

ENTERITIS NECROTICANS PADA AYAM BROILER AKIBAT INFEKSI SEKUNDER *Clostridium Perfringens* TIPE A

Agus Setiyono¹), Rachmat Nabib¹), Gatut Ashadi¹),
Aisjah Girinda²), Lily Natalia³).

ABSTRACT

The experiment was conducted to determine the relationship between concidiosis vaccination and secondary infection of *Clostridium perfringens* type-A as a cause of Enteritis Necroticans in broiler chickens.

The completely randomized design was used in this experiment. In this study 102 Arbor Acres strain unsexed chicken were randomly assigned to 8 treatment groups with 12 chicks each. Feed and water were given *ad libitum*.

Treatment factors in this experiment were coccidiostat (Salinomycin 6%), coccidiosis vaccine and *Clostridium perfringens type-A isolate*, and their combinations.

The anatomy pathology (AP) and histopathology (HP) figures of the chicken intestines were evaluated.

Histopathology results indicated that the relationship between coccidiosis vaccination and secondary infection of *Clostridium perfringens* type-A was highly significant ($p < 0.01$) but the anatomy pathology figures showed that the relationship was not significant ($p < 0.05$).

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Untuk mencukupi kebutuhan konsumsi protein hewani yang semakin meningkat, pemerintah me-

lalui Keppres 22/1990 telah menetapkan beberapa kebijaksanaan yang mendukung untuk pengembangan peternakan ayam ras di Indonesia.

Ayam ras pedaging (broiler) merupakan hewan ternak yang cu-

1. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor
2. FMIPA, IPB Bogor.
3. Balai Penelitian Veteriner, Bogor.

kup potensial dalam memberikan kontribusi kepada kualitas maupun kuantitas produk protein hewani yang berupa daging (50,20% dari total produksi daging). Disamping itu pola pemeliharaannya cukup sederhana, sehingga dengan mudah dapat dilakukan oleh masyarakat petani peternak.

Selama 3 tahun pertama Pelita V telah terjadi peningkatan populasi ayam broiler dari 262.918.000 ekor pada tahun 1989 menjadi 428.766.000 ekor pada tahun 1991 (mengalami kenaikan 27,8%). Demikian juga dengan produksi daging unggas mengalami kenaikan yang cukup pesat; pada tahun 1978 diproduksi sebanyak 95,3 ribu ton, tahun 1983 menjadi 218,9 ribu ton dan pada tahun 1991 mencapai 603,2 ribu ton (Ditjen Peternakan, 1992). Dapat diduga bahwa kenaikan produksi daging yang cukup tinggi pada tahun 1983 terjadi setelah pengenalan program pemeliharaan ayam ras broiler yang dimulai sekitar tahun 1980.

Selama proses perkembangannya, hingga tercapai tingkat populasi dan produksi yang tinggi, berbagai kendala yang menyangkut peningkatan kualitas maupun kuantitas hasil produksi ayam ras baik daging maupun telur dapat dijumpai dilapangan seperti; bibit yang kurang baik, pakan yang kurang terkontrol kualitasnya, maupun adanya penyakit sebagai akibat lemahnya manajemen pemeliharaan.

Bains (1968) mendiagnosa adanya penyakit radang saluran pencernaan yang bersifat nekrotik pada ayam broiler umur lima minggu dan menyebabkan angka morbiditas dan mortalitas yang cukup tinggi. Dalam kondisi di lapangan ternyata Koksidiosis memegang peranan yang penting dalam kejadian Enteritis Necroticans pada ayam (AL-Sheikhly dan Al-Saieq, 1979).

Kerugian akibat Koksidiosis pada ayam antara lain berupa kematian hewan, penurunan produktivitas (daging, telur) dan masa bertelur yang terlambat (Reid, *et al.*, 1984).

Melalui penelitian ini dapat ditelusuri perjalanan suatu penyakit saluran pencernaan yang kemudian diharapkan dapat dilakukan usaha penanggulangannya.

Tujuan Penelitian.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara vaksinasi Koksidiosis dengan infeksi sekunder *Clostridium perfringens* tipe A sebagai penyebab Enteritis Necroticans pada ayam broiler dengan melihat gambaran Patologi Anatomi (PA) dan Histopatologi (HP).

Sedangkan kegunaan dari penelitian ini adalah selain untuk pengukuhan diagnosa terhadap Enteritis Necroticans pada ayam, juga dapat memberikan gambaran yang lebih jelas tentang peluang munculnya masalah penyakit saluran pencernaan, sehingga penanggulangannya yang lebih dini dapat dilakukan.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Unggas, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor dan Laboratorium Bakteriologi, Balai Penelitian Veteriner (Balitvet) Bogor. Penelitian berlangsung selama enam bulan, mulai bulan Juli sampai Desember 1991.

Bahan

- Isolat *Clostridium perfringens* tipe A.
- Vaksin Coccivac (Sterwin Laboratories, Inc) yang terdiri dari *Eimeria acervulina*, *E. bruneti*, *E. hagani*, *E. maxima*, *E. mivati*, *E. necatrix*, *E. praecox* dan *E. tenella*.
- Vaksin ND strain Hitchner B₁ dan strain Lasota.
- Ransum ayam, dengan dan tanpa Koksidiostat (Salinomycin 6%).
- Anak ayam broiler (DOC) strain Arbor Acres (AA).

Pelaksanaan Penelitian

a. Persiapan Bahan.

Isolat *Clostridium perfringens* tipe A diperoleh dari biakan murni

(Balitvet Culture Collection 2073) yang disimpan dalam *Robertson Cooked Meat Medium* (RCMM). Pengujian toksigenisitas bakteri dilakukan dengan mengambil cairan media RCMM yang telah diinokulasi dan diinkubasi pada temperatur 37°C selama 4 jam. Cairan disentrifuge dan disuntikkan 0.1 ml ke mencit (18–20 gram) secara intra vena. Apabila mencit mati, berarti supernatan yang diuji mengandung toksin dan selanjutnya dilakukan identifikasi isolat *Collostridium perfringens* dengan menggunakan uji *Fluorescence Antibody Technique* (FAT).

Penentuan tipe isolat (*typing*) menggunakan Uji Serum Netralisasi yang dilakukan dengan mengambil 1,5 ml larutan RCMM kemudian disentrifuge. Filtrat yang diperoleh diambil 0,5 ml kemudian ditambahkan PBS dan anti toksin terhadap *Clostridium perfringens* yang terdiri dari anti toksin A, C dan D. Pengujian filtrat dilakukan dengan dua cara yaitu dengan menggunakan filtrat murni dan filtrat yang ditambahkan Trypsin. Dari larutan yang diperoleh diambil 0,3 ml untuk disuntikkan pada mencit secara intra vena (Metode Sterne dan Batty).

Penghitungan jumlah mikroorganisme dilakukan dengan mengambil isolat dari RCMM kemudian ditumbuhkan dalam *Media Ellners*¹⁾ agar terbentuk spora. Setelah 48 jam

1) Media Ellmers adalah sporing medium atau media yang mengubah bakteri dari bentuk vegetatif ke bentuk spora. Dalam bentuk spora bakteri lebih mudah dihitung.

pada suhu 37°C dalam *Media Elmers*, lalu disentrifuge dan dicuci dengan PBS sebanyak tiga kali. Endapan yang diperoleh dilarutkan dalam gloslerol 50%. Perhitungan dimulai setelah larutan gliserol 50% ditambah 2 M karbol fuksin dengan perbandingan 1 : 1 dan ditempatkan dalam air mendidih selama sepuluh menit. Setelah itu diencerkan 1/20 dengan akuades dan selanjutnya dilakukan penghitungan menggunakan *Hemocytometer Neubauer* dengan cara $N/4 \times D \times 10.000 = \dots \dots \dots$ organisme/ml.

N = rata-rata jumlah sel dalam 4 kotak besar.

D = faktor pengenceran ($\frac{1}{2} \times \frac{1}{20} = \frac{1}{40} \longrightarrow 40x$)

Hasil yang didapatkan adalah sebanyak $11.66 \cdot 10^9$ organisme/ml.

b. Pelaksanaan Percobaan.

Pemeliharaan ayam dilakukan di kandang beralas sekam padi. Ayam dipelihara dengan divaksinasi terhadap ND dua kali, pada umur empat hari dengan vaksin ND strain Hitchner B₁ dan pada umur 18 hari dengan vaksin ND La Sota. Pemberian makan dan minum *ad libitum* dan setiap hari sebelum pemberian ransum, tempat makan dibersihkan. Pada umur sepuluh hari, vaksin koksidirosis diberikan melalui air minum dan setelah itu selama tujuh hari alas kandang disemprot air untuk mendapatkan kelembaban lingkungan, yang diperlukan bagi sporulasi koksidia.

Pada umur 15, 16, 17, 18 dan 19 hari, ayam diinfeksi spora *Clostridium perfringens* tipe A sebanyak 64.78×10^5 spora/gram makanan dan pada hari ke-16, 17, 18, 19, 20, 21 dan 24 dilakukan pengambilan sampel secara acak untuk mendapatkan gambaran setelah perlakuan. Ayam dipelihara sampai berumur enam minggu dan bila ada ayam yang mati selama percobaan berlangsung, maka dilakukan pemeriksaan patologi anatomi, histopatologi dan bakteriologi dari organ usus. Sedangkan ayam-ayam yang tidak mati sampai akhir percobaan dibunuh kemudian diperiksa secara patologi anatomi dan organ ususnya diambil sebagian untuk diproses dalam rangka pemeriksaan histopatologi.

Kelompok I adalah ayam tidak diberi infeksi kuman, Koksidiostat maupun vaksin Koksidirosis (kontrol negatif), kelompok II adalah ayam yang diinfeksi dengan kuman tetapi tidak diberi Koksidiostat maupun vaksin Koksidirosis, kelompok III adalah ayam yang diberi Koksidiostat, tidak diinfeksi dengan kuman dan tidak divaksinasi, kelompok IV adalah ayam yang divaksinasi tetapi tidak diberi Koksidiostat maupun infeksi kuman, kelompok V adalah ayam yang tidak divaksinasi tetapi diberi Koksidiostat dan infeksi kuman, kelompok VI adalah ayam yang tidak diberi Koksidiostat tetapi diberi infeksi kuman dan vaksin Koksidirosis, kelompok VII adalah ayam yang tidak diberi infeksi kuman tetapi diberi Kok-

sidiostat dan vaksin Koksidirosis, sedangkan kelompok VIII adalah ayam yang diberi semua perlakuan yakni diberi infeksi kuman, Koksidiostat serta vaksin koksidirosis (kontrol positif).

c. Pengambilan Data.

Perolehan data pengamatan berupa gambaran patologi anatomi dan histopatologi dari organ usus ayam broiler.

Pengukuran respon dari organ usus ayam adalah berdasarkan skor lesio (kerusakan) patologi anatomi dalam skala 0 sampai 4 (Shane, *et al.*, 1985). Skor 0 dianggap tidak ada kerusakan, skor 1 ada ulkus bersifat fokal, skor 2 ada ulkus yang menyatu membentuk bercak, skor 3 ada nekrosa mukosa usus yang merata/menyebar dan skor lesio 4 ada nekrosa mukosa usus disertai ulserasi yang menyebar. Penilaian terhadap skor lesio histopatologi terdiri dari skor lesio 0 dianggap tidak ada kerusakan/kelainan, skor 1 ada edema dan dilatasi kript Lieberkuhn disertai peningkatan jumlah sel Goblet, skor 2 jika ada degenerasi ujung vili disertai vili menyatu dan tumpul, skor 3 jika ada nekrosa koagulasi mukosa sedangkan jaringan epitel terkelupas dan intinya hilang serta limfosit intraepitel meningkat jumlahnya, skor 4 jika ada nekrosa kript Lieberkuhn, vili hilang, ada eksudat fibrinonekrotik serta ditemukan bakteri bentuk batang dan ookista koksidia.

Metode Analisis dan Rancangan Percobaan

Dalam penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan uji statistik non parametrik Krustal Wallis (Walpole, 1982).

Dalam penelitian ini digunakan 102 ekor ayam broiler tanpa dibedakan jenis kelaminnya, yang dibagi secara acak menjadi delapan kelompok perlakuan, dengan tiga faktor perlakuan yaitu Koksidiostat, *Clostridium perfringens* tipe A dalam bentuk spora dan vaksin Koksidirosis. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 12 ekor ayam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil percobaan yang telah dilakukan terhadap ayam broiler sampai berumur enam minggu memperlihatkan hanya 2 ekor ayam yang mati, yaitu seekor mati pada umur 30 hari dan yang seekor lagi mati pada umur 38 hari.

Skor lesio (kerusakan) yang terlihat pada usus ayam berupa skor lesio histopatologi berkisar dari 0 sampai 4, sedangkan skor lesio patologi anatomi dari 0 sampai 3. Hasil penelitian selengkapnya disajikan pada Tabel 1.

Hasil pengujian dengan metode Krustal Walls menunjukkan untuk respon lesio histopatologi ternyata memberikan nilai $p < 0.01$. Sedangkan hasil pengujian skor lesio patologi anatomi memberikan nilai $p < 0.05$.

Dengan uji statistik korelasi peringkat ternyata ada hubungan yang erat antara skor lesio makroskopis dan skor lesio histopatologi secara keseluruhan sebesar $r = 0.786$.

Keragaman respon terhadap perlakuan yang diperoleh dalam penelitian ini terlihat nyata pada kelompok VI, yakni kelompok ayam yang diberi makanan tanpa Koksidostat tetapi diinfeksi dengan spora *Clostridium perfringens* tipe A dan diberi vaksin Koksidiosis, ternyata memperlihatkan gambaran yang cukup jelas untuk terjadinya Enteritis Necroticans. Memang Ruff (1991), telah mengemukakan bahwa infeksi koksidia akan menurunkan pH usus sehingga menekan protein serum dan memungkinkan kuman berproliferasi. Selain itu, masuknya koksidia ke dalam mukosa usus dengan merobek epitel usus dapat menjadi pintu masuk organisme penyebab infeksi sekunder ke dalam mukosa usus (Long, 1983; Groves, 1986).

Data yang mendukung terjadinya Enteritis Necroticans pada ayam, didapatkan pada kelompok V. Pada kelompok ini diperoleh skor lesio patologi anatomi sebesar 30,8% atau sebanyak 4 sampel dengan derajat kerusakan skor 2, namun untuk skor lesio histopatologi didapatkan derajat skor 4 sebesar 7,7% atau hanya satu ekor.

Pola perlakuan pada kelompok V sebenarnya menyerupai pola pemeliharaan ayam yang umum dipraktikkan oleh petani ternak. Adanya gambaran tersebut me-

nunjukkan bahwa penggunaan Koksidostat yang terus menerus di dalam ransum tidak selalu menjamin ayam-ayam yang dipelihara akan terbebas dari bahaya penyakit, karena selain tidak efisien, ayam masih bisa terserang penyakit dan juga kemungkinan besar dapat menimbulkan galur koksidia yang resisten.

Kebersihan lingkungan sangat berpengaruh pada kejadian infeksi sekunder. Ayam-ayam yang tidak mati, seperti respon yang diharapkan, diduga karena faktor lingkungan sangat berperan di dalamnya. Lingkungan tersebut tidak hanya mencakup kebersihan kandang, akan tetapi kualitas makanan juga ikut menentukan berhasil tidaknya suatu infeksi masuk kedalam tubuh ayam. Adanya tripsin yang merupakan protein yang terkandung di dalam makanan dapat menghancurkan alpha toksin dari *Clostridium perfringens* tipe A. Selain itu alpha toksin tidak akan diproduksi bila kondisi yang diperlukan seperti suhu tidak mencapai 37°C dan pH 6,5 (Labbe dan Duncan, 1974).

Penguahan diagnosa terhadap kerusakan (enteritis) yang ditimbulkan pada saluran pencernaan akibat infeksi sekunder juga telah dilakukan dengan pemeriksaan bakteriologi, yakni dengan mengisolasi bakteri dari kerokan usus ayam yang telah diberi perlakuan. Hasil yang diperoleh adalah ditemukannya bakteri bentuk batang, Gram positif dan dengan uji *Fluorescence Antibody Technique (FAT)*

positif *Clostridium perfringens*. Selain itu pada sediaan histopatologi usus ayam juga ditemukan bakteri bentuk batang pada vili usus yang mengalami nekrosa.

Pada kelompok VI dan VII, terlihat bahwa meskipun lesio patologi anatomi tidak mencapai derajat skor 3, akan tetapi lesio histopatologi mencapai derajat skor 4 dan 3. Hal ini bisa dimungkinkan oleh adanya peluang dari infeksi 'sekunder' isolat yang diberikan akan menimbulkan kerusakan setelah vaksin Koksidirosis diberikan sebelumnya. Koksidia yang masuk dalam saluran pencernaan akan menembus dinding usus dan akhirnya memudahkan bagi infeksi sekunder masuk dan menyebabkan penyakit pada ayam.

Berdasarkan gambaran tersebut dapat diduga, bahwa Koksidirosis berperan dalam kejadian Enteritis Necroticans pada ayam broiler.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, ditarik kesimpulan bahwa terdapat hubungan yang erat antara vaksinasi Koksidirosis dengan infeksi sekunder *Clostridium perfringens* tipe A sebagai penyebab terjadinya Enteritis Necroticans pada ayam broiler. Hal ini dapat ditunjukkan oleh :

1. Masing-masing kelompok perlakuan menunjukkan hasil berupa respon yang berbeda sangat nyata ($p < 0.01$) untuk terjadinya ke-

rusakan secara histopatologis, walaupun untuk kerusakan secara patologi anatomi menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($p < 0.05$).

2. Adanya infeksi sekunder yang mengikuti vaksinasi Koksidirosis mengakibatkan kerusakan pada saluran pencernaan (enteritis) ayam baik secara patologi anatomi maupun histopatologi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kerusakan patologi anatomi mempunyai hubungan yang erat dengan kerusakan histopatologi, dengan uji statistik korelasi peringkat diperoleh nilai r sebesar 78,6%.

Saran

Dengan gambaran yang diperoleh dalam penelitian, maka dapat disarankan bahwa program penggunaan vaksin Koksidirosis sudah sepatutnya digalakkan pada peternakan ayam ras komersial, diikuti dengan pemberian antibiotik untuk mencegah terjadinya infeksi sekunder disamping berfungsi sebagai pemicu pertumbuhan.

Kebersihan lingkungan kandang perlu ditingkatkan agar program vaksinasi berhasil dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Sheikhly, F., and R.B. Truscott. 1976. The Pathology of Necrotic Enteritis of Chickens Following Infusion of Broth Culture of *Clostridium perfringens* Into The Duodenum. *Avian Dis.* 21 (2) : 230--240.

- Al-Sheikhly, F., and A. Al-Saieq. 1979. Role of *Coccidia* in The Occurrence of Necrotic Enteritis of Chickens. *Avian Dis.* 24 (2) : 324-333.
- Anonimus. 1990. Textbook on Poultry Health Part II : Poultry Pathology. International Course on Poultry Husbandry. Ciawi-Bogor.
- Bains, B.S. 1968. Necrotic Enteritis of Chickens, *Aust. Vet. J.* 44 : 40.
- Carter, G.R. 1986. Essential of Veterinary Bacteriology and Mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Direktorat Jendral Peternakan. 1992. Evaluasi Tiga Tahun Pelita V Rencana Kegiatan TA. 1992/1993 dan Rancangan TA. 1993/1994 dalam Rakonteknas Direktorat Jendral Peternakan di Jakarta. Jakarta.
- Groves, P.J. 1986. Coccidiosis in Chickens, Turkey and Ducks. *Aust. Vet. Poult. Ass. Procc.* 92 : 361-383.
- Helmboldt, C.F., and E.S. Bryant. 1971. The Pathology of Necrotic Enteritis in Domestic Fowl. *Avian Dis.* 15 : 775-780.
- Labbe, R.G., and C.L. Duncan. 1974. Sporulation and Enterotoxin Production by *Clostridium perfringens* Type A under Condition of Controlled pH and Temperature. *Can. J. Microbiol.* 20 : 1493-1501.
- Long, J.R., and R.B. Truscott. 1976. Necrotic Enteritis in Broiler Chickens. III : Reproduction of The Disease. *Can. J. Comp. Med.* 40 : 53-59.
- Long, J.R. 1973. Necrotic Enteritis In Broiler Chickens. I : A Review of The Literature and The Prevalence of The Disease in Ontario. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 37 : 302-308.
- Long, P.L. 1983. Prospect For The Control of Coccidiosis by Immunization. *Aust. Vet. Poult. Ass. Procc.* 66 : 27-37.
- Maxey, B.W., and R.K. Page. 1977. Efficacy of Lincomycin Feed Medication for The Control of Necrotic Enteritis in Broiler-type Chickens. *Poultry Sci.* 56 : 1909-1913.
- Morton, N.S. 1980. Anaerobic Spore Forming Bacilli : The *Clostridium in* : Microbiology. 3rd Ed. Harper & Row pp. 712-722.
- Parish, W.E. 1961. Necrotic Enteritis in The Fowl (*Gallus gallus domesticus*) I : Histopathology of The Disease and Isolation of A Strain of *Clostridium welchii*. *J. Comp. Pathol.* 71 : 377-393.
- Reid, W.M., P.L. Long, and L.R. McDougald. 1984. Coccidiosis in : Disease of Poultry. 8th Ed. The Iowa State University Press. pp. 692-717.

Ruff, M.D., 1991. Interaction of Low Levels of Coccidiosis, Other Disease. *Poultry Digest*. 22 : 28-34.

Shane, S.M., J.E. Gyimah., K.S. Harrington, and T.G. Snider. 1985. Etiology and Pathogenesis of Necrotic Enteritis. *Vet. Res. Comm.* 9 : 269-287.

Tabel 1. Hasil Gambaran Makroskopis (PA) dan Mikroskopis (HP) Usus Ayam Broiler Berdasarkan Skor Lesio.

Kelompok	K	I	V	H a s i l (skor lesio)				
				0	1	2	3	4
				Jumlah ayam (ekor)				
I	-	-	-	7 (6)	3 (3)	1 (2)	1 (1)	0** (0)
II	-	+	-	2 (1)	7 (6)	0 (2)	1 (1)	0 (0)
III	+	-	-	6 (6)	5 (5)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
IV	-	-	+	3 (3)	8 (6)	1 (3)	0 (0)	0 (0)
V	+	+	-	1 (1)	8 (5)	4 (4)	0 (2)	0 (1)
VI	-	+	+	3 (1)	7 (3)	2 (4)	0 (1)	0 (3)
VII	+	-	+	2 (1)	7 (8)	2 (1)	1 (2)	0 (0)
VIII	+	+	+	1 (1)	7 (6)	4 (3)	0 (2)	0 (0)

Keterangan : ** skor lesio patologi anatomi
 () skor lesio histopatologi
 K = Koksidiostat
 I = Infeksi isolat kuman
 V = Vaksin Koksidiosis
 + = Diberikan
 - = Tidak diberikan