

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN SUSPENSI JENGER AYAM (*Crista*)  
SEBAGAI ANTIVIRAL  
TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATHOLOGI PARU-PARU  
AYAM LAYER YANG DIINFEKSI VIRUS *Newcastle Disease* (ND)**



Oleh :

**FAIZAL ZAKARIYA**  
**SIDOARJO-JAWA TIMUR**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2002**

**LEMBAR PERSETUJUAN**

**PENGARUH PEMBERIAN SUSPENSI JENGER AYAM (*Crista*)**

**SEBAGAI ANTI VIRAL**

**TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI PARU-PARU**

**AYAM LAYER YANG DIINFEKSI VIRUS Newcastle Disease (ND)**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana kedokteran Hewan

Pada

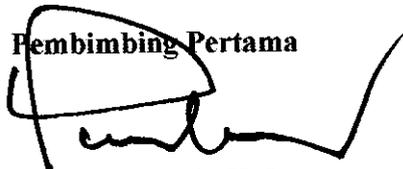
Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga

**Disusun Oleh :**

**Faizal Zakaria**  
**NIM. 069712379**

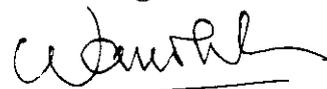
**Menyetujui,**

**Pembimbing Pertama**



**Prof. Dr. Sochartojo H. M.S., drh.**  
**Nip. 130 189 851**

**Pembimbing Kedua**



**Nanik Sianita W., S.U., drh.**  
**Nip. 131 123 697**

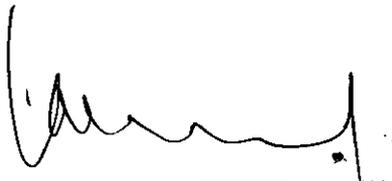
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh – sungguh. Kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar **SARJANA KEDOKTERAN HEWAN**

Menyetujui,  
Panitia Penguji,



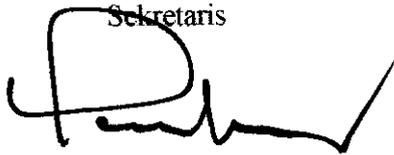
**Jola Rahmahani, M.Kes.,drh.**

Ketua



**Dr. Fedik Abdul ratam, M.S.,drh**

Sekretaris



**Prof. Dr. Soehartojo, M.S.,drh.**

Anggota



**Arimbi, M.Kes.,drh.**

Anggota



**Nanik Sianita.W.,S.U.,drh**

Anggota

Surabaya, 29 Mei 2002



**Prof. Dr. Ismudiono, M.S.,drh.**

NIP. 130 687 297

**PENGARUH PEMBERIAN SUSPENSII JENGER AYAM (*Crista*)  
SEBAGAI ANTI VIRAL TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATHOLOGI  
PARU-PARU AYAM LAYER YANG DIINFEKSI *New Castle Disease* (ND)**

**FAIZAL ZAKARIA**

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui manfaat suspensi jenger ayam (*Crista*) dalam pengobatan *New Castle Disease* (ND) pada ayam layer ditinjau dari histopathologi paru paru ayam layer

Hewan coba ayam layer sebanyak 25 ekor dengan umur 3 minggu digunakan dalam penelitian ini. Selama percobaan anak ayam tersebut diberi pakan komersial Par-S dan Par-G. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap ( Complete Random Design ) dengan menggunakan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Keempat perlakuan ( perlakuan terapi dan perlakuan kontrol positif) diinfeksi dengan virus *New Castle Disease* (ND) dengan dosis 1 ml ( $10^6$  EID<sub>50</sub>), sedangkan pada kontrol negatif tanpa diberikan perlakuan apapun. Pengobatan dilakukan sekali sehari selama 21 hari. Data skor perubahan histopathologi paru-paru ayam layer diuji dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis.

Hasil penelitian menurut analisa statistik menunjukkan adanya perbedaan yang nyata sangat nyata ( $p \leq 0,01$ ) antar perlakuan terapi suspensi jenger ayam (*Crista*) dengan dosis pengobatan 1,5 gram/ekor/hari (P<sub>3</sub>) dengan nilai rata-rata ( $08,9 \pm 1,98$ ), 1 gram/ekor/hari (P<sub>4</sub>) dengan nilai rata-rata ( $12,3 \pm 2,789$ ) dan 0,5 gram/ekor/hari (P<sub>5</sub>) dengan nilai rata-rata ( $17,9 \pm 1,74$ ) terhadap perlakuan kontrol (P<sub>1</sub>) dengan nilai rata-rata ( $03,0 \pm 1,34$ ) dan (P<sub>2</sub>), serta adanya perbedaan efektifitas dari masing masing perlakuan terapi dimana pada P<sub>3</sub> lebih efektif dibanding P<sub>4</sub> dan P<sub>5</sub>.

## KATA PENGANTAR

Bismillahirrohmaannirroohim,

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat memperoleh kekuatan untuk menyelesaikan penulisan sebagai tugas akhir ini. Naskah skripsi ini dibuat untuk memenuhi salah satu prasyarat dalam memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

*Newcastle Disease* (ND) merupakan penyakit yang tidak asing lagi bagi peternak, selain gejala klinis yang khas penyakit ini juga menimbulkan kerugian ekonomi yang besar. Virus *Newcastle Disease* (ND) merupakan penyebab penyakit ini, dan merupakan virus yang patogen pada ayam. Penggunaan jengger (*Crista*) ayam merupakan salah satu upaya pengobatan penyakit ini yang diharapkan dapat digunakan sebagai obat pilihan oleh peternak dengan efek samping yang minimal. Dengan harapan semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Dengan penuh rasa hormat, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada Bapak Prof.Dr.Soehartojo H, M.Sc.,drh selaku pembimbing pertama dan Ibu Nanik Sianita, S.U.,drh selaku pembimbing kedua yang selalu bersedia dan memberikan bimbingan, dan saran, nasihat yang sangat berguna dalam penyusunan skripsi ini .

Demikian pula penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada pada Prof.Dr.Ismudiono, M.S.,drh selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga ; Dr.Fedik Abdul Rantam.,drh selaku pembimbing

Karya Tulis Ilmiah (LKIP) ; Dr.Desianto B Utomo.,drh atas saran-sarannya, dan Bapak Drs.Koespriyadi, M.M.S.P, selaku Kepala Balai Karantina Tumbuhan Tanjung Perak Surabaya atas fasilitas yang telah diberikan.

Tak lupa penulis juga mengucapkan rasa terima kasih pada Kepala Laboratorium Virologi dan Imunologi beserta stafnya yang dengan penuh ikhlas turut membantu dalam penelitian ini.

Rasa terima kasih tidak terhingga kepada Mama , Papa , Ferra Hendrawati , Farid Andriansyah Zakaria, Farah Diba atas kasih sayang dan doa dan dorongan semangatnya sehingga penyusunan skripsi ini cepat terselesaikan. Untuk rekan – rekanku kelompok penelitian Wahyudi, Aisyatus Salamah, Hanny Sutrisno dan Natalia atas kerjasama dan kekompakannya.

Walaupun penulis telah mencurahkan segala kemampuan dalam mewujudkan penulisan tugas akhir ini dalam bentuk sesempurna mungkin, namun penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan dan menerima segala bentuk kritik, saran, ataupun anjuran yang sangat berguna bagi penyempurnaan penyajian lebih lanjut, agar kelak tulisan ini dapat dimanfaatkan oleh semua pihak yang membutuhkan.

Sidoarjo, Mei 2002

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vi.
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vii.
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	viii.
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1.
1.2. Rumusan Masalah .....	4.
1.3. Landasan Teori .....	4.
1.4. Tujuan .....	5.
1.5. Manfaat .....	5.
1.6. Hipotesis .....	5.
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
II.1. Jengger Ayam ( <i>Crista</i> ) .....	6.
II.2. Tinjauan Tentang Kolagen .....	8.
II.3. Virus Newcastle Disease (ND) pada ayam .....	9.
II.4. Pneumonia .....	16.
II.5. Tinjauan Tentang Suspensi .....	20.
<b>BAB III MATERI METODE</b>	
III.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	21.
III.2. Bahan dan Alat Penelitian .....	21.
III.3. Metode Penelitian .....	22.
III.4. Populasi dan Sampling .....	23.

III.5. Variabel yang Diamati .....	24.
III.6. Analisis Data dan Rancangan Percobaan .....	24.
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>25.</b>
<b>BAB V PEMBAHASAN.....</b>	<b>30.</b>
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>34.</b>
<b>RINGKASAN.....</b>	<b>35.</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>37.</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>42.</b>

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Tingkat Perubahan Histopathologi Paru Paru dalam lima kali pandangan .....	43.
2. Skor Histopathologi Paru – paru dalam lima kali pandangan .....	45.
3. Rata – rata dan Rank Skor Histopathologi Paru-paru .....	47.
4. Teknik Pembuatan Preparat Histopathologi .....	53.

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Jengger ( <i>Crista</i> ) Ayam .....	7.
2. Mikrograf Elektron fibril kolagen .....	10.
3. Susunan molekul tropokolagen heliks ganda tiga dengan selang kepala 64 nm pada fibril kolagen .....	10.
4. Gambaran Pathologis organ Pernafasan pada masing-masing perlakuan ....	28.
5. Perubahan histopathologis paru-paru ayam pada perlakuan ke-3 (Diinfeksi virus <i>Newcastle Disease</i> dan diberikan Suspensi Jengger Ayam dengan dosis pemberian 1,5 gram/ekor/hari ) pada pembesaran 1000x.....	29.
6. Perubahan histopathologis paru-paru ayam pada perlakuan ke-5 (Diinfeksi virus <i>Newcastle Disease</i> dan diberikan Suspensi Jengger Ayam dengan dosis pemberian 0,5 gram/ekor/hari ) pada pembesaran 1000x.....	29.
7. Perdarahan jaringan dan Kongesti pada paru-paru ayam penderita penyakit ND dengan Pembesaran 400x .....	30.

## **BAB I**

# **PENDAHULUAN**

pernafasan adalah jalan masuk virus *Newcastle Disease* (ND) kedalam tubuh yang pertama kali (Buxton dan Freser, 1997) sehingga perubahan pada saluran pernafasan sangat penting dalam perkembangan dan replikasi virus *Newcastle Disease* (ND). Perubahan pada saluran pernafasan tersebut dapat menyebabkan gangguan pernafasan yang berupa pneumonia pada paru-paru, karena paru-paru adalah organ pertama yang sangat peka terhadap infeksi virus secara aerogen (Fenner, et, al., 1995).

Menurut Nugroho (1989) *New Castle Disease* (ND) merupakan penyakit endemis di Indonesia. Kerugian ekonomi yang ditimbulkan oleh *Newcastle Disease* (ND) adalah angka kematian yang tinggi, pertumbuhan yang terhambat, dan penurunan angka kualitas produksi telur, oleh karena itu maka *Newcastle Disease* (ND) merupakan ancaman yang serius bagi keberhasilan pembangunan peternakan ayam di Indonesia.

Virus merupakan agen penyakit yang sangat menular dan hanya dapat hidup menginfeksi semua sel hidup, sebab semua metabolisme virus tergantung pada metabolisme sel yang terinfeksi dan virus dapat tumbuh dan berkembang pada sel mati (Fenner et, al., 1995).

Pengobatan virus dengan antibiotika tidak akan menghasilkan kesembuhan (Sofjan, 1980). Pengobatan virus dengan khemoterapi sudah pernah dilakukan, pengobatan ini hanya spesifik pada virus tertentu atau organ-organ tertentu. Amatadin sebagai obat antiviral untuk virus influenza dapat menghambat pada pelepasan selubung virus, namun obat ini tidak dapat akan berguna apabila virusnya sudah masuk kedalam sel terinfeksi, sehingga obat ini lebih efektif untuk

pencegahan dibandingkan dengan pengobatan (Volk Wheeler, 1984). Methisazone hanya efektif untuk menghambat replikasi pox virus bila diberikan dalam waktu 24-48 jam pasca infeksi. Kerja obat ini menghalangi sintesa protein dengan cara menghambat enzim thimidin kinase dalam sintesa DNA virus Iododeoxyuridine (IUDR) digunakan untuk pengobatan golongan virus DNA (Ernawati, 1991). Prinsip pengobatan tidak merusak sel yang hidup. Pengobatan virus memiliki efek pada salah satu dari proses biosintesa dalam siklus replikasi virus dengan tanpa merusak sel induk semang (Ernawati, 1991).

Selama ini penanganan *New Castle Disease* (ND) yang dilakukan hanyalah pencegahan saja yaitu dengan cara pengebalan terhadap penyakit baik dengan vaksinasi aktif maupun dengan vaksinasi inaktif. Hal ini mendorong banyak dilakukan penelitian – penelitian untuk mencari alternatif pencegahan atau pengobatan yang memiliki daya sembuh relatif sama.

Pengobatan tradisional sudah sering dilakukan oleh nenek moyang bangsa Indonesia. Jengger ayam (*Crista*) terpilih dalam penelitian ini karena bahan ini selain telah digunakan secara empiris oleh masyarakat di desa Baluk, Kecamatan Negara, Kabupaten Negara, Provinsi Bali sebagai pengobatan penyakit pada ayam jantan petarung. Juga memiliki kandungan kolagen, glikoprotein, alkaline phospat yang ternyata berguna untuk pengobatan virus *Newcastle Disease* (ND) walaupun penjelasan secara ilmiah belum ada.

Sampai saat ini penelitian tentang jengger ayam (*Crista*) masih ditujukan untuk mengetahui komposisi dan keterkaitan secara genetik pertumbuhan bagian bagiannya saja. Menurut Alfred *et al* (1972) jengger ayam (*Crista*) banyak

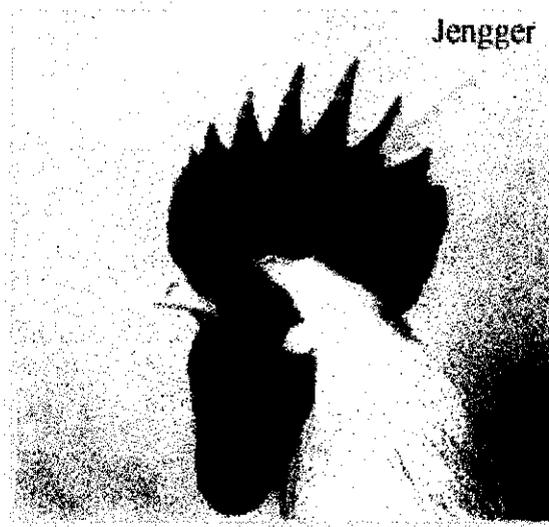
**BAB II**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Jengger Ayam

Jengger ayam yang memiliki kata latin yaitu *Crista* atau *Comb* (Inggris) memiliki bentuk yang sangat menonjol, jelas dan merupakan pertumbuhan keluar dari daging dan kulit serta bagian yang menonjol dari dahi dan kepala serta meluas sampai upercula hidung. Semua bangsa ayam memiliki jengger (*Crista*) meskipun beberapa memiliki bentuk yang kecil (Alfred, *et al.*, 1972).



**Gambar 1.** Jengger Ayam (*Crista*)

Secara histologi jengger ayam (*Crista*) dewasa mengandung jaringan – jaringan sebagai berikut (dilihat dari lapisan paling dalam sampai yang paling luar) :

1. Lapisan Superficial Dermis.

Lapisan ini kaya akan jaringan kolagen dan jaringan fiber

2. Lapisan Intermediate

Lapisan ini terdapat jaringan fibro mucoid

3. Jaringan Konektif pusat (Center Connectif Tissue)

- a. Stratum Laxum dari Dermis

- b. Sub cutis.

Lapisan ini terdapat jaringan adipose.

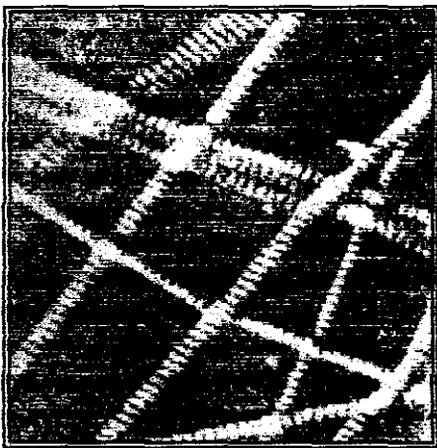
4. Lapisan Epidemis.

5. Pada lapisan ini terdapat sinus capillaries

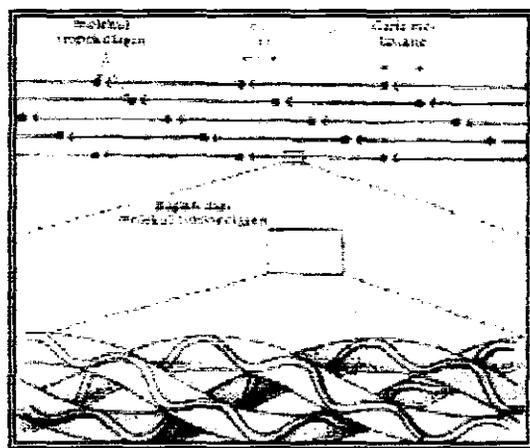
Menurut Alfred et. al., (1972) jengger ayam (*Crista*) mengandung asam hialuronat, jaringan kolagen, jaringan elastis, glikoprotein dan mineral mineral lain seperti phospor dan calcium.

Pada jengger ayam (*Crista*) yang telah dilakukan pemeriksaan dengan SDS PAGE (Sodium Dedoxyl Sulphate-PolyAcrilamide Gel Elektrophoresis) ditemukan kandungan protein sebesar 60, 42 dan 9 Kd (KiloDalton). (Nakano, et. al., 1996) menyebutkan bahwa jengger ayam (*Crista*) mengandung Sulfat Glikosaminoglikan (GAGs) yang meliputi Sulfat Dermatan dan Kondroitin Sulfat – Dermatan Sulfat Kolipolimer. Sedangkan Alfraz et. al., (1994) menyebutkan

mengandung 35 % glisin, 11 % alanin, dan sisanya adalah kandungan asam amino prolin dan hidroksi prolin yang cukup tinggi (Lehninger, 1982) . Secara tingkat molekuler kolagen memiliki struktur triple - helix, sehingga kolagen dapat merangsang pembentukan poliklonal antibodi yang dapat melawan antigen dalam tubuh, misalnya virus, kuman, maupun sel tumor (Gambar 3) (Jeanne, 1993).



**Gambar 2.** Micrograph elektro fibril kolagen



**Gambar 3.** Susunan molekul tropokolagen heliks ganda tiga dengan selang kepala 64 nm fibril kolagen.

### II.3 Virus Newcastle Disease (ND)

*Virus Newcastle Disease* (ND) pertama kali dikenal di tiga negara yang terpisah yaitu Indonesia yang terjadi di Bogor Jawa Barat yang dilaporkan oleh Kraneveld (1926), di Inggris dilaporkan oleh Doyle (1927), dan di Korea yang dilaporkan oleh Kanno tahun 1929 (Beard dan Hanson, 1984). Penyebaran penyakit ini hampir bisa dikatakan merata di seluruh dunia sebagai penyakit epizootik yang sangat merugikan peternakan unggas terutama peternakan ayam,

karena tingginya angka kematian dan penurunan produksi (Bruner dan Gillespie, 1973).

Virus *New Castle Disease* (ND) adalah golongan paramyxovirus yang tersusun dari envelope, kapsid dan genom. Envelope adalah lapisan paling luar dari virus yang terdiri dari protein hemagglutinin dan neuromidase. Protein tersebut memiliki reseptor dengan sel darah merah sehingga bisa menyebabkan terjadinya aglutinasi sel darah merah (Beard dan Hanson, 1984; Ernawati dan Sulistyanto, 1987). Selanjutnya dikatakan genom dari virus tersusun dari asam amino nukleat RNA beruntai tunggal dengan struktur helikal, dan bergabung dengan kapsid membentuk nukleokapsid.

Semua virus *New Castle Disease* (ND) Mempunyai kemampuan untuk mengaglutinasi sel darah merah unggas, semua jenis amphibi, reptil juga sel darah manusia golongan darah O dan marmut, sedangkan sel darah merah sapi, domba, dan kuda hanya dapat diaglutinasikan dengan virus *New Castle Disease* (ND) saja (Merchant dan Packer, 1971). Mekanisme hemaglutinasi disebabkan oleh terjadinya absorsi dengan reseptor mucopolisakarida yang terdapat pada permukaan eritrosit unggas. Hemaglutinasi ini hanya bersifat sementara, artinya hemaglutinasi tersebut tidak berlangsung terus menerus akan tetapi setelah beberapa saat akan hilang (reversible). Hal ini karena virus *New Castle Disease* (ND) memiliki enzim neuromidase yang akan merusak ikatan dari hemagglutinin virus dengan eritrosit (Brunner dan Gillespie, 1973; Ernawati dkk., 1989).

Virus *New Castle Disease* (ND) peka terhadap panas, pada suhu 100° C segera rusak dalam waktu satu menit. Pada suhu 55° C virus menjadi inaktif

setelah 45 menit. Pada suhu 37°C virus *New Castle Disease* (ND) tahan dua sampai tiga hari (Hanson, 1980). Bahan yang bersifat virusidal dalam konsentrasi tertentu dapat menginaktifkan atau merusak efektifitas virus *New Castle Disease* (ND). Virus *New Castle Disease* (ND) dapat dibunuh dengan larutan KMNO<sub>4</sub> 1:5000, lisol 1:1000, karbol 1:20 (Merchant dan Packer, 1971; Beard dan Hanson, 1984). Virus *New Castle Disease* (ND) cepat inaktif oleh alkohol, formalin 0,1%, betapropriolactone, pelarut lemak dan lisol (Allan, dkk., 1973). Pada penyinaran langsung dengan sinar ultraviolet selama 6 jam akan menginaktifkan virus tanpa merusak enzim hemaglutininnya. Infektifitas virus *New Castle Disease* (ND) bertahan selama beberapa jam pada pH 2-10 (Beard dan Hanson, 1984)

Virus *New Castle Disease* (ND) dapat tumbuh pada telur embrio ayam (TAB) dengan umur 8 – 10 hari dengan cara penyuntikan melalui cairan allantois kemudian di inkubasikan pada suhu 37 – 38 °C. Beberapa strain dapat membunuh embrio dalam waktu 24 – 72 jam dengan menimbulkan lesi hemorrhagia encephalitis (Merchant dan Packer, 1971; Ernawati dkk., 1989). Semua strain virus *New Castle Disease* (ND) dapat menghasilkan hemaglutinin, hemadsorpsi dan menimbulkan perubahan sitopatik pada biakan sel sekunder ataupun sel line yang berasal dari sel ginjal kelinci, babi, sapi dan kera serta berasal dari jaringan ayam juga sel hela (Brunner dan Gillespie, 1973; Ernawati dkk., 1989). Pada umumnya biakan sel yang paling baik untuk pertumbuhan virus *New Castle Disease* (ND) adalah biakan sel fibroblast dan sel ginjal embrio ayam serta sel ginjal hamster (BHK) (Ernawati dkk., 1989).

Menurut Hanson (1980), berdasarkan virulensinya virus *New Castle Disease* (ND) dapat diklasifikasikan menjadi 4 type yaitu:

A. Velogenik viserotropik (mortalitas 80 – 90 %)

Virus jenis ini menyerang alat alat visceral. Bentuk ini disebabkan oleh strain Velogenik tipe Asia.

B. Velogenik Neutropik dan Pneumotropik (mortalitas 60 – 80 %)

Pada type ini sering dijumpai perdarahan disertai kerusakan jaringan pernafasan dan sistem syaraf. Bentuk ini disebabkan oleh strain tipe Amerika

C. Mesogenik (mortalitas pada ayam muda 10 %)

Strain ini juga dipakai vaksin dengan aplikasi intramuskuler dan digunakan sebagai booster setelah vaksinasi dengan strain lentogenik pada ayam umur diatas 6 minggu dengan maksud untuk menghindari stress atau reaksi post vaksinal.

D. Lentogenik

Merupakan bentuk virus *New Castle Disease* (ND) yang lemah atau tidak ganas, infeksi pada semua umur ayam tidak memperlihatkan gejala yang nyata. Strain ini secara intensif telah digunakan sebagai bahan vaksin terutama vaksin bagi ayam ayam muda.

Menurut Hanson (1978) Penularan virus *New Castle Disease* (ND) terjadi secara horizontal yaitu dari kotoran hewan sakit ke hewan yang sehat baik secara langsung mdari hewan yang sakit yaitu melalui feses, urine, dan lendir dari hidung dan juga secara tidak langsung dapat terjadi melalui makanan, minuman yang tercemar ataupun melalui petugas kandang yang pernah berhubungan dengan

hewan yang sakit. Selain itu penularan penyakit ini bisa terjadi secara vertikal dari induk penderita ke anaknya melalui telur (Brunner dan Gillesen, 1977). Pada umumnya virus masuk tubuh melalui saluran pernafasan, konjungtiva dan jarang melalui pencernaan (Buxton dan Fraser, 1977). Masa inkubasi virus *New Castle Disease* (ND) antara 5 – 6 hari dan gejala klinis akan nampak 3 hari setelah infeksi serta ayam yang sudah tertular akan mulai mengeluarkan virus dari saluran pernafasan sekitar 1- 2 hari setelah infeksi (Direktorat Jendral Peternakan., 1981).

Menurut Ressang (1984) gejala yang ditimbulkan oleh virus *Newcastle Disease* (ND) dibagi menjadi 5 bagian, yaitu :

#### 1. Gejala Sepsis

Secara klinis gejala sepsis pada ayam yaitu ayam terlihat pingsan, kondisinya lesu, seakan mengantuk saja, kepalanya ditundukkan dan hanya dapat dibangunkan dengan bunyi atau dengan gerakan tiba-tiba, Tanda patologi anatomi didapatkan adanya hemorrhagia (perdarahan) pada perikard dan epikard dari jantung. Perdarahan juga dapat dilihat pada pleura dan dibawah serosa usus, dibawah peritoneum, tetapi perdarahan pada jantunglah yang paling jelas. Juga perdarahan dibawah selaput lendir lambung kelenjar yaitu sekitar lubang keluar kelenjar menyolok. Perdarahan dibawah mukosa lambung ini dapat dianggap patognomik (tersifat) untuk penyakit ini. Sebaliknya jika bintik bintik darah mukosa lambung ini tidak ada, bukan berarti bahwa penyakit tersebut bukan *New Castle Disease* (ND). Dalam hal ini perlu dilakukan diagnosa lanjut dengan isolasi virus dari selaput alantokhorion kemudian dilakukan HI test

## 2. Gejala Pernafasan

Biasanya gejala ini terlihat pada awal penyakit, ditandai dengan hewan terlihat lesu juga adanya sesak nafas dan waktu bernafas paruhnya dibuka dan kepala ditegakkan keatas seakan akan ayam makan hawa.

Terdengar juga bunyi mencicit seakan ayam tercekik atau di dalam jalan hawanya ada benda asing yang merintang aliran hawa. Yang terakhir ini benar, karena trachea dan larynx banyak ditemukan lendir. Hal ini dapat menyebabkan adanya radang trachea dan larynx bagian atas. Keradangan ini merupakan faktor yang mempersulit pernafasan sesekali bersifat nekrotik. Kadang – kadang diikuti pneumonia dan busung air paru-paru yang juga mempersulit pernafasan.

## 3. Gejala Pencernaan

Adanya perubahan-perubahan digesti nyata karena nafsu makan unggas yang terganggu. Terlihat pada tinja yang pada awal penyakit berwarna putih seperti kapur dan padat, tetapi lambat laun menjadi encer dan hijau. Dalam beberapa hari ayam menjadi kurus. Pada seksi terdapat gastritis catarhalis di dalam lambung kelenjar. Tembolok dan lambung otot kosong atau hanya berisi sedikit makanan. Didalam usus terdapat *enteritis et mukopurulenta*, akan tetapi tidak jarang terlihat *enteritis necroticans*. Nekrose biasanya terjadi pada kedua usus buntu yang menyerupai kejadian koksidirosis.

## 4. Gejala Susunan Syaraf Pusat

Gejala gejala syaraf biasanya terjadi bila penyakit sudah berlangsung beberapa hari. Tetapi keadaan ini jarang dijumpai pada permulaan penyakit. Gejala gangguan otak tersebut ditandai dengan ataksia, ayam hilang

keseimbangan atau senantiasa memutar mutar kepalanya, berjalan keliling, berjalan ke arah belakang, kepala diletakkan di atas punggung, serta kelumpuhan. Kebanyakan gejala syaraf tersebut disebabkan adanya degenerasi nekrose didalam otak. Gejala syaraf sering dikelirukan dengan perubahan-perubahan yang ditimbulkan oleh defisiensi vitamin E pada anak ayam. Keadaan ini dapat menyebabkan *ensefalomalasia* dan gejala-gejala klinis tremor dan kelumpuhan yang disebabkan oleh degenerasi sel ganglion dan perlunakan jaringan otak.

#### 5. Gejala Pembuluh Darah

Gangguan ini dibuktikan dengan warna kebiruan pada pial, sesekali folikel-folikel pada indung telur berwarna merah-hitam karena adanya gangguan peredaran darah.

Sedangkan Charles (2000) menambahkan, bahwa *Newcastle disease* (ND) menimbulkan bentuk gejala respirasi berupa edema pada kepala terutama pada daerah sekitar mata dan akan tampak bentukan cincin warna gelap pada mata yang dikarenakan cyanosis dan kurangnya sirkulasi darah pada jaringan yang oedematus serta adanya lendir pada lubang hidung yang diikuti bersamaan dengan gejala neurotropik termasuk tremor pada otot, paralisa kaki atau sayap, tortikolis dan opisthonos. Hal ini juga diikuti penurunan produksi telur dan diare. Tanda klinis yang terjadi akan berbeda tergantung pada hewan yang diserang misalnya pada psittacine atau merpati yang terinfeksi dengan vicerotropik velogenik *Newcastle Disease* akan justru menunjukkan gejala klinis berupa bentuk neurotropik. Perubahan yang tampak secara patologi pada jaringan mucosa proventriculus adalah berupa petechie dan ecchymosa hemorrhagica yang tampak

pada dasar papilla yang terkonsentrasi pada bagian anterior dan posterior dinding proventriculus. Sedangkan pada usus yaitu pada peyer's patches, cecal tonsil dan jaringan limphoid usus akan tampak oedematus, hemorrhagia, dan ulcerasi. Ovarium akan tampak oedematus, hemorragi, atau degenerasi. Yolk peritonitis akan banyak ditemukan pada ayam yang terinfeksi oleh velogenik vicerotropik *Newcastle Disease* (ND), dan bentukan cangkang yang kasar dan abnormal biasanya terjadi pada induk ayam petelur yang telah sembuh dari infeksi.

Tindakan pencegahan yang dilakukan untuk menghindari serangan virus *New Castle Disease* (ND) adalah dengan melakukan vaksinasi baik dengan vaksin aktif maupun vaksin inaktif secara rutin sesuai program vaksinasi, selain itu juga dilakukan usaha peningkatan sanitasi kandang dan lingkungan dengan mencegah adanya pengunjung ataupun hewan liar yang masuk ke dalam kandang disamping juga usaha peternakan harus dikelola dengan baik sehingga memungkinkan suasana nyaman bagi ayam, melalui yaitu penyeimbangan jumlah populasi ayam dengan luas kandang ventilasi kandang yang baik dan sedapat mungkin dilakukan sistem "all in all out".

#### **II.4 Pneumonia**

Menurut Ressay (1984) secara makroskopis diagnosa pneumonia antara lain yaitu :

1. Inspeksi

Perhatikan volume paru paru. Pada Pneumonia dan edema organ paru paru akan membesar. Hal ini dapat dilihat karena pleura pulmonalis tegang. Bila paru

paru diketuk dengan ujung pisau maka jaringan gelombang . Warna bagian – bagian pneumonia biasanya berubah menjadi merah – hitam hingga kelabu.

## 2. Palpasi

Pada palpasi bagian yang mengalami pneumonia akan terasa padat. Jadi bagian ini tidak kenyal lagi.

## 3. Insisi

Apabila pada bagian yang mengalami pneumonia di sayat dan sesudah bidang sayatannya diusap dengan pisau maka pada pneumonia fibrosa berbidang sayatan kering dan berbutir-butir , pneumonia hemorragik, kataral atau purulent memiliki bidang sayatan basah. Pada pneumonia hemarragik cairan ini berwarna merah karena darah. Pneumonia karatal cairan sedikit keruh sedangkan pada pneumonia purulent cairan menyerupai susu-coklat (nanah bercampur darah).

## 4. Uji Apung

Dilakukan dengan cara menggunting jaringan yang disangka mengalami pneumonia lalu dimasukkan dalam air. Pada pneumonia jaringan tersebut akan tenggelam karena mengandung hawa.

Menurut Thomason (1988) berdasarkan distribusi jelas akibat pneumonia maka dapat dibagi antara lain :

### a. Focal Pneumonia

Yaitu jelas akibat pneumonia yang berbentuk foci yang terdiri atas satu atau lebih foci-foci yang memiliki bentuk, ukuran dan letak yang beragam dalam paru-paru yang tidak ada hubungannya dengan bentuk , ukuran, dan pola dari lobulus paru-paru.

b. Lobular Pneumonia

Yaitu lesi pada paru paru yang berhubungan dengan pola anatomi dari lobulus paru paru dan bagian yang bernafas masih lebih luas dari bagian yang mengalami peradangan.

c. Lobar Pneumonia

Yaitu pneumonia dengan lesi atau jejas yang sangat luas dan mengenai satu atau lebih dari satu lobulus paru-paru.

d. Diffuse Pneumonia

Yaitu Pneumonia yang sebagian besar atau keseluruhan dari paru paru terkena radang.

Sedangkan menurut Ressay (1984) Berdasarkan sifat eksudatnya pneumonia dibagi atas :

1. Pneumonia kataral (Pneumonia bereksudat cair)

Yaitu radang pada paru paru yang terlihat sebagai pneumonia lobuler atau lobar dan warnanya merah coklat atau coklat dan bidang sayatannya basah. Etiologi dari pneumonia ini adalah irus atau kombinasi dari virus dan kuman. Perluasan pneumonia ini adalah virus atau kombinasi dari virus dan kuman. Perluasan pneumonia terjadi secara endobronchial dan peribronchial. Didalam septa inter-alveoli jaringan ikat pembuluh giat dan hal ini menyebabkan septa menebal dan kemudian indurasi (pengerasan) daerah paru paru yang tertimpa sehingga sebagai akibat lain terjadi pneumonia antar jaringan (pneumonia interstitialis).

## 2. Pneumonia fibrosa (Pneumonia bercksudat padat)

Radang paru paru yang termasuk dalam radang akut, dangkal dan berfibrin . Pneumonia ini disebut juga pneumonia lobar yang terbagi atas tiga tingkat yaitu :

Tingkat engouement atau arschopfung yaitu tingkatan pada pneumonia fibrosa dimana secara mikroskopis didalam ruang alveoli, didalam septa dan jaringan antar terdapat eksudat yang bersifat sero-kataral, yakni eksudat yang mengandung sedikit leukosit dan eritrosi. Di dalam septa alveoli, kapiler-kapiler memperlihatkan gejala pembendungan (hepermi aktif). Alveoli sebagian besar berisi cairan berserum (edema radang).

Tingkat hepatisasi, tingkatan ini terbagi atas hepatisasi merah, hepatisasi kelabu dan hepatisasi kuning. Hepatisasi merah langsung mengikuti setelah tingkat engouement dimana secara mikroskopis terlihat paru - paru membesar dan merah hitam. Konsentrasi padat, bidang sayatan licin dan apabila paru paru ditekan akan keluar cairan serohemoragik dari bidang sayatan. Didalam tingkat pneumonia ini terbentuk fibrin didalam ruangan alveoli dan didalam septa.

Hepatisasi kelabu, dalam tingkatan ini fibrin boleh dikatakan mengisi seluruh ruangan alveoli dan pembuluh darah didalam septa sekarang ditekan dan ditutup fibrin sehingga paru paru sangat kekurangan darah. Kekurangan darah dan adanya sejumlah besar leukosit leukosit dalam alveoli memberikan warna kelabu pada paru paru.

Tingkat berikutnya adalah tingkat hepatisasi kuning atau kelabu kuning . alam tingkatan ini terlibat bahwa peredaran darah mulai lagi terselenggara. Leukosit yang berbentuk palimorf yang jumlahnya kini mulai memuncak mengalami

perlemakan kemudian runtuh. Hal ini memberikan warna kekuning kuningan pada jaringan paru paru

Tingkatan resolusi atau pengenceran eksudat yang merupakan tingkatan akhir dari pneumonia fibrosa . Dalam tingkatan ini serabut-serabut fibrin terlihat halus, membenkang dan memecah belah menjadi bagian bagian kecil. Selain oleh leukosit polimorf, eksudat padat juga diencerkan dan diangkut oleh sel sel alveolar yang mengelupas dan histiosit-histiosit yang tiba dibagian pneumonia ini melalui jalan darah . Oleh sebab itu bidang sayatan paru paru yang tertimpa mulai basah dan konsistensinya mulai menjadi lunak .Dalam tingkat resolusi eksudat eksudat telah mengencer semuanya dan dikeluarkan dari paru –paru (antara lain dengan batuk).

### **11.5 Tinjauan Tentang Suspensi**

Suspensi adalah bentuk sediaan cair yang didalamnya mengandung bahan obat padat dalam bentuk halus dan tidak larut, terdispersi dalam cairan pembawa. Zat yang terlarut tidak cepat mengendap, jika dikocok perlahan lahan endapan harus segera terdispersi kembali (Zaman, N., 1998). Dapat mengandung zat tambahan (suspensator) yang berfungsi menjaga stabilitas suspensi. Kekentalan suspensi tidak boleh terlalu tinggi agar sediaan mudah dikocok dan di tuang.

Penyimpanan dapat dilakukan dalam wadah tertutup dan disimpan di tempat yang sejuk. Suspensi yang dibuat segar dan mencampur bahan padat dengan cairan pembawa, sebelum digunakan harus memenuhi syarat di atas.

## **BAB III**

# **MATERI DAN METODE**

### **BAB III**

#### **MATERI DAN METODE**

##### **III.1. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan selama dua bulan, mulai akhir bulan Agustus sampai bulan Oktober 2000, bertempat di :

1. Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
2. Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

##### **III.2. Bahan dan Alat Penelitian**

Virus *Newcastle Disease* (ND) yang digunakan dalam penelitian ini adalah tipe mesogenik yaitu kumarov dengan titer  $10^6$  EID<sub>50</sub>/ml yang berasal dari Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Sedangkan jengger (*Crista*) ayam yang digunakan adalah berasal dari jengger (*Crista*) ayam buras yang diperoleh dari pasar tradisional Waru, Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur.

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: desinfektan, antiseptik, aquadest, pakan ayam bentuk crumble, larutan gula, vitachick, keras koran, sekam,  $KmNO_4$ , kapas, formalin, parafin, gliserin, egg albumin, xylol, hematoxylin eosin, amoniak, kanada balsam, alkohol 70%, 80%, 96%, dan alkohol absolut.

Sedangkan alat yang digunakan adalah pipet ukuran 1 ml, gelas ukur, neraca, blender, alat suntik modifikasi (suntik yang bagian ujung jarumnya dipotong), swab atau cotton bud, gunting, tempat pakan dan tempat minum ayam, peralatan seksi (pinset, skapel, gunting, papan seksi), pot, cetakan besi, mikrotomi, cawan petri, gelas obyek, gelas penutup, mikroskop.

### III.3 Metode Penelitian

Dimulai dengan pembuatan suspensi jengger (*Crista*). Jengger (*Crista*) ayam yang diperoleh dikumpulkan dalam satu wadah, dengan terlebih dahulu dibersihkan dengan air mengalir. Kemudian disimpan dilemari pendingin suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ , apabila akan digunakan maka dilakukan thawing dengan suhu kamar lalu dipotong kecil-kecil ukuran dadu kemudian ditambahkan larutan NaCl fisiologish dengan perbandingan sama banyak (gr/ml). Kemudian dimasukkan dalam blender dan diputar sampai benar-benar hancur (konsistensinya lembek seperti bubur). Dengan demikian maka suspensi jengger (*Crista*) ayam sudah siap untuk dipakai.

Selanjutnya Hewan coba sebanyak 25 ekor masing-masing diinfeksi dengan 1 ml ( $10^6$  EID<sub>50</sub>) suspensi virus *Newcastle Disease* (ND) strain kumarov secara peroral. Setelah ayam menunjukkan gejala klinis virus *Newcastle Disease* (ND) yaitu setelah 1 minggu pasca infeksi maka dapat langsung diberikan terapi suspensi jengger (*Crista*) ayam peroral sesuai dengan dosis perlakuan yang diberikan selama 3 minggu kemudian pada hari ke-21 semua Hewan coba dipotong dan diamati perubahan histopatologi paru-parunya.

### III.4 Populasi dan Sampling

Dalam penelitian ini digunakan hewan coba ayam layer CP 909 dari PT Charoen Phokphand Indonesia dengan jenis kelamin jantan sebanyak 25 ekor. DOC ayam layer tersebut dipelihara dan diberikan makanan dengan Par-S (Starter) dan Par-G (Grower). Ayam yang digunakan dalam penelitian ini berumur 3 minggu dengan jumlah 25 ekor yang kemudian dibagi secara acak, menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu :

Perlakuan 1 ( $P_1$ ) : hewan coba tidak diberikan suspensi jengger (*Crista*) ayam dan tidak diinfeksi dengan virus *Newcastle Disease* (ND).

Perlakuan 2 ( $P_2$ ) : hewan coba tidak diberikan suspensi jengger (*Crista*) ayam dan diinfeksi dengan virus *Newcastle Disease* (ND).

Perlakuan 3 ( $P_3$ ) : hewan coba diberikan suspensi jengger (*Crista*) ayam dengan dosis 1,5 gr/ekor/hari dan diinfeksi dengan virus *Newcastle Disease* (ND).

Perlakuan 4 ( $P_4$ ): hewan coba tidak diberikan suspensi jengger (*Crista*) ayam dengan dosis 1gr/ekor/hari dan diinfeksi dengan virus *Newcastle Disease* (ND).

Perlakuan 5 ( $P_5$ ): hewan coba tidak diberikan suspensi jengger (*Crista*) ayam dengan dosis 0.5 gr/ekor/hari dan diinfeksi dengan virus *Newcastle Disease* (ND).

### III.5 Variabel yang diamati

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah perubahan histopatologi dari paru-paru hewan coba setelah dilakukan perlakuan selama 3 minggu.

Persediaan preparat histopatologi paru-paru tersebut diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x dan 400x untuk melihat perubahan yang terjadi. Periksaan sebanyak 5 pandangan. Selanjutnya tiap pandangan diberikan skor sesuai dengan tingkat kerusakan paru-parunya yaitu sebagai berikut :

- 1) Tidak ada kerusakan sel atau jaringan (normal) = 0
- 2) Keradangan pada paru-paru (Pneumonia) ditandai dengan infiltrasi seluser terutama oleh sel limfosit dan penebalan septa alveoli = 1
- 3) Pneumonia, kongesti = 2
- 4) Pnemonia, kongesti, perdarahan = 3
- 5) Pneumonia, kongesti, perdarahan, nekoste = 4

### III.6 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan yang dipakai dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian menggunakan uji Kruskal-Wallis dengan derajat kerusakan paru-paru yang dinyatakan dengan skor menurut Kiess (1989). Bila terdapat perbedaan yang bermakna dilanjutkan dengan uji Z 5% pasang berganda menurut Daniel (1989).

**BAB IV**  
**HASIL PENELITIAN**

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

Penelitian tentang pengaruh suspensi jengger (*Crista*) ayam sebagai antiviral *Newcastle Disease* (ND) terhadap ayam layer yang terinfeksi virus *Newcastle Disease* (ND) ini diamati pada perubahan histopathologi paru-paru ayam layer. Perlakuan dibagi menjadi 5 yaitu kontrol negatif ( $P_1$ ), kontrol positif ( $P_2$ ), perlakuan dosis pengobatan 1,5 gram/ekor/hari ( $P_3$ ), perlakuan dosis pengobatan 1 gram/ekor/hari ( $P_4$ ), perlakuan dosis pengobatan 0,5 gram/ekor/hari ( $P_5$ ). Pengaruh masing – masing perlakuan terhadap skor perubahan histopathologi paru-paru ayam dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Nilai Skor Perubahan Histopathologi Paru-paru Ayam (X Skor) Tertinggi dan Terendah pada masing-masing Perlakuan.**

Perlakuan	Skor Histopathologi	
	Tertinggi	Terendah
$P_1$	0,8	0,4
$P_2$	4,0	3,6
$P_3$	1,8	1,0
$P_4$	2,4	2,0
$P_5$	3,4	2,6

Sedangkan nilai rata-rata skor perubahan histopathologi paru-paru ayam dan simpangan baku dapat dilihat pada tabel 2 sebagai berikut :

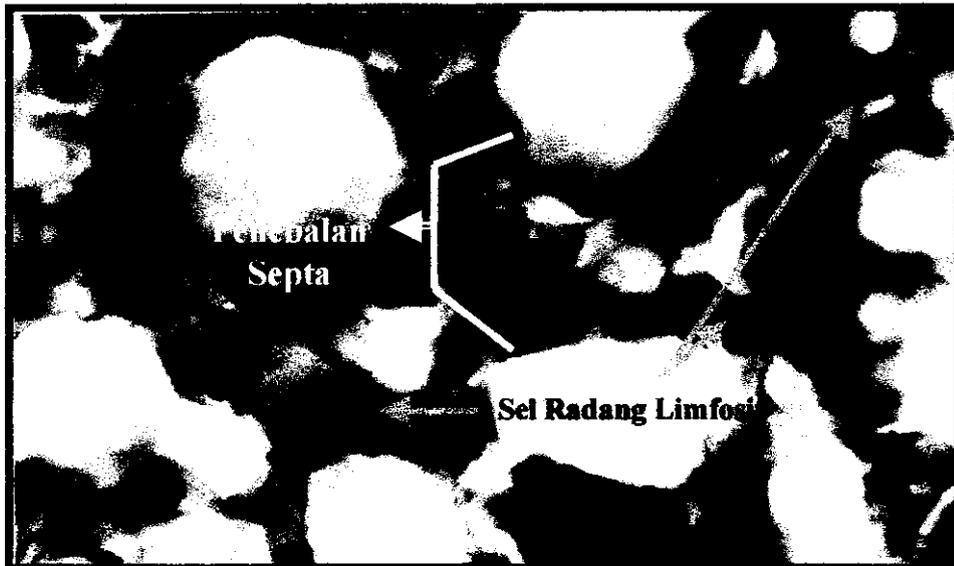
**Tabel 1. Nilai Skor Perubahan Histopathologi Paru-paru Ayam ( $\bar{X}$  skor ) Tertinggi dan Terrendah pada masing-masing Perlakuan.**

Perlakuan	Skor Perubahan Histopathologi $\pm$ SD ( $\bar{X} \pm SD$ )
P <sub>1</sub>	03,0 $\pm$ 1,50 c
P <sub>2</sub>	23,0 $\pm$ 1,41a
P <sub>3</sub>	08,0 $\pm$ 1,54 b
P <sub>4</sub>	13,0 $\pm$ 1,50 ab
P <sub>5</sub>	18,0 $\pm$ 1,58 ab

Keterangan :

Tanda huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p \leq 0,05$ ).

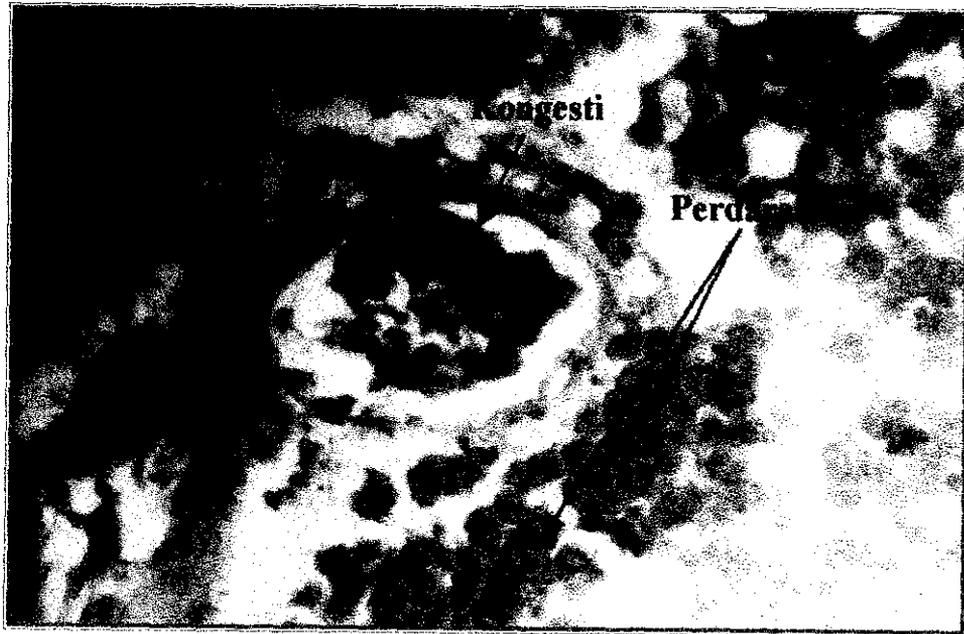
Hasil uji anava menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ( $p \leq 0,01$ ) antar perlakuan baik pada kelompok perlakuan ataupun pada kelompok kontrol. Dan adanya perbedaan efektifitas diantara kelompok perlakuan terapi yaitu perlakuan dengan dosis terapi 1,5 gram/ekor/hari (P<sub>3</sub>), perlakuan dengan dosis terapi 1 gram/ekor/hari (P<sub>5</sub>), dimana pada uji Z didapatkan perlakuan dengan dosis terapi 1,5 gram/ekor/hari berbeda nyata ( $p \leq 0,05$ ) dibandingkan dengan dosis terapi 1 gram/ekor/hari dan dosis terapi 0,5 gram/ekor/hari seperti dapat dilihat pada tabel 2 diatas . Data lengkap dan analisa statistik ada pada lampiran 1-3.



**Gambar 5.** Perubahan Histopatologi Paru-paru Ayam pada Perlakuan ke 3 (Diinfeksi virus *New Castle Disease* dan diberikan Suspensi Jengger Ayam dengan dosis pemberian 1,5 gram/ekor/hari) pada Pembesaran 1000x.



**Gambar 5.** Perubahan Histopatologi Paru-paru Ayam pada Perlakuan ke 5 (Diinfeksi virus *New Castle Disease* dan diberikan Suspensi Jengger Ayam dengan dosis pemberian 0,5 gram/ekor/hari) pada Pembesaran 1000x.



**Gambar 5.** Perdarahan dan Kongesti pada paru-paru ayam penderita penyakit ND dengan Pembesaran 400x.

## **BAB V**

# **PEMBAHASAN**

ayam kerusakan sel yang didapat lebih ringan dibanding kontrol positif. Hal ini disebabkan karena daya kerja zat-zat aktif yang terdapat pada jengger (*Crista*) ayam yaitu senyawa kolagen, glikoprotein, alkaline phosphat dan sulfur glikosaminoglikas (GAGs). Sedangkan pada kelompok kontrol negatif meskipun tanpa diberikan infeksi virus *Newcastle Disease* (ND) dan tanpa diberikan suspensi jengger (*Crista*) ayam masih terjadi kerusakan jaringan paru-paru. Hal ini disebabkan adanya kontaminasi penyakit *Newcastle Disease* (ND) melalui udara (aerogen).

Keradangan timbul sebagai suatu reaksi tubuh terhadap kerusakan jaringan pada daerah sekitar rangsangan, sedangkan reaksi suatu keradangan meliputi : perubahan penampang pembuluh darah dengan akibat meningkatnya aliran darah, perubahan struktural pada pembuluh darah mikro yang memungkinkan protein plasman dan leukosit meninggalkan sirkulasi darah, dan agregasi leukosit di daerah jejas (Robbins dan Kumar, 1992). Dalam hal ini, sel-sel radang yang terangsang akibat infeksi virus *Newcastle Disease* adalah sel radang mononuklear yaitu sel makrofag dan limfosit (Jordon dan Pattison, 1996).

Kerusakan pada jaringan epitel paru-paru baik berupa degenerasi sel ataupun nekrosis sel dan perdarahan pada jaringan epitel paru-paru adalah akibat dari pecahannya pembuluh darah kapiler paru yang disebabkan oleh infeksi virus *Newcastle Disease* (Whiteman dan Bickford, 1996). Sedangkan kongesti akan tampak adanya pelebaran pembuluh darah dan timbunan eritrosit, apabila obstruksi pembuluh darah ini terjadi secara terus menerus akan mengakibatkan terjadinya kematian sel karena kekurangan nutrisi.

Regenerasi epitel dan kelenjar terjadi sempurna setelah hari kesepuluh pada kasus yang ringan, sedangkan pada serangan yang terberat akan membutuhkan waktu sampai tiga minggu meskipun sel epitel memiliki daya regenerasi yang luar biasa besarnya (Smith, et. al., 1974).

Pemberian jengger ayam (*Crista*) pada ayam yang sakit dapat mengaktifkan makrofag. Protein jengger (kolagen) yang merupakan eksogenus antigen mampu mengaktifkan dan berikatan dengan makrofag sehingga makrofag akan melepaskan produk-produk bioaktifnya dimana salah satunya adalah faktor pertumbuhan fibroblas. Faktor pertumbuhan fibroblas akan merangsang pertumbuhan sel fibroblas dan endotel untuk mengadakan pemulihan didaerah radang dengan cara pertumbuhan jaringan granulasi dan tunas tunas pembuluh darah yang akan menggantikan jaringan yang rusak akibat infeksi virus (Robbins dan Kumar, 1992).

Hal tersebut membuktikan bahwa jengger (*Crista*) ayam mampu mengaktifkan makrofag yang secara tidak langsung dapat menurunkan derajat kerusakan jaringan paru paru dengan regenerasi sel, sebagai akibat infeksi virus *Newcastle Disease* yang berkolerasi positif dengan dosis terapi suspensi jengger (*Crista*) ayam dimana dosis tertinggi (1,5 gram/ekor/hari) memiliki derajat kerusakan terendah.

Mekanisme pembangkitan sistem kekebalan tubuh (immunomodulator) yang dihasilkan oleh suspensi jengger (*Crista*) ayam adalah pada kandungan biokimianya antara lain yaitu : kolagen, glikoprotein, Sulfat Glikosaminoglikan (GAGs) , alkaline phospat, dan asam hialoronat.

## **BAB VI**

# **KESIMPULAN DAN SARAN**

**RINGKASAN**

## RINGKASAN

**Faizal Zakaria,** Pengaruh Pemberian Suspensi Jengger (*Crista*) Ayam sebagai antiviral *Newcastle Disease* terhadap Perubahan Histopathologi Paru-paru ayam layer yang diinfeksi dengan Virus *Newcastle Disease* (ND).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui manfaat suspensi jengger ayam (*Crista*) dalam pengobatan *Newcastle Disease* (ND) pada ayam layer ditinjau dari perubahan histopathologi paru-paru ayam layer.

Hewan coba ayam layer sebanyak 25 ekor dengan umur 3 minggu digunakan dalam penelitian ini. Selama percobaan anak ayam tersebut diberi pakan komersial Par-S dan Par-G. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (Complete Random Design) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan terapi P<sub>3</sub> dengan dosis terapi 1,5 gram/ekor/hari, P<sub>4</sub> dengan dosis terapi 1 gram/ekor/hari dan P<sub>5</sub> dengan dosis terapi 0,5 gram/ekor/hari, dan perlakuan kontrol positif (P<sub>7</sub>) diinfeksi dengan virus *Newcastle Disease* (ND) dengan dosis infeksi 1 ml ( $10^6$  EID<sub>50</sub>), dan tanpa dilakukan terapi, sedangkan pada kontrol negatif (P<sub>1</sub>) tanpa diberikan perlakuan apapun.

Dua puluh empat jam setelah infeksi kelompok hewan coba pada perlakuan terapi mulai dilakukan pengobatan sesuai dosis terapi. Pengobatan dilakukan sekali sehari selama 21 hari dan pada hari ke 22 keseluruhan hewan coba dibunuh. Setelah dibunuh hewan coba dibedah dan diambil paru-parunya untuk dibuat preparat histopatologi lalu diamati perubahan histopatologinya dan dilakukan skoring.

## **DAFTAR PUSTAKA**

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, AK., Andrew, H.L., and Jordan, S.P., 1997, Cellular and Molecular Immunology. 3<sup>rd</sup> Ed., W.B. Saunders Company. A Division of Harcourt Brace and Company, Philadelphia.
- Alfraz, F., Yamato, and Okada, I., 1994, Divergen Selection Delayed type Wattle Reaction of Domestic Fowls to BCG antigen. Br. Science, 35 (1): 47-58.
- Alfred, M., Peter, R., and Steinhem, S., 1972, Avian Anatomi Integumentum. Part II. By The Superintendent of Document. U.S. Goverment Printing Office, Washington D.C.
- Bailey, CA., Srinivasan, L.J., and Mc Geachin, R.B., 1996, The effect of Ethoxyquin on Tissue Peroxydation and Immune Status of Singlw Comp White Leghorn Cockerels. Departement of Poultry Science. Texas A & M University System. Collage Station. USA.
- Baratawidjaja, KG., 1996, Immunologi dasar Edisi 3. Bab 2. Hal 8 . Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Brunner, D.E., Gillespie J.H., 1973, Hagan's Infection Disease of Domestic Animal. 6<sup>th</sup>. page 196 – 213 Ed Cornell University Press. Ithaca-London.
- Buxton, A., and Fresser G., 1977, Animal Microbiology. Vol. 2. page 552-527. Blackwell Scientific Publications Oxford London Edenburg Melbourne.
- Charles W.B., 2000. Clinical Sign of Exotic Newcastle Disease. Southeast Poultry Research Laboratory, Athens, GA

- Daniel, W.W., 1989, Statistik non Parametrik Terapan. Gramedia. Jakarta. Hal 258-271, 272-280.
- Direktorat Jendral Peternakan., 1981. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Ernawati, R., Sulistyanto, R., 1987. Ilmu Penyakit Viral Veteriner. Jilid I. Laboratorium Virologi dan Imunologi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ernawati, R., Sulistyanto, R., Raharjo A.P., dan Sianita, N., 1989. Ilmu Penyakit Viral Veteriner. Jilid II. Laboratorium Virologi dan Imunologi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ernawati, R., Sulistyanto, R., 1991. Virologi Veteriner, Laboratorium Virologi dan Imunologi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Fenner J., 1995, Virology Veteriner Ed.3<sup>rd</sup> Ed., Academic Press Inc. San Diego. California. U.S.A.
- Gordon, D., Jordan, B., 1983, Poultry Disease, 2<sup>nd</sup> Ed., University Book Publishing Company. Bailery Tindal, London.
- Hanson, R.P., 1978, Newcastle Disease in Disease Poultry. 7<sup>th</sup> Ed., Iowa State University Press U.S.A.
- Hanson, R.P., 1980, Newcastle Disease Isolation and Identification of Avian Pathologist. 2<sup>nd</sup> Ed., page 63-66, Ed. Creative Printing Company. Inc. New York.

- Jordon, F.T.W., and Pattison, M., 1996, Poultry Disease Fourth Edition. Editors W.B. Saunders Company Ltd. London. England.
- Kiess, O.H., 1989, Statistical Concepts for The Behaviour Sciences. Part 2, Capter 15, page 453-485. Framingham State Collage.U.S.A.
- Lehninger, A.L., 1982, Basic Biochemistry, Part I. Page 178-182. The John Hopkins University of Medicine. U.S.A.
- Lubert, T., 1988, Biochemistry.3<sup>rd</sup> Ed.,W.H. Freeman and Company, NewYork.
- Manna, F., Dentini, M. Desideri, P., Depita, O., Mortilia, E., and Maras, B., 1999, Comparative Chemical Evaluation of Two Comercially Avaluable Derivates of Hyaloronic Acid (Hyaloform Rooster Combs and Restylane from Streptococcus) Used for Soft Tissue Augmentation. Departement of Chemical and Technologycal study of Biologically active Substance. University Ia Sapienza. Romcc. Italy.
- Merchant, I.A., and Packer, R.A., 1971, Veterinary Bacteriology and Virology. 8<sup>th</sup>.Ed. Page 670-674. The Iowa State University Press. Ames-Lowa U.S.A.
- Michelle, A., 1997, The Site, Collagens and Phases of Wound Healing, Jhonson and Jhonson Medical Arlington. Texas. U.S.A.
- Myers, J., 1993, Stucture and Function of Basement Membrant Zone Collagens. Associate Professor of Biochemistry. Anat-Chem.Press.U.S.A
- Nakano, T., Imai, S., Koga, T., and Sim J.S., 1996. Light Microscopic Histochemical and Immunohistochemical of Sulfate glikosaminoglikan in the Rooster Comb and Wettle Tissues, J anat, Dec, 189 (Pt 3): 630-650 Departement of

- Agricultural, Food and Nutritional Science . University of Alberta. Edmonton.  
Canada.
- Nugroho, E., 1989. Penyakit Ayam di Indonesia. Jilid II. Eka Offset. Yogyakarta.
- Poultry Indonesia, 1992. Mengayun langkah Menggebrak Wabah. No. 144. Halaman  
10-13.
- Ressang, A.A., and Kumar, S., 1984 . Patologi Veteriner. Edisi II. Institute Pertanian  
Bogor. Halaman 10-13.
- Robbins, W., and Kumar, S., 1992. Buku ajar Patologi. Edisi 4. Halaman 53-65.  
Penerbit WGC. Jakarta.
- Smith, H.T., Jones, J.C., and Duncan, R.D., 1974. Veterinary Pathology. Chapter 10.  
Page 384-525. Philadelphia U.S.A.
- Sofyan, S.D., 1980. Imunisasi Terhadap Newcastle Disease dengan Permasalahannya  
Ayam, Telur. No 16 Tahun X. Halaman 17-19.
- Thomas, R.G., 1988. Special Veterinary Patologi. Page 88-115, B.C Decker  
Inc. Ontario. Canada.
- Volk, W.A., 1992. Basic Microbiology. 7<sup>th</sup> Ed., Harper Collin's Publisher Inc. New  
York.
- Wagner, H., and Wolf, P., 1976, New Natural Product and Plants Drugs with  
Pharmacological ; Biologycal or Terapeutycal Activity.
- Whiteman, C.F and Bickford. J., 1996. Avian Disease Manual, Third Edition. A.  
American Association of vian Pathologist Kendall/Hunt Publishing Cmpany,  
Dubuque. Iowa. U.S.A.

Zaman, N., 1998. *Ars Prescibendic Resep yang Rasional 2*. Bab 7. Hal 88-92,  
Airlangga University Press. Surabaya.

**LAMPIRAN**

**Lampiran I. Tingkat Perubahan Histopathologi Paru-paru Ayam dalam lima kali pandangan.**

p	U	TINGKAT PERUBAHAN																			
		I				II				III				IV				V			
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
P I	1	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
P 2	1	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P 3	1	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-
	2	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
	3	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
	4	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-
	5	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-
P 4	1	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-
	2	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-

	3	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	
	4	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-
	5	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-
<b>P</b>	1	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	
	5	2	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
	3	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	4	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	
	5	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-

Keterangan :

P<sub>1</sub> : Kelompok Kontrol negatif yaitu kelompok ayam yang tanpa diinfeksi virus ND dan tanpa diberikan suspensi jengger ayam.

P<sub>2</sub> : Kelompok Kontrol positif yaitu kelompok ayam yang diinfeksi virus ND dan tanpa diberikan suspensi jengger ayam.

P<sub>3</sub> : Kelompok ayam yang diinfeksi virus ND dan tanpa diberikan suspensi jengger ayam dengan dosis 1 gr/ekor/hari.

P<sub>4</sub> : Kelompok ayam yang diinfeksi virus ND dan tanpa diberikan suspensi jengger ayam dengan dosis 1,5 gr/ekor/hari.

P<sub>5</sub> : Kelompok ayam yang diinfeksi virus ND dan tanpa diberikan suspensi jengger ayam dengan dosis 2 gr/ekor/hari.

P : Perlakuan

B: Degenerasi

E: Nekrose

U: Ulangan

C: Pendarahan

Lampiran 2. Skor Histopathologi Paru-paru Ayam dalam lima kali pandangan

P	U	LAPANGAN PANDANG					JUMLAH SKOR	RATA <sup>2</sup> SKOR
		I	II	III	IV	V		
P <sub>1</sub>	1	0	1	1	1	0	3	0,6
	2	1	1	1	0	1	4	0,8
	3	0	1	0	1	0	2	0,4
	4	1	1	0	0	1	3	0,6
	5	0	0	1	1	0	2	0,4
P <sub>2</sub>	1	3	4	3	4	4	18	3,6
	2	3	4	4	4	4	19	3,8
	3	4	4	4	4	4	20	4,0
	4	4	4	4	4	4	20	4,0
	5	4	4	4	4	4	20	4,0
P <sub>3</sub>	1	1	2	2	2	2	9	1,8
	2	2	2	1	1	2	8	1,6
	3	0	1	2	1	1	5	1,0
	4	2	1	1	2	1	7	1,4
	5	1	2	2	2	2	9	1,8
P <sub>4</sub>	1	2	3	2	1	2	10	2,0
	2	2	2	2	2	3	11	2,2
	3	3	2	1	3	3	12	2,4

<b>P<sub>4</sub></b>	4	2	3	2	2	3	12	2,4
	5	1	2	2	2	3	10	2,0
<b>P<sub>5</sub></b>	1	3	3	2	2	3	13	2,6
	2	2	2	4	3	4	15	3,0
	3	2	2	4	3	4	14	2,8
	4	3	3	4	3	3	16	3,2
	5	4	3	4	3	3	17	3,4

**Lampuran 3. Rata-rata dan Rank Skor Histopathologis Paru-paru Ayam**

ULANGAN	P <sub>1</sub>		P <sub>2</sub>		P <sub>3</sub>		P <sub>4</sub>		P <sub>5</sub>	
	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P
1	0.6	3.5	3.6	21	1.8	9.5	2.0	11.5	2.6	16
2	0.8	5	3.8	22	1.6	8	2.2	13	3.0	18
3	0.4	1.5	4.0	24	1.0	6	2.4	14.5	2.8	17
4	0.6	3.5	4.0	24	1.4	7	2.4	14.5	3.2	19
5	0.4	1.5	4.0	24	1.8	9.5	2.0	11.5	3.4	20
$\Sigma R$	15		115		40		65		90	
Rata <sup>2</sup> R	3		23		8		13		18	
$\Sigma R^2$	225		13225		1600		4225		8100	
SD	1,50		1,41		1,54		1,5		1,58	

Keterangan :

S: Rata-rata skor hitopathologi Paru-paru.

R: Rank

$\Sigma R$ : Jumlah rank

Rata<sup>2</sup> Rank : Rata-rata rank

$\Sigma R^2$  : Jumlah Rank

$\Sigma R^2$  : Jumlah Rank Kuadrat

Penilaian peringkat (rank) diperoleh dari mengurutkan nilai skor dari mengurutkan nilai skor histopathologi mulai dari data yang terkecil dibagi dengan banyak skor histopathologi paru-paru tersebut, maka diperoleh :

Nilai rata-rata histopathologi 0,4 mempunyai rank :

$$\frac{1+2}{2} = 1,5$$

Nilai rata-rata histopathologi 0,6 mempunyai rank :

$$\frac{3+4}{2} = 1,6$$

Nilai rata-rata histopathologi 1,8 mempunyai rank :

$$\frac{9+10}{2} = 9,5$$

Nilai rata-rata histopathologi 2,0 mempunyai rank :

$$\frac{11+12}{2} = 9,5$$

Nilai rata-rata histopathologi 2,4 mempunyai rank :

$$\frac{14+15}{2} = 14,5$$

Nilai rata-rata histopathologi 4,0 mempunyai rank :

$$\frac{23+24+25}{3} = 24$$

Selanjutnya dari hasil diatas dapat diketahui harga H hitung dengan rumus :

$$H \text{ hitung} = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{j=i}^k \frac{R_j^2}{n_j} - 3(N+1)$$

Keterangan : N = Jumlah seluruh sample histopathologi

n = Jumlah ulangan dalam tiap perlakuan

R<sub>j</sub> = Jumlah R<sup>2</sup> dari perlakuan i sampai j

$$\begin{aligned} H \text{ hitung} &= \frac{12}{25(25+1)} \left( \frac{225+13225+1600+4225+8010}{5} \right) - 3(25+1) \\ &= 0,0185 \times 5475 - 78 \end{aligned}$$

- 22,2900

Karena dalam data terdapat angka kembar, maka harus dilakukan koreksi terhadap hasil H hitung agar didapat hasil yang lebih benar.

Rumus H hitung koreksi :

$$H \text{ hitung terkoreksi} = \frac{H \text{ hitung}}{1 - \frac{T}{N^2 - N}}$$

Nilai T diperoleh dari :  $T = t^3 \cdot t$

t = banyaknya angka kembar

$$T_{1,5} = 2^3 - 2 = 6$$

$$T_{3,5} = 2^3 - 2 = 6$$

$$T_{9,5} = 2^3 - 4 = 6$$

$$T_{14,5} = 2^3 - 2 = 6$$

$$T_{24} = 3^3 - 3 = 24$$

$$\Sigma t^3 \cdot t = 54$$

$$H \text{ hitung terkoreksi} = \frac{23,2875}{1 - \frac{54}{25^3 - 25}} = 23,3684$$

$$db = t - 1$$

$$db = 5 - 1$$

$$= 4$$

Untuk db = 5 , H tabel (0,05) = 9,488

H tabel (0,01) = 13,277

H hitung > H tabel (0,01), maka terdapat perbedaan yang sangat nyata antara kelompok kelompok perlakuan. Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok tersebut maka dilakukan uji Z.

### Uji Z atau uji Pasangan Berganda

Untuk mengetahui urutan tingkatan perubahan hitopathologi paru - paru ayam diantara kelima kelompok perlakuan, maka dilanjutkan dengan Uji Z atau Uji Pasangan berganda.

$$|R_i - R_j| \leq Z \sqrt{\frac{k(N - (N^2 - 1) - (\sum t^2 - t))}{6N(N - 1)}}$$

Keterangan : R = Nilai rata-rata kelompok dalam suatu kelompok perlakuan

K = banyaknya perlakuan

T = banyaknya angka kembar dalam satu nilai skor

N = banyaknya sample

Untuk tingkat kesalahan  $\alpha = 0,05$  dengan k = 5

$$\frac{\alpha}{k(k-1)} = \frac{0,05}{5(5-1)} = 0,0025$$

jadi Z (0,05) = 2,81

Perhitungan Z (0,05) :

$$= 2,81 \sqrt{\frac{5 \cdot 25 - (25^2 - 1) - 102}{6 \cdot 25 \cdot (25-1)}}$$

$$= 12,20$$

Untuk tingkat kesalahan  $\alpha = 0,01$  dengan k = 5

$$\frac{\alpha}{k(k-1)} = \frac{0,01}{5(5-1)} = 0,0005$$

jadi Z (0,01) = 3,29

Perhitungan Z (0,01) :

$$= \frac{3,29 \sqrt{5,25 (25^2 - 1) - 54}}{6,25(25-21)}$$

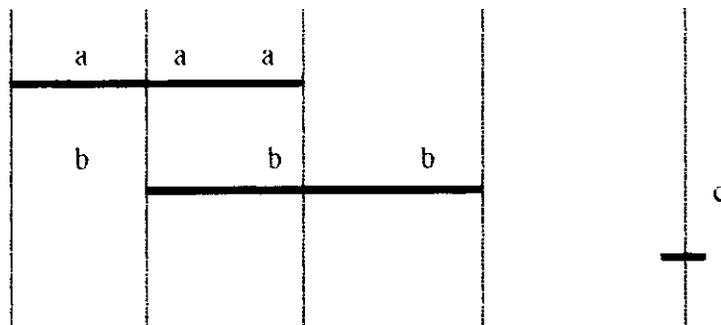
$$= 15,29$$

**Analisis Statistik Skor Histopathologi Paru –paru Ayam**

RANK	X	X-R <sub>1</sub>	X-R <sub>2</sub>	X-R <sub>3</sub>	X-R <sub>4</sub>	Uji Z	
						0,05	0,01
R <sub>2a</sub>	23,0	20,0**	14*	15,0*	10,0	13,06	15,29
R <sub>5 ab</sub>	18,0	15,0*	10,0	05,0	-		
R <sub>4 ab</sub>	13,0	10,0	05,0	-	-		
R <sub>1 b</sub>	08,0	05,0	-	-	-		
R <sub>1 c</sub>	03,0	-	-	-	-		

**Notasi Skor Histopathologis Paru paru Ayam**

R<sub>2</sub>      R<sub>5</sub>                  R<sub>4</sub>                          R<sub>3</sub>                                  R<sub>1</sub>



Keterangan : Perlakuan R<sub>3</sub> merupakan terapi menghasilkan kerusakan jaringan kecil yang berbeda nyata dengan perlakuan terapi R<sub>4</sub> dan R<sub>5</sub>

#### **Lampiran 4. Teknik Pembuatan Preparasi Histopathologi**

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

Tujuan : Mencegah terjadi perubahan post mortem, mengeraskan bahan untuk memudahkan pemotongannya, membunuh kuman-kuman, mempertinggi afinitas protoplasma terhadap bahan-bahan cat tertentu.

Reagen : Formalin 10%

Cara kerja: Paru-paru yang telah diambil dicuci dengan air mengalir, kemudian dimasukkan ke dalam formalin 10 % sekurang-kurangnya 24 jam setelah pengambilan.

##### **2. Dehidrasi dan Penjernihan**

Tujuan : Menarik air dari jaringan dan membersihkan serta menjernihkan jaringan.

Reagen : Alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, alkohol absolut I, II, III, xylol I dan II

Cara kerja: Paru-paru yang telah dicuci dengan air kemudian dimasukkan ke dalam reagen dengan urutan alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, alkohol absolut I, II, III, xylol I dan II yang masing-masing dilakukan selama setengah jam.

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

Tujuan : Menginfiltrasikan jaringan dengan parafin, parafin akan menembus ruangan antar sel sehingga lebih tahan terhadap pemotongan.

Reagen : Parafin I dan II

Cara kerja : Jaringan dimasukkan kedalam parafin I yang sudah mencair, kemudian dimasukkan kedalam oven selama kurang lebih setengah jam. Selanjutnya dimasukkan kedalam parafin II dan dimasukkan kedalam oven selama setengah jam pada suhu 60° C.

##### **4. Pembuatan Balok Parafin**

Tujuan : Jaringan mudah dipotong.

Reagen : Parafin cair

Cara kerja : Beberapa cetakan besi yang sudah diolesi gliserin dipersiapkan dengan maksud untuk mencegah lekatnya parafin pada cetakan. Kemudian jaringan paru-paru dimasukkan dengan pinset kedalamnya, diberi tanda pada masing-masing organ dan ditunggu sampai parafin membeku.

#### 5. Pengirisan tipis

Tujuan : Memotong jaringan setipis mungkin agar mudah dilihat di mikroskop.

Alat : Organ yang sudah diblok dimasukkan kedalam holder, kemudian dipotong dengan mikrotomi setebal 3 - 7 mikron. Diambil dan dicelupkan air hangat dengan suhu 20° C - 30° C hingga jaringan mengembang dengan baik.

#### 6. Pewarnaan

Tujuan : Memudahkan melihat perubahan jaringan.

Reagen : Xylol I dan II, alkohol absolut I dan II, alkohol 96%, 90%, 80%, 70%, hemaktosilin eosin.

Cara kerja : Dilakukan dengan metode Harris, jaringan yang telah dikeringkan dimasukkan xylol I selama tiga menit dengan tempat khusus dan selama satu menit pada xylol II, selanjutnya alkohol absolut I dan II, alkohol 96%, 90%, 80%, 70% dan air kran masing-masing satu menit, kemudian zat warna HE selama lima menit sampai sepuluh menit, aquadest dan setengah menit pada alkohol 70%, 80%, dan satu menit pada alkohol 96%, alkohol absolut I dan II, terakhir selama dua menit dalam xylol I, lalu dibersihkan dari sisa-sisa pewarnaan.

#### 7. Penutupan sediaan

Gelas obyek penutup dengan gelas penutup yang sebelumnya telah ditetesi dengan canda balsam.

#### 8. Pemeriksaan Mikroskopis

Dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100 kali, 400 kali, dan 1000 kali.