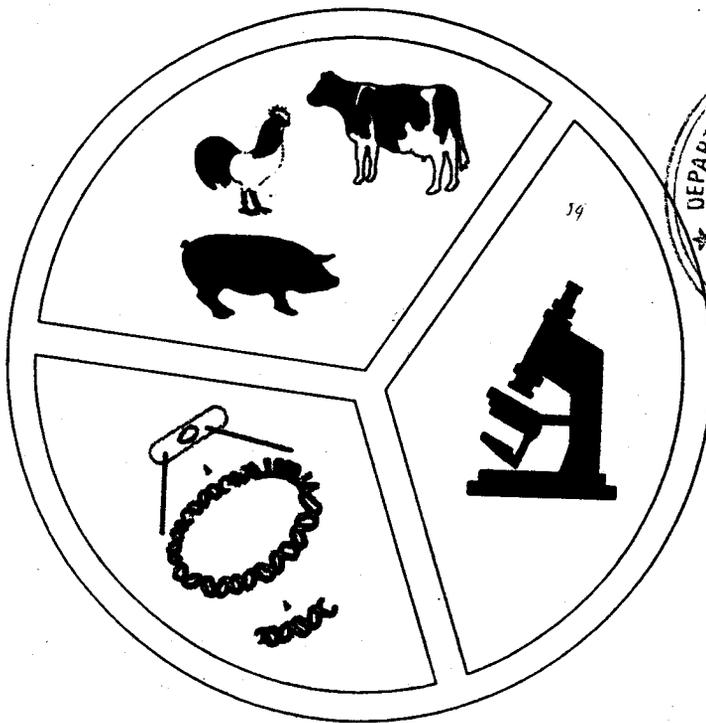


PROSIDING

SEMINAR NASIONAL TEKNOLOGI VETERINER UNTUK MENINGKATKAN KESEHATAN HEWAN DAN PENGAMANAN BAHAN PANGAN ASAL TERNAK

CISARUA, BOGOR 22 -24 MARET 1994



 **BALAI PENELITIAN VETERINER
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
DEPARTEMEN PERTANIAN**

BOGOR, 1995

SURVAI SEROLOGIK TERHADAP INFECTIOUS LARYNGOTRACHEITIS (ILT) PADA AYAM BURAS DAN RAS DI JAWA BARAT

HARIYADI MANGUNWIRYO, DARMINTO dan ZULKIFLI

Balai Penelitian Veteriner, Bogor

ABSTRAK

Survei serologik terhadap infectious laryngotracheitis (ILT) telah dilaksanakan pada ayam buras dan ras di Kabupaten Ciamis, Tasikmalaya dan Karawang, Jawa Barat. Sebanyak 120 serum ayam buras dan 80 serum ayam ras dari populasi yang tidak divaksinasi terhadap ILT, telah diperiksa titer antibodinya menggunakan uji enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) dengan Kit ELISA yang diimpor dari Australia. Hasil pengujian yang diluar dugaan menunjukkan adanya antibodi terhadap ILT atau positif reaktor pada ayam buras sebanyak 98 dari 120 serum yang diperiksa atau rata-rata prevalensi sebanyak 81,7% dan hanya 2 serum ayam ras yang positif antibodi ILT dari 80 serum yang diperiksa atau rata-rata prevalensi 2,5%. Dengan hasil serologik terhadap ILT yang cukup tinggi pada ayam buras, menunjukkan bahwa populasi ayam buras di tiga kabupaten tersebut telah atau pernah terinfeksi oleh virus ILT walaupun tanpa gejala-gejala klinis penyakit dan hal ini dapat merupakan suatu sumber infeksi ILT bagi peternakan ayam ras di sekitarnya.

ABSTRACT

A serological survey against infectious laryngotracheitis (ILT) was carried out in ILT-unvaccinated population of kampung and commercial chicken in the districts of Ciamis, Tasikmalaya and Karawang, West Java. One hundred and twenty sera taken from 5-7 month old kampung chicken and 80 sera from 30-35 day old commercial chicken were examined for antibodies against ILT detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using imported ELISA Kit from Australia. The results showed that 98 sera out of 120 sera from kampung chicken were ILT antibodies positive or about 81,7% prevalence rate and only 2 sera out of 80 sera from commercial chicken were positive or 2,5 % prevalence rate. This could indicate that with the relatively high prevalence rate of kampung chicken, the population at risk could have been previously infected by ILT virus even without any clinical symptoms and could also act as potential source of ILT infection for chicken farm.

PENDAHULUAN

Salah satu jenis penyakit oleh virus yang menyerang alat pernafasan ayam adalah infectious laryngotracheitis (ILT). Penyakit ini dapat bersifat akut dan kontagius dan dapat menyerang ayam dari semua golongan umur dan dalam bentuk lebih parah penyakit ini dapat menimbulkan kematian yang cukup tinggi terutama pada ayam ras dewasa, berkisar antara 10% sampai 40%. Beberapa kasus menunjukkan adanya kematian sampai 90%. Pada kejadian yang ringan kematian hanya kurang dari 5%. Pada ayam ras yang muda dibawah umur 2 minggu kematian biasanya rendah antara 5% sampai 10%. Selain itu kerugian ekonomis lainnya berupa penurunan berat badan dan

produksi telur pada ayam petelur. Gejala klinis yang dapat diamati pada ILT antara lain adanya gangguan respirasi sebab ILT sering bersifat lokal selain dapat pula menimbulkan peradangan pada mata atau conjunctivitis (Hungerford, 1969; Tripathy and Hanson, 1980; Bagust, 1982 dan Taneno *et al.*, 1988).

Infeksi atau penyakit ILT tersebut disebabkan oleh virus golongan herpes yang memiliki selaput luar (envelope) dan partikel virus yang lengkap berukuran disekitar 195-250 nm. Selain itu virus ILT hanya mempunyai satu serotipe walau memiliki sifat berbeda dari berbagai isolat antara lain dapat menimbulkan penyakit epizootik atau enzootik, sifatnya ada yang virulen dan kurang virulen. Perbedaan tersebut

juga terlihat dalam hal netralisasi oleh serum lokal dan patogenitasnya bila diinfeksi pada ayam sehat (Hungerford, 1969; Tripathy and Hanson, 1980).

Kasus ILT di Indonesia telah dilaporkan pertama kali yaitu pada ayam ras petelur berumur 20 minggu pada sebuah peternakan dekat Bogor dengan kematian sebanyak 3%. Hasil diagnosa tersebut berdasarkan klinis, pasca mati, isolasi virus, histopathologik dan uji tular pada ayam sehat (Partadiredja *et al.*, 1982). Sedang kasus pada ayam buras masih perlu penelitian lebih lanjut walau pernah adanya dugaan ke arah ILT (Balitvet, 1982). Gichrist (1992) melaporkan dari hasil observasinya di daerah Bekasi, Jawa Barat, adanya infeksi oleh ILT berdasarkan pengamatan secara klinis dan pasca mati serta diperkuat uji histopatologik dan isolasi pada telur berembrio (Hamid dan Mangunwiryono, 1992, data tidak dipublikasi).

Antibodi dalam serum terhadap ILT pada ayam dapat dideteksi menggunakan uji agar gel presipitasi (AGP) atau serum netralisasi (SN). Uji AGP merupakan uji yang cukup sederhana tetapi kurang sensitif sedangkan SN walaupun sensitif memerlukan fasilitas pupukan jaringan (TC) yang relatif mahal dan memakan waktu. Teknik lain yang walaupun relatif mahal apalagi yang impor yaitu enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) dianggap lebih cepat, lebih sensitif dan spesifik. Penggunaan ELISA di Indonesia sudah mulai banyak digunakan baik untuk parasit (Hasbullah, 1992), bakteri (Suripto *et al.*, 1992; Supar *et al.*, 1992 dan Hardjoutomo *et al.*, 1992) dan virus (Darminto *et al.*, 1986; Parede, 1992; Ajid and Daniels, 1992 dan Sendow, 1992).

Penelitian ini melaporkan data sero epidemiologi virus ILT pada ayam ras dan buras serta studi pendahuluan aplikasi teknik ELISA untuk penyakit ILT di Indonesia khususnya di Jawa Barat.

BAHAN DAN CARA

Spesimen dan lokasi studi lapang

Sebanyak 200 sampel serum masing-masing 80 dari ayam ras dan 120 dari ayam buras yang tidak divaksinasi terhadap ILT telah dikoleksi dari kabupaten Ciamis, Tasikmalaya dan Karawang, Jawa Barat. Selama dalam periode studi lapang tersebut semua bahan disimpan dalam keadaan dingin dalam termos berisi es sampai menjelang bahan akan diproses di laboratorium.

Uji ELISA untuk mendeteksi antibodi

Uji ini didasarkan kepada prosedur menurut produsen di Australia (Trop Bio) yang membuat bahan/Kit ELISA. Kit tersebut sudah siap pakai menggunakan bahan yang sudah distandardisasi yang disebut "capture Ag ELISA Kit" (Catalogue no. 02-007-01; Trop-ELISA ILT; Trop Bio, manufactured by James Cook University (JCU) Tropical Biotechnology Pth. Ltd., James Cook University of North Queensland, Townsville, Queensland, Australia 4811). Dalam setiap kotak Kit tersebut berisi reagen yang cukup untuk menguji 400 sampel serum.

Reagen/bahan untuk ELISA

1. Dalam uji ini dipakai cawan mikroelisa (microtitre plates) sebanyak 5 buah berbentuk dasar U (U-bottom) dari bahan polystyrene, yang sebelumnya sudah dilapisi (pre-coated) dengan monoclonal antibody.
2. ELISA diluent (pengencer) dalam satu botol kecil berisi 100 ml dengan konsentrasi 10X (larutan berwarna biru)
3. Antigen, dalam satu botol kecil (tutup kuning) yang telah dicampur dengan glycerol dan selanjutnya disimpan segera dalam -20°C .

4. Serum standar; satu set terdiri dari 7 buah serum standar masing-masing sebanyak 0,25 ml (tutup putih) untuk kurva standar.
5. Conjugate; satu botol kecil berisi anti-chicken horsese radish peroxidase yang telah dimurnikan (tutup biru) dan telah dibubuhi glycerol dan disimpan dalam 4°C atau 20°C.
6. Plate washing buffer (pencuci) dalam botol berisi 250 ml bahan pencuci dengan konsentrasi 20X dan dapat dipakai untuk 4 liter.
7. Botol untuk pencucian dengan ukuran 500 ml.
8. Substrate sebanyak 60 ml terdiri dari komponen tunggal dari (ABTS) yang siap pakai.

Prosedur untuk ELISA terhadap antibodi

Teknik ini dilaksanakan dalam ruangan dengan temperatur kamar, sebaiknya ber-AC dan bahan-bahan disiapkan sekurang-kurangnya 1 jam sebelumnya; semua serum diuji secara duplikasi atau duplo.

Pengenceran serum yang akan diuji

Dengan memakai cawan ELISA/mikrotiter yang lain (bekas pakai tapi bersih), serum diencerkan dengan pengencer Trop Bio. Pengencer sebelumnya dibuat encerkan 10X dengan air suling lalu dimasukkan ke dalam cawan mikrotiter tersebut sebanyak 90 µl (mikroliter) ke dalam setiap lubang cawan. Kemudian serum yang akan diuji dimasukkan sebanyak 10 µl dan encerkan 100X (1:100). Sebaiknya pengenceran dilakukan sehari sebelumnya dan semua serum disimpan dalam temperatur 4°C.

Penambahan antigen

Antigen ILT diencerkan 1:30 dengan cara mencampurkan 200 µl antigen ke dalam 6 ml pengencer ELISA pada tempat terpisah. Tiap lubang cawan ELISA diisi dengan 50 µl antigen tersebut, kemudian diinkubasi dalam temperatur

kamar dalam kotak lembab (misal berisi tissue lembab/basah) selama 1-1,5 jam dan tutup hati-hati.

Pencucian

Cawan tersebut segera dicuci dengan washing buffer sekurang-kurangnya tiga kali cucian.

Penambahan serum yang akan diuji

Sebanyak 50 µl serum yang sudah diencerkan sebelumnya 100X dimasukkan ke dalam setiap lubang cawan yang telah berisi antigen.

Penambahan serum standar kurva

Serum standar diencerkan 100X dan caranya sama untuk serum yang akan diuji. Apabila kiat memakai cawan mikro titer, maka lubang-lubang diberi kode yaitu deretan kebawah dengan huruf A sampai H sebanyak 8 lubang dari kiri ke kanan diberi nomor 1 sampai dengan 12. Penambahan serum standar dimulai dari bawah. Lubang H11 dan H12 diisi dengan kontrol conjugate (C) dan standarfd (S) yaitu S1 ke dalam lubang G11 dan G12 dan seterusnya sampai S7 dalam lubang A11 dan A12, masing-masing sebanyak 50 µl. (S1 adalah encerkan terendah atau titer serum standard paling rendah sedangkan S7 adalah serum dengan titer tertinggi. Selanjutnya diinkubasi seperti sebelumnya pada temperatur kamar selama 1-1,5 jam dan segera dicuci dengan washing buffer.

Penambahan Conjugate

Sebanyak 50 µl conjugate ditambahkan ke dalam 6 ml pengencer ELISA menjadi encerkan 1:12 dilakukan dalam tempat terpisah, kemudian conjugate ditambahkan ke dalam tiap lubang cawan sebanyak 50 µl dengan pipet multi-channel. Lalu diinkubasi seperti sebelumnya dan segera dicuci.

Penambaham substrate sebanyak 100 µl dari ABTS ke dalam tiap lubang cawan kemudian diinkubasi seperti diatas selama 1 jam dan selama itu kotak ditutup bagian luarnya dengan handuk basah agar lembab dan bagian dalam kotak menjadi gelap.

Pembacaan hasil

Pembacaan hasil menggunakan ELISA READER (Titertek Multiskan, MCC) dan hasil baca menggunakan panjang gelombang 414 nm dan hasilnya dapat dilihat (diprint) menggunakan computer yang sudah diprogram sebelumnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari sampel lapangan yang berupa serum darah diperoleh sebanyak 200 sampel masing-masing 67 dari Ciamis, 56 dari Tasikmalaya dan 77 dari Karawang dari ayam ras dan buras. Bahan tersebut berasal dari ayam ras yang menunjukkan gejala-gejala berupa gangguan pernafasan seperti suara ngorok/susah bernafas, lendir dari hidung, mulut atau larynx/trachea dari ayam berumur disekitar 3 minggu sampai 6 minggu.

Dari bedah bangkai yang dilakukan ditempat/ di lapang, terlihat adanya berbagai perubahan patologik-anatomik (p.a.) antara lain kemerahan/hemorragik pada trachea, lendir di daerah mulut/lar. Pada pengamatan secara klinis di lapang terlihat bahwa gejala-gejala lebih banyak pada ayam-ayam ras dari pada ayam buras. Walaupun sebenarnya ILT lebih banyak menyerang atau menimbulkan penyakit akut pada ayam dewasa (ras) secara umum baik diluar negeri maupun di Indonesia, tetapi pada ayam buras dewasa gangguan pernafasan relatif kurang. Walaupun pernah terjadi, menurut laporan ayam-ayam tersebut dapat sembuh beberapa minggu kemudian, tanpa banyak menimbulkan gangguan pertumbuhan dibandingkan ayam ras

walaupun banyak ayam buras yang sudah dipelihara secara semi intensif bahkan ada beberapa populasi yang dipelihara secara intensif seperti ayam ras petelur. Umumnya sampel ayam buras diambil dari kelompok ayam berumur antara 6 minggu sampai 1 1/2 tahun dan mereka kelihatannya sehat secara klinis. Gejala klinis terutama pada ayam ras dapat dikelirukan dengan gejala oleh infeksi campuran oleh agen penyebab lainnya, walaupun menurut Tripathy dan Hanson (1980) ILT dapat memperlihatkan gejala yang karakteristik terutama pada yang dewasa, sekalipun ayam muda dapat pula terserang dengan tingkat morbiditas/mortalitas relatif lebih rendah.

Menurut Sinkonic dan Ellery (1976), kasus yang bersifat ringan oleh ILT dianggap lebih sering pada saat ini, yang dapat pula dikelirukan dengan penyakit respirasi ayam lainnya baik oleh virus lainnya atau bakteri. Oleh karena itu diperlukan informasi lebih lanjut dan teknik ELISA dapat pula memperkuat hal tersebut baik untuk mendeteksi antibodi yang spesifik ILT atau antigenya.

Untuk pertama kalinya uji ELISA terhadap ILT digunakan di Balitvet dan untuk studi pendahuluan ini digunakan bahan/reagen atau kit yang sudah siap pakai sehingga praktis tidak memerlukan lagi standarisasi reagen walaupun masih memerlukan uji coba dilaboratorium untuk pemantapannya.

Untuk lebih memperkuat hasil pembacaan/interpretasi, sebagai patokan *base-line value* atau nilai batas/cut-off, digunakan 35 ekor ayam specific Pathogen Free (SPF) umur 3 minggu sampai 9 minggu. Titer dari ayam SPF dan penghitungan nilai *cut-off* dapat dilihat pada tabel 2. Dengan menggunakan rumus rata-rata (mean) dari titer antibodi (dalam unit ELISA/Au dan ditambah nilai standar deviasi (S.D.) serta melihat titer maksimum, maka ditentukan nilai *Cut-off*.

Mengingat pada ayam tersebut (SPF) terdapat titer maksimum (tertinggi) sebesar 64 walaupun hanya satu, maka untuk meninggikan spesifitas atau mengurangi hasil akibat reaksi non spesifik, kita tetapkan nilai *cut-off* yaitu Mean ditambah 3 SD atau 45 dan kita tetapkan bahwa hasil ELISA di atas nilai 45 dianggap positif (reaktor), kemudian kurang dari 45 atau antara 8 dan 45 unit ELISA sebagai nilai non-spesifik dan kurang dari 8 sebagai negatif (lihat tabel 2 dan 3). Menurut York *et al.*, (1983) dari hasil percobaannya untuk mencari base line value (*cut off*) juga menggunakan ayam SPF umur 1 minggu dan kelompok lain dengan umur antara 13 sampai 64 minggu. Nilai *cut off* yang dipakai adalah rata-rata (mean) dalam optical Density atau O.D.) ditambah 2 kali S.D. Menurut mereka hal ini untuk mengatasi adanya faktor antara lain non-spesifik dan dari penelitiannya bahwa ayam SPF umur di atas 12 minggu memperlihatkan reaksi non-spesifik sebanyak kurang lebih 20%. Perhitungan nilai *cut-off* tersebut dapat mengurangi kemungkinan reaksi positif yang keliru walaupun hasil titrasi dapat pula dipengaruhi oleh faktor teknis seperti faktor pengenceran serum yang akan di uji, ketelitian atau kecermatan dilaboratorium, kebersihan dan lain-lain. Harus diakui adanya kelemahan dari percobaan ini disebabkan berbagai keterbatasan fasilitas antara lain tidak digunakannya isolator (bebas kuman tertentu) sebagai pengganti kandang konversian, juga selain tidak diujinya serum positif oleh infeksi buatan oleh virus ILT, yang nota bene memerlukan fasilitas kandang khusus. Walaupun demikian minimal nilai *cut-off* dapat dijadikan pegangan untuk lebih memperkuat interpretasi hasil pembacaan sehingga penilaian terhadap suatu kenompok ayam yang terinfeksi atau tidak dapat dipertanggungjawabkan. Apalagi dihubungkan dengan rencana/program pemberantasan di lapangan. Dengan demikian dapat ditentukan termasuk secara serologi apakah suatu wilayah atau area

termasuk daerah bebas ILT atau tidak. Penggunaan gruping/grade dari O.D. nilai dari group negatif S (standar 1) sampai dengan S7 (nilai tertinggi yang positif) dibandingkan grafik standar OD, belum diketahui dengan tepat grup mana yang dianggap benar-benar negatif atau non spesifik/dubius.

Alat pembaca ELISA (Reader) yang dihubungkan dengan komputer yang telah diprogram, dapat mengkonversi nilai OD menjadi unit ELISA (UE) dan dalam aplikasi ELISA ini dipakai interpretasi dengan unit ELISA tersebut. Nilai batas/*cut off* untuk ILT mempunyai nilai berbeda dengan percobaan lain atau terdahulu. Sebagai perbandingan misalnya dengan penyakit infectious bronchitis (IB) yang juga merupakan salah satu penyakit pernafasan oleh virus, Darminto (1988) melaporkan bahwa untuk interpretasi hasil pembacaan ELISA, serum dinyatakan positif mengandung antibodi terhadap IB bila memiliki titer lebih besar dari 90. Tentunya perbedaan ini disebabkan antara lain oleh perbedaan beberapa faktor termasuk kemungkinan adanya perbedaan tingkat non-spesifik oleh ILT dan IB, sifat-sifat virus atau kepekaan atau respon yang berbeda oleh ayam/induk semang terhadap virus, selain teknik atau prosedur ELISA yang berbeda termasuk standarisasi reagen atau Kit.

Dari 200 sampel serum yang diperiksa terdapat penyebaran titer antibodi (dalam unit ELISA) dari setiap Kabupaten di Jawa Barat mulai dari titer paling rendah (kurang dari 8) sampai paling tinggi di atas 512 (lihat Tabel 1). Dari seluruh serum yang diperiksa terdapat jumlah serum sebesar 48 dalam kisaran UE antara 16 dan 32 dan dalam kisaran lebih besar dari 512 hanya 4 serum. Dengan perbedaan jumlah sampel yang diuji antara ayam ras (80 serum) dan ayam buras (120 serum), maka jumlah ayam yang bertiter di atas 45 (reaktor) masing-masing ayam ras 2 ekor dan ayam buras

Tabel 1. Penyebaran titer antibodi (dalam unit ELISA) dari serum hasil studi lapang di daerah Jawa Barat dari setiap Kabupaten

Lokasi Kabupaten	Jumlah Serum (AR/AB)	Kisaran Unit ELISA				+ . +			
		<8	8-16	16-32	32-64	64-128	128-265	256-512	>512
CMS	25 (AR)	2	12	11	0	0	0	0	0
	42 (AB)	0	4	1	10	9	10	5	3
TSK	25 (AR)	0	0	20	5	0	0	0	0
	3 (AB)	1	0	1	2	8	13	6	0
KRW	30 (AR)	4	11	12	2	0	1	0	0
	47 (AB)	0	0	2	8	14	13	9	1
Jumlah	200	6	28	48	33	36	30	15	4

Keterangan:

- CMS = Ciamis; TSK = Tasikmalaya; KRW = Karawang

- AR = ayam ras; AB = ayam buras

- Nilai cut-off (Base line value) berdasarkan hasil titer (Unit ELISA/UE) dari ayam SPF yaitu rata-rata hasil (Y) + 3 standar Deviasi S.D.) = $11,23 + (3 \times 11,21) = 44,86$ (dibulatkan menjadi 45; lihat tabel)

- Penilaian reaksi sebagai berikut:

< negatif

8 - 45 : Non-spesifik

>45 : positif (reaktor)

sebanyak 98 serum/ekor, suatu jumlah yang relatif lebih besar dari pada ayam ras.

Adanya perbedaan titer dari ayam ras dan buras memberikan peluang untuk mempelajari masalah ini lebih lanjut. Suatu hal yang penting ialah dengan tehnik ELISA ini maka dapat dikatakan bahwa ayam buras telah mengalami infeksi oleh ILT, walaupun secara klinis ayam buras terlihat lebih sehat. Penelitian lebih lanjut mungkin perlu dilakukan apakah ayam buras dapat bertindak sebagai reservoir atau carrier yang potensial. Titer antibodi pada ayam buras yang lebih besar dari pada ayam ras, juga dilaporkan oleh Darminto (1986) yaitu titer antibodi terhadap infectious bronchitis (IB), yang juga salah satu penyakit pernafasan oleh virus pada ayam.

Dari informasi di lapang, ternyata bahwa semua populasi ayam tidak pernah sebelumnya sampai waktu ini, mendapatkan vaksinasi terhadap ILT. Menurut Williams *et al* (1992) dalam percobaan patogenisitas dari virus ILT yang bersifat latent pada ayam (asal ayam carrier), menunjukkan kemampuan virus tersebut untuk menimbulkan penyakit pada ayam ras sama seperti virus berasal dari kasus akut di lapang.

Selain itu sebelum memulai vaksinasi perlu pula dipelajari sifat-sifat virus asal vaksin yang beredar apakah adanya kemungkinan penularan secara horizontal termasuk terhadap ayam buras. Menurut Mutalib (1992), penularan dapat terjadi oleh adanya virus asal vaksin hidup yang dilemahkan. selain dilaporkan pula bahwa virus

alam dan virus asal vaksin dapat menimbulkan sifat latency dengan priode penyebaran virus selama 15 bulan. Selain itu Tripathy dan Hanson (1980) melaporkan bahwa virus pernah diisolasi dari bagian trachea berasal dari ayam yang sembuh sesudah 2 tahun, yang berarti ayam tersebut bertindak sebagai carrier.

Dengan adanya aplikasi tehnik ELISA terhadap ILT hal ini dapat lebih memperkuat suatu kesimpulan diagnosa dalam rangka studi distribusi penyakit ILT dalam suatu wilayah dengan lebih cepat, spesifik dan sensitif terlepas dari kendala harga Kit yang relatif lebih mahal. Studi lebih lanjut untuk memperoleh kit/reagen ELISA yang lebih murah untuk diproduksi di Indonesia akan merupakan suatu hal yang perlu dipertimbangkan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dengan uji ELISA ini terbukti bahwa infeksi virus ILT telah tersebar pula pada populasi ayam buras yang sebelumnya belum pernah dilaporkan. Hal ini menimbulkan suatu konsekuensi agar kewaspadaan terhadap penyakit ILT pada ayam komersial lebih ditingkatkan termasuk program vaksinasi yang tentunya dikaitkan peranan ayam buras sebagai sumber penyebaran atau infeksi virus ILT dan hal tersebut membutuhkan penelitian lebih lanjut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini kami ucapkan terima kasih kepada Kepala Dinas Peternakan Propinsi Jawa Barat, Kepala Dinas Peternakan Kabupaten Ciamis, Tasikmalaya dan Karawang beserta seluruh staf yang telah membantu kelancaran penelitian/pengambilan sampel di lapang.

Tak lupa kepada Sdr. Iman Solihin (Tehnis) dan Sdr. Nurdin (pembantu tehni) unit virologi Balitvet, juga kepada teman-teman sejawat

peneliti diunit Virologi tak lupa kami ucapkan terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajid, RM.A.. dan P.W. Daniels. 1992. Development of an indirect ELISA and its application for detecting antibodies to contagious ecthyma virus. Dalam seminar of ELISA Application in Vet. Science, di Bogor. BALITVET/ACIAR/Dept. of Food and Agric., Benalla, Vic., Australia
- Bagust, T.J. 1992. Herpesviruses in poultry. In Proceedings no. 60. Refresher course on advances. In *Vet. Virology*. pp. 461-471. The University of Sydney, Australia.
- Balitvet. 1982. Annual Report. Investigation into Diseases of the Kampung chickens.
- Darminto. 1988. Diagnosa serologik dan pemantauan titer antibodi infectious bronchitis dengan Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Penyakit Hewan* Vol.XX (36). Balitvet
- Darminto, P. Young dan P. Ronohardjo. 1986. Penerapan uji enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) untuk deteksi antibodi virus infectious bronchitis. *Penyakit Hewan* Vol.XVIII (32) Balitvet.
- Gilchrist, P. 1992. Report of suspected ocular form of infectious laryngotracheitis (ILT) in Bekasi. Balitvet Bogor.
- Hamid, H. dan H. Mangunwiryo. 1992. Kasus ILT pada ayam buras (tidak dipublika) Balitvet Bogor.
- Hardjoutomo, S, M.B. Poerwadikarta, B.E.Patten dan K. Barkah. 1992. The application of an antibody ELISA to monitor the vaccinal response of anthrax vaccinated ruminants. Seminar of ELISA Application in Vet. Science di Bogor. Balitvet/ACIAR/Dept. of Food and Agric. Benalla, Vic., Australia.
- Hasbullah, 1992. Detection of serum antibodies in Eimeria tenella infected chickens by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with merozoite and oocyst antigens. Seminar of ELISA Application in Vet. Science. di Bogor. BALITVET/ACIAR/DEPT. of Food and Agric. Benalla, Vic., Australia.
- Hungerford, T.G. 1969. Infectious laryngotracheitis. pp. 119-141. In *Diseases of Poultry including Cage birds and pigeons* (Hungerford, T.G., ed.) Angus & Robertson, Melbourne, Australia.
- Mutalib, Ahmed. 1992. Studies on transmissibility of a tissue culture-modified laryngotracheitis virus. *J. Vet. Diagn. Invest.* 4:412-415.

- Parede Hermoadi, L. 1992. Indirect and capture ELISA to differentiate the pathotype of Newcastle disease virus strains. Seminar of ELISA Application in Vet. Science di Bogor, Balitvet/ACIAR/Dept. of Food and Agric., Benalla, Vic., Australia.
- Partadiredja, M., R.D. Soejoedono dan S. Hardjosworo. 1992. Kasus infectious laryngotracheitis di daerah Bogor. Isolasi dan indentifikasi virus dengan cara pewarnaan. Dalam Proceedings Seminar Penelitian Peternakan. Puslitbangnak.
- Sendow, I. dan P.W. Daniels. 1992. Application of an ELISA in detecting blue tongue virus group infection. Seminar of ELISA Application in Vet. Science, di Bogor. Balitvet/ACIAR/Dept. of Food and Agric. Benalla, Vic. Australia.
- Soeripto, M.B.Poerwadikarta dan Z.Layla. 1992. The use of ELISA for the detection of chronic respiratory disease in chickens. Seminar of ELISA Application in Vet. Science, di Bogor. Balitvet/ACIAR/Dept. of Food and Agric., Benalla, Vic., Australia.
- Supar, B.E. Patten, R.G Hirst, Djaenuri dan Nina Kurniasih. 1992. The use of enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antifimbrial antibody responses in pigs vaccinated with multivalent Escherichia coli containing K88, K99, F41 and (*&p antigens. Seminar of ELISA Application in Vet. Science di Bogor. Balitvet/ACIAR/Dept. of Food and Agric., Benalla Vic., Australia.
- Taneno, A., T. Honda., E. Sakai., Y. Tokuyama, T. Hanaki dan M. Eto. 1988. Studies on A Live ILT virus cell-Associated Vaccine. pp. 333-337. In Proceedings of the sixth Congress Federation of Asian Vet. Association (FAVA), Denpasar, Bali.
- Tripathy, D.N. dan L.E. Hanson. 1980. Laryngotracheitis. Dalam isolation and identification of Avian Pathogens. pp. 88-90.
- Williams, R.A., A.I.AL-Afaleq, F.T.W. Jordan, Janet M. Bradbury Rosalind M. Gaskell, M. Bennett dan R.C. Jones. 1992. Pathogenecity of latent infectious laryngotracheitis virus in chickens. *Avian Pathology*. 21 (2):287-294.
- York, J.J., K.J. Fahey dan T.J. Bagust. 1983. Development and evaluation of an ELISA for the detection of antibody to infectious laryngotracheitis virus in chickens. *Avian Disease*. 27 (2):409-421.