

DIAGNOSA VETERINER



ISSN. 0216-14864

BULETIN

Volume 24 Nomor 1 Tahun 2025

Balai Besar Veteriner Maros | Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan | Kementerian Pertanian

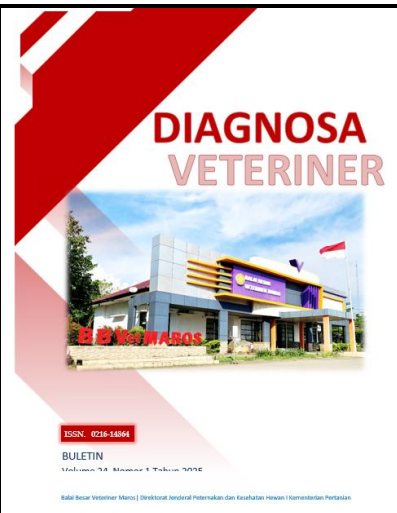
Alamat Redaksi:

Balai Besar Veteriner Maros
Jl. DR. Ratulangi, Maros, Sulawesi Selatan 90514

Website:

<https://bbvetmaros.ditjenpkh.pertanian.go.id/>

Chat Center: 085156438764



Diagnosa
Veteriner

Vol. 24

No. 01

Hal. 1-113

Maros
Des 2025

ISSN.
0216-1486

Dewan Redaksi

Pembina : drh. H. Agustia, M.P
Pengarah : drh. Dini Marmansari
Penanggung Jawab : drh. Wahyuni, M.Kes
Ketua : drh. Wiwik Dariani, M.Sc
Sekretariat : Suryani Gesha Utami, AMd
Mesya Vidya, A.Md.S.I

Periode Terbit: 2 kali setahun (Juni dan Desember)

Terbit Pertama Kali: April 2002

Jurnal Teknisia terbit pertama kali pada bulan Mei 2000. Bulletin Diagnosa Veteriner merupakan jurnal ilmiah berkala yang diterbitkan dua kali setahun oleh Tim Kerja Informasi Veteriner, Balai Besar Veteriner Maros, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, yang berisi artikel-artikel bidang investigasi veteriner, pengujian dan diagnosa penyakit hewan, kesehatan masyarakat veteriner, kajian epidemiologis, pengembangan teknik diagnose penyakit hewan, review ilmiah dan artikel ilmiah populer di bidang veteriner. Buletin Diagnosa Veteriner difokuskan pada artikel-artikel yang berasal dari hasil-hasil surveilans epidemiologis, penelitian laboratoris, telaah ilmiah, dan kajian pustaka yang ditambah dengan pemikiran penerapan pada kasus-kasus tertentu.

Pengantar Redaksi

Puji dan syukur kita panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wata'ala, atas segala nikmat dan hidayah yang diberikan kepada kita sehingga Buletin Diagnosa Veteriner dapat kembali terbit. Penerbitan bulletin diagnose veteriner volume 24 Nomor 01 tahun 2024 kali ini menyajikan 6 tulisan ilmiah. Tulisan ilmiah yang tersaji merupakan hasil kajian penembangan metode, pengambilan sampel, dan penyidikan kasus yang telah dilakukan oleh pegawai Balai Besar Veteriner Maros.

Dewan redaksi mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari para pembaca demi perbaikan bulletin ini kedepannya. Akhir kata, semoga tulisan yang tersaji pada bulletin ini dapat bermanfaat bagi para pembacanya.

Salam hangat kami,

Dewan Redaksi

DAFTAR ISI

Pengembangan Metode Pengujian Histopatologi dan Imunohistokimia Penyakit Avian Influenza pada Ayam	1
Pengambilan Sampel Cairan Higroma pada Sapi di Kabupaten Polewali Mandar dan Pinrang untuk Pengujian Brucellosis	14
Penyidikan Kasus Terduga Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) di Kabupaten Gowa Provinsi Sulawesi Selatan Bulan Desember Tahun 2024	23

Pengembangan Metode Pengujian Histopatologi dan Imunohistokimia Penyakit Avian Influenza pada Ayam

Wahyuni, Fitriah Idris , Faradhillah, Pitriani , Supri , Sukri

Balai Besar Veteriner Maros

Intisari

Avian Influenza (AI) merupakan penyakit viral menular yang menyerang unggas dan berpotensi zoonosis. Diagnosa cepat dan akurat sangat penting dalam melakukan pengendalian dan pencegahan penyakit. Metode pengujian yang umum digunakan untuk mendiagnosa penyakit AI adalah deteksi molekuler (RT-PCR) dan serologi (HA/HI). Selain metode tersebut, diagnosa AI bisa dilakukan dengan metode histopatologi dan imunohistokimia (IHK) sebagai pendukung diagnosis dan penelusuran patogenesis. Pengembangan metode histopatologi bertujuan untuk mengidentifikasi lesi patognomonis pada jaringan akibat infeksi AI, seperti nekrosis epitel saluran pernapasan, kongesti, perdarahan, dan infiltrasi sel radang pada organ target (otak, paru-paru, limpa, proventrikulus, vial). Sedangkan metode IHK dikembangkan untuk mendeteksi antigen virus influenza A (protein nukleoprotein/NP atau hemagglutinin/HA) secara spesifik di dalam jaringan yang terinfeksi dengan menggunakan antibodi monoklonal maupun poliklonal.

Kata kunci : AI, diagnosis, IHK, patogenesis, virus

Abstract

Avian Influenza (AI) is a contagious viral disease that affects poultry and has zoonotic potential. Rapid and accurate diagnosis is essential for controlling and preventing the disease. Common diagnostic methods for AI include molecular detection (RT-PCR) and serology (HA/HI). In addition to these methods, AI diagnosis can be supported by histopathology and immunohistochemistry (IHC) to aid in diagnosis and trace pathogenesis. The development of histopathology aims to identify pathognomonic lesions in tissues resulting from AI infection, such as respiratory epithelial necrosis, congestion, hemorrhage, and inflammatory cell infiltration in target organs (brain, lungs, spleen, proventriculus, comb). Meanwhile, the IHC method is developed to specifically detect influenza A viral antigens (nucleoprotein/NP or hemagglutinin/HA proteins) within infected tissues using monoclonal or polyclonal antibodies.

Keywords: AI, diagnosis, IHC, pathogenesis, virus

Pendahuluan

Avian Influenza (AI) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh virus Avian Influenza (AIV) dan terbagi atas tiga tipe berdasarkan perbedaan antigen pada protein inti (nucleoprotein) dan protein matriks yaitu tipe A, B, dan C. Virus influenza tipe A dapat menginfeksi berbagai spesies unggas, mamalia, dan manusia, dan merupakan patogen utama yang berperan dalam pandemi influenza di seluruh dunia (Isnawati, et al. 2020). AIV *highly pathogenic* (HPAI) menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang tinggi dan sering menimbulkan wabah, sedangkan semua sub tipe virus dikategorikan sebagai *low pathogenic* (LPAI) menyebabkan gejala ringan atau tidak memiliki gejala pada unggas yang terinfeksi (Alexander, 2000; Harimoto and Kawaoka, 2001).

Tingkat penyebaran penyakit AI sangatlah tinggi sehingga identifikasi cepat dan akurat menjadi kunci dalam upaya pencegahan serta pengendalian penyebaran penyakit ini. Metode molekuler seperti RT-PCR telah menjadi standar emas dalam diagnosis AI, namun teknik tersebut memerlukan fasilitas laboratorium yang relatif maju dan biaya tinggi. Sebagai alternatif, metode histopatologi dan imunohistokimia (IHK) dapat dikembangkan untuk memberikan gambaran perubahan jaringan serta mendeteksi antigen virus secara *in situ*.

Diagnosis dengan metode histopatologi memberikan gambaran morfologi jaringan yang rusak, sedangkan IHK dapat mendeteksi keberadaan antigen virus secara spesifik. Oleh karena itu, penting dilakukan pengembangan metode untuk meningkatkan akurasi diagnosis berbasis jaringan. Artikel ini membahas pengembangan dan optimalisasi metode histopatologi serta IHK untuk mendukung diagnosis dan penelitian AI.

Materi dan Metode

1. Tujuan

Mengembangkan dan mengoptimalkan metode histopatologi dan imunohistokimia untuk deteksi penyakit Avian Influenza pada jaringan ayam secara morfologis dan molekuler.

2. Tempat dan Jadwal Pelaksanaan

Pelaksanaan pengembangan metode AI di Laboratorium Patologi dan Toksikologi Balai Besar Veteriner Maros (BBV Maros) dilakukan pada tanggal 25-28 juli 2025 untuk uji histopatologi dan uji IHK pada tanggal 1-4 juni 2025.

3. Bahan dan Metode

A. Bahan

- Spesimen berasal dari ayam dengan suspek AI yang diambil jaringan otak, paru-paru, trakea, limpa, proventrikulus, dan vial sebagai jaringan pridileksi virus AI yang masuk ke BBV Maros dengan nomor epidemiologi AR730801250078.
- Reagen fiksasi (formalin 10%)
- Reagen histologi (xylene, ethanol, hematoksilin, eosin)
- Antibodi primer anti-AI (anti-NP Influenza A)
- Antibodi sekunder terkonjugasi (HRP)
- DAB (diaminobenzidin)
- Citrate buffer (pH 6) untuk antigen retrieval
- PBS
- Tween 20

B. Alat

- *Fume hood*
- *Mesin processing*
- *Embedding center*
- Mikrotom
- *Tissue float bath*
- Inkubator
- *Slide Stainer*
- Mikroskop cahaya
- Rak pewarnaan
- Slide kaca berlapis

4. Prosedur Kerja

1.1. Pemeriksaan Histopatologi

- a) Fiksasi jaringan dalam formalin 10% selama minimal 24 jam.
- b) Spesimen yang dipilih untuk pemeriksaan, dipotong setebal 0.5-1 cm dan masukkan ke *tissue casset*
- c) Pemrosesan jaringan (dehidrasi, clearing, infiltrasi parafin) dengan menggunakan mesin *processing*
- d) Pembuatan blok parafin pada *Embedding center* dan pemotongan jaringan (3-5 μm) menggunakan Mikrotom
- e) Pewarnaan HE (Hematoksilin-Eosin) dilakukan dengan bantuan *Slide Stainer*
- f) Kemudian dilakukan *mounting slide*
- g) Pengamatan morfologi jaringan di bawah mikroskop cahaya.

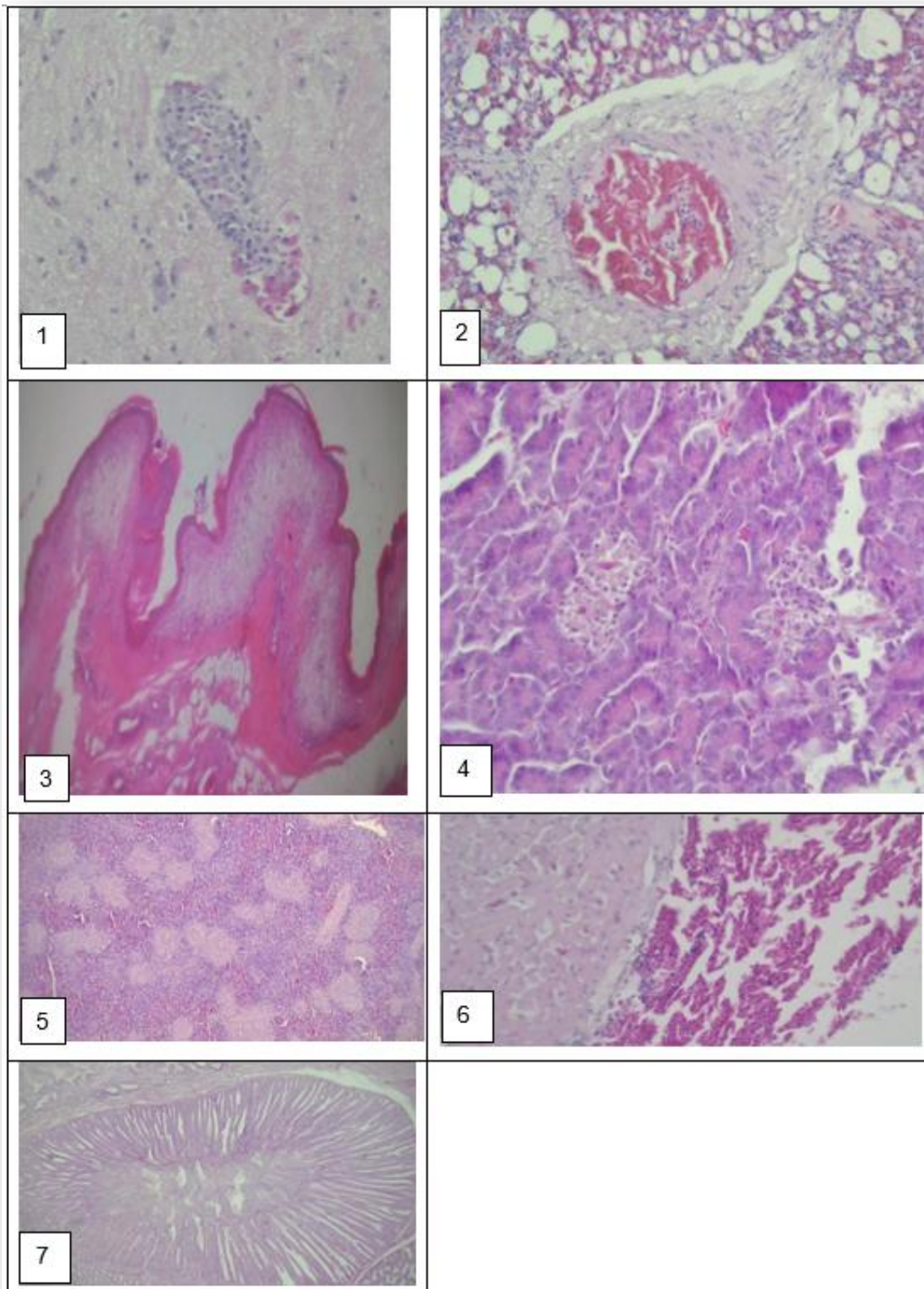
1.2. Pemeriksaan Imunohistokimia (IHK)

1. Deparafinisasi dan rehidrasi potongan jaringan dengan xylene dan ethanol bertingkat masing-masing selama 2 menit
2. Antigen retrieval menggunakan citrate buffer pH 6 (pemanasan 20 menit).
3. Blokade peroksidase endogen (H₂O₂ 3%) dan blokade non-spesifik (serum normal).
4. Inkubasi antibodi primer (anti-NP Influenza A) dengan titer 2×10^{-2} .
5. Inkubasi antibodi sekunder (HRP-conjugated).
6. Pewarnaan menggunakan DAB.
7. *Counterstain* dengan hematoksin dan mounting.
8. Observasi hasil pewarnaan di bawah mikroskop.

Hasil

Histopatologi

Pada pemeriksaan histopatologi ditemukan perubahan vasculitis, perivascular cuffing (PVC) dan gliosis yang bersifat multifocal pada otak dengan derajat sedang (Gambar 1). Ditemukan kongesti, perdarahan, dan nekrotik pembuluh darah pada paru (Gambar 2). Pada vial, khas ditemukan deskuamasi dan degenerasi sel epitel (Gambar 3). Lesi lainnya adalah nekrotik Pulau Langer Hans pada pankreas (Gambar 4) dan deplesi limfosit dengan disertai nekrosa follicular (Gambar 5). Serta eritrolisis pada jantung (Gambar 6) dan ditemukan infiltrasi limfosit dan nekrotik moderat pada proventrikulus (Gambar 7).

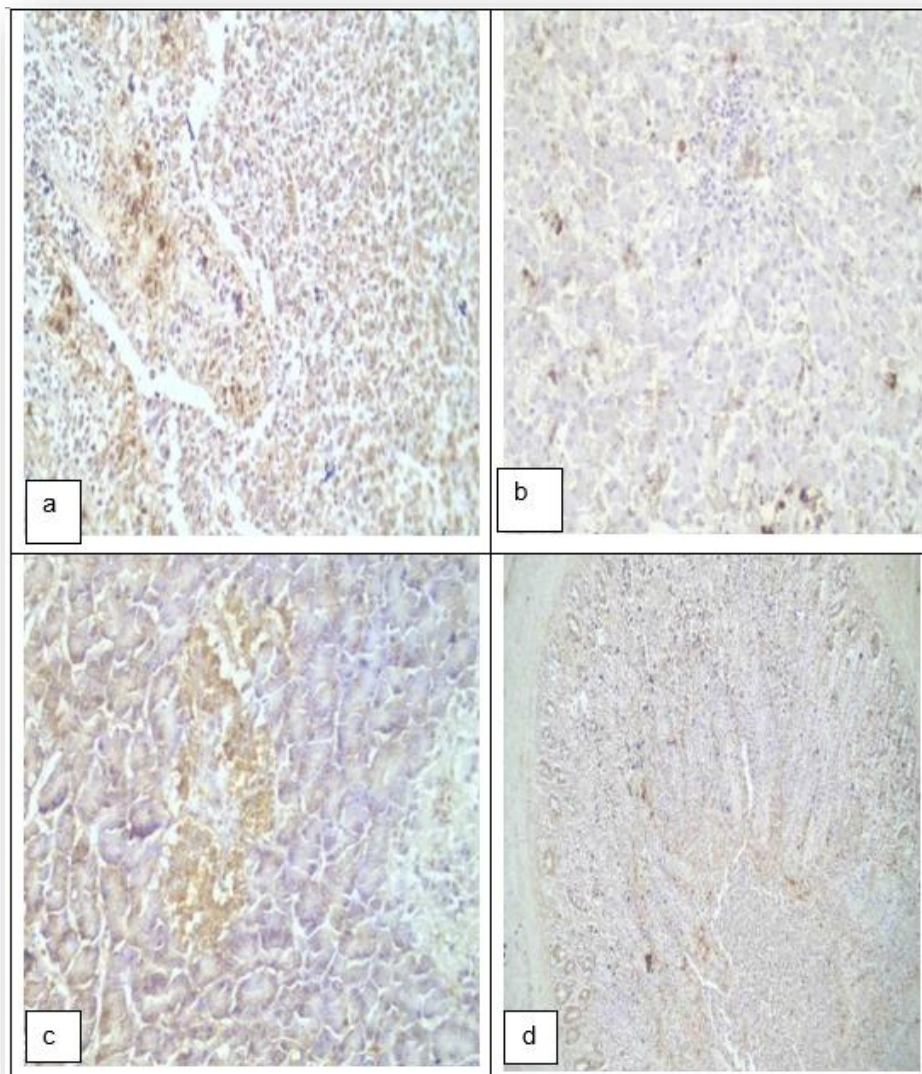


Gambar 1. PVC, vaskulitis, gangliosis multifokal; 2. kongesti dan nekrotik pembuluh darah pada paru-paru; 3. deskuamasi dan degenerasi sel epitel pada vial; 4. nekrotik pulau Langerhans pada pankreas; 5. depleksi limfosit dengan disertai nekrosa follicular limpa; 6. eritrolisis pada jantung 7. infiltrasi limfosit dan nekrotik moderat pada proventrikulus

Imunohistokimia

Antigen virus AI terdeteksi pada sitoplasma sel epitel saluran pernapasan dan makrofag limpa yang ditandai dengan adanya ikatan antigen virus dengan antibodi spesifik AI (monoklonal) sehingga menghasilkan warna coklat sebagai reaksi positif DAB (Gambar 8). Sedangkan tidak terbentuknya ikatan akan memperlihatkan sitoplasma sel epitel berwarna putih.

Foto IHK AI



Gambar 8. Adanya reaksi antigen dan antibodi spesifik AI (monoklonal) ditandai dengan perubahan warna coklat pada sitoplasma sel pada Paru-paru (a); Hati (b); Pankreas (c); Usus (d).

Pembahasan

Pemeriksaan histopatologi memberikan gambaran perubahan jaringan akibat infeksi virus AI, namun tidak spesifik terhadap etiologi. Penggunaan IHK memungkinkan deteksi antigen spesifik virus AI dan memperkuat hasil diagnosis. Kombinasi kedua metode ini meningkatkan akurasi diagnosis terutama pada kasus dengan gejala klinis dan lesi makroskopis yang tidak khas.

Histopatologi: Ditemukan lesi khas berupa kongesti dan perdarahan paru, nekrosis epitel trakea, degenerasi sel limpa, serta nekrosis multifokal pada usus. Lesi ini konsisten dengan infeksi AI patogenik tinggi. **IHK:** Antigen virus terdeteksi pada sitoplasma epitel trakea, pneumosit, sel limpa, dan epitel usus. Intensitas pewarnaan sebanding dengan derajat lesi histopatologi. **Optimasi:** Penggunaan antibodi monoklonal anti-NP terbukti memberikan hasil lebih sensitif dibanding poliklonal. Pretreatment antigen retrieval berbasis enzimatis dan buffer sitrat pH 6 meningkatkan intensitas pewarnaan

Perbandingan dengan RT-PCR: Metode IHK memiliki sensitivitas lebih rendah, namun spesifisitas tinggi. Kombinasi histopatologi + IHK dapat memperkuat diagnosis terutama di laboratorium dengan keterbatasan fasilitas molekuler. **Kelebihan metode:** menunjukkan distribusi antigen pada jaringan dan mendukung studi patogenesis. **Kekurangan metode:** kebutuhan akan sampel jaringan yang representatif, serta waktu pengerjaan yang relatif lama dibandingkan teknik molekuler lainnya.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Metode histopatologi dan imunohistokimia berhasil dikembangkan untuk mendeteksi Avian Influenza pada ayam. Histopatologi menunjukkan gambaran kerusakan jaringan, sedangkan IHK memberikan deteksi spesifik terhadap antigen virus.

Saran

Perlu dilanjutkan validasi metode IHK menggunakan lebih banyak isolat AI dan pengembangan sistem pewarnaan otomatis untuk meningkatkan konsistensi serta kombinasi uji dengan metode RT-PCR untuk konfirmasi molekuler.

Daftar Pustaka

- Alexander, D.J., 2000. A Review of Avian influenza in Defferent Bird Species. *Vet. Microbiol.* 74:3-13.
- Bröjer, C., Ågren, E. O., Uhlhorn, H., Bernodt, K., Mörner, T., Jansson, D. S., ... & Gavier-Widén, D. (2009). Pathology of natural highly pathogenic avian influenza H5N1 infection in wild tufted ducks (*Aythya fuligula*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 21(5), 579-587. <https://doi.org/10.1177/104063870902100501>
- Chansakulporn, N., Techangamsuwan, S., Thanawongnuwech, R., Payungporn, S., & Poovorawan, Y. (2007). Histology and immunohistochemistry of tigers and birds naturally infected with H5N1 highly pathogenic avian influenza virus in Thailand. *JARQ: Japan Agricultural Research Quarterly*, 41(3), 247-252. <https://doi.org/10.6090/jarq.41.247>
- Domingo, M., Gamino, V., Gavier-Widén, D., & Höfle, U. (2013). Histopathological and immunohistochemical study of pancreatic lesions in turkeys infected with low pathogenic H7N1 and H7N3 avian influenza viruses. *Avian Pathology*, 42(5), 431-441. <https://doi.org/10.1080/03079457.2013.822431>
- Gaide, N., Crispo, M., Jbenyeni, A., Bleuart, C., Delverdier, M., Vergne, T., ... Guérin, J.-L. (2023). **Validation of an RNAscope assay for the detection of avian influenza A virus.** *Diagnostic Pathology Journal*,
- Isnawati, Rina., I Putu Cahyadi P., Rina Dwi S., Hastari W., & R. Wasito. 2020. Deteksi Virus Avian Influenza Pada Ayam Pedaging Komersial Yang Di Suplementasi Water Additive. Artikel Pemakalaan Paralel Semnas pendidikan biologi dan saintek ke-5.
- Nakatani, H., Nakamura, K., Yamamoto, Y., Yamada, M., & Yamamoto, Y. (2005). **Epidemiology, pathology, and immunohistochemistry of layer hens naturally affected with H5N1 highly pathogenic avian influenza in Japan.** *Avian Diseases*, 49(3), 436-441. <https://doi.org/10.1637/7304-110504R1.1>