

PERANAN *CAMPYLOBACTER JEJUNI* SEBAGAI BAKTERI PENYEBAB KEKERDILAN PADA AYAM BROILER

(The Role of *Campylobacter jejuni* as an Agent of Infectious Runting and Stunting Syndrome
in Broiler Chickens)

SUSAN M.N., M. POELOENGAN, L. PAREDE, T SYAFRIATI dan S. WAHYUWARDANI

Balai Penelitian Veteriner, PO 151, Bogor 16141

ABSTRACT

Infectious runting and stunting syndrome (IRSS) is a complex syndrome of young broiler chickens that characterised by markedly reduced live-weight and retarded feathering in a flock at about 2 weeks of age. *Campylobacter jejuni* has been shown to be present in birds with IRSS. Pathogenecity study of *C. jejuni* in 2 days old of broiler chickens caused diarrhoea after infection. Experimental study of stunting induction using *C. jejuni* and chicken anaemia virus (CAV) was done in 120 birds. Group I, chickens were infected with *C. jejuni* and CAV, Group II, chickens were infected with *C. jejuni* alone, and Group III as a normal control. The result showed that mean live-weight at 35 days post inoculation of treated chickens was lower than untreated chickens. The growth rate inhibition reached 23.4% in Group I and 7.3% in Group II with clinical signs was diarrhoea, retarded feathering (helicopter like) and paralyse. Reisolation of *C. jejuni* increased either Group I or Group II.

Key words: IRRS, pathogenecity, chickens, *C. jejuni*, CAV

ABSTRAK

Infectious runting and stunting syndrome (IRSS) adalah suatu sindroma kekerdilan pada ayam pedaging yang ditandai dengan rendahnya berat badan ayam dan gangguan pertumbuhan bulu pada umur 2 minggu. Bakteri *Campylobacter jejuni* diketahui selalu banyak ditemukan pada ayam penderita kekerdilan. Uji patogenitas *C. jejuni* pada ayam pedaging umur 2 hari menimbulkan diare pada anak ayam yang diinfeksi. Sebanyak 120 ekor DOC digunakan pada uji tular induksi kekerdilan dengan bakteri *C. jejuni* dan chicken anaemia virus (CAV). Kelompok I, ayam diinfeksi dengan *C. jejuni* dan virus CAV, kelompok II, ayam hanya diinfeksi dengan *C. jejuni* dan Kelompok III sebagai kontrol normal. Hasil uji tular menunjukkan bahwa rata-rata berat badan ayam percobaan umur 35 hari pada kelompok I dan II lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol (III), dengan laju hambatan pertumbuhan mencapai 23,4% (kelompok I) dan 7,3% (kelompok II). Gejala klinis yang muncul setelah diinfeksi agen bakteri dan virus *C. jejuni* bersama dengan virus CAV adalah diare, kelainan pertumbuhan bulu seperti helikopter dan kaki pengkor. Reisolasi *C. jejuni* meningkat sejalan dengan bertambahnya umur ayam baik pada ayam kelompok I maupun II

Kata kunci: Sindroma kekerdilan, patogenitas, *Campylobacter jejuni*, induksi IRSS, ayam kerdil, CAV

PENDAHULUAN

Kendala utama pada industri perunggasan di Indonesia adalah adanya berbagai wabah penyakit. Salah satu wabah penyakit yang akhir-akhir ini banyak dibicarakan dan menurunkan nilai ekonomi adalah sindroma kekerdilan. Sindroma kekerdilan pada ayam dikenal dengan berbagai nama yang berbeda seperti *malabsorption syndrome*, *infectious stunting syndrome (ISS)*, *broiler runting syndrome*, *pale bird*, dan *helicopter disease* (REYNOLDS, 1991). *ISS* pertama kali dilaporkan oleh OLSEN (1977) dan KOUWENHOVEN *et al* (1978a) pada ayam pedaging dan sekarang telah

menyebar keseluruh dunia. Sindrome kekerdilan ditandai dengan adanya tekanan pertumbuhan pada ayam yang mengakibatkan kerugian ekonomi yang signifikan pada industri ayam potong.

Kejadian kekerdilan pada ayam pedaging di Indonesia pernah dilaporkan oleh HAMID *et al.* (1996), dengan angka kejadian penyakit mencapai 20%. Gejala klinis sindroma kekerdilan pada ayam yang tampak berupa gangguan pertumbuhan yang nyata mulai umur 1 minggu pada satu flock. Ukuran badan ayam menjadi setengah atau bahkan kurang dari ukuran badan ayam umur 4 minggu. Kematian mungkin terjadi antara ayam umur 6 sampai 14 hari ditandai sebelumnya dengan minum berlebihan dan diare.

Berbagai macam virus dapat diisolasi dari kasus kekerdilan (FARMER dan TAYLOR, 1985; ROSENBERGER *et al.*, 1991), sehingga sulit untuk menentukan virus mana sebagai agen penyebab utama kekerdilan. Hasil penelitian sebelumnya secara elektron mikroskopi menunjukkan adanya partikel enterovirus akan tetapi belum dikarakterisasi peranannya dalam sindroma kekerdilan. Menurut CHETTLE *et al.* (1989) ada beberapa kemiripan antara ISS dan penyakit yang disebabkan oleh *chicken anaemia agent* tetapi tidak ada yang menunjukkan timbulnya terjadinya kerdil secara nyata (MARTLAND, 1989). Beberapa bakteri telah dilakukan uji postulat Koch oleh beberapa peneliti (KOUWENHOVEN *et al.*, 1983). Gejala klinis sindroma kekerdilan akan mudah terlihat bila terjadi infeksi sekunder oleh bakteri genus *Campylobacter* terutama *C. jejuni* (NEILL *et al.*, 1984), faktor stres dan agen immunosupresif seperti infeksi gumboro dan *chicken anaemia virus* (CAV) (ROSENBERGER *et al.*, 1975).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri *Campylobacter jejuni* dari ayam penderita kekerdilan dan mempelajari patogenitas serta patogenesisnya dalam menginduksi sindroma kekerdilan bersama-sama dengan agen virus CAV *retarded feathering*.

MATERI DAN METODE

Isolasi dan identifikasi *Campylobacter jejuni*

Isolasi dilakukan dengan cara menggerus bagian jejunum usus ayam kerdil secara aseptik dan kemudian ditambah larutan pepton secukupnya. Sebanyak 1ml dari larutan tersebut diinokulasikan ke media *Campylobacter selective broth* (Preston, Oxoid) yang telah ditambah 5% darah kuda lisis. Kultur diinkubasikan selama 1 hari pada suhu 42⁰C pada kondisi mikroaerofilik (O₂ 5%, CO₂ 10% dan N₂ 85%) dengan menambahkan *gas generating kit* untuk *Campylobacter* (Oxoid) ke dalam *jar*. Kultur dari broth ditumbuhkan pada media *campylobacter selective agar* (Preston, Oxoid) yang telah ditambah 5% darah kuda lisis dan diinkubasikan 1-2 hari pada suhu 42⁰C (O₂ 5%, CO₂ 10% dan N₂ 85%). Koloni yang tumbuh diidentifikasi secara biokimia untuk menentukan spesiesnya.

Uji patogenitas *C. jejuni* pada anak ayam

Uji patogenitas *C. jejuni* dilakukan pada anak ayam umur 2 hari dengan menggunakan 3 isolat lapang (7a, 9 dan 2) yang diisolasi dari usus ayam kerdil. Sebanyak 100 ekor *day old chicks* (DOC) pedaging (Hubbard) dibagi menjadi 10 kelompok terdiri atas 9 kelompok perlakuan dan satu kelompok kontrol. Dosis *C. jejuni* yang dicekockkan adalah 10⁹ *colony forming unit* (CFU) dengan pengenceran 10⁰, 10⁻², 10⁻⁴ untuk setiap isolat yang di uji. Parameter yang diamati adalah gejala klinis berupa terjadinya diare dan depresi pada anak ayam yang diinfeksi.

Uji tular induksi kekerdilan

Uji tular untuk induksi kekerdilan dilakukan pada 120 ekor DOC pedaging (Hubbard) yang dibagi dalam 3 kelompok termasuk kontrol, dengan memakai 1 isolat virus CAV yang diisolasi dan ayam kerdil dan 1 isolat *C. jejuni* patogen. Kelompok I diinfeksi secara oral dengan 0,2 ml *C. jejuni* (10^8 CFU) dan secara subkutan dengan 0,5 ml isolat virus. Kelompok II diinfeksi secara oral dengan 0,2 ml *C. jejuni* saja dengan dosis 10^8 CFU dan Kelompok HIII sebagai kontrol. Pakan (BR1 dan BR2) dan minum (air ledeng) diberikan secara *ad libitum*. Pengamatan dilakukan pada hari ke 3, 5, 7, 14, 21, 28 dan 35. Parameter yang diamati adalah gejala klinis, berat badan selama 35 hari dan reisolasi bakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan identifikasi *C. jejuni*

Sebanyak 40 sampel usus ayam kerdil dan lapang yang dikultur diperoleh 10 isolat *Campylobacter* spp. Koloni *Campylobacter* spp. berbentuk halus, berwarna abu-abu sampai krem dan non-hemolitik, dengan pengecatan fuhsin terlihat Gram-negatif berbentuk huruf S, koma sampai spiral. Setelah di subkultur, hanya 3 isolat yang diidentifikasi secara biokimia sebagai *C. jejuni*, yaitu isolat lapang 7a, 9 dan 2. Isolat diinterpretasikan sebagai *C. jejuni* jika hasil uji oksidase positif; catalase positif reduksi nitrat, tidak menfermentasi dan mengoksidasi glukosa, memproduksi H_2S , menghidrolisa hipurat dan tumbuh pada suhu $42^{\circ}C$ (COWAN, 1974).

Uji Patogenitas *C. jejuni* pada anak ayam

Isolat *C. jejuni* diperoleh dari hasil isolasi organ usus dari sampel ayam kerdil di lapangan. Gejala klinis yang diamati pada uji patogenitas *C. jejuni* pada anak ayam adalah timbulnya diare, seperti terlihat pada Tabel 1. Diare timbul pada hari ke-2 setelah diinfeksi bakteri dan terus berlanjut sampai pada hari ke-10. Ketiga isolat lapang yang di uji patogenitasnya semua mengakibatkan terjadinya diare pada anak ayam. Berdasarkan jumlah anak ayam yang menderita diare terlihat bahwa isolat lapang 2 adalah yang paling patogen karena paling banyak menimbulkan diare pada anak ayam dibandingkan dengan isolat lapang 7a dan 9.

Tabel 1. Patogenitas isolat/galur *C. jejuni* terhadap anak ayam

No. Isolat <i>C. jejuni</i>	Enceran kultur	Banyaknya anak ayam yang diare sesudah diinfeksi <i>C. jejuni</i> pada hari ke									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Lapang 7a	10^0	0	2	3	3	4	4	4	4	4	3
	10^{-2}	0	4	4	4	4	3	3	3	3	1
	10^{-4}	0	2	2	2	4	5	5	5	5	4
Lapang 9	10^0	0	2	2	2	4	3	2	2	2	1
	10^{-2}	0	2	2	4	4	3	3	3	3	1
	10^{-4}	0	2	2	3	4	4	5	5	5	3
Lapang 2	10^0	0	2	3	6	7	7	7	7	6	5
	10^{-2}	0	1	2	2	3	3	3	3	3	2
	10^{-4}	0	1	2	3	7	7	5	5	5	2
Kontrol		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Ayam yang diinfeksi *C jejuni* pada enceran yang paling rendah (10^0 cfu) menunjukkan adanya kelainan pertumbuhan bulu seperti helikopter sebanyak 2 ekor pada isolat 7a, 1 ekor pada isolat 9 dan 2 ekor pada isolat 2.

Hasil reisolasi bakteri setelah uji patogenitas dilakukan pada 33 sampel usus dan dapat diisolasi sebanyak 13 isolat *C jejuni*. Penyimpanan isolat dilakukan dalam media cair Brucella broth ditambah 5% glicerol dan disimpan pada suhu -70°C untuk mempertahankan viabilitasnya.

Uji tular induksi kekerdilan

Uji tular dilakukan pada ayam pedaging di laboratorium bersama-sama dengan agen virus CAV. Gejala klinis ayam yang diinfeksi bakteri *C. jejuni* dan virus adalah diare, kelainan pertumbuhan bulu (helikopter) dan kaki pengkor.

Hasil pengamatan berat badan ayam percobaan pada uji tular di laboratorium dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata berat badan ayam percobaan pada uji tular percobaan kekerdilan pada ayam pedaging

Umur ayam (hari)	Rata-rata berat badan ayam (gram/ekor)		
	I (n=40)	II (n=40)	III (n=40)
2	43	43	43
5	80	95	92
7	130	135	128
9	180	151	177
14	350	444	539
21	750	759	763
28	1225	1156	1206
35	1280	1546	1670

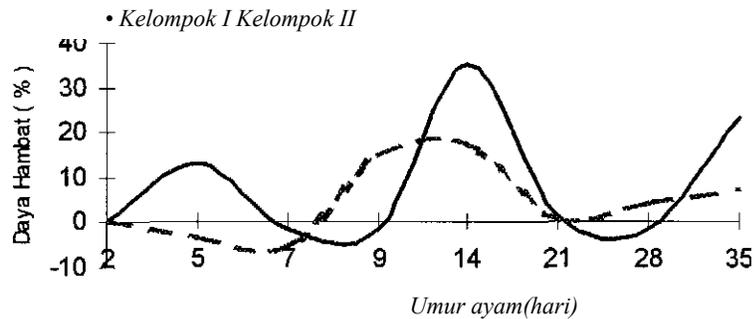
Keterangan: I. Infeksi *C. jejuni* dan virus CAV

II. Infeksi *C. jejuni*

III. Kontrol

Rata-rata berat badan ayam percobaan yang diinfeksi *C. jejuni* dan virus CAV pada akhir penelitian, lebih rendah dibandingkan kelompok ayam kontrol. Pada ayam Kelompok I yang diinfeksi dengan *C. jejuni* dan virus CAV mencapai 1280 gram, Kelompok II mencapai 1546 gram dan Kelompok III mencapai 1670 gram. Laju hambat pertumbuhan berat badan ayam percobaan Kelompok I pada akhir penelitian (35 hari) mencapai 23,4%, sedangkan Kelompok II mencapai 7,3% (Gambar 1).

Pada Gambar 1, terlihat bahwa laju hambat pertumbuhan berat badan ayam setelah infeksi paling tinggi terlihat ketika ayam berumur 14 hari pada kelompok I, sedangkan kelompok II mulai umur 9 hari.



Gambar 1. Daya hambat pertumbuhan berat badan ayam

Gejala klinis berupa kelainan pertumbuhan bulu seperti helikopter, diare dan kaki pengkor tampak pada ayam Kelompok I dan II (Tabel 3), Pada ayam kelompok II (diinfeksi *C. jejuni* saja) persentase kejadian diare dan bulu helikopter sangat tinggi, sebagian ayam mengalami diare dan juga kelainan bulu helikopter.

Tabel 3. Persentase ayam sakit dengan gejala klinis berupa kelainan bulu helikopter, kaki pengkor dan diare

Gejala klinis	Jumlah ayam yang sakit (%)	
	I	II
Bulu helikopter	30	45
Diare	25	50
Kaki pengkor	15	15

Keterangan: I. Infeksi *C. jejuni* dan virus
II. Infeksi *C. jejuni*

Gambaran patologi anatomi usus ayam yang diinfeksi *C. jejuni* dan virus tampak mengalami dilatasi dan penuh dengan makanan yang tidak terabsorpsi. Secara histopatologik terjadi degenerasi dan nekrosis *enterosit* di dalam kript Lieberkuhn. Terjadi infiltrasi sel-sel limfosit dan makrofag di dalam lamina propia dan beberapa makrofag terlihat piknotik. Selain itu terlihat sel goblet mengalami pembengkakan.

Isolasi kembali *C. jejuni* dari sample usus ayam setelah uji tular baru bisa dilakukan sampai pada hari ke-14 setelah infeksi. Hasil reisolasi menunjukkan bahwa *C. jejuni* dapat diisolasi mulai hari ke-3. Jumlah ayam yang positif terhadap *C. jejuni* semakin meningkat dengan bertambahnya umur ayam pada ayam percobaan kelompok I dan II. Hasil reisolasi *C. jejuni* setelah uji tular dapat dilihat pada Tabel 4 di bawah ini.

Tabel 4. Reisolasi *C. jejuni* dari usus ayam setelah uji tular

Umur ayam (hari)	Jumlah ayam yang positif terhadap <i>C. jejuni</i>	
	I	II
3	1/5	0/5
5	3/5	2/5
7	5/5	4/5
14	5/5	4/5
21	5/5	5/5
28	5/5	5/5
35	5/5	5/5

Keterangan: I. Infeksi *C. jejuni* dan virus CAV
II. Infeksi *C. jejuni*

Uji patogenitas *Campylobacter jejuni* yang diisolasi dari sample usus ayam kerdil dari lapangan pada anak ayam menimbulkan gejala klinis diare mulai pada hari ke-2 setelah infeksi (Tabel 1). Infeksi *C. jejuni* pada anak ayam tidak menimbulkan kematian karena bakteri ini bersifat komensal di dalam usus ayam dewasa, hanya saja bakteri ini biasanya mulai mengkolonisasi usus ayam setelah ayam berumur 14 hari dan terus permanen sampai ayam dewasa. Dalam hal ini justru yang perlu menjadi pertimbangan adalah dari segi keamanan pangan karena tingginya kolonisasi *C. jejuni* dalam saluran pencernaan akan mempengaruhi tingkat kontaminasi karkas ayam. Beberapa ayam yang diinfeksi bakteri dengan pengenceran terendah (10^0 CPU) mengalami kelainan pertumbuhan bulu seperti helikopter, hal ini perlu dipelajari lebih lanjut.

Uji tular *C. jejuni* patogen bersama agen virus untuk menginduksi sindroma kekerdilan pada anak ayam di laboratorium mempengaruhi berat badan ayam. Rata-rata berat badan ayam pada kelompok I dan II (Tabel 2) tampak lebih rendah bila dibandingkan ayam kelompok kontrol. Rendahnya berat badan ayam ini tampak sangat nyata pada waktu ayam umur 14 hari dan 35 hari. Laju hambat pertumbuhan mencapai 23,4% pada Kelompok I dan 7,3% pada Kelompok II. Hal ini dapat dikatakan bahwa infeksi bakteri *C. jejuni* bersama virus CAV maupun *C. jejuni* saja pada anak ayam dapat menginduksi terjadinya kerdil. Gambar 1 menunjukkan bahwa pengaruh laju hambat pertumbuhan terlihat tertinggi ketika ayam umur 14 hari. Hasil ini sesuai dengan pendapat para pakar bahwa sindroma kekerdilan pada ayam mengakibatkan ukuran badan ayam menjadi setengah atau bahkan kurang dari ukuran badan ayam umur 4 minggu. Kematian mungkin terjadi antara ayam umur 6 sampai 14 hari ditandai sebelumnya dengan minum berlebihan dan diare.

Gejala klinis yang tampak setelah ayam diinfeksi bakteri dan virus adalah diare, kelainan pertumbuhan bulu dan kaki pengkor (Tabel 3). Menurut NEILL *et al.* (1985), gejala klinis sindroma kekerdilan akan mudah terlihat bila terjadi infeksi sekunder oleh bakteri genus *Campylobacter* terutama *C. jejuni*, faktor stres dan agen immunosupresif seperti infeksi Gumboro dan CAV (ROSENBERGER *et al.*, 1975). Tingginya persentase diare pada ayam yang diinfeksi ini kemungkinan yang mempengaruhi laju pertumbuhan berat badan ayam sehingga berat badan ayam cenderung lebih rendah bila dibandingkan dengan ayam kontrol.

Isolasi kembali bakteri *C. jejuni* dari sample usus setelah uji tular menunjukkan jumlah ayam yang positif terhadap *C. jejuni* terlihat mulai hari ketiga pasca infeksi dan terus meningkat sesuai dengan bertambahnya umur ayam baik pada ayam Kelompok I maupun II seperti tampak pada Tabel 4. Hal ini juga menjadi pertimbangan untuk kesehatan manusia (*food-borne diseases*) yang mengkonsumsi daging ayam karena bakteri *C. jejuni* dapat mengakibatkan terjadinya gastroenteritis.

Patogenesis atau jalannya penyakit ini kemungkinannya adalah sebagai berikut: Adanya agen bakteri bersama-sama agen virus akan menyebabkan terjadinya kerusakan/lesi pada usus yang mengakibatkan malabsorption/maldigestion akibatnya terjadi gangguan pertumbuhan. Kerusakan usus yang terus menerus mengakibatkan naiknya alkaline phosphatase dalam serum serta menurunkan carotenoid dan vitamin A, D, E serum yang berakibat terjadinya deformasi tulang dan lesi pada pankreas.

KESIMPULAN

C. jejuni bersifat patogen pada anak ayam mengakibatkan diare dan menghambat pertumbuhan berat badan ayam dengan laju hambatan pertumbuhan mencapai 7,3%. *C. jejuni* bersama-sama dengan agen virus dapat menginduksi terjadinya kekerdilan pada ayam percobaan dengan laju

hambat pertumbuhan mencapai 23,4%, ayam terlihat diare, terjadi kelainan pertumbuhan bulu seperti bulu helikopter serta kaki pengkor.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan pada saudara-saudara Supartono dari Departemen Bakteriologi, Kusmaedi dari Departemen Virologi dan Mulyadi dari Departemen Patologi Balai Penelitian Veteriner yang telah membantu dalam penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- COWAN, S.T. 1974. Manual for the Identification of Bacteria. Cambridge Univ. Press. United Kingdom.
- CHETTLE, N.J, R.K. EDDY, P.J. WYETH and L.A. LESTER. 1989. An outbreak of disease due to chicken anaemia agent in broiler chickens in England. *Vet. Rec.* 124:211-215.
- FARMER, A. and J. TAYLOR. 1985. Infectious stunting syndrome: The isolation of a novel virus. *Vet. Rec.* 116:111
- HAMID, H, E. MARTINDAH dan G. TJAHYOWATI. 1996. Laporan kunjungan tim Balitvet dan BPPH IV Yogyakarta pada penyelidikan kekerdilan pada ayam strain Arbo Acres.
- KOUWENHOVEN, B, M.H. VERTOMMEN and J.H.H. VAN ECK. 1978A. Runting and leg weakness in broilers; involvement of infections factors. *Vet, Sci. Corn.* 1:253-259.
- KOUWENHOVEN, B., M.H. VERTOMMEN and E. GOREN. 1983. Runting and stunting syndrome in broilers; the diseases with many names and faces. *Disease Prevention of Control in Poultry Production*, pp 73-79. Postgraduate Foundation in Veterinary Science. University of Sydney.
- MARTLAND, M.F. 1986. Advances in stunting and runting syndrome research. *In*. *Progress in Veterinary Microbiology and Immunology*. Vol. 5. Nononcogenic avian viruses, pp. 109-133. Edited by Pandey R. Basel: Karger.
- NEILL, S.D., J.N. CAMPBELL, and J.A. GREENE 1984. *Campylobacter* species in broiler chickens. *Avian Pathol.*, 13: 777-785.
- OLSEN, D.E. 1977. Isolation of a reovirus-like agent from broiler chicks with diarrhoea and stunting. *Proceeding of the 26th Western Poultry Disease Conference*, Davis, California. Pp, 131-139.
- REYNOLDS, D.L. 1991. viral enteric infections. *In*: *Disease of Poultry*. 9th ed. Edited by CALNECK, B.W., H.J. BARNES, C.W. BEARD, W.M. REID and H.W. YODER, JR. P 236-246. Ames, Iowa State University Press.
- ROSENBERGER, J.K., S. KLOPP, R.J. ECKROADE, W.C. KRAUSS. 1975. The role of the infectious bursal agent and several avian adenovirus in the hemorrhagic aplastic anemia syndrome and gangreneous dermatitis. *Avian Dis.* 19: 717-729.
- ROSENBERGER, M.D. and N.O. OLSON. 1991. Reovirus infections. *In*: *Disease of Poultry* 9th ed. Edited by CALNECK, B.W., H.J. BARNES, C.W. BEARD, W.M. REID and H.W. YODER, JR. P 639-647. Ames, Iowa State University Press.