

Isolasi dan Identifikasi *Avibacterium paragallinarum* Dari Peternakan Ayam Komersial Layer Yang Menunjukkan Gejala Coryza

*Hanifah Hidayatullah, Pajriah Nurhasanah, Tegar Aprilian, Yeocelin Meida Utami,
Arini Nurhandayani

PT. Sanbio Laboratories Bogor,

*Penulis koresponden: hanifahidayatullah@gmail.com

Abstrak. Coryza (*Infectious Coryza*) merupakan penyakit respirasi bagian atas ayam yang disebabkan oleh *Avibacterium paragallinarum*. Kerugian utama yang ditimbulkan penyakit coryza adalah menurunnya produksi telur hingga 40% pada layer dan meningkatnya afkir dini pada broiler. Coryza sudah banyak dilaporkan menyerang unggas di Indonesia dan negara-negara lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi *A. paragallinarum* dari layer yang menunjukkan gejala coryza. Sampel diambil dari ayam yang menunjukkan gejala coryza yaitu eksudat dari nasal yang berbau khas, odema infraorbitalis dan kesulitan bernapas dari peternakan komersial layer di Parung, Palembang dan Kediri. Leleran nasal diambil dengan swab steril kemudian dikultur ke media plat agar coklat. Media diinkubasi selama 24 sampai dengan 48 jam pada temperatur 37°C dalam kondisi mikroaerofilik menggunakan sungkup lilin. Koloni yang diduga *A. paragallinarum* yaitu koloni transparan seperti tetes embun, dilakukan pengecatan Gram kemudian diuji biokimia yang meliputi uji katalase, uji oksidase, uji urease, uji indole, uji *O-Nitrophenyl-β-D-galactopyranoside* serta pengujian fermentasi karbohidrat. Hasil penelitian diperoleh sembilan isolat dari enam belas sampel yang digunakan (56%) teridentifikasi *A. paragallinarum*.

Kata Kunci: *Avibacterium paragallinarum*, *Infectious Coryza*, layer, coryza

I. PENDAHULUAN

Infectious Coryza merupakan penyakit yang menyerang sistem respirasi bagian atas ayam yang disebabkan oleh *Avibacterium paragallinarum*. *Avibacterium paragallinarum* [1] atau yang dahulu dikenal dengan nama *Haemophilus paragallinarum*, merupakan penyebab *infeksius coryza* (*snot*). Bakteri ini pertama kali dilaporkan oleh De Blicke (1932) dan diberi nama *Bacillus haemoglobinophilus coryzae gallinarum* [2]. Beberapa tahun kemudian, agen penyebab *coryza* diklasifikasikan sebagai *Haemophilus gallinarum* karena bakteri ini membutuhkan faktor X (haemin) dan V (nicotinamide adenine dinucleotide; NAD) untuk pertumbuhan *in vitro* [3]. Tahun 1962, Page melaporkan bahwa organisme yang diisolasi dari kasus *coryza* hanya membutuhkan faktor V, sehingga disebut sebagai *Haemophilus paragallinarum*. Properti kebergantungan bakteri terhadap NAD dipatahkan oleh Mouahid dkk yang menemukan strain *H. paragallinarum* yang tidak membutuhkan faktor V di Afrika Selatan pada tahun 1992 [4]. Penemuan serupa juga dilaporkan [5,6,7,8]. Reklasifikasi *H. paragallinarum* diajukan oleh Blackall pada tahun 2005 menjadi *Avibacterium paragallinarum* bersama *A. avium*, *A. gallinarum* dan *A. volantium* yang sebelumnya diklasifikasikan dalam genus *Pasteurella* [3].

Ayam segala umur dapat terserang coryza, namun kejadian penyakit paling sering terjadi pada ayam yang sudah dewasa [9]. Penyakit tersebut ditandai dengan adanya eksudat dari cavum nasal yang berbau khas, odema infraorbitalis, kesulitan bernapas dan bersin [2,9]. Kasus coryza terutama ditemukan pada saat pergantian musim atau selama periode curah hujan yang tinggi [10].

Penyakit ini sulit diberantas oleh karena faktor-faktor pendukung seperti ventilasi perkandangan kurang memadai, kepadatan kandang yang tinggi, kadar amoniak yang tinggi, umur ayam yang bervariasi dalam satu lokasi dan fluktuasi temperatur dan kelembapan yang cenderung tinggi [10]. Kerja antibiotik dalam membasmi bakteri penyebab coryza sering kali tidak memuaskan karena bakteri berada di sinus hidung yang memiliki sedikit pembuluh darah. Standar Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI) juga menilai protektivitas vaksin coryza tidak lebih dari 70%, karena kemampuan protektivitas silang antar serovarnya rendah. Kadar amoniak yang tinggi menjadi faktor predisposisi kejadian coryza baik di layer maupun broiler [11].

Kerugian ekonomi yang ditimbulkan akibat infeksi coryza pada ayam layer adalah lambatnya pertumbuhan di periode grower dan penurunan produksi telur pada layer sebesar 10% hingga 40% [2]. Penyakit ini meningkatkan afkir dini (*culling*) pada ayam broiler dikarenakan konsumsi pakan dan minum menurun sehingga ayam tidak dapat mencapai berat badan standar [2].

II. METODE DAN PROSEDUR

Penelitian ini menggunakan 25 sampel ayam yang menunjukkan gejala coryza di lapangan. Metode isolasi dan identifikasi yang dikerjakan adalah sebagai berikut :

Pengambilan Sampel (Isolasi Bakteri)

Sinus ayam yang menunjukkan gejala coryza ditekan hingga mengeluarkan eksudat, kemudian eksudat dikoleksi menggunakan swab steril. Swab yang sudah mengandung eksudat tersebut di usapkan ke permukaan plat agar coklat secara aseptis di dekat api bunsen dengan pola *T- metode*. Plat agar coklat yang telah ditanami diinkubasi dalam sungkup lilin (mikroaerofilik) selama 24 jam hingga 48 jam pada temperatur 37 °C.

Identifikasi Bakteri

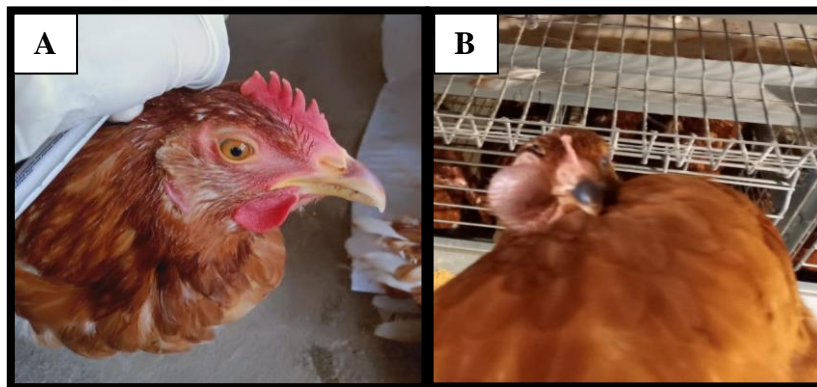
Morfologi koloni *A. paragallinarum* diamati setelah 24 jam hingga 48 jam inkubasi. Koloni *punctiform*, bertepi halus dan transparan diambil untuk dilakukan uji lanjut sebagai koloni dugaan *A.paragallinarum*. Identifikasi morfologi sel dilakukan dengan melakukan pengecatan Gram. Satu koloni terpisah dari koloni dugaan *A. paragallinarum* diambil dengan osa steril untuk dilakukan pengecatan Gram [2,12].

Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan terhadap koloni yang menunjukkan karakter morfologi koloni dan sel *A. paragallinarum*. Uji biokimia yang dilakukan antara lain uji katalase, uji oksidase, uji urease, uji indol dan uji fermentasi karbohidrat (arabinosa, galaktosa, maltosa, mannitol dan trehalosa).

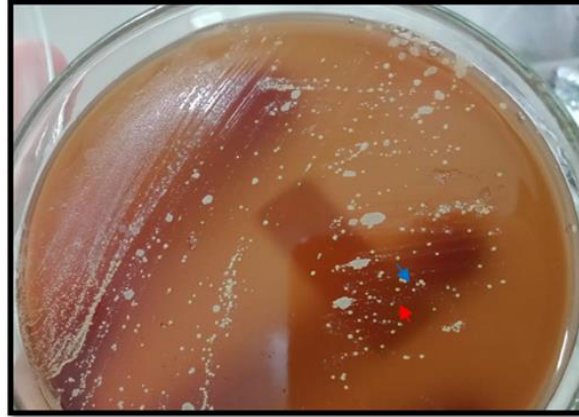
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Lima ekor ayam yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini menunjukkan gejala penyakit coryza berupa kebengkakan pada mata, leleran dari hidung, bersin dan ayam sering terlihat membuka paruhnya untuk bernapas (Fig. 1). Gejala paling awal adalah bersin, yang diikuti oleh adanya eksudat serus sampai mukoid dari rongga hidung ataupun mata [9,10]. Eksudat akan menjadi mukopurulen sampai purulent dan berbau busuk, kemudian akan menyebabkan kebengkakan di daerah sinus infraorbitalis jika proses penyakit berlanjut [9,10]. Gejala lain yang teramati adalah konjungtivitis dengan kelopak mata yang saling melekat, ngorok, dan terkadang dijumpai diare [12,13].



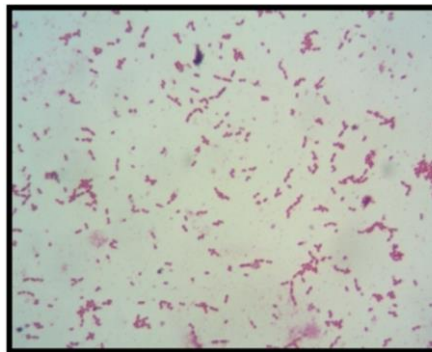
Gambar 1. Sampel ayam layer gejala ringan (A) dan sampel ayam layer gejala berat (B)

Hasil isolasi bakteri dari swab nasal memperlihatkan pertumbuhan koloni-koloni kecil transparan di dekat koloni-koloni berwarna kuning atau putih yang ukurannya lebih besar (Fig. 2). Koloni kecil transparan tersebut diduga merupakan koloni *A. paragallinarum* yang tumbuh berdekatan dengan *Staphylococcus sp.* [2]. *A. paragallinarum* memiliki kecenderungan untuk tumbuh berdekatan dengan *Staphylococcus sp.* di media kultur karena *A. paragallinarum* menggunakan faktor V yang dihasilkan oleh *Staphylococcus sp.* dalam pertumbuhannya. Berdasarkan karakter morfologi koloni dari 25 sampel ditemukan 9 koloni yang menunjukkan karakter *A. paragallinarum*.



Gambar 2. Hasil kultur bakteri dari leleran hidung isolasi pertama
 → = Koloni dugaan *Av. paragallinarum*
 → = Koloni dugaan *Staphylococcus sp.*

Sembilan koloni yang menjadi koloni dugaan *A. paragallinarum* dilanjutkan dengan pengecatan Gram. Bakteri dari koloni dugaan *A. paragallinarum* teramati berwarna merah setelah dicat Gram. Hasil ini menunjukkan bahwa *A. paragallinarum* merupakan bakteri Gram negatif (Fig.3) [2]. Morfologi sel dari dugaan *A. paragallinarum* teramati kokobasil, tidak berspora, tersusun tunggal, berpasangan, membentuk rantai ataupun bergerombol [14].



Gambar 3. Gambaran sel bakteri dugaan *A. paragallinarum* Gram negatif berbentuk kokobasil

Hasil pengujian sifat biokimia sembilan isolat dugaan *A. paragallinarum* menunjukkan hasil katalase negatif, oksidase negatif, urease negatif, indol negatif, *O-Nitrophenyl-β-D-galactopyranoside* (ONPG) negatif, memfermentasi maltosa dan mannitol. Sifat-sifat tersebut serupa dengan sifat *A. paragallinarum* [2].

Tabel 1. Hasil pengamatan pengujian koloni dugaan *A. paragallinarum*

Kode sampel	Morfologi		Sifat Biokimia									
	Koloni	Sel	K	O	U	O	ON	A	G	M	Mn	T
Pr. 4	Punctiform, halus, transparan	Gram negatif, kokobasil	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
P.1	Punctiform, halus, transparan	Gram negatif, kokobasil	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
P.2	punctiform, halus, transparan	Gram negatif, kokobasil	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
P.19	punctiform, halus, transparan	Gram negatif, kokobasil	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
K.1	punctiform, halus, transparan	Gram negatif, kokobasil	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
K.2	punctiform, halus, transparan	Gram negatif, kokobasil	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
K.4	punctiform, halus, transparan	Gram negatif, kokobasil	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
K.5	punctiform, halus, transparan	Gram negatif, kokobasil	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
K.6	punctiform, halus, transparan	Gram negatif, kokobasil	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-

Keterangan :

K : Katalase
A : Arabinosa

O : Oksidase
G : Galaktosa

U : Urease
M : Maltosa

I : Indole
Mn : Mannitol

ON : ONPG
T : Trehalosa

IV. KESIMPULAN

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tidak semua ayam yang menunjukkan gejala klinis coryza dapat terisolasi dan teridentifikasi *A. paragallinarum*. Sebanyak sembilan isolat (56%) *A. paragallinarum* berhasil diisolasi dari enam belas sampel ayam layer yang menunjukkan gejala coryza.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis memberikan ungkapan terima kasih yang besar kepada PT. Sanbio Laboratories yang telah mendukung dan memfasilitasi pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Blackall, P.J., Christensen, H., Beckenham, T., Blackall, L.L. dan Bisgaard, M. 2005. Reclassification of *Pasteurella gallinarum*, [*Haemophilus*] *paragallinarum*, *Pasteurella avium* and *Pasteurella volantium* as *Avibacterium gallinarum* gen. nov., comb. nov., *Avibacterium paragallinarum* comb. nov., *Avibacterium avium* comb. nov., and *Avibacterium volantium* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55, pp. 353-362.
- [2] Blackall, P.J. dan Soriano-Vargas, E. 2013. Chapter 20: Infectious Coryza and Related Bacterial Infections. Dalam: *Disease of Poultry, Edisi ke 13*, Swayne, D.E. (ed). John Wiley & Sons, India, pp. 859-873.
- [3] Blackall, P.J. dan Hinz, K. 2008. Chapter 11: Infectious Coryza and Related Disease. Dalam: *Poultry Disease, Edisi ke 6*, Pattison, M., McMullin, P.F., Bradbury, J.M. dan Alexander, D.J. (eds), pp. 155-159.
- [4] Mouahid, M., Bisgaard, M., Morley, A.J., Mutters, R. dan Mannheim, W. 1992. Occurrence of V-factor (NAD) Independent Strains of *Haemophilus paragallinarum*. *Veterinary Microbiology*, 31, pp. 363-368.
- [5] Horner, R.F., Bishop, G.C. dan Haw, C. 1992. An Upper Respiratory Disease of Commercial Chickens Resembling Infectious Coryza, but Caused by a V-factor Independent Bacterium. *Avian Pathology*, 21, pp. 421-427.
- [6] Miflin, J.K., Chen, X., Bragg, R.R., Welgemoed, J.M., Greyling, J.M., Horner, R.F. dan Blackall, P.J. 1999. Confirmation that PCR can be used to Identify NAD-dependent and NAD-independent *Haemophilus paragallinarum* Isolates. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* Vol. 66, pp. 55-57.
- [7] Bragg, R.R. 2002. Virulence of South African Isolates of *Haemophilus paragallinarum*. Part 2: Naturally Occuring NAD-independent Field Isolates. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 65, pp. 171- 175.
- [8] Garcia, A.J., Angulo, E., Blackall, P.J. dan Ortiz, A.M. 2004. The Presence of Nicotinamide Adenine Dinucleotide-independent *Haemophilus paragallinarum* in Mexico. *Avian Disease*, 48, pp. 425-429.
- [9] Charlton, B.R., Bermudez, A.J., Halvorson, D.A., Schrader, J.S., Newman, L.J., Sander, J.E. dan Wakenell, P.S. (eds). 2006. *Avian Disease Manual*. Edisi ke 6. American Association of Avian Pathologist, United States of America
- [10] Tabbu, C.R. 2000. *Penyakit Ayam dan Penanggulangannya, Volume 1 : Penyakit Bakterial, Mikal, dan Viral*. Yogyakarta: Kanisius.
- [11] Chukiatsiri, K. 2011. Virulence Factors of *Avibacterium paragallinarum* Isolated from Chickens in Thailand. *Dissertation*. Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulangkorn University.
- [12] Priya, P.M., Krishna, S.V., Dineshkumar, V. dan Mini, M. 2012. Isolation and Characterization of *Avibacterium paragallinarum* from Ornamental Birds in Thrissur, Kerala. *International Journal of Life Sciences Vol. 1, No. 3*, pp. 87-88.
- [13] Ali, M., Hossain, M.S., Akter, S., Khan, M.A.H.N.A. dan Hossain, M.M. 2013. Pathogenesis of Infectious Coryza in Chickens (*Gallus gallus*) by *Avibacterium paragallinarum* Isolate of Bangladesh. *The Agriculturist Vol. 11, No. 1*, pp. 39-46.
- [14] Tangkonda, E. 2013. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap *Avibacterium paragallinarum* yang Diisolasi dari Ayam Petelur Komersial yang Menunjukkan Gejala Snot. *Tesis*. Program Studi Magister Sain Veteriner Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.