuran pertama dan kedua. Pengenceran berseri berkelipatan dua dimulai dari sumuran ke2 sampai sumuran ke-11 dengan menggunakan mikropipet sebanyak 0,025 mL, kemudian pada sumuran nomor 11 suspensi ini dibuang. Selanjutnya ditambahkan PBS sebanyak 0,025 mL kedalam setiap sumuran plat mikro lalu diayak (*shaker*) selama 30 detik. Sel darah merah unggas 1% ditambahkan sebanyak 0,025 mL ke dalam setiap sumuran plat mikro kemudian digoyang-goyangkan menggunakan pengayak mikro selama kurang lebih 30 detik. Plat mikro dibiarkan pada suhu ruangan selama satu jam dan diamati setiap 15 menit untuk melihat terjadinya reaksi hemaglutinasi.

### **Uji Rapid Hambatan Hemaglutinasi (HI)**

Untuk uji hambatan hemaglutinasi/HI, titer antigen virus diencerkan terlebih dahulu menjadi 4 unit HA yang selanjutnya digunakan pada uji HI. Uji hambatan hemaglutinasi/HI dilakukan dengan menambahkan PBS sebanyak 0,025 ml pada sumuran plat mikro 1-4, lalu ditambahkan dengan serum yang telah mengandung antibodi ND sebanyak 0,025 ml pada sumuran pertama dan serum antibody AI pada sumuran kedua. Selanjutnya ditambahkan antigen 4 HA 0,025 ml pada sumuran plat mikro 1-3 lalu ayak (*shaker*) selama 30 detik. Kemudian diinkubasikan pada suhu ruangan selama 10 menit. Setelahnya lakukan penambahan suspensi sel darah merah 1%

sebanyak 0,05 ml pada sumuran 1-4 dan lakukan pengayakan selama 30 detik. Inkubasikan kembali pada suhu kamar selama 1 jam dan amati setiap 15 menit perubahan yang terjadi.

### Identifikasi Bakteri

Identifikasi dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Media umum yang digunakan untuk penanaman bakteri adalah media *Nutrient Agar* (NA). Kultivasi bakteri dilakukan dengan cara mengusapkan ose steril pada sampel organ jantung, hati dan paru-paru lalu diinkubasi selama 24 jam. Pertumbuhan koloni pada media diamati secara makroskopis untuk melihat bentuk, warna, permukaan, tepi, dan diameter koloni. Selanjutnya dilakukan pewarnaan gram dengan *crystal violet*, iodine, alkohol, dan safranin dengan pengambilan koloni pada media NA. Preparat diamati warna dan bentuk kuman dibawah mikroskop. Koloni biakan yang sama yang digunakan pada pewarnaan gram diambil secukupnya dengan ose steril dan dioleskan dengan metode streak pada media EMBA dengan koloni yang terbentuk diamati secara makroskopis untuk melihat bentuk, warna, permukaan dan tepi. Lalu dilakukan uji katalase sebagai tahapan uji primer, dilanjutkan dengan tahapan uji biokimia secara berturut-turut yaitu uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), uji *Sulfide Indol Motility* (SIM), uji *Methyl Red* (MR), uji *Simon Citrat Agar* (SCA), dan uji Gula-gula.

### Pemeriksaan Feses

Pemeriksaan diagnosa banding penyakit yang menunjukkan gejala klinis serupa dengan menggunakan metode kualitatif yaitu secara konsentrasi pengapungan yang dilakukan di Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Pemeriksaan dilakukan dengan cara feses sebesar biji kemiri dicampur dengan air sampai konsentrasi 10% (3 gr tinja + 30 ml air) dan diaduk hingga homogen. Campuran disaring dan ditampung dengan tabung sentrifuge sampai skala  $\frac{3}{4}$  tabung. Kemudian cairan disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 2-3 menit. Kemudian supernatan dibuang, lalu endapan ditambah larutan pengapung (NaCl jenuh) sampai skala  $\frac{3}{4}$  tabung. Campuran diaduk hingga homogen dan disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 2-3 menit. Tambahkan lagi larutan pengapung (NaCl jenuh) secara perlahan dengan pipet pasteur sampai permukaan cairan cembung (tidak boleh sampai tumpah). Diamkan 1-2 menit, cover glass disentuhkan pada permukaan cairan pengapung dan ditempelkan pada glass obyektif. Selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x. Lalu dilakukan identifikasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Jumlah populasi ayam di peternakan Desa Jatiluwih adalah 3000 ekor. Kasus ayam diambil dari kandang isolasi berisi 200 ekor, ayam berumur 29 hari, berjenis kelamin betina. Berdasarkan perhitungan morbiditas, mortalitas dan CFR dapat diperoleh hasil seperti pada Tabel 1.

Pemeriksaan tanda klinis yang teramati pada ayam kasus adalah Ayam lemas, terlihat gemetar, sesak nafas, tidak nafsu makan dan minum, bulu kusam, jengger pucat kebiruan, dan feses encer berwarna putih kecokelatan. Setelah hewan kasus mati langsung dilakukan prosedur nekropsi untuk melakukan pengamatan patologi anatomi. Ayam kasus mengalami kematian dalam perjalanan menuju Laboratorium Patologi Anatomi seperti dimuat pada Gambar 1.

Hasil pemeriksaan patologi anatomi ditemukan adanya lesi pada semua organ seperti otak, trakea, esofagus, paru-paru, jantung, hati, limpa, ginjal, proventrikulus, usus, bursa fabrisius, dan pankreas dapat diperoleh hasil seperti pada Tabel 2. Setelah ayam kasus di nekropsi,



diamati perubahan secara keseluruhan dan di dapat hasil semua organ mengalami hemoragi seperti dimuat pada Gambar 2.

Hasil pengamatan histopatologi ditemukan adanya edema pericaskular, kongesti, dan gliosis pada otak, hemoragi, nekrosis, dan ada infiltrasi sel radang pada trakea, ditemukan eksudat, hemoragi pada kelenjar, dan nekrosis pada esofagus, hemoragi, nekrosis, kongesti, edema, ada infiltrasi sel radang pada paru-paru dan jantung, hemoragi, nekrosis, kongesti, dan infiltrasi sel radang pada hati, kongesti, deplesi jaringan, proliferasi sel limfoid pada organ limpa, hemoragi, nekrosis, dan infiltrasi sel radang pada ginjal, nekrosis, kongesti, hemoragi, edema, infiltrasi sel radang pada proventrikulus, hemoragi, nekrosis, infiltrasi sel radang pada usus halus dan usus besar, kongesti, hemoragi, dan proliferasi sel radang pada bursa fabrisius seperti dimuat pada Gambar 3 sampai Gambar 14. Pengamatan pada patologi anatomi pankreas mengalami hemoragi, nekrosis, dan kongesti seperti dimuat pada Gambar 15.

Peneguhan diagnosis terhadap kemungkinan infeksi virus dengan uji HA teknik mikrotiter dan uji rapid HI dapat dilihat pada gambar 16 dan 17 di bawah ini. Uji HA dan HI dilakukan berdasarkan sifat virus *Avian Influenza* yang dapat mengaglutinasi sel darah merah (RBC) dan kemampuan antibodi spesifik untuk menghambat aglutinasi tersebut. Hemaglutinasi merupakan proses penggumpalan sel darah merah yang terlihat seperti butir-butir pasir. Uji ini merupakan salah satu uji serologi standar yang direkomendasikan OIE untuk mendeteksi keberadaan antibodi yang terdapat pada serum yang diperiksa. Pada prinsipnya uji HI adalah reaksi ikatan antara antibodi yang terkandung dalam serum yang diperiksa dan jumlah antigen hemaglutinin *Avian Influenza* yang digunakan sebanyak 4 HAU (Haemagglutination Unit). Umumnya uji ini cukup sensitif dan mampu memberikan hasil yang spesifik terhadap sub tipe antigen virus *Avian Influenza* (Hewajuli dan Dharmayanti, 2008). Reaksi positif pada hasil uji HA ditandai dengan terjadinya pengendapan sel darah merah di dasar *microplate* dan titer antigen virus yang didapatkan adalah  $2^7$  HA Unit (Gambar 16). Pengujian rapid HI dilakukan dengan menggunakan serum antibodi virus ND dan AI. Hasil positif pada uji HI ditandai dengan adanya endapan pada dasar *microplate* yang mengindikasikan bahwa antibodi yang berasal dari serum mengikat antigen sehingga sel darah merah bebas untuk mengendap. Hal ini menunjukkan adanya virus AI dan ND pada sampel seperti dimuat pada Gambar 16 dan Gambar 17.

Hasil pemeriksaan di laboratorium mikrobiologi menggunakan organ hati, jantung, dan paru-paru. Pemeriksaan tersebut bertujuan untuk mengetahui adanya bakteri pada organ yang mengalami kelainan sebagai infeksi sekunder atau infeksi primer. Hasil kultur organ hati dan paru-paru pada Nutrient Agar menunjukkan adanya koloni bakteri dengan ciri bentuk bulat dengan ukuran 2 mm, elevensi cembung, margin tepi rata, dan warna putih kekuningan, pada kultur di media Eosin Methylen Blue Agar (EMBA) terlihat tidak ada koloni bakteri yang tumbuh, pada uji pewarnaan gram dari organ hati dan paru terlihat isolat berbentuk bulat, dan berkumpul seperti buah anggur, hasil dari uji katalase pada koloni bakteri organ hati dan paru yaitu katalase positif dengan terbentuknya gelembung udara setelah koloni yang diusap pada objek glass lalu ditetesi  $H_2O_2$  3%, pada hasil uji biokimia didapatkan hasil yaitu, TSIA positif acid slant, acid butt, dan gas, negatif  $H_2S$ , pada uji SIM negatif indol, motility dan  $H_2S$ , pada uji Methyl red positif setelah ditetesi reagen Methyl red, pada uji SCA negatif, dan pada uji glukosa positif. Pengujian di laboratorium mikrobiologi menunjukkan adanya bakteri yang tumbuh pada organ hati dan paru dan diidentifikasi adanya bakteri *Staphylococcus sp*, proses pengujian bakteri dimuat pada Gambar 18 hingga Gambar 22.

Hasil pemeriksaan di Laboratorium Parasitologi menggunakan sampel feses dengan metode kualitatif melalui pemeriksaan Natif/langsung, secara konsentrasi pengapungan dan secara konsentrasi apung didapatkan bahwa hasil pemeriksaan parasitologi dari sampel feses dengan

metode natif, pengapungan dan sedimentasi menunjukkan bahwa tidak ada infeksi akibat parasit karena tidak ditemukan adanya telur cacing, maupun cacing pada feses ayam kasus.

## Pembahasan

Dalam kasus ini, ayam buras berumur 29 hari dengan jenis kelamin betina dipelihara dengan didalam kandang *open space* tepi sawah dengan *biosecurity* yang kurang diperhatikan, ayam sudah tervaksinasi. Hewan kasus sudah diberikan vaksinasi namun belum pernah diberikan pengobatan. Berdasarkan hasil epidemiologi menunjukkan bahwa angka morbiditas sebesar 45%, mortalitas 33%, *case fatality rate* (CFR) atau laju kematian yang cukup tinggi yaitu 73,3%, menandakan bahwa virus AI yang menyerang peternakan tersebut diindikasikan ke galur velogenik (ganas). 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). Pada saat munculnya gejala, ayam yang sakit sudah dipisah dari ayam lainnya, dan ayam yang mati Sebagian dibakar.

Hasil pemeriksaan uji HA/HI ayam kasus diperoleh hasil positif yang ditandai dengan tidak terbentuknya endapan pada dasar mikropate atau hemaglutinasi sel darah merah. Pada uji HA didapatkan titer  $2^7$  HA Unit. HA sempurna ditandai dengan tidak terjadinya pengendapan sel darah merah di dasar mikropate, hal ini disebabkan karena aktivitas protein virus yang mengikat sel darah merah (Mahardika *et al.*, 2015). Pengujian rapid HI dilakukan dengan menggunakan serum antibodi virus ND dan AI. Hasilnya positif yang ditandai dengan terjadi pengendapan sel darah merah pada mikropate dengan menggunakan antibodi ND dan AI. Prinsip uji HI adalah reaksi ikatan antara antibodi pada serum dengan antigen virus sehingga menghambat perlekatan Hemaglutinin virus dengan asam sialat pada sel darah unggas sehingga pada dasar sumuran mikropate tidak terbentuk endapan (Hewajuli dan Dharmayanti, 2008).

Pemeriksaan patologi anatomi ayam kasus menunjukkan bahwa hampir semua organ mengalami perdarahan. Secara alami AIV virulen mampu menginfeksi dan berkembang biak pada semua sel, jaringan atau organ pada ayam (Wakamatsu *et al.*, 2006). Hal ini sejalan dengan penelitian Damayanti *et al.* (2004), juga menyebutkan dalam penelitiannya bahwa secara PA, ayam yang terserang *Avian Influenza* akan memperlihatkan terjadinya perdarahan pada hampir semua organ, yakni otot, trakhea, paru-paru, jantung dan paru-paru, dan pankreas. Hal ini terjadi dikarenakan infeksi virus *Avian Influenza* yang memiliki tingkat patogenesitas tinggi dapat bersifat multi sistemik dan oleh sebab itu salah satu manifestasi klinis infeksi tersebut adalah terjadinya perdarahan di hampir seluruh bagian tubuh.

Dari temuan patologi anatomi dan histopatologi ayam kasus, ditemukan perubahan yaitu kongesti pada otak, paru-paru, proventrikulus dan bursa. Sedangkan pada trakea dan paru-paru ditemukan hemoragi yang dapat mengakibatkan terganggunya proses respirasi, Kerusakan yang teramati di saluran pencernaan meliputi nekrosis dan hemoragi. Trakea, paru-paru, pankreas dan usus mengalami perdarahan merupakan salah satu ciri khas penyakit AI (Pranatha *et al.*, 2018). Pada penelitian yang dilakukan Lean *et al.*, 2022 Lesi paling umum yang terkait dengan infeksi HPAIV H5N1 adalah nekrosis pankreas dan limpa. Nekrosis pankreas sering diamati pada unggas Galliformes, termasuk ayam, kalkun, dan burung pegas.

Histopatologi menunjukkan hampir semua organ yang diperiksa memperlihatkan peradangan yang bersifat nonsupuratif, artinya sel-sel radang didominasi oleh sel-sel yang berinti satu (sel limfoid) yang membuktikan bahwa peradangan jenis ini disebabkan oleh agen infeksius berupa

virus. Infeksi virus yang bersifat sistemik ini merusak berbagai organ vital seperti otak, paru-paru, usus, dan organ lainnya (Nofantri *et al.*, 2017). Hemoragi dan edema pada trakea menandakan bahwa terdapat virus AI. Pada mukosa usus terdapat infiltrasi sel radang, nekrosis dan hemoragi, hal ini disebabkan reaksi inflamasi yang berlebihan menyebabkan sel-sel yang terdapat pada mukosa usus mengalami nekrosis (Pranatha *et al.*, 2018). Histopatologi jantung ditemukan edema miokardium dan infiltrasi sel mononuklear. Edema miokardium karena adanya proses 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 (Kustiyah *et al.*, 2011) Hati teramati adanya kongesti, nekrosis, perdarahan dan infiltrasi sel radang oleh limfosit dan juga neutrofil yang menandakan bahwa sel sel neutrofil sedang melawan infeksi bakteri. Kongesti pada vena ventralis dan kapiler hati, terjadi karena adanya perlambatan aliran darah pada pembuluh darah. 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 (Etriwati *et al.*, 2017). Dari data epidemiologi, gejala klinis, patologi anatomi, histopatologi, hingga diagnosa menggunakan HA/HI, ayam kasus mengalami kematian oleh Virus *Avian Influenza* dan ada infeksi sekunder oleh bakteri.

Pemeriksaan di laboratorium mikrobiologi menggunakan organ hati, jantung, dan paru-paru. Pemeriksaan tersebut bertujuan untuk mengetahui adanya bakteri pada organ yang mengalami kelainan sebagai infeksi sekunder atau infeksi primer. Dari hasil kultur pada Nutrient Agar, Methylen Blue (EMBA), pewarnaan gram dan uji biokimia didapatkan bakteri genus *Staphylococcus sp.* Bakteri *Staphylococcus sp* merupakan bakteri flora normal pada kulit dan lingkungan. Sehingga dengan terisolasinya *Staphylococcus sp* pada organ hati dan paru menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus sp* dapat memperparah keadaan ayam kasus dan dapat menjadi infeksi sekunder (Goncheva *et al.*, 2020).

Pemeriksaan feses di Laboratorium Parasitologi tidak ditemukan adanya telur cacing maupun coccidia. Uji yang dilakukan adalah uji konsentrasi. Penggunaan metode ini dilakukan karena minim kotoran yang ikut terbawa dalam preparat sepanjang lapang pandang saat pemeriksaan dibawah mikroskop serta lebih sensitive terhadap hewan dengan infeksi rendah dibandingkan dengan metode lainnya. Uji konsentrasi dilakukan dengan uji apung dengan menggunakan prinsip memanfaatkan berat jenis dari telur cacing yang lebih kecil dari larutan garam jenuh (Damayanti *et al.*, 2019).

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Berdasarkan anamnesis, gejala klinis, data epidemiologi, perubahan patologi anatomi, perubahan histopatologi serta peneguhan diagnosis dan hasil uji HA/HI, dapat disimpulkan bahwa ayam buras pada hewan kasus dengan nomor protokol 604/N/23 positif terinfeksi virus *Avian influenza* (AI). Selain itu pada pemeriksaan bakteriologi dan mikologi ditemukan juga koloni bakteri yang tumbuh pada sampel paru dan hati adalah bakteri *Staphylococcus sp*. Hasil pemeriksaan parasitologi dari sampel feses dengan metode natif, pengapungan dan sedimentasi menunjukkan bahwa tidak ada infeksi akibat parasit.

### Saran

Untuk melakukan pencegahan penyebaran penyakit *Avian Influenza* (AI) dan *Newcastle Disease* (ND) dapat dilakukan dengan meningkatkan *biosecurity*, pengendalian lalu lintas ayam, dan vaksinasi secara berkala untuk menghindari adanya infeksi virus sehingga berdampak baik terhadap kesehatan ternak, peternak, dan lingkungan sekitar serta mampu meminimalisir kerugian ekonomi akibat jumlah mortalitas yang tinggi.



## UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada dosen pengajar beserta seluruh Staff Laboratorium Patologi Veteriner, Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Veteriner, Laboratorium Parasitologi Veteriner, dan Laboratorium Virologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana yang telah memfasilitasi dan membimbing penulis sehingga terselesaikannya laporan kasus ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adi, A.A.A., Astawa, N.M., Putra, K.S.A., Hayashi., & Matsumoto, Y. (2010). Isolation and characterization of a pathogenic newcastle disease virus from a natural case in Indonesia. *J. Vet. Med. Sci.* 72(3): 313-319.
- Alexander, D.J. (2000). A Review of *Avian influenza* in Different Bird Species. *J. Vet. Microbiology.* 74(1-2):3-13.
- Alexander, D.J. (2007). An Overview of The Epidemiology of *Avian Influenza*. *J. Vaccine.* 25(30):5637-44.
- Amrullah, I.K. (2003). *Nutrisi Ayam Petelur*. Cetakan ke-1. Lembaga Satu Gunung.
- Basuno, E. (2008). Review Dampak Wabah Dan Kebijakan Pengendalian *Avian Influenza* Di Indonesia. *J. Analisis Kebijakan Pertanian.* 6(4): 314-334.
- Damayanti, R., Dharmayanti, N.L.P.I., Indriani, R., Wiyono, A., & Darminto. (2004). The Clinico-pathological Effects of Chicken Infected with Highly Pathogenic *Avian Influenza* in Some Farms Located in East Java and West Java. *JITV.* 9(2): 128-135.
- Damayanti, E.A., Hastutiek, P., Estoepongastie, A.T.S., Retno, N.D., Kusnoto., & Suprihati, E. (2019). Prevalensi dan Derajat Infeksi Cacing Saluran Pencernaan pada Ayam Buras (*Gallus Domesticus*) di Desa Kramat Kecamatan Bangkalan Kabupaten Bangkalan. *Journal of Parasite Science.* Vol. 3(1)
- Etriwati., Ratih, D., Handharyani, E., & Setyaningsih, S. (2017). Pathology and immunohistochemistry study of Newcastle disease field case in chicken in Indonesia. *Veterinary World.* 10(9): 1066-1071.
- Goncheva, M.L., Conceicao, C., Tuffs, S.W., Lee, H.M., Nicol, M.Q., Bennet, I., Sargison, F., Pickering, A.C., Hussain, S., Gill, A.C., Dutia, B.M., Digard, P., & Fitzgerald, J.R. (2020). *Staphylococcus aureus* Lipase 1 Enhances Influenza A Virus Replication. *American Society for Microbiology.* 7:11(4)
- Hewajuli, D.A., & Dharmayanti, N.P.L.I. (2008). Karakteristik dan Identifikasi Virus *Avian Influenza*. *Wartazoa.* 18(2).
- Kandun, I.N., Wibisono, H., Sedyaningsih, E.R., Yusharmen., Hadisoedarsuno, W., Purba, W., & Uyeki, T.M. (2006). Three Indonesian clusters of H5N1 virus infection in 2005. *J. of Medicine New England.* 355(21): 2186–2194. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa060930>
- Karmaniasih, N.L.P., Marwati, N.M., & Asmara, I.W.S. (2014). Hubungan Pengetahuan, Sikap dan Tindakan Pekerjaan Ternak Unggas dengan Keadaan Sanitasi Kandang Dalam Upaya Pencegahan Penyakit Flu Burung. *Jurnal Kesehatan Lingkungan.* 4(1): 50-56.
- Kustiyah, A.R., & Soemantri, A.G. (2011). Hubungan Faktor Kebocoran Vaskuler dengan Disfungsi Paru pada Demam Berdarah Dengue. *J. Kedokteran dan Kesehatan.* Vol. 3(1).
- Lean, F.Z.X., Vitores, A.G., Reid, S.M., Banyard, A.C., Brown, I.H., Nunez, A., & Hansen, R.D.E. (2022). Gross Pathology of High Pathogenicity *Avian Influenza* Virus H5N1 2021–

2022 Epizootic in Naturally Infected Birds in the United Kingdom. *One Health*. Vol 14. doi: <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2022.100392>

Lestari, A.A.W. (2009). Sosialisasi Flu Burung Serta Pemeriksaan Jumlah Sel Darah Putih Dan Trombosit Penduduk Desa Beraban Kabupaten Tabanan. *J. Udayana Mengabdi*. 8(1): 1–5.

Mahardika, I.G.N.K., Astawa, I.N.M., Kencana, G.A.Y., Suardana, I.B.K. & Sari, T.K. (2015). Teknik Lab Virus. Udayana University Press. Denpasar.

Nofantri, L., Berata, I.K., & Adi, A.A.A.M. (2017). Studi Histopatologi Limpa dan Otak Ayam Terinfeksi Penyakit Tetelo. *Indonesia Medicus Veterinus*. 6(5):417-427.

Pratiwi, B.I., Kencana, G.A.Y., & Suartha, I.N. (2020). Seroprevalensi Penyakit *Avian Influenza* Subtipe H5N1 pada Ayam Buras di Pasar Beringkit dan Galiran, Bali. *J. Sain Veteriner*. 38(3): 280-288.

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.

Santhia, K., Ramy, A., Jayaningsih, P., Samaan, G., Putra, A.A.G., Dibia, N., & Kandun, N. (2009). *Avian influenza A H5N1* infections in Bali province, Indonesia: A behavioral, virological and seroepidemiological study. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 3(3):81–89.

Santhia, K.A.P., & Putra, A.A.G. (2004). Kajian Epidemiologi *Avian Influenza* Di Provinsi Bali (Epidemiology study of *Avian Influenza* in Bali Province). Presentasi Paper pada Pertemuan Ilmiah Kesehatan Hewan. Bogor 13-15 Desember.

Swayne, D.E., & 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, S.H., Tyasasmaya, T., & Maes, R.K. (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.

## Tabel

Tabel 1. Hasil pemeriksaan morbiditas, mortalitas dan CFR

Parameter Epidemiologi	Hasil
Morbiditas	45%
Mortalitas	36%
CFR	73,3%

Tabel 2. Hasil pemeriksaan patologi anatomi

Organ	Perubahan Patologi Anatomi
Otak	Mengalami hemoragi
Trakea	Mengalami hemoragi
Esofagus	Mengalami hemoragi
Paru-paru	Mengalami perubahan warna, kongesti, hemoragi, dan nekrosis
Jantung	Mengalami dilatasi, pembesaran, dan kongesti
Hati	Mengalami pembesaran, permukaan kasar, ujungnya tumpul, kongesti, hemoragi, dan terdapat bercak putih ( <i>white spot</i> )
Limpa	Mngalami pembesaran dan perubahan warna
Ginjal	Mengalami hemoragi dan kerapuhan
Proventrikulus dan Ventrikulus	Proventrikulus mengalami hemoragi dan eksudat berwarna kuning Ventrikulus mengalami hemoragi
Pankreas	Mengalami hemoragi dan nekrosis
Usus	Mengalami hemoragi dan terdapat mukus
Bursa Fabricius	Mengalami hemoragi

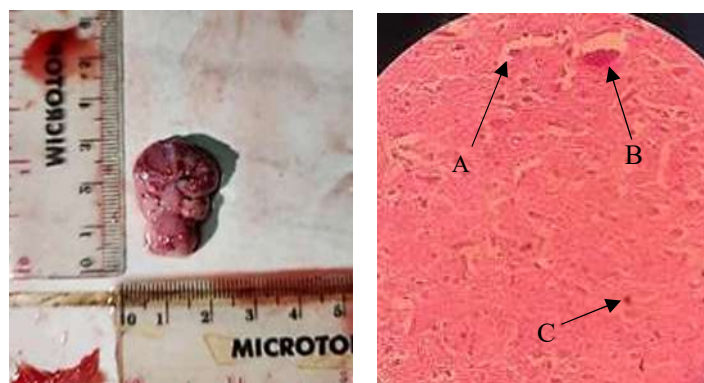
Gambar



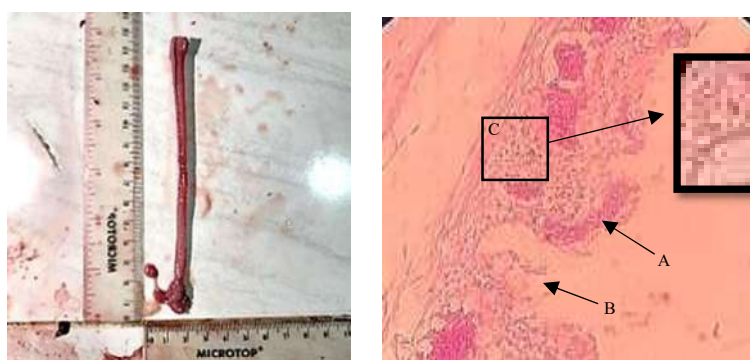
Gambar 1. Kondisi Ayam Setelah Mati



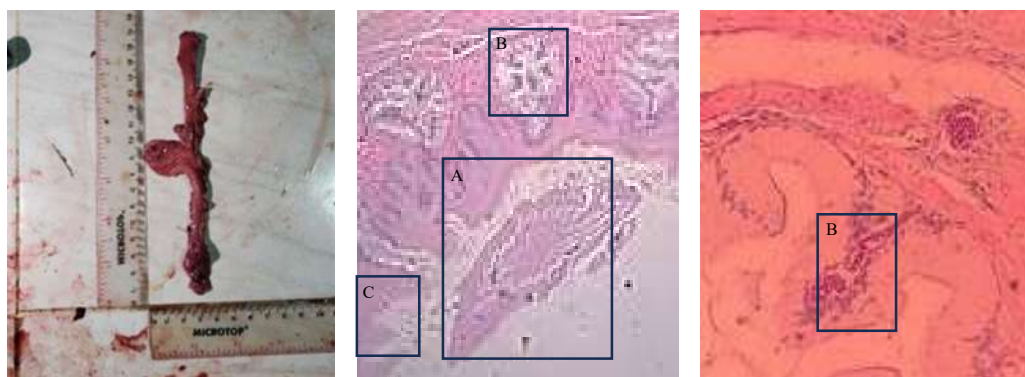
Gambar 2. Organ Setelah Nekropsi



Gambar 3. Otak (*Encephalitis*): Edema perivaskular (A), Kongesti (B), Gliosis (C). H&E 400x

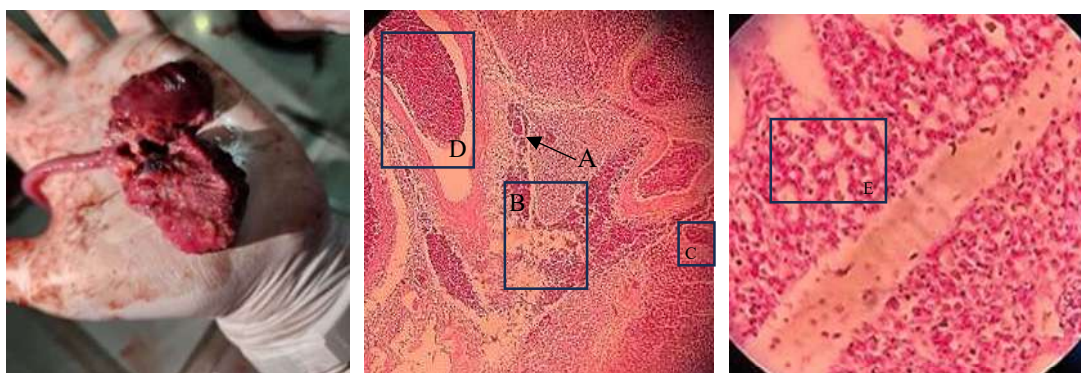


Gambar 4. Trakea (*Tracheitis et necrotican*): Terjadi hemoragi (A), Nekrosis epitel mukosa (B), Infiltrasi sel radang (C). H&E 400x & 1000x

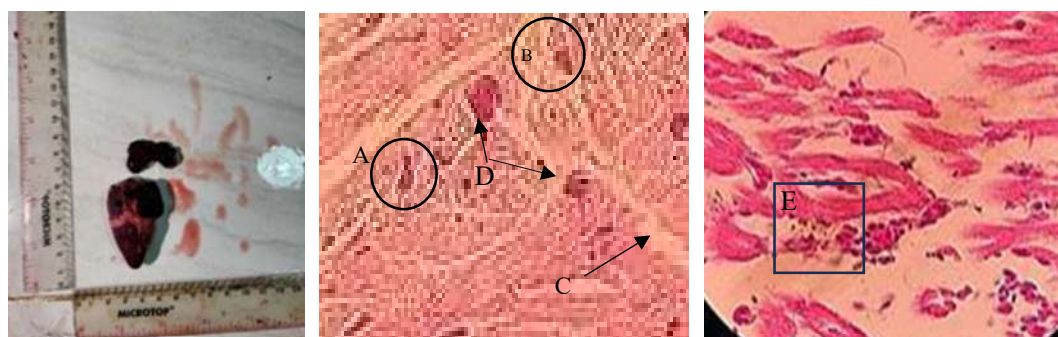


Gambar 5. Esofagus (*Esophagitis*): Ada eksudat (A), terjadi hemoragi pada kelenjar (B), nekrosis (C). H&E 100x dan 400x

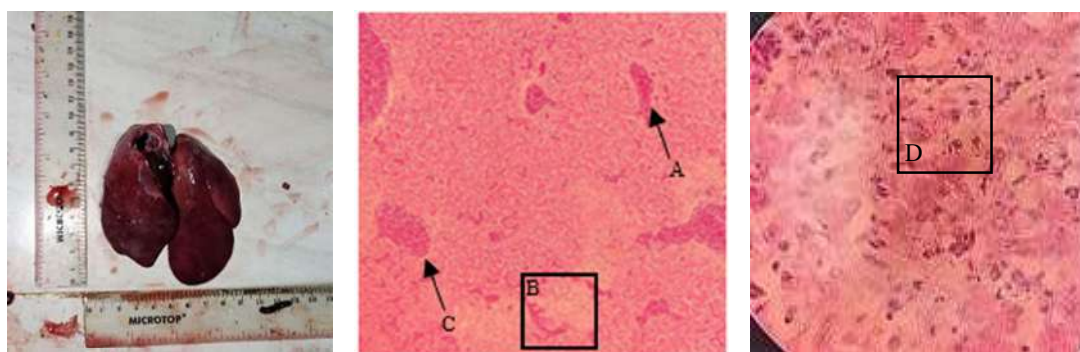




Gambar 6. Paru-Paru (*Bronchopneumonia hemorrhagica et necrotica*): Terjadi hemoragi (A), nekrosis (B), kongesti (C), edema (D), Infiltrasi sel radang (E). H&E 100x dan 400x

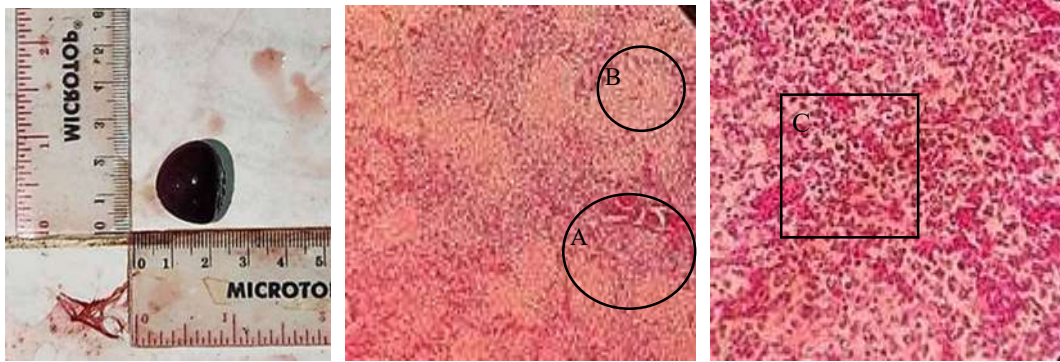


Gambar 7. Jantung (*Myocarditis hemorrhagica et necrotica*): Terjadi hemoragi (A), nekrosis (B), Edema (C), kongesti (D), infiltrasi sel radang (E). H&E 400x & 1000x

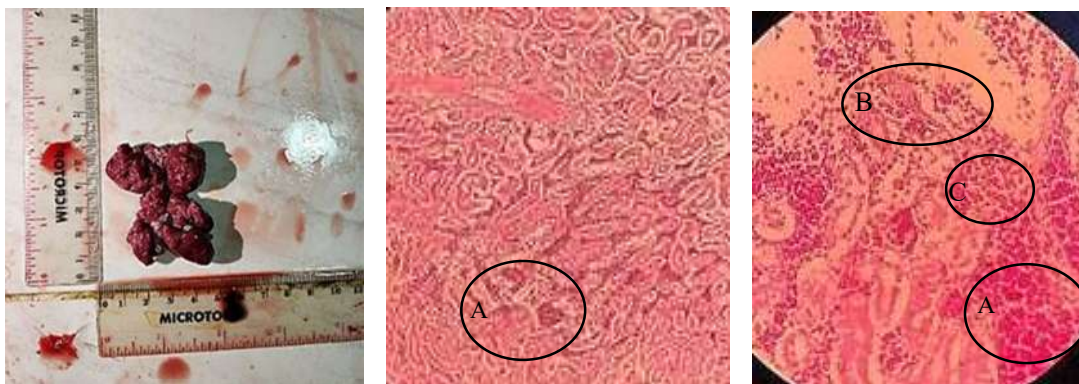


Gambar 8. Hati (*Hepatitis hemorrhagica et necrotica*): Terjadi hemoragi (A), nekrosis hepatosit (B), kongesti (C), Infiltrasi sel radang didominasi oleh limfosit (D). H&E 100x dan 400x





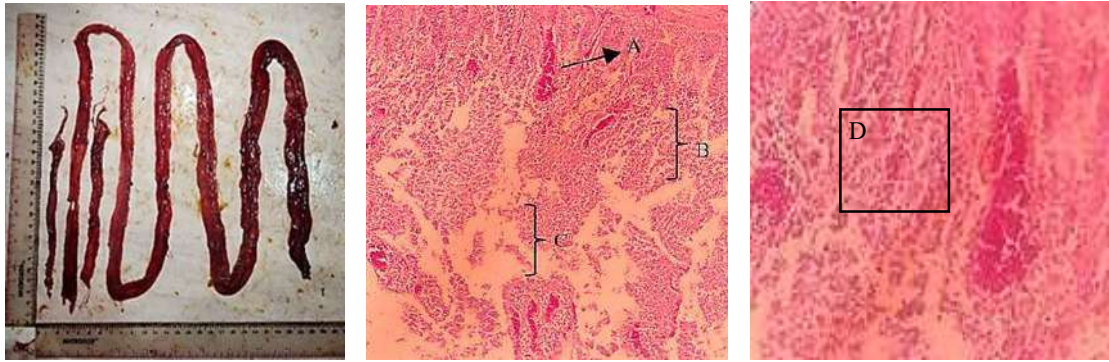
Gambar 9. Limpa (*Splenitis*): Terjadi Kongesti (A), Depleksi jaringan (B), Proliferasi sel limfoid (C). H&E 100x & 400x



Gambar 10. Ginjal (*Nephritis hemorrhagica et necrotica*): Hemoragi (A), nekrosis (B), infiltrasi sel radang (C). H&E 100x & 400x



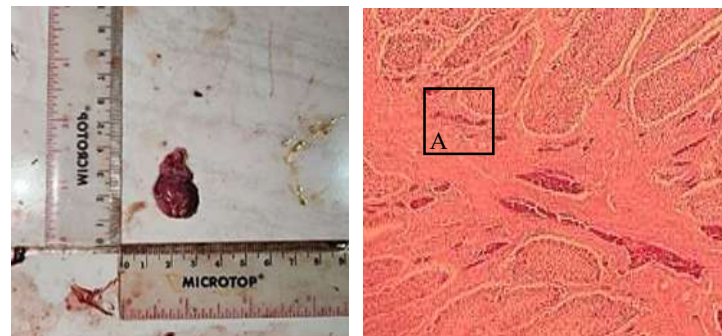
Gambar 11. Proventrikulus (*Proventriculitis hemorrhagica et necrotica*): Terjadi nekrosis (A), kongesti (B), hemoragi (C), edema (D), infiltrasi sel radang (E). H&E 10x&400x)



Gambar 12. Usus Halus (*Enteritis hemorrhagica et necrotica*): Terjadi Hemoragi (A), nekrosis pada Kripta Lieberkuhn (B), nekrosis pada vili (C), infiltrasi sel radang (D). H&E 100x & 400x.



Gambar 13. Usus Besar (*Enteritis hemorrhagica et necrotica*): Terjadi hemoragi (A), nekrosis (B), Infiltrasi sel radang (C). H&E 100x & 400x



Gambar 14. Bursa Fabricius (*Bursitis hemorrhagica*): Terjadi hemoragi (A). H&E 100x & 400x





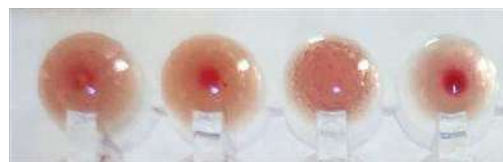
Gambar 15. Patologi anatomi pankreas mengalami hemoragi, nekrosis, dan kongesti



Gambar 16. Hasil uji hemaglutinasi (HA) Teknik microtiter.

Keterangan:

- : Kontrol Positif
- : Titer Antigen ( $2^7$  HA Unit)
- : Kontrol Negatif

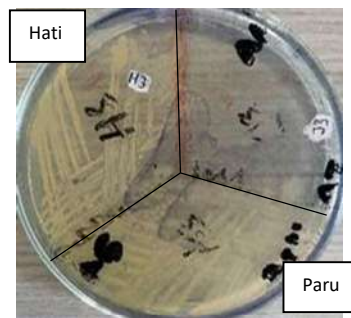


ND AI KA SDM

Gambar 17. Hasil uji Rapid hambatan hemaglutinasi (HI). Hasil menunjukkan terjadi hambatan hemaglutinasi, positif ND Samar (ND); Hasil menunjukkan terjadi hambatan hemaglutinasi, positif AI (AI); Kontrol antigen (KA); Kontrol sel darah merah (SDM)

Keterangan:

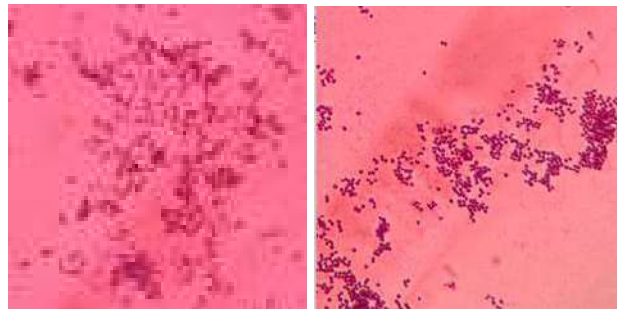
- ND : Hasil uji menunjukkan positif ND (samar), terjadi hambatan hemaglutinasi
- AI : Hasil uji menunjukkan positif AI, terjadi hambatan hemaglutinasi
- KA : Kontrol Antigen
- SDM : Kontrol sel darah merah



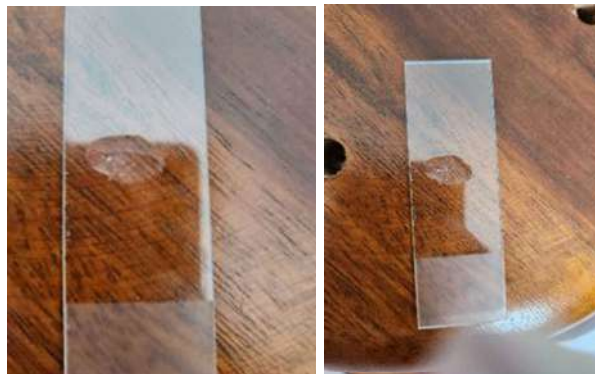
Gambar 18. Hasil kultur bakteri dari organ hati dan Paru pada media Nutrient Agar (NA)



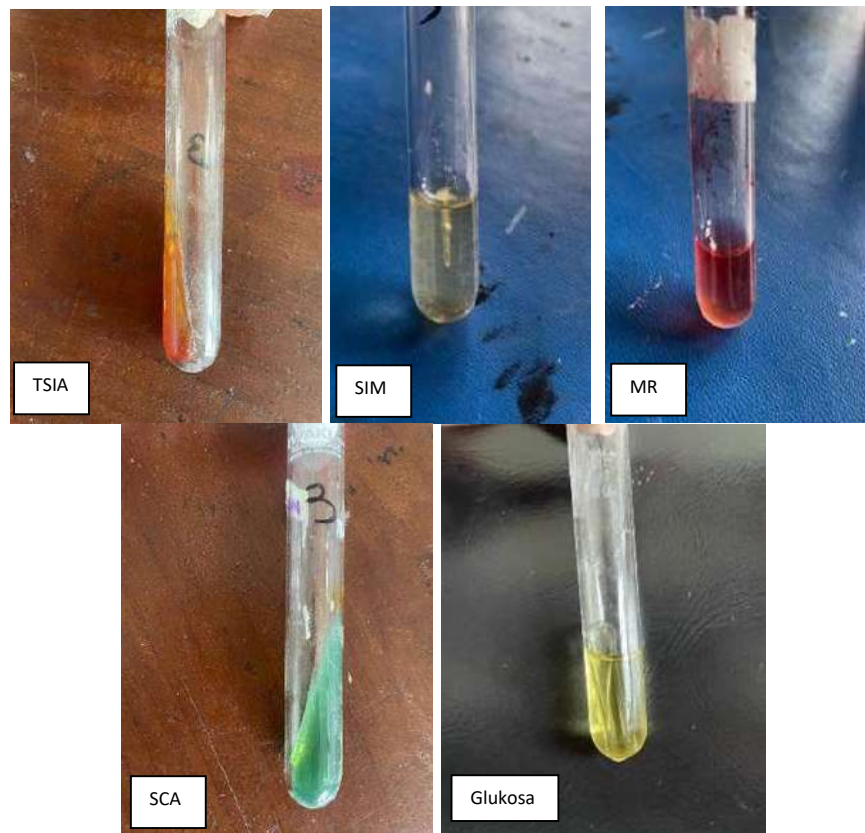
Gambar 19. Hasil kultur bakteri dari organ hati (kiri) dan paru (kanan) pada media Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)



Gambar 20. Hasil pewarnaan Gram dari organ Hati (kiri) dan Paru (kanan)



Gambar 21. Hasil Uji Katalase dari organ Hati (kiri) dan Paru (kanan)



Gambar 22. Hasil dari Uji Biokimia