

NEWCASTLE DISEASE VIRUS ACCOMPANIED BY COCCIDIOSIS IN BROILER CHICKEN**Infeksi Newcastle Disease disertai koksidirosis pada ayam broiler****Nurhasiyat Nasaruddin¹, I Nyoman Mantik Astawa², I Ketut Berata³, Hapsari Mahatmi⁴, I Made Dwinata⁵**¹Mahasiswa Profesi Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana Jl.PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234²Laboratorium Virologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana Jl.PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 8023³Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana Jl.PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 8023⁴Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana Jl.PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 8023⁵Laboratorium Parasitologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana Jl.PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 8023*Corresponding author email: nurhasiyatnur@gmail.com

How to cite: Nasaruddin N, Astawa INM, Berata IK, Mahatmi H, Dwinata IM. 2024. Newcastle Disease virus accompanied by coccidiosis in broiler chicken. *Bul. Vet. Udayana*. 16(4): 1294-1306. DOI: <https://doi.org/10.24843/bulvet.2024.v16.i04.p36>

Abstract

Newcastle Disease (ND) is a highly contagious disease with a high mortality rate, showing clinical symptoms such as loss of appetite, lethargy, and diarrhea. Viral diseases are generally accompanied by a secondary infection, namely parasites. Toxicosis is a parasitic disease that causes problems and losses to chicken farms, and attacks the digestive tract in chickens. Therefore, it is necessary to conduct an examination in each laboratory to get a definitive diagnosis. In this case study, the methods of anatomical pathology examination, hispathology preparation, HA-HI examination, bacterial identification, and stool examination were used qualitatively. The results of the anatomical pathology examination found pathonomic lesions, namely ptekie in the ventricles and proventricles, hemorrhagic lungs, multifocal ulcers and ptekies in the intestines, spleen hemorrhage, renal hemoragi.

Keywords: Newcastle Disease, Coccidiosis, Broiler, Pathological Changes

Abstrak

Newcastle Disease (ND) merupakan penyakit yang sangat menular dengan angka kematian yang tinggi, menunjukkan gejala klinis seperti tidak nafsu makan, lesu, dan diare. Penyakit virus umumnya biasanya disertai adanya infeksi sekunder yaitu parasit. Koksidirosis merupakan penyakit parasit yang menimbulkan masalah dan kerugian pada peternakan ayam, dan menyerang saluran pencernaan pada ayam. Oleh karena itu perlu dilakukan pemeriksaan

disetiap laboratorium untuk mendapat diagnosa definitif. Pada studi kasus ini menggunakan metode pemeriksaan patologi anatomi, preparat hispatologi, pemeriksaan HA-HI, identifikasi bakteri, serta pemeriksaan feses secara kualitatif. Hasil pemeriksaan patologi anatomi ditemukan lesi yang patognomik yaitu ptekie pada ventrikulus dan proventrikulus, paru-paru hemoragi, multifokal ulser dan ptekie pada usus, limpa hemoragi, ginjal hemoragi. Hasil pemeriksaan histopatologi menunjukkan perubahan ditandai dengan ditemukannya sel-sel radang yang didominasi berinti sel satu (limfoid) yang menjurus disebabkan virus. Hasil pemeriksaan uji HA/HI menunjukkan ayam kasus positif terinfeksi virus *Newcastle Disease*. Dilakukan kultur sampel organ paru-paru, usus, dan hati pada media umum *Nutrient Agar* (NA), dilanjutkan dengan media selektif Eosin Methlene Blue Agar (EMBA), uji primer, pewarnaan gram, uji biokimia dan uji gula-gula hingga ditemukan hasil terdapat bakteri *Escherichia coli* yang tumbuh dari usus ayam dan tergolong flora normal. Hasil pemeriksaan parasit pada feses ayam dengan metode kualitatif ditemukan ookista non-sporulasi, ayam kasus positif terinfeksi Koksidiosis. Dari kasus ini dapat disimpulkan bahwa ayam kasus terinfeksi virus *Newcastle Disease* dan Koksidiosis. Perlu kesadaran dari berbagai pihak untuk memperhatikan dan mengawasi manajemen peternakan unggas.

Kata kunci: Newcastle Disease, Koksidiosis, Broiler, Perubahan Patologi

PENDAHULUAN

Newcastle Disease adalah penyakit endemik di Indonesia dengan kejadian penyakit yang terus berlangsung sepanjang tahun (Hartaputera et al., 2024). Penyakit ini masih menjadi permasalahan penting karena merupakan salah satu penyakit yang menimbulkan kerugian ekonomi pada industri peternakan unggas di Indonesia (Wibowo et al., 2018). Penyakit ND memiliki angka morbiditas dan mortalitas yang sangat tinggi dan dapat mencapai 100% akibat infeksi galur velogenik, morbiditas 50% akibat galur mesogenik, dan morbiditas mencapai 30% pada infeksi galur lentogenik (Wibowo et al., 2018). Secara klinis tingkat keparahan penyakit ND bervariasi mulai dari penyakit ringan tanpa gejala klinis sampai infeksi yang parah dengan tingkat kematian sampai 100%.

Penyakit Newcastle Disease (ND) disebabkan oleh Avian Paramyxovirus setotype 1 (APMV-1) yang bersal dari genus Avulavirus familia Paramyxoviridae, Virus ND bersifat sangat menular dan dapat menyerang berbagai jenis unggas seperti ayam petelur, ayam pedaging, bahkan juga ayam buras dengan perubahan patologi yang menciri. Penularan penyakit ND terjadi secara inhalasi melalui udara tercemar, dimana virus dari unggas sakit menyebar ke unggas sehat yang ada di sekitarnya, dan bisa melalui bangkai penderitanya atau secara tidak langsung melalui daging yang tercemar virus (Ayu Yuniati Kencana et al., 2019). Penyakit ND umumnya ditandai dengan kelainan saluran pernafasan, pencernaan, dan sistem saraf pusat (Musdalifah et al., 2022). Gejala klinis nonspesifik yang ditunjukkan ND antara lain depresi, bulu rontok, sulit bernafas dengan mulut terbuka, hipertermia, anoreksia, lesu dan hipotermia sebelum kematian. Meskipun demikian, dugaan terhadap ND muncul apabila organ limpa, timus, bursa fabricius dan saluran pencernaan unggas yang sakit mengalami perdarahan dan nekrosis. Lesi perdarahan dan nekrosis ditemukan pada usus kecil, proventrikulus dan seka tonsil.

Koksidiosis merupakan penyakit usus yang disebabkan oleh parasit protozoa dari genus *Eimeria*. Ada 9 spesies *Eimeria* yang dapat menyebabkan Koksidiosis pada ayam antara lain, *E.acervulina*, *E.brunetti*, *E.maxima*, *E.mitis*, *E.mivati*, *E.necatrix*, *E.praecox*, dan *E.hagani*, *E.tenella*. *E.tenella* merupakan spesies yang paling sering menyebabkan koksidiosis pada ayam broiler. Koksidiosis merupakan salah satu penyakit yang banyak mendatangkan masalah dan kerugian pada peternakan ayam. Kerugian ditimbulkan dapat menghambat perkembangan peternakan ayam dan menurunkan produksi protein hewani. *Eimeria spp* menyebabkan

kerusakan pada usus sehingga akan menurunkan penggunaan pakan, lambatnya pertambahan bobot badan, serta penurunan daya tahan tubuh dan penurunan produksi telur. Penulisan studi kasus ini dilakukan untuk meneguhkan diagnosis penyakit serta mengetahui penyebab kematian ayam kasus. Sehingga dapat ditentukan upaya penanggulangannya terhadap ayam yang masih sehat maupun ayam yang sakit.

METODE PENELITIAN

Objek Penelitian

Hewan kasus yang digunakan ayam broiler berumur 34 hari yang berasal dari salah satu peternakan ayam broiler dari Desa Petang, Kecamatan Petang, Kabupaten Badung, Bali. Peternakan tersebut memiliki jumlah populasi sebanyak 8000 ekor ayam, terdapat 200 ekor ayam mati dan 300 ekor ayam sakit yang saat itu menunjukkan gejala yang serupa. Populasi ayam pada peternakan tersebut diketahui sudah memperoleh vaksin ND dan juga vitamin. Peternak tidak mengetahui mulai kapan muncul tanda klinis atau berapa hari ayam sakit, seringkali ayam sudah ditemukan mati secara mendadak. Gejala yang diamati dari ayam kasus yaitu tidak nafsu makan, lesu, dan diare. Kemudian dilakukan nekropsi di Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana untuk mengetahui dan mengamati gambaran perubahan patologi anatomi pada hewan kasus serta pengambilan sampel untuk pemeriksaan lebih lanjut di laboratorium virologi, parasitologi, histopatologi, dan bakteriologi.

Perhitungan angka morbiditas, mortalitas, dan *Case Fatality Rate* (CFR) dapat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Morbiditas} = \frac{\text{Jumlah Hewan Sakit}}{\text{Populasi}} \times 100\%$$

$$\text{Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah Hewan Mati}}{\text{Populasi}} \times 100\%$$

$$\text{Case Fatality Rate} = \frac{\text{Jumlah Hewan Mati}}{\text{Juml Hewan Sak}} \times 100\%$$

Metode Koleksi Data

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

Pemeriksaan Patologi Anatomi dan Pembuatan Preparat Histopatologi

Ayam kasus dinekropsi untuk mengambil organ antara lain otak, trakea, esofagus, paru-paru, jantung, hati, ginjal, limpa, proventikulus, dan usus. Dilakukan nekropsi untuk mengamati gambaran perubahan patologi anatomi yang terjadi pada hewan tersebut. Hasil dari gambar masing-masing sampel tersebut kemudian dideskripsikan adanya perubahan yang terjadi, masing-masing sampel organ kemudian dipotong tipis dengan ukuran 1x1x1cm 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*, didehidrasikan 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. Kemudian *tissue cassette* disimpan pada suhu 60°C sebelum dicetak

dengan paraffin cair. setelah itu jaringan dimasukkan ke dalam blok parafin. Proses *cutting* yaitu memotong dimasukkan dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3-4 μ m. hasil potongan diapungkan dalam air hangat (*waterbath*) bersuhu 46°C. Sediaan diangkat, dikeringkan dan diletakkan pada gelas obyek dan diwarnai dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Setelah dilakukan pewarnaan HE, preparat kemudian diletakkan dalam *object glass* yang diberi cairan perekat yaitu entelan (Kiernan, 2015). Kemudian preparat diamati dibawah mikroskop.

Pemeriksaan Identifikasi Virus (Metode HA-HI)

Pembuatan inokulum

Sampel yang digunakan 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 atau NaCl fisiologis hingga tercampur rata dan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 2.500 rpm. Kemudian diambil supernatant sebanyak 0,8 mL antibiotik *Penicillin* dan *Streptomycin* dan dikocok membentuk angka 8. Kemudian campuran tersebut dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 30 menit.

Penanaman Inokulum Pada Telur Ayam Bertunas (TAB)

Penanaman inokulum dilakukan secara *in vivo* dengan menginokulasikan virus TAB yang berumur 9 hari. Sebelum diinokulasi, dilakukan telur dengan menggunakan teropong (*candler*) di ruangan gelap. Cangkang telur diusap menggunakan kapas beralkohol, kemudian dilakukan *candling* dan diberi tanda pada daerah kantung udara menggunakan pensil. Dibuat lubang diatas garis perbatasan antara kantung udara dengan embrio yang dekat pembuluh darah pada cangkang telur. Inokulum disuntikkan menggunakan tuberculin syringe 1 mL ke dalam ruang alantois dengan dosis 0,1 mL per butir telur. Selanjutnya lubang penyuntikan ditutup dengan menggunakan kuteks. Telur dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37° dan diamati setiap hari, serta dipanen setelah 48 jam atau jika embrio telah mati. Telur ayam bertunas pada hari ke-2 pascainokulasi dalam keadaan mati.

Uji Hemaglutinasi (HA)

Uji Hemaglutinasi adalah uji untuk mendeteksi keberadaan virus dengan menggunakan teknik mikrotiter. Plate mikro "U" 96 sumuran disiapkan. Kemudian ditambahkan PBS sebanyak 0,025 mL ke dalam setiap sumuran plat mikro 1-2 dengan menggunakan mikropipet. Sebanyak 0,025 mL antigen virus ditambahkan pada sumuran pertama dan kedua. Pengenceran berseri berkelipatan dua dimulai dari sumuran ke-2 sampai sumuran ke-11, kemudian sisa didalam pipet tip dibuang. PBS dimasukkan kembali sebanyak 0,025 mL ke dalam setiap sumuran plat mikro lalu di *shaker* selama 30 detik. Sebanyak 0,025 mL sel darah merah unggas 1% ditambahkan ke setiap sumuran plat mikro lalu di *shaker* selama 30 detik. Plat mikro diinkubasikan pada suhu ruang selama satu jam dan diamati setiap 15 menit. Hasil positif apabila terdapat bentukan kristal pada dasar sumuran plat mikro sebagai akibat adanya reaksi hemagglutinin dengan sel darah merah 1%. Titer HA diketahui dengan menghitung hasil positif sampel mengalami aglutinasi sempurna dan menjadi nilai n pada pangkat 2ⁿ. Titer HA yang diperoleh selanjutnya diencerkan menjadi 4 unit HA untuk digunakan pada uji *rapid HI*.

Uji Rapid Hambatan Hemaglutinasi (HI)

Uji rapid hambatan hemaglutinasi (HI) bertujuan untuk mengetahui adanya antibodi dalam serum yang menghambat virus untuk menghemagglutinasi sel darah merah (Joao *et al.*, 2022). Plate mikro "U" 96 sumuran disiapkan, lalu ditambahkan PBS sebanyak 0,025 mL ke dalam

setiap sumuran plat mikro 1-4. Kemudian ditambahkan serum antibodi ND pada sumuran pertama, serum AI H5N9 pada sumuran kedua dengan masing-masing sebanyak 0,025 mL. Selanjutnya, ditambahkan 0,025 mL antigen 4 HA pada sumuran 1-3 lalu di *shaker* selama 30 detik lalu diinkubasikan pada suhu ruangan selama 10 menit. Selanjutnya, ditambahkan 0,05 mL suspensi eritrosit 1% pada sumuran 1-4 dan di *shaker* selama 30 detik. Kemudian diinkubasikan pada suhu kamar maksimal satu jam dan amati perubahan setiap 15 menit. Hasil 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

Penanaman sampel yang digunakan paru-paru, usus, dan hati pada media *Nutrien Agar* (NA). Kultivasi bakteri dilakukan dengan cara mengusapkan ose steril pada sampel organ paru-paru, usus dan hati lalu diinkubasi selama 24 jam. Amati secara makroskopis terkait bentuk, warna, permukaan dan diameter koloni. Selanjutnya ambil koloni tunggal dari media NA menggunakan ose steril lalu diusap pada media EMBA dengan metode *streak line*, inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan uji primer seperti uji katalase untuk dan pewarnaan gram dilakukan untuk melihat bentuk dan warna koloni. Pewarnaan gram pada bakteri menggunakan beberapa bahan antara lain crystal violet, lugol, alkohol, dan safranin. Dilakukan pula uji biokimia seperti *Triple Sugar iron Agar* (TSIA) *Simmons Citrate Agar* (SCA), *Sulfide Indole Motility* (SIM), *Methyl Red* (MR), *Voges-Proskauer* (VP), dilanjutkan dengan uji gula-gula meliputi uji glukosa.

Pemeriksaan Terhadap Feses Secara Kualitatif

Pemeriksaan feses bertujuan untuk mengidentifikasi jenis parasit yang ditemukan pada feses hewan kasus menentukan intensitas infeksi oleh parasit tersebut. Sampel feses diambil dari usus hewan kasus kemudian dimasukkan ke pot urin yang berisi larutan *Neutral Buffered Formalin* (NBF). Sampel diperiksa di Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Pemeriksaan feses dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Pemeriksaan feses secara kualitatif dilakukan dengan uji natif, uji sedimentasi, dan uji apung.

Pemeriksaan feses secara natif dilakukan dengan cara mengambil sampel feses yang sudah terendam *Neutral Buffered Formalin* (NBF) sebesar pentol korek api kemudian diletakkan *object glass*. Kemudian teteskan aquades sebanyak 1-2 tetes, lalu dihomogenkan dengan pengaduk atau lidi. Selanjutnya, ditutup dengan *cover glass* dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100X dan 400X.

Pemeriksaan feses dengan sedimentasi dilakukan dengan membuat campuran sampel feses dengan akuades. Feses yang digunakan sebanyak 2gram diletakkan pada didalam gelas beker, ditambahkan 10 mL dan diaduk hingga homogen. Kemudian disaring menggunakan saringan teh dan hasil saringan tersebut ditampung ke tabung sentrifuge sampai skala 12 atau 13, lalu di sentrifuge dengan kecepatan 1.500 rpm selama 5 menit. Setelah itu, bagian supernatant dibuang dan sedimen dasar tabung diambil sedikit menggunakan batang lidi. Sedimen tersebut diletakkan di *object glass* dan ditutup menggunakan *cover glass*. Kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100X dan 400X.

Pemeriksaan apung dilakukan dengan menggunakan sisa endapan dari pemeriksaan sedimentasi, lalu ditambahkan larutan pengapung berupa garam jenuh sampai skala 13. Setelah itu, diaduk hingga homogen, kemudian di sentrifuge dengan kecepatan 1.500 rpm selama 5 menit. Setelah itu, ditambahkan lagi larutan garam jenuh dengan menetaskannya secara

perlahan menggunakan pipet pasteur sampai permukaan cembung. Didiamkan selama 1-2 menit, lalu letakkan perlahan *cover glass* pada permukaan cairan dan tempelkan pada *object glass*. Kemudian amati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100X dan 400X.

Pemeriksaan Terhadap Feses Secara Kuantitatif

Pemeriksaan feses secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan metode McMaster. Pemeriksaan kuantitatif feses bertujuan untuk memperkirakan berat atau ringannya infeksi parasit. Metode McMaster dilakukan dengan sentrifugasi feses yang telah tercampur dengan *Neutral Buffered Formalin* (NBF) selama 5 menit. Setelah itu, endapannya diambil sebanyak 2gram dimasukkan ke gelas beker. Dicampur dengan garam jenuh sampai volumenya menjadi 60ml, diaduk hingga homogen, lalu disedot dengan pipet dan dimasukkan ke kamar hitung McMaster. Selanjutnya, dilakukan pemeriksaan dan perhitungan jumlah telur dibawah mikroskop dengan pembesaran 100X.

Adapun rumus yang digunakan pada pemeriksaan feses secara kuantitatif (Lu et al., 2014) yaitu:

$$\text{OPG} = \frac{n \times Vt}{Vk \times Bt}$$

Keterangan:

Bt = Berat Tinja

Vk = Volume kamar hitung

Vt = Volume tinja

n = Jumlah ookista yang teridentifikasi

Analisis Data

Seluruh data epidemiologi, patologi anatomi, histopatologi, hasil pemeriksaan pada masing-masing laboratorium dilakukan analisis secara deksriptif kualitatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

beralamat di Desa Petang, Kec. Petang, Kab. Badung adalah 8.000 ekor, dengan tipe kandang tertutup. Ayam berumur 34 hari dan semuanya telah lengkap diberi vaksin. Ayam kasus yang diambil sebelumnya sudah dipisahkan dengan ayam yang sehat. Dalam kurun 34 hari sebanyak 200 ekor ayam mati dan 300 ekor ayam sakit. Gejala yang diamati dari ayam kasus yaitu tidak nafsu makan, lesu, dan diare. Berdasarkan data tersebut dilakukan perhitungan angka morbiditas, mortalitas dan *Case Fatality Rate* (CFR) pada tabel 1. Untuk peneguhan diagnosis terhadap infeksi virus dengan uji HA teknik mikrometer dan uji rapid HI dapat dilihat pada gambar 4 dan gambar 5. Hasil perubahan patologi yang terjadi adalah trakea yang mengalami hemoragi dan terdapat eksudat, paru-paru yang mengalami hemoragi, Limpa mengalami hemoragi, proventikulus dan ventrikulus terdapat ptekie, dan usus terdapat ptekie dan multifokal ulser dapat dilihat pada gambar 1. 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 dapat dilihat pada gambar 3.

Hasil pemeriksaan laboratorium bakteriologi didapat pada media umum *Nutrient Agar* (NA) hanya tumbuh koloni dari organ usus. Ciri dari koloni tumbuh berbentuk bulat, berdiameter $\pm 1-3$ mm berwarna putih susu, permukaan halus, tepi rata. hasil dari media NA dibiakan pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dan hasilnya tumbuh koloni bewarna hijau metalik.

Hasil dari pewarnaan gram ditemukan bakteri bercirikan berbentuk batang pendek, tunggal, berwarna merah/merah muda yang tergolong bakteri gram negatif. Untuk uji katalase hasilnya positif yaitu berbentuknya gelembung udara setelah koloni yang diusap ke obyek glass ditetesi dengan H₂O₂ 3%. Uji TSIA menunjukkan hasil positif yaitu pada bidang miring (*slant*) berubah warna menjadi kuning (asam) yang dimaksud bakteri dapat memfermentasi karbohidrat, bidang tegak (*butt*) berubah warna menjadi kuning yang mengindikasikan bersifat asam, dan terjadinya gas sehingga terjadi gelembung gas pada media dan sebagian media terangkat. Uji SCA menunjukkan hasil negatif tidak terjadi perubahan warna dari hijau menjadi biru yang menandakan bahwa bakteri tidak menggunakan citrate sebagai sumber karbon dan energi bagi pertumbuhan. Uji SIM indole menunjukkan hasil positif dikarenakan terbentuknya cincin merah muda pada permukaan media setelah ditetesi reagen Kovac yang menandakan bakteri dapat memanfaatkan asam amino triptofan pada proses metabolismenya sedangkan motility positif karena daerah tusukan terlihat kabur dan tidak terjadi perubahan warna media menjadi hitam. Uji MR positif dikarenakan terjadi perubahan warna menjadi merah setelah ditetesi reagen methyl red. Hal ini menandakan bakteri memiliki kemampuan untuk fermentasi glukosa dengan memproduksi asam campuran (metilen glikon). Uji VP menunjukkan hasil negatif dimana tidak terjadi perubahan warna media menjadi merah muda. Uji gula-gula (glukosa) menunjukkan positif terhadap glukosa perubahan warna dari biru menjadi warna kuning yang menandakan bakteri membentuk asam dari fermentasi glukosa serta adanya gas atau gelembung udara di dalam tabung Durham yang terbentuk dari hasil fermentasi glukosa selain asam. Hasil pemeriksaan feses secara kualitatif dan kuantitatif disajikan pada tabel 2 dan gambar 6.

Pembahasan

Virulensi virus ND dapat diketahui dengan menghitung lamanya kematian pada embrio ayam sejak diinokulasi virus. Virus ND hewan kasus menyebabkan kematian pada embrio ayam selama 48 jam pasca inokulasi. Bentuk velogenik dari virus ND mengakibatkan mortalitas pada embrio ayam selama kurang dari 60 jam setelah inokulasi (Alecande dan Senne, 2008). Hasil perhitungan epidemiologi menunjukkan morbiditas 3,75, mortalitas 2,5% dan *Case Fatality Rate* (CFR) 66,6%. Mortalitas maupun morbiditas dapat mencapai 50%-100% akibat infeksi ND *strain* velogenik terutama pada kelompok ayam yang peka, 50% pada *strain* mesogenik, dan 30% pada infeksi virus *strain* lentogenik (Tabbu, 2000). Strain virus ND yang kurang patogen juga dapat menyebabkan penyakit yang parah pada unggas apabila diikuti dengan infeksi sekunder oleh organisme lain dan kondisi lingkungan yang buruk (OIE, 2008). Ayam kasus yang diambil sebelumnya sudah dipisahkan dengan ayam yang sehat dan ditempatkan di kandang isolasi. Pemberian vaksinasi saat umur 12 hari lewat air minum, memiliki kekurangan di mana titernya rendah sampai sedang, keseragaman kekebalan kurang baik, dan beberapa ayam tidak divaksin. Terjadinya infeksi ND pada ayam yang telah divaksinasi dapat disebabkan ayam tersebut memiliki respon antibodi yang rendah terhadap vaksin yang digunakan (Tizard, 1987).

Haemagglutination Assay (HA) merupakan uji serologis untuk mengetahui suatu virus memiliki kemampuan mengaglutinasi eritrosit dan juga untuk mengetahui titer virus dengan mengamati hasil dasar sumuran yang paling akhir dengan menunjukkan adanya hemagglutinasi positif (Ardhanella et al., 2022). Interpretasi hasil uji HA adalah hemagglutinasi terlihat jelas berupa lapisan eritrosit secara merata (difuse) pada dasar sumuran dan penjernihan dari cairan bagian atas tanpa terjadi pengendapan eritrosit berbentuk titik-titik ditengah sumuran. Titer HA yang didapatkan adalah 2³, kemudian diencerkan menjadi titer 2² untuk digunakan pada uji rapid HI. Uji rapid HI menggunakan titer dari sumuran G. pada Sumuran G tampak sangat jelas telah terjadi lapisan eritrosit secara merata (difuse) tanpa berbentuk titik-titik ditengah

sumuran. Hal ini terjadi akibat adanya protein yang terdapat pada amplop virus yang disebut hemagglutinin, proses terjadinya hemagglutinasi karena adanya ikatan antara hemagglutinin virus ND dengan reseptor sel, yaitu mukoprotein yang terdapat pada permukaan eritrosit (Kurniawati, 2017). Infeksi ND pada ayam yang telah divaksinasi dapat disebabkan ayam tersebut memiliki respon antibodi yang rendah terhadap vaksin yang digunakan (Tizard, 1987).

Hemagglutination Inhibition (HI) adalah hambatan aglutinasi RBC akibat terikatnya virus (antigen) dengan antibodi spesifik yang ditandai dengan adanya endapan eritrosit pada sumur microplate untuk menentukan nilai titer antibodi. (Hartaputera et al., 2024). Sampel yang dinyatakan positif terjadi hambatan aglutinasi karena adanya ikatan antara antibodi dengan antigen (virus ND), akibatnya virus ND tidak dapat mengaglutinasi eritrosit. Hal tersebut dapat dilihat melalui endapan eritrosit yang terlihat seperti tetes air mata pada dasar microplate. Disamping itu serum antibodi spesifik terhadap virus ND bersifat dapat menghambat reaksi hemagglutinasi. Penularan virus ND dapat terjadi secara langsung dari satu hewan ke hewan lainnya melalui kontak, sekresi dan eksresi dengan hewan yang terinfeksi, serta bangkai penderita ND. Penyebaran penyakit ND dapat juga melalui burung peliharaan ataupun burung liar yang berada di sekitar kandang atau masuk kedalam kandang. Penyebaran virus ND melalui udara dapat mencapai 5km, hal ini sangat mendukung terjadinya paparan virus secara alami pada burung maupun unggas liar (Wibowo et al., 2018).

Tanda klinis yang teramati salah satunya yaitu lesu, tidak nafsu makan, dan diare, hal ini dikarenakan virus bereplikasi di epitel mukosa saluran pencernaan dan merusak vili usus sehingga menyebabkan gangguan proses penyerapan nutrisi dan air. Tanda klinis penyakit ND pada infeksi virus galur velogenik lainnya menimbulkan gejala gangguan pernapasan seperti sesak napas, ngorok, bersin serta gangguan syaraf seperti kelumpuhan sebagian atau total, tortikolis, serta depresi. Infeksi virus galur mesogenik menimbulkan gejala klinis seperti gangguan pernapasan yaitu sesak napas, batuk, dan bersin. Infeksi galur lentogenik menunjukkan gejala ringan seperti penurunan produksi telur dan tidak terjadinya gangguan syaraf pada unggas terinfeksi. Morbiditas dan mortalitas tergantung pada tingkat virulensi dari galur virus, tingkat kekebalan vaksin, kondisi lingkungan, dan kepadatan ayam di dalam kandang (OIE, 2002).

Perubahan patologi anatomi yang patognomonis pada penyakit ND ditandai dengan ptekie pada proventrikulus, ventrikulus, usus, sekal tonsil, trakea, dan paru-paru (Kencana dan Kardena, 2011). Menurut (Kedokteran et al., 2009) menyatakan perubahan makroskopis pada saluran pencernaan meliputi hemoragi pada proventrikulus, duodenum dan seka tonsil. Lesi mikroskopik utama ND adalah nonpurulen ensefalomyelitis, vaskulitis, nekrosis limfoid (bursa, limpa, timus dan jaringan limfoid mukosa usus), trakheitis, pneumonia, salpingitis, nekrosis hati, pankreatitis, dan konjungtivitis. Pada usus halus lesi nekrotik hemoragi bersifat multifokal, secara histopatologi terlihat nekrosis fokal maupun difus serta infiltrasi sel-sel mononuklear pada jaringan limpa, hati, ginjal, paru-paru usus, sekum, proventrikulus dan otak (Oladele et al., 2008). 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 dan Putra, 2016).

Hasil pengamatan patologi anatomi ditemukan perubahan paru-paru mengalami perdarahan yang mengakibatkan terganggunya proses respirasi. Ditemukan eksudat pada trakea, dimana tubuh berusaha mengeluarkan antigen virus dari saluran pernapasan, melindungi permukaan epitel dari perlekatan dan invasi virus. Gangguan pernapasan dapat terjadi pada setiap ayam karena saluran pernapasan merupakan salah satu cara penularan virus *Newscastle disease* (Al Ma'arif et al., 2022) Saluran pencernaan mengalami banyak kerusakan yang terjadi perdarahan

serta nekrosis, hemoragi, dan infiltrasi sel radang di usus. Menurut (Al Ma'arif et al., 2022), menyatakan bahwa replikasi strain virus ND virulen pada organ visceral akan menyebabkan kerusakan jaringan, perdarahan dan nekrosis pada saluran usus, respiratori dan caeca tonsil.

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 organ hati terdapat kongesti, hemoragi, piknosis hepatosit, dan infiltrasi sel radang. Kongesti pada vena ventralis dan kapiler hati terjadi karena perlambatan darah pada pembuluh darah (Pranatha et al., 2018). Pengamatan histopatologi usus menunjukkan adanya infiltrasi sel radang pada lamina propia. Organ limpa secara mikroskopis terlihat hemoragi dan proliferasi sel limfoid. Peradangan pada limpa ditandai dengan lesi histopatologi pada pulpa merah yang berisi eritrosit bercampur dengan sel radang. Pengamatan histopatologi proventrikulus menunjukkan adanya hemoragik dan infiltrasi sel radang pada mukosa, (Etriwati et al., 2017) melaporkan hasil histopatologi proventrikulus mengalami hemoragik, infiltrasi sel inflamasi ke lapisan submukosa kelenjar proventrikulus, hiperemia lapisan muskularis pada ayam kampung, derajat lesi proventrikulus lebih besar pada ayam kampung dibanding ayam broiler dan ayam petelur.

Pemeriksaan di laboratorium mikrobiologi menggunakan organ paru-paru, usus, dan hati. pemeriksaan tersebut bertujuan untuk mengetahui adanya bakteri pada organ yang mengalami kelainan sebagai infeksi sekunder atau infeksi primer. Dari hasil kultus pada *Nutrient Agar* (NA), *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), pewarnaan gram dan uji biokimia didapatkan bakteri genus *Escheria coli*. Bakteri *Escheria coli* pada organ usus menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* bukan merupakan infeksi sekunder pada kasus ini. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri golongan *enterobacteriaceae* yang merupakan flora normal pada saluran pencernaan manusia maupun hewan (Besung, 2010).

Hasil pemeriksaan feses ayam kasus di laboratorium parasitologi ditemukan adanya telur cacing berupa ookista non-sporulasi. Pemeriksaan dilakukan secara kualitatif yaitu metode natif, konsentrasi sedimentasi, dan konsentrasi pengapungan garam jenuh. Koksidiosis merupakan penyakit parasit yang disebabkan oleh protozoa genus *Eimeria spp* yang berasal dari filum Apicomplexa (Ekawasti dan Martindah, 2019). Terdapat beberapa spesies *Eimeria* pada ayam antara lain *Eimeria acervulina*, *Eimeria brunetti*, *Eimeria maxima*, *Eimeria mitis*, *Eimeria mivati*, *Eimeria necatrix*, *Eimeria praecox*, *Eimeria tenella*, dan *Eimeria hagani* (Angi et al., 2009) *Eimeria tenella* merupakan spesies yang paling sering menyerang ayam broiler. Prevalensi infeksi *Eimeria spp*. lebih sering menyerang ayam pada umur lebih dari 2 minggu (Ekawasti & Martindah, 2019) Prevalensi *Eimeria spp*. lebih rendah pada ayam yang berumur kurang dari 2 minggu karena pada umur tersebut ayam belum banyak menghasilkan enzim tripsin dan garam empedu dan gerakan lambung otot masih lemah, sehingga pengeluaran sporozoit dari ookista tidak terjadi karena pemecahan dinding ookista kurang maksimal (Lu et al., 2014)

Pemeriksaan feses secara kuantitatif dengan metode MCMaster memberi hasil 55.200 ookista/gram. Infeksi oleh *Eimeria spp*. dikelompokkan sebagai infeksi ringan dimana ookista yang ditemukan sebanyak kurang dari 20.000 ookista/gram, infeksi sedang dengan ookista sebanyak 20.000-60.000 ookista/gram, dan infeksi berat dengan ookista sebanyak lebih dari 60.000 ookista/gram. berdasarkan pernyataan tersebut, hewan kasus mengalami infeksi sedang oleh *Eimeria spp*.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan data anamnesa, tanda klinis, epidemiologi, perubahan secara patologi anatomi dan

histopatologi yang telah diamati, serta hasil pemeriksaan feses baik secara kualitatif maupun kuantitatif, dapat disimpulkan bahwa ayam kasus terinfeksi virus *Newsatle Disease* disertai koksidiosis.

Saran

Perlu kesadaran dari berbagai pihak untuk memperhatikan dan mengawasi manajemen peternakan unggas. Pencegahan dilakukan dimulai dari pemberian vaksinasi hendaknya dilakukan secara tepat baik dari segi waktu pemberian, dosis, dan aplikasi, dan pemilihan jenis vaksin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pengajar beserta staf bagian Laboratorium Patologi Veteriner, Laboratorium Virologi Veteriner, Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Veteriner, Laboratorium Parasitologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana yang telah menyediakan fasilitas sehingga dapat melaksanakan seluruh kegiatan Koasistensi Diagnosis Laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Al Ma'arif, M. F., Adi, A. A. A. M., & Winaya, I. B. O. (2022). Gambaran Patologi Anatomi dan Histopatologi Organ Pertahanan Itik Bali Pascainfeksi Buatan Avian orthoavulavirus 1 Isolat Tabanan-1/ARP/2017. *Buletin Veteriner Udayana*, 158, 659. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2022.v14.i06.p08>
- Angi, A., Wibawan, I. W., & Murtini, S. (2009). Kemampuan Netralisasi Antibodi Spesifik Avian Influenza H5 (A.H. Angi et al.). *Forum Pascasarjana*, 32, 55–66.
- Ardhanella, S., Damayanti, R., Suwarno, Rantam, F. A., Rachmawati, K., Khairullah, A. R., & Rahmahani, J. (2022). Serological Study of Newcastle Disease in Ducks (*Anas javanicus*) Slaughtered in East Surabaya Traditional Market. *Jurnal Medik Veteriner*, 5(2), 131–137. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol5.iss2.2022.131-137>
- Ayu Yuniati Kencana, G., Nirhayu, & Gusti Ayu Agung Suartini, I. (2019). Seroprevalensi Penyakit Tetelo (Newcastle Disease) pada Ayam Buras di Kecamatan Kerambitan, Kabupaten Tabanan, Bali. *Indonesia Medicus Veterinus Juli*, 8(4), 496–501. <https://doi.org/10.19087/imv.2019.8.4.496>
- Ekawasti, F., & Martindah, E. (2019). Control of Coccidiosis in Chickens Through Herbal Medicine. *Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences*, 29(1), 1. <https://doi.org/10.14334/wartazoa.v29i1.2048>
- Etriwati, Ratih, D., Handharyani, E., & Setiyaningsih, S. (2017). Pathology and immunohistochemistry study of Newcastle disease field case in chicken in Indonesia. *Veterinary World*, 10(9), 1066–1071. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1066-1071>
- Hartaputera, I. N. S. T., Kencana, G. A. Y., Adi, A. A. A. M., Sudipa, P. H., & Sulabda, I. N. (2024). Newcastle disease in local hens – A case report. *ARSHI Veterinary Letters*, 8(1), 9–10. <https://doi.org/10.29244/avl.8.1.9-10>
- Kedokteran, F., Universitas, H., & No, U. (2009). Buletin Veteriner Udayana. *Universitas Stuttgart*, 2(1), 2–5.
- Kurniawati, putri. (2017). No Title الابتزاز الإلكتروني.. جرائم تتغذى على طفرة «التواصل». *Universitas Nusantara PGRI Kediri*, 01, 1–7.
- Lu, A., Diao, Y., Chen, H., Wang, J., Ge, P., Sun, X., & Hao, D. (2014). Evaluation of

histopathological changes, viral load and immune function of domestic geese infected with Newcastle disease virus. *Avian Pathology*, 43(4), 325–332. <https://doi.org/10.1080/03079457.2014.931928>

Musdalifah, Daud, A., & Birawida, A. B. (2022). Hasanuddin Journal of Public Health. *Hasanuddin Journal of Public Health*, 3(1), 99–114.

Pranatha, W. D., Irhas, R., Arhiono, H. N. P., Widyasanti, N. W. H., & Kardena, I. M. (2018). Case Report of Newcastle Disease and Avian Influenza in Native Chicken. *Indonesia Medicus Veterinus*, 7(5), 498–507. <https://doi.org/10.19087/imv.2018.7.5.498>

Wibowo, S. E., Wibowo, M. H., & Sutrisno, B. (2018). Penentuan Patogenesitas Molekuler Virus Newcastle Disease yang Diisolasi dari Ayam Komersial Tahun 2013-2016. *Acta VETERINARIA Indonesiana*, 5(2), 105–119. <https://doi.org/10.29244/avi.5.2.105-119>

Tabel

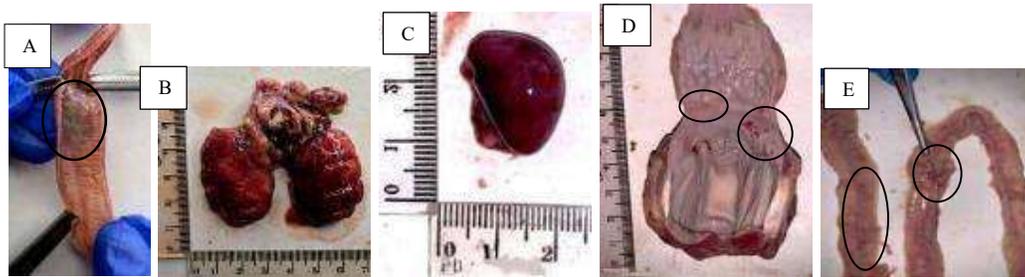
Tabel 1. Hasil perhitungan Morbiditas, Mortalitas, dan Case Fatality Rate (CFR)

Parameter Epidemiologi	Hasil
Morbiditas	3,75%
Mortalitas	2,5%
CFR	66,6%

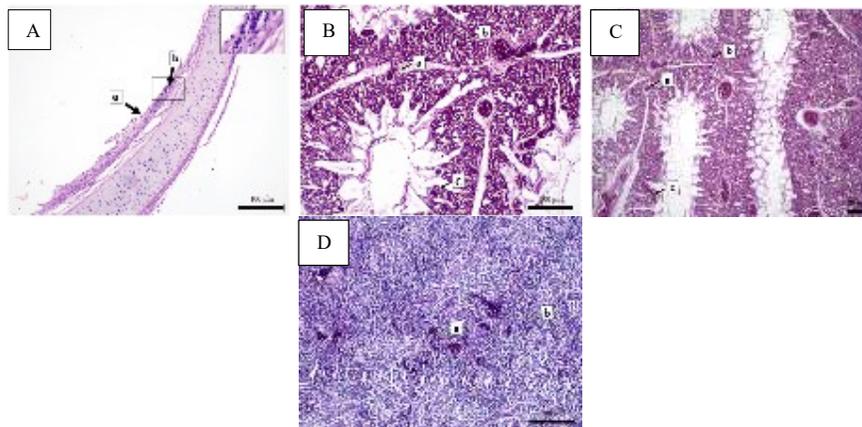
Tabel 2. Hasil pemeriksaan feses ayam kasus

Metode	Hasil	Keterangan
<i>Kualitatif</i>		
Natif	Ditemukan ookista	+
Sedimentasi	Ditemukan ookista	+
Apung	Ditemukan ookista	+
<i>Kuantitatif</i>		
McMaster	Ditemukan ookista <i>Eimeria spp.</i> Sebanyak 27.600 ookista/gram	$OPG = \frac{138 \times 60}{0,3 \times 1}$ = 27.600 ookista/gram

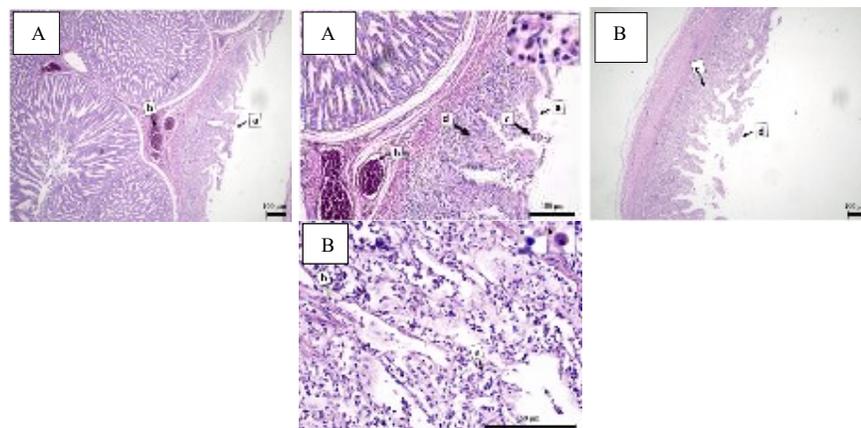
Gambar



Gambar 1. Trakea (A) mengalami hemoragi dan terdapat eksudat, Paru-paru (B) mengalami hemoragi, Limpa (C) mengalami hemoragi, Proventikulus dan Ventrikulus (D) terdapat ptekie, Usus (E) terdapat ptekie dan multifokal ulser.



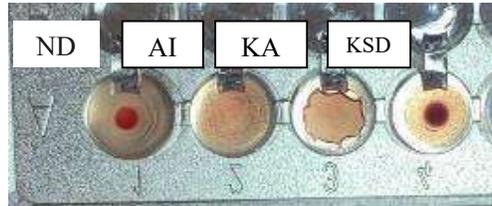
Gambar 2. Trakea (A): (a) Erosi mukosa trakhea (b) Infiltrasi sel radang limfosit. paru-paru (B): (a) Kongesti (b) Hemoragi pada septum interbronkial dan (c) peribronkial. Limpa (C): (a) Hemoragi (b) Proliferasi sel limfoid. (H&E 100X, dan 400X)



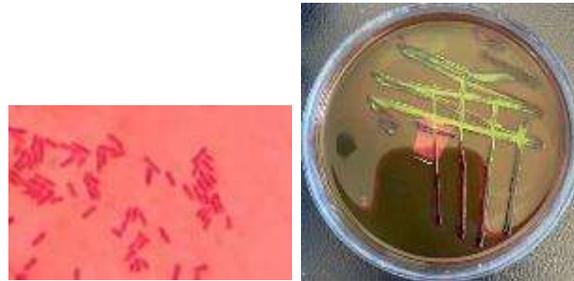
Gambar 3. Proventrikulus (A): (a) Erosi mukosa proventrikulus (b) Kongesti. (c) Hemoragi. (d) Infiltrasi sel radang limfosit pada mukosa. Usus (B): (a) limfosit (b) sel plasma. (c) linfiltrasi sel radang pada lamina propina. (d) vili usus mengalami kolaps. (H&E 40X dan 400X)



Gambar 4. Hasil uji hemaglutinasi (HA) teknik microtiter (tampak bawah): kotak hitam (kontrol positif), kotak kuning (titer HA 2³), dan kotak merah (kontrol negatif)



Gambar 5. Hasil uji Rapid hambatan hemaglutinasi (HI) keterangan : ND (Positif *Newcastle Disease*, terjadi hambatan hemaglutinasi), Ai (Negatif *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.



Gambar 7. Hasil pemeriksaan feses ditemukan Ookista non-sporulasi *Eimeria* spp. dengan metode apung