

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN INFUSA JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI LIMPA AYAM BROILER YANG DIINFEKSI VIRUS GUMBORO ISOLAT TASIK**



OLEH :

NUNUNG RUSDIANA  
NIM 060213062

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2008**

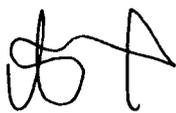


**PENGARUH PEMBERIAN INFUSA JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)  
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI LIMPA AYAM  
BOILER YANG DIINFEKSI DENGAN VIRUS GUMBORO  
ISOLAT TASIK**

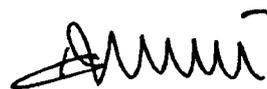
Skripsi  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan  
pada  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh  
NUNUNG RUSDIANA  
NIM 060213062

Menyetujui  
Komisi Pembimbing



(Dr. Anwar Ma'ruf M.Kes., drh)  
Pembimbing Pertama



(Endang Suprihati M.S., drh)  
Pembimbing Kedua



## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**PENGARUH PEMBERIAN INFUSA JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)  
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI LIMPA AYAM BROILER  
YANG DIINFEKSI VIRUS GUMBORO ISOLAT TASIK**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 6 Agustus 2008



**Nunung Rusdiana**  
**NIM 060213062**



Telah Dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 21 Juli 2008

**KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN :**

**Ketua** : Ajik Azmijah, SU., Drh.

**Skretaris** : Dr. Suwarno, M.Si., Drh.

**Anggota** : Lilik Maslachah, M.Kes., Drh.

**Pembimbing I** : Dr. Anwar Ma'ruf, M.Kes., Drh.

**Pembimbing II** : Endang Suprihati, M.Kes., Drh.



Telah Diuji pada :

Tanggal : 5 Agustus 2008

Ketua : Ajik Azmijah, SU., Drh.

Anggota : Dr. Suwarno M.Si., Drh.

Lilik Maslachah, M.Kes, Drh.

Dr. Anwar Ma'ruf, M.Kes., Drh.

Endang Suprihati, M.S., Drh.

Surabaya, 6 Agustus 2008

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



**Prof. Dr. Romziah Sidik, Ph.D., Drh**  
**NIP. 130 687 305**



**THE EFFECT OF GIVING INFUSUM BLACK SEED (*Nigella sativa*) ON  
HISTHOPATOLOGY OF CHICKEN'S SPLEEN WHICH  
WHERE INFECTED BY TASIK STRAIN IBD VIRUS**

Nunung Rusdiana

**ABSTRACT**

The aim of this research is to know the effect of giving Black seed as infusum on histopathology of chicken's spleen which were infected by IBD (Infectious Bursal Disease). The research carried fifty chickens were divided in ten group of treatment, five group unvaccinated and the other five were vaccinated. The vaccinated was II, IV, VI, VIII, X group and the unvaccinated was I, III, V, VII and IX. Group I-II without black seed infusum, group III-IV were gifted 10%, group V-VI were gifted 20%, group VII-VIII were gifted 40%, group IX-X were gifted 80% of black seed infusum. This research showed that the black seed effects on the better view of chicken spleen's histopathology. Whereas, there is no positive correlation between the increasing concentration of black seed infusum and the spleen damaging rate of histopathological view of chicken's spleen.

Key Word : black seed, spleen, vaccine.



## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur alhamdulillah kehadiran Allah SWT atas segala rahmat yang telah di berikan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyusun skripsi dengan judul **Pengaruh Pemberian Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Gambaran Histopatologi Limpa Ayam Broiler Yang Diinfeksi Virus Gumboro Isolat Tasik.**

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung penyusunan skripsi ini tidak akan berhasil. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., Drh. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan.

Bapak Dr.Anwar Ma'ruf, M.Kes., Drh selaku pembimbing pertama, ibu Endang Suprihati, M.S., Drh selaku pembimbing kedua atas kesabaran, saran, bimbingan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis hingga selesainya skripsi ini. Ibu Ajik Azmijah S.U. Drh., bapak Dr. Suwarno M.S.,Drh., ibu Lilik Maslachah, M.Kes., Drh. sebagai penguji atas saran dan kritik yang diberikan kepada penulis. Bapak Herman Setyono, M.S., Drh. selaku dosen wali yang telah dengan sabar membimbing penulis selama menjadi mahasiswa Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Seluruh staf pengajar Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan yang diberikan kepada penulis selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.



Segenap staf karyawan Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan terutama Dr. Suwarno M.Si.,Drh. Serta staf Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan dan Laboratorium Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas bantuannya selama proses penelitian berlangsung.

Kedua orang tua dan kedua saudaraku yang selalu menjadi spirit dan atas dukungan moril maupun materiil yang telah diberikan kepada penulis. Kepada teman-teman satu penelitian mas Adit, mas Rifi, mas Taufik, serta pihak-pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Akhirnya penulis menyadari bahwa tulisan ini masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna, tak ada gading yang tak retak untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca yang sifatnya membangun guna penyempurnaan makalah ini.

Surabaya, Agustus 2008

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>PERNYATAAN</b> .....	iii
<b>IDENTITAS</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Landasan Teori .....	3
1.4 Tujuan Penelitian .....	5
1.5 Manfaat Penelitian .....	5
1.6 Hipotesis .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Jintan Hitam .....	6
2.1.1 Klasifikasi Jintan Hitam .....	6
2.1.2 Morfologi dan Ekologi .....	7
2.1.3 Kandungan Kimia .....	7
2.2 Gumboro (Infectious Bursal Disease) .....	8
2.2.1 Sejarah dan Penyebaran .....	8
2.2.2 Etiologi .....	10
a. Morfologi .....	10
b. Klasifikasi .....	10
c. Sero Tipe .....	10
2.2.3 Patogenitas .....	12
2.2.4 Gejala Klinis .....	12
2.2.5 Patologi .....	13
2.2.6 Histopatologi .....	14
2.2.7 Pencegahan dan Pengobatan .....	15
2.3 Limpa .....	16
2.3.1 Morfologi dan Letak .....	16
2.3.2 Fungsi .....	17
2.3.3 Degenerasi .....	18
<b>BAB III MATERI DAN METODE</b> .....	20
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	20
3.2 Bahan dan Materi Penelitian .....	20



3.3 Metode Penelitian .....	21
3.3.1 Persiapan Penelitian .....	21
a. Hewan Coba .....	21
b. Pembuatan Infusa Jintan Hitam .....	21
3.3.2 Tahap Perlakuan .....	22
a. Jumlah Perlakuan Pada Hewan Coba .....	22
b. Metode Perlakuan .....	23
3.4 Pengambilan Sampel .....	23
3.5 Pemeriksaan Preparat Histopatologi .....	23
3.6 Alur Penelitian .....	25
3.7 Rancangan Penelitian .....	26
3.8 Peubah Yang Diamati atau Diukur .....	26
3.9 Analisis Data .....	26
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>27</b>
<b>BAB V PEMBAHASAN .....</b>	<b>31</b>
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>35</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>36</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>38</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>42</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Skor Perubahan Histopatologi Limpa.....	24
4.1 Rerata Skor dan Derajat Deviasi Perubahan Gambaran Histopatologi Limpa Ayam dari Seluruh Perlakuan.....	29



**DAFTAR GAMBAR**

Gambar	Halaman
2.1 Biji Jintan Hitam.....	6
2.2 Tanaman Jintan Hitam.....	7
2.3 Gambar Histologi Sel Limpa Normal Dengan Pembesaran 400x.....	15
3.1 Kerangka operasional.....	25
4.1 Gambaran mikroskopis sel limpa P1.....	27
4.2 Gambaran mikroskopis sel limpa P4.....	28
4.3 Gambaran mikroskopis sel limpa P5.....	28
4.4 Gambaran mikroskopis sel limpa P6.....	29
4.5 Diagram Batang Tingkat Kerusakan Gambaran Histopatologi Limpa.....	30



## DAFTAR SINGKATAN

Ds-RNA	: <i>double-stranded Ribonucleid Acid</i>
IBD	: <i>Infectious Bursal Disease</i>
ILT	: <i>Infectious Laryngotracheitis</i>
Na <sup>+</sup>	: <b>Natrium</b>
ND	: <i>New Castle Disease</i>
MD	: <i>Marek's Disease</i>
SEES	: <i>Side Effect Eliminating Subtanded</i>



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Proses Pembuatan Preparat Histopatologi .....	42
2. Skor Perubahan Histopatologi Limpa Ayam .....	46
3. Nilai Rata-rata Skor Perubahan Histopatologi Limpa Ayam .....	48
4. Analisa data.....	49



**BAB 1**  
**PENDAHULUAN**

BAR I

PENDAHULUAN

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang besar. Namun potensi ini belum dimanfaatkan secara maksimal, keanekaragaman ini menjadi salah satu faktor yang menunjang bagi keanekaragaman penggunaan obat tradisional. Penggunaan obat tradisional selain digunakan untuk mengobati penyakit pada manusia juga dapat digunakan untuk mengobati penyakit pada ternak. Hanya saja penggunaan obat tradisional pada ternak belum seluas dan sepopuler penggunaannya pada manusia.

Penggunaan bahan alam, baik sebagai obat maupun tujuan lain cenderung meningkat, terlebih dengan adanya isu *back to nature*. Obat tradisional dan tanaman obat banyak digunakan masyarakat menengah ke bawah terutama dalam upaya preventif dan rehabilitatif suatu penyakit. Sementara ini banyak orang beranggapan bahwa penggunaan tanaman obat atau obat tradisional tidak memiliki efek samping yang merugikan, bila penggunaannya kurang tepat .

Efek samping obat tradisional tidak dapat disamakan dengan efek samping obat modern. Obat tradisional terdapat suatu mekanisme yang disebut sebagai penangkal atau dapat menetralkan efek samping tersebut yang dikenal dengan SEES (*Side Effect Eliminating Substanted*), walaupun demikian penelitian keamanan penggunaan obat tradisional harus tetap dilakukan ( Pramono 2006).



Penelitian obat yang berasal dari tumbuhan berbeda dengan obat modern. Penelitian obat yang berasal dari tumbuhan dilakukan setelah digunakan secara empirik oleh nenek moyang. Sedangkan pada obat modern terlebih dahulu dilakukan penelitian secara tuntas baik secara eksperimental maupun klinis, baru setelah jelas keamanan dan keefektifitasannya, digunakan atau diberikan pada penderita (Pramono 2006).

Aktivitas virus gumboro akan menyebabkan turunnya daya tahan tubuh atau menyebabkan efek immunosupresif dan angka kematian pada ayam akan lebih tinggi bila terjadi infeksi sekunder (Rumawas,1992). Vaksinasi yang selama ini banyak dilakukan oleh peternak hanyalah salah satu cara untuk mencegah keganasan infeksi virus Gumboro yang masuk dalam tubuh ayam (Wiryawan, 2003). Upaya vaksinasi yang selama ini dilakukan hasilnya hanya dapat mengatasi penyakit beberapa saat saja, banyak kasus terjadi dilaporkan oleh peternak yang telah melakukan vaksinasi (Ernawati, 2004).

Habbatussauda merupakan tanaman obat tradisional populer di Timur Tengah. Tumbuhan ini telah lama digunakan untuk mengobati berbagai penyakit pada manusia. Habbatussauda populer dengan nama jintan hitam di Indonesia (Agromedia, 2006).

Mudhita (2007) mengatakan pemberian jintan hitam dapat meningkatkan sistem imun pada ayam pedaging yang terserang *Infectious Bursal Disease* (IBD).

Tanaman jintan hitam (*Nigella Sativa*) biasa digunakan sebagai herbal hampir di seluruh dunia untuk tindakan pencegahan terhadap berbagai penyakit.



Pemberian jintan hitam secara per oral 2 kali sehari dapat berpengaruh pada sistem kekebalan tubuh. Pemberian jintan hitam memiliki kemungkinan dapat memberikan kekebalan pada terapi kanker, AIDS dan penyakit *imunodefisiensi* (Al Qadi and Qandil, 2003).

Kajian ilmiah yang dipublikasikan, jintan hitam dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Medenica, 1995), anti inflamasi, analgesik dan antipiretik (Al Ghamdi, 2001).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Apakah pemberian jintan hitam dapat meningkatkan perbaikan gambaran histopatologi limpa ayam broiler yang diinfeksi virus Gumboro?
2. Apakah peningkatan konsentrasi jintan hitam dapat berpengaruh meningkatkan perbaikan gambaran histopatologi limpa ayam broiler yang diinfeksi virus Gumboro?

## 1.3 Landasan Teori

Penggunaan obat tradisional telah mengalami peningkatan, karena memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan obat-obatan modern, antara lain : efek samping relatif rendah, harga yang murah, pada satu tanaman memiliki lebih dari satu efek farmakologis serta lebih sesuai untuk penyakit metabolik dan degeneratif. Obat tradisional akan bermanfaat dan aman jika digunakan dengan



tepat baik takaran, waktu, dan cara penggunaannya, pemilihan bahan serta penyesuaian dengan indikasi tertentu (Pramono, 2006).

Jintan hitam memiliki komposisi yang sangat kompleks, ada 100 komponen yang terkandung di dalamnya beberapa di antaranya belum dapat diidentifikasi dan dipelajari. Kandungan minyak esensial dari jintan hitam memiliki khasiat sebagai anti mikrobial khususnya infeksi parasit cacing pada usus. Selain itu kandungan minyak volatilnya dapat digunakan sebagai anti leukemik. Kandungan yang ada dalam jintan hitam juga dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Khan, 2007).

Al Qadhy *and* Qadil (2003) menyatakan bahwa bahan aktif yang berperan pada jintan hitam yaitu nigelone. Berdasarkan penelitian laboratorium, konsumsi biji jintan hitam setiap hari menunjukkan efek positif pada ratio T-helper dengan T-supressor. Sehingga jintan hitam dapat menstimulasi sistem imun secara alami dengan menguatkan sistem imun dengan tambahan prosentase T-helper serta dapat meningkatkan sel fagosit. Sistem kerja jintan hitam dalam tubuh manusia adalah dengan memperbaiki, menjaga dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh manusia terhadap berbagai penyakit.

Gumboro adalah penyakit viral yang mengakibatkan terjadinya immunosupresif pada ayam yang terserang. Organ target dari virus Gumboro adalah Bursa fabrisius, selain bursa fabrisius organ limpa, timus dan tonsil sekalis juga menunjukkan perubahan patologi namun lebih ringan jika dibandingkan dengan yang terjadi pada bursa fabrisius (Lukert *and* Saif, 1997).



#### **1.4 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian jintan hitam pada ayam yang di infeksi dengan virus Gumboro, terhadap perubahan gambaran histopatologi limpa ayam.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Jintan hitam merupakan bahan alami yang belum banyak dimanfaatkan oleh peternak. Hasil penelitian ini di harapkan dapat memberikan informasi kepada peternak mengenai manfaat jintan hitam untuk mencegah penyakit Gumboro.

#### **1.6 Hipotesis Penelitian**

Hipotesis dari penelitian ini yaitu :

1. Pemberian jintan hitam pada ayam broiler yang diinfeksi virus Gumboro dapat meningkatkan perbaikan gambaran histopatologi sel limpa.
2. Peningkatan konsentrasi infusa jintan hitam dapat meningkatkan perbaikan gambaran histopatologi sel limpa ayam broiler yang di infeksi virus Gumboro.



**BAB 2**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Jintan Hitam (*Nigella Sativa*)

#### 2.1.1 Klasifikasi Jintan Hitam

Menurut Santa (2000), jintan hitam dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

- Kingdom : *Plantae*  
Sub kingdom : *Tracheobionta*  
Superdivisi : *Spermatophyta*  
Divisi : *Magnoliophyta*  
Sub divisi : *Angiospermae*  
Kelas : *Dicotyledonae*  
Ordo : *Ranales*  
Family : *Ranunculaceae*  
Genus : *Nigella*  
Spesies : *Nigella sativa*.



Gambar 2.1 Biji Jintan Hitam (Agrina, 2006).



### 2.1.2 Morfologi dan Ekologi

Jintan hitam merupakan tanaman lunak, bagian pangkal sering kali menyerupai kayu. Tinggi tanaman mencapai satu meter dan beruas - ruas. Pada ruas yang menyentuh tanah akan terbentuk akar. Batang muda berambut kasar dengan warna hijau pucat. Daun tanaman ini merupakan daun tunggal, tebal berdaging, letak berhadapan dan berangkai serta bentuknya bulat telur agak bundar (Wijayakusuma, 2000).

Bunga jintan hitam berwarna putih keunguan yang kemudian membentuk kapsul berisi biji berwarna putih. Biji yang berkhasiat adalah biji jintan tua berwarna kehitaman (Agrina, 2006).



Gambar 2.2 Tanaman Jintan Hitam (Agromedia, 2006).

### 2.1.3 Kandungan Kimia

Komposisi nutrisi jintan hitam yaitu berupa protein 21%, lemak 35% dan karbohidrat 35-38%. Jintan hitam mengandung monosakarida (molekul gula tunggal) dalam bentuk glukosa, rhamnosa, xylosa, arabinosa (Agrina, 2006). Biji



jintan hitam banyak mengandung senyawa kimia, bahan aktif yang berkhasiat antara lain kristal nigellon, arganin, asam lemak essensial, minyak eter, serta berbagai jenis vitamin dan mineral (Agromedia, 2006). Jintan hitam mengandung komponen *non-starch polysaccharide* yang merupakan sumber yang berguna untuk serat makanan (Agrina, 2006).

Jintan hitam kaya akan kandungan asam lemak, terutama asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh yang merupakan asam lemak esensial yang tidak dapat dibuat oleh tubuh sehingga harus didapatkan dari suplemen makanan. Jintan hitam juga mengandung lima belas asam amino yang membentuk protein termasuk di dalamnya delapan dari sembilan asam amino penting (Agromedia, 2006). Asam amino tersebut yaitu alanin, arginin, asparagin, asam glutamat, glisin, sistin, leusin, triptofan, lisin, metionin, phenilalanin dan tirosin. Asam amino penting tidak dapat disintesis di dalam tubuh kita dalam jumlah yang cukup dan karena itu perlu tambahan dari luar yang berfungsi menjaga berat badan (Agrina, 2006).

Analisis kimia lanjutan menemukan bahwa jintan hitam mengandung karotin yang diubah oleh hati menjadi vitamin A. Jintan hitam juga memiliki kandungan kalsium, zat besi, Natrium dan kalium. Meskipun dibutuhkan dalam jumlah yang sedikit oleh tubuh, elemen-elemen ini berfungsi sebagai kofaktor untuk fungsi bermacam enzim (Taylor, 2006).

## **2.2 Gumboro (Infectious Bursal Disease)**

### **2.2.1 Sejarah dan Penyebaran**

*Infectious Bursal Disease* (IBD) pertama kali dilaporkan oleh Cosgrove pada tahun 1962 di daerah Gumboro Delaware, USA. Sehubungan dengan kasus



pertama IBD yang ditemukan di daerah Gumboro maka penyakit ini disebut juga penyakit Gumboro (Tabbu, 2000). Kemudian Hicthner 1970 mengusulkan istilah *Infectious Bursal Disease* karena terdapatnya lesi-lesi patognomik pada bursa fabrisius (Fenner, 1995).

Saat ini penyakit Gumboro telah tersebar luas di dunia, tapi penyakit ini tidak ditemukan di New Zealand. Sejak pertengahan tahun 1991, penyakit ini telah mewabah di berbagai daerah di Indonesia, terutama daerah yang mempunyai populasi peternakan ayam tinggi serta skala usaha besar (Tabbu, 2000).

*Infectious Bursal Disease* mempunyai nilai ekonomis yang penting dalam industri perunggasan sehubungan dengan adanya mortalitas yang dapat mencapai 20% atau lebih pada ayam muda dan efek immunosupresif yang berkepanjangan jika ayam terinfeksi pada usia awal (van den Berg, 2000).

Efek immunosupresif yang ditimbulkan oleh IBD dapat mengakibatkan ayam lebih peka terhadap berbagai penyakit misalnya *Chronic Respiratory Disease* (CRD), *Colibacillosis*, *New castle Disease* (ND), *Koksidiosis*, *Marek's Disease* (MD), *Infectious Laryngotracheitis* (ILT), *Salmonellosis*, *Infectious Coryza* (Snot), *Dermatitis Gangrenosa*, *Inclusion Body Hepatitis* (IBH). Di samping itu, Gumboro juga akan menyebabkan respons imun yang sub optimal terhadap berbagai program vaksinasi, misalnya vaksinasi terhadap ND, IB, MD (Murtidjo, 1992).



## 2.2.2 Etiologi

### a. Morfologi

Virus penyebab Gumboro merupakan virus *double-stranded ribonucleid acid* (ds-RNA), tidak beramplop tergolong genus *Birnavirus* dari famili *Birnaviridae* dengan berat molekul  $2,5 \times 10$  kDa, kapsid virus berbentuk simetri icosahedral (T=B) yang disusun oleh 780 subunit protein VP2 dan 600 kopi protein VP3 dengan diameter sekitar 60 nm. Virus Gumboro merupakan prototipe dari virus *Pancreatic Necrosis* pada ikan (Leong *et al.*, 2000).

Virus Gumboro tidak mempunyai amplop, berbentuk icosahedral dan mempunyai diameter 60-70 nm. Virus tersebut sangat stabil pada berbagai kondisi fisik dan agen kimiawi namun resisten terhadap eter dan kloroform (van den Berg, 2000).

### b. Klasifikasi

Klasifikasi virus Gumboro hingga saat ini masih belum jelas (Suwarno, 2002). Dojos pada tahun 1995 mengusulkan Gumboro ke dalam famili *Birnaviridae*, genus *Abirnavirus* (Murphy *et al.*, 1999). Sedangkan beberapa peneliti memasukkannya kedalam genus *birnavirus* (Boot *et al.*, 1999; Leong *et al.*, 2000).

### c. Serotipe

Variasi antigenik isolat Gumboro dikenal dua serotipe yaitu serotipe 1 dan serotipe 2. Serotipe 1 adalah yang patogenik pada ayam sedang serotipe 2 adalah yang tidak patogenik pada ayam. Virus serotipe 1 lebih jauh dapat dikategorikan dalam 4 kelompok berdasarkan pathogenitasnya yaitu : Strain klasik, *Variant*, *Strain Attenuated* dan *Strain Very Virulent* (Lee 1992). IBDV Klasik telah



menginfeksi ayam sejak dulu dan juga telah tersebar luas. Strain Klasik mengakibatkan inflamasi bursa dan nekrosis pada lymphoid. Strain Varian muncul di US (Unaited States) pada 1983, strain ini berbeda dengan strain klasik secara antigenik dan menyebabkan atrophy yang luas dan berat pada bursa (Tacken *et al.*, 2000). Strain *Attenuated* didapatkan dengan mengadaptasikan strain klasik dan strain *Variant* pada fibroblas embrio ayam. Selama tidak patogenik strain ini dapat digunakan sebagai vaksin hidup (Lee, 1992).

Strain *Very Virulent* di tunjukkan dengan adanya gejala klinis yang berat dan angka mortalitas yang tinggi antara 60 – 100%. Strain ini dapat mengalahkan imunitas bawaan yang diperoleh dari maternal antibodi. Strain *Very Virulent* dan strain Klasik memiliki gejala yang mirip dan masa inkubasi yang sama yaitu 4 hari akan tetapi phase akut pada strain *Very Virulen* lebih berat dan dapat menyerang seluruh flock (Tang, 2004).

Kesamaan antigenik dari beberapa galur serotipe satu dan prototipe serotipe satu hanya sebesar 30%, sedangkan kesamaan antigenik antara dua galur serotipe 2 sebesar 33%. Hal ini menunjukkan bahwa serotipe 2 virus IBD mempunyai variasi antigenik yang mirip dengan serotipe 1. Vaksinasi terhadap virus Gumboro serotipe 2 tidak memberikan perlindungan terhadap infeksi serotipe 1. Uji silang terhadap serotipe 2 menggunakan vaksin Gumboro serotipe 1 tidak dapat dilakukan oleh karena tidak ada isolat virus serotipe 2 yang bersifat virulent pada ayam. Virus Gumboro serotipe 1 diisolasi dari ayam yang mempunyai virulensi yang bervariasi dari yang rendah sampai yang patogenik, yang dapat menyebabkan mortalitas 50% jika menginfeksi ayam yang peka. Virus Gumboro



serotipe 2 dapat diisolasi dari ayam dan kalkun tapi sejauh ini tidak menimbulkan penyakit pada kedua jenis unggas tersebut (Brown *et al.*, 1994).

### 2.2.3 Patogenitas

Perjalanan penyakit ini belum dapat diketahui dengan jelas, dengan menggunakan teknik fluoresens menjelaskan bahwa setelah virus masuk ke dalam tubuh ayam dapat diketahui bahwa pada empat jam pertama virus dapat ditemukan pada sel makrofag dan sel limfosit dari sekum dan satu jam berikutnya dapat ditemukan di sel-sel yang sama dalam jejunum dan duodenum. Kemudian virus meneruskan perjalanan menuju ke hati dan mengalami fagositosis oleh sel-sel kupfer, kemudian mengikuti aliran darah besar menuju ke alat tubuh yang lain termasuk bursa fabrisius (Tabbu, 2000).

Penyakit ini pertama kali merusak jaringan limfoid bursa fabrisius serta jaringan perifernya kemudian virus melakukan replikasi di sel-sel limfoid dan makrofag. Masa inkubasinya cukup pendek yaitu dua sampai tiga hari dan kerusakan paling berat terjadi pada hari keempat setelah infeksi dan selanjutnya diikuti kenaikan suhu tubuh serta adanya viremia (Triakoso, 1997).

### 2.2.4 Gejala klinis

Penyakit Gumboro mempunyai dua bentuk gejala klinis yaitu bentuk klasik atau bentuk klinik dan bentuk subklinik atau bentuk dini. Bentuk dini menyerang ayam berumur satu hari sampai tiga minggu sedangkan bentuk klinis menyerang ayam berumur 3-7 minggu. Pada bentuk klinik ayam yang terserang akan



mengalami depresi, nafsu makan sangat berkurang, diare encer mengandung asam urat dan terlihat gerakan mematak-matak daerah kloaka. Hal ini mungkin disebabkan adanya rasa nyeri akibat peradangan pada bursa fabrisius. Bentuk subklinisnya tidak diketahui karena gejala klinisnya tidak terlihat tetapi bisa dicurigai dari pertumbuhan, produktivitas dan angka kematian yang selalu ada dan cenderung meningkat selama pemeliharaan (Homer *et al.*, 1992).

Gejala klinis yang membantu diagnosa meliputi ginjal bengkak dan pucat, diare putih, kelemahan, dehidrasi, gemetar, kematian tiba-tiba, bursa fabrisius bengkak, setelah diseksi tampak adanya perdarahan pada otot dada dan paha. Angka kematian biasanya bervariasi tergantung virulensi virus, infeksi sekunder dan umur ayam saat terserang, tapi bila terjadi infeksi sekunder maka yang terlihat adalah gejala dari penyakit sekunder tersebut (Tabbu,2000).

Virus Gumboro hanya menimbulkan penyakit dan lesi tertentu pada ayam. Virus Gumboro di lapangan dapat menimbulkan derajat patogenisitas yang berbeda pada ayam. Semua bangsa ayam dapat terinfeksi oleh virus tersebut. Gambaran yang mencolok dari proses penyakit ini adalah morbiditas yang mendadak dan tinggi, kurva kematian yang tajam dan tingkat kesembuhan ayam dalam flock yang cepat (Balamurugan, 2006).

### **2.2.5 Patologi**

Lesi jaringan serta tingkat keparahan tergantung pada subtipe dan patogenitas virus (Regenmortel, 2003). Unggas yang terinfeksi akan mengalami dehidrasi dan muskulus pectoral warnanya menjadi lebih gelap. Haemoraghi



terjadi pada pahatan muskulus pectoralis dan juga dilaporkan terjadi pada mukosa proventriculus-ventriculus junction serta lapisan serosa dan pica pada bursa fabrisius (Snyder *et al.*, 1990). Terjadi peningkatan mukus di dalam usus dan ginjal mengalami perubahan karena terjadinya dehidrasi (Lukert *and* Saif, 1997).

Bursa fabrisius adalah organ target untuk replikasi virus Gumboro. Karakteristik perubahan pada bursa fabrisius ayam yang terinfeksi di observasi selama terjadinya infeksi dan dibedakan antara strain Klasik dan strain *Varian*. Pada ayam yang terinfeksi dengan strain klasik, bursa mengalami pembengkakan dan diikuti dengan adanya inflamasi yang kemudian akan terjadi atropi pada bursa. Pada infeksi oleh strain *Varian* tidak selalu terjadi inflamasi tapi sering mengakibatkan terjadinya atropi pada bursa fabrisius (Hassan, 1996; Kumar *et al.*, 2004; Regenmortel, 2003).

Haemorhagi yang luas biasanya terlihat hampir di seluruh bursa. Terjadi perubahan patologi pada limpa dan timus meskipun tidak separah bursa. Limpa mengalami sedikit pembesaran dan biasanya terdapat foci - foci tidak beraturan pada permukaannya. Lesi pada organ ini didapatkan pada saat yang sama pada saat terjadi perubahan pada bursa fabrisius (Ikuta *et al.*, 2001).

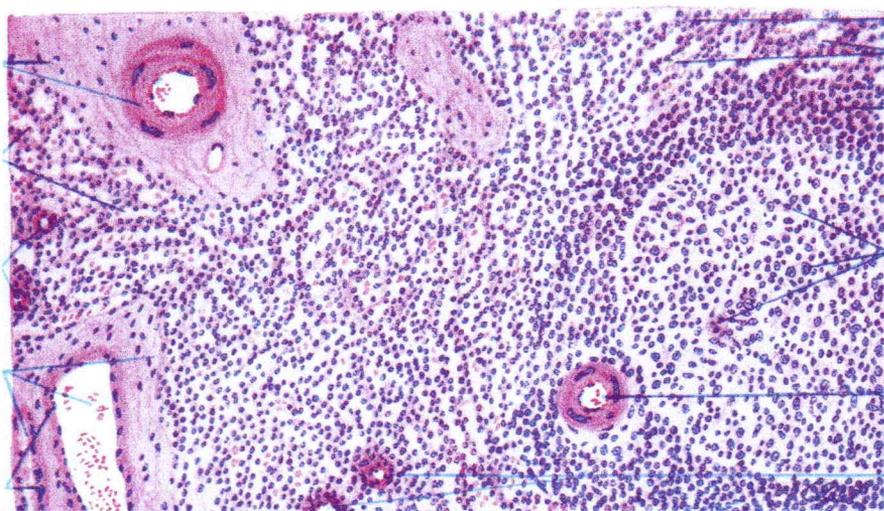
### 2.2.6 Histopatologi

Lesi histopathologi terjadi di bursa, limpa, thymus, glandula harderian dan cecal tonsil (Lukert *and* Saif, 1997). Menurut Cheville (1967) pada hari ke-3 atau ke-4 semua lymfoid telah terinfeksi. Pada saat ini berat bursa fabrisius meningkat



karena terjadi hiperplasia sel retikuloendotelial, hyperemia dan akumulasi heterophils (Ahad, 2002).

Limpa menunjukkan adanya hiperplasia dari sel reticuloendothelial selama stadium awal infeksi. Nekrosis lymphoid terlihat terjadi pada lapisan lymphoid peri arteriolar pada hari ke-3 setelah infeksi. Limpa dapat sedikit pulih tanpa kerusakan berarti pada lapisan terminal folikel ( Okoye *and* Uzoukwu, 1990).



Gambar 2.3 : Gambar Histologi Sel Limpa Normal Dengan Pewarnaan HE, Pembesaran 250x (Dellman dan Esther 1989).

### 2.2.7 Pencegahan dan Pengobatan

Ayam yang terserang Gumboro tidak dapat diobati dengan antibiotik atau antibakteri tertentu. Pengobatan yang dilakukan pada ayam yang terserang virus Gumboro hanya ditujukan untuk mengatasi infeksi sekunder oleh karena adanya immunosupresif dari penyakit tersebut. Jenis antibiotik atau antibakteri yang diberikan disesuaikan dengan jenis bakteri yang di temukan pada pemeriksaan patologik atau mikrobiologi. Pengobatan suportif pada ayam yang terserang Gumboro sangat diperlukan, misalnya dengan pemberian multivitamin dan



elektrolit oleh karena ayam yang terserang penyakit tersebut akan mengalami penurunan atau kehilangan nafsu makan atau minum, diare dan dehidrasi. Kualitas pakan juga perlu dipertahankan atau diperbaiki agar gangguan pertumbuhan akibat penurunan nafsu makan dapat diperbaiki. Sanitasi dan desinfeksi perlu ditingkatkan untuk mencegah meluasnya infeksi pada kandang atau flock lainnya. Oleh karena Gumboro bersifat immunosupresif maka vaksinasi ulang terhadap penyakit-penyakit lain juga diperketat sehubungan respons kekebalan yang suboptimal akibat efek immunosupresif Gumboro (Tabbu, 2000).

Tindakan pencegahan dan kontrol yang efektif harus meliputi program vaksinasi, biosecurity lingkungan kandang. Walaupun pada ayam muda mempunyai antibodi maternal dari induk tetapi bila antibodi tersebut tidak mampu menghadapi serangan virus Gumboro yang bersifat subklinis maka program vaksinasi perlu dilakukan dengan memperhatikan waktu pemberian. Tindakan biosecurity adalah dengan sanitasi, desinfeksi dan kontrol trafik (manusia, alat dan kendaraan) (Butcher *and* Miles, 2005).

## **2.3 Limpa**

### **2.3.1 Morfologi dan Letak**

Limpa terletak disebelah kanan atas, tepatnya diantara proventikulus dan ventrikulus. Limpa berbentuk lonjong berwarna merah coklat kenyal, ukurannya bervariasi tergantung dari umur ayam (Elmore, 2006).

Limpa dikelilingi oleh kapsul jaringan ikat, dari kapsul ini tumbuh trabekula-trabekula ke dalam. Bagian dalam (pulpa) terdiri dari dua macam jaringan yaitu pulpa merah dan pulpa putih. Pulpa putih berisi limfonoduli dan



merupakan tempat utama produksi limfosit dalam limpa. Folikel-folikel kecambah (germinal) mengandung limfosit B sehingga disebut sebagai jaringan ekuivalen bursa, sedangkan limfosit-limfosit lain yang mengelilingi folikel dan selaput periarteriolar pulpa putih mengandung limfosit T sehingga disebut sebagai daerah tergantung thymus (*thymic dependent region*). Pulpa merah mengelilingi pulpa putih dan berisi sejumlah besar eritrosit sesuai dengan fungsi filtrasinya (Bellanti, 1993).

### 2.3.2 Fungsi

Limpa merupakan organ hemopoetik yang penting. Limpa memiliki fungsi untuk membentuk limfosit yang dibentuk di nodulus pulpa putih, memfagosit eritrosit, menyaring darah dan menghasilkan zat anti (Lesson *et al.*, 1995).

Fungsi utama limpa adalah menyimpan darah dalam jumlah yang cukup besar yang tidak ikut dalam peredaran darah. Selain itu, limpa pada unggas berfungsi sebagai tempat terjadinya fagositosis bagi eritrosit yang sudah tua dan tempat terjadinya pembentukan sel limfosit (Altman *et al.*, 1997). Fungsi fagositosis pada limpa dilakukan dengan merusak sel darah merah yang sudah tua. Zat besi yang dihasilkan dari proses fagositosis tersebut akan digunakan kembali dalam pembentukan hemoglobin baru. Sel-sel monosit yang terdapat pada pulpa putih, zona marginal dan pulpa merah akan diubah menjadi makrofag. Makrofag ini menyebabkan limpa memiliki kemampuan fagositosis yang sangat besar. Organ limpa dapat mengeluarkan suatu faktor humoral yang menyebabkan



sumsum tulang menghasilkan dan melepaskan monosit sehingga dapat menambah kecepatan konversi monosit menjadi makrofag (Turner, 1994).

Limpa juga berfungsi sebagai penghasil antibodi yang dilakukan oleh sel limfosit B setelah mendapat tantangan antigen. Bahan atau mikroorganisme asing yang beredar dalam darah merangsang respon imun yang kuat dalam limpa. Bahan atau mikroorganisme tersebut disebut sebagai antigen. Antigen yang masuk ke dalam limpa akan terperangkap oleh jalinan retikuler pulpa putih dan pulpa merah. Hal tersebut memungkinkan antigen dari darah dan membiarkan sel T dan sel B berinteraksi dan menghasilkan antibodi (Cesta, 2006).

#### **2.4 Degenerasi**

Dalam patologi klasik, perubahan morfologi sebagai akibat jejas nonlethal sel dinamakan degenerasi, tetapi sekarang lebih sederhana disebut dengan jejas reversibel. Dua gambaran dapat dikenali di bawah mikroskop cahaya : pembengkakan sel dan perubahan berlemak. Pembengkakan sel tampak bila sel tidak mampu mempertahankan homeostasis ion dan cairan. Perubahan berlemak, pada beberapa keadaan dapat sebagai indikator lain untuk jejas reversibel sel. Ini merupakan reaksi kurang umum. Pembengkakan adalah manifestasi pertama pada hampir semua bentuk jejas pada sel sebagai pergeseran air ekstraseluler ke dalam sel. Bila air ikut berlanjut tertimbun dalam sel, vakuola kecil jernih tampak dalam sitoplasma yang diduga merupakan retikulum endoplasma yang melebar dan menonjol keluar atau segmennya keluar. Gambaran jejas non lethal ini kadang-kadang disebut perubahan hidropi (Robin *and* Khumar, 1995).



Degenerasi merupakan kerusakan yang terjadi pada sitoplasma tetapi tidak sampai merusak inti sel sehingga kerusakan tersebut dapat pulih kembali menjadi normal bila penyebab kerusakan dihilangkan (Price *and* Wilson, 1984).



**BAB 3**  
**MATERI DAN METODE PENELITIAN**

BAB 3

MATERI DAN METODE PENELITIAN

## **BAB 3**

### **MATERI DAN METODE**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Pemeliharaan ayam dilakukan di kandang Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Pembuatan infusa dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Pembuatan serta pemeriksaan histopatologi dilakukan di laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penelitian berlangsung pada bulan Maret sampai Mei 2007.

#### **3.2 Bahan dan Materi Penelitian**

Dalam penelitian ini menggunakan lima puluh ekor DOC Broiler dari galur Cp 707. Ayam dipelihara dengan model litter menggunakan sekam padi maupun limbah pemotongan kayu. Ukuran kandang tiap perlakuan 1 x 1 x 0,5m. Makanan yang diberikan adalah pakan produksi Comfeed.

Alat dan bahan yang digunakan adalah mikroskop, kaca obyek, kaca penutup, pinset, skalpel, pot plastik, spuit, timbangan emas. Sedangkan bahan yang digunakan adalah limpa ayam percobaan, jintan hitam, vaksin Gumboro dengan label Gumboriffa®, virus Gumboro isolat Tasik yang diperoleh dari laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.



### **3.3 Metode Penelitian**

#### **3.3.1 Persiapan Penelitian**

##### **a. Hewan coba**

Pada penelitian ini hewan coba yang digunakan adalah ayam broiler usia dua minggu sebanyak lima puluh ekor. Ayam tersebut diadaptasikan selama dua minggu sebelum dilakukan perlakuan. Minggu pertama di adaptasi dengan lingkungan kandang. Untuk minggu kedua, diadaptasikan dengan proses pencekakan cairan dengan menggunakan spuit.

Selanjutnya dari lima puluh ekor ayam tersebut dilakukan pembagian secara acak untuk menentukan kelompok perlakuan 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor ayam.

##### **b. Pembuatan infusa jintan hitam**

Pembuatan infusa dilakukan di Laboratorium Bahan Alam, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Tahap awal pembuatan infusa yaitu biji jintan hitam dicuci terlebih dahulu kemudian ditiriskan lalu dikeringkan pada suhu ruang atau dengan bantuan kipas angin. Jintan hitam yang sudah kering ditumbuk hingga halus seperti bubuk.

Pembuatan infusa jintan hitam 10% dengan menggunakan bubuk jintan hitam sepuluh gram, kemudian ditambah aquades sampai dengan 100 ml lalu dipanaskan secara tidak langsung pada penangas air dengan suhu 90<sup>0</sup> C, suhu dipertahankan konstan selama lima belas menit kemudian diangkat dan didinginkan. Setelah dingin bahan disaring dan ditampung dalam botol berwarna



gelap. Apabila belum didapatkan volume 100 ml maka ditambahkan air hangat sampai didapatkan volume 100 ml.

Untuk mendapatkan infusa jintan hitam 20%, 40%, 80% masing-masing diperlukan 20 gram, 40 gram, 80 gram jintan hitam kemudian dilakukan perlakuan yang sama seperti pembuatan infusa 10%.

### **3.3.2 Tahap Perlakuan**

#### **a. Jumlah perlakuan pada hewan coba**

Hewan coba yang digunakan sejumlah lima puluh ekor ayam yang terbagi atas sepuluh perlakuan. Setiap perlakuan terdiri atas lima ekor ayam.

P1 : Hewan coba tidak diberikan infusa jintan hitam dan tidak divaksin Gumboro (kontrol negatif).

P2 : Hewan coba tidak diberikan infusa jintan hitam dan di vaksin Gumboro (kontrol positif).

P3 : Hewan coba diberikan infusa jintan hitam 10% dan tidak divaksin Gumboro.

P4 : Hewan coba diberikan infusa jintan hitam 10% dan divaksin Gumboro.

P5 : Hewan coba diberikan infusa jintan hitam 20% dan tidak divaksin Gumboro.

P6 : Hewan coba diberikan infusa jintan hitam 20% dan divaksin Gumboro.

P7 : Hewan coba diberikan infusa jintan hitam 40% dan tidak divaksin Gumboro.

P8 : Hewan coba diberikan infusa jintan hitam 40% dan divaksin Gumboro.

P9 : Hewan coba diberikan infusa jintan hitam 80% dan tidak divaksin Gumboro.

P10 : Hewan coba diberikan infusa jintan hitam 80% dan divaksin Gumboro.



## **b. Metode perlakuan**

Perlakuan yang diberikan yaitu cairan infusa jintan hitam di berikan secara per oral dua kali dalam satu hari masing-masing satu mililiter. Pemberian infusa dilakukan pada pukul 10.00 dan pada pukul 22.00 jadi satu ekor ayam setiap hari mendapatkan dua mililiter infusa jintan hitam. Pemberian infusa ini dilakukan selama dua minggu yaitu saat ayam berumur empat minggu sampai dengan ayam berumur enam minggu.

Pemberian vaksin dilakukan secara peroral pada masing-masing ayam. Vaksin diberikan pada awal kedatangan ayam dan dilakukan booster sebanyak dua kali sampai ayam berumur enam minggu. Infeksi hewan coba dilakukan saat berumur lima minggu dan diberikan melalui oral masing-masing sebanyak 0.2 ml dengan titer virus  $10^3$  TCID<sub>50</sub>/ml dan swap anal.

### **3.4 Pengambilan Sampel.**

Pengambilan organ limpa untuk preparat histopatologi dilakukan pada akhir penelitian. Ayam dipotong, kemudian dibedah dan dilakukan pengambilan limpa ayam. Limpa ayam dicuci dengan NaCl fisiologis, selanjutnya dimasukkan ke dalam pot plastik yang sudah diisi formalin 10% .

### **3.5 Pemeriksaan Preparat Histopatologi.**

Pengamatan secara mikroskopis terhadap perubahan preparat limpa pada penelitian ini menggunakan mikroskop cahaya, mula-mula digunakan perbesaran



100 kali kemudian dilanjutkan dengan perbesaran 400 kali. Pengamatan dilakukan pada setiap preparat dengan lima lapang pandang yang berbeda.

Pada pengamatan perubahan histopatologi limpa ada lima peringkat skor perubahan sebagai berikut : Skor 0 bila tidak terdapat kerusakan, sel-sel limpa dalam keadaan normal. Skor 1 bila terdapat kerusakan antara 0-25% dari lapang pandang. Skor 2 bila terdapat kerusakan antara 25-50% dari lapang pandang. Skor 3 bila terdapat kerusakan antara 50-75% dari lapang pandang. Skor 4 bila terdapat kerusakan lebih dari 75% dari lapang pandang.

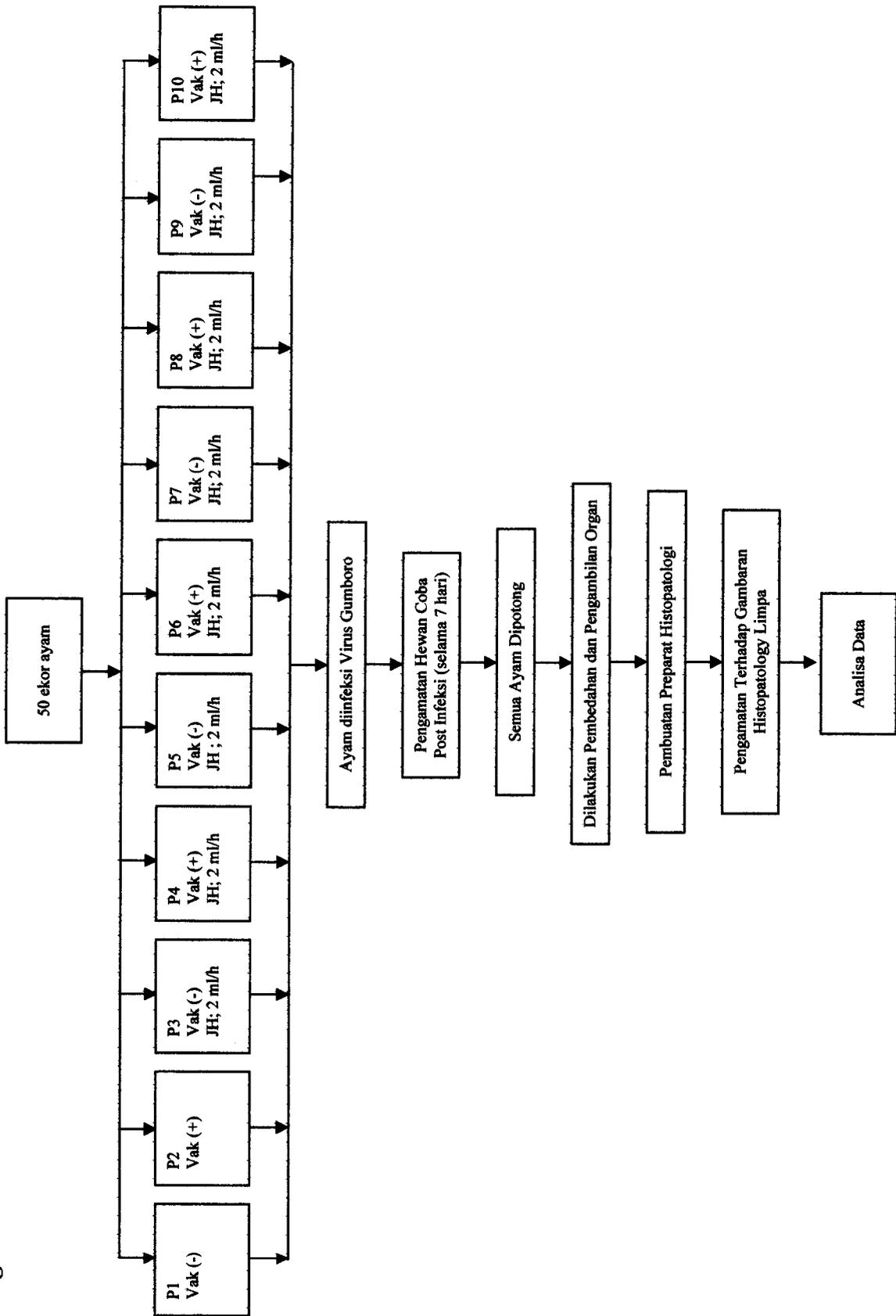
Hasil skor merupakan penjumlahan skor kelima lapang pandang kemudian dibagi lima. Sebagaimana tercantum dalam tabel berikut.

**Tabel 3.1 Skor Perubahan Histopatologi Limpa**

<b>Tingkat Perubahan Gambaran Histopatologis Limpa</b>	<b>Skor</b>
<b>Normal (Bila tidak ada kerusakan)</b>	<b>0</b>
<b>Degenerasi ringan (Bila kerusakan antara 0-25%)</b>	<b>1</b>
<b>Degenerasi sedang (Bila kerusakan antara 25-50%)</b>	<b>2</b>
<b>Degenerasi berat (Bila kerusakan antara 50-75%)</b>	<b>3</b>
<b>Degenerasi sangat berat (Bila kerusakan lebih dari 75%)</b>	<b>4</b>



3.6 Diagram Alur Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Operasional



### **3.7 Rancangan Penelitian.**

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan sepuluh perlakuan dan lima ulangan.

### **3.8 Peubah yang Diamati atau Diukur.**

Peubah atau variabel yang diamati pada penelitian adalah adanya perubahan histopathologis pada limpa ayam yang diberi infusa jintan hitam tanpa vaksin dan pada limpa ayam yang diberi infusa jintan hitam dan di vaksin.

### **3.9 Analisis Data.**

Data yang diperoleh dianalisis dengan Uji Kruskal-Wallis. Bila terdapat perbedaan yang nyata di antara kelompok perlakuan maka dilanjutkan dengan Uji Perbandingan Berganda (Uji Z) dengan taraf nyata 5% (Hasan, 2006).



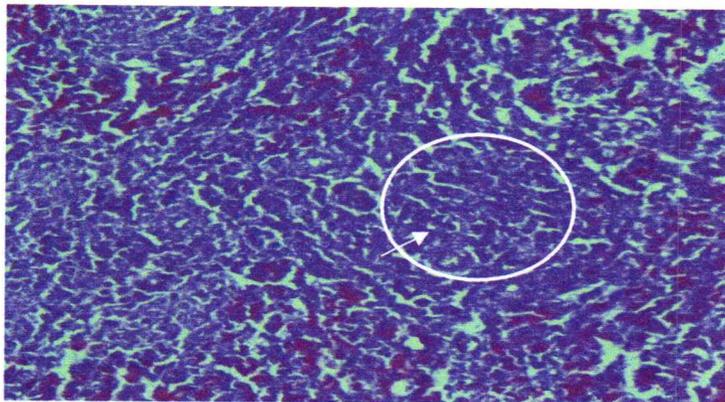
**BAB 4**  
**HASIL PENELITIAN**



## BAB 4 HASIL PENELITIAN

Hasil pemeriksaan preparat histopatologi limpa ayam yang diwarnai dengan pewarnaan HE dan diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x dan 400x untuk melihat terjadinya perubahan. Pada pemeriksaan tersebut terdapat perubahan gambaran histopatologi limpa yaitu degenerasi bengkak keruh, degenerasi hidropi disertai kematian sel pada jaringan limpa.

Perlakuan I (P1) ayam tidak diberikan infusa jintan hitam dan tidak divaksin Gumboro, menunjukkan sel-sel limpa mengalami degenerasi berat.



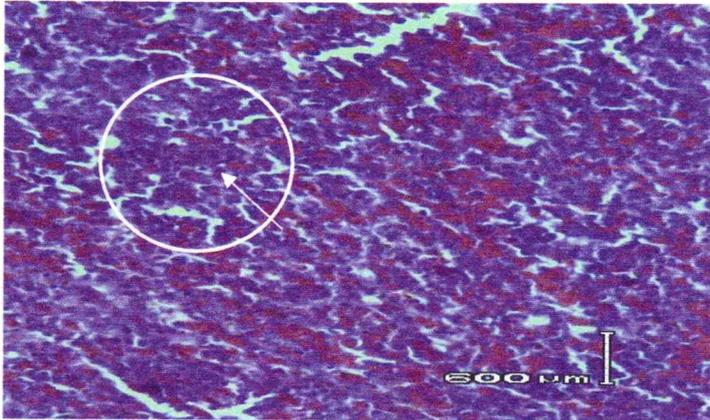
Gambar 4.1 Gambaran mikroskopis sel limpa ayam pada Kelompok P1 dengan pewarnaan HE perbesaran 400x. Sel limpa mengalami degenerasi berat.

Perlakuan II (P2) ayam tidak diberikan infusa jintan hitam dan di vaksin Gumboro, menunjukkan sel-sel limpa mengalami degenerasi ringan.

Perlakuan III (P3) ayam diberikan infusa jintan hitam 10% dan tidak di vaksin Gumboro, menunjukkan sel-sel limpa mengalami degenerasi sedang.

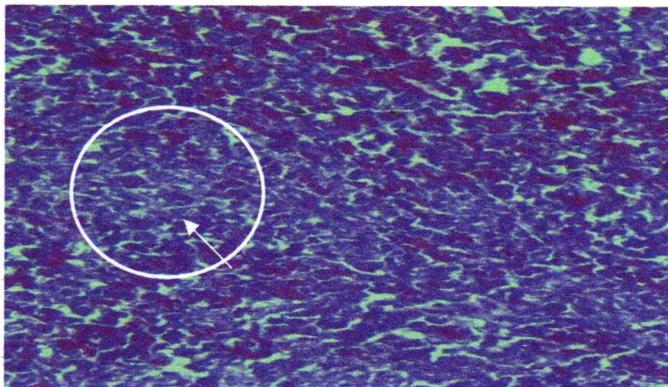


Perlakuan IV (P4) ayam diberikan infusa jintan hitam 10% dan divaksin Gumboro, menunjukkan sel-sel limpa mengalami degenerasi ringan.



Gambar 4.2 Gambaran mikroskopis sel limpa pada kelompok perlakuan P4 dengan pewarnaan HE perbesaran 400x. Sel limpa mengalami degenerasi ringan.

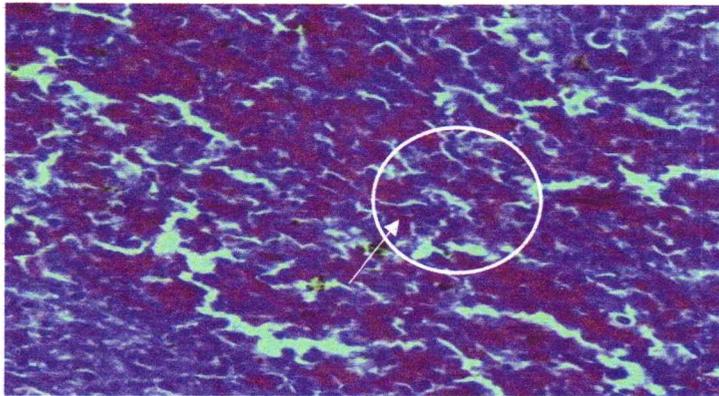
Perlakuan V (P5) ayam diberikan infusa jintan hitam 20% dan tidak divaksin Gumboro, menunjukkan sel-sel limpa mengalami degenerasi berat.



Gambar 4.2 Gambaran mikroskopis sel limpa ayam pada kelompok P5 dengan pewarnaan HE perbesaran 400x. Sel limpa mengalami degenerasi berat.

Perlakuan VI (P6) ayam diberikan infusa jintan hitam 20% dan divaksin Gumboro, menunjukkan sel-sel limpa mengalami degenerasi sedang.





Gambar 4.3 Gambaran mikroskopis sel limpa ayam pada kelompok P6 dengan pewarnaan HE perbesaran 400x. Sel limpa mengalami degenerasi sedang.

Perlakuan VII (P7) ayam diberikan infusa jintan hitam 40% dan tidak divaksin Gumboro, menunjukkan sel-sel limpa mengalami degenerasi berat.

Perlakuan VIII (P8) ayam diberikan infusa jintan hitam 40% dan divaksin Gumboro, menunjukkan sel-sel limpa mengalami degenerasi sedang.

Perlakuan IX (P9) ayam diberikan infusa jintan hitam 80% dan tidak divaksin Gumboro, menunjukkan sel-sel limpa mengalami degenerasi berat.

Perlakuan X (P10) ayam diberikan infusa jintan hitam 80% dan divaksin Gumboro, menunjukkan sel-sel limpa mengalami degenerasi berat.

**Tabel 4.1 Rerata Skor dan Derajat Deviasi Perubahan Gambaran Histopatologi Limpa Ayam dari Seluruh Perlakuan :**

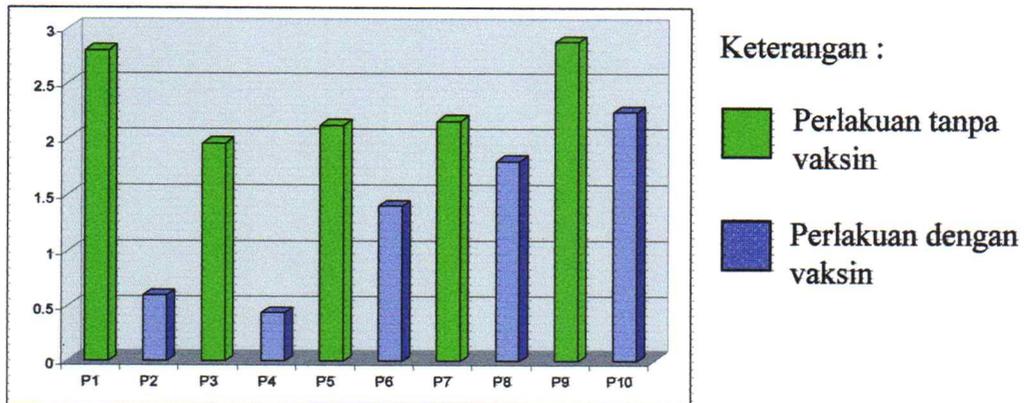
Perlakuan	Rata-rata dan Simpangan Baku
P1	2,8±0,61 <sup>a</sup>
P2	0,6±0,31 <sup>ef</sup>
P3	1,96±0,47 <sup>bcd</sup>
P4	0,44±0,26 <sup>f</sup>
P5	2,12±0,63 <sup>abcd</sup>
P6	1,4±0,37 <sup>de</sup>
P7	2,16±0,77 <sup>abc</sup>
P8	1,8±0,28 <sup>cde</sup>
P9	2,88±0,54 <sup>a</sup>
P10	2,24±0,43 <sup>abc</sup>

Keterangan : Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan ( $p < 0,05$ )



Berdasar data yang diperoleh kemudian diolah dengan penilaian peringkat (rank). Kemudian dianalisis dengan uji statistik non parametrik menggunakan Uji Kruskal-Wallis dan diperoleh hasil  $p < 0,05$  yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan dan dilanjutkan dengan uji pembandingan berganda (Uji Z 5%).

Setelah dilakukan analisis dengan Uji Z 5%, maka diperoleh hasil bahwa kelompok P1 tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P3, P5, P7, P9, P10 dan kelompok P2 tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P4.



Gambar 4.4 Diagram batang tingkat kerusakan gambaran histopatologi limpa.



**BAB 5**  
**PEMBAHASAN**



## BAB 5 PEMBAHASAN

Pengamatan secara mikroskopis melalui lima lapang pandang berbeda pada tiap preparat histopatologi limpa ayam menunjukkan hasil perbedaan tingkat perubahan di antara kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol negatif (P1) menunjukkan bahwa terjadi perubahan degenerasi lebih berat dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (P2).

Degenerasi ditimbulkan oleh adanya akumulasi dari bahan toksik dan zat metabolit yang lain. Zat metabolit dan bahan toksik dapat menyebabkan gangguan pada organel mitokondria tempat respirasi sel yang menghasilkan energi Adenosin Tri Posphat (ATP). ATP dibutuhkan agar pompa Natrium ( $\text{Na}^+$ ) berjalan lancar. Bila ATP tidak dihasilkan maka  $\text{Na}^+$  tidak terpompa keluar dari sel,  $\text{Na}^+$  bersifat menarik air sehingga air terakumulasi ke dalam sel akibatnya sel membengkak dan sitoplasma nampak keruh (Rippey, 1994).

Virus Gumboro menyerang organ limfoid dan menyebabkan kerusakan pada sel B dalam bursa fabrisius dan juga dalam thimus, limpa dan cecal tonsil. Organ limpa menunjukkan perubahan yang lebih ringan dibandingkan dengan bursa fabrisius. Kerusakan jaringan dapat dihubungkan dengan kerusakan sel B, meliputi folikel terminal dan bungkus perivaskuler dari limpa. Jika ayam dapat bertahan maka regenerasi yang cepat akan dijumpai pada limpa. Pada ayam yang terserang IBD secara mikroskopis limpa akan menunjukkan hiperplasi sel-sel retikulo endotelial di sekitar pembuluh darah pada stadium awal infeksi virus



IBD. Pada hari ke-3 pasca infeksi akan ditemukan nekrosis limfosit di daerah terminal folikel dan sekeliling arteri (Okoye *and* Uzoukwu, 1990).

Perubahan tingkat regeneratif pada P1 disebabkan karena ayam tidak diberikan vaksin IBD. Tidak diberikannya vaksinasi IBD mengakibatkan kekebalan ayam tidak mampu melawan infeksi virus IBD. Sistem kekebalan ayam yang dimiliki ayam secara bawaan atau yang biasa dikenal dengan maternal antibodi tidak mampu untuk melawan infeksi virus IBD. Antibodi yang diturunkan dari induk pada anak ayam melalui kuning telur dapat melindungi anak ayam terhadap infeksi awal dengan virus IBD, dan selanjutnya terhadap efek immunosupresif dari virus tersebut. Waktu paruh dari antibodi asal induk terhadap virus IBD berkisar 3-5 hari (Tabbu, 2000).

Tidak adanya antibodi yang melindungi ayam mengakibatkan virus IBD menginfeksi dan merusak jaringan dimana virus IBD melakukan replikasi (Homer, 1992).

Perubahan histopatologi pada kontrol positif (P2) lebih ringan dari P1, kelompok P2 merupakan kelompok ayam yang diberikan vaksinasi terhadap virus IBD namun tidak diberikan infusa jantan hitam. Vaksinasi ini memberikan kekebalan terhadap virus IBD. Pemberian vaksin pada ayam dimaksudkan untuk menimbulkan kekebalan spesifik terhadap suatu penyakit (Suwarno, 2002).

Antibodi atau kekebalan yang timbul akibat vaksinasi mampu memberikan kekebalan pada ayam terhadap infeksi virus IBD, hal ini tampak dengan degenerasi yang lebih ringan pada ayam yang mendapatkan vaksinasi IBD dibandingkan dengan kelompok ayam yang tidak mendapatkan vaksinasi.



Antiboditerbentuk apabila antigen memasuki organ limpa akan dijerat oleh limfosit. Penjeratan antigen oleh limfosit disebabkan adanya interaksi antigen dengan makrofag yang menyebabkan keluarnya monokin yang mempengaruhi pergerakan limfosit. Makrofag yang terikat antigen akan mengeluarkan interleukin-1 untuk menggiatkan sel-sel limfosit T helper. Kemudian sel limfosit T helper akan berproliferasi dan melepaskan interleukin-2 (IL-2) untuk meningkatkan tanggap sel B. Pada akhirnya sel B yang tanggap membesar dan membagi diri berulang kali menjadi dua populasi sel. Populasi sel yang mampu menghasilkan antibodi disebut sel plasma, sel yang morfologinya tidak berubah berfungsi sebagai sel memori (Tizzard, 1988).

Perubahan histopatologi pada kelompok P4 lebih ringan dari kelompok P2, bahkan P4 mengalami kerusakan paling ringan diantara semua kelompok perlakuan, hal ini terjadi kemungkinan karena perlakuan P4 diberikan vaksin dan infusa jintan hitam 10%.

Jintan hitam bisa diberikan sebagai herbal yang dapat meningkatkan kekebalan terhadap suatu penyakit (Al Qadhy and Qandil, 2003). Salem (2005) dalam penelitiannya menjelaskan minyak dan bahan aktif jintan hitam menunjukkan adanya peningkatan bahan imunomodulator, meningkatkan sel T dan sel natural killer (NK) pada respon imun pada manusia.

Pada kelompok P6, P8, P10 mengalami kerusakan limpa berat meski telah diberikan vaksinasi dan jintan hitam. Limpa ayam dalam pada kelompok perlakuan ini mengalami degenerasi yang berat, hal ini kemungkinan karena diberikannya infusa jintan hitam dalam konsentrasi tinggi.



Berdasar penelitian Islam *et al.*, (2003) dijelaskan bahwa jintan hitam memiliki efek sitotoksik immunosupresi yang potensial. Obat yang mempunyai efek sitotoksik memiliki sifat immunosupresi karena kemampuannya untuk mencegah replikasi sel peka-antigen dalam menanggapi antigen (Tizzard, 1987). Efek sitotoksik 50% pada jintan hitam telah diteliti pada dosis pemakaian 1,5 mg, 3 mg dengan hasil menekan aktifitas limfosit pada manusia (Salomi *et al.*, 1992).

Mekanisme immunosupresi jintan hitam secara imunologis belum jelas. Sulit untuk menggambarkan mekanisme yang tepat. Mekanisme kerja yang dimungkinkan yaitu karena adanya klon limfoid yang autoreaktif akibat dari pemberian infusa jintan hitam pada konsentrasi tinggi. Pada mekanisme yang kurang spesifik, pengaruh anti-inflamatoris *thymoquinone* dapat mengendalikan reaktivitas imun abnormal sampai rangsangan immunosupresi ditiadakan atau sampai suatu keadaan toleransi terjadi secara alamiah (Bellanti, 1993).

Pemberian jintan hitam saja tidak begitu berpengaruh pada terjadinya kekebalan terhadap virus IBD. Perubahan regeneratif yang relatif berat terjadi pada limpa kelompok ayam yang hanya diberikan perlakuan jintan hitam tanpa vaksinasi yaitu P3, P5, P7 dan P9. Limpa ayam pada kelompok ini mengalami degenerasi yang berat. Jintan hitam mampu meningkatkan kekebalan tubuh individu yang telah mendapatkan kekebalan dan tubuh dalam keadaan sehat (Taylor, 2006).



**BAB 6**  
**KESIMPULAN DAN SARAN**



## **BAB 6**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil maka dapat dikemukakan beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemberian infusa jintan hitam dapat memperbaiki gambaran histopatologi limpa ayam yang di infeksi virus Gumboro.
2. Peningkatan konsentrasi infusa jintan hitam tidak dapat memperbaiki gambaran histopatologi limpa ayam.

#### **6.2. Saran**

Berdasarkan hasil penelitian yang di peroleh, peneliti menyarankan:

1. Bagi peternak ayam untuk menggunakan infusa jintan hitam dengan konsentrasi 10% untuk ternaknya yang dicampurkan pada minuman ternak.
2. Dilakukan penelitian lanjutan dengan konsentrasi jintan hitam yang lebih kecil.
3. Dilakukan penelitian pembandingan dengan menggunakan minyak jintan hitam atau mengisolasi bahan aktif jintan hitam.



## RINGKASAN

*Infectious bursal disease* (IBD) adalah penyakit yang disebabkan oleh Birnavirus yang menyerang ayam muda. Penyakit ini menyebabkan kerusakan pada sel B dalam bursa fabrisius dan juga dalam thimus, limpa dan cecal tonsil. Aktivitas virus IBD akan menyebabkan turunnya daya tahan tubuh atau menyebabkan efek immunosupresif dan mengakibatkan angka kematian yang tinggi bila terjadi infeksi sekunder.

Jintan hitam merupakan tanaman herbal yang telah lama digunakan untuk mengobati berbagai penyakit pada manusia di Timur Tengah. Jintan hitam dapat meningkatkan kekebalan tubuh karena mampu menekan sel Ts sehingga dapat menyebabkan antibodi meningkat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian infusa jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap perubahan gambaran histopatologi limpa ayam yang diinfeksi virus IBD. Memberikan informasi tentang manfaat jintan hitam untuk mencegah penyakit IBD.

Pada penelitian ini digunakan ayam broiler sebanyak lima puluh ekor yang dibagi menjadi sepuluh perlakuan yang terdiri atas lima kelompok tanpa vaksin dan lima kelompok dengan vaksin. Perlakuan yang divaksin adalah II, IV, VI, VIII, X. Perlakuan I-II tidak diberi infusa jintan hitam. Perlakuan III-IV diberi infusa jintan hitam 10%, perlakuan V-VI diberi infusa jintan hitam sebanyak 20%, perlakuan VII-VIII diberi infusa jintan hitam sebanyak 40% dan perlakuan IX-X diberi infusa jintan hitam sebanyak 80%. Cairan infusa jintan hitam diberikan



pada ayam broiler secara peroral dengan menggunakan spuit sebanyak satu mililiter dua kali sehari selama dua minggu.

Pada akhir penelitian ayam dipotong untuk pengambilan organ limpa, dilanjutkan dengan pembuatan preparat histopatologi limpa. Kemudian dilakukan pengamatan secara mikroskopis dan dilakukan penilaian atau skoring terhadap data tentang perubahan yang terjadi pada gambaran histopatologi sel limpa melalui lima lapang pandang yang berbeda.

Analisa data di gunakan uji Kruskal Wallis dan didapatkan perbedaan yang nyata antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji Z 5% dengan hasil kelompok P1 tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P3, P5, P7, P9, P10 dan kelompok P2 tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P4.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian infusa jintan hitam dapat memperbaiki gambaran histopatologi limpa ayam yang di infeksi virus Gumboro dan peningkatan konsentrasi infusa jintan hitam tidak dapat memperbaiki gambaran histopatologi limpa ayam.

Berdasar penelitian ini bagi peternak ayam untuk menggunakan infusa jintan hitam dengan konsentrasi 10% untuk ternaknya yang dicampurkan pada minuman ternak, selain itu perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan konsentrasi yang lebih kecil atau penelitian pembanding dengan menggunakan minyak jintan hitam atau mengisolasi bahan aktif jintan hitam.



## DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

**DAFTAR PUSTAKA**

- Ahad, Abdul. 2002. Isolation and Pathogenic Characterizations of IBDV Isolate from an Outbreak of IBD in Rural Poultry Unit in Bangladesh [Thesis]. The Royal Veterinary and Agricultural University. Bangladesh
- Al Gamdi, M. S., 2001. The Anti Inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*. *J Ethopharmacol* 76: 45-48.
- Altman, B.R., S.L. Clubb., G.M. Dorrestein and K. Quesenbery. 1997. *Avian Medicine and Surgery*. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- Al Qadhy and U. Qandil. 2003. The Black Seed (*Nigella sativa*) and Immunity Its Effect on Human T Cell Subset. *Fed Proc* 2003, 46, 1222.
- Agrina. 2006. *Jintan Hitam*. Agrina. Jakarta.
- Agromedia. 2006. *Sehat dengan Habbatussauda*. Agromedia Pustaka. Jakarta
- Balamurugan, V. and Katarin, J.M., 2006. Economically Important non-oncogenic immunosuppressive viral diseases of Chicken. *Veterinary Research Communications*, 30 (5) 541-566.
- Bellanti, J. A. 1993. *Immunologi III*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Boot, H. J., A. A. H. M. ter Huurns, J. W. Hoekman, B. P. H. Peteers and Mosaic. 1999. Infectious Bursal Disease Virus from Cloned Cdna: VP2 is not the Sole Determinant of the Very Virulent Phenotype. *J. Virol.* 74: 6701-6711.
- Brown, Michael D., Philip Green and Michael A. Skinner. 1994. VP2 Sequences of Recent European 'very virulent' isolates of infectious Bursal Diseases Virus are closely related to each other but ar distinct form those of 'classical' strain. *Journal of General Virology*, 75, 675-680.
- Butcher, G. D. and Miles, R. D. 2005. Infectious Bursal Disease (Gumboro) in Commercial Broiler. *American Association of Avian Pathologist*. <http://www.gumboro.com>. (07April 2007)
- Cesta, M.F. 2006. Normal Structure, Function and Histology of The Spleen. *Toxicol Pathol*; 34: 455-465.



- Dellman, D. H. and Brown, E. M. 1989. Buku Teks Histology Veteriner; penerjemah R. Hartono. Universitas Indonesia. UI PRESS.
- Elmore, S. A., 2006. Enhanced Histopathology of Spleen. *Toxicol Pathol.* 34(5): 648-655.
- Ernawati, R. 2004. Karakteristik Molekular dan Immunogenitas Protein Kapsid Virus Infectious Bursal Disease Isolat Lokal. Disertasi program pasca sarjana. Unair, Surabaya.
- Fenner, F. J., P. J. Gibbs, F. A. Murphy, R. Root, M. J. Studert and While. 1995. *Veterinary Virology*. Edisi Kedua. IKIP Semarang Press. Searang. 13-147.
- Hasan, I. 2006. *Analisa Data Penelitian dengan Statistik*. Bumi Aksara. Jakarta.
- Hassan, M. K., M. Q. al-Natour, L. A. Ward and Y. M. Saif. 1996. Pathogenicity, attenuation, and immunogenicity of infectious bursal disease virus. *Avian Dis.* 40:567-71.
- Homer, Bruce L., Gary D. Butcher., Richard D. Miles., Alfredo F. Rossi. 1992. Subclinical Infectious Bursal Diseases in an Integrated Broiler Production Operation. *J. Vet Diagn Invest* 4: 406-411.
- Ikuta, N., J. El-Attrache, P. Villegas, E. M. Garcia, V. R. Lunge, A. S. Fonseca, C. Oliveira and E. K. Marques. 2001. Molecular Characterization of Brazilian Infectious Bursal Disease Viruses. *Avian Dis.* 45:297-306.
- Islam, N., B. Parveen, Ahsan T., Huque S., and Ahsan M. 2003. Immunosuppressive and cytotoxic properties of *Nigella sativa*. University Dhaka. Bangladesh.
- Khan, Laiq Ali M. 2007. Kalonji (*Nigella sativa*). <http://www.crescentlife.com>. (17 Juni 2007).
- Kumar, S., K. Tamura and M. Nei. 2004. MEGA3: Integrated Software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and Sequence Alignment. *Briefings in Bioinformatics.* 5:150-163.
- Lee, L. H. and Y. P. Lin. 1992. A monoclonal antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibodies to infectious bursal disease virus. *J Virol Methods.* 36:13-23.
- Lesson, C. R., T. S. Leson and A. A. Paparo. 1995. Buku Ajar Histologi. Edisi V. Cetakan V. Terjemahan : Koesparto Siswojo, Sugito Wonodirekso, Isnani A. Suryono, R. Soeharto dan M. Martopriwo. Penerbit Buku



- Kedokteran EGC. Jakarta. 383, 385-388.
- Lukert , P. D and Saif Y.M., 1997. Infectious Bursal Disease In : Disease of Poultry, 10<sup>th</sup>edn (Eds) Calneck B.W., Barnes H.J., Beard, McDougald, L.R., and Saif Y.M.). Iowa State University Press. Ames Iowa. pp 721-738.
- Medenica, R. 1995. Use of *Nigella sativa* to increase Immune Function. Patent Storms. No. 111631 filed on 1993-08-25.424/776.
- Mudhita, Z. R. 2007. Potensi Infusa Jintan Hitam(*Nigella sativa*) Sebagai Immunomodulator Terhadap *Infectious Bursal Disease* (IBD) pada Ayam Broiler. Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan Unair.
- Murtidjo, B. A. 1992. Pengendalian Penyakit Hama dan Program Pencegahan Penyakit Ayam. Kanisius. Yogyakarta.
- Okoye, J.O.A., and Uzoukwu, M., 1990. Pathogenesis of Infectious Bursal Diseases in Embrionally Burssectomised Chicken. *Avian Pathol* 19, 555-569.
- Pramono. 2006. Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Price, S.A. dan L.M.Wilson. 1995. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Edisi 4. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Regenmortel, V. 2003. Virus taxonomy. 7<sup>th</sup> Report of the International Committee on Taxonomy of Virus. Academic Press, Inc, San Diego, California.
- Rippey, J. J. 1994. General Pathology. Witwaersrand University Press. Perth Western Australia : 19-31.
- Robbin, M. D. Khumar. V. 1995. Basic Pathology. Alih Bahasa Staf Pengajar Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Rumawas, W. 1992. Infectious Bursal Disease. *Poultry Indonesia*. Februari 144: 28-29.
- Salem, M. L. 2005. Immunomodulatory and Therapeutic Properties of the *Nigella sativa* L. seed. (13-14): 1749-1770.
- Salomi N.J., W.C. Nair, K. Jayawardhanan, C. D. Varghese and K. R. Panikkar. 1992. Anti Tumor Principles from *Nigella sativa* seeds *Cancer Lett*; 63: 41- 46.



- Santa, I., G. 2000. Buku Ajar Taksonomi Tumbuhan. Balai Pustaka. Jakarta.
- Snyder, D. B.. 1990. Change in the field status of infectious bursal disease virus. *Avian Pathol.* 19: 419-465.
- Suwarno. 2002. Petunjuk Praktikum Imunologi. Bagian Mikrobiologi Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Tabbu, C. R., 2000. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya. Volume 1. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Tacken, M. G., P. J. Rottier, A. L. Gielkens and B. P. Peeters. 2000. Interactions in vivo between the proteins of infectious bursal disease virus: capsid protein VP3 interacts with the RNA-dependent RNA polymerase, VP1. *J Gen Virol.* 81:209-218.
- Tang, Y. and Y.M.Saif. 2004. Antigenicity of two turkey astrovirus isolates. *Avian Dis.* 48:896-901.
- Taylor. 2006. Black Seed. <http://www.alternative medicine.com>. (18 Mei 2007)
- Tizzard, I. 1988. Pengantar Imunologi Veteriner. Airlangga University Press. Surabaya.
- Triakoso, B. 1998. Kesehatan Unggas. Kanisius. Yogyakarta. 116-120.
- Turner, R.J. 1994. Immunology: A Comparative Approach. John Willey and Sons Chicester. New York. Brisbane-Toronto. Singapore. 148-165.
- Van den Berg, T. P., 2000. Acute Infectious Bursal Diseases in Poultry. *Avian Pathology*, 29 : 3, 175-194.
- Wijayakusuma, A. H.. 2000. Hidup Sehat Cara Hembing. Buku 14. Elex Media Komputindo. Jakarta.
- Wiryawan, W. 2003. Gumboro dan Faktor Penyebab Kegagalan Vaksinasinya. *Infovet Januari* 102: 38 - 44.



# LAMPIRAN

LAMPYRAN

## **Lampiran 1**

### **Proses Pembuatan Preparat Histopatologi**

Pembuatan preparat limpa ayam dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dengan tahap-tahap :

#### **1. Fiksasi dan Pencucian.**

Proses ini bertujuan menghentikan proses metabolisme jaringan, mencegah terjadinya degenerasi jaringan pasca mati, mematikan kuman atau bakteri, menjadikan jaringan lebih keras sehingga menjadi lebih mudah dipotong dan meningkatkan afinitas jaringan terhadap bermacam-macam zat warna.

Setelah ayam disembelih, kemudian dilakukan pembedahan guna mengambil organ limpa. Organ dicuci dengan larutan NaCl isotonis, disayat dan difiksasi dengan larutan formalin 10 % dan biarkan selama 24 jam. Organ limpa kemudian dipotong dengan ketebalan 0,5 cm dan kemudian dicuci dengan air kran yang mengalir selama 30 menit.

#### **2. Dehidrasi dan Clearing.**

Proses ini bertujuan menarik air dari jaringan, membersihkan dan menjernihkan jaringan.

Organ limpa yang telah dicuci dengan air kran selama 30 menit, masukkan ke dalam reagen dengan urutan sebagai berikut : alkohol 70 %, 80 %, 90 %, 96 %, alkohol absolute, xylol I dan xylol II masing-masing 30 menit.

#### **3. Infiltrasi.**

Proses ini bertujuan untuk menginfiltrasi jaringan dengan paraffin. Paraffin ini akan menembus ruangan antar sel dan dalam sel sehingga jaringan menjadi lebih tahan terhadap pemotongan.



Setelah proses dehidrasi dan clearing, organ paraffin dimasukkan kedalam paraffin I yang mencair selama 1 jam, kemudian dimasukkan oven dengan suhu  $50^{\circ}\text{C} - 60^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam.

#### **4. Pembuatan Blok Paraffin.**

Tujuan dari proses ini agar jaringan mudah dipotong. Disiapkan beberapa cetakan besi yang sebelumnya telah diolesi Gliserin dengan maksud untuk mencegah melekatnya paraffin cair yang panas. Besi cetakan diisi paraffin yang masih cair. Organ limpa selanjutnya diletakkan ke dalam cetakan besi dengan bantuan pinset, ditunggu sampai paraffin cair membeku dan mengeras.

#### **5. Pengirisan dengan Mikrotom.**

Proses ini dilakukan untuk mendapatkan jaringan yang setipis mungkin agar dapat dilihat di bawah mikroskop.

Balok paraffin yang telah mengeras dengan organ limpa di dalamnya selanjutnya di potong dengan menggunakan mikrotom. Mikrotom dibersihkan terlebih dahulu, digosok dengan kertas tisu pada relnya hingga bersih. Mata pisau di pasang pada gagang pisau, kemudian dipasang pada mikrotom. Balok sediaan dipasang pada mikrotom, diatur tinggi rendahnya permukaan horizontal, diatur sudut permukaan organ dengan arah potongan pisau harus membentuk sudut  $45^{\circ}$  dan tebal potongan diatur  $3\ \mu\text{m}$ , untuk organ yang keras ketebalannya  $\pm 5\ \mu\text{m}$ .

Pemotongan diambil secara acak, tiap 10 kali pemotongan diambil satu dengan ketebalan  $5-7\ \mu\text{m}$ , kemudian jaringan limpa di celupkan ke dalam air hangat dengan suhu  $20^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}$  agar mengembang dengan baik. Jaringan limpa kemudian diletakkan pada objek glass yang telah diolesi putih telur, selanjutnya dikeringkan di atas hot plate dengan suhu  $60^{\circ}\text{C}$ .



## 6. Pewarnaan

Terdapat dua macam pewarnaan jaringan pada pemeriksaan histopatologi, yaitu pewarnaan umum dan pewarnaan khusus.

Pewarnaan umum yaitu pewarnaan dengan hematoxylin eosin yang mewarnai inti sel dengan hematoxylin dan sitoplasma dengan eosin. Pewarnaan khusus hanya dilakukan untuk mengidentifikasi atau membantu diagnosa yang tidak dapat dilakukan dengan pewarnaan umum.

Tujuan dilakukan pewarnaan untuk memudahkan melihat perubahan pada jaringan, Pewarnaan jaringan dengan Hematoxylin Eosin dapat terlihat bagian-bagian selnya, inti berwarna biru sedangkan sitoplasma berwarna merah.

Komposisi zat warna hematoxylin :

Hematoxylin	2,5 g
Absolute alcohol	25 ml
Potassium alumunium	50 g
Mercuric oxide	20 ml
Glacial acetic acid	20 ml
Water	500 ml

Objek glass dengan sayatan jaringan limpa di atasnya diwarnai dengan Hematoxylin Eosin dengan menggunakan Metode Harris. Pertama objek glass dimasukkan dalam xylol I selama 3 menit dalam tempat khusus dan selama 1 menit kedalam xylol II, kemudian secara berurutan dimasukkan kedalam alkohol absolut I, II Alkohol 96 %, 95 %, 80 %, 70 % dalam air kran masing-masing selama 1 menit. Selanjutnya secara berurutan dimasukkan ke dalam zat warna hematoxylin selama 5-10 menit, air kran sebanyak 3-5 menit, Alkohol asam



sebanyak 3-10 kali pencelupan, air kran sebanyak 4 kali pencelupan, amoniak sebanyak 6 kali pencelupan, air kran selama 10 menit, aquadest secukupnya, zat warna eosin selama 5 menit dan dimasukkan lagi ke aquadest secukupnya, lalu secara berurutan dimasukkan dalam alkohol 80 % selama 1 menit, alkohol 95 % selama 1 menit, alkohol 96 % selama 1 menit, alkohol absolut selama 1 menit, alkohol II selama 1 menit, xylol selama 2 menit dan xylol II selama 2 menit. Setelah itu objek glass dengan sayatan jaringan limpa di atasnya dibersihkan dari sisa pewarnaan dan dibiarkan mengering.

#### **7. Mounting.**

Setelah objek glass yang telah mengalami proses pewarnaan mengering, objek glass dengan sayatan limpa tersebut ditutup dengan cover glass yang sebelumnya sudah ditetesi dengan Canada balsam.



## Lampiran 2

## Skor Perubahan Histopatologi Limpa Ayam

Perlakuan <sub>1</sub>	Ulangan	Lapang Pandang				
		1	2	3	4	5
P1	1	3	3	3	3	3
	2	4	4	4	3	3
	3	4	4	3	2	3
	4	4	4	2	2	1
	5	0	2	4	2	2
P2	1	1	0	1	1	0
	2	0	1	1	0	0
	3	1	0	0	0	0
	4	1	1	1	1	1
	5	0	1	1	1	1
P3	1	3	3	2	2	3
	2	1	2	2	2	1
	3	1	4	3	1	1
	4	2	2	1	1	1
	5	1	2	4	2	2
P4	1	0	1	0	1	1
	2	0	1	1	1	1
	3	0	0	0	0	0
	4	1	1	1	0	0
	5	0	0	0	1	1
P5	1	1	2	3	2	2
	2	2	3	1	2	1
	3	1	2	1	2	2
	4	4	3	4	3	2
	5	2	3	2	1	2
P6	1	0	1	1	1	1
	2	1	2	1	2	1
	3	2	2	1	2	2
	4	2	1	2	1	1
	5	1	2	2	1	2
P7	1	2	2	1	1	2
	2	1	1	1	2	1
	3	2	3	2	4	3
	4	3	4	3	2	2
	5	4	3	3	1	3



Perlakuan	Ulangan	Lapang Pandang				
		1	2	3	4	5
P8	1	2	2	1	3	2
	2	2	1	2	3	2
	3	1	1	1	2	2
	4	3	2	1	2	2
	5	2	3	1	1	1
P9	1	2	2	3	2	2
	2	2	2	2	3	2
	3	3	4	3	3	3
	4	4	3	3	4	2
	5	4	4	3	3	2
P10	1	2	3	2	2	2
	2	1	3	4	1	2
	3	2	4	4	2	2
	4	1	2	3	1	3
	5	1	2	2	2	1



**Lampiran 3****Nilai Rata-rata Skor Perubahan Histopatologi limpa ayam**

Perlakuan	Ulangan				
	1	2	3	4	5
P1	3	3,6	3,2	2,6	2
P2	0,6	0,4	0,2	1	0,8
P3	2,6	1,6	2	1,4	2,2
P4	0,6	0,6	0	0,6	0,4
P5	2	1,8	1,6	3,2	2
P6	0,8	1,4	1,8	1,4	1,6
P7	1,6	1,2	2,8	2,8	2,8
P8	2	2	1,4	2	1,6
P9	2,2	2,2	3,2	3,2	3,2
P10	2,2	2,2	2,8	2	1,6



Summarize

Case Summaries\*

			Skor Rata-rata	RANK of SkorRatarata
Perlakuan P1	1		3.0	44.000
	2		3.6	50.000
	3		3.2	47.000
	4		2.6	38.000
	5		2.0	27.500
	Total	Mean	2.880	41.30000
		Std. Error of Mean	.2728	3.979950
P2	1		2.6	38.000
	2		.6	6.000
	3		.0	1.000
	4		.6	6.000
	5		.4	3.500
	Total	Mean	.840	10.90000
		Std. Error of Mean	.4534	6.838128
P3	1		2.6	38.000
	2		1.6	18.500
	3		2.0	27.500
	4		1.4	13.500
	5		2.2	34.000
	Total	Mean	1.960	26.30000
		Std. Error of Mean	.2135	4.595106
P4	1		.6	6.000
	2		.4	3.500
	3		.2	2.000
	4		1.0	10.000
	5		.8	8.500
	Total	Mean	.600	6.00000
		Std. Error of Mean	.1414	1.491643
P5	1		2.0	27.500
	2		1.8	22.500
	3		1.6	18.500
	4		3.2	47.000
	5		2.0	27.500
	Total	Mean	2.120	28.60000
		Std. Error of Mean	.2800	4.900000
P6	1		.8	8.500
	2		1.4	13.500
	3		1.8	22.500
	4		1.4	13.500
	5		1.6	18.500
	Total	Mean	1.400	15.30000
		Std. Error of Mean	.1673	2.395830
P7	1		1.6	18.500
	2		1.2	11.000
	3		2.8	41.500
	4		2.8	41.500
	5		2.8	41.500
	Total	Mean	2.240	30.80000
		Std. Error of Mean	.3487	6.658829
P8	1		2.0	27.500
	2		2.0	27.500
	3		1.4	13.500
	4		2.0	27.500
	5		1.6	18.500
	Total	Mean	1.800	22.90000
		Std. Error of Mean	.1265	2.925748
P9	1		2.2	34.000
	2		2.2	34.000
	3		3.2	47.000
	4		3.2	47.000
	5		3.2	47.000
	Total	Mean	2.800	41.80000
		Std. Error of Mean	.2449	3.184337
P10	1		2.2	34.000
	2		2.2	34.000
	3		2.8	41.500
	4		2.0	27.500
	5		1.6	18.500
	Total	Mean	2.160	31.10000
		Std. Error of Mean	.1939	3.851623
Total	Mean	1.880	25.50000	
	Std. Error of Mean	.1264	2.052127	

\*. Limited to first 100 cases.



**Lampiran 4**  
**NPar Tests**  
**Kruskal-Wallis Test**

**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank
Skor Rata-rata	P1	5	41.30
	P2	5	10.90
	P3	5	26.30
	P4	5	6.00
	P5	5	28.60
	P6	5	15.30
	P7	5	30.80
	P8	5	22.90
	P9	5	41.80
	P10	5	31.10
	Total	50	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Skor Rata-rata
Chi-Square	30.614
df	9
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

**Hipotesis :**

$H_0$  : tidak ada perbedaan nyata di antara kelompok perlakuan

$H_1$  : ada perbedaan nyata di antara kelompok perlakuan

**Keputusan :**

Tolak  $H_0$  karena p-value < 0.05 yaitu 0.000 < 0.05

**Kesimpulan :**

Ada perbedaan nyata di antara kelompok perlakuan

Karena ada perbedaan nyata diantara perlakuan maka dilanjutkan dengan Uji Z 5%.

**Post Hoc Tests**

**Multiple Comparisons**

$$\lambda = \frac{R_{i,1} - R_{i,2}}{\sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left( \frac{1}{n_{i,1}} + \frac{1}{n_{i,2}} \right)}}$$

$$\lambda = \frac{R_{i,1} - R_{i,2}}{\sqrt{\frac{50(50+1)}{12} \left( \frac{1}{5} + \frac{1}{5} \right)}}$$

$$\lambda = \frac{R_{i,1} - R_{i,2}}{9,22}$$



**Uji Z untuk Membedakan Rata-rata Skor antar Perlakuan**

Rank		Ri.1	Ri.2	Ri.1-Ri.2	$\lambda^1$	$p^2$
Rp9	Rp1	41.8	41.3	0.5	0.05	0.4801
	Rp10	41.8	31.1	10.7	1.16	0.1230
	Rp7	41.8	30.8	11	1.19	0.1170
	Rp5	41.8	28.6	13.2	1.43	0.0764
	Rp3	41.8	26.3	15.5	1.68	0.0465*
	Rp8	41.8	22.9	18.9	2.05	0.0202*
	Rp6	41.8	15.3	26.5	2.87	0.0015*
	Rp2	41.8	10.9	30.9	3.35	0.0003*
Rp1	Rp4	41.8	6.0	35.8	3.88	0.00005*
	Rp10	41.3	31.1	10.2	1.11	0.1335
	Rp7	41.3	30.8	10.5	1.14	0.1271
	Rp5	41.3	28.6	12.7	1.38	0.0838
	Rp3	41.3	26.3	15	1.63	0.0516
	Rp8	41.3	22.9	18.4	2.00	0.0228*
	Rp6	41.3	15.3	26	2.82	0.0024*
	Rp2	41.3	10.9	30.4	3.30	0.0005*
Rp10	Rp4	41.3	6.0	35.3	3.83	0.00007*
	Rp7	31.1	30.8	0.3	0.03	0.4880
	Rp5	31.1	28.6	2.5	0.27	0.3936
	Rp3	31.1	26.3	4.8	0.52	0.3015
	Rp8	31.1	22.9	8.2	0.89	0.1867
	Rp6	31.1	15.3	15.8	1.71	0.0436*
	Rp2	31.1	10.9	20.2	2.19	0.0143*
Rp7	Rp4	31.1	6.0	25.1	2.72	0.0033*
	Rp5	30.8	28.6	2.2	0.24	0.4052
	Rp3	30.8	26.3	4.5	0.49	0.3121
	Rp8	30.8	22.9	7.9	0.86	0.1949
	Rp6	30.8	15.3	15.5	1.68	0.0465*
	Rp2	30.8	10.9	19.9	2.16	0.0154*
Rp5	Rp4	30.8	6.0	24.8	2.69	0.0036*
	Rp3	28.6	26.3	2.3	0.25	0.4013
	Rp8	28.6	22.9	5.7	0.62	0.2676
	Rp6	28.6	15.3	13.3	1.44	0.0749
	Rp2	28.6	10.9	17.7	1.92	0.0274*
Rp3	Rp4	28.6	6.0	22.6	2.45	0.0071*
	Rp8	26.3	22.9	3.4	0.37	0.3557
	Rp6	26.3	15.3	11	1.19	0.1170
	Rp2	26.3	10.9	15.4	1.67	0.0475*
Rp8	Rp4	26.3	6.0	20.3	2.20	0.0139*
	Rp6	22.9	15.3	7.6	0.82	0.2061
	Rp2	22.9	10.9	12	1.30	0.0968
Rp6	Rp4	22.9	6.0	16.9	1.83	0.0336*
	Rp2	15.3	10.9	4.4	0.48	0.3156
Rp2	Rp4	15.3	6.0	9.3	1.01	0.1562
Rp2	Rp4	10.9	6.0	4.9	0.53	0.2981

<sup>1)</sup>  $\lambda = (R_{i.1} - R_{i.2})/9,22$ ; <sup>2)</sup>  $Z_{tabel}$  Distribusi Normal; \*Signifikan ( $p < 0,05$ )



