



Tersedia daring pada: <http://ejurnal.undana.ac.id/jvn>

Laporan Kasus: Koinfeksi *Newcastle Disease*, *Avian Influenza*, dan Koksidirosis pada Ayam Pedaging dari Desa Demulih, Bangli

Rambu Raya Malicha Rajah¹, Gusti Ayu Yuniati Kencana², I Putu Cahyadi Putra³, Ida Bagus Oka Winaya⁴, Yeocelin Meida Utami⁵

¹Mahasiswa Pendidikan Profesi Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

²Laboratorium Virologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

³Laboratorium Parasitologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

⁴Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

⁵Laboratorium Bakteriologi dan Mikrobiologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

Abstract

Keywords:

Ayam broiler; Infeksi multiple; Eimeria spp.; Diagnosis; Patologi

The open house system in broiler chicken farms increases the risk of developing co-infective diseases. Co-infection is the simultaneous infection of several infectious agents in an individual. This case report aimed to examine the combination of multiple infections of Newcastle disease (ND), avian influenza (AI), and coccidiosis in 28-day-old broiler chickens aged 28 days from Demulih Village, Susut District, Bangli Regency, Bali. The 28-day-old female chicken experienced clinical symptoms of weakness, decreased appetite, feather loss and dullness, diarrhea, and clear exudate from its mouth and beak. Diagnostic examination was carried out thoroughly through epidemiological investigation, clinical observation, anatomical pathology examination, histopathology, isolation and identification of the virus through serological tests of hemagglutination assay (HA) and hemagglutination inhibition (HI), qualitative and quantitative examination of feces examination. The results of gross pathology revealed hemorrhages in various organs, in the digestive, respiratory, and nervous systems. The proventriculus had bleeding petechiae to ecchymosis and petechiae in the ventricle.



Tersedia daring pada: <http://ejurnal.undana.ac.id/jvn>

Korespondensi:
ramburajah@gmail.com

Histopathological examination revealed lesions of various organs, such as vasculitis and perivascular edema of the brain, hemorrhages and multiorgan congestion appeared as a dark red color, infiltration of lymphocytic inflammatory cells in various organs, as well as damage to the epithelium of the intestinal mucosa. Virus isolation was carried out on 9-day-old sprouted chicken eggs while virus identification by hemagglutination test (HA) and hemagglutination barrier (HI). The results of post-infection observation of embryonic chicken eggs occurred at 48 hours post-inoculation embryo death. HA test results showed a titer of HA 26 and Rapid HI test results showed positive ND and AI. The results of qualitative and quantitative examination of feces were positive for *Eimeria* spp. with the number of oocysts $\pm$ 720,000 oocysts/gram. It was concluded that the chicken cases were infected with Newcastle disease, avian influenza, and coccidiosis.

PENDAHULUAN

Newcastle Disease (ND) dan *Avian Influenza* (AI) merupakan penyakit virus yang menyebabkan kerugian yang sangat tinggi pada peternakan ayam. Penyakit ND disebabkan oleh *Avian paramyxovirus serotype 1* (APMV-1), genus *Paramyxovirus*, Familia *Paramyxoviridae* (WOAH, 2021; Kencana *et al.*, 2020). *Newcastle Disease* merupakan penyakit endemik di Indonesia, pertama kali ditemukan di Jakarta pada tahun 1926 oleh seseorang bernama Kraneveld, sejak saat itu penyakit ini dilaporkan terjadi di berbagai negara di seluruh penjuru dunia (Dharmayanti *et al.*, 2024). AI yang dikenal dengan penyakit flu burung disebabkan oleh family *Orthomyxoviridae*, genus *Avian Influenza* tipe A subtype H5N1 (Putra *et al.*, 2020). Kerugian akibat penyakit ND dan AI disebabkan karena morbiditas dan mortalitas pada ternak unggas yang sangat tinggi. Mortalitas dan morbiditas dapat mencapai 50-100% akibat infeksi virus ND strain velogenik terutama pada kelompok ayam yang peka (Susanti *et al.*, 2021). Berdasarkan patogenisitasnya penyakit *Avian Influenza* diklasifikasikan menjadi *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) dan *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) (Kencana *et al.*, 2020). Virus AI subtype H5N1 adalah virus yang ganas dan bersifat zoonosis. Keganasan virus dapat diketahui berdasarkan atas hasil uji filogenetik dan karakterisasi isolat (Kencana *et al.*, 2020). Virus AI dan ND merupakan dua agen penyebab penyakit pada unggas yang kadang dapat menginfeksi secara bersamaan, serta kerap menunjukkan gejala klinis yang serupa (Bello *et al.*, 2018).

Koksidiosis merupakan penyakit saluran cerna akut sampai kronis, disebabkan oleh *Eimeria* spp. yang berkembang didalam epitel. Penularan terjadi karena tertelannya ookista bersporulasi bersama makanan atau minuman, dengan gejala klinis gangguan saluran cerna (Putra *et al.*, 2026). *Eimeria* spp. menyebabkan kerusakan pada usus sehingga akan menurunkan

penggunaan pakan, melambatnya pertambahan bobot badan, serta penurunan daya tahan tubuh dan penurunan produksi telur (Putra *et al.*, 2026; Sari *et al.*, 2025). Selain dampak langsung tersebut, koksidiosis juga berperan signifikan dalam memperparah infeksi virus ND dan AI. Kerusakan pada epitel usus yang disebabkan oleh infeksi *Eimeria* spp. dapat membuka jalan bagi virus untuk masuk ke dalam sirkulasi sistemik, sementara penurunan sistem kekebalan tubuh, baik secara lokal maupun menyeluruh, menyebabkan ayam lebih rentan terhadap infeksi virus (Gowthaman *et al.*, 2019). Spesies yang paling sering menyebabkan koksidiosis pada ayam broiler yaitu *Eimeria tenella* yang menyebabkan penebalan dan pendarahan pada sekum (Sari *et al.*, 2025; Rumapea, S. *et al.*, 2023). Infeksi *Eimeria tenella* pada ayam broiler dapat mengakibatkan sekum tidak dapat berfungsi dengan normal dan mengalami kerusakan yang ditandai dengan gejala klinis berak darah (Putra *et al.*, 2026; Sari *et al.*, 2025). Oleh karena itu, keterkaitan antara ketiga infeksi ini sangat penting untuk dipelajari. Mengingat tingginya risiko kerugian dan kompleksitas interaksi antar-patogen tersebut, evaluasi mendalam terhadap kasus nyata di lapangan menjadi sangat krusial.

Laporan kasus ini bertujuan untuk menegaskan diagnosis berdasarkan anamnesa, data epidemiologi, tanda klinis, patologi anatomi, histopatologi, dan hasil pemeriksaan laboratorium dari hewan kasus tersebut. Selain itu, laporan ini juga bertujuan memberikan gambaran hubungan antara kondisi lingkungan pemeliharaan dengan munculnya koinfeksi, sehingga dapat menjadi dasar dalam penentuan langkah pencegahan dan pengendalian penyakit serupa di masa mendatang.

METODOLOGI

Hewan kasus

Ayam pedaging berusia 28 hari (149/N/25) merupakan ayam kasus yang berasal dari peternakan ayam di Desa Demulih,

Kecamatan Susut, Kabupaten Bangli, Bali. Peternakan tersebut menerapkan sistem terbuka dengan total populasi 15.000 ekor. Berdasarkan wawancara terdapat 300 ekor ayam sakit dan 280 ayam mati saat kunjungan.

Prosedur pemeriksaan patologi

Salah satu ayam yang mati dikoleksi dan dilakukan bedah bangkai. Nekropsi dilakukan satu jam setelah ayam dinyatakan mati. Durasi ini menjamin kondisi organ masih segar dan temuan patologi anatomi masih akurat tanpa gangguan proses pembusukan jaringan (autolisis). Prosedur nekropsi ayam dimulai dari pengamatan eksternal secara menyeluruh terhadap kondisi kulit, bulu, mukosa, serta keberadaan eksudat untuk gambaran klinis awal. Prosedur nekropsi diawali dengan menempatkan karkas ayam pada posisi *dorsal recumbency*, diikuti insisi pada artikulasi paha untuk menjaga stabilitas karkas. Sayatan kulit secara membujur dilakukan mulai dari paruh hingga kloaka untuk menyingkap struktur leher dan otot dada (*musculus pectoralis*). Setelah rongga koelomik dibuka, kondisi kantung udara (*saccus pneumaticus*) dievaluasi terlebih dahulu sebelum seluruh organ visceral (saluran pernapasan, pencernaan, dan bursa Fabricius) dikeluarkan secara kolektif (*en masse*). Ginjal diperiksa secara *in situ* atau diisolasi sesuai kebutuhan. Evaluasi akhir mencakup pengamatan makroskopis dan insisi pada setiap organ terpisah, dokumentasi fotografi pada bagian yang menunjukkan lesi patologi anatomi, serta pembukaan tulang tengkorak untuk pemeriksaan jaringan otak (Majó dan Dolz, 2019).

Sampel organ dengan perubahan patologis diambil berukuran 1x1x1 cm dan difiksasi dalam larutan *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10%. Di laboratorium, sampel diproses melalui tahap dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, 96% dan *toluene*, dilanjutkan proses *clearing* dengan mesin vakum. Setelah infiltrasi pada suhu 60°C,

jaringan dicetak dalam blok parafin, lalu dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3–4 µm. Irisan jaringan diapungkan dalam *waterbath* 46°C, diletakkan pada kaca objek, dan diberi pewarnaan *Hematoksilin-Eosin* (HE). Tahap akhir melibatkan pemberian *entellan* sebagai media perekat sebelum preparat diamati di bawah mikroskop (Kiernan, 2015).

Isolasi virus ND dan AI

Tahapan isolasi virus ND dan AI dimulai dengan pengambilan sampel organ (otak, trakea, proventrikulus, ventrikulus, dan usus) untuk pembuatan inokulum. Pengambilan sampel organ otak, trakea, proventrikulus, ventrikulus, dan usus secara bersamaan dilakukan karena virus *Newcastle Disease* (ND) dan *Avian Influenza* (AI) mampu menyerang berbagai sistem tubuh ayam, mulai dari sistem saraf (otak), pernapasan (trakea), hingga pencernaan (proventrikulus, ventrikulus, dan usus). Dengan menggabungkan sampel dari kelima organ tersebut (*pooling*), peluang keberhasilan dalam menemukan dan mengisolasi virus menjadi jauh lebih tinggi. Hal ini dikarenakan penyebaran virus di dalam tubuh tidak selalu merata; beberapa strain mungkin lebih dominan terdeteksi di otak, sementara yang lain lebih banyak terkonsentrasi di usus atau trakea. Metode penggabungan sampel ini juga sangat efektif untuk meminimalkan risiko hasil negatif palsu yang bisa terjadi jika pemeriksaan hanya mengandalkan satu jenis organ saja (Hewajuli *et al.*, 2017; Kencana *et al.*, 2012; Maharanthi *et al.*, 2025). Pengambilan sampel organ otak, trakea, proventrikulus, ventrikulus, dan usus dalam isolasi virus *Newcastle Disease* (ND) dan *Avian Influenza* (AI) didasarkan pada tropisme jaringan dan patogenesis kedua virus yang secara spesifik menyerang sistem saraf, pernapasan, dan pencernaan unggas. Inokulasi suspensi jaringan tersebut dilakukan pada media isolasi yang sesuai, seperti Telur Ayam Berembrio (TAB). Proses ini diakhiri dengan pengamatan pascainokulasi pada telur ayam bertunas untuk mendeteksi keberadaan agen virus di fasilitas pengujian yang memadai.

Sampel otak, trakea, proventrikulus, ventrikulus, dan usus diambil, dipotong kecil-kecil, kemudian ditimbang sebanyak satu gram dan dicincang halus. Sampel tersebut dimasukkan ke dalam tabung *ependorf*, digerus menggunakan stik sambil ditambahkan PBS atau NaCl fisiologis secara bertahap hingga tercampur sempurna. Campuran kemudian disentrifugasi pada 2.500 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan supernatan, yang mana 0,8 mL darinya dipindahkan ke tabung steril baru. Setelah ditambahkan 0,2 mL antibiotik (penisilin dan *streptomycin*), campuran di shake membentuk pola angka delapan agar homogen, lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C untuk menonaktifkan bakteri (Mahardika *et al.*, 2015).

Penanaman inokulum dilakukan secara *in vivo* pada TAB berumur 9 hari yang sebelumnya telah diadaptasikan dalam inkubator bersuhu 37°C selama 24 jam. Kondisi TAB diperiksa di ruang gelap menggunakan *candler* untuk memastikan fertilitas dan kesehatan embrio melalui pengamatan gerakan aktif serta kejelasan pembuluh darah. Setelah kantung udara ditandai dan lubang dibuat pada cangkang, inokulum disuntikkan ke dalam ruang alantois menggunakan jarum tuberkulin dosis 0,2 ml per butir. Lubang kemudian ditutup dengan kuteks sebelum telur diinkubasikan kembali pada suhu 37°C untuk pengamatan harian. Pemanenan cairan alantois dilakukan setelah TAB diinkubasi selama dua hari pada suhu 37°C. Sebelum dipanen, telur disimpan di lemari pendingin bersuhu 4°C selama beberapa jam guna meminimalkan kontaminasi cairan. Proses pemanenan diawali dengan membuka cangkang pada bagian kantung udara menggunakan gunting, lalu cairan alantois diambil menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf*. Untuk memaksimalkan pengambilan, embrio dapat ditekan ke arah bawah dan samping menggunakan spatula, kemudian sampel yang terkumpul disimpan dalam lemari es hingga siap

untuk tahap pengujian selanjutnya (Mahardika *et al.*, 2015).

Uji hemaglutinasi (HA)

Uji Hemaglutinasi (HA) dilakukan menggunakan plat mikro berbentuk “U” 96 sumuran, diawali dengan pengisian 0,025 mL PBS pada kolom 1 hingga 12. Sebanyak 0,025 mL antigen virus dimasukkan ke sumuran pertama dan kedua, lalu dilakukan pengenceran berseri dua kali lipat dari sumuran kedua hingga kesebelas. Setelah penambahan 0,025 mL PBS ke seluruh sumuran dan pengocokan, sebanyak 0,025 mL eritrosit 1% ditambahkan ke setiap sumuran sebelum didiamkan pada suhu ruang selama satu jam dengan pengamatan berkala. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya aglutinasi akibat interaksi virus dengan sel darah merah, di mana titer HA ditentukan dari pengenceran tertinggi yang masih menunjukkan aglutinasi sempurna (Wibowo *et al.*, 2012). Titer tersebut nantinya diencerkan menjadi 4 unit HA sebagai persiapan untuk uji rapid Hambatan Hemaglutinasi (HI).

Uji rapid hambatan hemaglutinasi (HI)

Uji rapid HI dilakukan pada *microplate* “U” 96 sumuran untuk mendeteksi antibodi yang mampu menghambat hemaglutinasi oleh virus. Prosedur diawali dengan pengisian 0,025 mL PBS ke sumur 1 hingga 4 pada deret sampel, diikuti pemberian 0,025 mL serum antibodi ND pada sumur pertama dan serum AI (H5N1) pada sumur kedua. Selanjutnya, antigen 4HA sebanyak 0,025 mL ditambahkan ke sumur 1 hingga 3, lalu plat digoyang dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Setelah ditambahkan 0,05 mL eritrosit 1% ke seluruh sumur (1-4) dan dikocok kembali, campuran diinkubasi selama satu jam dengan pengamatan berkala. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk endapan pada dasar sumur, yang menunjukkan bahwa antibodi dalam serum berhasil mengikat antigen, sehingga sel darah merah dapat mengendap secara bebas (Mahardika *et al.*, 2015).

Deteksi *Eimeria* spp. pada feses

Deteksi protozoa dilakukan dengan metode kualitatif natif, sedimen dan apung dari sampel feses yang diawetkan dalam NBF 10%. Prosedur dilakukan melalui tiga metode yaitu natif (pencampuran akuades untuk pengamatan langsung), sedimentasi (sentrifugasi untuk mengendapkan ookista), dan apung (larutan garam jenuh untuk mengapungkan sampel). Temuan positif pada uji kualitatif ini kemudian ditindaklanjuti dengan McMaster untuk menghitung jumlah parasit yang ditemukan.

Prosedur uji McMaster diawali dengan menimbang 2 gram feses, lalu mencampurkannya dengan akuades hingga volume 30 ml dan diaduk homogen. Larutan garam jenuh ditambahkan hingga volume mencapai 60 ml, kemudian campuran disaring dan filtratnya diaduk menggunakan pengaduk magnetik. Cairan selanjutnya dimasukkan ke dalam kamar hitung McMaster menggunakan pipet paster hingga penuh tanpa gelembung udara, untuk kemudian dilakukan penghitungan jumlah telur di bawah mikroskop dan hasilnya dimasukkan ke dalam rumus (Zajac *et al.*, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan klinis menunjukkan ayam mengalami letargi, anoreksia, bulu daerah dada kusam serta rontok, diare berdarah kehijauan, dan pengeluaran eksudat serus dari rongga mulut maupun paruh. Kondisi lingkungan pemeliharaan memperlihatkan tingkat kepadatan populasi (*stocking density*) yang tinggi dengan alas kandang (*litter*) yang lembap. Dari aspek manajemen, peternakan tidak menerapkan protokol biosekuriti secara memadai, seperti ketiadaan pembatasan akses pengunjung, serta tidak memiliki rekam medis pengobatan terkini. Adapun rekam medis peternakan mencatat riwayat kejadian penyakit sebelumnya, meliputi Colibacillosis, koksidiosis, *Infectious Bursal Disease* (IBD/Gumboro), AI dan ND.

Hasil pengamatan terhadap perubahan patologi anatomi otak teramati kongesti dan hemoragi multiorgan, proventikulus mengalami pendarahan ptekie hingga ekimose, ptekie juga teramati pada ventrikulus, dan usus teramati hemoragi (Gambar 1).

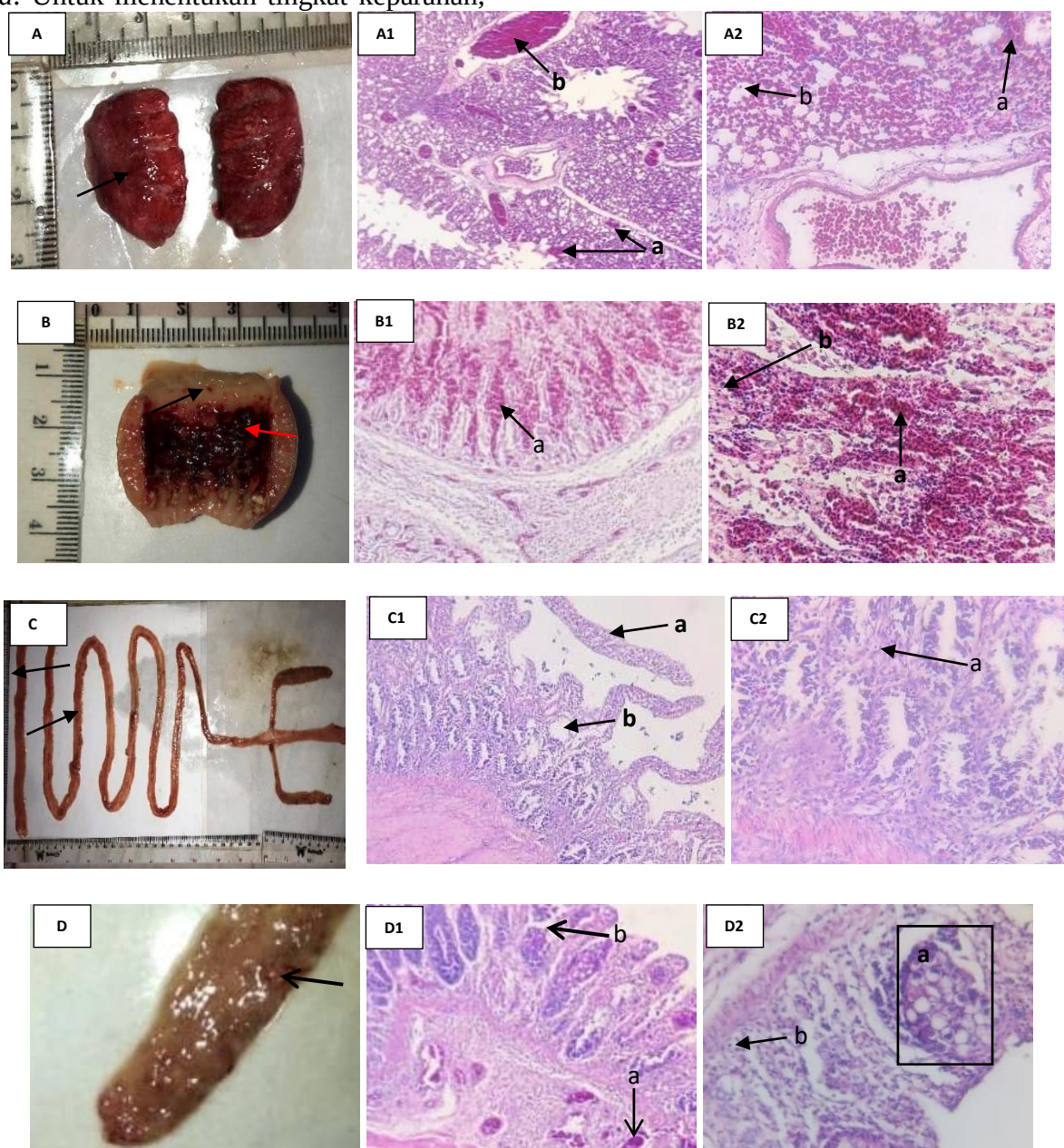
Berdasarkan pengamatan histopatologis mengonfirmasi temuan lesi sistemik pada berbagai organ vital. Infiltrasi sel tunggal mononuklear (limfosit dan makrofag) tampak mendominasi, menandakan respons inflamasi terhadap infeksi sistemik virus. Sediaan otak memperlihatkan vaskulitis, *edema perivascular* oleh limfosit, edema perivaskular, kongesti serebral, dan neuronofagia. Trakea mengalami kongesti vaskular, erosi epitel, dan edema. Kongesti berat dan hemoragi fokal hingga diffuse teramati pada jantung, hati, paru-paru, dan ginjal, disertai akumulasi cairan edema intermiokardial. Limpa menunjukkan deplesi parenkim limfoid. Pada organ gastrointestinal, ditemukan erosi epitelium, deskuamasi vili, dan nekrosis mukosa yang meluas, serta ditemukannya stadium skizon *Eimeria* spp. pada mukosa sekum. Kejadian lesi multiorgan ini mengarahkan pada efek patogenik sinergis akibat koinfeksi AI-H5N1, ND, dan koksidiosis sekum (Gambar 1).

Hasil pemeriksaan pada TAB menunjukkan adanya kematian embrio pada ± 48 jam pascainokulasi. Perubahan makroskopis pada embrio mati ditandai dengan perdarahan sistemik berwarna merah gelap di seluruh permukaan tubuh, edema vaskular, serta hiperemia kulit (Gambar 2). Hasil uji hemaglutinasi (HA) teknik mikrotiter didapatkan hasil positif yang ditandai dengan agultinasi sel darah merah pada dasar mikroplate yang terlihat seperti butir-butiran pasir yang disebabkan oleh aktivitas protein virus hemaglutinin yang mengikat eritrosit unggas 1%. Titer HA yang didapatkan adalah 2^6 yang menandakan virusnya virulen (Gambar 3). Selanjutnya, Antigen titer 2^6 diencerkan menjadi titer 2^2 HA unit yang akan digunakan

untuk uji HI. Hasil uji *rapid* HI didapatkan hasil positif dengan adanya endapan atau tidak ada aglutinasi pada sumuran pada plat mikro yang berisi antibodi ND dan AI (Gambar 4).

Hasil pemeriksaan kualitatif feses mengkonfirmasi temuan ookista yang belum bersporulasi dengan bentuk oval serta dinding transparan satu atau dua lapis, yang secara morfologis teridentifikasi sebagai genus *Eimeria*. Untuk menentukan tingkat keparahan,

dilakukan uji McMaster yang menghasilkan angka ookista per gram (OPG) feses sebesar ± 720.000 (Gambar 5). Merujuk pada literatur, infeksi ini dikategorikan sebagai koksidiosis berat karena jumlahnya jauh melampaui ambang batas kategori berat (>60.000 ookista/gram). Tingginya beban parasit ini menjelaskan keparahan infeksi pada hewan kasus sesuai dengan standar klasifikasi klinis (Sari *et al.*, 2025; Arsyitahlia *et al.*, 2019).



Gambar 1. Patologi anatomi dan histopatologi. (A) Paru-paru (*Bronkupneumonia*); (panah) Hemoragi,

(A1) a) hemoragi, b) kongesti (A2) a) hemoragi, b) infiltrasi sel radang limfosit. (B) Proventrikulus (*Proventriculitis haemorrhagis*); (panah) Pendarahn ptekie hingga ekimose, (B1) a) hemoragi (B2) a) hemoragi, b) infiltrasi sel radang. (C) Usus (*Enteritis necroticans*); (panah) Hemoragi, (C1) a) vili usus mengalami deskuamasi, b) erosi vili usus (C2) a) infiltrasi sel radang limfosit). (D) Sekum (*Typhilitis haemorrhagica et necrotican*); (panah) Hemoragi, (D1) a) hemoragi, b) nekrosis, (D2) a) kumpulan skizon, b) infiltrasi sel radang.



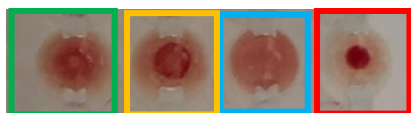
Gambar 2. Hasil panen TAB pada hari ke-2 pasca inokulasi menunjukkan embrio mati ditandai terjadi pendarahan diseluruh bagian tubuh berwarna merah tua, oedema pembuluh darah, kulit kemerahan.



Gambar 3. Hasil uji Hemaglutinasi (HA) Teknik Mikrotiter

Keterangan:

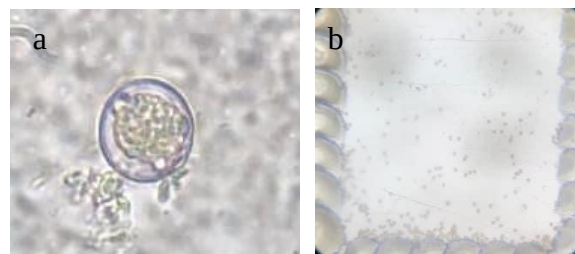
- : Kontrol Positif
- : Titer HA (2^6 HA Unit)
- : Kontrol Negatif



Gambar 4. Hasil uji Hambatan Hemaglutinasi (HI)

Keterangan:

- : Positif ND, terjadi hambatan hemaglutinasi
- : Positif AI, terjadi hambatan hemaglutinasi
- : Kontrol antigen
- : Kontrol sel darah merah (dengan PBS)



Gambar 5. Hasil pemeriksaan feses ditemukan ookista *Eimeria* spp. belum bersporulasi berbentuk oval dan dinding terdiri dari satu atau dua lapis yang transparan dan total OPG $\pm$ 720.000 ookista/gram. (a) kualitatif, (b) McMaster

Pembahasan

Setelah dilakukan perhitungan epidemiologi, didapatkan perkiraan morbiditas mencapai 2% (300/15.000), mortalitas sebesar 1,87% (280/15.000), dan *case fatality rate* (CFR) 93,3% (280/300). Menurut Susanti *et al.*, 2021, mortalitas maupun morbiditas dapat mencapai 50-100% akibat infeksi ND strain velogenik terutama pada ayam yang peka, 50% pada strain mesogenik, dan 30% pada strain lentogenik.

Pengelompokkan waktu kematian TAB embrio berdasarkan virulensi virus terbagi menjadi tiga, yaitu velogenik (kematian kurang dari 60 jam), mesogenik (kematian antara 60-90 jam), dan lentogenik (kematian lebih dari 90 jam) (WOAH, 2021). Dari hasil pemeriksaan yang dilakukan, virus ND kasus merupakan strain velogenik karena menyebabkan kematian embrio dalam waktu kurang dari 60 jam pascainokulasi. Perubahan makroskopis yang

terjadi pada embrio ayam menunjukkan adanya hemoragi pada kulit, berwarna merah tua, pembuluh darah terlihat menonjol, dan kulit terlihat basah. Hal ini sesuai dengan temuan Purnasari *et al.*, (2017) yaitu embrio ayam yang diinfeksi virus ND menunjukkan adanya hemoragi pada kulit, berwarna merah tua, pembuluh darah terlihat menonjol dan kulit terlihat basah.

Manifestasi klinis yang berat akibat strain virus ND berpatogenisitas rendah dapat terjadi jika dipicu oleh infeksi sekunder, contohnya oleh *Eimeria* spp. (Gowthaman *et al.*, 2019). Koinfeksi ini diawali oleh kerusakan epitel usus oleh *Eimeria* spp., yang berujung pada gangguan penyerapan protein dan malnutrisi (Putra *et al.*, 2026). Ketidakmampuan tubuh membentuk antibodi secara efektif akibat malnutrisi memudahkan masuknya virus sekaligus memperlemah respons antibodi ayam terhadap vaksin (Wang *et al.*, 2026). Selain itu, *Eimeria* dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan usus, yang berpotensi memengaruhi interaksi dengan patogen lain seperti ND dan AI (Saber *et al.*, 2025).

Koinfeksi virus *Newcastle Disease* strain velogenik, Avian Influenza H5N1, dan koksidirosis berat pada ayam pedaging umur 28 hari di Desa Demulih menunjukkan adanya interaksi patogenesis yang saling memperparah akibat rusaknya sistem pertahanan tubuh inang (Gowthaman *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2025). Infeksi *Eimeria* spp. dengan intensitas sangat tinggi mencapai ± 720.000 ookista per gram feses menyebabkan destruksi epitel mukosa usus dan sekum (Putra *et al.*, 2026; Sari *et al.*, 2025). Kerusakan jaringan ini tidak hanya memicu gangguan penyerapan nutrisi yang menghambat pembentukan antibodi pascavaksinasi, tetapi juga melepaskan *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs) yang melumpuhkan respons imun lokal (*Gut-Associated Lymphoid Tissue/GALT*) serta membuka jalur masuknya virus ke dalam aliran darah (Gowthaman *et al.*, 2019; Saber *et*

al., 2025). Pada kondisi lingkungan kandang terbuka dengan alas kandang yang lembap, NDV yang terbukti virulen berdasarkan kematian embrio kurang dari 60 jam, dan AIV H5N1 bereplikasi secara masif di saluran respirasi. Di mana protein viral keduanya secara simultan memblokir jalur interferon dan memicu *cytokine storm*. Reaksi peradangan ekstrem dan kerusakan dinding pembuluh darah sistemik ini terkonfirmasi melalui pemeriksaan histopatologi berupa vaskulitis, edema perivaskular, serta hemoragi petekie hingga ekimosis pada proventrikulus dan multiorgan, yang secara langsung menjelaskan manifestasi klinis eksudat serus, diare berdarah, dan tingginya *case fatality rate* (CFR) sebesar 93,3% (Kencana *et al.*, 2012; Nurmayani *et al.*, 2023).

Lesi patologi anatomi yang patognomonis pada ND adalah terdapat ptekie pada proventrikulus, ventrikulus, usus, seka tonsil, trakea, dan paru-paru (Kencana dan Kardenia, 2011). Adanya lesi pada otak disebabkan oleh sifat virus tepatnya *Avian Paramyxovirus* tipe I velogenik yang dapat mencapai otak dan melakukan replikasi pada jaringan otak (Adi *et al.*, 2010). Adanya hemoragi dan ptekie pada proventrikulus merupakan ciri patognomonis penyakit ND (Kencana *et al.*, 2012). Infeksi virus velogenik strain Asia menyebabkan perubahan yang patognomonis berupa ptekie pada proventrikulus dan nekrosa pada usus (Nurmayani *et al.*, 2023). Pada hewan kasus, proventrikulus mengalami pendarahan ptekie sampai ekimose, ventrikulus mengalami pendarahan ptekie. Selain itu, trakea, paru-paru, dan usus mengalami perdarahan. Temuan lainnya adalah penebalan pada sekum dan pembesaran limpa. Temuan tersebut merupakan salah satu ciri khas penyakit ND dan AI.

Koinfeksi ND dan AI merupakan kejadian yang dapat ditemukan pada unggas domestik maupun liar. Kedua virus memiliki

kesesuaian ekologi dan dapat ditemukan pada lingkungan serta sistem pernapasan unggas yang sama, sehingga kompatibilitas ekologi menjadi salah satu faktor yang mendukung terjadinya koinfeksi (Zhang *et al.*, 2025). Tingkat kejadian koinfeksi dapat bervariasi antarwilayah dan kelompok unggas. Sebagai contoh, pada *guinea fowl* di Ghana, koinfeksi NDV dan AIV dilaporkan sebesar 12,1%, dengan prevalensi infeksi NDV sebesar 50,9% dan AIV sebesar 24,9%, sedangkan di Nigeria koinfeksi ditemukan pada 0,2% sampel unggas lokal dan burung liar (Tweneboah *et al.*, 2024; Musa *et al.*, 2020). Koinfeksi dapat memengaruhi manifestasi klinis dan dinamika infeksi. Pada ayam komersial, koinfeksi NDV genotipe XIII dengan AIV H9N2 dapat memperburuk keparahan penyakit dibandingkan infeksi NDV tunggal, sedangkan pada bebek domestik koinfeksi tidak selalu menimbulkan gejala klinis yang nyata. Interaksi kedua virus juga dapat memengaruhi replikasi virus, termasuk terjadinya interferensi ketika infeksi NDV menurunkan replikasi AIV, yang dipengaruhi oleh virulensi virus dan waktu terjadinya infeksi (Gowthaman *et al.*, 2019; Pantin-Jackwood *et al.*, 2015; Costa-Hurtado *et al.*, 2015, 2014).

Selain memengaruhi keparahan penyakit dan replikasi virus, koinfeksi ND dan AI juga dapat mengubah pola *viral shedding* serta risiko penularan. Dalam kondisi tertentu, koinfeksi dapat menurunkan jumlah NDV yang dikeluarkan, tetapi meningkatkan pelepasan AIV pada waktu tertentu, sehingga transmisi NDV dapat berkurang sementara transmisi AIV tidak selalu mengalami perubahan (Pantin-Jackwood *et al.*, 2015; Costa-Hurtado *et al.*, 2014). Diagnosis koinfeksi menjadi tantangan karena ND dan AI dapat menimbulkan gejala klinis yang serupa, seperti gangguan pernapasan dan penurunan produksi telur, sehingga pemeriksaan klinis saja tidak memadai untuk membedakan kedua penyakit tersebut. Oleh karena itu, metode diagnostik molekuler seperti *real-time PCR* dan *multiplex RT-PCR* dapat digunakan untuk mendeteksi dan membedakan

infeksi secara lebih cepat dan spesifik (Nidzworski *et al.*, 2013; Salem *et al.*, 2020). Dalam pengendalian, vaksinasi dapat membantu mengurangi morbiditas dan mortalitas, tetapi unggas yang telah divaksinasi tetap berpotensi membawa dan menyebarkan virus. Oleh sebab itu, pengawasan rutin, penerapan biosekuriti yang baik, serta edukasi peternak menjadi bagian penting dalam mencegah dan mengendalikan koinfeksi ND dan AI (Gowthaman *et al.*, 2019; Davidson *et al.*, 2018; Tweneboah *et al.*, 2024; Musa *et al.*, 2020).

Kasus ini juga menekankan temuan koksidirosis bentuk sekum dan intestinal dengan intensitas infeksi *Eimeria* yang tinggi. Koksidirosis merupakan penyakit parasit yang disebabkan oleh protozoa genus *Eimeria* spp yang berasal dari filum *Apicomplexa* (Ekawasti dan Martindah, 2019). Terdapat beberapa spesies *Eimeria* yang diketahui dapat menginfeksi ayam, yaitu *E. tenella*, *E. maxima*, *E. acervulina*, *E. mitis*, *E. brunetti*, *E. praecox*, dan *E. necatrix* (Putra *et al.*, 2026; Rumapea *et al.*, 2023). *Eimeria tenella* merupakan spesies yang paling sering menyerang ayam broiler. Ookista *Eimeria* spp. memiliki bentuk oval dan dinding yang terdiri dari satu atau dua lapis yang transparan. Ookista yang belum bersporulasi berisi satu sporoblast, sedangkan ookista yang sudah bersporulasi terdiri dari empat sporokista yang berisi dua sporozoit (Ekawasti dan Martindah, 2019). Arsyitahlia *et al* (2019) menyebutkan bahwa prevalensi infeksi *Eimeria* spp. lebih sering menyerang ayam pada umur lebih dari 2 minggu. Prevalensi *Eimeria* spp. lebih rendah pada ayam yang berumur kurang dari 2 minggu karena pada umur tersebut ayam belum banyak menghasilkan enzim tripsin dan garam empedu dan gerakan lambung otot (ventriculus) masih lemah, sehingga pengeluaran sporozoit dari ookista tidak terjadi karena pemecahan dinding ookista kurang maksimal. Pemeriksaan McMaster berhasil mengungkap hasil 720.000 ookista/gram pada kasus ini. Menurut Arsyitahlia *et al* (2019) infeksi oleh *Eimeria*

spp. dikelompokkan sebagai infeksi ringan dimana ookista yang ditemukan sebanyak kurang dari 20.000 ookista/gram, infeksi sedang dengan ookista sebanyak 20.000-60.000 ookista/gram, dan infeksi berat dengan ookista sebanyak lebih dari 60.000 ookista/gram.

SIMPULAN

Koinfeksi virus AI, ND dan *Eimeria spp.* berhasil didiagnosis pada ayam pedaging melalui pemeriksaan komprehensif. Koinfeksi tersebut meningkatkan kefatalan kasus yang berujung pada kematian ayam kasus. Penanganan dan pencegahan kasus serupa di masa depan disarankan memerlukan kombinasi antara penerapan biosekuriti ketat, kontrol kelembapan litter, manajemen kepadatan kandang, serta program vaksinasi dan antikoksidia yang terintegrasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adi AAAM, Astawa NM, Putra KSA, Hayashi Y, Matsumoto Y. 2010. Isolation and characterization of a pathogenic Newcastle disease virus from a natural case in Indonesia. *Journal of Veterinary Medical Science* 72(3):313-319.
- Alexander DJ. 2000. Newcastle Disease and Other Avian Paramyxoviruses. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)* 19:443-462.
- Arsyitahlia N, Ardana IBK, Apsari IAP. 2019. Prevalensi Infeksi *Eimeria spp.* pada Ayam Pedaging yang Diberi Pakan Antibiotik Growth Promoters (AGP) di Kabupaten Tabanan, Bali. *Indonesia Medicus Veterinus* 8(2):186-192.
- Bello, MB, Yusoff, K, Ideris, A, Hair-Bejo, M, Peeters, BPH. and Omar, AR. 2018. Diagnostic and Vaccination Approaches for Newcastle Disease Virus in Poultry: The Current and Emerging Perspectives. *BioMed Research International*.
- Cattoli G, Monne I, Fusaro A, Joannis TM, Lombin LH, Aly MM, et al. 2009. Highly pathogenic avian influenza virus subtype H5N1 in Africa: A comprehensive phylogenetic analysis and molecular characterization of isolates. *PLoS ONE* 4(3):e4842.
- Costa-Hurtado M, Afonso CL, Miller PJ, Shepherd E, Cha RM, Smith D, et al. 2015. Previous infection with virulent strains of Newcastle disease virus reduces highly pathogenic avian influenza virus replication, disease, and mortality in chickens. *Veterinary Research* 46(1):97.
- Costa-Hurtado M, Afonso CL, Miller PJ, Spackman E, Kapczynski DR, Swayne DE, et al. 2014. Virus interference between H7N2 low pathogenic avian influenza virus and lentogenic Newcastle disease virus in experimental co-infections in chickens and turkeys. *Veterinary Research* 45(1):1.
- Davidson I, Haddas R, Natour-Altory A, Harboush C. 2018. Experimental multiple virus-infections of commercial layers with Avian Influenza, subtype H9N2 and velogenic Newcastle Disease Viruses. *Israel Journal of Veterinary Medicine* 73(1).
- Dharmayanti, NLPI, Nurjanah, D, Nuradji, H, Suyatno, T. and Indriani, R. 2024. Newcastle disease virus: the past and current situation in Indonesia', *Journal of Veterinary Science*, 25(1), e4.
- Ekawasti F, Martindah E. 2019. Control of Coccidiosis in Chickens Through Herbal Medicine. *WARTAZOA: Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences* 29(1):1-12.
- Gelb J Jr, Ladman BS, Licata MJ, Shapiro MH, Campion LR. 2007. Evaluating viral interference between infectious bronchitis virus and Newcastle disease virus vaccine strains using quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction. *Avian Diseases* 51(4):924-934.
- Gowthaman V, Singh SD, Dhama K, Ramakrishnan MA, Malik YPS, Murthy TRGK, Chitra R, Munir M. 2019. Co-

- infection of Newcastle disease virus genotype XIII with low pathogenic avian influenza exacerbates clinical outcome of Newcastle disease in vaccinated layer poultry flocks. *VirusDisease* 30(3):441-452.
- Hewajuli, DA, Dharmayanti, NLPI, & Wibawan, IWT. 2017. Deteksi, isolasi, dan identifikasi *Avian influenza* subtype H5N1 pada unggas di Pulau Jawa, Indonesia tahun 2016. *Jurnal Veteriner*, 18(4), 496–509.
- Kencana GAY, Kardena IM, Mahardika IGNK. 2012. Peneguhan diagnosis penyakit Newcastle disease lapang pada ayam buras di Bali menggunakan teknik RT-PCR. *Jurnal Kedokteran Hewan* 6(1):28-31.
- Kencana GAY, Kardena IM. 2011. Gross pathological observation of acute Newcastle disease in domestic chicken. In: *Prosiding Seminar Internasional Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (PERMI) dan International Union of Microbiological Societies (IUMS)*.
- Kencana GAY, Suartha IN, Kardena IM, Nurhandayani A. 2020. Isolasi dan karakterisasi virus avian influenza subtype H5N1 isolat lapang asal Bali untuk kandidat vaksin. *Jurnal Veteriner* 21(4):530-538.
- Kiernan JA. 2015. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. 5th ed.
- Maharanthi, KN, Suardana, IBK, Winaya, IB O, Widyasanti, NWH, & Putra, IPC. 2025. Gambaran perubahan mikroskopis pada organ target ayam yang terinfeksi virus. *Buletin Veteriner Udayana*, 17(4), 1403–1419.
- Mahardika IGNK, Astawa INM, Kencana GAY, Suardana IBK, Sari TK. 2015. *Teknik Lab Virus*. Udayana University Press. Denpasar.
- Majó N, Dolz R. 2019. *Atlas of Avian Necropsy: Sampling Guide*. Zaragoza: Servet Editorial.
- Musa WI, Sa'idu L, Bello M, Abdu PA. 2020. Co-infections of domestic and wild birds with avian influenza and Newcastle disease viruses: Implications for control and genetic mutations. *Veterinary Research Communications* 44(3):159-166.
- Nidzworski D, Wasilewska E, Smietanka K, Szewczyk B, Minta Z. 2013. Detection and differentiation of Newcastle disease virus and influenza virus by using duplex real-time PCR. *Acta Biochimica Polonica* 60(3):475-480.
- Nurmayani N, Kencana GAY, Adi AAAM, Besung INK, Suratma NA. 2023. Avian Influenza-H5N1 dan Newcastle Diseases pada Ayam Petelur. *Buletin Veteriner Udayana* 15(6):1086-1097.
- Pantin-Jackwood MJ, Costa-Hurtado M, Miller PJ, Afonso CL, Spackman E, Kapczynski DR, et al. 2015. Experimental co-infections of domestic ducks with a virulent Newcastle disease virus and low or highly pathogenic avian influenza viruses. *Veterinary Microbiology* 177(1-2):7-17.
- Purnasari, ME, Adi, AAAM, & Winaya, IBO. 2017. Pengaruh Virus Newcastle Disease Isolat Virulen Terhadap Gambaran Histopatologi Otak dan Berat Embrio Ayam. *Indonesia Medicus Veterinus*, 6(2), 101–110.
- Putra HH, Wibowo MH, Untari T, Kurniasih. 2012. Studi lesi makroskopik dan mikroskopik embrio ayam yang diinfeksi Newcastle Disease Virus field isolates. *Jurnal Sain Veteriner* 30(1):50-67.
- Putra IPC, Darmansyah, Septianingsih NLPD, Suriansyah, Yasa JDM, Sewoyo PS, Jacob JM, Atmaja BM, Mubarakah WW, Unique IGANP, Ekawasti F. 2026. *Kupas Tuntas Coccidiosis: Tantangan Global pada Industri Perunggasan*. CV. Azzia Karya Bersama.

- Putra IPC, Wasito R, Wuryastuty H. 2020. Penambahan Water Additive Kimchi Dapat Mencegah Infeksi Alami Flu Burung (Avian Influenza) pada Ayam Pedaging. *Jurnal Veteriner* 21(1).
- Rumapea S, Suratma NA, Ayu AAAM, Adi M, Besung INK, Kencana GAY. 2023. Coccidiosis in broiler chicken caused by *Eimeria tenella*. *Veterinary Science and Medicine Journal*:221-231.
- Saber A, Mawas AS, Khalil AM, Ahmed AI, Shibab Elhamd DMW, Ali E, Rehan IF, Elnagar A, Zigo F, Salah M. 2025. Therapeutic impact of dietary ginger supplementation in chickens experimentally infected with coccidia—anti-oxidant, biochemical, and pathological evaluations. *Frontiers in Veterinary Science* 12:1511759.
- Salem MHI, Hagag NM, Ali AAH, El-Shahidy MSM. 2020. Validation of one-step multiplex RT-PCR for diagnosis of respiratory viruses coinfections in chickens. *Advances in Animal and Veterinary Sciences* 8(S1):62-67.
- Sari NKW, Kardenia IM, Besung INK, Suardana IBK, Putra IPC. 2025. Case Report: Identification of *Eimeria tenella* Infection and Pathologic Changes in a Broiler Chicken in Kutuh Village Farm, Badung, Bali. *Mandalika Veterinary Journal* 5(2).
- Susanti, WG, Wicaksono, A, & Basri, C. 2021. Kejadian Kasus Penyakit Newcastle di Peternakan Ayam Buras di Kabupaten Barru. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 26(3), 379–385.
- Tabbu CR. 2000. *Diseases of Chicken and Their Control: Bacterial, Fungal, and Viral Diseases*. Volume 1. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Tweneboah AA, Johnson SAM, Mensah PA, Asare DA, Onidje E, Emikpe BO. 2024. Seroprevalence and associated risk factors of co-infection with avian influenza and Newcastle disease in guinea fowls from the Upper East Region of Ghana. *PAMJ-One Health* 15(16).
- Wang Y, Yang M, Zhao J, Wu H, Wang K, Sun D, et al. 2026. Multidimensional regulatory mechanisms of chicken immunity: focus on viral infection, intestinal microbiota and heat stress. *Frontiers in Veterinary Science* 13:1837977.
- Wibowo MH, Utari T, Wahyuni AETH. 2012. Isolasi, identifikasi, sifat fisik dan biologi virus Tetelo yang diisolasi dari kasus di lapangan. *Jurnal Veteriner* 13(4):425-433.
- World Organisation for Animal Health (WOAH). 2021. Newcastle Disease (Infection with Newcastle Disease Virus). In: *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. p. 1110-1127. Paris: WOAH.
- Zainuddin. 2006. Peran *Eimeria tenella* dalam koksidirosis pada ayam broiler. *Jurnal Ilmu Peternakan* 12(2):100-110.
- Zajac AM, Conboy GA, Little SE, Reichard MV. 2021. *Veterinary Clinical Parasitology*. 9th ed. John Wiley & Sons.
- Zhang S, Zhang X, Liu B, Li C, Zhang X, Li X, et al. 2025. Eco-epidemiological mechanisms of avian influenza and Newcastle virus co-infection: Spatial convergence and compatibility. *Poultry Science*:105779.