

EFEK POTENSI EKSTRAK ANGGUR LAUT(*Caulerpa racemora*) SEBAGAI PREVENTIF *FOWL POX* TERHADAP KETEBALAN EPIDERMIS DAN HISTOPATOLOGI KULIT EMBRIO TELUR AYAM BEREMBRIO

SKRIPSI

Oleh :

BAYU WIRA JAYA

145130101111017



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**Efek Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa Racemora*)
Sebagai Preventif *Fowl Pox* Terhadap Ketebalan
Epidermis Dan Histopatologi Kulit Embrio
Telur Ayam Berembrio**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

BAYU WIRA JAYA

145130101111017



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN PROPOSAL SKRIPSI

**EFEK POTENSI EKSTRAK ANGGUR LAUT (*Caulerpa racemora*)
SEBAGAI PREVENTIF *FOWL POX* TERHADAP KETEBALAN
EPIDERMIS DAN HISTOPATOLOGI KULIT EMBRIO
TELUR AYAM BEREMBRIO**

Oleh :

BAYU WIRA JAYA

145130101111017

Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. Sri Murwani, drh., MP
NIP. 19630101 198903 2 001


drh. Dahliatul Qosimah, Mkes.
NIP. 19820127 201504 2 001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Bayu Wira Jaya

Nim : 145130101111017

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Efek Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemora*) Sebagai Preventif *Fowl Pox* Terhadap Ketebalan Epidermis dan Histopatologi Kulit Embrio Telur Ayam Berembrio

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya bersedia menanggung segala resiko yang ada.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, 17 Juli 2018

Yang menyatakan,



Bayu Wira jaya

NIM.145130101111017

**EFEK POTENSI EKSTRAK ANGGUR LAUT (*Caulerpa racemosa*)
SEBAGAI PREVENTIF *FOWL POX* TERHADAP KETEBALAN
EPIDERMIS DAN HISTOPATOLOGI KULIT EMBRIO
TELUR AYAM BEREMBRIO**

ABSTRAK

Fowl pox merupakan penyakit pada ayam yang terbagi menjadi dua bentuk infeksi yaitu kutaneus dan difterik yang banyak ditemukan di lapangan, sehingga dibutuhkan preventif dari bahan alam untuk mencegah *fowl pox*. *Caulerpa racemosa* merupakan salah satu genus alga laut yang dipercaya dapat menghambat virus karena mengandung klorofil yang memiliki aktivitas antivirus, antioksidan dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek preventif ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) pada telur ayam berembrio (TAB) yang diinfeksi virus pox terhadap ketebalan epidermis dan gambaran histopatologi kulit embrio. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba yang digunakan yaitu telur ayam berembrio (TAB) dengan syarat *Specific Pathogen Free* (SPF) dengan umur yang digunakan 9-12 hari, dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif tidak diberi perlakuan apapun, kontrol positif dengan inokulasi virus pox 0,2^{mL}/Butir konsentrasi 10%. Kelompok perlakuan 1,2, dan 3 merupakan kelompok yang diberi preventif ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) volume 0,03 ^{mL}/Butir, 0,05 ^{mL}/Butir, 0,07 ^{mL}/Butir dengan konsentrasi 100% kemudian dilakukan inokulasi virus pox volume 0,2 ^{mL}/Butir. Parameter yang diukur adalah ketebalan epidermis dan gambaran histopatologi kulit embrio. Perubahan gambar histopatologi kulit embrio dengan menggunakan pewarnaan Hematoksilen Eosin (HE) dan dianalisa secara kualitatif serta dilihat ketebalan epidermis yang dianalisa menggunakan one way ANOVA ($\alpha=0,05$) dilanjutkan uji Beda Nyata Jujur (BNJ). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian preventif ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dengan volume 0,07 ^{mL}/Butir pada telur ayam berembrio dapat mencegah infeksi virus pox berdasarkan ketebalan epidermis dan gambaran histopatologi kulit embrio. Kesimpulan dari analisa penelitian ini bahwa anggur laut (*Caulerpa racemosa*) memiliki efek preventif terhadap virus pox.

Kata kunci : *Fowl pox*, Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*), Ketebalan epidermis, Histopatologi kulit.

repository.ub.ac.id

**EFFECT POTENTIAL SEA GRAPE EXTRACT (*Caulerpa racemosa*) AS A
PREVENTIF OF FOWL POX VIRUS BASED ON EPIDERMIS
THICKNESS AND HISTOPATHOLOGY OF SKIN
EMBRYO CHIKEN EGG**

ABSTRACT

Fowl pox is a disease in chickens that are divided into two shape of infection, namely cutaneous and diphtheric are found in the field, so it needs preventive from natural materials to inhibit fowl pox. *Caulerpa racemosa* is one genus of marine algae that is believed to inhibit the virus because it contains chlorophyll that has antiviral, antioxidant and antiinflammatory activity. The aimed of this research is to know the effect of preventive of sea grape (*Caulerpa racemosa*) extract on embryonic chicken egg infected by pox virus based on epidermal thickness and histopathology of embryo skin. This research was an experimental using completely randomized design. The experimental animal used embryonic chicken egg with the condition of Specific Pathogen Free used 9-12 day old, divided into 5 groups. The negative control group was not given any treatment, the positive control was inoculated with pox virus 0.2 mL/egg with 10% concentration. The preventif group 1,2, and 3 were given with extract of sea grape extract (*Caulerpa racemosa*) with volume 0.03 mL / egg, 0.05 mL / egg, 0.07 mL / egg with 100% concentration and then inoculated pox virus with volume 0.2 mL / egg. The parameters measured were the thickness of the epidermis and the embryonic histopathology of the skin. Skin microscopic changes was observed histopathologic of embryonic skin using Eosin Hematoxylene (HE) staining and analyzed qualitatively and seen the thickness of epidermis analyzed by using one way ANOVA ($\alpha = 0,05$) followed by Tukey test. The results showed that the volume of preventive of sea grape extract (*Caulerpa racemosa*) volume of 0.07 mL / egg on embryonic chicken egg can prevent infection of pox virus based on epidermal thickness and histopathologic of embryonic skin. The conclusion of this research analysis was sea grape extract (*Caulerpa racemosa*) could be used as the preventif of pox virus.

Kata kunci : Fowl pox, Sea grape (*Caulerpa racemosa*), thickness of epidermis, Histopathologi of skin.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Efek Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa Racemora*) Sebagai Preventif *Fowl Pox* Terhadap Ketebalan Epidermis dan Histopatologi Kulit Embrio Telur Ayam Berembrio”**.

Selama penelitian dan penyusunan skripsi ini, penulis mengalami berbagai macam halangan dan rintangan, sehingga dalam penulisannya melibatkan banyak pihak. Oleh karenanya, penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Dr. Sri Murwani, drh., MP selaku dosen pembimbing I dan drh. drh. Dahliatul Qosimah, Mkes selaku dosen pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, nasehat dan arahan kepada penulis.
2. Dhita Evi Aryani, S.Farm, Apt selaku dosen penguji I dan drh. Ahmad Fauzi, M.S selaku dosen penguji II yang telah banyak memberikan bimbingan, nasehat dan arahan kepada penulis.
3. Dr. Sri Murwani, drh, MP selaku Dosen pembimbing pkm yang telah banyak memberikan bimbingan, nasehat dan arahan kepada penulis.
4. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan FKH UB tercinta.
5. Bapak Sukari, Ibu Siti Rokhayah, Kakak Yudha, Mbak Pipit dan Adik Vio selaku keluarga tercinta yang menyayangi, memberikan semangat, doa dan dukungan yang tak terhingga kepada penulis selama menempuh kuliah di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang
6. Sahabat dalam penelitian skripsi Isbiya Whinona, Dyah Ayu Puspita Sari dan Risa Dwi Dessriyanti teman seperjuangan melaksanakan penelitian atas segala dukungan, semangat dan motivasi.
7. Sahabat tersayang Isbiya Whinona, keluarga besar FKH UB 2014 A “Amaze Class”, KEMALA , Teman kontrakan serta keluarga besar Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi Veteriner yang telah memberikan dukungan dan semangat yang tiada hentinya
8. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi penulis dan para pembaca pada umumnya, semoga Allah SWT meridhoi dan dicatat sebagai ibadah disisi-Nya, Amin.

Malang, 3 Januari 2018

Bayu wira jaya

NIM. 145130101111013

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Fowl Pox.....	5
2.1.1 Etiologi.....	5
2.1.2 Epidemiologi.....	6
2.1.3 Gejala Klinis.....	7
2.1.4 Patogenesis.....	7
2.1.5 Patologi Anatomi.....	8
2.1.6 Peneguhan diagnosa.....	9
2.1.7 Pencegahan.....	10
2.2 Anggur Laut (<i>Caulerpa racemosa</i>).....	10
2.2.1 Tanin.....	11
2.2.2 Karotenoid.....	12
2.2.3 Flavonoid.....	12
2.2.4 Fenolik.....	12
2.2.5 Caulerpin.....	12
2.3 Telur Ayam Berembrio (TAB).....	13
2.3.1 Morfologi.....	13



2.3.2 Imunitas Embrio Ayam.....	15
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN .	18
3.1 Kerangka Konsep	18
3.2 Hipotesis Penelitian	21
BAB IV METODE PENELITIAN	22
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	22
4.2 Alat dan Bahan	22
4.3 Tahapan Penelitian	23
4.4 Rancangan Penelitian	23
4.5 Variabel Penelitian	25
4.6 Prosedur Kerja	25
4.6.1 Persiapan TAB.....	25
4.6.2 Pembuatan Ekstrak anggur laut <i>Caulerpa racemosa</i>	26
4.6.3 Pembuatan Isolat Pox Virus.....	26
4.6.4 Proses Inokulasi ekstrak Anggur Laut (<i>Caulerpa racemosa</i>)	27
4.6.5 Proses Inokulasi Pox Virus Pada TAB.....	27
4.6.6 Pengambilan Jaringan Kulit.....	28
4.6.7 Pengambilan Preparat Histopatologi Kulit.....	28
4.7 Analisa Data.....	30
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
5.1 Penelitian Pendahuluan Penentuan Dosis Klorofil.....	31
5.2 Isolat Virus Pox Isolat Lapang.....	32
5.3 Isolasi Virus Pox Isolat Lapang Pada CAM.....	33
5.3.1 Gambaran Makroskopis <i>Chorioallantois Membrane</i> (CAM).....	33
5.3.2 Gambaran Histopatologi <i>Chorioallantois Membrane</i> (CAM).....	34
5.3.3 Gambaran Makroskopis Embrio Ayam.....	35
5.4 Efek Potensi Ekstrak Anggur Laut (<i>Caulerpa racemosa</i>) Sebagai Preventif Pox Virus Terhadap Gambaran Histopatologi Kulit.....	37
5.5 Efek Potensi Ekstrak Anggur Laut (<i>Caulerpa racemosa</i>) Sebagai Preventif Pox Virus Berdasarkan Ketebalan Epidermis.....	45
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	55
6.1 Kesimpulan.....	55
6.2 Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA.....	56
LAMPIRAN.....	59



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1.1 Persentase Kandungan <i>Caulerpa racemosa</i>	11
5.1 Hasil uji <i>Tukey</i> Ketebalan Epidermis.....	49



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Gambaran Struktur Virus <i>Fowl pox</i>	6
1.1 Gejala Klinis pada Ayam Bentukan Kutaneus <i>Fowl pox</i>	7
1.2 Hiperplasia dan hipertrofi (H) sel-sel epitel kulit.....	9
1.3 Anggur laut (<i>Caulerpa racemosa</i>).....	10
1.4 Morfologi Telur Ayam Berembrio (TAB).....	14
5.1 Kasus lapang <i>fowl pox</i> bentukan kutaneus.....	32
5.2 Bentuk plaque atau bintik putih pada CAM.....	34
5.3 Gambaran Histopatologi <i>Chorioallantois membrane</i>	35
5.4 Gambaran makroskopis embrio ayam.....	37
5.5 Histopatologi Kulit Kelompok Kontrol Negatif (K-)	39
5.6 Histopatologi Kulit Kelompok Kontrol Positif (K+).....	41
5.7 Histopatologi Kulit perlakuan satu (P1).....	42
5.8 Histopatologi kulit perlakuan dua (P2).....	43
5.9 Histopatologi kulit perlakuan tiga (P3).....	45
6.0 Gambaran ketebalan kulit pada kontrol negatif (K-).....	48
6.1 Gambaran ketebalan kulit pada kontrol positif (K+).....	48
6.2 Gambaran histopatologi pada Perlakuan satu (P1).....	49
6.3 Gambaran histopatologi pada Perlakuan dua (P2).....	49
6.4 Gambaran histopatologi pada Perlakuan tiga (P3).....	50
6.5 Hasl histogram rata-rata ketebalan epidermis.....	51



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Keterangan Kelaikan Etik.....	58
2. Kerangka Operasional Penelitian.....	59
3. Prosedur Pembuatan Ekstrak Pigmen Anggur Laut (<i>Caulerpa racemosa</i>).....	60
4. Pembuatan Isolat Lapang.....	61
5. Pembuatan Preparat Histopatologi Jaringan Kulit.....	62
6. Hasil Uji SPSS.....	63
7. Dokumentasi Penelitian.....	66



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Simbol/singkatan	Keterangan
%	: Persen
\geq	: Lebih sama dengan
<	: Kurang dari
°	: Derajat
(-)	: Kontrol negatif
(+)	: Kontrol Positif
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
BSC	: <i>Biological Safety Cabinet</i>
CAM	: Chorioalantoic
DNA	: Deoxyribonucleic acid
HE	: Hematoksilen-Eosin
IHK	: Immunohistokimia
ml	: Mililiter
PCR	: <i>Poly Chain Reaction</i>
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
SPF	: <i>Spesific Pathogen Free</i>
TAB	: Telur Ayam Berembrio
RAL	: Rancangan Acak Lengkap

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Fowl pox merupakan penyakit viral pada ayam yang terbagi menjadi dua bentuk yaitu infeksi kutaneus (kulit) dari jaringan epitel kulit yang tidak tertutup bulu dan infeksi difteritik pada membran mukosa mulut, hidung dan mata (Kemenpet, 2014). Bentuk kutaneus ditandai adanya nodul pada jengger pial, tepi paruh, kaki dan sayang sedangkan bentuk diphtheritik dapat menyebabkan kematian bagi ayam karena menyumbat saluran pernapasan. Penularan dapat melewati luka kontak dengan penderita atau virus. Penularan tanpa adanya luka dapat terjadi melalui mata, saluran nafas atas dan mulut terinfeksi aerosol atau vaksin terkontaminasi virus pox. Virus pox sendiri juga dapat menular melalui gigitan vektor nyamuk dan ektoparasit penggigit lainnya (Parede dkk., 2009). Penyakit ini merupakan penyakit yang umum terjadi dan tersebar luas di banyak negara termasuk di Indonesia.

Fowl pox bereplikasi pada epitel dermal atau folikular pada ayam dan sel ektodermal pada selaput *chorioallantoic membrane* (CAM) embrio ayam setelah absorpsi dan penetrasi membran seluler oleh virus ini, satu jam setelah infeksi epitel kulit dan 2 jam setelah infeksi pada CAM. Terdapat *uncoating* dari virus, sebelum sintesis virus baru dari material prekursor. Biosintesis virus di epitel kulit melibatkan dua fase. Fase pertama, respon host selama 72-jam. Selanjutnya fase kedua, terjadi sintesis virus yang menginfeksi dalam 72-96 jam (Jenkins *et al.*, 2002). Virus cacar unggas muncul dari sel CAM dengan proses budding dan

tambahan membran luar yang diperoleh dari membran sel, selanjutnya virus akan terabsorbi kulit dan terjadi oedema pada kulit (Weli, 2011).

Klorofil banyak dimanfaatkan sebagai bahan pewarna alami makanan dan minuman, bahan makanan dan bahan obat-obatan. Klorofil dari *Caulerpa racemosa* juga dapat berfungsi sebagai antioksidan, antibakteri, antimutagenik dan juga mampu menangkap radikal bebas yang dihasilkan selama proses ootoksidasi minyak. Pigmen pada *Caulerpa racemosa* terkandung pigmen klorofil a, b dan c. Ekstrak anggur laut *Caulerpa racemosa* mengandung tanin, karotenoid, Flavonoid dan fenolik. yang dimana umumnya memiliki antimikroorganisme, antioksidan dan antiinflamasi (Dimara dkk., 2012)

Tanin telah dilakukan penelitian dalam kandungan anggur laut (*Caulerpa racemosa*) memiliki fungsi antimikroorganisme dan antiinflamasi. Ekstrak anggur laut *Caulerpa racemosa* juga mengandung karotenoid yang peran sebagai antioksidan, karotenoid mampu melindungi sel dan organisme dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Flavonoid ditemukan terdapat dalam ekstrak anggur laut *Caulerpa racemosa* yang dapat digunakan sebagai zat antimikroba. Senyawa fenolik adalah satu kelompok terbesar dalam metabolit tanaman, fenolik memiliki sifat biologis seperti antimikroba. Dari semua kandungan yang terdapat dalam ekstrak *Caulerpa racemosa* diharapkan dapat digunakan dalam penelitian ini (Raj *et al.*, 2015).

Kandungan yang digunakan dalam penelitian pada ekstrak anggur laut *Caulerpa racemosa* adalah klorofil yang dimana dapat digunakan sebagai antivirus. Kandungan dari klorofil sama seperti tanin, karotenoid, flavonoid dan fenolik yang

berfungsi sebagai antimikroorganisme, antioksidan dan antiinflamasi. Klorofil *Caulerpa racemosa* menghambat proses virus menginfeksi melalui adesif atau penempelan dan release atau pelepasan. Pelepasan virus kemungkinan dapat dicegah agar tidak menginfeksi embrio, dari pendahuluan di atas diketahui bahwa ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) memiliki fungsi sebagai antivirus yang diharapkan dalam penelitian ini mampu mencegah pertumbuhan virus pox pada Telur Ayam Berembrio (TAB).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penulisan skripsi ini adalah :

1. Apakah ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dapat mencegah pertumbuhan *Fowl pox* pada Telur Ayam Berembrio (TAB) yang dilihat dari gambaran histopatologi kulit ?
2. Apakah ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dapat mencegah pertumbuhan *Fowl pox* pada Telur Ayam Berembrio (TAB) dilihat berdasarkan ketebalan epidermis ?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian skripsi ini adalah :

1. Hewan model yang digunakan adalah Telur Ayam Berembrio (TAB) *Specific pathogen free* (SPF) yang berumur 9-12 hari (Helmi dkk,2016) dan telah mendapatkan sertifikat laik etik dengan No : 764-KEP-UB dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya (**Lampiran 1**)

2. Virus Fowl pox yang didapatkan dari isolat lapang salah satu peternakan ayam petelur di Kota Blitar dengan gejala klinis Kutaneus yang terlihat berupa nodul pada pial dan jengger (Kemenpet, 2014)
3. Ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) berwarna hijau didapatkan dari salah satu perairan laut Jepara (Ma'ruf, 2013)
4. Pemberian ekstrak pigmen Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dilakukan secara in ovo dengan volume berbeda yaitu 0,03 ml/butir, 0,05 ml/butir, dan 0,07 ml/butir dalam 1 kali perlakuan (Hasil Penelitian Murtini, 2006)
5. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi dan ketebalan epidermis kulit, menggunakan metode pewarnaan HE (Muntiha, 2001)

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui efek preventif ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) pada Telur Ayam Berembrio (TAB) yang diinfeksi oleh virus *fowl pox* terhadap gambaran histopatologi kulit.
2. Mengetahui efek preventif ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) pada Telur Ayam Berembrio (TAB) yang diinfeksi oleh virus *Fowl pox* terhadap ketebalan epidermis kulit.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian selanjutnya tentang ekstrak pigmen Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dalam mencegah pertumbuhan *Fowl pox* pada Telur Ayam Berembrio (TAB) dilihat dari ketebalan epidermis kulit dan gambaran histopatologi yang diamati secara mikroskopis.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

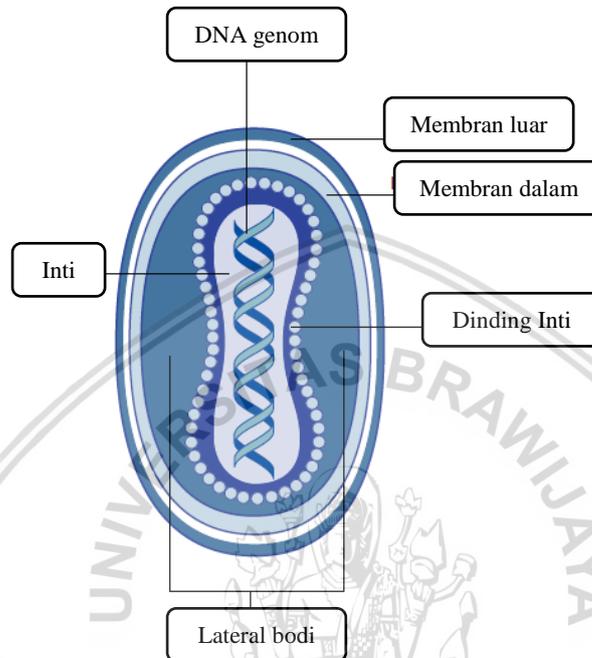
2.1 Fowl Pox

Fowl pox yang menyebabkan penyakit cacar pada ayam berbeda *strain* dari virus pox burung puyuh maupun kalkun. Penyakit cacar pada ayam ada 3 macam yaitu bentuk kulit, bentuk diphtheritik dan bentukan sistemik. Bentuk cacar pada kulit menyerang bagian kulit daerah kepala pada jengger, pial, kelopak mata, sekitar lubang hidung dan mulut. Sedangkan bentuk diphtheritik yang menyerang lapisan dalam rongga mulut dan saluran nafas atas dengan membentuk gumpalan-gumpalan mirip keju dan bentukan sistemik ditemukannya lesi pada organ-organ internal (Kemenpet,2014). Bentuk dari diphtheritik dapat membunuh ayam dikarenakan dapat menyumbat saluran nafas. Penularan dapat lewat luka kontak dengan penderita atau virus. Penularan tanpa luka terjadi melalui mata, saluran nafas atas dan mulut terinfeksi aerosol atau vaksin yang sudah terinfeksi dengan virus pox sebelumnya. Virus pox juga menular lewat gigitan vektor nyamuk dan ektoparasit penggigit lainnya (Parede,2008).

2.1.1 Etiologi

Fowl pox unggas disebabkan oleh virus dari genus *Avipoxvirus* dalam famili *Poxviridae*, ukuran fowl pox sekitar 265 x 350 nm dan berbentuk oval dan berbentuk seperti batu bata (*brick shape*) (**Gambar 2.1**). Fowl pox dapat bertahan dari lingkungan yang ekstrim contohnya saja dalam keadaan kondisi kekeringan (Riper *and* Forrester, 2007). Terdapat 4 strain virus pox unggas yang mirip satu sama lain dan secara alami menginfeksi spesies unggas sesuai dengan namanya yaitu virus fowl pox, virus turkey pox, virus pigeon pox dan virus canary pox.

Semua dari virus *fowl pox* memiliki hubungan imunologis, meskipun menunjukkan adanya modifikasi pada hospesnya, virus tersusun atas DNA beruntai ganda (ds-DNA) (Kemenpet,2014)



Gambar 2.1 Gambaran Struktur virus *Fowl pox* (Sasita, 2015)

2.1.2 Epidemiologi

Persebaran penyakit dari cacar ayam atau *fowl pox* sudah luas hampir di seluruh wilayah Indonesia. Kejadian cacar ayam di suatu peternakan sangat dipengaruhi oleh kondisi kesehatan peternakan yang bersangkutan. *Fowl pox* menyerang unggas seperti ayam, kalkun, merak, merpati, kenari dan burung gereja. *Fowl pox* menyerang semua kelompok umur pada unggas kecuali anak yang baru menetas. Ayam yang sering terkena *fowl pox* biasanya menjelang dewasa. Virus Pox menyerang peternakan unggas komersial sehingga menimbulkan kerugian ekonomi kepada para peternak. Pada burung kesayangan virus pox sering menyerang burung kenari (Kemenpet, 2014).

2.1.3 Gejala Klinis

Gejala klinis yang sering terjadi memiliki dua bentukan yang berbeda, bentukan yang paling umum sering terjadi di bagian tubuh yang tidak ditumbuhi bulu sekitar mata, kaki, pial dan jengger. Bentukan difterik yang kurang umum terbentuk dimana lesi yang basah dan nekrotik berkembang pada selaput lendir mulut dan atas saluran pernapasan (Riper *and* Forrester, 2007). Gejala klinis dapat terjadi variasi tergantung pada kepekaan inang atau hospes, virulensi virus, distribusi lesi dan faktor komplikasi yang lain. Gejala yang umum yang akan timbul pada unggas yang mengalami penyakit virus pox mengalami pertumbuhan yang lambat pada unggas muda, penurunan telur pada periode bertelur, kesulitan bernapas dan makan. Pada area yang tidak berbulu biasanya timbul seperti kutil pada manusia yang menyerupai nodul-nodul (**Gambar 2.2**). Bentukan difterik (*wet pox*) biasanya terjadi pada ayam lokal dan kalkun ditandai dengan adanya lesi, warna kekuningan muncul pada membran mukosa. Gejala yang timbul mirip dengan penyakit coryza (Kemenpet, 2014).



Gambar 2.2 Gejala klinis pada ayam bentukan kutaneus infeksi *fowl pox* (Kemenpet, 2014).

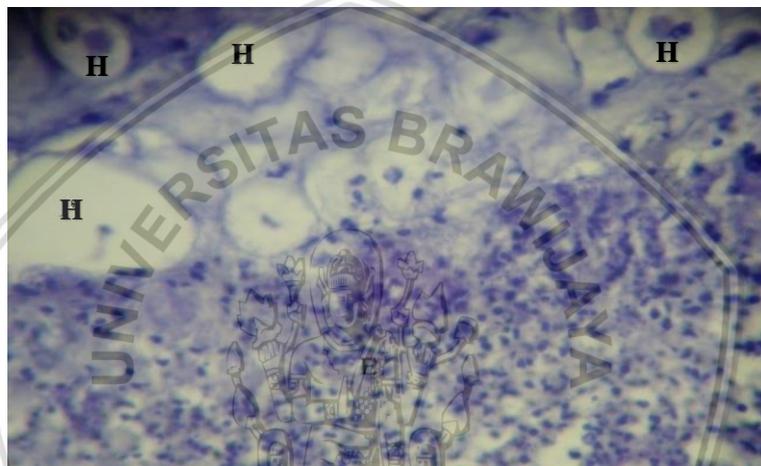
2.1.4 Patogenesa

Sebelum masuknya virus ke dalam tubuh unggas terlebih dahulu virus melakukan perlekatan dengan sel hospes menggunakan *spike* yang berada pada virus pox, setelah virus melakukan perlekatan selanjutnya virus pox akan melakukan proses penetrasi untuk masuk ke dalam epitelium induk unggas dalam satu jam virus menembus membran sel dan kemudian mengurai virus ke dalam tubuh hewan. Setelah virus pox masuk ke dalam tubuh inang atau hospes selanjutnya virus pox melakukan proses *uncoating* asam nukleat viral terlepas dari protein pembungkus (kapsid) dan masuk ke dalam vesikel (Riper *and* Forrester, 2007). Pada proses *uncoating* ini setiap tipe virus sangat bervariasi beberapa virus hewan proses *uncoating* dilakukan oleh enzim lisosomal hospes. Sedangkan untuk virus pox *uncoating* dilengkapi oleh enzim spesifik yang disandi oleh DNA viral, yang disintesis segera setelah infeksi (Murwani, 2015). Setelah virus pox melakukan *uncoating* selanjutnya melakukan biosintesis DNA virus dengan cara replikasi DNA di dalam tubuh hewan yang terserang oleh virus pox. Setelah virus memperbanyak dengan cara bereplikasi dengan inang atau hospes selanjutnya maturasi dan pelepasan virus, pada virus yang beramplop akan melakukan *buding* sedangkan pada hewan yang tidak beramplop akan ruptur dengan cara keluar dari sel hospes (Riper *and* Forrester, 2007).

2.1.5 Patologi Anatomi

Patologi anatomi dari bentukan cutaneus berupa lesi kulit namun bervariasi tergantung pada tingkat penyakit, dapat berupa papula, vesicula, pustula atau kerak (scrab). Pada bentukan difterik terbentuk nodul putih yang tidak terlalu menonjol

pada membran mukosa saluran pencernaan dan saluran pernapasan bagian atas. Nodul dapat cepat bertambah besar dan sering kali bergabung menjadi membrane pseudodifterik atau difterik yang berwarna kuning (Kemenpet, 2014). Infeksi dari cacar unggas atau virus pox menyebabkan proliferasi lokal dari sel-sel epitel. Sel-sel yang terkena menjadi hiperplastik dan hipertrofik sebagai tingkat peningkatan dari virus itu sendiri (**Gambar 2.3**) (Riper and Forrester, 2007).



Gambar 2.3 Hiperplasia dan hipertrofi (H) sel-sel epitel kulit (400x) (Riper and Forrester, 2007).

2.1.6 Peneguhan Diagnosa

Diagnosa secara klinis lesi kulit pada ayam sangat menciri, Pengamatan klinis harus didukung dengan hasil pemeriksaan histopatologi. Pada pengamatan histopatologi akan ditemukan benda inklusi pada sitoplasma sel dan isolasi virus (Yoshikkawa and Alam,2002). Diagnosa juga dapat dilakukan dengan isolasi virus yang dilakukan pada hewan percobaan dan membran chorioallantois (CAM) pada Telur Ayam Berembrio (TAB) yang berumur 9 sampai 11 hari, akan timbul bentukan pocks (bintil) pada CAM dan apabila CAM diperiksa secara histopatologi maka akan ditemukan *inclusion bodies*. Identifikasi virus atau bagian virus pox juga dapat dilakukan dengan immunoblotting atau analisa *restricted endonuclease*

melalui *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mengidentifikasi viral genom (Kemenpet,2014).

2.1.7 Pencegahan

Pencegahan yang dilakukan dapat menggunakan vaksin, vaksin yang digunakan adalah vaksin aktif yang berfungsi untuk imunisasi atau vaksinasi unggas agar mencegah timbulnya cacar pada unggas. Pengaplikasian dari vaksin sendiri harus benar agar dapat memberikan pencegahan yang maksimal supaya tidak menimbulkan kerugian pada peternakan. Pada vaksin ayam dan burung biasanya pada kulit sayap dalam (*Wing web*) dengan cara menyuntikan jarum khusus yang telah diisi dengan larutan vaksin (Kemenpet, 2014).

2.2 Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*)

Sektor laut merupakan salah satu sumber daya alam yang sangat potensial untuk dikembangkan dalam menunjang keberhasilan dibidang perekonomian masyarakat Indonesia. Salah satunya yang sangat bagus untuk dikembangkan adalah anggur laut *Caulerpa racemosa* (**Gambar 2.4**) yang merupakan salah satu jenis alga hijau yang hidup menyebar dibeberapa perairan di Indonesia.



Gambar 2.4 Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) (Dokumentasi Pribadi)

Caulerpa racemosa merupakan salah satu genus alga laut dari famili *Caulerpacae* dan termasuk spesies dari kelas *Chlorophyceae*. Jenis dari anggur laut ini pertama kali ditemukan pada tahun 1926 di sepanjang pantai tunisia perairan mediterania. Makroalga laut jenis *Caulerpa racemosa* memiliki thalus berwarna hijau seperti tanaman rumput, terdiri dari banyak cabang tegak yang tingginya sekitar 2,5-6,0 cm (Yudasmara, 2014). Secara khusus *Caulerpa racemosa* mengandung senyawa-senyawa kimia (**Tabel 2.1**) seperti kadar abu, kadar air, protein, karbohidrat, lemak dan serat kasar (Dimara dkk,2012).

Tabel 2.1 Persentase kandungan dari *Caulerpa racemosa*

Kandungan	Persentase kandungan (%)
Kadar Abu	16-20 %
Kadar air	18,2-28,7 %
Protein	10,7 %
Lemak	0,3 %
Serat	4,4 % - 15,5 %
Karbohidrat	27,2 %

Ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) memiliki kandungan lainnya seperti tanin, karotenoid, Flavonoid dan fenolik yang dimana masing-masing memiliki fungsi yang berbeda.

2.2.1 Tanin

Tanin mempunyai aktivitas antiviral yang berfungsi untuk mencegah pertumbuhan dari infeksi virus di dalam tubuh. Mekanisme kerja yaitu adanya interaksi permukaan molekul sterol yang ada dalam ekstrak dengan dinding sel

dan membran bakteri yang menyebabkan perubahan pada struktur primer dinding sel dan membran yang akan mendegradasi molekul dari virus (Apriyanto, 2016)

2.2.2 Karotenoid

Ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) juga mengandung karotenoid yang memiliki fungsi antioksidan yang mampu melindungi sel dan organisme dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Cara kerja dari karotenoid dengan menghilangkan aktivitas radikal bebas (Raj *et al*, 2016)

2.2.3 Flavonoid

Flavonoid ditemukan terdapat dalam ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) yang berfungsi sebagai antimikroorganisme. Flavonoid juga terdiri dari galaktosa, glukosa dan xilosabersifat sebagai antiviral pada virus herpes tipe 1 dan 2, yang dapat digunakan sebagai anti viral pada fowl pox yang akan dilakukan secara *in ovo* (Apriyanto, 2016)

2.2.4 Fenolik

Fenolik merupakan salah satu bagian kelompok terbesar setelah klorofil dalam metabolit tanaman dari kandungan ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) yang memiliki fungsi sebagai antioksidan untuk melawan radikal bebas. Fenolik melakukan mekanisme sebagai antioksidan dengan cara menyerahkan sebagian atom hidrogen (H) menuju radikal bebas maka akan stabil (Ridhowati, 2016).

2.2.5 Caulerpin

Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) mengandung senyawa seperti caulerpin, caulerpin menimbulkan rasa pedas pada pemberiannya. Pada ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) yang pada pemberian volume yang tinggi dapat menghilangkan beberapa senyawa yang terkandung dalam anggur laut, yang dapat mengakibatkan menghilangkan fungsi anggur laut sebagai antimikroorganisme, antioksidan dan antiinflamasi (Ridhowati dan asnani, 2016). Pemberian volume terbaik adalah hal yang penting untuk mencegah adanya senyawa caulerpin yang dapat menghilangkan fungsi dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*).

2.3 Telur Ayam Berembrio (TAB)

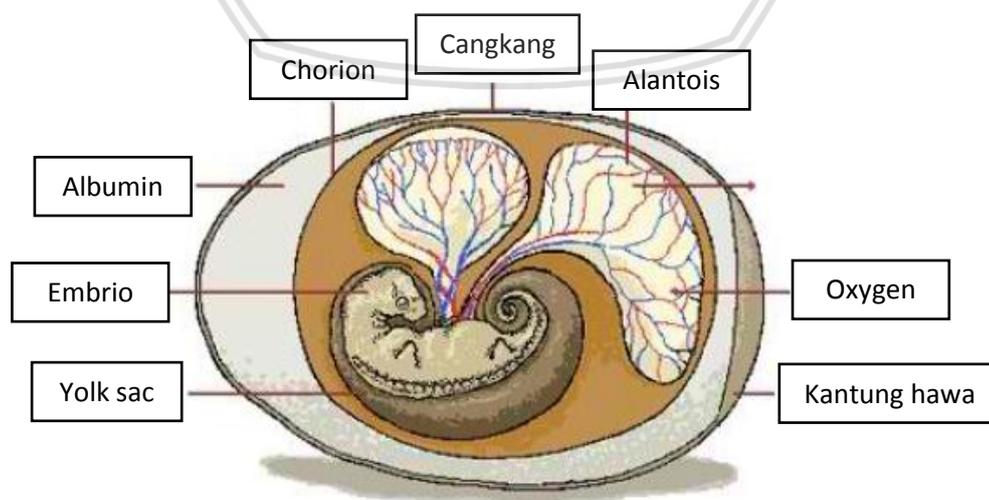
Telur Ayam Berembrio (TAB) sering kali digunakan dalam penelitian untuk isolasi pertumbuhan virus maupun untuk digunakan sebagai hal lainnya. Sampai sekarang kultur pada telur ayam berembrio masih dimanfaatkan untuk berbagai penelitian dan pembuatan vaksin. Embrio dan membran pendukungnya memberikan keragaman tipe sel yang dibutuhkan untuk kultur berbagai tipe virus yang berbeda. Membran kulit telur yang fibrinous terdapat di bawah kerabang, Membran memberikan pembatas seluruh permukaan dalam telur dan membentuk rongga udara pada sisi tumpul telur. Membran kulit telur bersama dengan cangkang telur membantu mempertahankan infeksi mikrobiologi dari telur (purchase,1989).

Telur Ayam Berembrio (TAB) sangat bagus digunakan dikarenakan lebih efisien dan murah untuk menumbuhkan virus dari beberapa macam virus. Infeksi dari virus ditandai dengan adanya kematian embrio yang disebabkan hancurnya embrio, anomalia pertumbuhan embrio, hemoragi embrio, terbentuknya poks

spesifik atau lesi lain pada membran telur. Inokulasi ini dapat dilakukan pada membran korio alantoik, ruang alantoic, amnion atau kuning telur. Sebaiknya untuk untuk pertumbuhan virus pox pada TAB dilakukan pada umur 9 sampai dengan 11 hari (Murwarni,2015)

2.3.1 Morfologi

Morfologi Telur Ayam Berembrio (TAB) terlihat pada (**Gambar2.5**) biasanya memiliki kulit yang halus dan kuat faktor yang mempengaruhi ketebalan kulit telur yaitu sifat turun dari induk, musim, makanan dan faktor lainnya. Perkembangan embrio ayam terjadi di luar tubuh indukannya selama berkembang embrio memperoleh makanan melalui kuning telur. Dalam perkembangannya embrio dibantu oleh kuning telur, amnion, dan alantois. Kantung kuning yang telur dindingnya dapat menghasilkan enzim. Enzim ini mengubah isi kuning telur sehingga mudah diserap embrio. Alantois berfungsi sebagai pembawa sebagian oksigen ke embrio, menyerap zat asam dari embrio, mengambil sisa pencernaan yang terdapat dalam ginjal (Buckel, 2007).



Gambar 2.5 Morfologi Telur Ayam Berembrio (TAB) (Buckel, 2007)

Morfologi umur embrio dapat dilihat mulai dari 12-15 jam yaitu stria primitif mulai terlihat memanjang dari bagian posterior dan mulai terbentuk cekungan primitif. Pada umur 18-22 jam stria primitif telah mencapai panjang maksimal. Pada 30-33 jam jumlah somite berkembang sebanyak tujuh pasang, perkembangan vesikula optika, jantung yang berada sedikit ke kanan dan pembagian 3 vesikel otak (Proencepalon, mesenchepalon dan rombenchepalon) yang sudah mulai jelas. Pada umur 48-52 jam embrio mulai memperlihatkan perbedaan spesifik dibandingkan umur sebelumnya karena bagian anterior memutar ke arah kanan. Pada umur 64-69 jam kuntum sayap dan kuntum kaki mulai terbentuk dan semakin besar ukurannya seiring dengan penambahan waktu inkubasi. Pada usia 4-7 plat jari baru terlihat di umur lima hari dan cekungan antar digiti terbentuk mulai umur enam hari, paru mulai terlihat jelas, segmen digiti sudah terbentuk, organ sudah mulai berkembang cukup lengkap. Pada umur 8-10 hari kaki dan sayap sudah mulai tampak, serta jantung sudah sempurna pada kavum thoraks. Pada umur 11-12 hari membran niktitan mulai menutupi mata dan terjadi deferensiasi pada kaki ke tiga. Pada umur 13-14 hari tunas bulu sudah mulai tumbuh dan kelopak mata sudah menutup secara sempurna. Pada umur 15-20 hari ukuran paruh sudah terlihat, ukuran jari kaki terlihat, ukuran tubuh terlihat, ukuran sayap terlihat dan panjang kaki ayam dapat terlihat dengan jelas (Kusumawati dkk, 2016)

2.3.2 Imunitas embrio ayam

Sistem imunitas pada embrio ayam berfungsi sebagai perlindungan terhadap infeksi mikroorganisme yang dapat merusak pada proses perkembangan pada masa embrio. Sistem imun pada embrio ayam ada

bermacam-macam yaitu sistem humoral yang ditandai dengan melakukan sekresi terhadap antibodi yang masuk oleh sel-sel limfosit B dan sistem imun seluler berfungsi untuk merespon antigen atau bahan asing dengan cara melakukan penghancuran terhadap benda asing tersebut yang dilakukan oleh sel-sel efektor (sel-T) (Jancovic *et al.*, 1975).

Limfosit T atau sel T berperan pada sistem imun spesifik seluler. Sel tersebut juga berasal dari sel asal yang sama seperti sel B. Pada hewan dewasa, sel T dibentuk di sumsum tulang, tetapi proliferasi dan diferensiasinya terjadi di dalam kelenjar timus atas pengaruh berbagai faktor asal timus. 90-95% dari semua sel T dalam timus tersebut mati dan hanya 5-10% menjadi matang dan selanjutnya meninggalkan timus untuk masuk ke dalam sirkulasi (Baratawidjaja *and* rengganis, 2016). Ayam dewasa memiliki bursa fabrisius yang berfungsi sebagai sistem imun humoral dan tymus sebagai sistem imun seluler pada telur ayam berembrio sistem imun yang berkembang hanya tymus pada umur 11 hari sedangkan ayam dewasa sudah menggunakan bursa fabrisius (Jancovic *et al.*, 1975).

A. Organ Limfoid Primer

Sumsung tulang yang menghasilkan *stem cell* yang akan membentuk sel-sel yang memiliki peran sebagai sistem pertahanan tubuh. Sebagian berkembang menjadi sel myeloid (fagosit, makrofag dan mikrofas) sebagian menjadi calon sel limfoid (limfosit T, limfosit B dan natural killer atau NK). Organ limfoid primer berfungsi sebagai tempat embriogenesis dan kematangan sel limfoid seperti timus. Timus akan mengecil dengan

bertambahnya umur, sebagai tanda maturasi pada sistem imun pada individual (Linna *et al.*, 1971)

B. Organ Limfoid Sekunder

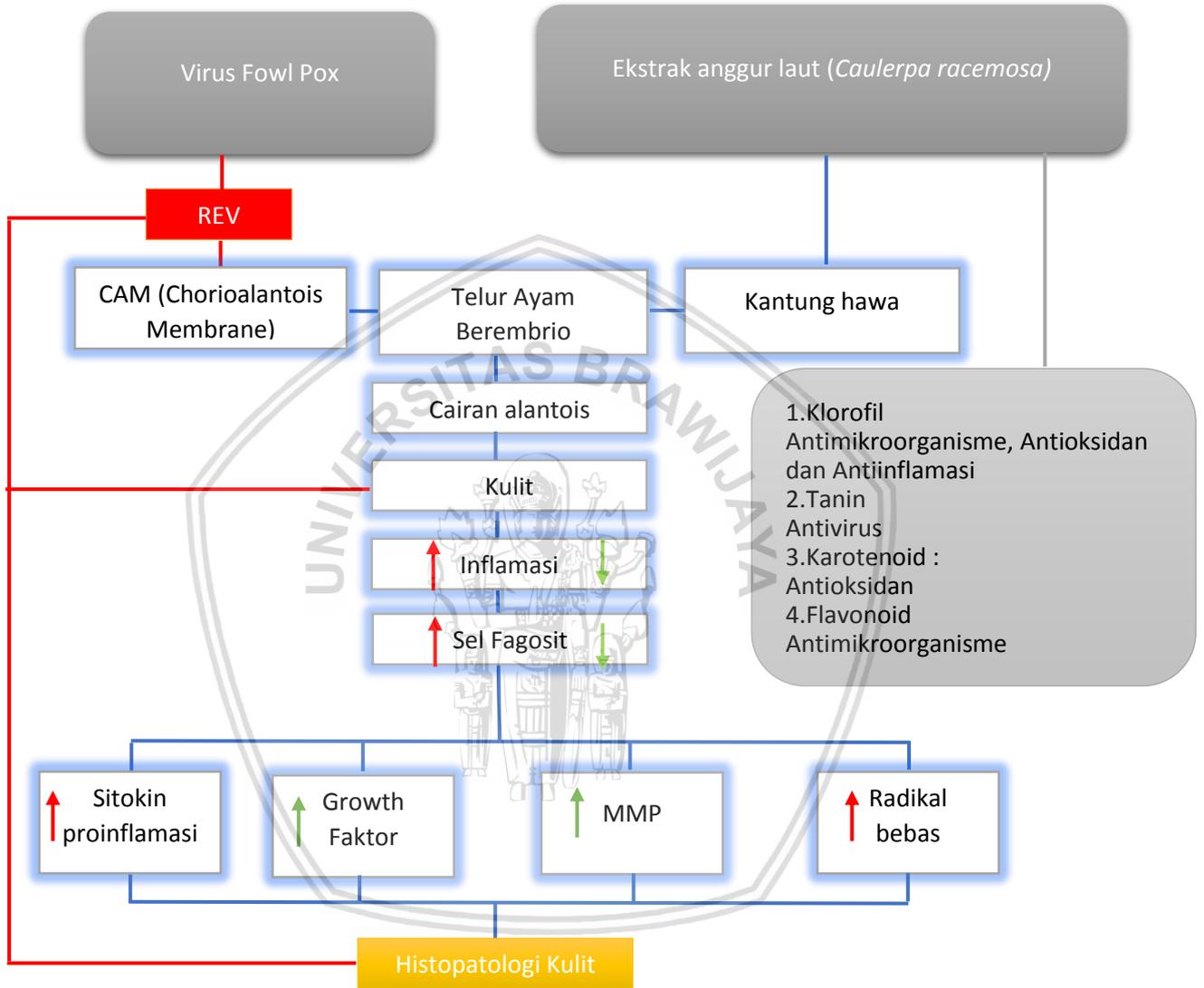
Limfoid sel yang sudah matang akan bersirkulasi dan masuk organ limfoid sekunder. Limfoid sekunder di bagian dalamnya terdapat sel prekursor myeloid yang akan berdeferensiasi menjadi sel granul (neutrofil, basofil dan eosinofil), sel monosit, sel makrofag dan sel NK (Jancovic *et al.*, 1975).

Burung dan ayam dalam memproduksi sel B sangat unik yaitu dalam organ yang disebut bursa fabricius disaluran cerna dekat kloaka berbeda dengan hewan lainnya. Timus terdiri atas 6-7 lobus, banyak kesamaan antara sistem imun avian dan mamalia terutama dalam struktur organ limfoid, pembentukan berbagai antibodi dan susunan Ig dan gen MHC. Ayam biasanya merupakan pembentuk antibodi yang baik sekali, membentuk IgM sebelum IgG. Sel T berkembang dari sel prekursor melalui timus. Sel T ayam mirip dengan sel T mamalia (Baratawidjaja *and* Rengganis, 2016).

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

- : Variabel bebas
 : Variabel terikat
- : Meningkat (Virus)
 : Meningkat (Ekstrak)
- : Menurun (Virus)
 : Menurun (Ekstrak)

Kandungan dari Ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) berfungsi sebagai antimikroorganisme, antiinflamasi dan antioksidan. Virus pox seperti contoh virus lainnya yang memiliki proses replikasi virus pada organ yang diinfeksi memiliki beberapa tahapan yaitu *attachment*, *entry*, *uncoating*, *biosintesis*, *maturasi atau assembly dan release*. Ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dapat mencegah proses adhesi atau perlekatan virus pada sel membran chorioallantois dan mencegah masuknya virus ke dalam embrio. Fowl pox termasuk ke dalam virus yang beramplop, sehingga proses adhesi dengan cara fusi yaitu dengan cara bergabung dengan membran plasma dan melepaskan kapsid ke dalam sel sitoplasma. Virus yang masuk ke dalam sel hospes tidak sepenuhnya dihambat pada fase adhesi, terdapat beberapa protein virus yang akan lolos sehingga akan dihambat pada saat virus dilepaskan. Virus yang beramplop akan berkembang di dalam tubuh hospes dan dilepaskan dalam bentuk *budding*. Virus yang melakukan *budding* tidak menyebabkan kematian pada sel hospes, berbeda dengan virus yang tidak memiliki amplop yang akan mengalami pemecahan pada sel hospes dan menyebabkan kematian sel.

Pemberian ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) di daerah kantung hawa yang akan diserap melalui *inner cell membrane* yang berfungsi sebagai antiinflamasi, kandungan dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dapat menghambat terjadinya inflamasi dengan cara menghambat aktivitas dari NF-kb. NF-kB merupakan faktor transkripsi yang berperan dalam respon seluler seperti inflamasi. NF-kB teraktivitas dengan merangsang transkripsi gen inflamatori sehingga akan terjadi inflamasi. Sistem imunitas pada embrio ayam berfungsi

sebagai perlindungan terhadap infeksi mikroorganisme yang dapat mengganggu atau merusak pada proses perkembangan pada masa embrio. Sistem imun pada embrio ayam ada bermacam-macam yaitu sistem humoral yang ditandai dengan melakukan sekresi terhadap antibodi yang masuk oleh sel-sel limfosit B dan sistem imun seluler berfungsi untuk merespon antigen atau bahan asing dengan cara melakukan penghancuran terhadap benda asing tersebut yang dilakukan oleh sel-sel efektor (sel-T). Ayam dewasa memiliki bursa fabrisius yang berfungsi sebagai sistem imun humoral dan tymus sebagai sistem imun seluler pada telur ayam berembrio sistem imun yang berkembang hanya tymus pada umur 11 hari sedangkan ayam dewasa sudah menggunakan bursa fabrisius.

Menurut (Singh *et al.*, 2000) terjadi integrasi rangkaian retikulo endotheliosis virus (REV) yang telah diamati pada genom virus fowlpox hal ini sangat menarik bahwa integrasi ini terjadi lebih dari 50 tahun yang lalu. Virulensi ditingkatkan oleh adanya REV didalam genome strain lapangan virus fowlpox. Virus fowlpox yang telah terintegrasi oleh REV akan menginfeksi jaringan kulit pada embrio yang dapat mengalami immunosupresif dan neoplastik yang dapat menyebabkan terjadinya hiperplasia lapisan dermis dan hipodermis dapat juga terjadi degeneratif lapisan epidermis yang akan mengakibatkan terjadinya penipisan epidermis akibat infeksi fowlpox yang sudah terintegrasi REV .

Virus pox yang sudah diinokulasikan pada CAM akan masuk melalui *inner cell membrane* dan akan masuk melalui albumin dan akan terabsorb oleh kulit embrio dan menyebabkan lesi hemoragi pada gambaran makroskopis dan kerusakan lapisan kulit pada gambaran mikroskopis setelah itu akan terjadi respon sistem

imun dalam tubuh embrio, yang selanjutnya akan menginduksi sitokin proinflamasi, growth factor, MMP dan radikal bebas. Secara mikroskopis akan terjadi perubahan pada bagian lapisan kulit yaitu akan terjadinya hiperplasia, hipertropi dan terjadi degeneratif pada area epidermis. Daerah dermis dan subkutan akan mengalami edema dan terjadi beberapa inflamasi, daerah epidermis akan mengalami kerusakan lapisan yang mengakibatkan penipisan epidermis.

3.2 Hipotesa Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka hipotesis yang akan diajukan sebagai berikut:

1. Pemberian preventif ekstrak *Caulerpa racemosa* dapat menghambat virus pox bereplikasi pada kulit Telur Ayam Berembrio (TAB) berdasarkan ketebalan epidermis menggunakan pewarnaan HE.
2. Pemberian preventif ekstrak *Caulerpa racemosa* dapat memperbaiki gambaran histopatologi kulit menggunakan pewarnaan HE.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan April 2018 dan dilakukan di beberapa laboratorium antara lain :

1. Pemeliharaan hewan coba dan pemberian perlakuan terhadap Telur Ayam Berembrio (TAB) yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Pembuatan suspensi virus pox dan pembacaan hasil histopatologi kulit di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. Pembuatan ekstrak pigmen klorofil anggur laut (*Caulerpa racemosa*) di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
4. Pembuatan preparat histopatologi kulit yang akan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.2 Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah dissecting set, Inkubator telur, tray telur, pelubang telur, mikroskop, *glove*, *masker*, *bulb*, *object glass*, *cover glass*, *autoclave*, timbangan, blender, gelas ukur, pot organ, yellow tip, mortar, tube, selotip kertas, cawan petri, timbangan, micropipet, saringan, disposable syringe 1 mL, software optilab viewer, dan BSC (*Biological Safety Cabinet*).

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu Telur Ayam Berembrio (TAB) Spesifik Pathogenic Free (SPF), NaCl fisiologis, alkohol 10% formula ekstrak pigmen anggur laut (*Caulerpa racemosa*), , etanol 96%, 90%, 80%, dan 70%.

4.3 Tahapan Penelitian

Tahapan dari penelitian ini adalah sebagai berikut : **(Lampiran 2)**

1. Rancangan penelitian dan persiapan Telur Ayam Berembrio (TAB).
2. Pembuatan ekstrak pigmen klorofil anggur laut (*Caulerpa racemosa*).
3. Inokulasi ekstrak pigmen klorofil anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dengan pemberian dosis 0,1 mL, 0,15 mL dan 0,2 mL.
4. Inokulasi virus pox sebanyak 0,2 mL
5. Pembuatan dan pengamatan ketebalan kulit dengan metode pewarnaan Hematoksilen-Eosin (HE)
6. Pembuatan dan pengamatan preparat histopatologi kulit dengan metode yang digunakan pewarnaan Hematoksilen-Eosin (HE)
7. Analisis data.

4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan suatu penelitian yang bersifat eksperimental laboratorik menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap digunakan jika ragam satuan percobaan yang digunakan. Telur Ayam Berembrio (TAB) dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing 4 pengulangan berdasarkan rumus $t(n-1) \geq 15$ (Montgomery dan Kowalsky,2011) :

$t(n-1) \geq 15$	Keterangan
$5(n-1) \geq 15$	t : Jumlah perlakuan
$5n - 5 \geq 15$	n: Jumlah ulangan yang diperlukan
$5n \geq 20$	
$n \geq 4$	

Berdasarkan rancangan penelitian, kelompok perlakuan dalam penelitian ini antara lain adalah :

1. Kelompok kontrol negatif (-) adalah TAB yang tidak diberi pox virus $0,2 \text{ mL/Butir}$ dan tanpa pemberian preventif ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*).
2. Kelompok kontrol positif (+) adalah TAB yang diberikan dengan pox virus $0,2 \text{ mL/Butir}$ konsentrasi 10% tanpa pemberian preventif ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*).
3. Kelompok perlakuan 1 adalah TAB yang diberi preventif ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebanyak $0,03 \text{ mL/Butir}$ serta diberikan dengan pox virus $0,2 \text{ mL/Butir}$
4. Kelompok perlakuan 2 adalah TAB yang diberi preventif ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebanyak $0,05 \text{ mL/Butir}$ serta diberikan virus pox virus $0,2 \text{ mL/Butir}$.
5. Kelompok perlakuan 3 adalah TAB yang diberi preventif ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebanyak $0,07 \text{ mL/Butir}$ serta diberikan pox virus $0,2 \text{ mL/Butir}$

4.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini antara lain adalah sebagai berikut :

1. Variabel bebas : dosis virus pox dan dosis preventif ekstrak pigmen klorofil anggur laut (*Caulerpa racemosa*).
2. Variabel terikat : Gambaran histopatologi kulit dan ketebalan epidermis kulit
3. Variabel Kontrol : Homogenitas TAB, Umur telur ayam, suhu inkubator, inokulasi pox virus dan kelembaban inkubator.

4.6 Prosedur Kerja

4.6.1 Persiapan TAB

Penelitian ini dilakukan menggunakan hewan coba berupa Telur Ayam Berembrio (TAB). Telur Ayam Berembrio yang digunakan dalam penelitian ini yaitu TAB yang *Spesifik Pathogenic Free* (SPF) dengan umur 9-12 hari yang sebelumnya harus diamati di dalam ruangan tanpa cahaya menggunakan teropong telur (*candling*) dengan tujuan untuk melihat fertilitas embrio. Pengecekan fertilitas dan embrio ini dengan cara mengamati gerakan pembuluh darah dari embrio, kemudian TAB yang sudah *candling* dan dipastikan sehat selanjutnya dilakukan sterilisasi pada area cangkang atau kerabang telur menggunakan alkohol 70% setelah sudah dipastikan steril dan bersih selanjutnya TAB diletakkan dalam inkubator telur dengan suhu 37°-38°C. Persiapan dan pemeliharaan Telur Ayam Berembrio (TAB) dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas brawijaya.

4.6.2 Pembuatan Ekstrak Klorofil *Caulerpa racemosa*

Sampel segar anggur laut (*Caulerpa racemosa*) (**Lampiran 3**) ditimbang menggunakan timbangan analitik sebanyak 10 gram. Sampel tersebut dihaluskan menggunakan mortal, kemudian disaring (pemisahan) antara air dan selaput hijau sampel. Kemudian sampel tersebut ditambahkan CaCO_3 sebagai agen penetral. Proses ekstraksi menggunakan pelarut aseton dan methanol dengan perbandingan 3 : 7. Hasil ekstrak disaring menggunakan kertas saring, residu diekstrak ulang dengan pelarut yang sama sampai semua pigmen klorofil terangkat. Sampel ekstrak pekat dari hasil ekstraksi pigmen klorofil selanjutnya dipartisi menggunakan dietil eter dalam corong pisah. Apabila belum terjadi pemisahan antara pigmen dan pelarut, maka ditambahkan dietil eter atau larutan garam untuk membantu pemisahannya. Setelah diperoleh pemisahannya, lapisan larutan pigmen klorofil diambil dan dikeringkan menggunakan gas N_2 . Tahapan ini menghasilkan isolasi ekstrak kasar klorofil yang siap digunakan sebagai sampel (Dimaria dkk, 2012)

4.6.3 Pembuatan Isolat Pox Virus

Virus pox didapatkan dari isolat lapang (**Lampiran 4**) yang ditemukan pada peternakan unggas yang terdapat nodul–nodul pada pial, jengger dan bagian tubuh unggas yang tidak ditutupi bulu. Organ yang telah diambil selanjutnya dilakukan pembuatan suspensi 10% dengan cara mengkoleksi nodul–nodul tersebut dan digerus hingga halus di dalam mortar. Organ digerus hingga hancur kemudian ditambahkan larutan pengencer sebanyak 100 mL. Selanjutnya ditambahkan dengan antibiotik penisilin dan streptomycin yang bertujuan untuk mencegah masuknya bakteri lain di dalam suspensi. Suspensi selanjutnya dipindahkan ke

dalam tabung. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan cara diambil supernatan dan dipindahkan ke dalam tabung eppendorf (Gulbahar *et al.*, 2003)

4.6.4 Proses Inokulasi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*)

Inokulasi ekstrak anggur laut (*Calerpa racemosa*) dengan volume berbeda yaitu volume bertingkat 0,1 mL/Butir, 0,15 mL/Butir, dan 0,2 mL/Butir pada masing-masing kelompok penelitian. pada masing-masing kelompok peneltian, selanjutnya setelah inokulasi maka lubang ditutup menggunakan lilin cair atau dapat menggunakan selotip kertas. Pada pra penelitian yang telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya untuk dosis 0,1 mL/Butir, 0,15 mL/Butir, 0,2 mL/Butir embrio yang bertahan hidup hanya yang diberikan dengan volume 0,1 mL/Butir sebab itu untuk selanjutnya volume diturunkan menjadi 0,03 mL/Butir, 0,05 mL/Butir dan 0,07 mL/Butir. Selanjutnya setelah telur ditutup menggunakan lilin cair ataupun selotip kertas maka tahapan berikutnya yaitu Telur Ayam Berembrio (TAB) ditaruh pada inkubator telur dengan suhu 37°C di letakan dengan posisi horizontal, selanjutnya dilakukan pengamatan setiap hari sampai dengan hari ke 7 pasca inokulasi (Murtini dkk, 2006)

4.6.5 Proses Inokulasi Pox Virus Pada TAB

Inokulasi virus pox dilakukan pada area membran chorioalantois Telur Ayam Berembrio berumur 9-11 hari selanjutnya akan dipersiapkan alat yang berupa pelubang telur untuk melubai bagian telurnya, dan menggunakan bulb untuk membuat area membrane chorioalantoisnya menjadi turun, peneropong telur, serta menggunakan disposable syring 1 mL dengan ukuran jarum yaitu 25 gauge sebagai alat inokulasi. Tahapan berikutnya yaitu menginokulasikan pox virus dengan dosis

yang dipakai sebanyak 0,2 mL/*Butir* pada masing-masing kelompok penelitian, selanjutnya setelah inokulasi maka kedua lubang ditutup menggunakan lilin cair atau dapat menggunakan selotip kertas (Kemenpet, 2014).

4.6.6 Pengambilan Jaringan Kulit

Pengambilan kulit pada Telur Ayam Berembrio (TAB) dilakukan dengan cara telur yang sudah siap untuk dibuka atau dipanen yang telah disimpan pada suhu 4°C dilakukan pemecah telur secara perlahan menggunakan gunting steril terlebih dahulu (Helmi dkk., 2016). Selanjutnya semua organ yang ada dalam Telur Ayam Berembrio (TAB) ditempatkan pada cawan petri selanjutnya pisahkan daerah kulit dari organ lainnya lalu diambil dan dicuci organ kulit menggunakan PBS untuk memisahkan dari kotoran maupun dari hal lainnya (Suryana, 2005). Kulit yang sudah dilakukan pembersihan kemudian dibagi menjadi dua untuk selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histologi dan imunohistokimia.

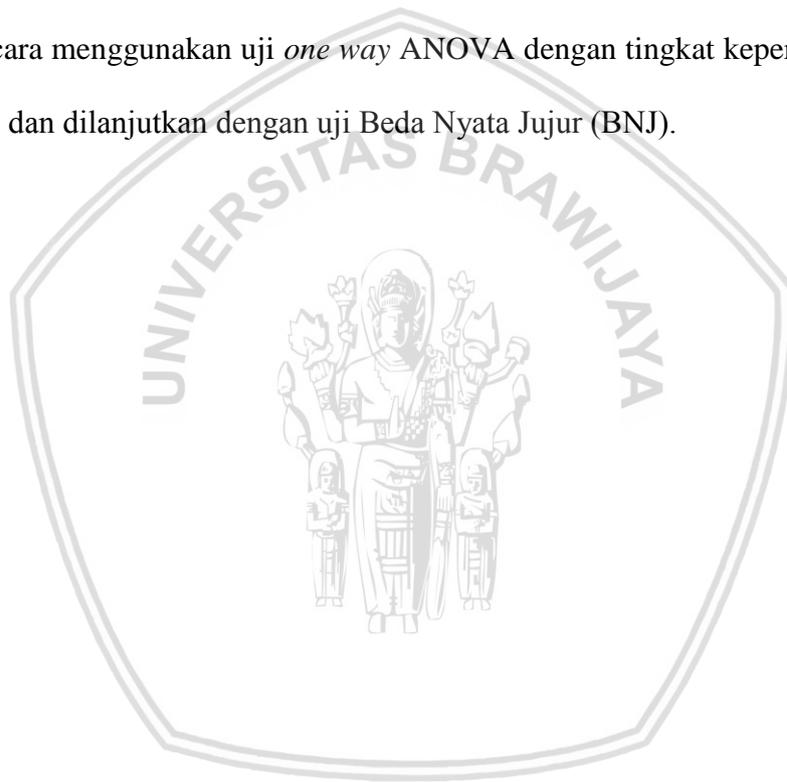
4.6.7 Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit

Pembuatan preparat histopatologi harus menggunakan organ atau jaringan yang segar di koleksi secepat mungkin setelah di panen. Organ atau jaringan yang diambil dilihat dari bentukan abnormal atau jaringan yang mengalami perubahan lalu di ambil jaringan pada perbatasan antara jaringan yang abnormal. Selanjutnya organ atau jaringan direndam dengan larutan *Buffed Neutral Formalin* (BNF) 10% digunakan BNF berfungsi sebagai bahan pengawet agar terhindar dari pencernaan jaringan oleh enzim-enzim (otolisis) atau bakteri dan untuk melindungi struktur fisik sel (Medina *et al.*, 2004).

Setelah jaringan organ berada di dalam larutan fiksatif matang, jaringan di ambil dan selanjutnya dipotong menggunakan pisau *scalpel* dengan ketebalan 0,3-0,5 mm dan disusun ke dalam *tissue cassette* selanjutnya dimasukkan ke keranjang khusus. Selanjutnya keranjang khusus yang berisikan jaringan organ, dimasukkan dalam mesin processor otomatis. Selanjutnya jaringan mengalami proses dehidrasi bertahap terlihat pada (**Lampiran 3**). Setelah proses dehidrasi dilakukan dilanjutkan dengan penghilang udara dari jaringan dengan menggunakan vakum yang didalamnya terdapat tabung untuk menyimpan keranjang yang diisi parafin cair dengan temperatur 59-60^o C selama 30 menit. Selanjutnya setiap cetakan dimasukan jaringan sambil diatur dan sedikit ditekan. Lalu parafin dimasukkan ke dalam jaringan sampai seluruh jaringan terendam parafin. Selanjutnya blok parafin dilepas dari cetakan dan disimpan di freezer -20^oC sebelum dilakukan pemotongan. Selanjutnya dilakukan pemotongan sebelum pemotongan dimasukan ke dalam waterbath bersuhu 46^oC, pada kesempatan ini bentuk irisan dirapikan, kemudian diletakkan di atas objek yang telah diolesi *ewith*. Selanjutnya jaringan disusun dan dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu 60^oC sampai preparat siap diwarnai. Selanjutnya dilakukan proses pewarnaan larutan hematoxilin (Muntha,2001). Tahapan terakhir dimounting dengan entellan dan ditutup dengan cover glass. Hasil berupa preparat histopatologi kulit lapisan epidermis dermis dan hipodermis yang diamati menggunakan metode pengamatan di mikroskop dengan perbesaran 40x-1000x (Murch *et al.*, 2013).

4.7 Analisa Data

Analisis data yang akan dilakukan dalam penelitian ini berupa histopatologi dengan cara mengamati secara kualitatif yaitu melihat sel yang mengalami perbaikan dari infeksi virus pox dengan dilihat menggunakan mikroskop selanjutnya akan diambil foto dengan menggunakan alat yaitu *Optilab Image Viewer*, lalu hasil dijelaskan secara deskriptif. Menghitung ketebalan epidermis dengan cara menggunakan uji *one way* ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ).



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

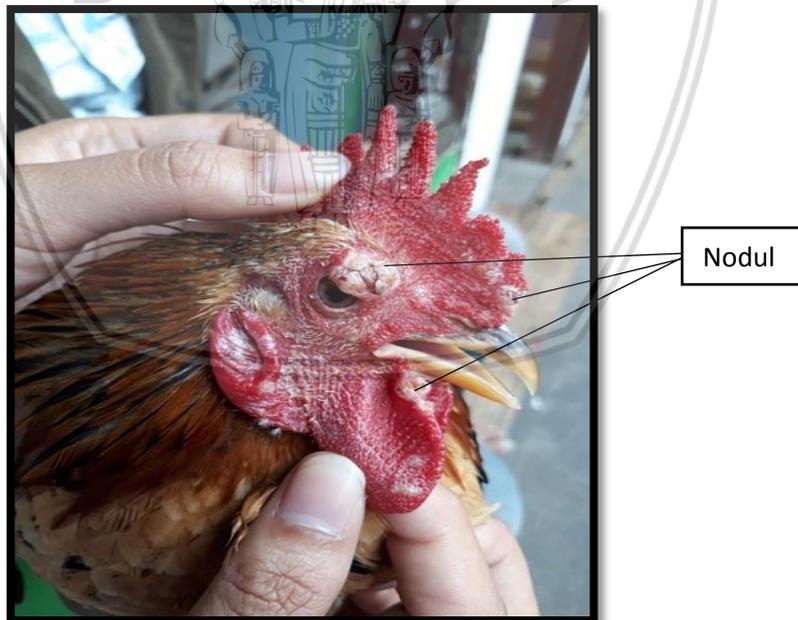
5.1 Penelitian Pendahuluan Penentuan Dosis Klorofil

Ekstrak anggur laut (*Calerpa racemosa*) dengan volume berbeda yaitu volume bertingkat 0,1 mL/Butir, 0,15 mL/Butir, dan 0,2 mL/Butir pada masing-masing kelompok penelitian. Tahapan berikutnya yaitu menginokulasikan virus pox dengan dosis yang dipakai sebanyak 0,2 mL/Butir pada masing-masing kelompok penelitian, selanjutnya setelah inokulasi maka kedua lubang ditutup menggunakan lilin cair atau dapat menggunakan selotip kertas (Murtini dkk, 2006). Pada pendahuluan penelitian yang kelompok kami lakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya untuk volume 0,1 mL/Butir, 0,15 mL/Butir, 0,2 mL/Butir TAB yang bertahan hidup hanya yang diberikan dengan volume 0,1 mL/Butir.

Menurut penelitian (Ridhowati dan Asnani, 2016) Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) mengandung senyawa seperti caulerpin, caulerpin menimbulkan rasa pedas pada pemberiannya. Pada ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) yang pada pemberian volume yang tinggi dapat menghilangkan beberapa senyawa yang terkandung dalam anggur laut, yang dapat mengakibatkan menghilangkan fungsi anggur laut sebagai antimikroorganisme, antioksidan dan antiinflamasi, karena itu selanjutnya untuk penelitian menggunakan volume yang akan diturunkan menjadi 0,03 mL/Butir, 0,05 mL/Butir dan 0,07 mL/Butir yang diharapkan mampu memberikan efek pencegahan terhadap pox virus.

5.2 Isolasi Virus Pox Isolat Lapang

Virus yang digunakan pada penelitian ini merupakan virus yang didapatkan dari kasus lapang. Fowl pox dibedakan menjadi dua bentuk yaitu kutaneus dan bentuk difteritik, bentuk kutaneus ditandai dengan adanya nodul pada area yang tidak ditutupi bulu dan bentuk difteritik ditandai dengan terdapat nodul putih pada membran mukosa. Diagnosa banding mirip dengan coryza dikarenakan gangguan pernapasan yang disebabkan oleh fowl pox tipe difteritik pada saluran pernapasan bagian atas mirip dengan gangguan pernapasan yang ditimbulkan akibat coryza (Kemenpet, 2014). Menurut kasus lapang yang didapatkan dari peternakan memiliki tanda bentuk kutaneus terdapat nodul pada area yang tidak ditutupi bulu, terlihat pada (**Gambar 5.1**) adanya infeksi pada area wajah ayam dewasa.



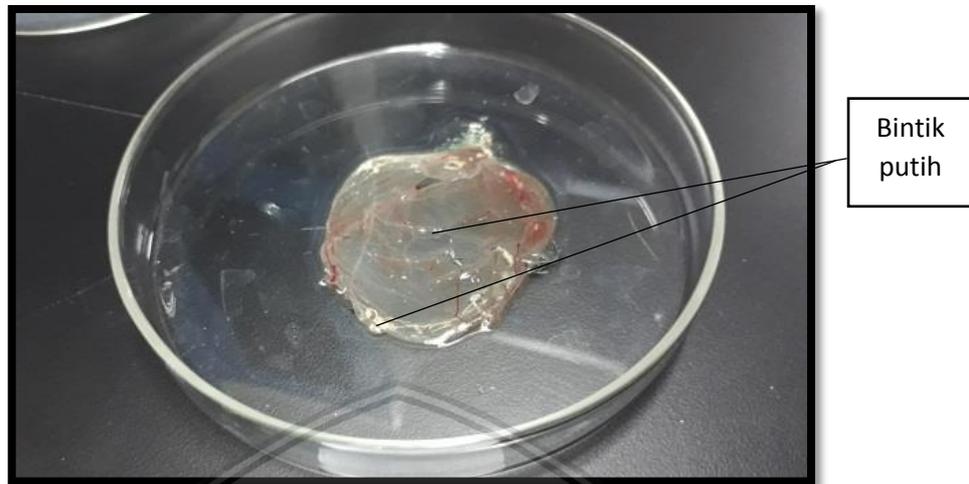
Gambar 5.1 Kasus lapang *fowl pox* bentuk kutaneus (Dokumentasi Pribadi)

5.3 Isolasi Virus Pox Isolat Lapang Pada CAM

Setelah melakukan isolasi virus pox isolat lapang yang didapatkan dari peternak ayam, isolat virus lalu di uji ke dalam TAB untuk melihat apakah gejala yang ditimbulkan pada ayam terinfeksi yang didapatkan dari peternakan positif mengandung virus pox atau tidak dengan cara melakukan inokulasi ke TAB di daerah *Chorioallantois membrane* (CAM). Setelah itu dilakukan pengamatan secara makros dan mikros untuk melihat apakah ada bentukan plaque pada daerah CAM, jika terdapat bentukan plaque atau bintik putih maka isolat yang didapatkan dari peternakan benar positif dan ditunjang dengan diamati secara mikros apakah terdapat benda inklusi pada histopatologi CAM.

5.3.1 Gambaran Makroskopis *Chorioallantois membrane* (CAM)

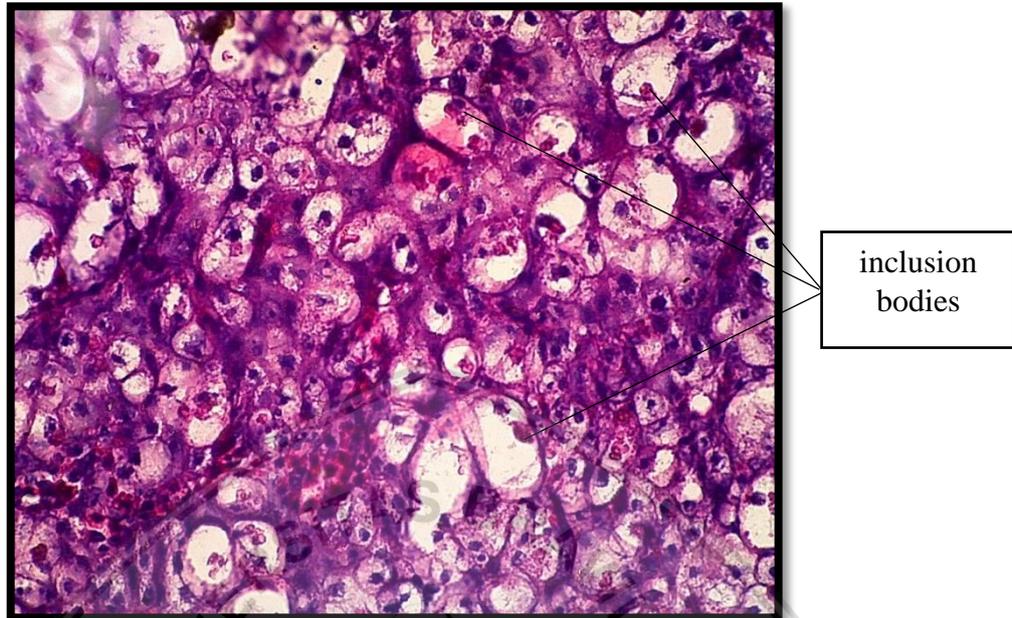
Gambaran makroskopis *Chorioallantois membrane* (CAM) menurut (Abdo *et al.*, 2016) virus pox bereplikasi dengan mudah di sitoplasma sel unggas yang terinfeksi, pada CAM setelah 4-6 hari pasca infeksi dapat terlihat bintik putih atau plaque pada *Chorioallantois membrane* (CAM). Bentukan tersebut terlihat pada (**Gambar 5.2**) yaitu gambaran makroskopis adanya bentukan dari infeksi virus pox yang ditandai seperti bentukan *plaque* atau bintik putih pada *Chorioallantois membrane* (CAM).



Gambar 5.2 Bentuk plaque atau bintik putih pada CAM (Dokumentasi pribadi)

5.3.2 Gambaran Histopatologi *Chorioallantois membrane* (CAM)

Gambaran histopatologi *Chorioallantois membrane* (CAM) dengan pewarnaan hematoxilina eosin menurut (Bayati, 2015) Gambaran histopatologi *Chorioallantois membrane* (CAM) yang terinfeksi virus pox akan mengalami *inclusion bodies* dilihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Gambaran histopatologi yang terlihat pada (**Gambar 5.3**) terlihat adanya bentukan dari infeksi virus pox yang didapat dari isolat lapang berupa *inclusion bodies*. dapat disimpulkan bahwa isolat yang didapatkan dari kasus lapang positif virus pox yang selanjutnya dapat digunakan dalam penelitian yang akan dilihat secara makroskopis embrio



Gambar 5.3 Gambaran Histopatologi *Chorioallantois membrane* (CAM) (Dokumentasi Pribadi)

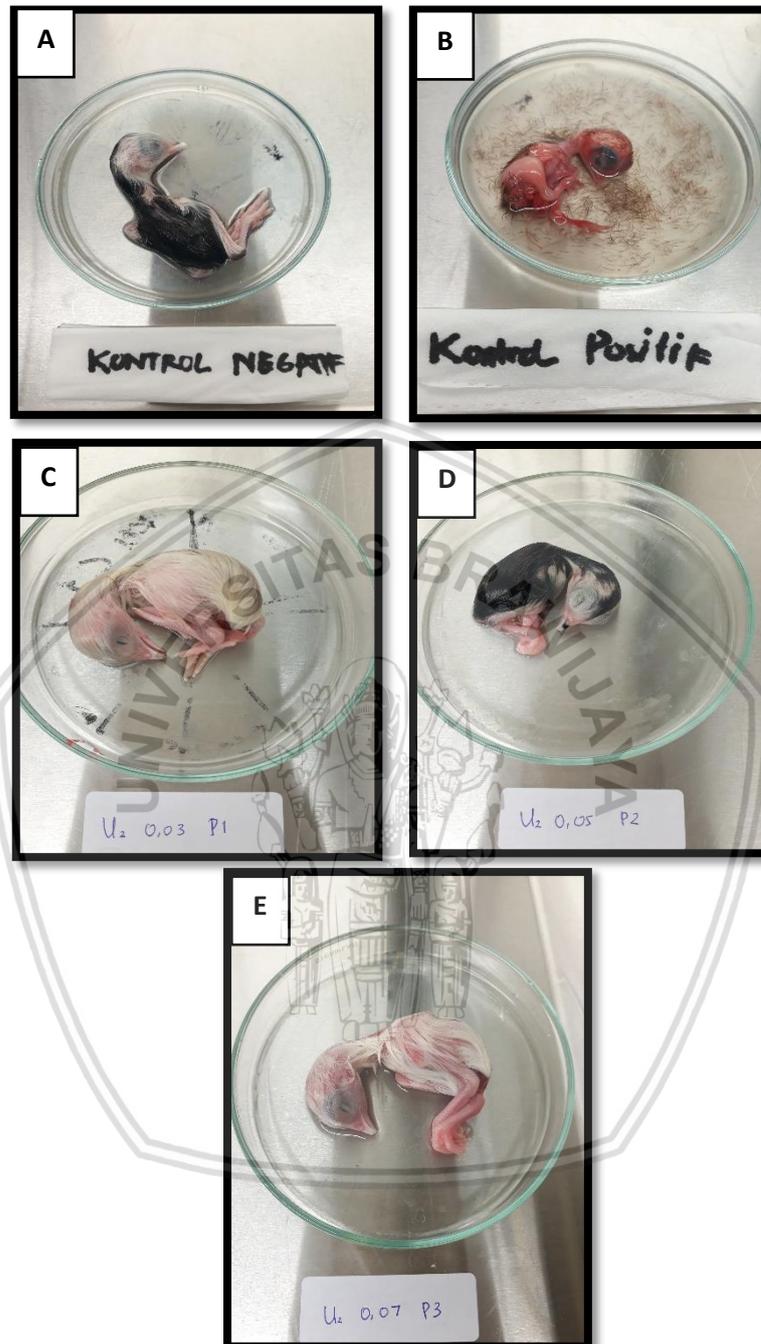
5.3.3 Gambaran Makroskopis Embrio Ayam

Gambaran makroskopis embrio ayam yang dilakukan perlakuan dengan pemberian ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dengan volume bertingkat mulai dari 0,03 mL/Butir, 0,05 mL/Butir, dan 0,07 mL/Butir diinokulasikan di daerah kantung hawa dan kemudian ditutup menggunakan isolasi kertas lalu disimpan diruang inkubator dengan suhu 37-38°C. Selanjutnya diinokulasikan virus pox dengan volume 0,2 mL/Butir didaerah *Chorioalantois membrane* (CAM) setelah ekstrak anggur laut masuk selama 24 jam (Murtini dkk, 2006).

Gambaran makroskopis terlihat pada (**Gambar 5.4.A**) embrio ayam pada kelompok kontrol negatif (K-) tanpa perlakuan apapun menunjukkan tidak terlihat adanya lesi, embrio mengecil dan kerontokan bulu embrio. Gambaran

makroskopis terlihat pada (**Gambar 5.4.B**) embrio ayam pada kelompok kontrol positif (K+) pada umur embrio 17 hari menunjukkan adanya lesi karena infeksi virus pox, embrio menjadi mengecil dan kerontokan bulu embrio. Gambaran makroskopis terlihat pada (**Gambar 5.4.C**) embrio ayam pada kelompok Perlakuan satu (P1) tidak terlihat adanya lesi karena infeksi virus pox, embrio mengecil dan kerontokan bulu. Gambaran makroskopis terlihat pada (**Gambar 5.5.D**) embrio ayam pada kelompok perlakuan dua (P2) menunjukkan adanya lesi karena infeksi virus pox, embrio mengecil dan kerontokan bulu embrio perlakuan dua memiliki bentukan yang sama pada kontrol positif. Gambaran makroskopis terlihat pada (**Gambar 5.5.E**) embrio ayam pada kelompok perlakuan tiga (P3) menunjukkan adanya lesi karena infeksi virus pox, embrio mengecil dan kerontokan bulu embrio perlakuan tiga memiliki bentukan yang sama pada kontrol positif.

Perlakuan bertingkat ini terlihat adanya perubahan secara makroskopis pada perlakuan satu (P1) yang menandakan pada gambaran makroskopis P1 memiliki efek terhadap preventif virus pox. Pada pemberian P2 dan P3 terlihat tidak memberikan efek pada gambaran makroskopis dapat dikarenakan adanya senyawa caulerpin pada ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*), ekstrak caulerpin dapat menghilangkan senyawa lainnya yang terkandung dalam anggur laut dan membuat fungsi ekstrak anggur laut sebagai antimikroorganisme, antioksidan dan antiinflamasi kurang memberikan efek preventif pada embrio ayam.



Gambar 5.4 Gambaran makroskopis embrio ayam, A: Kontrol negatif (K-); B: Kontrol Positif (K+); C: Perlakuan satu ekstrak anggur laut 0,03 mL/Butir (P1); D: Perlakuan dua ekstrak anggur laut 0,05 mL/Butir (P2); E: Perlakuan tiga ekstrak anggur laut 0,07 mL/Butir (P3).

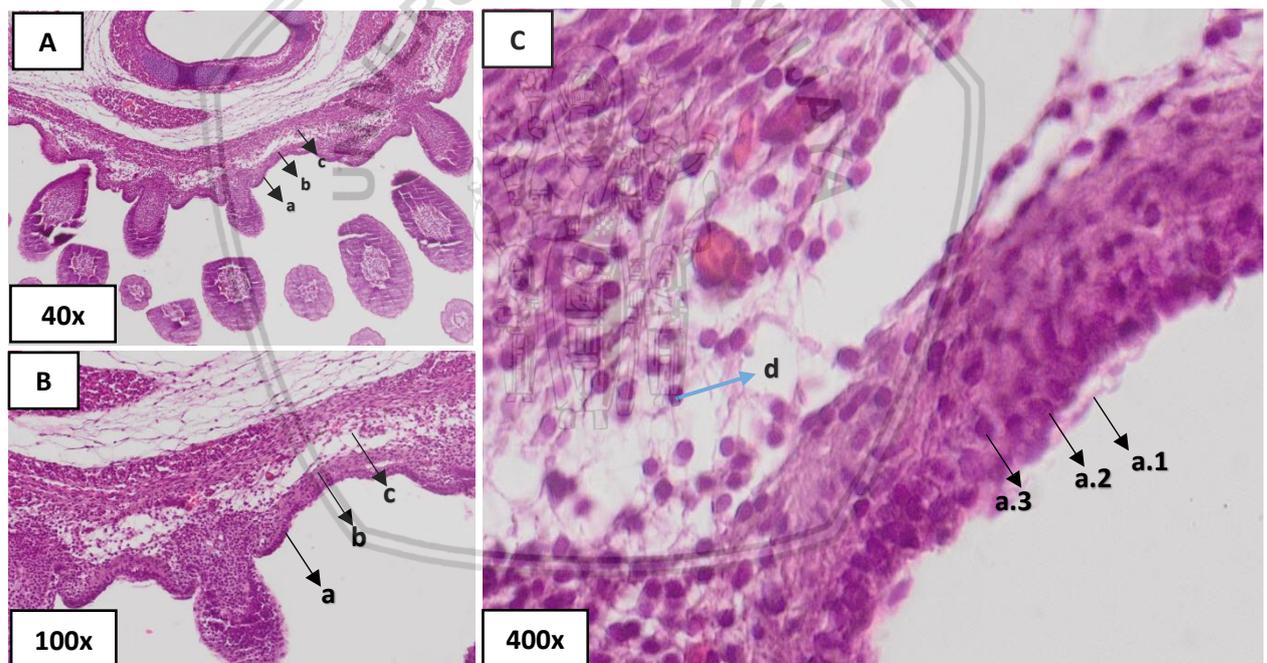
5.4 Efek Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Sebagai Preventif Virus Pox Terhadap Gambaran Histopatologi Kulit

Kulit adalah suatu jaringan yang sangat berperan sebagai pembungkus seluruh permukaan tubuh yang salah satunya berfungsi sebagai pelindung utama untuk jaringan dibawahnya. Jaringan kulit tersusun beberapa lapisan utama antara lain epidermis, dermis dan hipodermis. Virus dapat menyebabkan timbulnya lesi kulit sebagai hasil dari replikasi virus diepidermis atau sebagai efek sekunder dari replikasi virus di tempat lain pada tubuh. Infeksi dari virus pad Telur Ayam Berembrio (TAB) secara makroskopis dapat terjadi lesi pada tubuh, kerontokan bulu embrio dan kematian emrio karna infeksi virus (Putra dkk, 2012).

Gambaran histopatologi dari kelompok kontrol negatif (K-) pada **Gambar 5.5.A** dengan perbesaran 40x merupakan perkembangan jaringan kulit embrio pada umur 17 hari. Gambaran histopat tersebut terlihat normal pada kulit yang normal untuk bagian epidermis, dermis dan subkutan, Menurut (Freinkel, 1972) bahwasannya pada hari ke 17 proses kornifikasi sudah mulai terlihat pada hari di bawahnya untuk kornifikasi belum terlihat jelas. Pada bagian kulit normal karakteristik epidermis yaitu terdapat bagian luar kulit, terdiri dari lima lapisan atau stratum (Corneum, lucidium, granulosum, spinosum dan germinativum). Lapisan di bawah epidermis yaitu dermis memiliki karakteristik yang terdiri dari 2 lapisan papillary demis dan retikular dermis tersusun dari kolagen, retikulum serta serat elastin, lalu berisikan pembuluh darah, limfatik, kapiler dan foliker rambut. Lapisan paling bawah kulit yaitu subcutaneus atau hipodermis memiliki karakteristik terdiri dari adiposa dan jaringan ikat serta berisikan pembuluh darah utama, saraf dan

pembuluh limfatik. Gambaran Histopatologi pada (**Gambar 5.5.B**) perbesaran 100x terlihat lapisan kulit epidermis, dermis dan subkutan.

Gambaran histopatologi perbesaran 400x pada (**Gambar 5.5.C**) merupakan gambaran histopatologi kulit yang memperlihatkan lebih jelas bagian lapisan epidermis terdapat *stratum corneum*, *stratum granulosum* dan *stratum spinosum* epitel pada kulit yaitu epitel squamus kompleks serta terlihat sel radang. lapisan pada kulit terlihat normal tidak terjadi hipertropi, hiperplasia dan degeneratif jika dibandingkan dengan kontrol positif (K+).

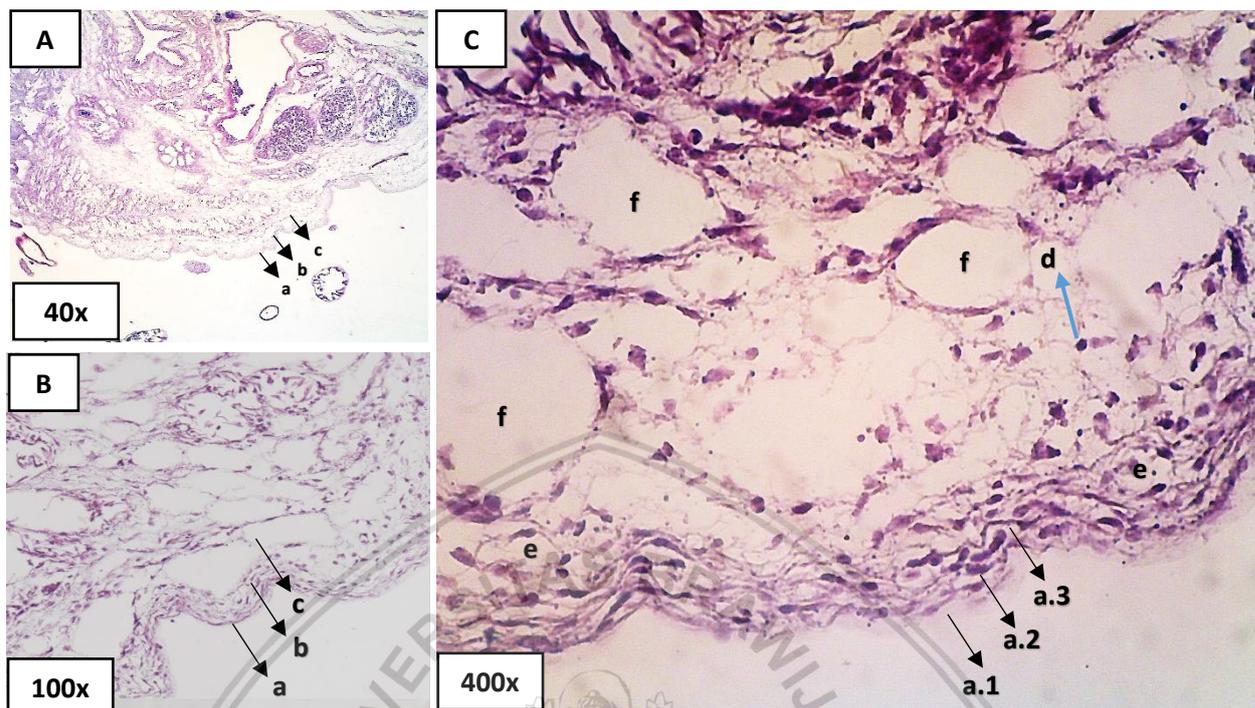


Gambar 5.5 Histopatologi kulit kontrol negatif (K-); terlihat lapisan kulit (a) epidermis, (b) dermis, (c) subkutan, (d) sel radang; (a.1) stratum corneum, (a.2) stratum granulosum, (a.3) stratum spinosum.

Gambaran histopatologi dari kelompok kontrol positif (K+) pada **Gambar 5.6.A** perbesaran 40x terlihat pada lapisan kulit yang sudah terinfeksi virus pox adanya kerusakan pada lapisan kulit epidermis, dermis dan subkutaneus atau

hipodermis, Menurut penelitian (Al-Ajeeli *et al.*, 2015) hasil dari pengamatan yang dilakukan dengan metode pewarnaan HE pada infeksi virus di kulit terjadinya bentukan dari infeksi virus pox pada area epidermis, dermis dan subkutan dimana menurut penelitian tersebut terjadi degeneratif pada lapisan epidermis, pada lapisan dermis dan hipodermis terjadi hiperplasia dan hipertrofi sel-sel epitel kulit terlihat menunjukkan pembengkakan sel epitel. Terjadinya hipertropi dikarenakan adanya infeksi dari virus pox yang menyebabkan pembesaran sel-sel yang tadinya normal, hiperplasia terjadi dikarenakan ukuran sel tetap akan tetapi jumlah sel yang bertambah.

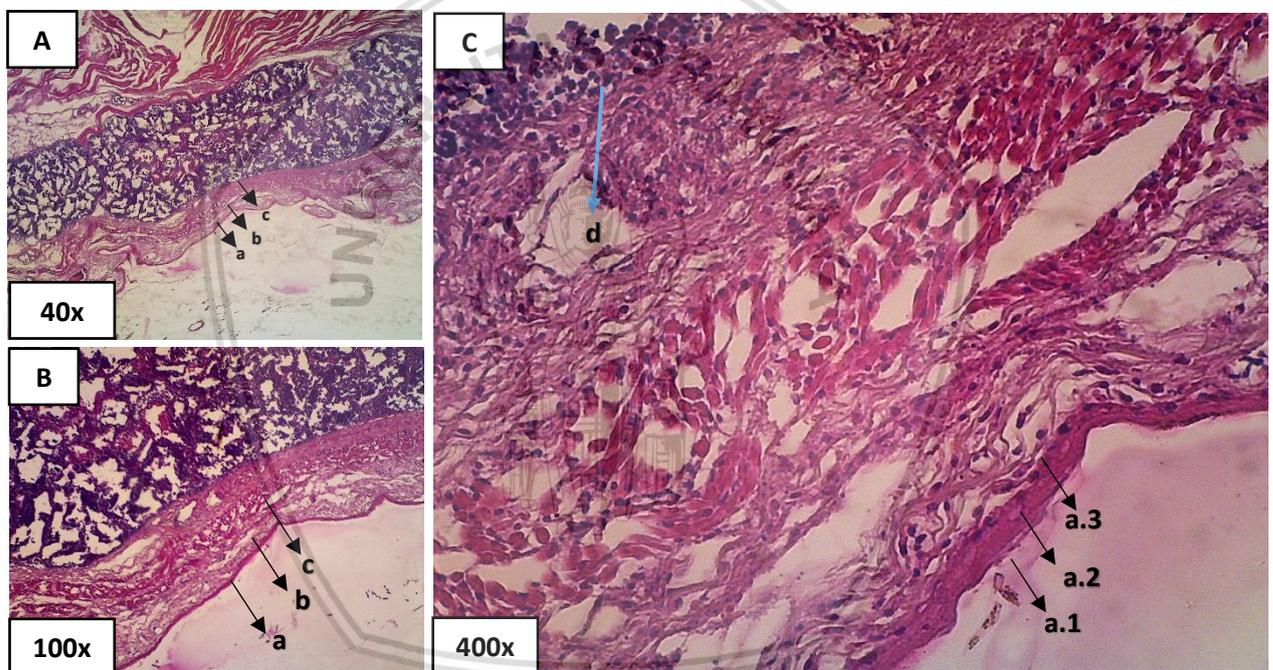
Gambaran histopatologi dari kelompok kontrol positif (K+) pada **Gambar 5.6.B** dengan perbesaran 100x terlihat terjadi perubahan yang jelas jika dibandingkan dengan kontrol negatif (K-) yaitu lapisan epidermis mengalami degeneratif, lapisan dermis dan subkutaneus atau hipodermis mengalami hiperplasia dan hipertropi yang sudah mengalami perubahan akibat infeksi virus pox. Gambaran histopatologi perbesaran 400x pada (**Gambar 5.6.C**) terlihat jelas bagian lapisan epidermis terdapat stratum corneum, stratum granulosum dan stratum spinosum yang sudah mengalami degeneratif, lapisan dermis dan subkutaneus atau hipodermis mengalami hipertropi dan hiperplasia. Berdasarkan gambaran tersebut, menunjukkan bahwa virus pox yang diinokulasikan pada daerah embrio berhasil menginfeksi atau berhasil masuk ke dalam tubuh embrio.



Gambar 5.6 Histopatologi kulit kontrol positif (K+); terlihat lapisan kulit (a) epidermis, (b) dermis, (c) subkutan, (d) sel radang, (e) hiperplasia, (f) hipertropi; (a.1) stratum corneum, (a.2) stratum granulosum, (a.3) stratum spinosum.

Gambaran histopatologi kulit dari kelompok perlakuan 1 pada **Gambar 5.7.A** terlihat lapisan epidermis, dermis dan subkutaneus atau hipdermis sudah mengalami proliferasi. Gambaran histopatologi pada **Gambar 5.7.B** perbesaran 100x terlihat daerah kulit beberapa jaringan mengalami proliferasi dan hanya sedikit jaringan pada lapisan dermis dan subkutaneus atau hipodermis yang mengalami hiperplasia dan hipertrofi, dapat perbandingan kelompok kontrol positif (K+) pada daerah epidermis, dermis dan subkutaneus atau hipodermis sudah mulai terlihat proses proliferasi, proliferasi merupakan proses pembentukan jaringan atau sel baru. Gambaran histopatologi pada **Gambar 5.7.C** perbesaran 400x hampir sama dengan gambaran histopatologi kelompok kontrol negatif (K-) yaitu terlihat

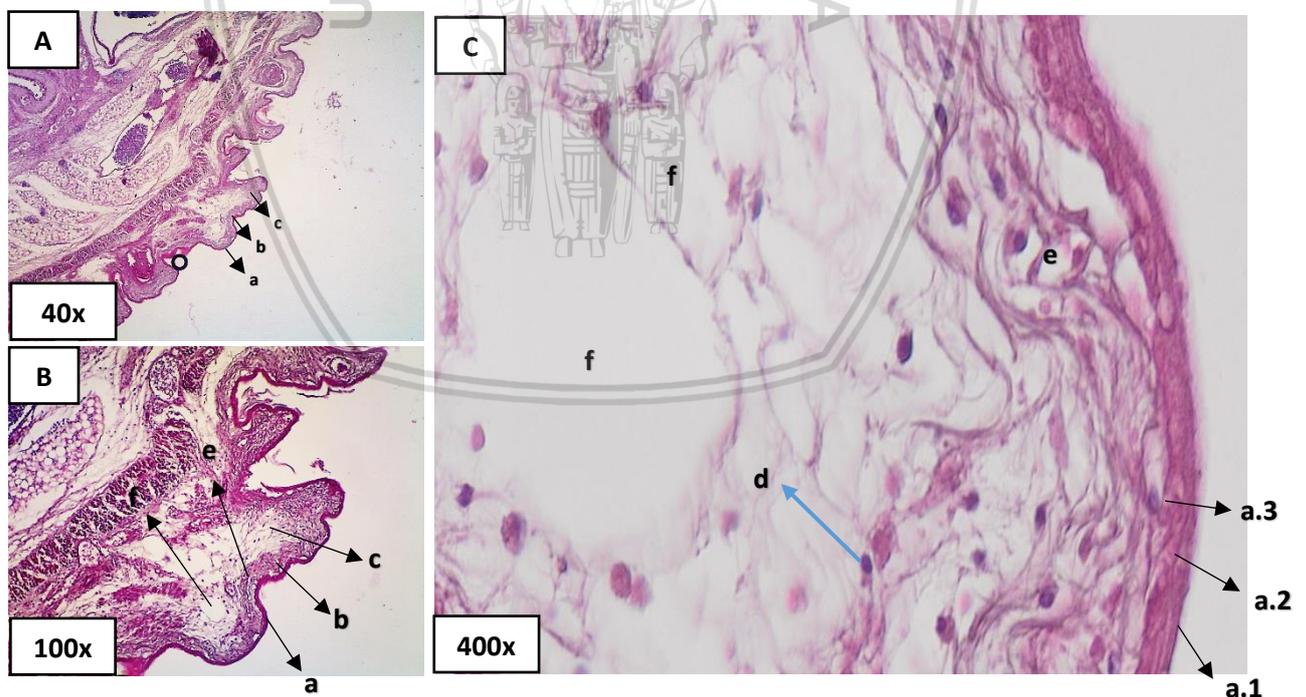
bagian kulit normal karakteristik epidermis yaitu terdapat bagian luar kulit, terdiri dari lima lapisan atau stratum (Corneum, lucidium, granulosum, spinosum dan germinativum) dikarenakan terjadinya proliferasi pada histopatologi yang dimana sudah mulai terbentuknya jaringan baru dengan ini kelompok P1 sudah memperlihatkan terjadinya perbaikan jaringan kulit lapisan epidermis, dermis dan subkutaneus atau hipodermis yang berdasarkan deskripsi berarti pemberian dengan dengan volume ini mendekati efektif.



Gambar 5.7 Histopatologi kulit Perlakuan satu (P1); terlihat lapisan kulit (a) epidermis, (b) dermis, (c) subkutan, (d) sel radang; (a.1) stratum corneum, (a.2) stratum granulosum, (a.3) stratum spinosum.

Gambaran histopatologi kulit dari kelompok perlakuan dua (P2) (**Gambar 5.8.A**) perbesaran 40x terlihat pada lapisan kulit yang masih mengalami efek dari infeksi virus pox ditandai adanya kerusakan pada lapisan kulit epidermis, dermis dan subkutaneus atau hipodermis. Gambaran histopatologi pada (**Gambar 5.8.B**)

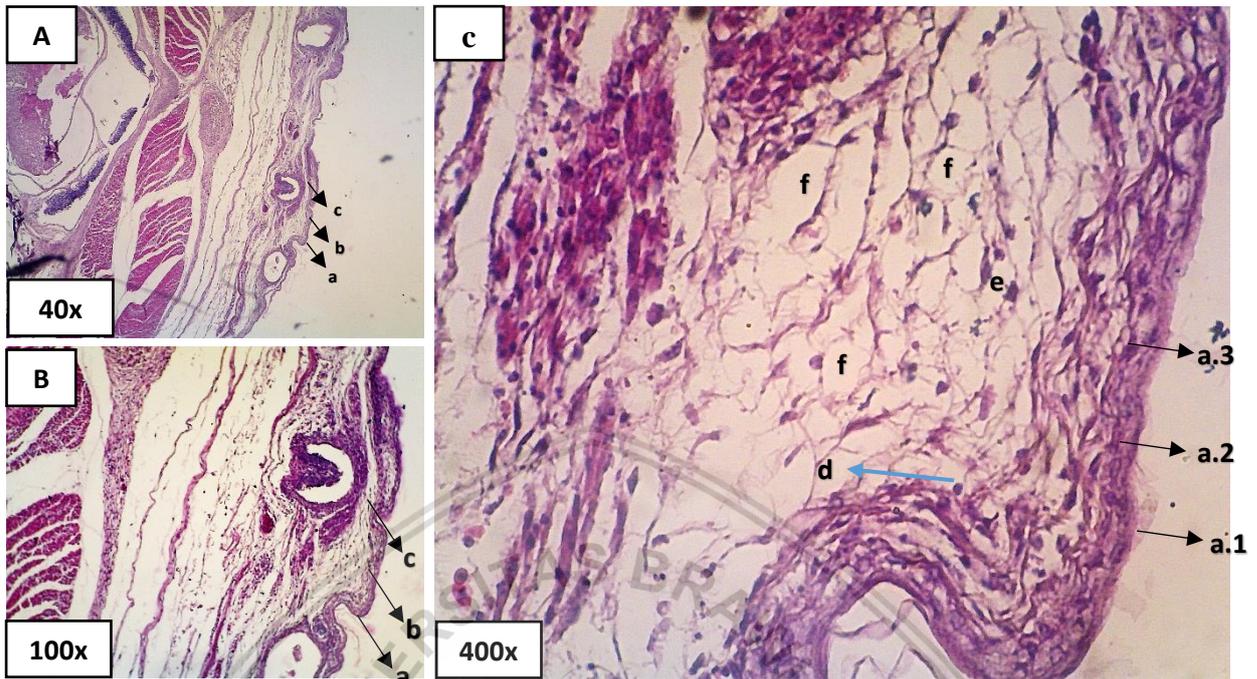
dengan perbesaran 100x terlihat terjadi perubahan yang terlihat jelas jika di bandingkan dengan kontrol negatif (K-) yaitu lapisan epidermis mengalami degeneratif, lapisan dermis dan subkutaneus atau hipodermis mengalami hiperplasia dan hipertropi yang sudah mengalami perubahan akibat infeksi virus pox bentukan ini lebih mengarah ke kontrol positif (K+). Gambaran histopatologi perbesaran 400x pada (**Gambar 5.8.C**) terlihat jelas bagian lapisan epidermis terdapat stratum corneum, stratum granulosum dan stratum spinosum yang sudah mengalami degeneratif, lapisan dermis dan subkutaneus atau hipodermis masih mengalami hipertropi dan hiperplasia. Berdasarkan gambaran tersebut, menunjukkan bahwa P2 masih belum memberikan efek yang efektif terhadap gambaran histopatologi kulit embrio.



Gambar 5.8 Histopatologi kulit perlakuan dua (P2); terlihat lapisan kulit (a) epidermis, (b) dermis, (c) subkutan, (d) sel radang, (e) hiperplasia, (f) hipertropi; (a.1) stratum corneum, (a.2) stratum granulosum, (a.3) stratum spinosum.

Gambaran histopatologi kulit dari kelompok perlakuan dua (P3) (**Gambar 5.9.A**) perbesaran 40x terlihat pada lapisan kulit yang masih mengalami efek dari infeksi virus pox ditandai adanya kerusakan pada lapisan kulit epidermis, dermis dan subkutaneus atau hipodermis. Gambaran histopatologi pada (**Gambar 5.9.B**) dengan perbesaran 100x terlihat terjadi perubahan yang terlihat jelas jika dilakukan perbandingan dengan kontrol negatif (K-) terlihat yaitu lapisan epidermis mengalami degeneratif, lapisan dermis dan subkutaneus atau hipodermis mengalami hiperplasia dan hipertropi yang sudah mengalami perubahan akibat infeksi virus pox bentuk ini lebih mengarah ke kontrol positif (K+).

Gambaran histopatologi perbesaran 400x pada (**Gambar 5.9.C**) terlihat jelas bagian lapisan epidermis terdapat stratum corneum, stratum granulosum dan stratum spinosum yang sudah mengalami degeneratif, lapisan dermis dan subkutaneus atau hipodermis masih mengalami hipertropi dan hiperplasia. Dilihat dari semua efek ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) yang dilakukan pada pemberian perlakuan tiga (P3) dapat dilihat dari gambaran histopatologi kulit embrio merupakan perlakuan yang tidak terlihat adanya perbaikan yang signifikan. Berdasarkan gambaran tersebut, menunjukkan bahwa P3 masih belum memberikan efek yang efektif terhadap gambaran histopatologi kulit.



Gambar 5.9 Histopatologi kulit perlakuan tiga (P3); terlihat lapisan kulit (a) epidermis, (b) dermis, (c) subkutan, (d) sel radang, (e) hiperplasia, (f) hipertropi; (a.1) stratum corneum, (a.2) stratum granulosum, (a.3) stratum spinosum.

Dilihat dari hasil perlakuan yang telah dilakukan terjadi perbedaan gambaran histopatologi kulit pada P2 dan P3 yang belum mengalami efek perbaikan, karena pada kandungan ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) terdapat senyawa caulerpin yang didalam tubuh jika pemberian volume tinggi akan menghilangkan senyawa aktif lainnya sehingga fungsi dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) kurang optimal untuk memberikan efek sebagai antimikroorganisme, antioksidan dan antiviral. Pada pemberian perlakuan satu (P1) volume 0,03 mL/Butir terlihat memberikan efek perbaikan lapisan epidermis, dermis dan hipodermis, dikarenakan pada volume tersebut kandungan caulerpin tidak terlalu tinggi yang membuat ekstrak anggur laut memberikan efek yang optimal.

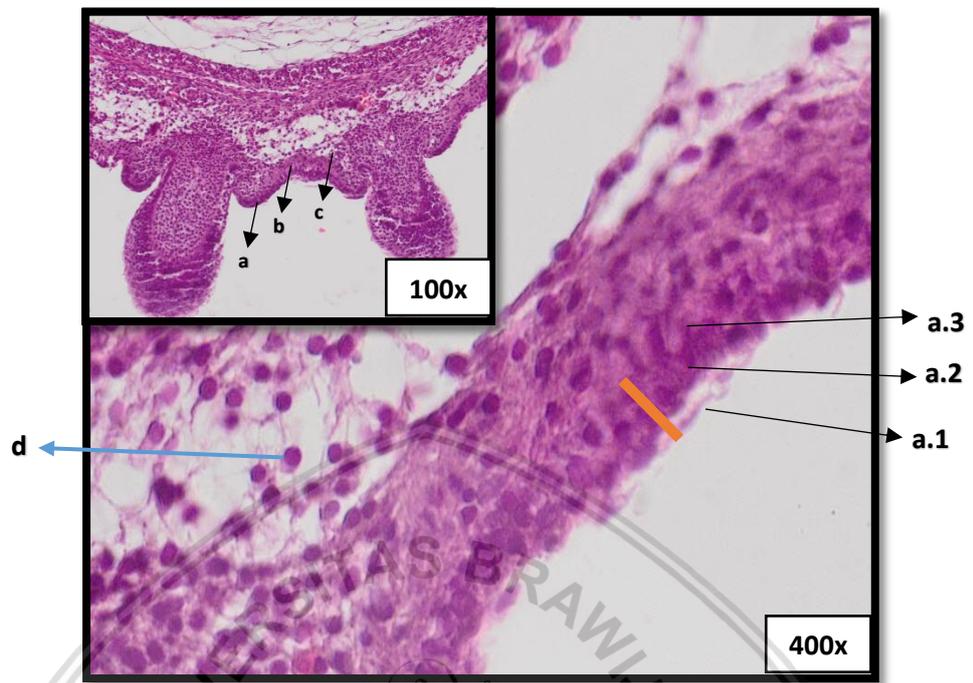
5.5 Efek Potensi Ekstrak Pigmen Klorofil Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Sebagai Preventif Virus Pox Berdasarkan Ketebalan Epidermis

Lapisan epidermis menurut penelitian (Al-Ajeeli *et al.*, 2015) hasil dari penelitian yang dilakukan dengan metode pewarnaan HE pada infeksi virus di kulit terjadi bentukan dari infeksi virus pox pada area epidermis dimana menurut penelitian tersebut terjadi degeneratif pada lapisan epidermis. Epidermis tersusun oleh beberapa stratum yaitu stratum korneum, stratum lucidum, stratum granulosum, stratum spinosum dan stratum germinativum. Degeneratif adalah penyakit yang menyebabkan terjadinya kerusakan atau penghacuran terhadap jaringan. Penelitian ini menggunakan ketebalan epidermis sebagai parameter untuk melihat apakah efek potensi ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dapat mencegah pertumbuhan virus pada kulit yang dilihat dari ketebalan epidermis. Ketebalan epidermis diukur menggunakan *microruller* pada *software* ImageJ[®] kemudian data dianalisa secara statistik menggunakan uji *one way* ANOVA. Gambaran histopatologi setiap kontrol diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran total 100x dan 400x dilihat pada (**Gambar 6.0**) sampai (**Gambar 6.4**).

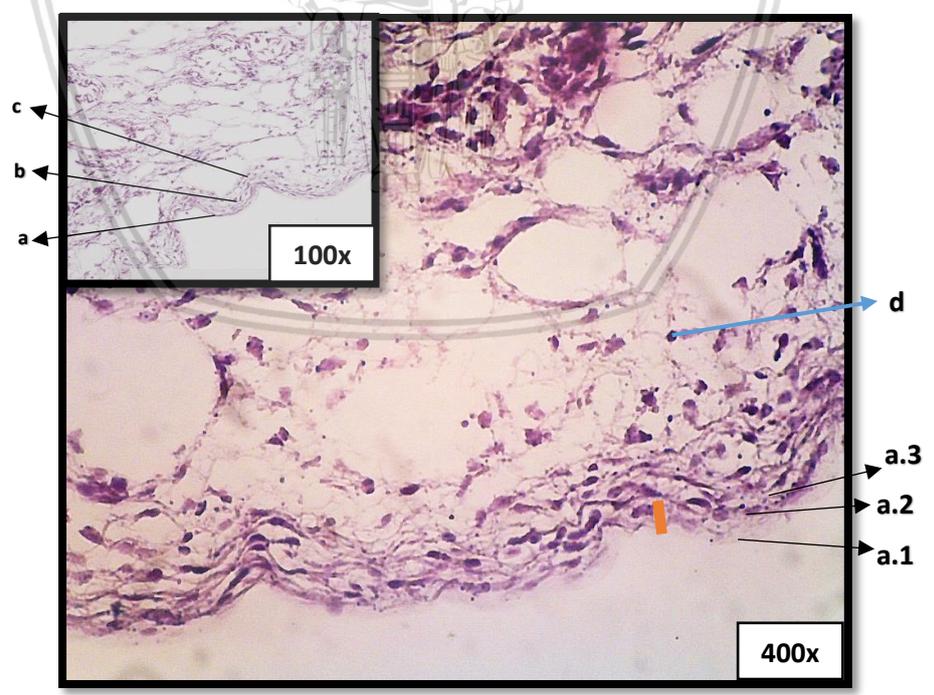
Gambaran histopatologi dengan perbesaran 100x terlihat pada kelompok kontrol negatif (K-) (**Gambar 6.0**) pembentukan stratum epidermis masih terlihat normal terlihat dengan terbentuknya stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidium dan stratum korneum. Gambaran histopatologi kontrol positif (K+) (**Gambar 6.1**) terjadi kerusakan karena infeksi dari virus pox terjadinya degeneratif lapisan epidermis embrio terlihat adanya penipisan pada stratum epidermis. Gambaran histopatologi P1 (**Gambar 6.2**) terlihat efektif memberikan perbaikan jaringan epidermis yang mendekati kontrol negatif (K-)

dengan terbentuknya stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidium dan stratum korneum. Gambaran histopatologi P2 (**Gambar 6.3**) pembentukan stratum epidermis belum sempurna tidak terlihat perbaikan jaringan terlihat P2 mendekati gambaran histopatologi kontrol positif (K+), menandakan P2 belum memberikan efek terhadap embrio. Gambaran histopatologi P3 (**Gambar 6.4**) pembentukan stratum epidermis belum sempurna tidak terlihat perbaikan jaringan terlihat P3 seperti P2 mendekati gambaran histopatologi kontrol positif (K+), menandakan P3 belum memberikan efek terhadap embrio.

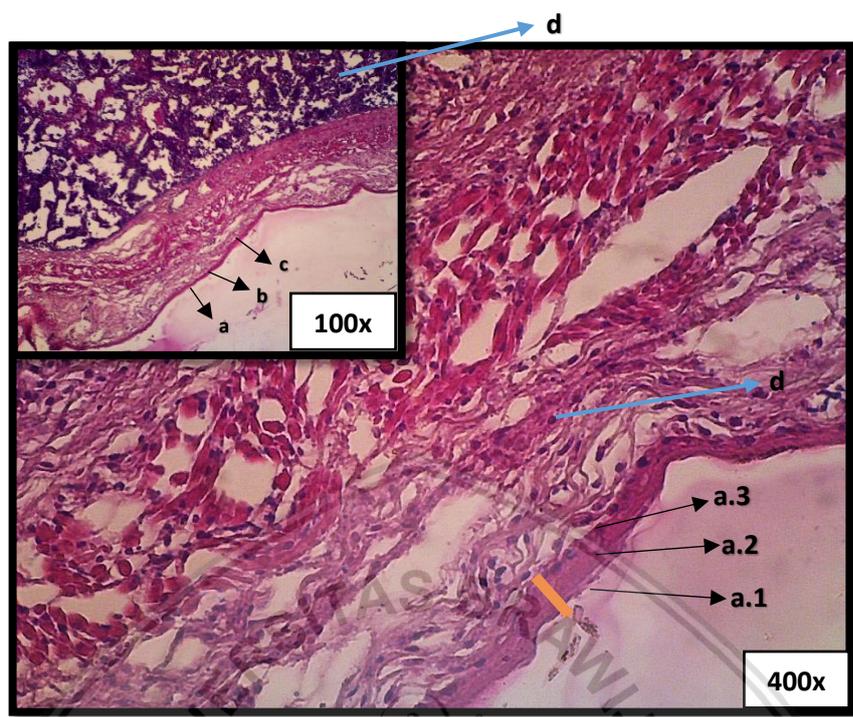
Dilihat dari hasil perlakuan yang telah dilakukan terjadi perbedaan ketebalan epidermis pada P2 dan P3 yang mengalami efek perbaikan epidermis namun tidak terlalu signifikan, karena pada kandungan ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) terdapat senyawa caulerpin yang didalam tubuh jika pemberian volume tinggi akan menghilangkan senyawa aktif lainnya sehingga fungsi dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) kurang optimal untuk memberikan efek sebagai antimikroorganisme, antioksidan dan antiviral. Pada pemberian perlakuan satu (P1) volume 0,03 ^{mL}/_{Buair} terlihat memberikan efek perbaikan *stratum corneum*, *stratum granulosum* dan *stratum spinosum*, dikarenakan pada volume tersebut kandungan caulerpin tidak terlalu tinggi yang membuat ekstrak anggur laut memberikan efek yang optimal sebagai antimikroorganisme, antioksidan dan antiinflamasi.



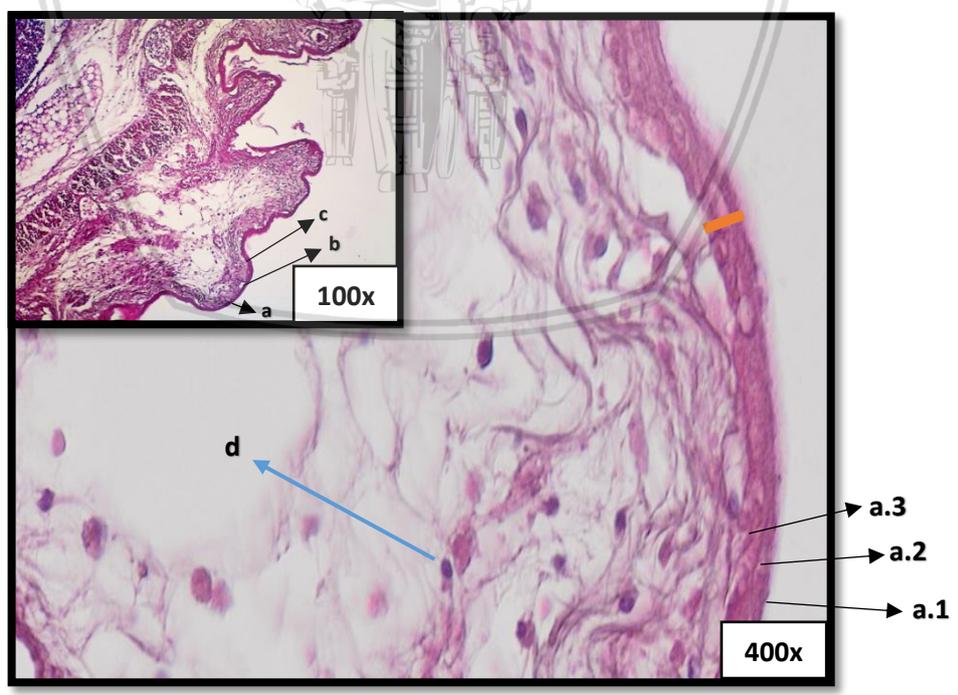
Gambar 6.0 Histopatologi kulit kontrol negatif (K-); terlihat lapisan kulit (a) epidermis, (b) dermis, (c) subkutan, (d) sel radang; (a.1) stratum corneum, (a.2) stratum granulosum, (a.3) stratum spinosum; | : lapisan epidermis



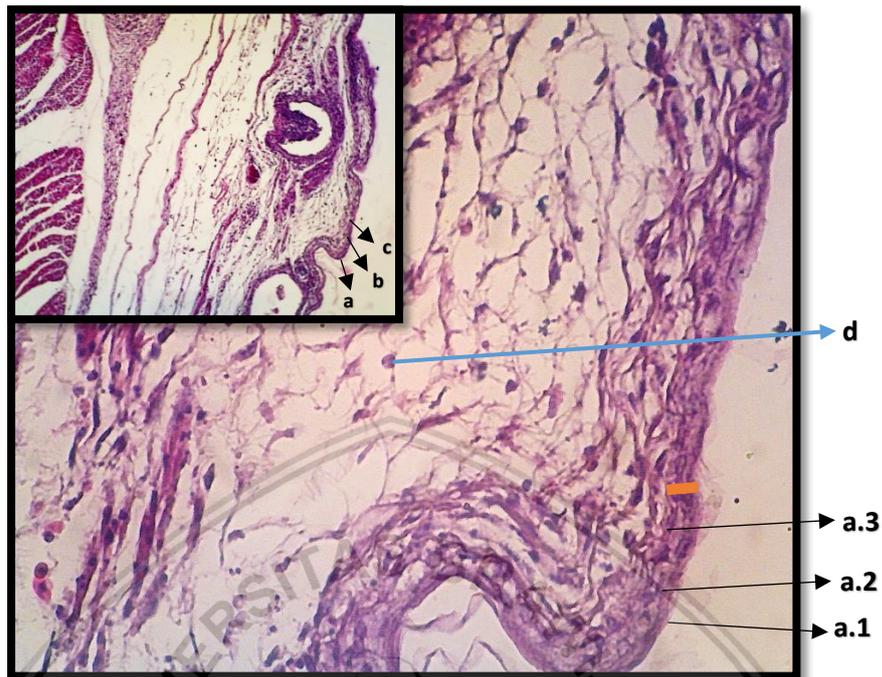
Gambar 6.1 Histopatologi kulit kontrol negatif (K+); terlihat lapisan kulit (a) epidermis, (b) dermis, (c) subkutan, (d) sel radang; (a.1) stratum corneum, (a.2) stratum granulosum, (a.3) stratum spinosum; | : lapisan epidermis



Gambar 6.2 Histopatologi kulit perlakuan satu (P1); terlihat lapisan kulit (a) epidermis, (b) dermis, (c) subkutan, (d) sel radang; (a.1) stratum corneum, (a.2) stratum granulosum, (a.3) stratum spinosum; | : lapisan epidermis

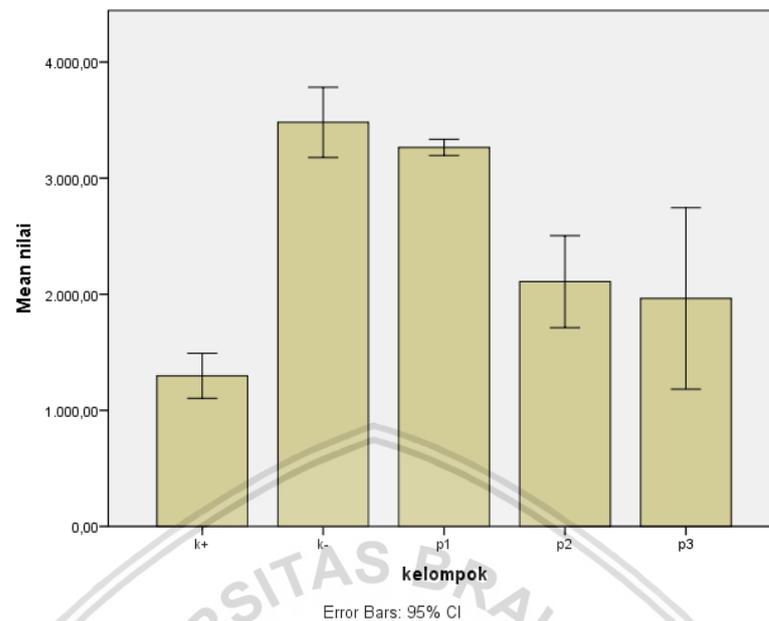


Gambar 6.3 Histopatologi kulit perlakuan dua (P2); terlihat lapisan kulit (a) epidermis, (b) dermis, (c) subkutan, (d) sel radang; (a.1) stratum corneum, (a.2) stratum granulosum, (a.3) stratum spinosum; | : lapisan epidermis



Gambar 6.4 Histopatologi kulit perlakuan tiga (P3); terlihat lapisan kulit (a) epidermis, (b) dermis, (c) subkutan, (d) sel radang; (a.1) stratum corneum, (a.2) stratum granulosum, (a.3) stratum spinosum; | : lapisan epidermis

Data rata-rata ketebalan epidermis yang diperoleh kemudian dianalisa secara statistika sehingga diperoleh hasil rata-rata ketebalan epidermis tertinggi terdapat pada kontrol negatif, terendah terdapat pada kontrol positif, dan adanya peningkatan pada setiap perlakuan jika dibandingkan kontrol positif dengan standar deviasi pada masing-masing perlakuan. Standar deviasi menunjukkan sebaran data dalam sampel. Histogram hasil rata-rata ketebalan epidermis ditunjukkan oleh **Gambar 6.3** berikut ini.



Gambar 6.5 Hasil histogram rata-rata ketebalan epidermis

Hasil data ketebalan epidermis kemudian dilakukan uji normalitas didapatkan nilai *p value* sebesar $0,200 > 0,05$ yang berarti data terdistribusi normal (**Lampiran 6**) dan uji homogenitas didapatkan nilai *p value* sebesar $0,082 > 0,05$ menunjukkan data homogen (**Lampiran 6**). Selanjutnya dilakukan uji *one way* ANOVA diperoleh nilai *p value* sebesar $0,000 < 0,05$ yang berarti data menunjukkan adanya pengaruh terapi yang diberikan (**Lampiran 6**). Kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau *Tukey*. Uji *Tukey* dilakukan untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan signifikan diantara kelompok-kelompok perlakuan lainnya. Hasil uji *Tukey* terlihat perbedaan notasi yang ditunjukkan pada **Tabel 5.1** didapatkan hasil ketebalan epidermis pada kelompok kontrol positif berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif. Sedangkan ketebalan epidermis kelompok perlakuan 1 berbeda nyata dengan

kelompok perlakuan lainnya. Hasil dari uji *Tukey* (**Lampiran 6**) dapat dilihat dalam **tabel 5.1**.

Tabel 5.1 Hasil uji *Tukey* Ketebalan Epidermis

Kelompok	Rata-rata ketebalan epidermis \pm SD
Kontrol Negatif (KN)	3480,0 $\mu\text{m} \pm$ 190,5 ^a
Kontrol Positif (KP)	1297,4 $\mu\text{m} \pm$ 121,4 ^b
Perlakuan 1 (p1)	3265,0 $\mu\text{m} \pm$ 43,8 ^a
Perlakuan 2 (p2)	2108,5 $\mu\text{m} \pm$ 249,7 ^c
Perlakuan 3 (p3)	1964,2 $\mu\text{m} \pm$ 245,7 ^d

Kelompok kontrol positif memiliki perbedaan rata-rata signifikan dibandingkan kelompok perlakuan lain. Kontrol negatif memiliki rata-rata lebih tinggi dari kelompok kontrol positif hal ini dikarenakan pada kelompok kontrol negatif ketebalan epidermis normal karena tidak diberikan perlakuan apapun, menurut (Freinkel, 1972) bahwa pada hari ke 17 proses kornifikasi sudah mulai terlihat dan pada hari di bawahnya untuk kornifikasi belum terlihat jelas. Pada bagian kulit normal karakteristik epidermis yaitu terdiri dari lima lapisan atau stratum (Corneum, lucidium, granulosum, spinosum dan germinativum).

Kontrol positif mengalami perbedaan rata-rata signifikan dibandingkan kelompok perlakuan lain dikarenakan kontrol positif diinokulasikan virus pox isolat lapang yang mengakibatkan terjadinya degeneratif epidermis dan lapisan epidermis menjadi menipis yang dimana menurut penelitian (Al-Ajeeli *et al.*, 2015) hasil dari penelitian yang dilakukan dengan metode pewarnaan HE pada infeksi virus di kulit terjadinya bentukan dari infeksi virus pox pada area epidermis, dermis dan subkutan

dimana menurut penelitian tersebut terjadi degeneratif pada lapisan epidermis, pada lapisan dermis dan hipodermis terjadi hiperplasia dan hipertrofi sel-sel epitel kulit terlihat menunjukkan pembengkakan sel epitel.

Gambaran histopatologi pada kulit embrio yang diinokulasikan ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dengan volume $0,03 \text{ mL/Butir}$ diarea CAM dan ditambahkan virus pox isolat lapang $0,2 \text{ mL/Butir}$ terlihat adanya perubahan ketebalan lapisan epidermis kulit embrio dengan rata-rata sebesar $3265,0 \pm 43,8$. Ketebalan epidermis kulit embrio yang diberikan efek preventif ekstrak anggur laut mengalami peningkatan ketebalan dibandingkan dengan kontrol positif (K+) yang mengalami penipisan.

Gambaran histopatologi pada kulit embrio yang diinokulasikan ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dengan volume $0,05 \text{ mL/Butir}$ diarea CAM dan ditambahkan virus pox isolat lapang $0,2 \text{ mL/Butir}$ terlihat adanya perubahan ketebalan lapisan epidermis kulit embrio dengan rata-rata sebesar $2108,5 \pm 249,7$. Ketebalan epidermis kulit embrio yang diberikan efek preventif ekstrak anggur laut mengalami penurunan ketebalan dibandingkan dengan perlakuan satu (P1) dan lebih mendekati kontrol positif (K+).

Gambaran histopatologi pada kulit embrio yang diinokulasikan ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dengan volume $0,07 \text{ mL/Butir}$ diarea CAM dan ditambahkan virus pox isolat lapang $0,2 \text{ mL/Butir}$ terlihat adanya perubahan ketebalan lapisan epidermis kulit embrio dengan rata-rata sebesar $1964,2 \pm 245,7$. Ketebalan epidermis kulit embrio yang diberikan efek preventif ekstrak anggur laut mengalami penurunan ketebalan dibandingkan dengan perlakuan satu (P1) dan

perlakuan dua (P2) dan lebih mendekati kontrol positif (K+). Dilihat dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) pada perlakuan satu (P1) memberikan efek preventif terhadap kulit Telur Ayam Berembrio (TAB) yang dilihat dari ketebalan epidermis kulit embrio.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah disampaikan dapat diambil kesimpulan:

1. Pemberian ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) pada Telur Ayam Berembrio (TAB) ini memiliki efek preventif yang ditandai dengan tidak ada penipisan epidermis dan kerusakan jaringan kulit pada perlakuan satu (P1)
2. Volume ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) 0,03 mL/Butir merupakan volume yang memberikan efek preventif terbaik dalam mencegah penipisan epidermis dan kerusakan jaringan kulit embrio.

6.2 Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan mengenai pemberian ekstrak anggur laut (*caulerpa racemora*) yang lebih optimal sebagai preventif pox virus terhadap ketebalan dan histopatologi kulit sehingga akan menjadi acuan

DAFTAR PUSTKA

- Abdo W., A Magouz., F El-Khayat and T Kamal.2016. Acute Outbreak of Co-Infection of Fowl Pox and Infection Laryngotracheitis Viruses in Chiken in Egypt. *Journal Research Gate* 0253-8318
- Al-Ajeeli K.S., A.K Al-azawy and R Al-Ajeeli.2015. Isolats of Pigeonpox Virus from Severe Infection of Pigeons in Diyala provinces : Virological and Histopathological Study. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 39(2): 72-78
- Apriyanto D.R., C Aoki., S Hartati., A Arsianti., M Louisa dan H Hotta. 2016. Aktivitas Antivirus Hepatitis C Fraksi *n*-Heksana, Etil Asetat, dan *n*-Butanol Daun Lengkek. *Jurnal Seminar Nasional Hasil-Hasil PPM IPB* Hal :18-28 ISBN : 978-602-8853-29-3
- Baratawidjaja K.G dan I Rengganis. 2016. *Imunologi Dasar Edisi Ke-8*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Bayati H.M.2015. Virological Study about Avipox Virus in Local Birds of Iraq. *International Journal of Science and Research* 2319-7064
- Buckle K.A., R.A. Edward G.H Fleet dan Wootton. 2007. *Ilmu Pangan. Edisi ke-4*. Terjemahan: Hari Purnomo dan Adiono. UI-Press. Jakarta
- Dimara L dan T.N.A.B.Yenusi. 2011. *Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ekstrak Pigmen Klorofil Rumput Laut Caulerpa racemosa (Forsskal) J.Agardh*. Biologi FMIPA Universitas Cendrawasih, Jayapura-Papua
- Dimaria L., H.Tuririday dan T.N.B.Yenusi.2012. *Identifikasi dan Fotodegradasi Pigmen Klorofil Rumput Laut Caulerpa racemosa (Forsskal) J.Agardh*. Biologi FMIPA Universitas Cendrawasih, Semarang.
- Freinkel R.K. 1972. Lipogenesis in Epidermal Differentiation of Embryonic Chiken Skin. *The journal of Investative Dermatology Vol.50*
- Gulbahar M.Y., M Cabalar and B Boynukara.2003. Avipoxvirus Infection in Quails. *Research Article* 449-454
- Helmi T.K., C.R Tabbu., W.T Artama., A Haryanto dan M Isa. 2016. Isolasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza pada Berbagai Spesies Unggas Secara Serologis dan Molekuler. *Jurnal Kedokteran Hewan* ISSN: 1978-225X.
- Jankovic B.D., B.M Markovic and Miroslava. 1977. Humoral Immune Responses in Embryos and Young Chikens Burssectomized and Sham-Burssectomized At 52-64 of Incubation. *Jurnal Immunology* 32 689



- Jankovic B.D., K Isakovic., M.L Lukic., N.L Vujanovic., S Petrovic and B.M Markovic. 1975. Relationship Between The Maturation of Lymphoid Tissues and The Occurrence of Cell Mediated Immunity in The Developing Chicken Embryo. *Jurnal Immunology* 29 497.
- Jenkins, C.D., S.A. Temple, C. van Riper III, and W. R. Hansen. 1989. Disease-related aspects of conserving the endangered Hawaiian Crow. In *Disease and Mngagement of Threatened Bird Populations*, J. E. Cooper (ed.). ICBP Technical Publication Series No. 10, Cambridge, England, pp 77–87
- Kementerian Pertanian Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Direktorat Kesehatan Hewan.2014.*Manual Penyakit unggas Catatan ke-2*.Jakarta.
- King RJB .2000. *Cancer Biology*, Second Ed, Pearson Ecucation Limited, London
- Kusuma A., R Febriana., S Hananti., M.S Dewi., N Istiyawati. Perkembangan Embrio dan Penentuan Jenis Kelamin DOC (Day-Old-Chiken) Ayam Jawa Super. *Jurnal Sain Veteriner* 01260421
- Ma'ruf W.F., R.Ibrahim, E.N.Dewi, E.Susanto dan U.Amalia.*Profil Rumput Laut Caulerpa racemosa dan Gracilaria verucosa Sebagai Edible Food*.Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro ; Semarang.
- Maulid R.R dan A.N.Laily.2012. *Kadar Total Pogmen Klorofil dan Senyawa Antosianin Ekstrak Kastuba (Euphorbia Pulcherrima) Berdasarkan Umur Daun*.Universitas Islam negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Medina F.M., G.A Ramirez and A Hernandez. 2004. Avian Pox in White-tailed Laurel Pigeons from the Canary Islands. *Journal of Wildlife diseases* 351-355.
- Murch S.H., C.P Braegger., J.A Walker-Smith and T.T Mac Donald. 2013. *Location of Tumour Necrosis Factor a by Immunohistochemistry in Chronic Inflammatory Bowel Disease*. Gut 2013;34:1705-1709.
- Murtini S., R Murwani., F Satrija dan M.B.M Malole.2016. Penetapan Rute dan Dosis Inokulasi pada Telur Ayam Berembrio sebagai Media Uji Khasiat Ekstrak Benalu Teh (*Scurrula oortiana*). *Jurnal Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Vol.11* 137-143
- Muntiha M. 2001. *Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan Dengan Pewarnaan Hematoksin dan Eosin (H dan E)*. Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- Murwani S.2015. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Veteriner*.Universitas Brawijaya Press ; Malang

- Suryana N.2005. Isolasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza dari Ayam asal Peternakan di Jawa Timur. *Jurnal Tenaga Fungsional Petanian*
- Parede L., D.Zainuddin dan H. Huminto.2009.*Penyakit Menular Pada Intensifikasi Unggas Lokal dan Cara Penanggulangannya*.Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- Purchase. H.G.1989. *A Laboratory Manual For The Isolation and Identification of Avian Pathogens, Whird Edition*. Amerika.
- Putra H.H., M.H Wibowo., T Utari dan Kurniasih. 2012. Studi Lesi Makroskopis dan Mikroskopid Embrio Ayam yang Diinfeksi Virus Newcastle Disease Isolat Lapang yang Virulen. *Jurnal Sain Veteriner* 0126-0421
- Raj A.,K.Mala., and A.Prakasam.2015.Phytochemical Analysis of Marine Macroalga *Caulerpa racemosa*. *Journal of Global Biosciences* ISSN 2320-1355
- Ridhowati S dan Asnani. 2016. Potensi Anggur Laut Kelompok *Caulerpa racemosa* Sebagai Kandidat Sumber Pangan Fungsional Indonesia. *Jurnal Oseana volume XLI NO.4* ISSN 0216-1877
- Riper C.V., and D.Forrester.2007.*Avian Pox*. United States Geological Survey
- Sasita E.B. 2015. *Main Diseases in Poultry Farming Viral Infections*.Servet, Jakarta
- SINGH P., KIM T.J. & TRIPATHY D.N. (2000). Re-emerging fowlpox: evaluation of isolates from vaccinated flocks. *Avian Pathol.*, **29**, 449–455
- SINGH P., KIM T.-J. & TRIPATHY D.N. (2003a). Identification and characterisation of fowlpox virus strains using monoclonal antibodies. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **15**, 50–54.
- Singkoh M.F.O.2011. *Aktifitas Antibakteri Ekstrak Alga Laut Caulerpa racemosa dari Perairan Pulau Nain*.Perikanan dan kelautan tropis.
- Suryana N. 2005.*Isolasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza dari Ayam Asal Peternakan di Jawa Timur*. Balai Penelitian Veteriner, Bogor
- Unitly A.J.A., dan D.E.Sahertian. 2010. *Deteksi Kandungan Antioksidan Superoksida Dismustase (SOD) pada Organ Ginjal Tikus Rattus norvegicus Dengan Pewarnaan Imunohistokimia*. Biologi Fakultas MIPA Universitas Pattimura Ambon
- Weli S.C, and Morten T.2011. Avipoxviruses Infection Biology and Their Use as Vaccine Vector.*Virology Journal*.74 : 3815 – 3831

Yudasmara G.A.2014.*Budidaya Anggur Laut (Caulerpa racemosa) Melalui Media Tanam Rigid Quadrant Nets Berbahan Bambu*. Budidaya Kelautan Universitas Pendidikan Ganesha ; Bali

Yani C.R dan E.I. Auerkari. 2004. Tehnik Imunohistokimia Sebagai Pendeteksi Antigen Spesifik Penyakit Infeksi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. Jakarta

Yoshikkawa M.G.T and J. Alam.2002. Histopathological Studies of Fowl Pox in Bantams. *International Journal of Poultry Science* 1 (6): 197-199

