

**CO-INFECTION OF NEWCASTLE DISEASE, COCCIDIOSIS, AND
COLISEPTICEMIA IN BROILER CHICKEN: CASE STUDY**

**Studi Kasus: Infeksi Bersamaan Newcastle Disease, Koksidiosis dan Colisepticemia
Pada Ayam Broiler**

**Adi Setiawan^{1*}, Tjokorda Sari Nindhia², Ida Bagus Made Oka³, Yeocelin Meida
Utami⁴, I Made Kardena⁵**

¹Mahasiswa Pendidikan Profesi Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

²Laboratorium Virologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

³Laboratorium Parasitologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

⁴Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

⁵Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

Corresponding author email: adisetiawan01@student.unud.ac.id

How to cite: Setiawan A, Nindhia TS, Oka IBM, Utami YM, Kardena IM. 2025. Co-infection of newcastle disease, coccidiosis, and colisepticemia in broiler chicken: case study. *Bul. Vet. Udayana*. 17(6): 2058-2077. DOI: <https://doi.org/10.24843/bulvet.2025.v17.i06.p28>

Abstract

Newcastle disease (ND), coccidiosis, and colisepticemia are major infectious diseases in broiler chickens that can lead to high economic losses due to increased morbidity and mortality. The subject of this case study is a 28-day-old broiler chickens from one of the closed house farms in Pering Village, Blahbatuh District, Gianyar Regency, Bali. This case study aims to establish a diagnosis based on medical history, epidemiological data, clinical symptoms, anatomical pathology, histopathology, and laboratory test results. Clinical symptoms of the affected chickens included subcutaneous emphysema, feather loss covering nearly two-thirds of the abdominal and chest areas, feather loss, decreased appetite over the past four days, sneezing, watery diarrhea mixed with green and white mucus, blackened comb tips, and clear yellow exudate from the nasal cavity. Epidemiological survey results showed a morbidity rate of 2.6%, a mortality rate of 1.8%, and a case fatality rate (CFR) of 71%. Pathological anatomy examination results indicated that nearly all organs showed hemorrhage, with some organs exhibiting enlargement, white spots, and soft consistency. Similar findings were observed in histopathology, with nearly all organs showing inflammatory changes characterized by lymphocyte, neutrophil, macrophage infiltration, hemorrhage, necrosis, and edema. Hemagglutination (HA) testing showed a titer of 2³ HAU, while hemagglutination inhibition

(HI) testing was confirmed the presence of ND virus. Bacterial culture result of organ samples using Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) medium was positive result for *Escherichia coli*, and fecal examination identified *Eimeria* spp. Therefore, it was concluded that the infected chickens were diagnosed with Newcastle disease, coccidiosis, and colisepticemia. These multiple infections contributed to the severity of clinical signs and high case fatality, highlighting the need for effective prevention and biosecurity measures.

Keywords: Broiler chicken, coccidiosis, colisepticemia, Newcastle Disease

Abstrak

Newcastle Disease (ND), koksidirosis, dan koliseptikemia merupakan penyakit menular utama pada ayam broiler yang dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang tinggi karena meningkatnya morbiditas dan mortalitas. Objek studi kasus ini adalah seekor ayam broiler berusia 28 hari dari salah satu peternakan close house di Desa Pering, Kecamatan Blahbatuh, Kabupaten Gianyar, Bali. Studi kasus ini bertujuan menegakkan diagnosis berdasarkan anamnesa, tanda klinis, data epidemiologi, patologi anatomi, histopatologi, dan hasil pemeriksaan laboratorium. Gejala klinis ayam kasus menunjukkan tubuh menggelembung seperti balon, hilangnya bulu hampir 2/3 pada bagian abdomen dan thorax, bulu rontok dan kusum, penurunan nafsu makan 4 hari lalu, bersin, diare berlendir cair berwarna hijau bercampur putih, ujung jengger berwarna kehitaman, serta terdapat eksudat serous berwarna kuning dari cavum nasal. Hasil data epidemiologi menunjukkan morbiditas 2,6%, mortalitas 1,8%, dan case fatality rate (CFR) 71%. Hasil pemeriksaan patologi anatomi menunjukkan hampir semua organ mengalami perdarahan disertai beberapa beberapa organ ditemui pembesaran, white spot, dan konsistensi lunak. Hal serupa juga terdapat pada histopatologi menunjukkan hampir semua organ menunjukkan perubahan berupa peradangan dengan infiltrasi sel limfosit, neutrofil, makrofag, hemoragi, nekrosis, dan edema. Hasil pemeriksaan uji hemaglutinasi assay (HA) didapatkan titer 2^3 HAU, sedangkan hemaglutinasi inhibisi (HI) positif Newcastle disease. Hasil Kultur bakteri pada sampel organ dengan media Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) positif *Escherichia coli*, dan terakhir pemeriksaan feses teridentifikasi *Eimeria* spp. Sehingga disimpulkan bahwa ayam kasus didiagnosa menderita newcastle disease, koksidirosis, dan koliseptisemia. Berbagai infeksi ini berkontribusi pada tingkat keparahan dari gejala klinis dan kematian yang tinggi, sehingga menyoroti perlunya tindakan pencegahan dan biosekuriti yang efektif.

Kata kunci: Ayam broiler, colisepticemia, Newcastle Disease, koksidirosis

PENDAHULUAN

Protein hewani memegang peran penting sebagai penyuplai gizi seimbang yang dapat dihasilkan dari ternak unggas yaitu ayam broiler. Menurut Badan Pangan Nasional (2024), tingkat konsumsi daging ayam broiler masyarakat Indonesia mencapai 7,46 kg/kapita/tahun. Level konsumsi tersebut naik 4,3% dibandingkan dengan tahun 2022 (year-on-year). Dari tingginya kebutuhan tersebut, terdapat ancaman penyakit viral yang serius bagi industri peternakan salah satunya Newcastle disease (ND) karena bersifat endemik, menular, dapat menimbulkan gejala subklinis dengan tingkat kematian 100%, dan menduduki peringkat teratas penyebab kerugian. Meskipun upaya vaksinasi telah dilakukan secara ekstensif, wabah ND dapat terus terjadi (Hassanzadeh *et al.*, 2024). ND disebabkan oleh virus Avian Paramyxovirus type-1 (APMV-1), beramplop, tidak bersegmen, merupakan genom RNA untai tunggal yang mengkode enam protein, bersifat akut sampai kronis, dan menyerang semua jenis unggas (Komang *et al.*, 2021; Kencana *et al.*, 2017; ; OIE, 2012). Pada ayam, gejala ND meliputi hilangnya nafsu makan, lesu, penurunan produksi telur disertai cangkang lunak cacat, radang trakea dan radang konjungtiva, haus yang tidak normal, air sacculitis, bersin, terengah-engah,

keluarnya cairan dari hidung, batuk, diare berair kehijauan, kelumpuhan sayap dan/atau kaki, serta memutar kepala leher atau kelumpuhan total (Ashraf and Shah, 2014; Bhaiyat *et al.*, 1994). Berdasarkan virulensinya, virus ND dikelompokkan menjadi 3 galur yaitu: velogenik (sangat virulen), mesogenik (virulen menengah), dan lentogenik (avirulen) (Al-Habeeb *et al.*, 2013).

Prevalensi ND dapat terus berlanjut pada ayam disebabkan salah satunya karena penyakit immunosupresif bersamaan sebagai patogen primer maupun sekunder dari infeksi koksidiosis dan koliseptisemia. Koksidiosis atau berak darah merupakan penyakit parasitik yang disebabkan oleh protozoa dari genus *Eimeria spp.*, pada saluran pencernaan. Penyakit ini dapat merusak organ sehingga mengurangi efisiensi penyerapan pakan, memperlambat pertumbuhan berat badan, menurunkan daya tahan tubuh, meningkatnya biaya pengobatan, upah tenaga kerja, dan sampai mengakibatkan kematian dari 20-50% hingga 80% apabila terjadi wabah (Abebe *et al.*, 2018; Djara *et al.*, 2020; Ekawasti dan Martindah, 2019; Tabbu, 2006). Beberapa spesies *Eimeria* dapat menginfeksi ayam diantaranya *Eimeria acervulina*, *Eimeria brunetti*, *Eimeria maxima*, *Eimeria mitis*, *Eimeria mivati*, *Eimeria necatrix*, *Eimeria praecox*, *Eimeria tenella*, dan *Eimeria hagani* (Barta, 2006), tetapi spesies yang paling patogen adalah *Eimeria tenella* dan *Eimeria necatrix* (Cahyaningsih *et al.*, 2007). Koliseptikemia merupakan penyakit yang disebabkan oleh Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) terdiri dari *Escherichia coli* dengan strain O1, O2, dan O78 yang dilaporkan sebagai patogen (Guambira *et al.*, 2015; wahyuwardani *et al.*, 2014). Penyakit ini dapat menyebabkan kerugian ekonomi akibat menurunnya produksi, bertambahnya biaya pengobatan, dan bahkan kematian.

Berdasarkan latar belakang di atas, studi kasus ini bertujuan membahas ayam broiler berumur 28 hari yang terkena ND, koksidiosis, dan koliseptikemia yang berasal dari salah satu peternakan close house di Desa Pering, Kecamatan Batuhluah, Kabupaten Gianyar, Provinsi Bali. Penegakan diagnosa didasarkan melalui anamnesa, data epidemiologi, tanda klinis, patologi anatomi, histopatologi, dan hasil pemeriksaan laboratorium. Penyakit ini sudah banyak diteliti secara individual, tetapi laporan kasus secara bersamaan masih jarang dilaporkan. Keberadaan infeksi multipatogen ini menyebabkan sulitnya mendiagnosa dan penanganan yang cepat, sedangkan penyakitnya akan progresif. Oleh dari itu, laporan ini memberikan pemahaman pola klinis, lesi patologis, dan hasil di laboratorium pada kasus di lapangan. Hasil dari studi ini diharapkan dapat memberikan informasi diagnostik yang lebih akurat dan menjadi dasar dalam pengambilan keputusan untuk pencegahan dan pengendalian penyakit multipatogen di peternakan unggas.

METODE PENELITIAN

Objek Penelitian dan Epidemiologi

Objek penelitian menggunakan ayam broiler dengan nomor protokol 138/N/25. Pengumpulan data berupa sinyalemen, anamnesis, tanda klinis, dan data epidemiologi hewan kasus dengan observasi dan wawancara dengan pengelola kandang. Perhitungan angka morbiditas, mortalitas, dan *Case Fatality Rate* (CFR) menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Morbiditas} = \frac{\text{Jumlah Hewan Sakit}}{\text{Jumlah Populasi}} \times 100\%$$

$$\text{Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah Hewan Mati}}{\text{Jumlah Populasi}} \times 100\%$$

$$\text{Case Fatality Rate} = \frac{\text{Jumlah Hewan Mati}}{\text{Jumlah Hewan Sakit}} \times 100\%$$

Pemeriksaan Patologi Anatomi dan Histopatologi

Prosedur nekropsi ayam kasus dilaksanakan di Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, untuk diamati perubahan secara patologi anatomi. Selanjutnya dilakukan pengamatan, pengambilan gambar, dan pengambilan sampel pada organ yang mengalami perubahan patologi anatomi. Hasil dari gambar sampel tersebut kemudian dideskripsikan perubahan yang terjadi. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Preparat yang telah dibuat diamati di bawah mikroskop untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi.

Isolasi Virus

Tahapan isolasi virus dimulai dengan penyiapan atau pembuatan inokulum. Inokulasi suspensi sampel dilakukan pada media isolasi berupa telur ayam bertunas (TAB) dan selanjutnya dilakukan pengamatan pascainokulasi.

Pembuatan inokulum sampel diambil dari organ-organ yang mengalami perubahan pada patologi anatomi. Masing-masing organ digerus sambil ditambahkan dengan *Phosphate Buffered Saline* (PBS). Sampel selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 2.500 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan supernatan. Supernatan sebanyak 0,8 mL dimasukkan ke tabung eppendorf baru serta 0,2 mL antibiotik penisilin dan streptomycin ditambahkan ke dalam sampel untuk menginaktivasi bakteri. Selanjutnya campuran antibiotik dan inokulum dihomogenkan seperti membentuk angka delapan. Inkubasikan selama 30 menit ke dalam inkubator dengan suhu 37°C.

Penanaman Inokulum pada TAB dilakukan secara *in vivo* pada TAB yang berumur 9 hari. Inokulasi dilakukan dengan menyuntikkan inokulum dengan tubulin syringe 1 mL ke dalam ruang alantois dengan dosis 0,2 mL per butir telur, kemudian tutup lubang pada cangkang telur dengan menggunakan kuteks. Telur diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°C dan diamati setiap hari.

Pemanenan TAB pascainokulasi dilakukan dengan koleksi cairan alantois setelah diinkubasikan dalam inkubator selama 2 hari pada suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan *chilling* untuk mengurangi pendarahan saat pembukaan cangkang telur. Ambil cairan alantois dengan mikropipet lalu masukkan ke dalam tabung eppendorf. Simpan dalam lemari es hingga pengujian dilakukan.

Identifikasi Virus

Pembuatan eritrosit 1% dengan mengambil darah ayam sebanyak 3 mL pada vena brachialis menggunakan disposable syringe 3 mL. Darah ditampung pada tabung steril yang berisi antikoagulan alselver. Eritrosit ayam dicuci menggunakan PBS kemudian disentrifuge. Pisahkan supernatan hingga yang tersisa adalah endapan eritrosit. Proses pencucian dilakukan sebanyak 3 kali. Endapan eritrosit diukur konsentrasinya menggunakan mikropipet kemudian di sentrifugasi. Lakukan penghitungan *packed cell volume* (PCV) dan encerkan dengan PBS hingga konsentrasi menjadi 1%

Uji hemaglutinasi assay (HA) teknik mikrotiter merupakan uji untuk mendeteksi keberadaan virus yang mengaglutinasi. Metode Uji HA menggunakan plat mikro “U” 96. Sebanyak 0,025 mL PBS ditambahkan ke setiap sumuran 1-12. Kemudian 0,025 mL antigen virus ditambahkan pada sumuran pertama dan kedua. Pengenceran berseri berkelipatan dua dimulai dari sumuran ke-2 sampai sumuran ke-11, kemudian pada sumuran ke-12 suspensi dibuang. Sebanyak 0,025 mL PBS ditambahkan ke dalam setiap sumuran plat mikro, kemudian diayak menggunakan shaker selama 30 detik. Eritrosit 1% ditambahkan sebanyak 0,025 mL ke setiap sumuran plat mikro, kemudian di ayak selama 30 detik. Inkubasikan plat mikro pada suhu ruang selama satu jam dan amati setiap 15 menit.

Uji hemaglutinasi inhibisi (HI) teknik rapid merupakan uji untuk mengetahui keberadaan antibodi dalam serum yang menghambat virus mengaglutinasi eritrosit. Metode uji HI sebanyak 0,025 mL PBS dimasukkan ke dalam sumuran plat mikro 1-4. Tambahkan serum antibodi ND pada sumuran pertama dan serum antibodi AI pada sumuran kedua. Selanjutnya tambahkan antigen 4 HAU 0,025 mL pada sumuran plat mikro 1-3 lalu di ayak selama 30 detik. Inkubasikan pada suhu ruang selama 10 menit. Tambahkan suspensi eritrosit 1% sebanyak 0,05 mL pada sumuran 1-4 dan di ayak selama 30 detik. Inkubasikan pada suhu ruang selama satu jam dan amati perubahan setiap 15 menit.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Sampel organ paru-paru, jantung, hati, dan usus dikultur pada media umum yaitu *Nutrient Agar* (NA). Inkubasi dilakukan pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pertumbuhan koloni pada media diamati secara makroskopis untuk melihat bentuk, warna, elevasi, tepi, dan diameter koloni. Selanjutnya ambil koloni tunggal dari media NA menggunakan ossa steril lalu diusap pada media *MacConkey Agar* (MCA) dan *Eosin Methylene Blue* (EMBA) dengan metode *streak line*, inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan uji primer berupa uji katalase dan pewarnaan gram. Dilakukan pula uji biokimia seperti *Triple Sugar iron Agar* (TSIA) *Simmons Citrate Agar* (SCA), *Sulfide Indole Motility* (SIM), *Methyl Red* (MR), *Voges-Proskauer* (VP), dilanjutkan dengan uji gula-gula yaitu uji glukosa.

Pemeriksaan Feses Secara Kualitatif

Sampel feses diambil dari usus hewan kasus kemudian dimasukkan ke pot urin yang berisi larutan *Neutral Buffered Formalin* 10% (NBF). Sampel diperiksa di Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Pemeriksaan feses dilakukan secara kualitatif dengan uji langsung natif, uji konsentrasi sedimentasi, dan uji konsentrasi apung. Pemeriksaan pada metode natif dilakukan dengan mengambil feses sebesar pentolan korek api, diletakkan di *object glass* kemudian menambahkan 1-2 tetes akuades dan dihomogenkan. Selanjutnya serat kasar dibuang dan *object glass* ditutup dengan *cover glass*, diamati secara mikroskopis dengan pembesaran 100x dan 400x. Pemeriksaan pada metode sedimentasi dilakukan dengan mengambil feses sebesar pentolan korek api, lalu mencampurkannya dengan akuades 10% kemudian dihomogenkan. Campuran kemudian disaring dan ditampung dengan tabung sentrifuge dan cairan disentrifuge dengan kecepatan 1.500 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan sedimen diambil, letakkan pada *object glass* dan tutup dengan *cover glass*. Lakukan pemeriksaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x dan 400x untuk mengidentifikasi. Pemeriksaan pada metode pengapungan dilakukan dengan mengambil feses sebesar biji kemiri ($\pm 3g$) dicampur dengan akuades 10%, lalu dihomogenkan. Selanjutnya campuran disaring dan ditampung dengan tabung sentrifuge dan disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 2-3 menit. Supernatan dibuang dan endapan ditambahkan garam jenuh sampai volume $\frac{3}{4}$ tabung. Selanjutnya, sentrifugasi kembali dengan kecepatan 1500 rpm selama 2-3 menit. Buka tabung dan tambahkan larutan garam jenuh hingga permukaannya menjadi cembung, diamkan selama 3 menit untuk memberikan kesempatan telur cacing atau ookista mengapung ke permukaan. Selanjutnya *cover glass* disentuhkan pada permukaan cairan pengapung yang cembung dan ditempelkan pada *object glass*. Lakukan pemeriksaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x dan 400x, kemudian identifikasi.

Analisis Data

Seluruh data dari anamnesis, gejala klinis, epidemiologi, patologi anatomi, histopatologi, dan hasil pemeriksaan pada masing-masing laboratorium disajikan secara deksriptif kualitatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Anamnesis, Tanda Klinis, dan Data Epidemiologi

Ayam kasus berasal dari salah satu peternakan *close house* di Desa Pering, Kecamatan Blahbatuh, Kabupaten Gianyar, Bali. Jumlah populasi ayam di peternakan tersebut sekitar 24.000. Saat pengambilan ayam kasus, peternakan sudah memasuki musim panen yang dimulai pada umur 25 hari tetapi belum secara keseluruhan, melainkan akhir panen biasanya pada umur 33 hari. Berdasarkan hasil wawancara dan observasi, ayam kasus menunjukkan tanda klinis berupa tubuh bagian kulit menggelembung seperti balon, hilangnya bulu hampir 2/3 pada bagian abdomen dan thorax, bulu rontok dan kusum, penurunan nafsu makan 4 hari lalu, bersin, diare berlendir cair berwarna hijau, ujung jengger berwarna kehitaman, serta terdapat eksudat serous berwarna kuning dari cavum nasal (Gambar 1). Status vaksinasi, semua ayam sudah dilakukan vaksinasi (ND, Avian Influenza, dan Infectious Bursal Disease) sejak *Day Old Chicken* (DOC), tetapi selanjutnya tidak dilakukan booster. Pada hari tersebut, dilaporkan sekitar 5-7 ekor ayam sakit dan 10 ekor ayam mati, sedangkan dalam kurun 28 hari sekitar 630 ekor ayam sakit dan 450 ekor mengalami kematian dengan gejala klinis yang sama dengan ayam kasus. Jenis pakan yang diberikan berupa pakan jadi konsentrat yang diberikan sehari sekali. Persediaan pakan ditempatkan di dalam kandang yang didapatkan dari mitra dan air minum diberikan secara adlibitum. Riwayat penyakit sebelumnya tidak diketahui, tetapi ayam pada peternakan tersebut pernah terjadi diare berwarna hijau dan merah (berdarah), serta pada saat ayam berumur 15 hari dilaporkan 2 ayam menunjukkan klinis tortikolis yang kemudian dibuang untuk mencegah penularan. Ketika terdapat ayam sakit, tidak ada pengobatan yang diberikan dan tidak dilakukan isolasi, melainkan dipindahkan ke luar kandang apabila ayam sudah mengalami kematian. Selain itu, pernah teramati tikus dalam kandang dan sekam maupun feses tidak pernah diganti dan dibuang, melainkan sekam hanya ditambah serta di aduk. Biosekuriti dalam peternakan dijaga seperti membatasi orang memasuki kandang, pengecekan ayam tiap satu jam sekali, peralatan berupa alat makan selalu dibersihkan, akan tetapi lainnya belum terjaga seperti pengendalian hewan liar, isolasi hewan sakit yang menunjukkan klinis, pakan yang langsung dimasukkan ke dalam kandang tanpa isolasi, pengelolaan feses, dan desinfektan kandang yang minim dilakukan. Dari peternakan tersebut, sejauh sekitar 500 meter terdapat peternakan ayam broiler lainnya, tetapi tidak diketahui status kesehatannya. Ayam kasus mati 3 hari setelah diambil dari peternak dan di nekropsi di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Berdasarkan data, didapatkan hasil morbiditas 2,6%, mortalitas 1,8%, dan *case fatality rate* (CFR) 71%.

Patologi Anatomi dan Histopatologi

Hasil pengamatan terhadap patologi anatomi dan histopatologi pada ayam kasus menunjukkan hampir semua organ terdapat perubahan yang mengarah kepada penyakit yang dicurigai yakni ND, Koksidiosis, dan Koliseptikemia.

Uji Virologi

Hasil inokulasi pada telur ayam bertunas (TAB) menunjukkan embrio mengalami kematian pada hari ke-2 dan hari ke-3 pascainokulasi yang kemudian dilakukan panen bersamaan pada hari ke-3. Uji hemaglutinasi assay (HA) teknik mikrotiter diperoleh hasil positif dengan titer

23 HAU yang ditandai dengan terjadinya hemaglutinasi eritrosit (Gambar 10) dan uji hemaglutinasi inhibisi (HI) teknik rapid diperoleh hasil positif ND yang ditandai dengan terjadinya hambatan hemaglutinasi eritrosit (Gambar 11).

Uji Bakteriologi

Pemeriksaan bakteriologi mencakup tahapan kultur dan identifikasi bakteri. Sampel organ digunakan meliputi paru-paru, jantung, hati, dan usus. Hasil identifikasi biakan bakteri pada sampel tersebut ditampilkan (Gambar 12) (Tabel 1), disimpulkan bahwa ayam kasus terinfeksi patogen bakteri *Escherichia coli*.

Uji Parasitologi

Pemeriksaan parasitologi menggunakan feses dari usus dan sekum secara metode kualitatif dilakukan untuk mendeteksi keberadaan parasit gastrointestinal yang mungkin menginfeksi ayam kasus. Hasil metode natif, sedimentasi, dan pengapungan menunjukkan hewan kasus positif protozoa *Eimeria spp.* (Gambar 13).

Pembahasan

Diagnosa sementara ayam kasus adalah newcastle disease (ND) ditetapkan melalui pertimbangan anamnesa, gejala klinis, data epidemiologi, serta patologi anatomi. Berdasarkan perhitungan data epidemiologi menunjukkan angka morbiditas 2,6%, mortalitas 1,8%, dan CFR % 71%. Menurut Balachandran *et al.*, (2014) morbiditas pada ayam tervaksin ND sekitar 5-10%. Rendahnya tingkat mortalitas dan morbiditas pada ayam kasus disebabkan oleh status vaksinasi yang sudah diberikan pada seluruh ayam saat DOC meliputi vaksinasi ND, AI, dan Gumboro walaupun selanjutnya tidak dilakukan booster. Dari diagnosa sementara, selanjutnya dilakukan penegakan diagnosa definitif pada ayam kasus dengan pengamatan histopatologi dan pemeriksaan laboratorium.

Kondisi udara atau gas terperangkap di bawah kulit muncul dalam bentuk pembengkakan lembut atau gelembung udara yang terasa seperti balon mengindikasikan mengarah ke emfisema subkutan. Menurut Saif *et al.*, (2003) gas tersebut menembus jaringan subkutan melalui luka kulit atau akibat kerusakan pada bagian sistem pernapasan (air sacs, paru-paru, trakea), sedangkan menurut Patevinos (2006) akibat peradangan terkait penyakit menular, dan kekurangan nutrisi. Emfisema juga dapat terjadi ketika bakteri anaerob membentuk gas terkait dengan berkembang biak dalam luka dan tanpa udara. Pada kasus ini dicurigai terjadinya emfisema subkutan akibat infeksi ND dan *E. coli*. Patogen tersebut menyebabkan penyakit pernapasan akut ditandai dengan gangguan respirasi meliputi bersin, keluarnya eksudat serous dari rongga hidung, pendarahan, dan infiltrasi sel radang. Peradangan akibat infeksi ini menyebabkan kerusakan dinding alveolus, sehingga kehilangan kekuatan strukturalnya. Dalam kondisi tekanan respirasi, alveolus dapat mengalami ruptur, yang memungkinkan udara menyusup ke jaringan subkutan dan menyebabkan emfisema subkutan. Infeksi *E. coli* yang menyebar ke jaringan paru dan subkutan hingga menghasilkan gas dan berkembang biak dalam luka yang tidak mendapat pasokan udara. Gas-gas ini akan menumpuk di jaringan subkutan dan menyebabkan pembengkakan. Kombinasi tekanan dan infeksi menyebabkan perluasan penyebaran gas menyusup lebih jauh ke area abdomen. Rontok dan hilangnya bulu pada area tersebut terjadi akibat kombinasi antara tekanan gas subkutan yang menyebabkan terganggunya peredaran darah di folikel bulu karena tidak mendapatkan nutrisi dan oksigen yang cukup, serta kerusakan folikel rambut secara metabolik dan fisik. Hal ini menyebabkan rambut rontok luas, terutama pada area thorax dan abdomen.

Hasil pemeriksaan patologi anatomi ayam kasus menunjukkan pendarahan pada proventrikulus, trakea, paru-paru, *payer's patches* pada usus, dan seka tonsil yang merupakan salah satu ciri khas penyakit ND. Selain itu, replikasi virus ND terjadi di otak, esophagus, ingluvies, ventrikulus, ginjal, sekum, dan limpa (Hewajuli dan Dharmayanti, 2011; Mohhamed *et al.*, 2013). Hal tersebut sejalan dengan perubahan organ ayam kasus. Terjadinya kongesti otak di

kasus ini sebelumnya sudah dilaporkan oleh Berata (2020) pada kasus ND. Lesi perdarahan di paru-paru berakibat pada terganggunya proses respirasi, hal tersebut dimanifestasikan dengan klinis bersin dan keluarnya eksudat serous dari rongga hidung ayam kasus. Adanya diare pada kasus ini sejalan dengan terjadi akibat virus melakukan replikasi di epitel mukosa saluran pencernaan dan merusak vili usus yang mengganggu proses penyerapan nutrisi dan air. Selain itu, warna feses putih kehijauan diakibatkan terganggunya hati dan pankreas dalam memproduksi empedu dan enzim pencernaan (Suardana dan Putra, 2016), sejalan ayam kasus. Perubahan patologi anatomi yang ditimbulkan oleh koksidiosis tergantung dari spesies yang menyerang. Pada kasus ini *E. tenella* dan menyerang sekum menyebabkan pendarahan. Hal tersebut sejalan dengan penelitian (Retno *et al.*, 1998; Iacob dan Duma, 2009) terjadi pembesaran, pendarahan, dan nekrosis pada sekum. Patologi anatomi koliseptisemia kasus ini berupa lesi pada saluran respirasi dan usus ketika *E. coli* masuk ke sirkulasi darah dan menginfeksi jaringan tersebut. Selain itu, adanya lesi pada ginjal disebabkan karena ginjal merupakan organ pertama yang menyaring racun yang dihasilkan oleh *E. coli* (Tabbu, 2000). Hepatomegali pada kasus ini juga dilaporkan pada hati ayam broiler dan layer akibat *E. Coli* (Omer *et al.*, 2010). Tidak ditemukan atau tidak terbentuknya fibrin sebagai lesi patognomonis pada kasus ini dicurigai karena penyakit baru menginfeksi.

Hasil histopatologi ayam kasus menunjukkan secara keseluruhan hampir semua organ terdapat infiltrasi sel radang mononuklear (limfosit) yang mengarahkan infeksi oleh virus. Virus ND bersifat pantropik yaitu menyukai semua organ sehingga lesi ditemukan hampir pada semua organ pada kasus ini. Keberadaan virus ND pada otak ayam kasus menyebabkan kerusakan vaskuler dan neuron yang menyebabkan terjadinya proses inflamasi berupa gliosis, satelitosis, degenerasi neuron berupa piknotik neuron, dan edema. Hal serupa juga dilaporkan pada penelitian (Nakamura *et al.*, 2008; Purnasari *et al.*, 2017). Terjadi infiltrasi sel glia yang merupakan usaha sistem syaraf untuk menjaga keutuhan neuron sebagai komponen fagositik. Erosi epitel mukosa disebabkan oleh replikasi ND pada mukosa trakea, sedangkan pada paru-paru terjadi pneumonia dan hemoragi, di mana sesuai dengan pernyataan Yu *et al.*, (2008), Putra *et al.*, (2012), Risa *et al.*, (2014). Kelainan sistem pernapasan berupa erosi pada epitel, hemoragi, edema, infiltrasi sel radang, dan makrofag ialah 6 hari pasca terjadinya infeksi ND. Edema pada jantung diakibatkan karena adanya inflamasi, dimana pembuluh darah mengalami vasodilatasi yang menghasilkan peningkatan volume darah di tempat, kemudian permeabilitas vascular yang meningkat menimbulkan kebocoran cairan pembuluh darah yang menimbulkan edema (Baratawidjaya dan Iris, 2012). Pada sistem gastrointestinal, ND menunjukkan perdarahan pada usus halus, sekum dan kolon, sedangkan pembesaran organ dan proliferasi sel limfoid merupakan suatu tanda aktifnya sel-sel pertahanan tubuh untuk menekan infeksi agen yang masuk (Kencana dan Winaya, 2017). Temuan tersebut juga sejalan pada ayam kasus. Menurut Adi *et al.*, (2012) antigen virus ND ditemukan pada makrofag, sel-sel limfoid pada limpa, dan folikel bursa fabricius yang nekrotik. Selain itu, nekrosis pankreas pada kasus ini sejalan dengan penelitian Suardana dan Putra (2016).

Hasil histopatologi koksidiosis pada ayam kasus ditandai dengan lesi patognomonis pada sekum berupa hemoragi dan skizon yang merupakan indikasi reproduksi aseksual *Eimeria spp.*, yang berkembang biak di dalam sel inang dan menyebabkan kerusakan jaringan. Selain itu, hemoragi, kongesti, infiltrasi sel radang limfosit, makrofag ditemukan teramati pada kasus ini. Hal ini sejalan dengan pernyataan Djara *et al.*, (2020) kasus koksidiosis akan ditemukan hemoragi, skizon, mikro dan makrogamet, nekrosis, makrofag, dan peradangan. Hasil histopatologi koliseptikemia pada ayam kasus ditandai dengan ditemukan pendarahan pada paru-paru karena adanya endotoksin. Pada penelitian Shah *et al.*, (2019) ayam terinfeksi *E. coli* terlihat paru-paru kongesti dan infiltrasi sel radang heterofil, di mana sejalan dengan ayam kasus. Rute pernafasan menyebabkan hemoragi pada trakea dan kongesti pada paru-paru. Lesi

pernapasan pada *E. coli* biasanya terkait dengan infeksi campuran lainnya dimana salah satunya virus ND (Gross, 1984). Menurut Ananda *et al.*, (2023) pada ginjal akan ditemukan infiltrasi sel heterofil dan nekrosis. Infiltrasi heterofil menunjukkan infeksi akut dan inflamasi akibat agen bakteri. Hati ayam broiler yang terinfeksi menunjukkan kongesti difus, nekrosis koagulatif multifokal, dan infiltrasi sel radang (Abalaka *et al.*, 2017). Hal ini sesuai ayam kasus ditemukan kongesti dan infiltrasi sel radang yang disebabkan oleh endotoksin *E. coli* dan cedera vaskular. Pada ginjal ditemukan infiltrasi sel heterofil karena merupakan organ pertama yang menyaring racun yang dihasilkan oleh *E. coli*, demikian juga perdarahan dan kerusakan degeneratif tubular ginjal. Pada jantung ayam kasus adanya edema intermiokardium, kongesti pembuluh darah miokardium, hemoragi, nekrosis miokardium, serta Infiltrasi sel radang limfosit dan heterofil. Hal ini searah dengan penelitian Abalaka *et al.*, (2017) ayam terinfeksi *E. coli* terdapat infiltrasi sel radang dan nekrosis miokardium. Menurut Indra *et al.*, (2022) perubahan usus pada kasus

E. coli terdapat erosi pada vili mukosa, infiltrasi heterofil, hemoragi, nekrosis, dan edema. Hal ini sejalan dengan ayam kasus. Perubahan usus bersama dengan peradangan hemoragik pada sekum menunjukkan bahwa kedua infeksi (parasit dan bakteri) terjadi secara bersamaan. Hasil pemeriksaan laboratorium virologi, ayam kasus didapatkan positif terinfeksi ND (Gambar 11) strain velogenik karena mampu menyebabkan kematian embrio dalam waktu 48 jam. Hal tersebut sesuai pernyataan (Yu *et al.*, 2008; OIE, 2004) strain velogenik virus ND membutuhkan waktu kurang dari 60 jam untuk membunuh. Kematian embrio dapat digunakan sebagai evaluasi virulensi virus sejak diinokulasi yang dikenal dengan *Chick Embryo Virulence* (CEV) (Nasaruddin *et al.*, 2024; Wibowo *et al.*, 2012). Apabila embrio mati kurang dari 24 jam pascainokulasi, maka dianggap sebagai kematian karena faktor nonspesifik (Hewajuli dan Dharmayanti, 2008). Hasil pengujian serologi menggunakan hemaglutinasi assay (HA) teknik mikrotiter menunjukkan terjadinya hemaglutinasi eritrosit dan didapatkan titer 2^3 HAU (Gambar 10), sedangkan pengujian hemaglutinasi inhibisi (HI) menunjukkan hambatan hemaglutinasi ditandai dengan endapan eritrosit pada dasar microplate yang diisi serum ND (Gambar 11). Virus ND memiliki karakteristik spesifik yaitu kemampuannya untuk mengaglutinasi eritrosit ayam disebabkan keberadaan protein pada amplop virus yang dikenal sebagai hemaglutinin.

Ayam yang divaksinasi dengan baik secara imunologis sepenuhnya mampu bertahan dari tantangan berulang tanpa gejala klinis. Meskipun upaya vaksinasi telah dilakukan secara ekstensif dan melindungi ayam dari penyakit klinis, akan tetapi tidak mencegah replikasi dan pelepasan virus yang mengakibatkan sumber infeksi termasuk wabah ND dapat terus terjadi (Chukwudi *et al.*, 2012; Hassanzadeh *et al.*, 2024). Faktor-faktor yang berkontribusi terhadap prevalensi ND yang terus berlanjut pada unggas yang telah divaksinasi termasuk kegagalan pengiriman vaksin, protokol vaksinasi yang tidak optimal, penyakit immunosupresif yang terjadi bersamaan, kekurangan nutrisi, mutasi virus yang mengubah sifat biologis, dan patogenisitas virus ND (Dortmans *et al.*, 2012; Elfatah *et al.*, 2021; Hassanzadeh *et al.*, 2024). Selain itu, berbagai kondisi yang memperburuk seperti stress lingkungan, manajemen pakan yang kurang baik, paparan terhadap beban virus yang lebih tinggi atau lebih virulen yang ditemui di lapangan melemahkan pertahanan imun, serta mortalitasnya, sehingga vaksinasi booster direkomendasikan untuk mempertahankan kekebalan (Liu *et al.*, 2023; Taylor *et al.*, 2017; Wibowo *et al.*, 2012). Terjadinya ND pada kasus ini dicurigai akibat beberapa faktor, diantaranya; 1) protokol vaksinasi yang tidak optimal dan tidak dilakukan booster, 2) penyakit immunosupresif yang terjadi bersamaan yakni koksidirosis dan koliseptisemia, 3) peralihan musim kemarau ke musim hujan, 4) penularan langsung antar ayam dan ditambah tidak dilakukan isolasi pada ayam sakit, serta 5) pemindahan feses oleh hewan pengerat (tikus).

Hasil pemeriksaan laboratorium parasitologi, ayam kasus positif terinfeksi protozoa *Eimeria*

spp., yang belum bersporulasi (Gambar 13). Tingkat keparahan penyakit tergantung pada faktor lingkungan, imunitas ayam, dan besarnya jumlah ookista *Eimeria spp.*, yang tertelan. Faktor lingkungan dikaitkan dengan daerah tropis dengan tingkat kelembapan tinggi mendukung perkembangan *Eimeria spp.*, Selain itu, faktor eksternal berupa suhu dan ketersediaan oksigen. Dalam kasus ini, koksidiosis sudah dalam stadium berat dilihat dari perubahan histopatologi (Gambar 8) berupa ditemukan skizon, infiltrasi makrofag, peradangan, dan perdarahan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Djara *et al.*, (2020) tingkat keparahan dengan stadium berat ditandai dengan ditemukan adanya ookista, mikro dan makrogamet, nekrosis, makrofag, peradangan, sampai pendarahan. Terjadinya koksidiosis pada kasus ini dicurigai diakibatkan oleh beberapa faktor, diantaranya; 1) penurunan kekebalan tubuh akibat infeksi ND, 2) iklim tropis dan tingkat kelembapan yang tinggi, 3) tingkat debu, amoniak yang tinggi, dan penumpukan feses, 4) manajemen kandang yang kurang baik dimana sekam sebagai alas kandang yang lembab, 5) penularan melalui pekerja dan peralatan yang berpindah-pindah, 6) tidak dilakukan pencegahan berupa pemberian anticoccidial, 6) heat stress dengan penggunaan kandang *close house* yang menyebabkan sirkulasi udara dalam kandang memiliki suhu yang panas, serta 7) tikus dan/atau serangga sebagai peningkat risiko koksidiosis.

Dalam kondisi peternakan, tidak mungkin menciptakan lingkungan bebas koksidiosis (Jordan *et al.*, 2002). Hal ini dapat disebabkan karena *Eimeria spp.*, memiliki kemampuan reproduksi yang tinggi sehingga sangat sulit untuk menjaga lingkungan di sekitar ayam bebas dari parasit ini. *Eimeria spp.*, menyerang ayam muda umur 3-4 minggu (Lastuti *et al.*, 2005; Levine, 1985). Hal tersebut sesuai dengan umur ayam kasus, karena umur tersebut ialah umur yang paling peka. Pada umur 1-2 minggu akan lebih tahan, hal ini karena pemecahan dinding ookista belum sempurna disebabkan belum banyak menghasilkan enzim tripsin dan garam empedu, lemahnya gerakan lambung otot (ventrikulus), serta pencernaan enzimatik yang belum bekerja secara maksimal. Tanda klinis biasanya tampak setelah 72 jam dan kematian biasanya terjadi pada hari ke-4 sampai ke-6 karena ayam kehilangan darah dalam jumlah besar. Koksidiosis menyerang dalam bentuk klinis dan subklinis. Bentuk klinis umumnya ditandai ayam bergerombol di sudut kandang, lesu akibat kehilangan nafsu makan (efisiensi pakan rendah), penambahan bobot badan terganggu, keputihan pada; jengger, pial, kaki, dan paruh, pada ayam petelur produksi telur menurun, bulu kusut dan berdiri, diare berdarah yang biasanya akan diikuti oleh dehidrasi, menekuk kepala dan leher, mengantuk, serta meningkatnya jumlah angka kematian ayam yang diafkir (Muchibi 2018; Tabbu 2002). Bentuk subklinis ditandai oleh pertumbuhan berat badan yang buruk, efisiensi konversi pakan yang rendah, serta menyebabkan proporsi kerugian ekonomi tertinggi (Taylor *et al.*, 2007).

Siklus hidup *Eimeria spp.*, terdiri dari tiga tahap utama, yaitu tahap seksual (gametogoni), aseksual (merogoni atau skizogoni), dan tahap pembentukan (sporogoni). Dalam lingkungan dengan suhu ideal, ookista mengalami proses sporogoni dan bersporulasi dalam waktu 24-48 jam setelah keluar bersama feses. Ketika ookista tertelan dan masuk ke saluran pencernaan, dinding ookista akan lisis di ventrikulus dengan bantuan enzim tripsin menyebabkan sporokista yang mengandung sporozoit akan keluar dari ookista. Sporokista kemudian menuju usus halus dan melepaskan sporozoit enzim tripsin. Sporozoit kemudian akan menembus sel-sel epitel pada sekum untuk menjalani proses merogoni dengan membulat dan membentuk skizon generasi pertama. Skizon tersebut akan terjadi pembelahan dan menghasilkan sekitar ± 900 merozoit generasi I. Proses pembelahan skizon menyebabkan kerusakan, dimana proses ini terjadi 2-3 hari pascainfeksi. Setelah itu, merozoit generasi I kemudian menginfeksi sel epitel baru untuk membentuk skizon generasi II dimana pada tahap ini terjadi pembelahan lebih lanjut menghasilkan sekitar $\pm 200-350$ merozoit generasi II. Kerusakan usus pada tahap ini semakin parah ditandai dengan pendarahan, nekrosis, dan akumulasi darah yang terlihat pada feses yang terjadi 5 hari pasca infeksi. Pada tahap selanjutnya, sebagian besar merozoit generasi II

memasuki sel epitel baru untuk gametogoni, sementara sebagian lainnya membentuk skizon generasi III di bawah inti sel epitel, menghasilkan sekitar 4-30 merozoit per skizon (Levine, 1995). Tahap gametogoni ditandai oleh diferensiasi gametosit menjadi makrogamet (betina) dan mikrogamet (jantan). Mikrogamet yang berukuran kecil dan bergerak aktif akan bersatu dengan makrogamet untuk menghasilkan zigot yang kemudian membentuk dinding pelindung (Tampubolon, 2004). Pada tahap ini, sekum mengalami pelebaran dan penumpukan darah, yang dapat diamati pada patologi anatomi hewan terinfeksi. Ookista muda mulai terbentuk sekitar 7 hari pasca infeksi, menyebabkan sekum menjadi lebih padat. Setelah proses ini selesai, ookista dikeluarkan dari tubuh bersama feses.

Hasil pemeriksaan laboratorium bakteriologi, ayam kasus positif terinfeksi *E. coli* yang disebabkan oleh APEC bentuk sistemik yakni koliseptisemia. Patogenesis dimulai dari debu pada kandang yang terkontaminasi *E. coli* terhirup, kemudian masuk ke saluran pernapasan dan menempel pada permukaan epitel saluran respirasi tepatnya pada vili epitel, selanjutnya memasuki peredaran darah menyebabkan sepsis, multiplikasi pada tubuh, dan menyebabkan kerusakan (Yanti *et al.*, 2019). Durasi, derajat penyakit, dan tingkat keparahan lesi ditentukan oleh virulensi dan jumlah organisme, diimbangi dengan efektivitas pertahanan tubuh (Panth, 2019). Menurut Ananda *et al.*, (2023) faktor timbulnya penyakit ini meliputi sanitasi, desinfeksi suboptimal, sistem perkandangan, peralatan yang kurang memadai, adanya penyakit immunosupresif, serta tekanan lingkungan seperti kepadatan populasi, tingkat debu, dan amoniak yang tinggi. Pada kasus ini, terjadinya koliseptikemia dicurigai akibat oleh banyak faktor, diantaranya; 1) penurunan kekebalan tubuh akibat infeksi ND dan koksidiosis, 2) sanitasi dan desinfektan yang subotimal, 3) tekanan lingkungan seperti tingkat debu, amoniak yang tinggi, dan penumpukan feses, 4) kurangnya penanganan terhadap ayam sakit dan barang yang masuk ke peternakan seperti tidak dilakukan isolasi, dan 5) stress akibat suara ledakan dan perubahan suhu akibat musim hujan. *E. Coli* dapat bertahan hidup selama beberapa bulan pada feses dan dapat menyerang berbagai tahapan umur, tetapi pada ayam broiler muda lebih banyak terjadi pada umur 2-4 minggu (Koynarski *et al.*, 2010). Hal tersebut sesuai dengan hewan kasus. Hewan yang terinfeksi menunjukkan tanda penyakit sistemik yang jelas dan cenderung memburuk dengan cepat (Indra *et al.*, 2022). Prevalensi koliseptikemia mencapai 1% pada ayam broiler berumur 25-30 hari (Matin *et al.*, 2017), dimana sesuai dengan ayam kasus dengan mortalitas sebesar 1,8%. Di lapangan, koliseptisemia dapat terjadi akibat infeksi primer ataupun sekunder akibat adanya infeksi virus ND dan infeksi parasit koksidiosis.

Kultur bakteri pada media *nutrient agar* (NA) memperlihatkan morfologi koloni bentuk bulat, tak beraturan (irreguler), berwarna putih susu, tepi yang cembung (konvek), elevasi rata dengan permukaan halus, dan diameter berukuran $\pm 1-3$ mm. Ciri-ciri tersebut sesuai dengan morfologi bakteri *E. coli* (Indra *et al.*, 2022; Wahyuwardani *et al.*, 2014). Uji primer yang dilakukan adalah uji katalase dan pewarnaan Gram. Uji Katalase menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya gelembung udara setelah ditetesi H_2O_2 3%, hal ini mengartikan bakteri memiliki aktivitas enzim katalase untuk memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 yang menandakan bersifat aerobik (Wardani *et al.*, 2024). Pewarnaan Gram menunjukkan bakteri merupakan Gram negatif yang ditandai bentuk batang pendek, susunan tunggal, dan berwarna merah karena dinding sel bakteri menyerap zat pewarna kedua yaitu safranin setelah proses dekolorisasi menggunakan alkohol (Ananda, *et al.*, 2019). Selanjutnya, bakteri di kultur pada media diferensial dan selektif menggunakan *macconcey agar* (MCA) dan *eosin methylene blue agar* (EMBA). Kultur pada MCA menunjukkan koloni bersifat gram negatif ditandai berwarna merah yang dipengaruhi oleh ketebalan dan komposisi pada dinding sel bakteri (peptidoglikan) yang dapat memfermentasi laktosa (Khoiriyah *et al.*, 2022). Kultur pada EMBA menunjukkan bakteri dengan warna hijau metalik dengan titik hitam di bagian tengah yang meyakinkan bahwa bakteri tersebut merupakan *E. coli* yang mampu memfermentasi laktosa dengan cepat

dan memproduksi banyak asam (Khoiriyah *et al.*, 2022). Uji biokimia bertujuan untuk meyakinkan bahwa bakteri pada ayam kasus merupakan *E. coli*. Pada uji ini, diketahui bakteri dapat memfermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa, sukrosa), memproduksi gas, tidak memproduksi hidrogen sulfide (H₂S), membentuk indol, bersifat motil, dan tidak dapat memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon. Hal tersebut sesuai penelitian yang dilaporkan (Fauzizah, 2023; Puspita *et al.*, 2020).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan anamnesa, tanda klinis, data epidemiologi, patologi anatomi, histopatologi, serta pengujian laboratorium, maka dapat disimpulkan bahwa ayam kasus dengan nomor protokol 138/N/25 terinfeksi ND, koksidiosis, dan koliseptikemia.

Saran

Pengendalian penyakit harus ditingkatkan dengan pemeliharaan yang baik terhadap sanitasi dan biosekuriti, rutin pemberian vaksinasi disertai pengulangan. Kondisi fisik ayam juga perlu diperhatikan ketika diberikan vaksinasi agar imunitas yang didapatkan optimal disesuaikan dengan kebutuhan jenis vaksin dan strain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pemilik hewan yang telah mengizinkan pemeriksaan dilakukan, dosen pengajar, dan staf bagian Laboratorium Virologi Veteriner, Laboratorium Patologi Veteriner, Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Veteriner, Laboratorium Parasitologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas, serta seluruh pihak yang terlibat atas fasilitas dan bantuan dalam melaksanakan seluruh kegiatan Koasistensi Diagnosis Laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Abalaka, S., Sani, N., Idoko, I., Tenuche, O., Oyelowo, F., Ejeh, S., & Enem, S. (2017). Pathological changes associated with an outbreak of colibacillosis in a commercial broiler flock. *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*, 15(3), 95. <https://doi.org/10.4314/sokjvs.v15i3.14>
- Abebe, E., & Gugsu, G. (2018). A Review on Poultry Coccidiosis. *Abyss. J. Sci. Technol*, 3(1), 1–12. <https://doi.org/10.20372/ajst.2018.3.1.76>
- Adi, A. A. A. M., Astawa, N. M., Putra, K. S. A., Hayashi, Y., & Matsumoto, Y. (2010). Isolation and Characterization of a Pathogenic Newcastle Disease Virus from a Natural Case in Indonesia. *J. Vet. Med. Sci*, 72(3), 313–319. <https://doi.org/10.1292/jvms.09-0303>
- Al-Habeeb, M. A., Mohamed, M. H. A., & Sharawi, S. (2013). Detection and characterization of newcastle disease virus in clinical samples using real time RT-PCR and melting curve analysis based on matrix and fusion genes amplification. *Veterinary World*, 6(5), 239–243. <https://doi.org/10.5455/vetworld.2013.239-243>
- Ananda, B. E. S., Besung, I. N. K., & Adi, A. A. A. M. (2023). Colisepticemia Infectious in a 20 Days Old Broiler Chicken in Timuhan Village, Klungkung. *Veterinary Science and Medicine Journal*, 5(09), 197–210. <https://doi.org/https://doi.org/10.24843/vsmj.2023.v5.i09.p09>
- Ashraf, A., & Shah, M. S. (2014). Newcastle Disease: Present status and future challenges for developing countries. *African Journal of Microbiology Research*, 8(5), 411–416.

<https://doi.org/10.5897/ajmr2013.6540>

Balachandran, P., Srinivasan, P., Sivaseelan, S., Balasubramaniam, G. A., & Gopala Krishna Murthy, T. R. (2014). Isolation and characterization of Newcastle disease virus from vaccinated commercial layer chicken. *Veterinary World*, 7(7), 457–462. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2014.457-462>

Baratawidjaja, K. G., & Iris, R. (2012). *Imunologi Dasar Edisi Ke-10*. Jakarta: FKUI.

Barta. (2006). *Evolution of Coccidia Under Selective Pressure of Vaccines and Anticoccidials. Ontario Veterinary College*. Kanada.

Berata, I. K., Adi, A. A. M., Winaya, I. B. O., Adnyana, I. B. W., & Kardena, I. M. (2020). *Patologi Veteriner Umum*. Denpasar. Swasta Nulus. Hlm. 18-61.

Bhaiyat, M. I., Ochiai, K., Itakura, C., & Kida, H. (1994). Brain lesions in young broiler chickens naturally infected with a mesogenic strain of Newcastle disease virus. *Avian Pathology*, 23(4), 693–708. <https://doi.org/10.1080/03079459408419038>

Cahyaningsih, U., Malichatin, H. M., & Hediando, Y. E. (2007). Diferensial leukosit pada ayam setelah diinfeksi *Eimeria tenella* dan pemberian serbuk kunyit (*Curcuma domestica*) dosis bertingkat. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan.

Chukwudi, O. E., Didacus Chukwuemeka, E., & Mary, U. (2012). Newcastle disease virus shedding among healthy commercial chickens and its epidemiological importance. *Pakistan Vet. J.*, 32(3), 354–356. www.pvj.com.pk

Djara, D. V. S., Ardana, I. B. K., & Winaya, I. B. O. (2020). Perubahan Patologik Sekum Ayam Pedaging (*Gallus gallus*) yang Terinfeksi Koksidiosis di Kabupaten Tabanan, Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(2), 187–196. <https://doi.org/10.19087/imv.2020.9.2.187>

Dortmans, J. C. F. M., Peeters, B. P. H., & Koch, G. (2012). Newcastle disease virus outbreaks: Vaccine mismatch or inadequate application? *Veterinary Microbiology*, 160(1–2), 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.05.003>

Ekawasti, F., & Martindah, E. (2019). Control of Coccidiosis in Chickens Through Herbal Medicine. *Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences*, 29(1), 1–12. <https://doi.org/10.14334/wartazoa.v29i1.2048>

Elfatah, K. S. A., Elabasy, M. A., El-Khyate, F., Elmahallawy, E. K., Mosad, S. M., El-Gohary, F. A., Abdo, W., Al-Brakati, A., Seadawy, M. G., Tahoon, A. E., & El-Gohary, A. E. (2021). Molecular characterization of velogenic newcastle disease virus (Sub-genotype vii.1.1) from wild birds, with assessment of its pathogenicity in susceptible chickens. *Animals*, 11(2), 1–20. <https://doi.org/10.3390/ani11020505>

Fuzizah, Z. (2023). Deteksi Cemeran Bakteri Coliform dan *Escherichia coli* Pada Daging Ayam Broiler di Pasar Tradisional Kabupaten Kendal. *Program Studi S-1 Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang*.

Gross, W. B., Maryland, V., & Maryland. (2015). Effect of a range of social stress severity on *Escherichia coli* challenge infection. *Am. J. Vet. Med. Res.*, 45, 2074-2076.

Guabiraba, R., & Schouler, C. (2015). Avian colibacillosis: Still many black holes. *FEMS Microbiology Letters*, 362(15). <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv118>

Hassanzadeh, M., Abedi, M., Bashashati, M., Yousefi, A. R., Abdoshah, M., & Mirzaie, S. (2024). Evaluation of the Newcastle disease virus genotype VII–mismatched vaccines in SPF

chickens: A challenge efficacy study. *Veterinary and Animal Science*, 24(March). <https://doi.org/10.1016/j.vas.2024.100348>

Hewajuli, D. A., & Dharmayanti, N. L. P. I. (2008). Karakterisasi dan identifikasi virus Avian Influenza (AI). *Wartazoa*, 18(30), 1–15.

Iacob, O. C., & Duma, V. (2009). Clinical , paraclinical and morphopathological aspects in cecal eimeriosis of broilers Aspecte clinice , paraclinice și morfopatologice în eimerioza cecală a puiilor de găină. *Sc. Parasit*, 1(2), 43–50.

Indra. (2022). Identification and Pathological Finding of Colisepticemia in Broiler. *Journal of The Indonesian Veterinary Research*, 6(1), 23–31.

Joao, A. A. P. D. C., Astawa, I. N. M., & Adi, A. A. A. M. (2022). Seroprevalensi dan Profil Antibodi Anti-Virus Newcastle Disease Pasca Vaksinasi pada Ayam Kampung di Kabupaten Bobonaro Timor-Leste. *Buletin Veteriner Udayana*, 46(158), 425. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2022.v14.i04.p16>

Jordan, F., Faragher, T. (2001). Poultry diseases (5th ed., pp. 408-409). London.

Kencana, G. A., Suartha, I. N., Nainggolan, D. R. B., & Tobing, A. S. L. (2017). Respons Imun Ayam Petelur Pascavaksinasi Newcastle Disease dan Egg Drop Syndrome. *Jurnal Sain Veteriner*, 35(1), 81. <https://doi.org/10.22146/jsv.29295>

Khoiriyah, A., Sumardi, & Busman, H. (2022). Identification and Pathogenicity of *Escherichia coli* from Cloacal Swabs. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 10(3), 323–332. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.23960/jipt.v10i3.p323-332>

Komang, N. E. S. D. N., Adi, A. A. A. M., & Winaya, I. B. O. (2021). Efek Viroterapi Virus Newcastle Disease Terhadap Histopatologi Paru-Paru Tikus Penderita Fibrosarkoma. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10(3), 355–364. <https://doi.org/10.19087/imv.2021.10.3.355>

Koynarski, V., Mircheva, T., Stoev, S., Urumova, V., Zapryanova, D., Dishlyanova, E., Koynarski, T. S., & Karov, R. S. (2010). Pathoanatomical and blood biochemical investigations in chicks, challenged with *Escherichia coli* on the background of a pre-existing *Eimeria* infection. *Revue de Medecine Veterinaire*, 161(3), 133–140.

Lastuti, N. D. R., & Mufasirln, M. S. (2005). Pengaruh Suhu Dan Lama Penyimpanan Sporokista Terhadap Keganasan *Eimeria* Ten Ella. *Media Kedokteran Hewan*, 21(1), 12–14.

Levine, N. D. (1985). *Veterinary protozoology* (5thed.). Iowa: Iowa State University Press. Li, X., Qiu, Y., Yu, A., Chai, T., Zhang, X., Liu, J., Wang, D., Wang, H., Wang, Z., & Song,

C. (2009). Degenerate primers based RT-PCR for rapid detection and differentiation of airborne chicken Newcastle disease virus in chicken houses. *Journal of Virological Methods*, 158(1–2), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2009.01.011>

Liu, M., Shen, X., Li, J., Yu, Y., Fan, J., & Jia, X. (2023). Efficacy of Newcastle disease LaSota vaccine-induced hemagglutination inhibition antibodies against challenges with heterologous virulent strains of genotypes VII and IX. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 259. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2023.110591>

Mahardika, I. G. N. K., Astawa, I. N. M., Kencana, G. A. Y., Suardana, I. B. K., & Sari, T. K. (2018). Teknik Laboratorium Virus. Denpasar: Udayana University Press.

Matin, M. A., Islam, M. A., & Khatun, M. M. (2017). Prevalence of colibacillosis in chickens in greater Mymensingh district of Bangladesh. *Veterinary World*, 10(1), 29–33.

<https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.29-33>

Mohammed, M. H., Ameer, A., Zahid, H., Kadhim, L. I., & Hasoon, M. F. (2013). Conventional and Molecular Detection of Newcastle Disease and Infectious Bursal Disease in Chickens. *J. World's Poult. Res. Journal J. World's Poult. Res.*, 3(1), 5–12. <http://jwpr.science-line.com/>

Muchibi J. (2018). Prevention, control and management of coccidiosis in chicken. Daily Nation.

Nakamura, K., Ohta, Y., Abe, Y., Imai, K., & Yamada, M. (2004). Pathogenesis of conjunctivitis caused by Newcastle disease viruses in specific-pathogen-free chickens. *Avian Pathology*, 33(3), 371–376. <https://doi.org/10.1080/0307945042000220309>

Nasaruddin, N., Astawa, I. N. M., Berata, I. K., Mahatmi, H., & Dwinata, I. M. (2024). Infeksi Newcastle Disease disertai koksidirosis pada ayam broiler. *Buletin Veteriner Udayana*, 158, 1294–1306. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2024.v16.i04.p36>

OIE 2004. Newcastle disease. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 2.1.15.

OIE. 2012. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Paris: World Organisation for Animal Health.

Omer, M. M., Abusalab, S. M., Gumaa, M. M., Mulla, S. A., Omer, E. A., Jeddah, I. E., AL-Hassan, A. M., Hussein, M. A., & Ahmed, A. M. (2010). Outbreak of Colibacillosis among Broiler and Layer Flocks in Intensive and Semi intensive Poultry Farms in Kassala State, Eastern Sudan. *Asian Journal of Poultry Science*, 4(4), 173–181. <https://doi.org/10.3923/ajpsaj.2010.173.181>

Panth, Y. (2019). Colibacillosis in poultry: A review. *Journal of Agriculture and Natural Resources*, 2(1), 301–311. <https://doi.org/10.3126/janr.v2i1.26094>

Purnasari, M. E., Adi, A. A. A. M., & Winaya, I. B. O. (2017) Pengaruh Virus Newcastle Disease Isolat Virulen Terhadap Gambaran Histopatologi Otak dan Berat Embrio Ayam. *Indonesia Medicus Veterinus*, 6(2), 101–108. <https://doi.org/10.19087/imv.2017.6.2.101>

Puspita, I., A'yun, N. Q., Sumarsono, T., & Andini, A. (2020). Uji sensitivitas Escherichia coli yang diisolasi dari air sumur galian dekat dengan septic tank terhadap ciprofloxacin. *National Conference for Ummah*, 1–9. <http://repository.unusa.ac.id/id/eprint/6482>

Putra, H. H., Michael, H. W., Tri, K. (2012). A Study of Macroscopic and Microscopic Lesions of Chicken Embryos Infected by Virulent Newcastle Disease Virus Field Isolates 1 2 2 3. *Jurnal Sains Veteriner*, 30(1), 57–67.

Retno, F. D., Jahja, T., & Suryani, T. (1998). Penyakit-penyakit Penting pada Ayam. *Edisi Ke-4. Bandung*, 0251.

Risa, E., Rahmawati, S., & Novita, I. D. (2014). Evaluasi Penurunan Angka Mortalitas dan Morbiditas Ayam Pedaging yang Mendapatkan Penambahan Tepung Lempuyang (Zingiber Aromaticum Val) Dalam Ransum. *Jurnal Galung Tropika*, 3(3), 192–200. <https://doi.org/https://doi.org/10.31850/jgt.v3i3.93>

Shah, S. A., Saleem Mir, M., Wani, B. M., Kamil, S. A., Amin, U., Shafi, M., Ali Rather, M., Goswami, P., & Bashir Beigh, A. (2019). Pathological studies on avian pathogenic Escherichia coli infection in broilers. *The Pharma Innovation Journal*, 8(7), 68–73. www.thepharmajournal.com

Tabbu, C. R. (2000). Penyakit Ayam dan Penanggulangannya. Kanisius:Yogyakarta.

Taylor, T. L., Miller, P. J., Olivier, T. L., Montiel, E., Cardenas Garcia, S., Dimitrov, K. M.,

Williams-Coplin, D., & Afonso, C. L. (2017). Repeated Challenge with Virulent Newcastle Disease Virus Does Not Decrease the Efficacy of Vaccines. *Avian Diseases*, 61(2), 245–249. <https://doi.org/10.1637/11555-120816-ResNote.1>

Wahyuwardani, S., Noor S. M., Poeloengan, M., Andriani., & Aryanti, T. (2014). Cases of Colibacillosis in Chickens Farm in Yogyakarta and Bogor. *Journal Seminar Nasional Teknologi Peternakan Dan Veteriner*, 606–610.

Wardani, R. D. R., Besung, I. N. K. Winaya, I. B. M. O., Dwinata, I. M., & Kencana, G. A. Y. (2024). Colisepticemia in Broiler Chicken Farms in Darmasaba Village Abiansema Badung Bali. *Buletin Veteriner*, 16(6), 1715–1727. <https://doi.org/https://doi.org/10.24843/bulvet.2024.v16.i06.p16>

Wibowo, M. H., Untari, T., & Wahyuni, A. E. T. H. (2012). Isolasi, identifikasi, Sifat Fisik, dan Biologi Virus Tetelo yang diisolasi Dari Kasus di Lapangan. *Jurnal Veteriner*, 13(4), 425–433.

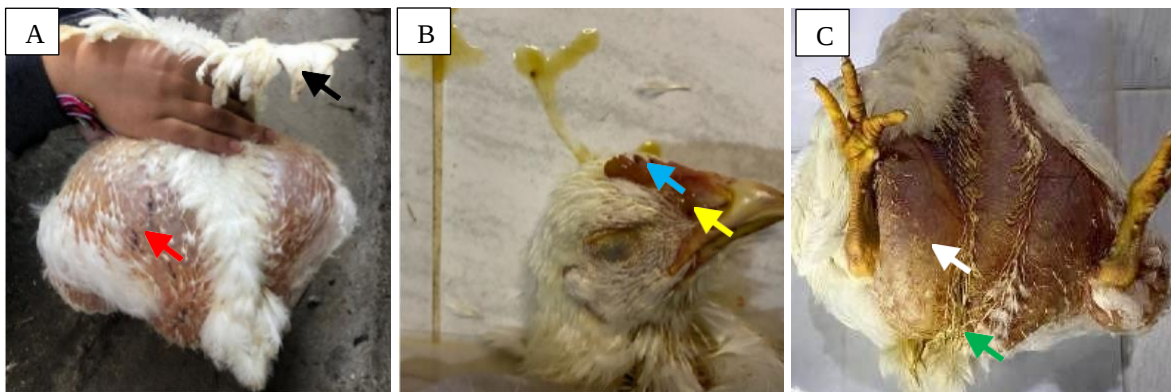
Yanti, K. A. T., Setyawati, I., & Astiti, N. P. A. (2019). Lung Histopathology of Laying Hens Infected by Colibacillosis in the Animal Cages Experiments of the Disease Investigation Center 6, Denpasar, Bali. *Advances in Tropical Biodiversity and Environmental Sciences*, 3(2), 25. <https://doi.org/10.24843/atbes.2019.v03.i02.p02>

Tabel

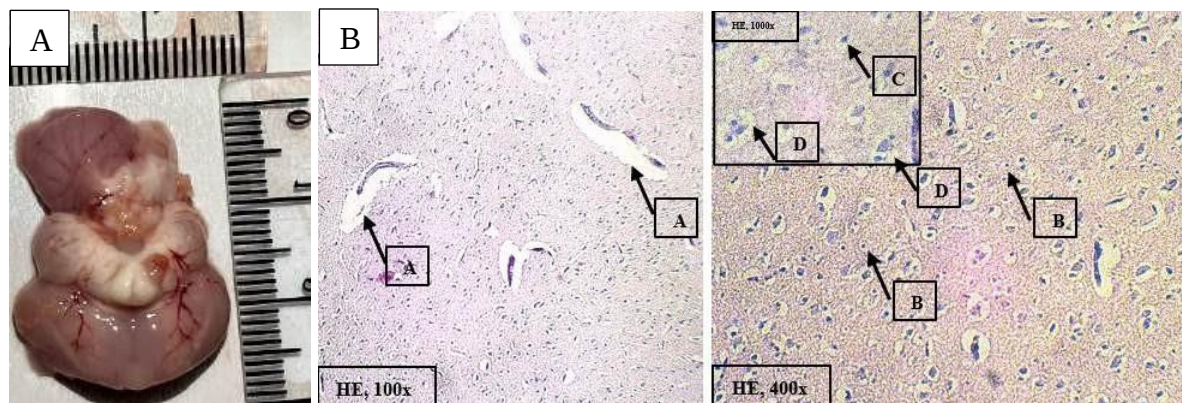
Tabel 1. Hasil kultur dan identifikasi bakteri ayam kasus

Media Isolasi/Identifikasi	Hasil
Nutrient Agar (NA)	koloni dengan bentuk bulat, tak beraturan, tepi yang cembung, elevasi rata, permukaan halus, berwarna putih susu, dan berukuran $\pm 1-3$ mm.
Uji Katalase	Terbentuk gelembung udara (+)
Pewarnaan Gram	Sel bakteri bentuk batang dan berwarna merah
MacConkey Agar (MCA)	Koloni bakteri berwarna merah muda Eosin
Methyline Blue Agar (EMBA)	Koloni bakteri berwarna hijau metalik
Triple Sugar Iron Agar (TSIA)	Acid slant (+), acid butt (+), gas (+), dan H ₂ S (-)
Sulfide Indole Motility (SIM)	Sulfide (-), indol (+), motility (+)
Methyl Red (MR)	Warna media menjadi merah (+)
Voges Proskauer (VP)	Tidak ada perubahan (-)
Simmons Citrate Agar (SCA)	Tidak ada perubahan (-)
Uji Gula-Gula (Glukosa)	Berwarna kuning (+) dan terdapat gelembung (+)

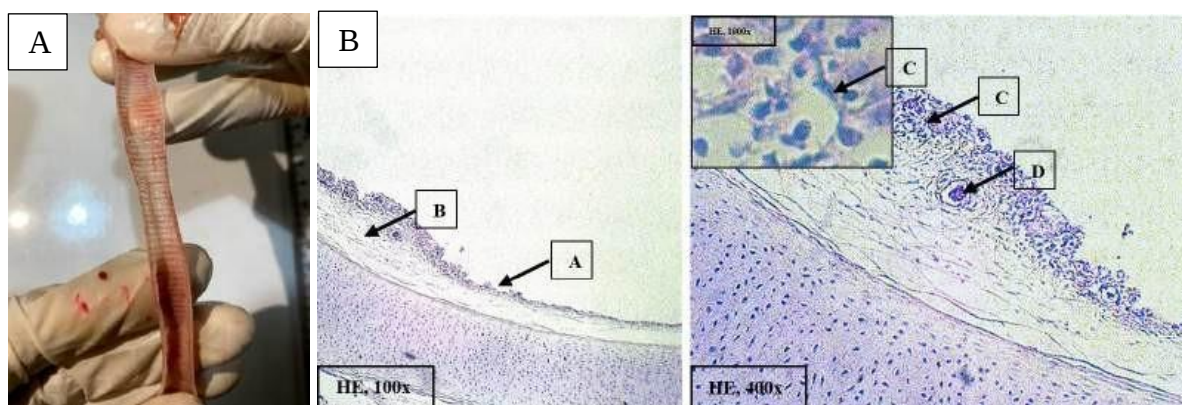
Gambar



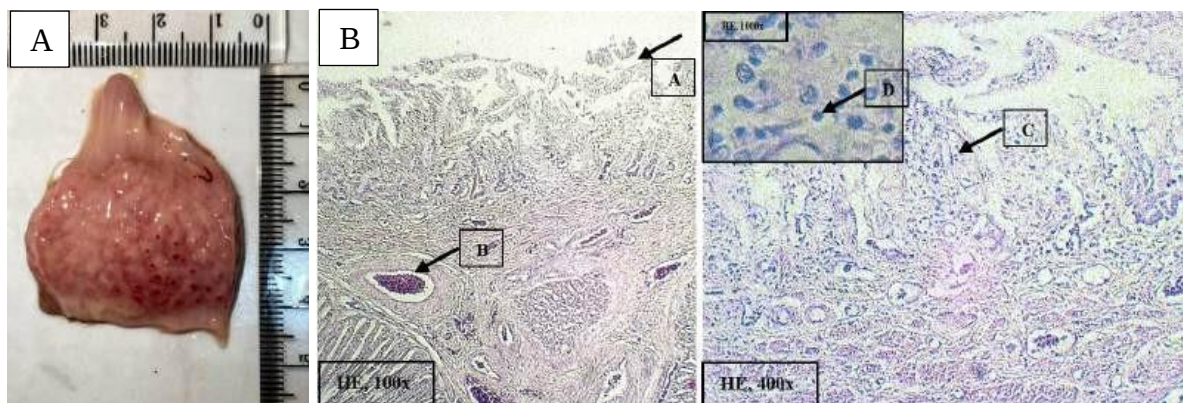
Gambar 1. Kondisi ayam sebelum nekropsi. Tubuh menggelembung seperti balon (panah merah Gambar 1A), eksudat berwarna kuning serous pada rongga hidung (panah kuning Gambar 1B), hilangnya hampir 2/3 bulu pada bagian thorax dan abdomen (panah putih Gambar 1B), bulu kusam (panah hitam Gambar 1A), sisa feses pada area kloaka (panah hijau Gambar 1C), dan jengger berwarna hitam pada ujung (panah biru Gambar 1C)



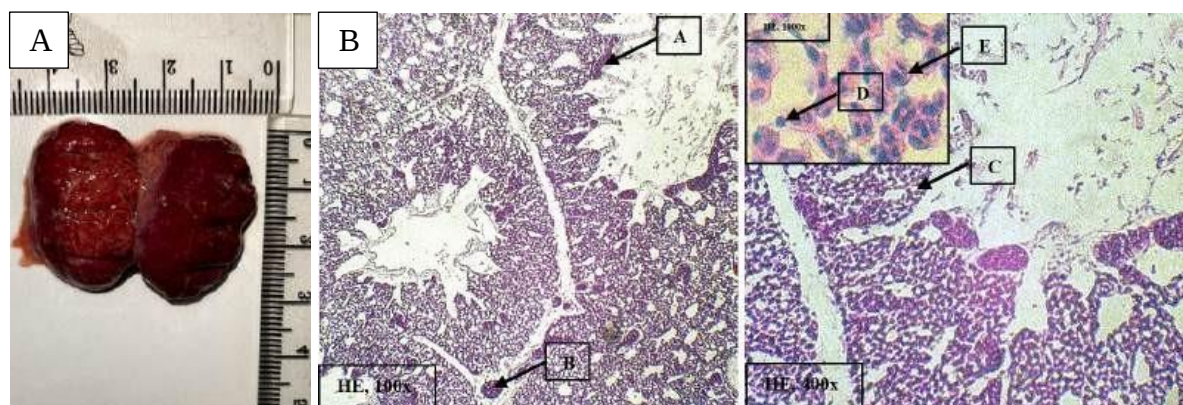
Gambar 2. Otak. Perubahan warna menjadi merah gelap kebiruan (kongesti) (2B) *Encephalitis*: (A) Kongesti dan edema perivaskuler cortex cerebri, (B) Gliosis, (C) Piknotik neuron, (D) Satellitosis. (HE: 100x, 400x, 1000x)



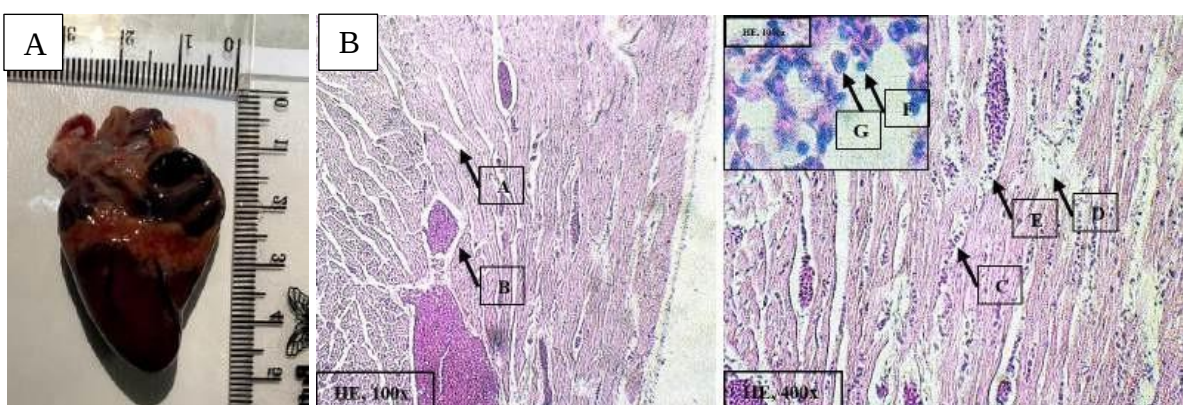
Gambar 3. Trakea. (3A) Perubahan warna menjadi merah terang (hiperemi) dan merah gelap kebiruan (kongesti) (3B) *Tracheitis edematosa*. (A) Erosi mukosa, (B) Edema submukosa, (C) Infiltrasi sel radang limfosit pada mukosa, (D) Kongesti pembuluh darah pada bagian submukosa. (HE: 100x, 400x, 1000x)



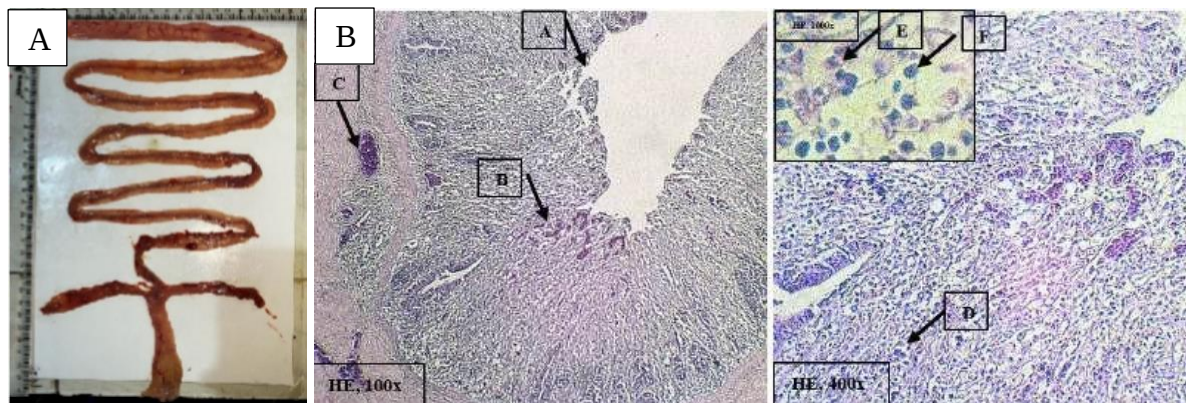
Gambar 4. Proventrikulus. (4A) Perubahan warna menjadi lebih merah ukuran 1-2 mm (Ptekie) dan warna merah gelap kebiruan (kongesti), (4B) *Encephalitis*: (A) Kongesti dan edema perivaskuler cortex cerebri, (B) Gliosis, (C) Piknotik neuron, (D) Satellitosis. (HE: 100x, 400x, 1000x)



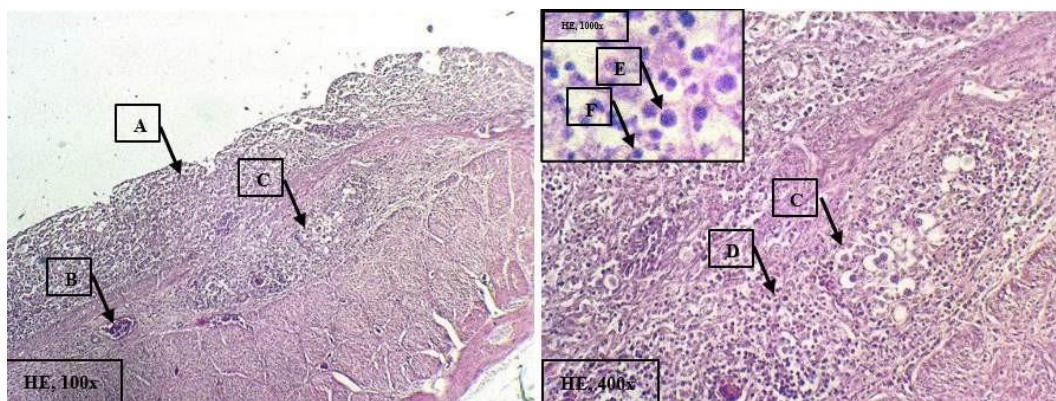
Gambar 5. Paru-paru. (5A) Perubahan warna menjadi merah gelap (hemoragi), (5B) *Pneumonia hemorrhagica*. (A) Hemoragi peribronkial, (B) Kongesti pembuluh darah paru-paru, (C) Infiltrasi sel radang pada peribronkial, (D) Limfosit, (E) heterofil.



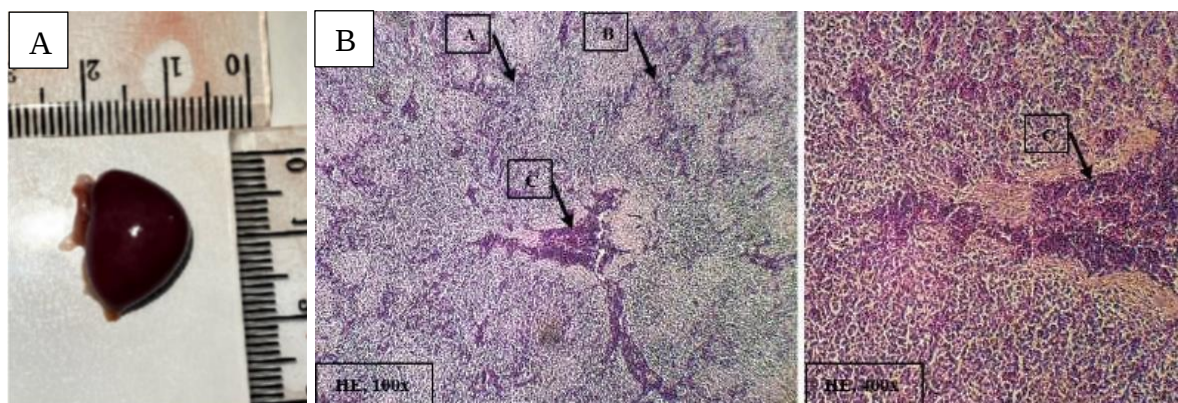
Gambar 6. Jantung. (6A) Perubahan warna menjadi lebih merah (hemoragi), merah gelap kebiruan (kongesti), white spot, kardiomegali, konsistensi lunak, (6B) *Myocarditis hemorrhagica et necroticans et edematosa*. (A) Edema intermiokardium, (B) Kongesti pembuluh darah miokardium, (C) Hemoragi, (D) Nekrosis miokardium, dan (E) Infiltrasi sel radang, (F) limfosit, (G) heterofil. (HE: 100x, 400x, 1000x)



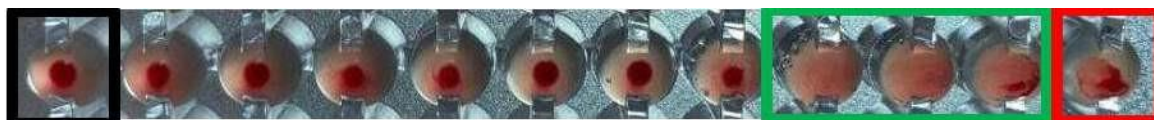
Gambar 7. Usus Halus. (7A) Perubahan warna menjadi lebih merah (Hemoragi), merah gelap kebiruan (kongesti), nekrosis payer's patches, (6B) *Enteritis hemorrhagis*. (A) Erosi villi, (B) Hemoragi, (C) Kongesti pembuluh darah pada tunica muscularis, (D) Infiltrasi sel radang pada lamina propria, (E) Heterofil, (F) Limfosit.



Gambar 8. Sekum. *Typhlitis hemorrhagis*. (A) Hemoragi, (B) Kongesti, (C) Skizon, (D) Infiltrasi sel radang, (E) Makrofag, (F) Limfosit.



Gambar 9. Limpa. (9A) Perubahan warna menjadi lebih merah (Hemoragi), splenomegali, *white spot*, (9B) *Splenitis hemorrhagis*. (A) Proliferasi sel-sel limfoid, (B) Hemoragi, (C) Kongesti



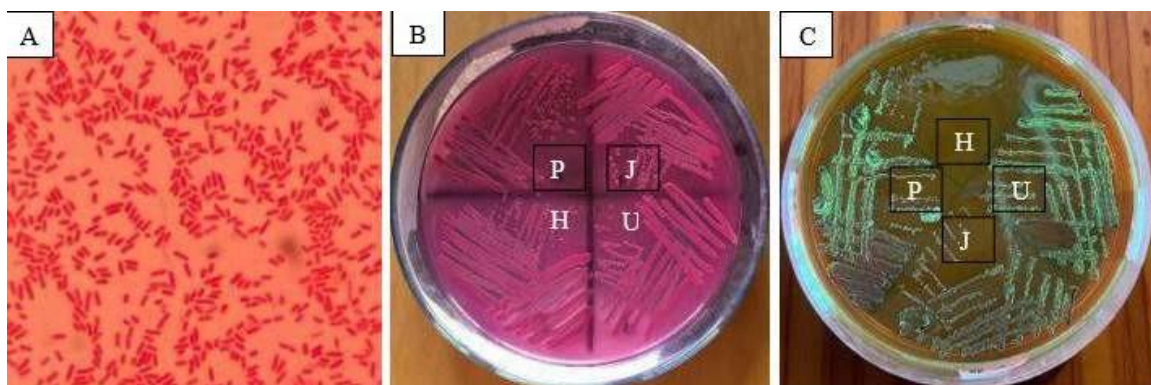
Gambar 10. Hasil Uji Hemaglutinasi Assay Teknik Mikrotiter Keterangan:

-  : Kontrol Positif
-  : Titer HA 2³
-  : Kontrol Negatif

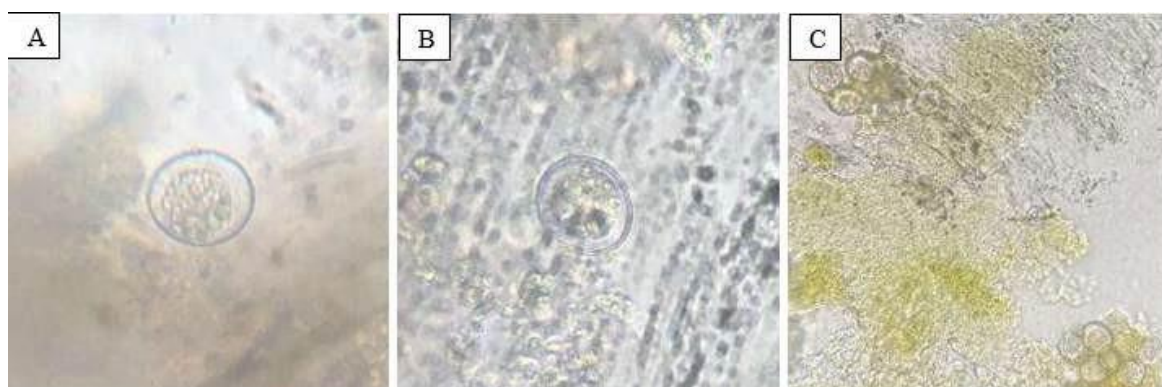


Gambar 11. Hasil uji Hambatan Hemaglutinasi Inhibisi (HI) Teknik Rapid Keterangan:

-  : Positif ND, terjadi hambatan hemaglutinasi
-  : Negatif AI, terjadi hambatan hemaglutinasi
-  : Kontrol antigen
-  : Kontrol sel darah merah



Gambar 12. Isolasi dan identifikasi bakteri. Keterangan: (A) pewarnaan gram, (B) MacConkey Agar, (C) Eosin Methyline Blue Agar (EMBA), (H) hati, (J) jantung, (P) paru-paru, dan (U) usus



Gambar 13. Ookista protozoa *Eimeria* spp., yang belum berspurulasi. Keterangan: (A) natif, (B) sedimentasi, dan (C) pengapungan