

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

**PENEGUHAN DIAGNOSIS VIROLOGIK
PENYEBAB GANGGUAN PRODUKSI TELUR
PADA DAERAH KASUS DI BLITAR**

PAMERAN

Ketua Peneliti : 11.6 OCT 1998

Drh. Nanik Sianita Widjaja

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

SELESAI



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : Dana Rutin Unair 1997/1998
SK.Rektor Nomor : 5935/J03/PL/1997
Nomor : 33

- VIROLOGY

IR - UNIVERSITAS AIRLANGGA

10100
1010

579.2
Pen
1

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

PENEGUHAN DIAGNOSIS VIROLOGIK PENYEBAB GANGGUAN PRODUKSI TELUR PADA DAERAH KASUS DI BLITAR

Ketua Peneliti :

Drh. Nanik Sianita Widjaja

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

3000 237 983141



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : Dana Rutin Unair 1997/1998
SK.Rektor Nomor : 5935/J03/PL/1997
Nomor : 33

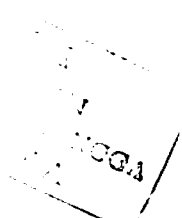
DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

PENEGUHAN DIAGNOSIS VIROLOGIK PENYEBAB
GANGGUAN PRODUKSI TELUR AYAM PADA DAERAH
KASUS DI BLITAR

Peneliti :

Nanik Sianita Widjaja, S.U., Drh
Rahayu Ernawati, MSc., Drh
Jola Rahmahani, Drh
Suwarno, MKes., Drh
Wahju Tjahjaningsih, Ir

Fakultas Kedokteran Hewan
3000 237 983141



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai : DANA RUTIN Universitas Airlangga
\$.K. Rektor Nomor : 5935/JO3/PL/1997
Tanggal : 1 Oktober 1997

LEMBAGA PENELITIAN

- | | | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|
| 1. Puslit Pembangunan Regional | 5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720) | 9. Puslit Kependudukan dan |
| 2. Puslit Obat Tradisional | 6. Puslit/Studi Wanita (5995722) | Pembangunan (5995719) |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum | 7. Puslit Olahraga | 10. Puslit / Kesehatan Repro- |
| 4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718) | 8. Puslit Bioenergi | dukai |

Kampus C. Jl. Mulyorejo Telp. (031) 5995246, 5995248. 5995247 Fax. (031) 5995246, Surabaya 60115

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : Penguahan Diagnosis Virologik Penyebab Gangguan Produksi Telur Ayam Pada Daerah Kasus Di Blitar
- b. Macam Penelitian : Fundamental, Terapan, Pengembangan
 Institusional
- c. Katogori Penelitian : I II III IV
2. Kepala Proyek Penelitian
- a. Nama Lengkap Dengan Gelar : drh. Nanik Sianita Widjaja, SU.
- b. Jenis Kelamin : W a n i t a
- c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata Tk.I/IIIId/131 123 697
- d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
- e. Fakultas/Jurusan/Puslit. : Kedokteran Hewan/Ilmu Peny. Hewan & Kesmavet
- f. Univ./Inst./Akademi : Universitas Airlangga
- g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Virologi dan Imunologi
3. Jumlah Tim Peneliti : 5 (lima) orang
4. Lokasi Penelitian : Blitar, Jawa Timur
5. Kerjasama dengan Instansi Lain
- a. Nama Instansi :
- b. A l a m a t :
6. Jangka Waktu Penelitian : 4 (empat) bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : Rp 3.000.000,00
8. Seminar Hasil Penelitian :
- a. Dilaksanakan Tanggal : 2 April 1998
- b. Hasil Penelitian : Baik Sekali B a i k
 S e d a n g K u r a n g

Surabaya, 2 April 1998

Mengetahui/ Mengesahkan :
a.n. Rektor
Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. Noor Cholies Zaini
NIP. 130 355 372



DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN

- | | | |
|------------------------------------|---------------------------------|--|
| 1. Puslit dan Pembangunan Regional | 4. Puslit Lingkungan Hidup | 8. Puslit Kependudukan dan Pembangunan |
| 2. Puslit Obat Tradisional | 5. Puslit dan Pengembangan Gizi | 9. Puslit Bioenergi |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum | 6. Puslit/Studi Wanita | 10. Puslit/Studi Kesehatan Reproduksi |
| | 7. Puslit Olahraga | |

Kampus C, Jl. Mulyorejo. Telp 5995246, 5995248, 59952247 Fax. (031) 59952246 Surabaya 60115

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

- | | | |
|---|--------------------------------|---|
| 1 | a. Judul Penelitian | PENEGUHAN DIAGNOSIS VIROLOGIK PENYEBAB GANGGUAN PRODUKSI TELUR AYAM PADA DAERAH KASUS DI BLITAR |
| | b. Macam Penelitian | () Fundamental (X) Terapan () Pengembangan |
| | c. Kategori Penelitian | () I () II () III |
| 2 | Kepala Proyek Penelitian | |
| | a. Nama Lengkap dengan Gelar | Nanik Sianita Widjaja, S.U.Drh |
| | b. Jenis Kelamin | Wanita |
| | c. Pangkat/Golongan dan NIP | Penata Tk I/ III d / 131 123 697 |
| | d. Jabatan Sekarang | Staf Pengajar |
| | e. Fakultas / Jurusan | Kedokteran Hewan / Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Airlangga |
| | f. Univ./ Inst./ Akademi | Virologi-Imunologi |
| | g. Bidang Ilmu yang diteliti | 5 (Lima) Orang |
| 3 | Jumlah Tim | |
| 4 | Lokasi Penelitian | Fakultas Kedokteran Hewan - Unair |
| 5 | Kerjasama dengan Instansi Lain | |
| | a. Nama Instansi | |
| | b. Alamat | |
| 6 | Jangka Waktu Penelitian | 5 (Lima) bulan |
| 7 | Biaya yang diperlukan | Rp. 3.000.000,- (Tiga Juta Rupiah) |
| 8 | Seminar Hasil Penelitian | |
| | a. Dilaksanakan Tanggal | 02 April 1998 |
| | b. Hasil Penilaian | () Amat Baik () Baik
() Sedang () Kurang |

Surabaya, 09 April 1998

Mengetahui :
Dekan Fakultas

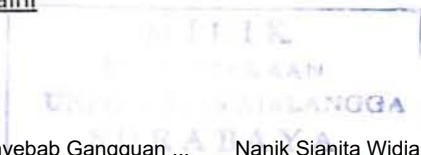
Kepala Proyek Penelitian,

Dr. Ismudiono, MS., Drh
NIP. 130 687 297

Nanik Sianita Widjaja, S.U., Drh
NIP. 131 123 697

Mengetahui :
Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. Noor Cholies Zaini
NIP. 130 355 372



RINGKASAN PENELITIAN

Judul Penelitian **Peneguhan Diagnosis Virologik Penyebab Gangguan Produksi Telur Ayam Pada Daerah Kasus Di Blitar**

Ketua Peneliti **Nanik Sianita Widjaja**

Anggota Peneliti **Rahaju Ernawati**
Jola Rahmahani
Suwarno
Wahju Tjahjaningsih

Fakultas **Kedokteran Hewan**
Universitas Airlangga

Sumber Dana **RUTIN Universitas Airlangga**
S.K.Rektor Unair Nomor: 5935/J0.3/PL/1997
Tanggal 1 Oktober 1997.

Pada akhir-akhir ini selain tingginya harga pakan merupakan problem utama bagi peternakan ayam, juga timbul wabah penyakit di beberapa peternakan ayam petelur di daerah Blitar yang menyebabkan penurunan produksi telur hingga mencapai 30 % dengan disertai bentuk telur abnormal (kerabang telur tipis dan pucat serta albumin yang encer). Berdasarkan hasil pemeriksaan klinis terhadap ayam-ayam tersebut diagnosa mengarah kepada penyakit viral *Infectious Bronchitis* (IB) dan *Egg Drop Syndrome* (EDS), tetapi gambaran patologi anatomis tidak spesifik. Sampai sejauh ini kepastian penyebab penyakitnya belum diidentifikasi, sehingga tindakan penanggulangannya hanya berdasarkan coba-coba, misalnya dengan pemberian vaksinasi IB dan EDS. Pada hal tindakan yang demikian tidak memecahkan masalah, tetapi justru dapat menimbulkan kerugian ekonomis makin besar. Bertitik tolak pada latar belakang diatas, maka yang menjadi permasalahan yaitu : Virus apa yang menyebabkan gangguan produksi telur ayam pada daerah kasus di Blitar.

Penelitian ini bertujuan untuk menjawab permasalahan diatas dengan cara mengisolasi dan identifikasi virus penyebabnya. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat diketahui virus penyebab dari kasus gangguan produksi telur pada ayam di Blitar sehingga memudahkan tindakan

penanggulangannya dan untuk jangka panjang kemungkinan dapat dikembangkan pembuatan vaksin dari isolat lokal.

Sampel ayam yang mengalami gangguan produksi telur diambil organ paru, trakhea, ginjal, ovarium dan oviduct (untuk isolasi virus IB) serta organ trakhea, ginjal, usus, ovarium dan oviduct (untuk isolasi virus EDS). Dari masing-masing organ dibuat suspensi 10 %, kemudian diinokulasikan pada telur ayam berembrio (untuk isolasi virus IB) dan telur itik berembrio (untuk isolasi virus EDS). Identifikasi virus IB dilakukan dengan mengamati adanya kelainan embrio yang berupa kekerdilan dan jari kaki keriting, disamping itu juga dilakukan uji Elisa tidak langsung terhadap cairan alantois telur telur ayam berembrio tersebut. Identifikasi virus EDS dilakukan dengan uji hemaglutinasi (HA) dan hambatan hemaglutinasi (*haemagglutination inhibition*, HI).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penyebab gangguan produksi telur ayam pada daerah kasus di Blitar adalah virus *Infectious Bronchitis*. Isolasi dan identifikasi terhadap virus Egg Drop Syndrome menunjukkan hasil negatif. Berdasarkan hasil penelitian ini disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut guna mengetahui apakah ada perbedaan strain antara virus vaksin IB dengan virus IB yang ada dilapangan, sehingga nantinya dapat dikembangkan pembuatan vaksin IB dari isolat lokal.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Yang Maha Kuasa atas segala karuniaNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan hasil penelitian yang berjudul "Peneguhan Diagnosis Virologik Penyebab Gangguan Produksi Telur Ayam pada daerah kasus di Blitar".

Penelitian ini dapat terselenggara atas kerjasama dan bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. H. Soedarto, DTM&H, PhD, selaku Rektor Universitas Airlangga
2. Prof. Dr. H. Bambang Rahino Setokoesoemo, selaku mantan Rektor Universitas Airlangga
3. Prof. Dr. Noor Cholies Zaini, selaku Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga
4. Prof. Dr. drh. H. Rochiman Sasmita, M.S., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
5. Semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

Semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi semua pihak khususnya dunia peternakan ayam. Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari sempurna dan oleh karena itu segala kritik dan saran diharapkan dapat melengkapi dan menyempurnakannya.

Surabaya, Februari 1998

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan dan Manfaat	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Penyakit Infectious Bronchitis (IB).....	4
2.2. Penyakit Egg Drop Syndrome (EDS)	5
2.3. Isolasi virus dari bahan klinik untuk diagnosa penyakit	7
2.4. Uji hemaglutinasi (HA) dan hambatan hemaglutasi (haemagglutination inhibition, HI).....	7
2.5. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Elisa).....	8
III. METODE PENELITIAN	11
3.1. Lokasi dan waktu penelitian	11
3.2. Tahap persiapan	11
3.3. Tahap penelitian	12
3.3.1. Isolasi virus	12
3.3.2. Identifikasi virus	12
3.3.2.1. Identifikasi virus IB	12
3.3.2.2. Identifikasi virus EDS	14
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
V. KESIMPULAN DAN SARAN	22
5.1. Kesimpulan	22
5.2. Saran	22
DAFTAR PUSTAKA	23

DAFTAR TABEL

Halaman

1. Nilai Optical Density (OD) dari cairan alantois
TAB yang telah diinokulasi dengan suspensi organ ... 20

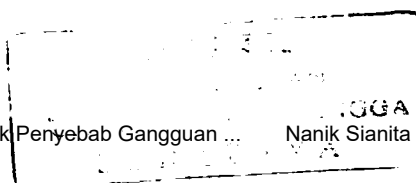
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Bentuk telur abnormal dibandingkan dengan telur normal	16
2. Embrio agak kerdil dan jari kaki bengkok (pasase pertama)	17
3. Embrio kerdil dan jari kaki keriting (pasase ketiga)	18

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Blitar merupakan daerah padat pengembangan peternakan ayam yang sangat berpengaruh terhadap perekonomian masyarakat setempat. Bagi peternak ayam petelur, telur merupakan produk yang paling diharapkan, karena tinggi rendahnya produksi telur merupakan cerminan tinggi rendahnya keuntungan yang akan diperoleh. Namun semua keinginan tersebut tidak selalu terpenuhi, bahkan justru dapat terjadi sebaliknya. Seperti yang terjadi pada akhir-akhir ini dimana selain tingginya harga pakan merupakan problem yang utama bagi peternak ayam juga timbul wabah penyakit di beberapa peternakan ayam petelur di daerah Blitar yang menyebabkan penurunan produksi telur hingga mencapai 30 % dengan disertai bentuk telur abnormal seperti kerabang telur tipis dan pucat serta albumin yang encer. Untuk mengetahui apakah terjadinya penurunan produksi penurunan produksi dan peningkatan jumlah telur abnormal itu disebabkan karena penyakit atau bukan dapat dilihat dan diamati bentuk abnormalitas telur disertai dengan laporan harian kandang dan gejala klinis yang muncul. Adanya faktor stres, umur ayam, nutrisi maupun penyakit dapat menyebabkan



telur menjadi abnormal. Penyakit virus seperti *Infectious Bronchitis* (IB) maupun *Egg Drop Syndrome* (EDS) dapat menyebabkan terjadinya penurunan kualitas dan kuantitas telur (Mukhsin, 1997).

Berdasarkan hasil pemeriksaan klinis terhadap ayam-ayam yang mengalami penurunan produksi dan kualitas telur, diagnosa mengarah kepada penyakit viral IB dan EDS, tetapi dari gambaran patologi anatomis tidak spesifik. Sampai sejauh ini kepastian penyebab penyakitnya belum diidentifikasi, sehingga tindakan penanggulangannya hanya berdasarkan coba-coba misalnya dengan pemberian vaksinasi IB dan EDS. Padahal tindakan yang demikian tidak memecahkan masalah tetapi justru dapat menimbulkan kerugian ekonomis makin besar.

Sehubungan dengan itu, maka perlu dilakukan peneguhan diagnosis secara virologik untuk mengetahui dengan pasti virus penyebabnya.

1.2. Rumusan Masalah

Bertitik tolak pada latar belakang tersebut diatas, maka timbul suatu permasalahan yaitu :

Apakah virus IB atau EDS sebagai penyebab dari gangguan produksi telur ayam pada daerah kasus di Blitar ?.

1.3. Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui virus penyebab gangguan produksi telur ayam pada daerah kasus di Blitar dengan cara isolasi dan identifikasi.

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat diketahui virus penyebab dari kasus gangguan produksi telur pada ayam di Blitar, sehingga memudahkan tindakan penanggulangannya dan untuk jangka panjang kemungkinan dapat dikembangkan untuk pembuatan vaksin dari isolat lokal.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Penyakit Infectious Bronchitis (IB)

Penyakit IB disebabkan oleh virus RNA dari golongan *Corona viridae*, berukuran 80 - 120 nm, berbentuk sirkuler atau pleomorfik. Virus IB dilaporkan mempunyai banyak serotipe, antara lain : *Massachussets, Connecticut, Holte, Gray, JMK, Iowa 609, Delaware 2897, SE 17, Clark 333, Florida dan Arkansas* (Lukert, 1980). Antara satu serotipe dengan serotipe yang lain tidak mempunyai kekebalan silang yang kuat untuk melindungi tubuh ayam terhadap infeksi virus alam.

Untuk membiakkan virus IB dapat dilakukan dengan jalan menginokulasikan ke dalam cairan alantois dari telur ayam berembrio. Setelah inkubasi selama 7 hari akan mengakibatkan kematian embrio, kekerdilan, jari kaki keriting dan penimbunan asam urat dalam *mesonephron*. Virus IB strain vaksin mudah diisolasi, tetapi strain lapangan memerlukan pasase buta paling sedikit 3 sampai 5 kaki (Lukert, 1980).

Serangan IB yang ganas pada ayam petelur dewasa akan menimbulkan gejala klinis seperti batuk, bersin, ngorok, kotoran kehijau-hijauan, nafsu makan turun, tetapi tidak

terlihat ada lendir yang keluar dari hidung dan mata. Serangan virus IB dapat menyebabkan penurunan produksi 10 - 50 % . Produksi sulit kembali normal dan puncak produksi tidak akan tercapai. Disamping itu juga menyebabkan penurunan kualitas telur seperti kulit telur yang dihasilkan menjadi tipis, lembek, lunak, berkerut, kasar dan mudah pecah. Sementara putih telur yang dihasilkan menjadi sangat encer, berair serta batas antara putih telur dan kuning telur tidak jelas. Bentuk telur tidak normal, tidak teratur dan asimetris. Pada petelur coklat, telur yang dihasilkan menjadi pucat, berwarna putih atau tidak berwarna (Mukhsin, 1996).

Diagnosa IB dapat dipastikan atas dasar isolasi dan identifikasi virus penyebabnya, serta uji serologis. Diagnosis serologik terhadap IB dapat dilakukan antara lain dengan uji hambatan hemaglutinasi (*haemagglutination inhibition*, HI), netralisasi dan Elisa (Anonimus, 1992).

2.2. Penyakit *Egg Drop Syndrome* (EDS)

Penyakit EDS disebabkan oleh *Avian adenovirus* yang dapat mengaglutinasikan darah ayam, itik dan kalkun. Virus EDS berukuran 70 -90 nm. Virion terdiri dari asam nukleat DNA beruntai ganda dengan kapsid berbentuk icosahedral simetri.

Berat molekul partikel virus 20 - 30 X 10⁶ Dalton. Virus EDS dapat dibiakan pada telur itik berembrio dengan penyuntikan melalui cairan alantois (Davies et al, 1980; Gillespie and Timoney, 1981).

Serangan penyakit EDS dapat menyebabkan penurunan produksi 16 - 50 % . Virus ini terutama menyerang ayam berumur 26 - 35 minggu atau pada ayam yang akan mencapai puncak produksi, dan dapat bertahan selama 6 - 12 minggu.

Gejala klinis tidak begitu terlihat, nafsu makan ayam masih baik dan ayam tampak sehat. Selain menyebabkan penurunan produksi, EDS juga menyebabkan penurunan kualitas telur, seperti kulit telur menjadi lunak, tipis kasar dan tidak rata. Telur menjadi tidak berwarna, tidak berkerabang. Bentuk telur tidak seragam, kecil dan berat telur turun (Mukhsin, 1996).

Diagnosis EDS dapat dipastikan atas dasar isolasi dan identifikasi agen penyebabnya serta uji serologis. Uji hambatan hemaglutinasi (*haemagglutination inhibition*, HI) merupakan salah satu uji serologik yang mudah, praktis dan dapat dipercaya untuk mendeteksi adanya infeksi EDS (Mc Ferran, 1980).

2.3. Isolasi virus dari bahan klinik untuk diagnosa penyakit

Secara umum cara-cara pemeriksaan laboratorium untuk diagnosa penyakit virus meliputi : Isolasi dan identifikasi agen penyebab penyakit dari bahan tersangka; uji serologi untuk mendeteksi dan mengukur antibodi spesifik yang terbentuk selama kejadian penyakit; menemukan antigen virus dalam lesi; pemeriksaan dengan mikroskop elektron dari bahan tersangka.

Cara yang paling mudah untuk isolasi virus dari bahan pemeriksaan adalah teknik inokulasi virus pada telur berembrio. Di dalam telur berembrio, virus dapat hidup pada beberapa bagian dari telur, tergantung dari sifat virus. Umur telur berembrio yang digunakan tergantung dari cara inokulasi dan macam virus. Selain itu pembiakan virus juga dapat dilakukan pada perbenihan jaringan dan hewan percobaan (Rahayu Ernawati dan Soelistyanto, 1991).

2.4. Uji hemaglutinasi (HA) dan hambatan hemaglutinasi (Haemagglutination Inhibition, HI)

Virus-virus tertentu mempunyai sifat dapat mengaglutinasikan eritrosit. Aglutinasi eritrosit (hemaglutinasi) terjadi karena virus mengandung suatu antigen

protein yang disebut hemagglutinin. Mekanisme terbentuknya hemagglutinasi karena terjadinya adsorpsi yang cukup kuat dari hemagglutinin dengan reseptor mukopolisakarida yang terdapat pada permukaan eritrosit. Hemagglutinasi ini ada yang hanya bersifat sementara, artinya hemagglutinasi ini tidak berlangsung terus akan tetapi setelah beberapa saat akan hilang. Hal ini terjadi pada virus yang mempunyai enzim *neuraminidase*, karena enzim ini akan merusak ikatan antara hemagglutinin virus dengan eritrosit. Eritrosit yang telah terlepas dari ikatan dengan hemagglutinin virus tidak dapat mengalami aglutinasi lagi untuk kedua kalinya meskipun dengan penambahan virus.

Hemagglutinasi dihambat oleh antiviral antibodi, oleh karena itu hambatan hemagglutinasi (HI) merupakan salah satu cara untuk mengidentifikasi virus yang dapat mengadakan hemagglutinasi (Rahayu Ernawati dan Soelistyanto, 1991).

2.5. *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Elisa)*

Prinsip dari ELISA adalah penggabungan antara antibodi spesifik yang sensitif terhadap uji enzimatik yang menggunakan spektrofotometer sederhana, dengan konjugat antibodi atau antigen yang memberi suatu nilai balik yang

cukup akurat. Kini ELISA mengganti peran RIA (*Radio Immuno Assay*) , walaupun RIA telah mapan, otomatis dan kadang-kadang lebih sensitif. Pengoperasian ELISA lebih murah, lebih sederhana, tanpa bahaya radioaktif, reagensia dapat tahan lebih lama dan dapat digunakan pada laboratorium kecil yang tidak memiliki fasilitas pengukuran radioaktif sinar γ (Burrin, 1987).

Teknik Elisa untuk menguji antigen yaitu : mereaksikan antigen (Ag) dalam sampel dengan antibodi (Ab) yang dilabel enzim (Ab^E). Kompleks Ag- Ab^E yang terbentuk kemudian dipisahkan dari Ag dan Ab yang bebas, lalu diinkubasikan dengan substrat khromogenik yang semula tidak berwarna, tetapi kemudian menjadi berwarna apabila dihidrolisis oleh enzim. Intensitas warna yang terbentuk dapat diukur dan merupakan parameter untuk Ag yang diuji. Pada teknik Elisa dikenal metode kompetitif dan metode non kompetitif, maupun metode *sandwich* (indirek) (Siti Boedina, 1996).

Enzim yang sering digunakan pada uji ELISA, banyak ragamnya antara lain adalah : *horse-radish peroxidase*, *alkaline phosphatase*, *beta-D-galactosidase*, *glucose-oxidase*, *glucoamylase* dan *acethylcholinesterase*. Dari bermacam-macam enzim tersebut, hanya 2 enzim saja yang paling sering dipakai

yaitu *horse-radish peroxidase* (HRP) dan *alkaline phosphatase* (AP). *Horse-radish peroxidase* lebih disukai karena mudah didapat dan dapat memberi perubahan warna yang cerah pada bahan kromogennya.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga serta Pusat Veterinaria Farma, Surabaya. Penelitian berlangsung selama empat bulan, mulai dari bulan Oktober 1997 sampai dengan bulan Januari 1998.

3.2. Tahap Persiapan

Sebagai tahap persiapan, peneliti mengambil sampel ayam petelur yang mengalami penurunan produksi telur dengan disertai bentuk telur abnormal seperti kerabang telur tipis dan pucat serta albumin yang encer. Sampel ayam tersebut diperoleh dari dua peternakan ayam petelur di daerah Blitar (A, B) yang mengalami wabah penyakit dengan gejala-gejala seperti tersebut di atas dengan penurunan produksi telur mencapai 30 %. Berdasarkan hasil pemeriksaan klinis terhadap ayam-ayam tersebut, diagnosis mengarah kepada penyakit viral IB dan EDS.

3.3. Tahap penelitian

3.3.1. Isolasi virus

Sampel ayam tersangka diambil organ paru-paru, trakhea, ginjal, ovarium dan oviduct (untuk isolasi virus IB) dan trakhea, ginjal, usus, ovarium dan oviduct (untuk isolasi virus EDS). Dari masing-masing organ dibuat suspensi 10 % dalam larutan NaCl fisiologis yang mengandung Penisilin 1000 I.U. dan Streptomisin 1000 mikrogram per ml. Suspensi disentrifuse dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit dan selanjutnya diinokulasikan pada telur ayam berembrio (untuk isolasi virus IB) dan telur itik berembrio (untuk isolasi virus EDS) dengan penyuntikan melalui cairan alantois, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 5 - 7 hari.

3.3.2. Identifikasi virus

3.3.2.1. Identifikasi virus IB

Embrio dari telur ayam berembrio (TAB) yang telah diinokulasi dengan suspensi organ tersebut diamati terhadap adanya perubahan / kelainan yang berupa kekerdilan dan jari kaki keriting. Bila tidak terlihat adanya kelainan embrio, maka dilakukan pasase ulang sampai lima kali (Davelaar et al, 1986).



Selain itu untuk menunjang hasil pemeriksaan, dilakukan uji Elisa terhadap cairan alantois TAB yang telah diinokulasi dengan suspensi organ tersebut. Cairan alantois diuji terhadap antiserum IB (berasal dari mencit yang diimunisasi berulang-ulang dengan vaksin IB) dengan uji Elisa tidak langsung.

Prosedur pemeriksaan Elisa adalah sebagai berikut : cairan alantois sebanyak 50 μ l diencerkan dengan *buffer coating* (karbonat 50 mmol / l) kemudian diabsorbsikan pada mikroplat Elisa sebanyak 100 μ l / sumuran dan diinkubasikan pada suhu 4 °C selama semalam. Plat kemudian dicuci dengan bufer pencuci (NaCl 154 mmol / l; 0,05 % Triton-X 100; 0,02 % NaN_3) sebanyak tiga kali, selanjutnya diblok dengan *buffer blocking* (0,5 % BSA; 0,02 % NaN_3 ; 0,05 % Triton-X 100 dalam PBS) selama satu jam pada suhu kamar. Tahap selanjutnya antiserum IB 1 : 100 (berasal dari mencit yang diimunisasi berulang-ulang dengan vaksin IB strain *Massachusetts* (Mass) di masukkan ke dalam tiap-tiap sumuran sebanyak 100 μ l dan diinkubasikan dalam penangas air suhu 37 °C selama satu jam, plat dicuci tiga kali dengan bufer pencuci, kemudian ditambahkan konjugat (*rabbit-antimouse IgG alkaline phosphatase conjugate*) yang

telah diencerkan dengan *buffer blocking* dengan pengenceran 1 : 1000 sebanyak 200 μ l / sumuran dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama satu jam. Berikutnya mikroplat dicuci tiga kali dengan bufer pencuci kemudian ditambahkan substrat yang diencerkan dalam bufer substrat (4-NPP 2,7 mmol / l; dietanolamin 1 mmol / l; MgCl 0,5 mmol / l; 0,02 % NaN_3 ; pH 9,8) sebanyak 200 μ l / sumuran dan diinkubasi 60 menit pada suhu 37 °C di tempat gelap. Selanjutnya ditambahkan stoper (NaOH 1N) dan dibaca pada Elisa reader dengan panjang gelombang 405 (*optical density*, OD 405). Hasil dinyatakan positif bila nilai absorben sampel lebih besar dari *cut off value* atau $1,5 \times > \text{cov}$. *Cut of value* (cov) adalah nilai purata dari kontrol negatif + SD (Paolucci et al., 1986). Sebagai kontrol negatif digunakan cairan alantois dari TAB normal (TAB yang tidak diinokulasi dengan suspensi organ) dan serum mencit normal. Kontrol positif menggunakan antigen IB strain *Massachusetts* (Mass) 10 μ g/100 μ l dan anti serum IB 1 : 100.

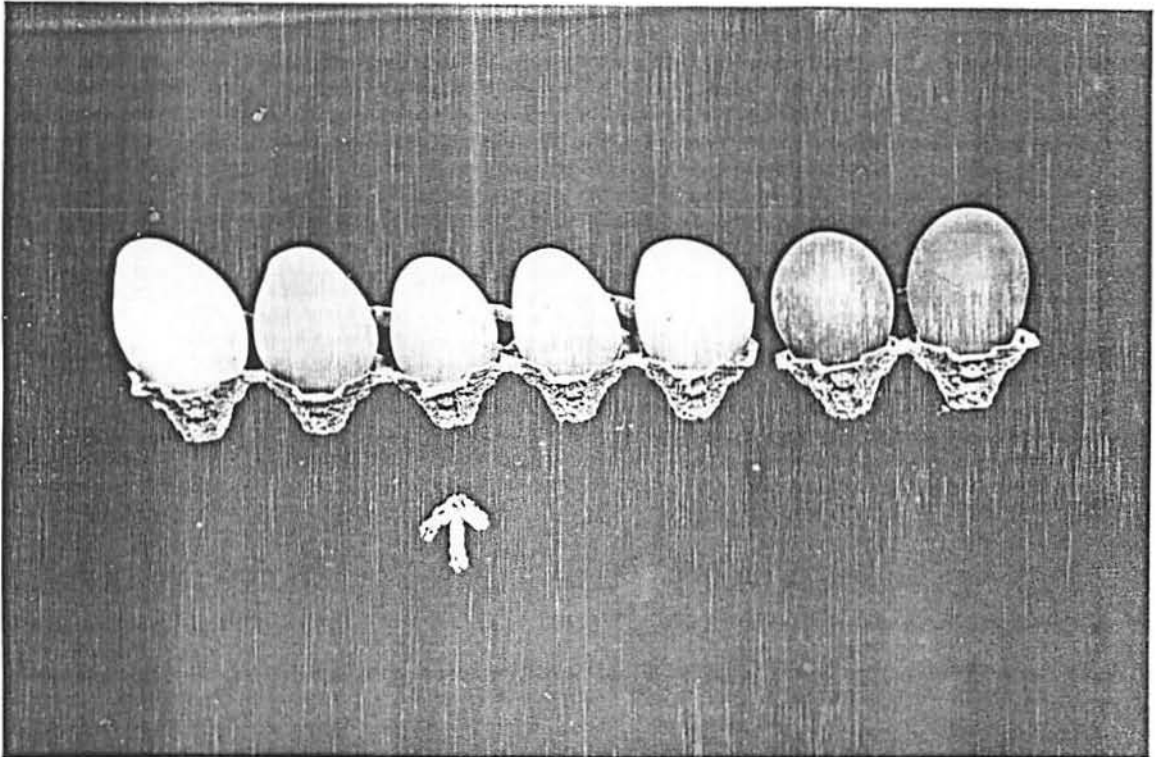
3.3.2.2. Identifikasi virus EDS

Untuk mengidentifikasi adanya virus EDS dalam telur itik berembrio (TIB) yang telah diinkulasi dengan suspensi

organ, dilakukan uji hemaglutinasi (*Rapid HA test*) dan uji hambatan hemaglutinasi (*Rapid HI test*). *Rapid HA test* yang dilakukan adalah sebagai berikut : 1 tetes cairan alantois direaksikan dengan 1 tetes eritrosit ayam 10 % . Reaksi positif ditandai dengan adanya hemaglutinasi. Bila cairan alantois menunjukkan reaksi positif pada uji hemaglutinasi, maka dilanjutkan dengan uji hambatan hemaglutinasi (*Rapid HI test*) dimana cairan alantois diuji terhadap antiserum EDS (berasal dari ayam yang diimunisasi berulang-ulang dengan vaksin EDS). Hasil identifikasi dinyatakan EDS positif bila terjadi hambatan hemaglutinasi (Mc Ferran, 1980). Bila hasil uji hemaglutinasi negatif, maka dilakukan pasase ulang sampai 3 kali. Hasil identifikasi dinyatakan EDS negatif bila hasil uji hemaglutinasi tetap negatif setelah pasase ketiga.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Bentuk telur abnormal dengan kerabang telur tipis dan pucat, berasal dari ayam yang mengalami gangguan produksi telur dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Bentuk telur abnormal (tanda panah) dibandingkan dengan telur normal.

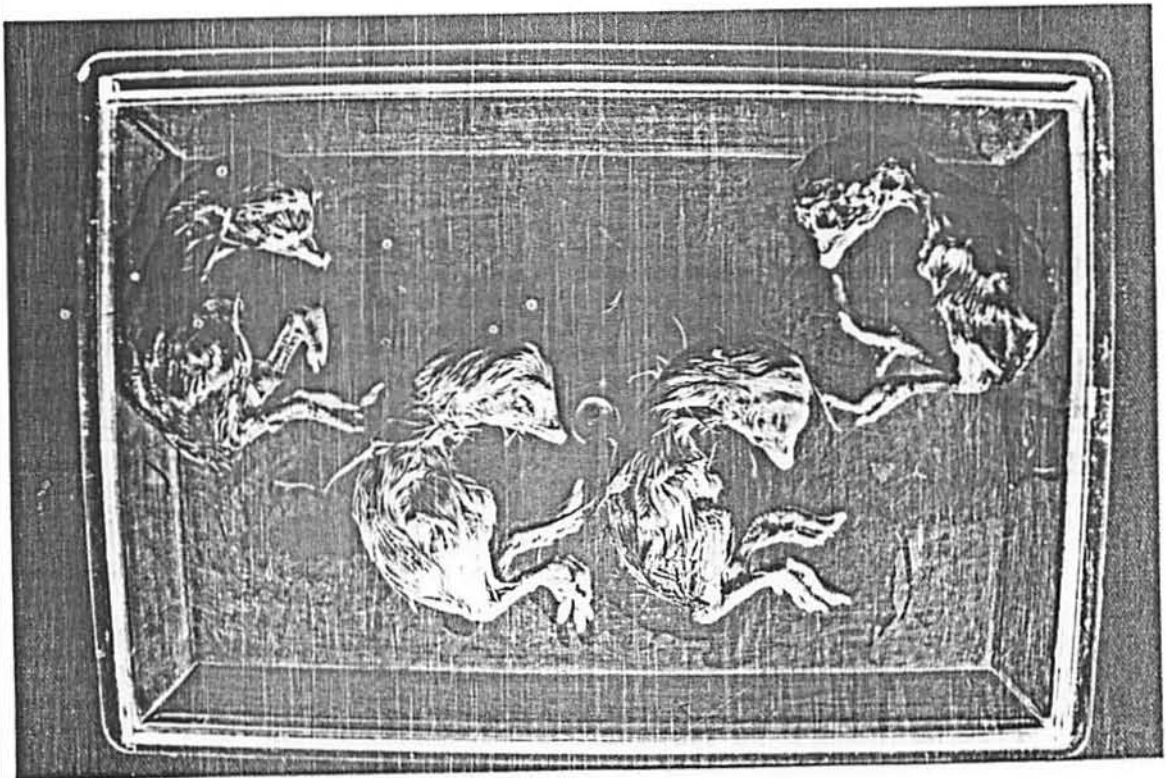
Hasil isolasi virus pasase pertama pada telur ayam berembrio dari suspensi organ (paru, trakhea) sampel ayam (A dan B) menunjukkan bahwa embrio TAB agak kerdil dibanding kontrol dan jari kaki bengkok (Gambar 2).



Gambar 2. Embrio agak kerdil dan jari kaki bengkok (pasase pertama)

Pada pasase ketiga, perubahan pada embrio semakin jelas di mana setelah TAB diinkubasi selama 7 hari terlihat embrio kerdil dan jari kaki keriting (Gambar 3).

Adanya kelainan embrio berupa kekerdilan dan jari kaki keriting setelah inkubasi selama 7 hari menunjukkan adanya dugaan bahwa sampel ayam tersebut (A dan B) terinfeksi dengan virus IB. Menurut Lukert (1980) inokulasi virus IB ke dalam cairan alantois TAB setelah inkubasi selama 7 hari akan mengakibatkan kematian embrio, kekerdilan dan



Gambar 3. Embrio kerdil dan jari kaki keriting (pasase ketiga)

jari kaki keriting. Kelainan embrio makin jelas terlihat setelah pasase ketiga, karena virus IB strain lapangan memerlukan pasase buta paling sedikit 3 sampai 5 kali, di mana hal ini berbeda dengan virus IB strain vaksin yang mudah diisolasi (Lukert, 1980).

Berbeda dengan hasil isolasi virus dari organ paru dan trakhea yang menimbulkan perubahan jelas pada embrio, maka hasil isolasi virus pada TAB dari organ ginjal, ovarium dan oviduct tidak menimbulkan perubahan yang jelas pada embrio. Hal ini sesuai dengan pendapat Lukert (1980) bahwa kemungkinan berhasil dalam mengisolasi virus IB adalah bila digunakan organ paru dan trakhea.

Hasil uji Elisa terhadap cairan alantois TAB yang telah diinokulasi dengan organ paru, trakhea, ginjal, ovarium dan oviduct dapat dilihat pada tabel 1. Cairan alantois yang diuji dengan Elisa hanya cairan alantois yang berasal dari TAB pada pasase ketiga.

Tabel 1. Nilai Optical Density (OD) dari cairan alantois TAB yang telah diinokulasi dengan suspensi organ.

Organ	Optical Density (OD)			Cut of Value (COV)
	1	2	3	
Paru A	0,556	0,523	0,611	
Paru B	0,450	0,456	0,455	
Trakhea A	0,589	0,197	0,298	
Trakhea B	0,353	0,309	0,415	
Ginjal A	0,605	0,165	0,253	
Ginjal B	0,169	0,188	0,400	
Ovarium & Oviduct A	0,180	0,241	0,127	
Ovarium & Oviduct B	0,167	0,177	0,121	
Kontrol Positif	1,928	2,485	2,502	
Kontrol Negatif	0,177	0,116	0,153	0,174

Berdasarkan hasil uji Elisa terhadap cairan alantois TAB yang diinokulasi dengan suspensi organ paru dan trakhea, baik dari sampel A maupun B menunjukkan positif IB. Hal ini terlihat pada nilai optical density (OD) dari semua cairan alantois TAB yang diinokulasi suspensi organ paru dan trakhea lebih besar atau di atas 1,5 kali lebih besar cut of value (COV). Sebaliknya tidak semua cairan alantois TAB yang diinokulasi dengan suspensi organ ginjal, ovarium dan oviduct mempunyai nilai OD lebih besar dari COV. Hasil uji Elisa ini sesuai dengan hasil isolasi virus pada TAB di mana kelainan embrio jelas terlihat pada TAB yang diinokulasi dengan suspensi organ paru dan trakhea.

Dari hasil penelitian ini juga terlihat bahwa inokulasi suspensi organ ginjal dari ayam tersangka IB ada yang dapat memberikan hasil positif dengan uji Elisa (nilai OD di atas $1,5 \times > COV$) tetapi tidak menimbulkan perubahan pada embrio.

Hal ini menunjukkan bahwa deteksi virus IB dengan uji Elisa lebih efektif dari pada dengan cara melakukan pasase ulang pada TAB sampai terlihat perubahan embrio. Teknik Elisa yang mampu mengukur kadar antigen maupun antibodi berkadar rendah (beberapa nanogram) memungkinkan kita mendeteksi adanya kelainan atau penyakit secara dini (Siti Boedina, 1996). Hasil penelitian De Wit et al (1992) menunjukkan bahwa uji Elisa sangat dianjurkan untuk diagnosa IB karena mempunyai sensitivitas yang tinggi dibandingkan dengan uji Agar Gel Presipitasi (AGP) dan hambatan hemaglutinasi.

Hasil identifikasi dengan uji hemaglutinasi terhadap cairan alantois pada telur itik berembrio (TIB) yang diinokulasi dengan suspensi organ (trakhea, ginjal, usus maupun ovarium dan oviduct) sampel ayam (A dan B) menunjukkan hasil negatif, baik pada pasase pertama maupun sampai pasase ketiga. Hasil identifikasi ini menunjukkan bahwa sampel ayam (A dan B) tidak terinfeksi virus EDS.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil diagnosis virologik terhadap penyebab gangguan produksi telur pada ayam sampel, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Virus penyebab gangguan produksi telur ayam pada daerah kasus di Blitar adalah *Infectious Bronchitis* (IB).
2. Isolasi dan identifikasi terhadap virus *Egg Drop Syndrome* (EDS) menunjukkan hasil negatif.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dan mengingat bahwa pada ayam-ayam sampel tersebut sudah dilakukan vaksinasi IB, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah ada perbedaan antara strain virus vaksin IB dengan virus IB yang ada di lapangan. Dan untuk jangka panjang kemungkinan dapat dikembangkan pembuatan vaksin IB dari isolat lokal.

DAFTAR PUSTAKA

Anonimus. 1992. Infectious Bronchitis. In Diagnosis of Avian disease. Japan International Co-operation Agency. Asean Poultry Disease Research and Training Centre Project Veterinary Research Institute. Malaysia. P. 57-61.

Burrin, D.H. 1987. Immunochemical techniques. In K. Wilson and H. Goulding (Editor). A biologist's guide to principles and techniques of practical biochemistry. 3rd Ed. Edward Arnold Publishers Ltd, Baltimore, Maryland. P. 141-146.

Davelaar, F.G., B. Kouwenhoven and A.G. Burger. 1986. The Diagnosis and Control of Infectious Bronchitis Variant Infection. In J.B. Mc Ferran and M.S. Mc Nulty (Ed). Acute Virus-Infections of Poultry. Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht / Boston. Lancaster. P. 103-121.

Davies, B.P., R. Dulbecco, H.N. Eisen and H.S. Ginsberg. 1980. Microbiology including Immunology and Molecular Genetics. 3rd Ed. Harper International Ed. P. 1047-1060.

De Wit, J.J., F.G. Davelaar, W.W. Braunius. 1992. Comparison of the Enzyme Linked Immunosorbent Assay, the Haemagglutination Inhibition Test and the Agar Gel Precipitation Test for the detection of antibodies against Infectious Bronchitis and Newcastle Disease in Commercial Broilers. Avian Pathology. 21: 651-658.

Gillespie, J.H and J.F. Timoney. 1981. Hagan and Bruner's infectious disease of domestic animals. 7th Ed. Cornell University Press. Ithaca and London. p. 506-520.

Lukert, P.D. 1980. Infectious Bronchitis. In S.B. Hitcher, C.H. Domermuth, H.G. Purchase and J.E. Williams (Ed). Isolation and identification of avian pathogens. Creative Print Co Inc,, New York. p. 70-72.

Mc. Ferran, J.B. 1980. Avian Adenovirus. In. Isolation and Identification of Avian Pathogens. American Association of Avian Pathologist. Texas. P. 102-105.



Mc. Ferran, J.B. 1981. Egg Drop Syndrome 1976. In. Disease poultry. 2nd Ed. The Iowa state University Press Ames. P. 516-523.

Mukhsin. 1996. Mengetahui penyakit melalui telur. Poultry Indonesia, 197 : 12-13.

Paolucci, F., M. Piechaczyk, T. Charles. M. Cot, H Rogier, Mc. Cot, B. Pau, J.N. Bastide. 1986. Monoclonal Antibody Screening. In. Methods of enzymatic analysis. 3rd Ed. Weinheim : Reprint from Bergmeyer, VCH. P. 44-58.

Rahaju Ernawati dan R. Soelistyanto. 1991. Virologi Veteriner. Laboratorium Virologi dan Imunologi. Fakultas Kedokteran Hewan Unair. Surabaya. Hal. 57-69.

Siti Boedina Kresno. 1996. Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Edisi ke-3. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hal. 314-321.

13TPA

13TPA

F' pin

33 0

K15

No.K

HIMI KAROMAH