

BAB I

PENDAHULUAN

I. 1. Latar Belakang

Kebutuhan masyarakat Indonesia terhadap sumber protein hewani menunjukkan peningkatan yang signifikan, dipengaruhi oleh pertumbuhan jumlah penduduk serta meningkatnya pemahaman mengenai pentingnya asupan gizi berkualitas. Komoditas unggas, baik melalui produksi telur maupun daging, menjadi salah satu penyedia protein hewani yang paling strategis dalam memenuhi kebutuhan tersebut. Untuk mendukung produktivitas sektor perunggasan, terutama ayam petelur dan pedaging, aspek kesehatan ternak harus mendapat perhatian utama, mengingat performa produksi yang optimal hanya dapat dicapai apabila unggas berada dalam kondisi fisiologis yang baik. Namun, pencapaian kondisi kesehatan yang ideal sering kali terhambat oleh berbagai tantangan penyakit, termasuk penyakit infeksius yang disebabkan oleh virus. Salah satu virus yang masih menjadi kendala penting dalam industri perunggasan adalah *Infectious Bronchitis Virus* (IBV), yang dapat menurunkan performa produksi dan berdampak langsung pada efisiensi usaha peternakan (Rahmahani et al., 2022).

Avian Infectious Bronchitis Virus (IBV) adalah patogen umum pada unggas yang menyebabkan penyakit *Infectious Bronchitis* (IB), bersifat akut dan sangat menular sehingga menimbulkan kerugian ekonomi besar pada industri peternakan. IBV menular melalui saluran pernapasan dan jalur fekal-oral, menyebabkan kerusakan pada sistem pernapasan, reproduksi, dan saluran kemih (Yuan et al., 2022). Virus ini termasuk anggota genus *Gammacoronavirus* yang memiliki kemampuan rekombinasi dan mutasi tinggi, perubahan genetik tersebut berperan dalam munculnya berbagai genotipe dan serotipe baru di seluruh dunia (Liu et al., 2019).

Varian *QX-like* menjadi salah satu genotipe IBV yang sering diisolasi di wilayah Asia dan Eropa dan dikaitkan dengan penurunan produksi telur serta kelainan saluran reproduksi ayam layer (Okino et al., 2022). Strain ini dapat menyebabkan kerusakan pada silia trakea, pembengkakan ginjal pucat, dan perkembangan abnormal oviduk maupun folikel ovarium. Ayam terinfeksi sering menunjukkan pelebaran dan penumpukan cairan serosa pada oviduk (*cystic oviduct*). Selama produksi telur, kuning telur dapat jatuh ke rongga perut akibat degenerasi oviduk, menyebabkan peritonitis dan dikenal sebagai *false layer syndrome* (Zhang et al., 2022).

Vaksinasi merupakan strategi utama pengendalian penyakit ini, tetapi efektivitasnya bergantung pada kesesuaian antara strain vaksin dan strain lapangan. Vaksin klasik seperti

Massachusetts (M41) memberikan proteksi baik terhadap strain homolog namun hanya perlindungan parsial terhadap varian *QX-like* karena perbedaan antigenik (Shao et al., 2020). Penelitian tersebut juga menambahkan bahwa strategi vaksinasi heterolog dengan kombinasi serotipe berbeda memberi perlindungan lebih luas. Menurut Skupnjak et al. (2020), meskipun ayam telah divaksin, efektivitas *live attenuated vaccine* menurun seiring waktu, proteksi umumnya bertahan hingga 8 minggu pascavaksinasi sehingga keterlambatan vaksin *booster* meningkatkan risiko infeksi ulang di lapangan.

Dengan kondisi tersebut, pemantauan antibodi menggunakan ELISA IDEXX penting untuk menilai efektivitas vaksinasi, mendeteksi kemungkinan paparan lapangan, dan menentukan waktu booster dilakukan sebelum proteksi menurun.

I. 2. Rumusan Masalah

1. Bagaimana gambaran gejala klinis dan temuan nekropsi pada ayam petelur yang diduga mengalami gangguan akibat infeksi Infectious Bronchitis Virus (IBV)?
2. Bagaimana hasil pemeriksaan serologis indirect ELISA terhadap antibodi IBV pada sampel ayam dari flock tersebut?
3. Bagaimana hubungan antara riwayat vaksinasi, temuan klinis, hasil nekropsi, dan nilai titer ELISA pada kasus yang diamati?

I. 3. Tujuan Penelitian

1. Mendeskripsikan gejala klinis dan perubahan patologi anatomi pada ayam petelur yang menunjukkan dugaan infeksi IBV.
2. Menentukan status antibodi IBV menggunakan pemeriksaan indirect ELISA pada sampel darah ayam dari flock kasus.
3. Menganalisis keterkaitan antara program vaksinasi, tanda klinis, temuan nekropsi, dan hasil ELISA untuk memahami kondisi kesehatan flock dan kemungkinan sumber infeksi.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Ayam Petelur Isa Brown

Ayam petelur merupakan salah satu komoditas unggas yang memiliki peran penting dalam menghasilkan telur dan memenuhi kebutuhan protein hewani masyarakat. Telur tidak hanya menjadi sumber protein tinggi tetapi juga mengandung berbagai macam nutrisi yang penting yang dibutuhkan dalam pemenuhan gizi. Selain itu, telur juga menjadi salah satu produk hewani yang digemari oleh masyarakat, sehingga tingginya permintaan telur menjadikan industri peternakan telur ayam sebagai salah satu sektor penting dalam dunia usaha bidang peternakan (Putra et al., 2024).



Gambar II.1 Ayam Petelur Isa Brown (Murugan, 2021)

Strain ayam ras petelur yang banyak dipelihara di Indonesia ada empat, yaitu Isa Brown, Hy-line, Hisex, dan Lohman Brown. Keempat strain ayam petelur tersebut memiliki karakteristik masing-masing, salah satunya strain ayam Isa Brown yang mempunyai postur tubuh yang besar dan pada akhir masa produksi bisa dijual sebagai ayam pedaging, telur yang dihasilkan berwarna coklat. Ayam petelur Strain Isa Brown biasa disebut dengan ayam tipe dwiguna. Fase hidup ayam ini dibagi menjadi empat fase yaitu *starter* (0–6 minggu), *grower* (6–14 minggu), *pullet* (14–21 minggu), dan *layer* (21 minggu–afkir). Ayam petelur yang siap bereproduksi biasanya dilihat dari perubahan warna dan ukuran pada jengger ayam (Wijaya et al., 2023) Adapun beberapa kelebihan ayam petelur dengan strain Isa brown yaitu memiliki produktivitas yang tinggi, produksi telur yang berkualitas, bibitnya murah dan mudah didapat, serta memiliki pertumbuhan yang cepat dan kemampuan adaptasi yang tinggi terhadap berbagai situasi lingkungan dan iklim (Ananda et al., 2017).

II.2. Sistem Pernapasan

Sistem pernapasan ayam terdiri dari rongga hidung, laring atas yang dikurangi (tanpa pita suara), laring bawah (*syrinx*) untuk fonasi, trakea, dua bronkus utama, paru-paru, dan kantung udara. Rongga hidung memiliki tiga konka (*rostral*, tengah, dan *caudal*) yang membuka ke faring dan berkomunikasi dengan laring atas. Trakea yang relatif panjang memungkinkan ayam untuk bernapas dengan mencegah keruntuhan trakea saat ayam menggerakkan kepala dan lehernya ke berbagai arah. Udara mengalir melalui paru-paru dan ke kantung udara *caudal* selama inspirasi, dan melalui paru-paru dari kantung udara selama ekspirasi. Oleh karena itu, pertukaran gas di paru-paru terjadi pada kedua arah aliran udara, yang memungkinkan respirasi yang lebih efisien dibandingkan dengan mamalia yang hanya terjadi selama inspirasi (Khamas & Rutllant, 2024).

II.3. Sistem Reproduksi

II.3.1. Ovarium

Ovarium betina ayam terletak di rongga peritoneal, di depan ginjal, dan hanya ovarium kiri yang berkembang dan berfungsi untuk memproduksi telur. Ovarium terdiri dari banyak folikel yang belum berkembang, sedang berkembang, dan matang. Folikel-folikel ini berisi sel telur (ovum) yang akan dilepaskan dalam berbagai tahap perkembangan. Setelah folikel matang, ia akan melepaskan telur yang siap untuk dibuahi atau diproses lebih lanjut dalam sistem reproduksi ayam. Ovarium juga menghasilkan hormon yang diperlukan untuk pengaturan siklus reproduksi ayam. Folikel yang tidak berkembang akan mengalami atresi jika tidak berhasil berkembang menjadi telur yang matang (Khamas & Rutllant, 2024).

II.3.2. Oviduk

Oviduk adalah saluran panjang yang menghubungkan ovarium dengan kloaka, dan terdiri dari beberapa bagian yang memiliki fungsi masing-masing. Bagian pertama oviduk adalah *infundibulum*, yang menangkap telur setelah dilepaskan dari ovarium. Di sini, jika ada pembuahan, telur akan dibuahi. *Magnum* adalah bagian kedua di mana putih telur (*albumen*) terbentuk di sekitar kuning telur. Selanjutnya, telur bergerak ke *isthmus*, yang membentuk dua membran tipis yang mengelilingi telur. Setiap bagian dari oviduk ini bekerja secara berurutan untuk membentuk telur secara lengkap sebelum mencapai uterus (Khamas & Rutllant, 2024).

II.3.3. Uterus (Shell Gland)

Uterus, juga dikenal sebagai *shell gland*, adalah tempat utama di mana cangkang telur terbentuk. Di sini, telur yang telah mengandung membran dari isthmus akan diproses lebih lanjut dengan penambahan kalsium karbonat yang membentuk cangkang keras pada telur.

Proses ini memakan waktu sekitar 20 jam, dan di bagian uterus ini juga terjadi pengendapan pigmen yang memberikan warna pada cangkang telur, tergantung pada jenis ayam. Uterus bertanggung jawab untuk menghasilkan telur yang terlindungi dengan cangkang yang kuat, yang melindungi telur selama proses inkubasi (Khamas & Rutllant, 2024).

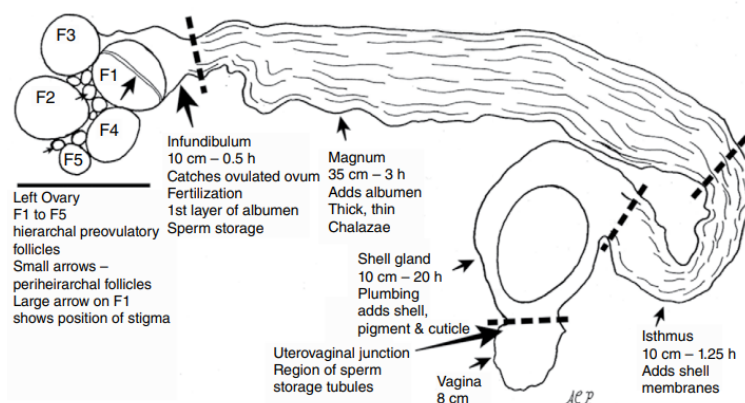
II.3.4. Vagina

Vagina pada ayam betina berfungsi sebagai saluran terakhir yang menghubungkan uterus dengan kloaka. Setelah cangkang telur terbentuk di uterus, telur bergerak ke vagina, yang berfungsi untuk memfasilitasi pengeluaran telur dari tubuh ayam. Vagina juga memiliki lapisan pelindung berupa lendir yang membantu menjaga kebersihan dan melindungi dari infeksi patogen selama proses pengeluaran telur. Saluran ini memungkinkan telur untuk keluar dengan lancar dan memastikan tidak ada gangguan atau kerusakan pada telur yang dikeluarkan (Khamas & Rutllant, 2024).

II.3.5. Kloaka

kloaka adalah saluran akhir dalam sistem reproduksi betina ayam, tempat telur keluar dari tubuh ayam setelah melewati vagina. Selain berfungsi sebagai saluran pengeluaran telur, kloaka juga merupakan tempat pengeluaran feses dan urin. Kloaka berperan dalam pembuangan sisa metabolisme tubuh dan memiliki mekanisme untuk memastikan bahwa telur dapat keluar dengan lancar, tanpa gangguan. Dalam proses ini, kloaka juga berperan penting dalam perlindungan terhadap patogen dengan adanya lapisan pelindung yang membantu mencegah infeksi saat pengeluaran telur (Khamas & Rutllant, 2024).

II.3.6. Siklus Reproduksi



Gambar II.2 Saluran reproduksi ayam betina (Barrow, 2021)

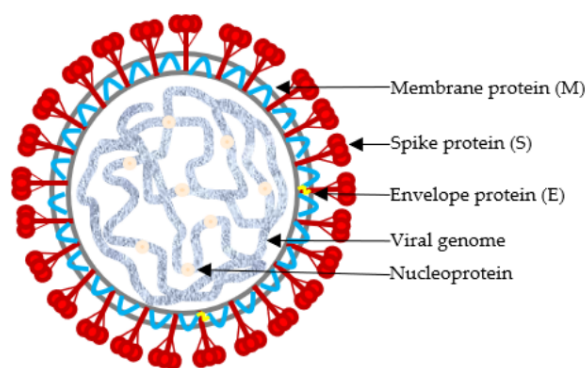
Ovulasi pada ayam diatur oleh siklus hormonal yang melibatkan LH surge, yang terjadi sekitar 4 hingga 6 jam sebelum ovulasi, dipicu oleh peningkatan kadar progesterone. Hanya terjadi satu lonjakan LH pada tiap hari, yang mengarah pada pengeluaran satu telur per hari.

Telur pertama dalam urutan bertelur umumnya dikeluarkan pada awal fase fotoperiodik, sedangkan ovulasi selanjutnya terjadi 15 hingga 75 menit setelah oviposisi. Secara bertahap, telur cenderung dikeluarkan satu jam lebih lambat setiap harinya, seiring dengan LH *surge* yang terjadi lebih lambat pada periode sensitif LH yang dikenal sebagai *open period*. Ketika ovulasi berikutnya terjadi di luar open period, lonjakan LH tidak akan terjadi, dan ayam tidak akan bertelur pada hari tersebut. Proses bertelur akan dilanjutkan pada hari setelahnya, dengan lonjakan LH yang dimulai pada open period, mengulang siklus bertelur. Pembentukan telur secara keseluruhan memerlukan waktu sekitar 24 hingga 28 jam. Setelah ovulasi, ovum akan ditangkap oleh *infundibulum*, di mana telur dapat dibuahi jika terjadi perkawinan. *Albumen* pertama akan didepositkan di *infundibulum* sebelum telur bergerak ke *magnum* untuk pembentukan albumen lebih lanjut. Di *isthmus*, membran telur terbentuk, sementara di *shell gland*, air ditambahkan ke *albumen* melalui proses yang disebut *plumping*, yang meregangkan membran telur untuk memfasilitasi deposisi cangkang telur. Sekitar 2 hingga 2,5 gram kalsium dipindahkan oleh *shell gland* untuk mengkalsifikasi setiap telur, dengan sebagian besar kalsifikasi terjadi pada malam hari, ketika ayam tidak makan. Sebagian besar kalsium yang digunakan untuk pembentukan cangkang berasal dari pakan, namun sekitar 30 hingga 40% kalsium tersebut disuplai oleh tulang meduler. Setelah cangkang terbentuk, telur memasuki vagina, dan avosisi terjadi di bawah pengaruh *arginin vasotocin* (AVT) (Barrow, 2021)

II.4. Infectious Bronchitis Virus (IBV)

II.4.1. Etiologi

Infectious Bronchitis Virus (IBV), anggota pertama yang diketahui dari genus *Gammacoronavirus* dalam famili *Coronaviridae*, mulai teridentifikasi di North Dakota, AS, pada tahun 1931 sebagai agen etiologi dari *infectious bronchitis* (IB), yang dideskripsikan sebagai penyakit respiratorik akut pada anak ayam (Liu et al., 2019).



Gambar II.3 Struktur virus IBV (Lunge et al., 2025)

Struktur IBV tersusun atas beberapa protein penting yang masing-masing memiliki peran khas dalam infeksi dan pembentukan virion, protein *spike* (S), *membrane* (M), *envelope* (E), dan *nucleocapsid* (N). Protein yang paling berperan dalam infeksi adalah protein spike, yang terbagi menjadi S1 dan S2. Bagian S1 berfungsi untuk menempel pada sel ayam, sedangkan S2 membantu virus masuk ke dalam sel. Di dalam virus, protein N melindungi RNA dan membantu proses replikasi, sementara protein M dan E memastikan virus bisa dirakit dan berbentuk sempurna. IBV sangat mudah berubah karena genomnya berupa RNA untai tunggal, yang secara alami memiliki tingkat kesalahan (mutasi) tinggi saat bereplikasi. Mutasi ini paling sering terjadi pada gen S1, karena gen inilah yang menentukan bagaimana virus menempel pada sel dan bagaimana sistem imun mengenalinya. Akibatnya, perubahan kecil pada S1 saja sudah bisa menghasilkan genotipe dan serotipe baru yang berbeda sifatnya, bahkan berbeda respons vaksinnya. Selain mutasi, IBV juga bisa mengalami recombination, yaitu pertukaran materi genetik ketika dua strain berbeda menginfeksi sel yang sama. Kombinasi mutasi dan rekombinasi inilah yang membuat IBV memiliki banyak sekali varian, cepat berubah, dan sulit dikendalikan tanpa vaksin yang sesuai (Lunge et al., 2025).

Sejumlah strain IBV yang beredar secara global menunjukkan keragaman genetik dan antigenik yang signifikan, yang berpotensi mempengaruhi efektivitas vaksinasi. Di antara strain-strain yang paling dikenal, *Massachusetts* (*Mass*), yang pertama kali dilaporkan di Amerika Serikat, menjadi strain referensi yang digunakan dalam banyak vaksin dan tersebar luas di berbagai belahan dunia, termasuk Amerika Utara, Eropa, dan Asia. Strain 4/91 (793B), yang berasal dari Eropa, juga banyak ditemukan di berbagai wilayah seperti Timur Tengah, Afrika Utara, dan Asia Barat, dengan ciri khas kemampuan untuk menyebabkan kegagalan perlindungan oleh vaksin berbasis *Mass*. Selain itu, strain D274, yang sering terkait dengan masalah kesehatan pada unggas di Eropa, dan strain *Italy02* yang ditemukan di Eropa dan Afrika Utara, menunjukkan tantangan dalam vaksinasi di tingkat lokal. Salah satu strain yang menonjol adalah *QX-like*, yang pertama kali teridentifikasi di China dan kini telah menyebar ke berbagai wilayah, termasuk Eropa dan Timur Tengah, serta dikenal dengan tropisme pada ginjal dan saluran reproduksi, yang menyebabkan masalah pada produksi telur. Rekombinasi genetik dan mutasi pada protein S1 yang cepat pada IBV ini berkontribusi pada munculnya varian-varian baru yang berbeda secara signifikan dari strain vaksin, sehingga memerlukan strategi vaksinasi yang lebih disesuaikan dengan *genotipe* lokal. Hal ini menggarisbawahi pentingnya pemahaman lebih lanjut mengenai keragaman strain dan adaptasi virus terhadap vaksinasi di berbagai wilayah geografi (Bande et al., 2017).

Strain *QX-like* pertama kali teridentifikasi di Tiongkok dan kini telah menyebar ke berbagai wilayah dunia. Strain ini tergolong dalam *genotipe* GI-19, diketahui memiliki tropisme yang luas, mempengaruhi tidak hanya saluran pernapasan, tetapi juga ginjal dan saluran reproduksi ayam. Infeksi oleh strain *QX-like* dapat menyebabkan penurunan kualitas dan jumlah telur pada ayam petelur, disertai kerusakan pada ginjal dan gangguan sistem reproduksi. Sebagai langkah pengendalian, vaksinasi menjadi strategi utama untuk mencegah infeksi oleh strain ini, meskipun vaksin yang berbasis strain *Massachusetts* seringkali kurang efektif dalam memberikan perlindungan terhadap strain *QX-like*. Oleh karena itu, pengembangan dan penggunaan vaksin khusus yang sesuai dengan karakteristik genetik strain *QX-like* diperlukan untuk melindungi ayam dari infeksi yang lebih serius dan mengurangi dampak pada produktivitas (Shao et al., 2020)

II.4.2. Patogenesis

Patogenesis IBV dimulai ketika virus masuk ke tubuh ayam melalui inhalasi droplet aerosol atau melalui konsumsi partikel virus dari feses yang mencemari pakan maupun air. Setelah mencapai permukaan saluran napas, protein spike terutama subunit S1 menjadi kunci untuk melekat pada reseptor sel epitel dan memediasi fusi antara membran virus dan membran sel. Begitu masuk ke dalam sitoplasma, genom RNA positif strand virus langsung bertindak sebagai mRNA dan segera memulai proses replikasi. Pada tahap awal ini, virus bereplikasi di sel epitel pernapasan dan mulai menyebabkan kerusakan sel, sehingga produksi virion meningkat dan infeksi menyebar ke sel-sel sekitarnya (Falchieri et al., 2024).

Kerusakan epitel respirasi dan pelepasan virus memicu aktivasi imun bawaan, diikuti respons imun adaptif. Imunitas humoral akan menghasilkan antibodi yang membantu menghambat replikasi virus, sementara imunitas seluler berperan penting dalam membersihkan sel yang terinfeksi. Namun, sebelum respons imun terbentuk secara optimal, replikasi virus yang cepat di saluran napas dapat memungkinkan sebagian partikel virus memasuki sirkulasi. Ketika virus berhasil melewati barier lokal dan mencapai aliran darah, terjadilah *viremia*, yaitu penyebaran virus melalui darah ke jaringan lain. Pada tahap ini, efektivitas antibodi sangat bergantung pada kemampuannya mengenali dan menetralkan protein S1, sebab struktur inilah yang menentukan keberhasilan virus menginfeksi sel target. Meskipun antibodi maternal dapat memberi perlindungan parsial, mereka juga dapat memodulasi atau menghambat respons imun aktif yang mulai terbentuk, sehingga memengaruhi tingkat *viremia* (Falchieri et al., 2024).

II.4.3. Tanda Klinis

Infeksi IBV terutama dimulai pada saluran pernapasan bagian atas, yang menjadi lokasi utama replikasi virus, dengan masa inkubasi sekitar 18–36 jam setelah terpapar. Setelah itu, virus dapat memasuki aliran darah secara singkat (*transient viremia*) dan menyebar ke organ lain seperti oviduk, ginjal, serta tonsil sekum. Gambaran klinis yang muncul sangat dipengaruhi oleh genotipe virus, umur ayam, serta status nutrisi dan imunitas. Secara umum, ayam yang terinfeksi menunjukkan gejala respirasi berupa megap-megap, bunyi ngorok (*rales*), *snicking*, leleran hidung, dan mata berair, disertai penurunan konsumsi pakan dan minum. Gejala biasanya lebih parah pada ayam muda atau ayam yang tidak divaksinasi. Pada ayam petelur, infeksi IBV dapat menyebabkan penurunan produksi telur serta penurunan kualitas kerabang. Beberapa strain IBV bersifat nefropatogenik sehingga menimbulkan kerusakan ginjal yang berat. Selain itu, infeksi IBV sering memicu infeksi bakteri sekunder yang memperparah kondisi klinis dan dapat meningkatkan angka kematian (Lunge et al., 2025).

II.4.4. Penanganan dan Pencegahan

Dalam upaya untuk meningkatkan respons imun terhadap infeksi IBV pada ayam, penelitian oleh Zhang et al. (2023), mengkaji efektivitas suplementasi vitamin A pada ayam *Specific Pathogen-Free* (SPF) yang terinfeksi virus IBV. Studi ini menunjukkan bahwa suplementasi vitamin A oral sebanyak 8.000 IU/kg pakan selama 21 hari sebelum tantangan dengan IBV dapat meningkatkan titer antibodi IBV spesifik pada ayam dan menurunkan *viral load* di beberapa jaringan ayam yang terinfeksi. Meskipun suplementasi vitamin A tidak mempengaruhi gejala klinis secara signifikan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian vitamin A dapat memperkuat sistem imun ayam dan berpotensi membantu dalam mengendalikan replikasi virus IBV pada ayam yang terinfeksi. Suplementasi vitamin A ini diduga meningkatkan aktivitas imun selular dan humoral melalui pengaturan gen-gen imun yang terlibat dalam respons peradangan dan pertahanan terhadap patogen. Oleh karena itu, meskipun suplementasi vitamin A tidak memberikan perlindungan total terhadap IBV, penggunaan nutrisi ini dapat menjadi bagian dari strategi pengobatan suportif yang membantu mengurangi dampak infeksi pada ayam, terutama dalam mengurangi beban virus yang menyebabkan kerusakan lebih lanjut pada saluran pernapasan ayam.

Menurut Falchieri et al. (2024), antibiotik dapat digunakan untuk mengobati atau mencegah infeksi bakteri sekunder yang sering terjadi pada ayam yang terinfeksi IBV, meskipun antibiotik tidak efektif terhadap virus itu sendiri. Infeksi bakteri sekunder, seperti yang disebabkan oleh *Escherichia coli* atau *Mycoplasma gallisepticum*, dapat memperburuk

kondisi ayam dan memperlambat pemulihannya, sehingga pemberian antibiotik menjadi bagian dari pengobatan suportif pada ayam yang terinfeksi IBV.

II.5. Vaksinasi

Vaksinasi adalah suatu proses pemberian vaksin (sediaan biologis, antigen) pada setiap ayam dalam suatu kelompok dengan berbagai teknis untuk mengaktifkan sistem imun spesifik agar dapat mengembangkan perlindungan terhadap suatu agen penyakit tertentu. Vaksin mungkin berbentuk *live* atau *killed* dan keduanya dapat menimbulkan reaksi imunologis. Vaksin efektif dalam menekan gejala klinis, tetapi ayam yang terpapar mungkin masih mendapatkan infeksi dan menyebarkan mikro-organisme penyebab penyakit. Vaksinasi sebelum terjadi infeksi dalam suatu flock adalah perlindungan terbaik terhadap penyakit (Tabbu, 2024).

Program vaksinasi IBV pada ayam layer dilakukan secara bertahap sesuai umur untuk memastikan kekebalan yang stabil hingga masa produksi. Vaksinasi pertama diberikan pada hari ke-0 di *hatchery* melalui tetes mata atau spray untuk membentuk perlindungan awal pada saluran pernapasan. Penguatan kekebalan kemudian dilakukan pada umur 6–9 minggu menggunakan vaksin hidup yang menstimulasi respons imun lokal pada trakea. Menjelang produksi, pada umur 14–15 minggu, ayam diberikan vaksin inaktif melalui injeksi untuk meningkatkan kadar antibodi jangka panjang dan melindungi saluran reproduksi agar kualitas serta produksi telur tetap optimal. Setelah masuk fase bertelur, vaksinasi dilanjutkan dalam bentuk booster yang diberikan setiap 6–9 minggu, dengan interval yang menyesuaikan tekanan penyakit di peternakan. Pendekatan bertingkat ini menjaga *level* kekebalan tetap tinggi sehingga ayam terlindungi dari IBV sepanjang masa rearing hingga produksi (Ceva Santé Animale, 2023).

II.5.1. Live vaccine

Vaksin hidup adalah vaksin yang menggunakan mikroorganisme yang telah dilemahkan untuk memicu respons imun pada tubuh tanpa menyebabkan penyakit. Vaksin ini memiliki kemampuan untuk berkembang biak di dalam tubuh inang, yang memungkinkan terjadinya respons imun yang lebih variatif. Keuntungannya adalah kemampuannya untuk memberikan perlindungan yang cepat dengan satu kali pemberian, yang sangat efektif pada unggas muda yang membutuhkan respons imun cepat. Vaksin ini dapat diberikan dengan metode penyemprotan atau air minum, yang memungkinkan vaksinasi pada jumlah besar unggas secara simultan. Namun, kelemahannya adalah vaksin hidup dapat menyebabkan reaksi imun yang

lebih kuat dan tidak cocok digunakan pada unggas dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah atau dalam kondisi stres yang tinggi (Kaspers et al., 2022).

II.5.2. Inactivated vaccine

Vaksin inaktif terbuat dari patogen yang telah dibunuh atau dinonaktifkan, sehingga tidak dapat berkembang biak dalam tubuh tetapi tetap dapat merangsang respons imun. Vaksin ini sangat berguna untuk memberikan perlindungan jangka panjang, terutama pada unggas yang lebih tua, seperti induk atau ayam bertelur. Kelebihan adalah vaksin ini lebih aman bagi unggas yang memiliki sistem kekebalan tubuh yang lebih lemah dan tidak menyebabkan infeksi. Namun, vaksin inaktif umumnya tidak memberikan respons imun sekuat vaksin hidup dan sering kali memerlukan beberapa dosis atau pemberian booster untuk mencapai perlindungan yang maksimal. Biasanya, vaksin inaktif diberikan melalui injeksi subkutan atau intramuscular (Kaspers et al., 2022).

II.5.3. Vaksin Kompleks Imun (*Immune-Complex Vaccines*)

Vaksin kompleks imun digunakan untuk mengatasi masalah netralisasi oleh antibodi maternalis (MDA) yang dapat menghambat efektivitas vaksin hidup. Dalam vaksin ini, virus yang digunakan dilapisi dengan antibodi spesifik yang dapat melindungi vaksin dari penetrasi antibodi maternalis. Teknik ini sangat penting untuk vaksinasi pada unggas muda yang memiliki kadar antibodi maternalis tinggi. Keuntungannya adalah vaksin ini dapat memberikan perlindungan yang efektif meskipun ada antibodi maternalis yang dapat menetralkan vaksin. Namun, kekurangannya adalah proses pembuatannya lebih rumit dan memerlukan waktu yang lebih panjang serta teknologi khusus untuk aplikasinya, seperti *in ovo* atau injeksi subkutan pada unggas muda (Kaspers et al., 2022).

II.5.4. Genetically Modified Vector-Based Live Vaccines

Vaksin vektor genetik modifikasi menggunakan virus atau bakteri yang telah dimodifikasi secara genetik untuk membawa gen dari patogen lain, sehingga dapat memberikan perlindungan terhadap berbagai penyakit dalam satu aplikasi. Vaksin ini memungkinkan untuk melindungi unggas dari beberapa patogen sekaligus, sehingga lebih efisien. Vaksin ini dapat diberikan melalui injeksi *in ovo* (pada telur) atau pada saat penetasan. Keuntungan utama dari vaksin ini adalah kemampuannya untuk memberikan perlindungan terhadap beberapa penyakit dalam satu aplikasi, yang mengurangi kebutuhan vaksinasi yang terpisah-pisah. Namun, vaksin ini lebih kompleks, lebih mahal, dan mungkin menyebabkan interferensi jika digunakan dengan beberapa vaksin vektor yang berbeda pada unggas yang sama, mengurangi efektivitas perlindungan (Kaspers et al., 2022).

II.6. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) adalah teknik yang sederhana dan cepat untuk mendeteksi serta mengkuantifikasi antibodi atau antigen yang terikat pada permukaan padat. Sebagai salah satu imunassay yang paling sensitif, ELISA memiliki nilai komersial dalam penelitian laboratorium, diagnosis biomarker penyakit, dan pengendalian kualitas di berbagai industri. Teknik ini memanfaatkan antibodi yang terikat enzim yang mengikat antigen yang terpasang pada permukaan. Selanjutnya, substrat ditambahkan untuk menghasilkan perubahan warna atau sinyal cahaya yang berkorelasi dengan jumlah antigen yang ada dalam sampel asli (Hnasko, 2015).

II.6.1. Direct ELISA

Direct ELISA adalah jenis yang paling sederhana dalam teknik ELISA, di mana antigen yang terlarut dalam sampel diletakkan langsung pada permukaan padat, biasanya pelat mikrotiter. Setelah antigen menempel pada pelat, antibodi yang sudah terkonjugasi dengan enzim (misalnya *Horseradish Peroxidase/HRP*) ditambahkan untuk mengenali dan mengikat antigen yang ada. Setelah antibodi terikat, substrat ditambahkan, yang akan bereaksi dengan enzim untuk menghasilkan perubahan warna atau sinyal cahaya. Perubahan ini proporsional dengan jumlah antigen dalam sampel. Kelebihan dari metode ini adalah kesederhanaannya dan efisiensi waktu yang lebih tinggi, namun sensitivitasnya terbatas karena hanya mengandalkan satu antibodi yang terkonjugasi dengan enzim, membuatnya kurang sensitif pada sampel yang mengandung antigen dalam konsentrasi rendah atau sangat kompleks (Hnasko, 2015).

II.6.2. Indirect ELISA

Indirect ELISA meningkatkan sensitivitas deteksi dibandingkan dengan *direct ELISA* dengan menggunakan dua antibody, yaitu antibodi primer dan antibodi sekunder. Prosedur dimulai dengan menambahkan antigen yang terikat pada permukaan pelat mikrotiter, kemudian antibodi primer yang spesifik terhadap antigen tersebut ditambahkan. Selanjutnya, antibodi sekunder yang terkonjugasi dengan enzim seperti HRP ditambahkan untuk mengikat antibodi primer yang telah berikatan dengan antigen. Setelah penambahan substrat, reaksi enzimatik menghasilkan perubahan warna atau sinyal cahaya yang proporsional dengan konsentrasi antibodi dalam sampel. Kelebihan utama dari *indirect ELISA* adalah sensitivitas yang lebih tinggi karena penggunaan antibodi sekunder untuk mengamplifikasi sinyal, meskipun prosesnya lebih rumit dan memerlukan waktu serta bahan lebih banyak. Teknik ini sangat berguna dalam deteksi antibodi dalam serum atau deteksi antigen dalam sampel yang lebih kompleks (Hnasko, 2015).

II.6.3. Sandwich ELISA

Sandwich ELISA digunakan untuk mendeteksi antigen dalam sampel yang sangat kompleks atau memiliki konsentrasi rendah. Dalam format ini, dua antibodi yang berbeda digunakan; antibodi penangkap yang mengikat antigen yang terlarut dalam sampel dan antibodi detektor yang mengikat *epitope* berbeda pada antigen yang sama. Prosedur dimulai dengan melapisi pelat mikrotiter dengan antibodi penangkap, kemudian antigen ditambahkan yang mengikat antibodi penangkap. Setelah antigen terikat, antibodi detektor yang terkonjugasi dengan enzim ditambahkan, dan akhirnya substrat ditambahkan untuk menghasilkan sinyal yang proporsional dengan jumlah antigen dalam sampel. Keuntungan dari sandwich ELISA adalah sensitivitas yang sangat tinggi karena dua antibodi yang sangat spesifik untuk antigen yang sama, membuat teknik ini sangat efektif untuk deteksi antigen dalam konsentrasi rendah, meskipun prosesnya lebih rumit dan lebih mahal dibandingkan *direct* atau *indirect* ELISA (Hnasko, 2015).

II.6.4. Competitive ELISA

Competitive ELISA beroperasi berdasarkan prinsip kompetisi antara antigen dalam sampel dan antigen yang terikat pada pelat mikrotiter untuk berikatan dengan antibodi yang terkonjugasi dengan enzim. Dalam teknik ini, antigen dalam sampel bersaing dengan antigen yang terikat pada pelat untuk mengikat antibodi yang ada. Semakin banyak antigen dalam sampel, semakin sedikit antibodi yang dapat mengikat antigen pada pelat, yang menghasilkan sinyal lebih lemah. Sebaliknya, semakin sedikit antigen dalam sampel, semakin banyak antibodi yang terikat pada antigen di pelat, yang menghasilkan sinyal yang lebih kuat. Hasil pengujian berbanding terbalik dengan jumlah antigen dalam sampel, memberikan informasi tentang konsentrasi antigen tersebut. Teknik ini berguna untuk mendeteksi antigen dalam sampel yang langka atau sulit ditemukan, tetapi sensitivitasnya lebih rendah dibandingkan dengan *Sandwich* ELISA dan interpretasi hasilnya bisa lebih sulit karena sinyal yang berbanding terbalik (Hnasko, 2015).