

BAB IV

D I A G N O S A

1. Diagnosa Klinis.

Secara klinis penyakit yang disebabkan oleh virus Rinderpest memberikan manifestasi yang berbeda sesuai dengan organ yang terserang. Diagnosa berdasarkan gejala penyakit secara klinis ini terutama ditujukan untuk penyakit yang kejadiannya secara sporadis, tetapi diagnosa ini masih perlu dilanjutkan lagi dengan pemeriksaan laboratoris guna memperoleh hasil yang memuaskan.

Berdasarkan jalannya penyakit Rinderpest secara klinis dapat di bagi dalam 3 bentuk (Galloway 1974) .

a. Bentuk perakut : yang dapat menyebabkan kematian secara tiba-tiba dan paling lama berkisar antara 2 - 3 hari , ditandai dengan panas badan yang tinggi sekitar $41 - 42^{\circ}$ Celcius, sesak nafas dan anorexia. Bentuk ini sering terjadi pada anak sapi yang dapat menyebabkan kematian sebelum timbulnya diare.

b. Bentuk akut : dengan memberikan gejala klinis adanya gangguan pada sistim pencernaan yaitu gastroenteritis , yang ditandai dengan demam tinggi, diare dan pembesaran kelenjar limfe.

c. Bentuk subakut : yang ditandai dengan diare profus , kolik dan dehidrasi.

Gejala klinis penyakit Rinderpest secara umum ditandai mula-mula dengan demam tinggi mencapai 41-42 ° Celcius, di mana keadaan ini berlangsung sampai 3 hari dan selanjutnya di ikuti dengan gejala-gejala hewan gelisah yang disertai dengan anorexia, sembelit dan hiper salivasi. Dari mata dan hidung keluar cairan yang mula-mula bersifat serous dan bila berlanjut akan berubah jadi mukopurulent. Selain itu terlihat pula conjunctivitis yang berlanjut menjadi photophobia. Pada pemeriksaan darah didapatkan keadaan leukopenia (Jensen 1974).

Pada waktu demamnya memuncak, maka gejalanya akan bertambah intensif dengan disertai timbulnya luka-luka yang mula-mula terlihat pada selaput mukosa bibir, pipi sebelah dalam, gusi, lidah bagian bawah dan mukosa lubang hidung. Dimana luka-luka tersebut berupa nekrose yang berwarna keabu-abuan, makin lama makin luas dan berwarna merah dengan batas yang jelas serta bengkak. Pada penyakit Rinderpest ini tidak pernah terjadi luka-luka dalam bentuk vesikula (Siegmund 1974).

Setelah demam tinggi yang berlangsung kurang lebih 3 hari, suhu tubuh kemudian akan turun dengan cepat disertai gejala-gejala yang menyebabkan kematian hewan, yaitu: diare encer terus menerus dengan bercampur darah, sesak nafas karena adanya pneumonia yang bersamaan dengan adanya batuk, kemungkinan terjadi kolik dan timbul dehidrasi yang sangat jelas. Suhu tubuh kemudian terus menerus turun sampai di bawah normal dan hewan cepat sekali menjadi kurus serta lemah (Ressay 1984).

2. Pemeriksaan Pasca Mati.

Ditinjau dari jaringan tubuh yang terserang, maka virus Rinderpest ini bersifat epiteliotrop. Perubahan yang terjadi terutama pada selaput lendir dari saluran pencernaan makanan dan sedikit pada saluran pernafasan. Awal radang ditandai dengan hiperaemi yang hebat dari saluran pencernaan makanan dan keluarnya cairan seromukopurulent dari lubang hidung. Bila kejadiannya sudah khronis akan terbentuk luka-luka erosi terutama pada selaput mukosa mulut, lidah, bibir dan gusi. Dengan adanya infeksi sekunder maka luka-luka erosi tersebut akan bertambah dalam dan meluas sehingga terbentuklah ulcera (Doxey 1971).

Perubahan secara makroskopis pada saluran pernapasan hanya terjadi pada hidung dan trache, dimana selaput mukosanya mengalami hiperaemi, luka-luka erosi dan ulcera yang sering kali tertutup oleh discharge. Sedangkan paru-paru terutama pada kejadian yang khronis akan nampak hiperaemis yang nyata karena pembendungan dari pada pembuluh darah, emphysema dan biasanya terjadi pneumonia (Jubb et al. 1970).

Perubahan secara makroskopis pada saluran pencernaan makanan adanya lesi-lesi pada selaput mukosa berupa luka-luka erosi dan ulcera terutama di daerah gusi, lidah bagian bawah, pipi bagian dalam dan bibir. Sedang bagian pharing dan sepertiga anterior oesophagus juga terdapat luka-luka yang serupa tetapi sifatnya lebih ringan (Siegmond 1974, Hungerford 1970).

Rumen, retikulum dan omasum mengalami kerusakan-kerusakan berupa erosi-erosi dangkal dan jarang terjadi kerusakan yang lebih berat, sedangkan selaput mukosa abomasum nampak hiperaemia, erosi dan ulcera pada bagian pylorusnya. Pada usus halus terutama pada bagian permulaan duodenum dan bagian akhir illeum selaput mukosanya nampak hiperaemis dan adanya luka-luka yang menonjol berisi fibrin. Bagian usus besar yaitu colon dan rektum perubahan yang terjadi serupa dengan usus halus, tetapi lukanya disini lebih banyak terutama terjadi pada daerah katup illeo-caecal, perpindahan antara caecum ke colon (caeco-colic junction) dan bagian rektum. Dimana pada daerah tersebut terdapat bintik-bintik yang berwarna merah muda pada permulaan penyakit dan menjadi merah tua pada stadium lebih lanjut. Bintik-bintik merah tadi akan bersatu dan membentuk luka-luka yang baru (Reid 1981).

Pada organ hati nampak pembengkakan dan terlihat membesar, sedang kandung empedunya membesar dan penuh oleh cairan empedu, terlihat sedikit hiperaemis dan erosi pada selaput mukosanya. Sedangkan perubahan yang terjadi pada saluran urogenitalis berupa peradangan pada selaput mukosa vesika urinaria dan sering terlihat perdarahan disertai degenerasi dari sel-sel epitelnya. Pada organ ginjal terlihat adanya hiperaemi yang nyata karena pembendungan dari pembuluh darah, terutama terlihat pada batas antara daerah kortek dan medula. Pada selaput mukosa dari vulva dan vagina juga terlihat adanya lesi-lesi yang berupa luka-luka erosi (Smith et al. 1974).

Perubahan pada mata yang sering terlihat pada penyakit ini adalah conjunctivitis disertai adanya discharg serous dan menjadi mukopurulenta pada kejadian yang lebih lanjut. Jaringan limfoid terutama kelenjar limfe dan limpa terlihat adanya pembesaran karena oedema dan kebengkakan, sehingga konsistensinya lunak serta terdapat bintik-bintik merah pada mukosanya dan bidang sayatannya memperlihatkan adanya perdarahan (Jubb et al. 1970).

Perubahan yang terjadi pada otak dan selaput otak berupa hiperaemi dan congesti pada pembuluh darahnya disertai ptechiae dan terjadi oedema. Sedangkan perubahan yang terjadi pada jantung berupa perdarahan epikardia dan endokardia. Menurut laporan Achmed Schope, pada sapi-sapi didaerah Turki diperoleh 95% dari kasus penyakit Rinderpest mengalami perdarahan pada endokardianya yang berwarna merah tua sampai merah gelap (Jubb et al. 1970).

Perubahan pathognomonis yang dapat terlihat jelas pada penyakit ini adalah terdapatnya nekrose pada Peyer Patch dan ini khas pada penyakit Rinderpest, di mana permukaan dari Peyer Patch tersebut terjadi luka yang dalam membentuk keadaan seperti kawah gunung (Ressang 1984).

Perubahan pathognomonis juga terlihat pada bagian rektum, di mana terdapat luka-luka yang membentuk garis lurus, sehingga secara makroskopis akan nampak garis-garis yang berwarna merah muda dari jaringan sehat dan garis-garis merah tua dari jaringan yang mengalami perdarahan dan disebut Zebra striping atau Tiger skin (Smith et al. 1974).

Perubahan mikroskopis pada Peyer Patch yang mengalami nekrose terlihat adanya sel-sel epitel yang rusak dengan inti mengalami kariopiknosis dan karioreksis serta sel-sel epitelnya saling melepaskan satu sama lainnya. Tenunan limfoid yang mengalami kerusakan selain Peyer Patch juga kelenjar limfe lain dan limpa berupa kerusakan yang hebat dari sel-sel limfosit dan jaringan limfoidnya sendiri. Kerusakan dari sel-sel limfosit dimulai dengan kariopiknosis dan karioreksis dari inti sel limfosit muda yaitu limfoblas yang kemudian disusul dengan terjadinya kariolisis dari sel limfosit. Sel-sel limfosit rusak karena adanya lisis dan mungkin inilah penyebab dari terjadinya leukopenia pada penyakit ini (Ressay 1984) .

3. Pemeriksaan Laboratorium.

Pemeriksaan laboratorium meliputi isolasi virus pemeriksaan biologis dan pemeriksaan serologis.

3.1. Isolasi Virus.

Isolasi virus pada penyakit Rinderpest ini sebenarnya suatu pekerjaan yang tidak mudah dan memerlukan kecermatan dalam mempersiapkan spesimen untuk bahan percobaan. Bahan inokulasi yang dipergunakan biasanya berasal dari jaringan yang merupakan predileksi dari virus ini yang berikatan erat dengan sel-sel dari jaringan tersebut, misalnya darah, limpa dan kelenjar limfe. Karena sifat virus ini sangat peka terhadap pengaruh fisik, sehingga diluar tubuh virus hanya dapat bertahan hidup da-

lam waktu yang sangat singkat, maka spesimen harus segera dipergunakan sebelum melebihi 24 jam. Apabila bahan pemeriksaan akan dikirim ke laboratorium sebaiknya disimpan dalam media transport berupa perbenihan yang mengandung larutan buffer, serum sapi 1% dan antibiotika. Spesimen yang diperoleh digerus dan dibuat suspensi 20% dalam larutan Hanks yang terdiri dari 10% serum anak sapi, 0,5% lactalbumin dan 0,1% ekstrak ragi. Kemudian ke dalam suspensi ditambahkan antibiotika berspektrum luas yaitu penicillin dan streptomycin. Suspensi yang diperoleh merupakan hasil sentrifuse dari spesimen yang digerus. Biakan jaringan ginjal anak sapi diberi 1 ml cairan supernatan dan diinkubasikan pada 37° Celcius. Pemeriksaan mikroskopis dilakukan setiap hari untuk melihat terbentuknya Cytopatogenik Effect (CPE) yaitu berupa pembesaran sel, adanya vacuole pada cytoplasma dan inclusion bodies intra cytoplasmic (Tajjima 1976 , Reid 1981) .

3.2. Pemeriksaan Biologis.

Satu-satunya hewan percobaan yang peka terhadap penyakit Rinderpest hanyalah anak sapi yang tidak mengandung antibodi dari induknya (maternal antibodi). Anak sapi disuntik dengan darah hewan yang tersangka penyakit Rinderpest, kemudian dilihat gejala yang terjadi pada anak sapi tersebut. Apabila dalam waktu 3-4 hari setelah penyuntikan timbul demam dan gejala-gejala seperti penyakit Rinderpest, maka hewan tersangka tersebut benar-benar menderita penyakit Rinderpest (Scott 1963).

Cara lain yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan perbenihan jaringan yang terbuat dari sel-sel ginjal anak sapi dalam bentuk monolayer. Antigen yang digunakan adalah virus Rinderpest yang sudah diadaptasikan pada perbenihan jaringan. Serum hewan tersangka direaksikan dengan antigen yang telah diadaptasikan dan dibiarkan selama beberapa jam, kemudian diteteskan ke dalam perbenihan jaringan yang sudah disediakan. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37° Celcius selama 3 hari. Apabila serum hewan tersangka tidak mengandung antibodi yang spesifik terhadap virus Rinderpest, maka akan nampak adanya kerusakan dari sel-sel perbenihan jaringan berupa Cytho - pathogenic Effect (CPE), yang ditandai dengan membesarnya sel, bertambahnya bentukan granular, adanya vacuole pada cytoplasma dan inclusion bodies intra cytoplasmic (De Boer 1972 , Tajjima 1976) .

3.3. Pemeriksaan Serologis.

a. Haemagglutination (HA) Test.

Di dalam test ini dipakai virus Measles yang mempunyai hubungan antigenik dengan virus Rinderpest dan darah merah kera, karena virus Measles mengagglutinasikan darah merah kera. Kemudian antigen (virus Measles) ini ditambah dengan erytrosit kera 0,5% dan diinkubasikan pada suhu 37° Celcius selama 3 jam. Titer virus dicatat dengan mengamati pengenceran antigen tertinggi yang masih mampu menimbulkan reaksi agglutinasi terhadap erytrosit kera .

Pemeriksaan ini dilanjutkan dengan Haemagglutination Inhibition test (Reid 1981).

b. Haemagglutination Inhibition (HI) Test.

Dalam pemeriksaan ini diperlukan virus Measles sebagai antigen, erytrosit kera 0,5%, dan serum dari hewan tersangka. Kemudian ketiga bahan ini dicampur dan dikocok lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 1 jam. Apabila di dalam serum hewan tersangka tersebut mengandung antibodi yang spesifik terhadap Rinderpest, maka tidak terjadi reaksi agglutinasi (Reid 1981).

c. Virus Netralisasi (VN) Test.

Prinsip test netralisasi adalah untuk mengetahui adanya antibodi pada serum hewan tersangka. Serum sapi tersangka diambil dan dinaktifkan pada suhu 56° Celcius selama 0,5 jam. Setelah itu ditambah dengan virus Rinderpest yang sudah diketahui dan diinkubasi pada suhu 37° Celcius selama 0,5 jam, kemudian baru disuntikan pada hewan percobaan anak sapi atau sapi yang peka. Apabila hewan percobaan tersebut mati, berarti di dalam serum sapi tersangka tidak mengandung antibodi. Sedangkan bila hewan percobaan tidak mati, berarti didalam serum sapi tersangka mengandung antibodi yang homolog dengan virus Rinderpest tersebut (Scott 1963).

Cara lain test netralisasi dengan menggunakan media atau perbenihan jaringan dari sel ginjal anak sapi. Virus Rinderpest yang sudah diketahui ditambah dengan se
SKRIPSI CARA DIAGNOSA DAN PENANGGULANGAN KOCOK TEGEH WIYONO u-

basikan pada suhu kamar selama 1 jam. Dari campuran virus Rinderpest dan serum tersebut diinokulasikan kedalam perbenihan jaringan yang telah disediakan, dan diinkubasikan pada suhu 37° Celcius. Kemudian diperiksa terhadap ada tidaknya bentukan CPE pada perbenihan jaringan tersebut pada hari kesatu sampai hari ketiga. Apabila didalam serum hewan tersangka tersebut mengandung antibodi yang homolog dengan virus Rinderpest, maka antibodi tersebut akan menetralsir virus Rinderpest sehingga proses CPE tidak akan terlihat, ini berarti bahwa hewan tersangka tersebut benar-benar menderita penyakit Rinderpest (Ronald 1978, Klaus 1976).

d. Uji Diffusi pada Agar Gel (Precipitation Test).

Melalui medium agar gel yang terdapat pada cawan petri, antigen dan antibodi yang homolog akan berdifusi dari lubang yang terpisah. Antibodi (serum hewan tersangka) ditempatkan pada lubang bagian tengah, sedangkan antigen (virus Rinderpest yang sudah diketahui) ditempatkan pada lubang disekitarnya. Kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 24-48 jam. Apabila antigen homolog dengan antibodi maka akan terbentuk garis presipitasi antara antigen dan antibodi tersebut. Garis presipitasi tersebut terbentuk karena adanya reaksi antara presipitinogen yang bebas dari antigen dengan antibodi (Scott 1963).

e. Cross Immunization.

Test ini berdasarkan hubungan immunologis antara Rinderpest, Measles dan Canin Distemper. Di mana masing-masing virus tersebut dapat menimbulkan reaksi kekebalan secara silang dengan virus yang lainnya. Sapi yang disuntik dengan virus Measles, maka dalam tubuh sapi tersebut akan terbentuk antibodi yang mampu melawan infeksi penyakit Rinderpest. Demikian juga dengan virus Canin Distemper yang disuntikan pada sapi akan dapat menimbulkan kekebalan untuk melawan infeksi penyakit Rinderpest pada sapi tersebut (Arnold 1973, Yamanouchi 1980).

Dalam test ini dipakai 2 kelompok hewan anak sapi yang tidak mengandung maternal antibodi. Kelompok hewan I terdiri dari 3 ekor anak sapi yang diberi serum kebal dari Canin Distemper, Sedang kelompok hewan II terdiri dari 3 ekor anak sapi sebagai kontrol tanpa diberi serum kebal. Kemudian dari kedua kelompok hewan anak sapi tersebut masing-masing disuntik dengan suspensi virus Rinderpest yang terbuat dari organ limpa atau darah hewan tersangka Rinderpest. Apabila terjadi kematian pada kelompok hewan II, sedangkan pada kelompok hewan I tidak terjadi kematian, berarti hewan sapi tersangka tersebut benar-benar menderita penyakit Rinderpest (Orvell 1974 , Scott 1963).

f. Complement Fixation (CF) Test.

Sebagai sumber antigen dipakai virus Rinderpest yang sudah diadaptasikan pada kelinci (lapinized Rinderpest virus). Dari limpa kelinci tersebut dibuat suspensi virus dengan cara digerus dan dicampur dengan larutan buffer lalu disentrifuse dengan kecepatan 1300 rpm selama 30 menit. Cairan supernatan diambil dan dipakai sebagai antigen. Sebagai serum dipakai serum kebal dari kelinci yang telah disuntik dengan lapinized Rinderpest virus, sebelum dipakai serum tersebut harus diinaktifkan lebih dulu pada suhu 56° Celcius selama 30 menit. Sebagai komplemen dipakai komplemen yang didapat dari marmot (MacLeod 1973).

Prinsip dari reaksi ini adalah sebagai berikut: virus Rinderpest yang sudah diadaptasikan direaksikan dengan serum dan ditambah dengan komplemen akan terjadi ikatan. Adanya suatu ikatan ini baru dapat terlihat bila ditambahkan Haemolitik Sistim (suatu indikator yang memungkinkan lisisnya darah merah domba, yang terbuat dari Haemolisin 1% ditambah dengan darah merah domba 2% sama banyak). Reaksi disebut positif bila setelah penambahan haemolitik sistim lalu diinkubasikan pada suhu 37° Celcius selama 30 menit tidak terjadi lisis, karena komplemen akan terikat oleh ikatan virus dan serum, ini berarti dalam serum tersebut mengandung antibodi yang homolog dengan virus Rinderpest. Reaksi disebut negatif bila komplemen terikat oleh darah merah domba sehingga terjadi lisis (Scott 1963, Ronald 1978).

g. Fluorescence Antibody Technique (FAT).

Tujuan pemeriksaan ini adalah untuk membuktikan adanya antigen virus Rinderpest dalam jaringan tubuh hewan penderita. Bahan yang diambil untuk pemeriksaan ini adalah suspensi virus dari organ limpa yang telah dibibakkan pada perbenihan jaringan ginjal anak sapi.

Organ limpa dari sapi yang diduga Rinderpest digerus dijadikan suspensi dalam larutan PBS, lalu suspensi tersebut disentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 30 menit. Sebanyak 2 ml cairan supernatan ditaruh pada perbenihan jaringan dan diinkubasi pada suhu 37°Celsius selama 1 jam, lalu dicuci dengan larutan PBS sebanyak 3 kali dan diinkubasi pada suhu 37°Celsius selama 12 jam, kemudian coverslipnya diambil dan dicelupkan dalam larutan PBS yang mempunyai Ph 7 - 7,2. Kemudian coverslip tersebut difixasi dengan aceton selama 5 menit dan dikeringkan diudara. Setelah kering direndam dalam conjugate yaitu anti serum Rinderpest yang telah dilabel dengan fluorescein isothiocyanat dan diinkubasi pada suhu 37°Celsius selama 30 menit, kemudian coverslip dicelup dalam larutan PBS selama 5 menit dan dikeringkan. Setelah kering diperiksa dibawah mikroskop fluorescen, bila terjadi perpendaran atau fluoresensi kehijauan pada mikroskop fluorescent berarti reaksinya positif (Rigg and Brown 1970 , Kobune and Ito 1976).

h. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).

Pemeriksaan serologis dengan menggunakan ELISA bertujuan untuk mendeteksi adanya antibodi terhadap penyakit Rinderpest dalam darah hewan penderita.

Sebagai antigen dipakai virus Rinderpest yang dibiakkan pada perbenihan jaringan yang terbuat dari sel ginjal anak sapi yang mengandung 25% ekstrak ragi, 20% serum sapi, 0,1% glukosa dan 100 UI penicilline tiap mili liter medium. Biakkan ini diinkubasi pada suhu 37°Celsius selama 30 menit, lalu disentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 30 menit pada suhu 4°Celsius. Kemudian presipitatnya dicuci dengan larutan PBS yang mempunyai Ph 7 - 7,2 sebanyak 3 kali, lalu dibuat suspensi virus dengan menambah PBS dan disimpan pada suhu 37°Celsius (Rossiter and Jesset 1981).

Adapun prosedur dari test ELISA ini adalah sebagai berikut : Antigen diteteskan pada mikroplate yang terbuat dari polivinyl dan disimpan pada suhu kamar selama 1 jam supaya terjadi absorpsi antigen, lalu dicuci dengan PBS. Kemudian pada plate tersebut diteteskan serum dan dibiarkan pada suhu kamar selama 1 jam, lalu dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali. Selanjutnya pada plate ini ditambahkan enzyme conjugate dan dibiarkan pada suhu kamar selama 30 menit, lalu dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali. Kemudian ke dalam plate ditambahkan substrate dan disimpan pada suhu kamar selama 30 menit supaya terjadi reaksi enzyme. Reaksi disebut positif bila terjadi perubahan warna dari substrate menjadi lebih gelap (rossiter and Jesset 1981, Ronald and Lincoln 1978).