

Dosen :
Prof. Dr. Ir. Rudy C. Tarumingkeng (Penanggung Jawab)
Prof. Dr. Ir. Zahrial Coto

Pullorum dan Permasalahannya

Oleh :
Meisji Liana Sari
D061040061/PTK

I. PENDAHULUAN

Penyakit pullorum adalah penyakit bakteri septikemik (*Septicaemic bacterial diseases*) yang umumnya terjadi pada ayam dan kalkun, disebabkan oleh bakteri *Salmonella pullorum*. Pertama kali ditemukan oleh Rettger pada tahun 1899 dan pada tahun 1929 dikenal dengan nama *bacillary white diarrhea* di Australia sesuai dengan tanda klinis yang ada pada penyakit ini yaitu diare berwarna putih.

Penyebaran penyakit pullorum pada unggas, terutama pada ayam komersial terjadi di amerika serikat dan inggris dengan tingkat mortalitas yang cukup tinggi. Kemudian tercatat di Australia pada tahun 1921. Usaha pencegahannya telah dilakukan diamerika melalui suatu program yang dinamakan the National Poultry Improvement Plan (NPIP) dan berhasil mengurangi kejadiannya pada kelompok unggas komersial. Biaya yang cukup mahal dikeluarkan dengan melakukan uji tes pada usaha pembibitan untuk memastikan bahwa unggas yang dihasilkan benar-benar bebas dari infeksi.

Kejadian pullorum juga terjadi di beberapa daerah di ausralia dan sekitarnya. Daerah New south wales pullorum terjadi hampir menyeluruh pada daerah yang terdapat industri poultnya, di Norther territorial terjadi pada tahun 1944-1945, kemudian di papua new guinea terjadi pada tahun 1939-1945 pada ayam kampung, quensland, south Australia, Tasmania, viktorias dan Australia barat. Penyebarannya sangat cepat dan memerlukan program khusus untuk mengawasi dan mengurangi penyebarannya.

Pada tahun 1990, pullorum diisolasi dari peternakan rakyat yang juga telah terjadi selama beberapa tahun, dan isolasinya dilakukan setelah 10 tahun kejadian. Uji whole blood stained antigens telah mulai digunakan di amerika pada tahun 1931, kemudian diadopsi dan dilakukan untuk mendiagnosa pullorum di Australia. Transmisi bakteri penyebab pullorum dapat terjadi secara vertical dan horizontal, antara kandang yang satu dengan yang lainnya. Pengaruhnya adalah dapat menyebabkan kematian, mengurangi fertilitas, mengurangi daya tetas, mengurangi produksi telur dan kematian pada anak ayam.

Kejadian pullorum di Indonesia juga sudah dapat diatasi sejak lama, menyusul adanya kebijakan yang mengharuskan breeder untuk mengeluarkan bibit hewan dengan syarat bebas pullorum. Tentunya hal ini menjadi sangat menarik dan menjadi tujuan dari penulisan ini untuk mengkaji secara umum penyakit Pullorum.

II. PENYAKIT PULLORUM (Bacillary White Diarrhea)

2.1. Tanda Klinis

Beberapa tanda klinis dari unggas yang terserang penyakit Pullorum adalah depresi, somnolence, anoreksia, tampak sering berkumpul bersama, sayapnya jatuh, dehidrasi, sulit bernapas, diare, bulu terbalik, lemah dan feses banyak yang melekat disekitar anus. Dalam beberapa kondisi tanda klinis penyakit ini tidak terlihat pada umur 5 – 10 hari setelah menetas. Mortalitas tertinggi biasanya terjadi pada umur 2 – 3 minggu. Daya tahan tubuhnya akan semakin berkurang dan mengurangi bobot badan serta bulu nampak tumbuh dengan jarang. Disamping itu unggas akan tidak siap dewasa untuk memproduksi. Tanda lainnya seperti kebutaan, pembengkakan tibiotarsal joint, humerus, arkuliasi radial dan arikulsi ulna.

Pada ayam dewasa dan ayam yang sedang dalam pertumbuhan, tanda klinis mungkin tidak nampak sama. Tanda klinis yang nonspesifik seperti berkurangnya konsumsi, jengger menyusut, menurunnya produksi telur, fertilitas dan daya tetas. Kematian dapat terjadi dalam 4 hari tapi biasanya terjadi setelah 5 – 10 hari. Peningkatan suhu tubuh , serta tanda klinis lainnya yang menonjol yaitu anoreksia, diare, depresi, dehidrasi dan hilangnya bobot badan.

2.2. Morbiditas dan mortalitas.

Baik morbiditas dan mortalitas dapat meningkat tinggi bervariasi sehubungan dengan beberapa faktor yaitu umur, strain unggas, status nutrisi, manajemen kandang dan infeksi yang terjadi bersama-sama. Interval mortalitas bisa terjadi dari 0 – 100 %, khususnya pada anak ayam. Mortalitas tertinggi nampak pada umur 2 minggu setelah menetas dengan penurunannya yang cepat pada umur ke tiga dan ke empat. Morbiditas secara umum lebih tinggi dari mortalitas. Unggas yang berasal dari kelompok yang terinfeksi menunjukkan morbiditas dan mortalitas yang lebih rendah dibandingkan dengan unggas yang stress akibat transportasi. Kerugian ekonomi bisa meningkat sehubungan dengan jumlahnya yang berkurang, biaya pakan, biaya pengobatan, serta penampungan unggas-unggas yang mati.

Morbidity pada ayam terinfeksi mencapai 40% dengan disertai dengan mulainya kematian selama umur 21 hari. Anak ayam yg terinfeksi akan terdepresi dan anoreksia dan cenderung berjubel dibawah pemanas. Ayam-ayam menunjukkan diare putih yang berlebihan dan akumulasi dari bahan-bahan ikutan feses disekitar bulu anus.

2.3. Patologi Anatomi (Gross lesion)

Dalam kasus perakut, anak ayam mati pada tahap awal terserang dari brooding tanpa adanya gross lesion. Dalam kasus akut, terjadi pembesaran dan pepadatan hati, limpa dan ginjal. Hati membesar dan memiliki nekrosa fokal berwarna putih. Limpa juga membesar dan berwarna putih coreng. Kandungan kantung kuning telur terkoagulasi dan berwarna krem serta perkejuan. Ada eksudat fibrin didalam pericardium, kapsul hati dan peritoneum. Pada beberapa unggas, nodul putih nampak didalam epicardium dan myocardium mirip dengan tumor pada penyakit mareks. Sekali-kali, nodul tersebut nampak didalam jantung menjadi cukup besar untuk mengakibatkan distorsi bentuk jantung. Hal ini menunjukkan pada proses kronis pasif pepadatan hati mengakibatkan acites.

Nodul putih kecil yang sama dapat hadir di pankreas, paru-paru, dan otot dari gizzard. Dan kadang-kadang juga terdapat di dinding sekum. Sekum dapat mengandung lubang-lubang perkejuan didalam lumen. Beberapa unggas menunjukkan pembengkakan persendian yang mengandung cairan kental berwarna

kream. Perubahan lainnya adalah termasuk adanya eksudat dalam ruang arterior mata, pembengkakan tapak kaki atau persendian sayap. Pada ayam dewasa lesion nampak minimal meskipun secara serologis positif atau merupakan aktif reaktor. Minimal lesion, seperti nodular kecil atau kemunduran folikel ovarii. Bagaimanapun lesionnya sering juga ditemukan ayam-ayam carriers yang kronis termasuk beberapa bentuk yang salah dan pemucatan warna cystic ova dibandingkan dengan lainnya. Kesalahan bentuk dari ova bisa juga tidak berbentuk, nodular, dan dapat menyerang ovarii sepanjang tangkai pedunculated yang kadang-kadang menjadi terpisah dari masa ovarianya. Oviduk kadang-kadang mengandung eksudat perkejuan di lumennya. Disfungsi ovarii dan oviduct dapat menuju pada ovulasi abdominal atau tubrukan oviduk yang mengakibatkan peritonitis ekstensif dan adhesif dari organ dalam perut. Peritonitis fibrin dan perihepatitis dengan atau tanpa melibatkan saluran reproduksi. Acites juga berkembang, khususnya pada kalkun.

Lesion lainnya termasuk peningkatan cairan pericardial atau pericarditis fibrin, pancreas yang berbecak putih, dan granuloma perkejuan dalam paru-paru serta kantung hawa. Pada unggas jantan, testes nampak memiliki nodul putih.

2.4. Patologi Jaringan (microscopic lesions)

Dalam kasus perakut, lesionnya hanya nyata pada pematatan dalam beberapa organ, seperti hati, limpa dan ginjal. Dalam kasus akut dan subakut, lesion khas yaitu terjadi nekrosis akut dari hepatosit dengan eksudat fibrin dan infiltrasi dari populasi campuran sel-sel inflamatori yang mengandung heterofil, makrofag, limposit, dan beberapa sel plasma. Kadang-kadang adanya formasi granuloma ditemukan dalam hati, dikarakterisasikan dengan nekrosis dan akumulasi nekrosis debris dikelilingi oleh sel-sel raksasa multinukleat. Eksudat fibrin ada dalam kapsul hati bercampur dengan heterofil dan sel-sel inflamatori mononukleat. Dalam kasus kronis berkepanjangan, dimana nodul putih nampak didalam jantung, pematatan kronis pasif bisa terjadi di hati, dikarakterisasikan dengan adanya degenerasi hepatosit sekitar central veins dan interstitial fibrosis.

Dalam tahap akut, limpa nampak memiliki eksudat fibrin didalam sinus vascular, dan pada tahap akhir terjadi infiltrasi multifokal dari sistem sel-sel pagosit mononuclear yang mengakibatkan limpa berwarna putih coreng pada uji gros

lesionnya. Sekum dapat mengandung sisa-sisa nekrosa perkejuan didalam lumen dan nekrosa mukosa dengan dengan infiltrasi heterofil masuk kedalam lamina propria. Didalam tahap akhir, heterofil bisa diganti oleh limfosit, makrofag dan sel-sel plasma yang dapat meluas masuk kedalam mukosa muskuler dan lapisan muskuler. Inflamasi fibrinosuppuratif dan pyrogranulomatus berasosiasi dengan bakteri dalam jumlah banyak ditemukan didalam kantung kuning telur.

Serositis fibrinosuppuratif juga baru ditemukan dikarakterisasikan dengan eksudat dalam pericardium dengan memanjang masuk kedalam epikardium dan miokardium, dalam garis peritoneal, diatas serosa usus halus dan diatas pleura (selaput paru). Bagaimanapun karakteristik yang paling nampak lesionya adalah yang ditemukan di jantung dan gizzard. Lesio ini dikarakterisasikan dengan focus ekstensif local dari nekrosa miofibrin dengan infiltrasi heterofil bercampur dengan beberapa limfosit dan sel-sel plasma. Dalam tahap akhir, sel-sel ini digantikan oleh sel-sel mononuclear uniform dari type histiocytic dengan nuclei vasikuler irregular dan dengan sedikit dilumuri oleh sitoplasma foamy eosinophilic. Sel-sel ini berada dalam lapisan padat, berbentuk nodules yang kadang-kadang menonjol dari permukaan epicardial. Seperti nodul, baik secara kasar ataupun mikroskopis akan rancu dengan tumor yang disebabkan oleh penyakit mareks. Proses yang sama dapat terlihat didalam gizzard dan pancreas. Mikroskopis lesio lainnya ditemukan pada anak ayam seperti fibrinoheterophilic panophthalmitis, pneumonia yang dikarakterisasikan dengan adanya infiltrasi dari campuran heterofil dengan makrofag dan sel-sel plasma didalam interstisium dan inflamasi fibrinosuppuratif dari synovium.

Lesio mikroskopis pada ayam dewasa seperti inflamasi fibrinosuppuratif sampai dengan pyogranulomatous pada folikel ovarium yang dikarakterisasikan dengan adanya nekrosa dan campuran inflamasi fibrinosuppuratif dengan bakteri didalam ovula untuk membentuk inflamasi pyogranulomatous kronis. Pada ayam jantan, nekrosa sel-sel epitel sepanjang tubula seminiferous diikuti dengan inflamasi fibrinosuppuratif. Perubahan lainnya termasuk bronchitis catarrha, enteritis, interstisiapneumonia dan nephritis.

III. AGEN PENYEBAB

3.1. Etiologi

S pullorum termasuk dalam keluarga bakteri enterobacteriae dan sangat tinggi adaptasinya terhadap host (inangnya). Bakteri tersebut tergolong dalam serogroup D sesuai dengan skema kauffman-whiite. Umumnya strain dari *S pulorum* sama pada level kromosom. Lebih lanjut dijelaskan berbeda dengan *S enteristis* yang juga masuk dalam kelompok D, perbedaanya terletak pada lokasi multilokus enzim. Garis keturunan *S pulorum* nampak lebih cepat berkembang dibandingkan dengan *S galinarum*.

Tabel 1. Klasifikasi S Pullorum

Filum	Proteobacteria
Section	γ proteobacteria
Kelas	Zymobacteria
Ordo	Enterobacteriales
Famili	Enterobacteriaceae
Genus	Salmonella
Spesies	Salmenolla enterica
Serovar	Gallinarum
Biovar	Pullorum

Sumber Madigan,T. (2000)

Baik *gallinarum* dan *pullorum* tumbuh cepat pada media beef agar atau beef broth atau media nutrien lainnya. Bakteri tersebut adalah aerobik dan anaerobik fakultatif dan tumbuh baik pada suhu 37 °C. S pullroum kadang-kadang juga gagal untuk tumbuh pada media selktif yang sudah pasti seperti Salmonella –shigela tetapi tumbuh secara nyata diatas agar bismuth sulphite dan MacConkay agar.

Kedua samonella tersebut baik tumbuh pada medium nonselektiv, tapi pada medium selektiv yang kaya nutrien akan mengandung bahan-bahan yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain. Untuk efisiensi digunakan medium selektiv dan non selektiv karena beberapa medium kompek mempunyai efek inhibitory tertentu dan bakteri ini bervariasi dalam koloninya.

Media noninhibitory termasuk NA dan BA, koloni akan tampak halus, translucent, capak /langsing, dan diamternya kurang lebih 2 mm.

Media-media selektiv seperti :

1. MacConkey agar :menghambat organisme nonenterik, membedakan bakteri yang memfermentasi laktosa, (berkoloni merah muda) dd yang nonfermenter (tidak berwarna). NaCl yang terkandung dpt menghambat koloni bakteri

proteus. Koloni salmonella halus dan tak berwarna. Koloni pullorum lebih kecil dari salmonella lainnya.

2. agar desoxycholate citrate : menghambat mikroorganisme nonenterik, Pulroum akan nampak berkoloni sangat kecil dan tumbuh tipis, sedangkan S gallinarum akan berkoloni lebih besar 2-3 mm. Bakteri proteus dapat tumbuh seperti psedomonas.
3. agar brilliant green : menghambat coliform dan hampir semua starin proteus, baik untuk membedakan koloni mo enterik.
4. Agar brilliant green sulphapyridine : menghambat coliform dan proteus, Sulphapyridine ditambahkan untuk menambah selektivitas kehadiran material-material telur.

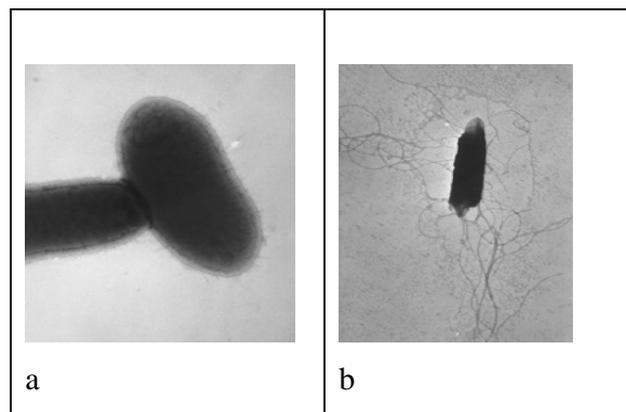
Media Liquid enrichment dan media selektif lainnya yaitu :

1. Selenite F Broth : menghambat coliform tapi tidak menghambat proteus. Dikembangkan dengan menambahkan brilliant green. Kehilangan aktifitas setelah 24 jam. Selenite csytein broth lebih stabil.
2. *Tetrathionate/brilliant green broth*: menghambat coliform dan proteus tapi meungkin juga menghambat pulroum dan gallinarum.
3. *Rappaport/Vassiliadis Soya Peptone broth*: untuk selektivitas pengkayaan yang mengikuti pra-pengkayaan. Menggunakan 1 bagian inokulum terhadap 100 bagian medium.

Koloni typical salmonella pada media noninhibitory berbentuk bundar, berkilai, spt kubah, halus dan 1-2 mm diamternya setelah 24-48 jam inkubasi. Pada media selktif tampak bervariasi. Koloninya dapat lebih lanjut diuji dengan cara serologis dan bikomia dan dilihat motilitasnya.

Setelah inkubasi 20-24 jam, subkultur distrek diatas NA, BA atau media selektif. Sebaiknya diuji secara hati-hati kehadiran koloni typical *S. pullorum* and *S. gallinarum*. Jika pertumbuhannya tipis setelah 24 jam makan diinkubasi lagi selama 24 jam diuji lagi. Untuk uji biokimia dan serologis dapat dikonfirmasi dari setiap palte, lima koloni dipilih untuk diuji. Jika ada koloni yang lebih dari koloni yang dimaksud maka diambil semua untuk diuji.. Kemudian di strek diatan NA dlam wilayah yg terpisah.

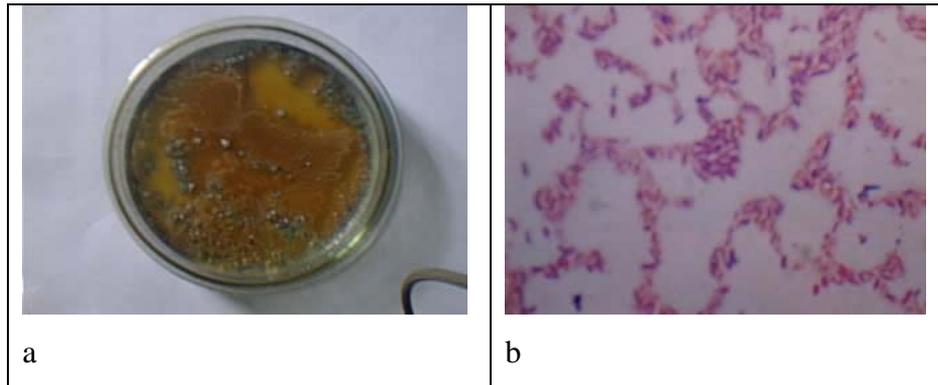
Namun pada kenyataannya, isolasi tidak menyesuaikan pada satu atau lebih dari sifat tersebut, sebagai contoh salmonella gallinarum dan Pullorum selalu nonmotil dan varian nonmotil dari serotip yang motil juga ditemukan. Laktosa dan sukrosa juga ada yang bisa difermentasi. Saat ini juga sudah ditemukan adanya S pullorum yang memiliki flagella dan bersifat motil, hal ini diduga terjadi peningkatan patogenitas pullorum didalam tubuh organisme inangnya. (Gambar 1).



Gambar 1. Salmonella pullorum yang tidak memiliki flagel (a) dan yang memiliki flagella (b). (McMARTIN, 1991)

Tidak adanya flagel dan sifat motilitas pada salmonella pullorum telah diketahui sejak 60 tahun yang lalu sampai akhirnya ditemukan adanya flagel dan kemampuan motilitas dari pulorum. Dalam kondisi khusus menurut Lisa (1998) salmonella pullorum dapat menghasilkan flagel. Dan saat ini sudah mulai dikembangkan pemurnian proteinnya untuk menghasilkan antisera komersial untuk menyerang salmonella yaitu antisera y flagella, a flagella sampai a falgella khusus untuk antibodi monoklonal. Karakteristik proteinnya ternyata tidak berbeda dengan flagel yang diproduksi oleh salmonella lainnya.

Salmonella pullorum dikategorikan dalam bakteri gram negatif saat dilakukan pewarnaan, karena koloninya tampak berwarna merah setelah dilakukan pewarnaan gram, hal ini tentunya menunjukkan bahwa kandungan lipid yang tinggi pada dinding selnya yang larut dalam alkohol dan aseton sehingga terjadi pemucatan dan berwarna merah muda. Disamping itu secara biokimia salmonella pullorum juga ternyata mempunyai kemampuan untuk mengikat besi, hal ini terlihat terjadi reaksi blackening diatas medium EMB.



Gambar 2 . Reaksi biokimia Blackening S Pullorum pada medium EMB dan penampakan koloninya pada pewarnaan gram. (Rofiq, 2002)

Virulency Salmonella Pullorum

Sedikit diketahui patogenesis penyakit pulorum, kemungkinan sehubungan dengan tingginya kesuksesan dalam pembasmian penyakit tersebut. Ragamnya bakteri salmonellae, termasuk *S. gallinarum* dan *pullorum*, yang mampu bertahan dan bermuktifikasi dalam macam-macam organ sehubungan dengan tidak diketahui mekenisme kontrol meliputi system retikuloendotelial. Pengamatan ini telah diperkuat saat *s. gallinarum* ditemukan masuk kedalam sel-sel fagosit didalam percobaan invitro. Lebih lanjut , *S. pulorum* menunjukkan terget kesukaannya pada bursa fabrisius terlebih dahulu untuk mengeluarkan respon imflamasi didalam usus halus anak ayam. Factor molekuler dari sifat patogen seperti adanya respon plasmid terhadap virulence dan factor virulence seperti gene palsmid viruluens dan gene invasi serta gen fimbrial. Virulence merupakan kemampuan relatif dari parasit yang menyebabkan penyakit, factor ukurannya adalah daya invasi dan daya racunnya (toxicity). Salmonella umumnya menggunakan kombinasi toksin dan factor virulens lainnya untuk meningkatkan sifat patogenitasnya yaitu :

1. Paling sedikit ada tiga macam toksin yaitu :
2. enterotoksin (AB) : menghambat sintesis protein dan mengakibatkan diare
3. Endotoksin
4. Cytotoksin (CT) : mengakibatkan hilangnya larutan dari sel, reaksinya diikuti dengan kehilangan Ca^{2+} dari sel.
5. Invasi bakteri menentukan sifat adherencenya atau sifat melekatnya bakteri pada permukaan sel. Faktornya adalah adanya antigen O Polysacharida pada

permukaan sel. Dan antigen H pada flagelanya. Adanya fimbria/flagella juga meningkatkan sifat adherencinya.

6. Antigen vi capsule (polysacharida) menghambat ikatan pelengkap dan membunuh media antibody
7. Gen Inv salmonella sedikitnya terkode 10 macam protein yang berbeda dalam inangnya masing-masing seperti : InvH, InvC, InvG, InvI, dan InvJ, dll.
8. Gen OxyR menetralsir oksigen racun yang dikeluarkan oleh makrofag, sehingga salmonella dapat hidup didalam sel makrofag.
9. Gen phoP dan phoQ menetralsir molekul antimikroba dari makrofag yaitu defensin dan menetralsis produk lainnya
10. Siderosphere, protein pengikat besi untuk reaksi pertama kali saat menginfeksi sel.

Siderophores dalam tubuh inang akan bersaing dalam memanfaatkan besi yang juga dibutuhkan dalam pembentukan darah dan pertumbuhan sel. Hal ini yang mendukung sifat adherencinya meningkat saat memasuki dan menempel pada permukaan sel inangnya. Reaksi pengikatannya seperti pada gambar dibawah ini.

Lipopolisacharida yang terdapat pada permukaan sel bakteri juga mengandung antigen O yang spesifik, pada bagian corenya terdiri dari ketoxyoctonate (KDO), 7 gula carbon (heptosa), glukosa, galaktosa, dan N asetylglusamin

Variasi Antigen

S pullorum memiliki Antigen O (antigen somatic) 1, 9 dan 12. variasinya meliputi antigen O 12 yang terjadi dalam *S pulorum*, menjadi 12₁, 12₂, 12₃, variasinya juga meliputi antigen somatic minor pada 12₂ dan 12₃. Strain standar dari *S pulorum* mengandung sedikit jumlah antigen O 12₂, tetapi varasi strain mengandung kedua antigen tersebut kebalikannya. Strain yang sedang biasanya merupakan campuran antigen 12₂ dan 12₃ pada koloni utamanya. Bagaimanapun analisis DNA fingerprint dari starin ini menunjukkan beberpa pertanyaan mengenai variasinya pada antighen somatic utama 12. strain juga kemungkinan bervariasi dalam antigen O 1.

Seperti umumnya pada amikroorganisme patogen lainnya, pulorum kehilangan virulence nya secara cepat pada media buatan, karena itu kultur sebaiknya dilewti dulu didalam inang alaminya sebelum dites patogenitasnya. Sifat patogen dari kultur

seperti itu terdapat dipelihara didalam lyophilised atau frozen state. Hal ini menjelaskan mengapa para peneliti bervariasi dalam melihat virulence salmonella ini.

IV. EPIDEMIOLOGY PULLORUM

Ayam adalah inang alami (natural host) untuk *S. pullorum* dan *S. gallinarum*, meskipun penyakit ini terjadi pula pada kalkun, puyuh, ayam mutiara, pheasants, burung pipit dan nuri. *S. pullorum* juga terjadi pada kenari dan bullfinch. Kelemahan dan kerentanan pada bebek, angsa dan merpati pada *S. gallinarum*, tetapi semua unggas tersebut tampak bisa menjadi resisten.. Pada beberapa jenis ayam terlihat ada perbedaan kerentanan seperti ayam white leghorn tampak lebih resisten dibandingkan dengan bangsa ayam tipe heavy breeds seperti RIR, NH atau persilangannya, perbedaan resistensi juga tampak pada unggas dalam satu bangsa (inbred lines). Persentase terbesar pada betina tampak tetap sebagai reactor, kemungkinan sehubungan dengan secara alami terulangi infeksi dari folikel ovarium. *S. pullorum* juga terjadi pada mamalia seperti simpanse, kelinci, marmut, chincilia, babi, kucing, serigala, anjing, babi, mink, sapi dan tikus liar.

Transmisi terjadi secara vertikal dan horizontal, secara vertikal terjadi melalui jalur transovarial. Sedangkan transmisi horizontal secara langsung terjadi karena adanya kontak antara ayam terinfeksi dan secara tidak langsung dari kontaminasi peralatan, kandang, litter dan pakaian anak buah kandang. Secara patogen mampu bertahan sampai lebih dari 1 tahun ditanah.

Unggas terinfeksi berfungsi sebagai carrier atau reactor berperan penting dalam tetapnya dan penyebarannya salmonella pullorum, unggas tidak hanya terinfeksi oleh generasinya sendiri tapi juga terinfeksi melalui telur. Terjadi karena adanya kontaminasi ovum sebelum ovulasi, metode lain dari transmisi seperti penetrasi kerabang, pakan kontaminan, kontak pada saat penetasan, brooder, kandang, lantai, kanibalisme, memakan telur, melalui angin ataupun kulit. Feses dan litter dari unggas terinfeksi juga dapat menjadi sumber penyebaran, kemudian manusia dan transportasi pakan. Penyebaran mekanis bisa melalui manusia, burung liar, lalat dan serangga lain.

S pulorum dan *Gallinarum* dapat bertahan selama beberapa tahun didalam lingkungan yang disukai, tetapi resistensinya lebih kecil dibanding dengan salmonella paratyphoid terhadap panas, kimia dan factor lingkungan yang merugikan.

Berchiery (1995) membuktikan pengamatannya terhadap persistensi dan transmisi vertical salmonella pullorum, diketahui bahwa Ayam petelur komersial yang diinokulasi dg *Salmonella enterica biovar Pullorum* pada umur 4 hari menunjukkan tidak ada morbiditas, tetapi infeksi yang dilakukan sampai produksi akan menghasilkan *S. Pullorum* yang mengkontaminasi telur dan menginfeksi keturunannya. Dalam garis keturunan ayam yang memiliki fenotip susceptible terhadap salmonella menunjukkan adanya lokalisasi *S. Pullorum* dalam saluran reproduksinya lebih besar dibanding dg fenotipe ayam yang tahan terhadap salmonella, tetapi menunjukkan daya tahan yang lebih besar terhadap kolonisasi salmonella di usus.

V. DIAGNOSIS PULLORUM

Perbedaan biasa terjadi dalam literatur veteriner antara penyebab infeksi oleh dua macam serovar host adapted yang nonmotil yaitu *S. Pullorum* dan *S. Gallinarum*, dan bakteri salmonella yang lainnya. Meskipun *S. pullorum* adalah nonmotil pada medium normal laborat, dia juga dapat menginduce dan menghasilkan flagella dan bersifat motil [Holt P.S. & Chaubal L.H. (1997)]. Pemisahan antara kedua jenis salmonella tersebut dibuat karena penting membedakannya dalam epidemiology, host range, virulence, diagnosis, dan pengukuran kontrol. Kedua macam serovar tersebut memiliki virulence yang tinggi pada kalkun dan ayam. Kauffman/White masih menunjukkan bahwa kedua serovar tersebut masih termasuk dalam satu serotype yaitu *S. gallinarum*.

Dalam bentuk akut, penyakit pulorum nyata pengaruhnya pada ayam-ayam muda dan agent tersebut dapat di ketahui melalui semua organ, jaringan dan feses. Sedangkan pada ayam dewasa menjadi carrier. Sebaliknya untuk penyakit typhoid nampak dapat diketahui pada ayam yang dewasa. Bagaimanapun yang terjadi pada ayam muda secara klinis tidak dapat dibedakan dengan penyakit pulorum. Pada unggas carrier, bakteri biasanya ditemukan di hati dan feses. Untuk mengetahuinya, unggas sebaiknya tidak diberi obat antimikroba selama 2-3 minggu sebelumnya.

Contoh dapat diperoleh dari unggas hidup, karkas segar atau beku, telur, feses segar, pakan, atau barang-barang lain yang terkontaminasi. Olesan kloaka bisa diambil dari unggas hidup. Contoh aspetik juga dapat diambil dari limpa, hati, ginjal, empedu, paru-paru, jantung, ova, testes, saluran pencernaan. Permukaannya di layukan dengan spatula panas dan contoh diperoleh dengan menyisipkan olesan kapas. Penampakan dari infeksi dalam secara serologi pada reaktor unggas yang tampak normal membutuhkan banyak kultur yang homogen baik dengan swab ataupun tanpa swab (olesan). Kumpulan jaringan tersebut dikumpulkan dari beberapa unggas.

Sample dari litter dan feses untuk mendapatkan pulorum akan lebih sulit dibandingkan dengan salmonella lainnya. Oleh karena itu seharusnya sample diperoleh dari litter yang basah atau kering dan olesan terbuka dari minumannya.

Pakan yang akan diuji salmonella akan lebih representatif jika diambil sampelnya dari beberapa tempat yang mewakili seperti ukuran partikel, yang diambil secara aseptis dari penyimpanan atau kendaraannya.

5.1. Pengambilan Sample *S pullorum*

Metode untuk mengumpulkan kembali pulorum dan gallinarum bervariasi tergantung pada contoh aslinya. Sekalipun isolasi dari olesan kloaka dan feses mungkin tidak menghasilkan, uji jaringan yang diambil setelah kematian biasanya sukses. Metodenya sebagai berikut :

1. *Cloacal swabs and fresh faeces from live birds*: swabs direndam dalam nutrient broth , swabs kecil digunakan untuk anak ayam. Kemudian di streak ke medium selektif, nonselektif dan broth enrichment. Diinkubasi 37 °C, pada suhu ini proteus dan pseudomonas akan terhambat . Suhu yang lebih tinggi 41.5 °C digunakan untuk medium broth seperti Rappaport/Vassiliadis, tetapi kehati-hatian perlu dilatih karena medium pengkayaan kadang sangat menghambat. Subkultur yang dibuat pada medium selektif selama 24 – 48 jam.
2. *Gall-bladder contents*: swabs dari kandungan gall-bladder di streak diatas medium nonselective dan selective serta ditempatkan pada broth inhibitory dan noninhibitory, diinkubasi pada 37°C dan subculture diatas agar inhibitory agar setelah 24 dan 48 hours

3. *Organs and tissues*: swabs are diambil dari jaringan individu dan bagian yang rusak dan dikultur pada medium nonselective dan selective, serta broth nonselektif ataupun selektif. Inkubasikan pada 37°C dan disubkultur diatas agar selektif setelah umur 24 – 48 jam. Bahan usus dalam inhibitory broths sebaiknya diinkubasi pada suhu 40°C; *S. gallinarum* tumbuh baik tapi ada kemungkinan penghambatan pada *S. pullorum* pada suhu ini.
4. *Carrier birds*: Dalam hal ini diperlukan jumlah sample yang banyak. Yang seharusnya dites untuk pulroum adalah ova, liver dan gall-bladder. Jaringan dihomogenkan dalam sedikit broth dan secara langsung dipindahlkn ke dalam plate. Kira-kira 10 ml ditambahkan kedalam 100 ml enrichment broth (e.g. selenite F broth, brilliant green broth), dan inkubasi pada suhu 37°C; kemudian disubkultur setelah pada agar selektiv setelah 24 jam.
5. *Saluran pencernaan, termasuk kandungan usus*: Setelah digiling atau dihogensiasikan dalam sedikit larutan broth, 10 mlnya diinkubasikan kedalam 100 ml enrichment broth pada suhu 37°C. Jika medium Rappaport/Vassiliadis digunakan rasionya menjadi 1:100. dan diinkubasikan pada suhu 40°C dan disubkultur setelah 24 dan 48 jam.
6. *Permukaan Kerabang telur*: Telur diletakkan dalam kantung plastik yang mengandung 25-50 ml enrichment broth (e.g. selenite F broth) dan permukaannya dirunut melalui dinding luar kantung. Broth diinkubasikan pada suhu 37°C dan dikultur pada medium selektif setelah 24 – 48 jam.
7. *Kandungan telur*: Kandungan telur segar dihomogenkan dan dicampurkjan dengan 100-200 ml of nutrient broth, inkubasi pada suhu 37°C, kemudian disubkultur setelah pada agar nonselektiv dan selektif agar setelah 24 jam. Telur yang diinkubasi, jika infertik atau mengandung sedikit embrio diperlkuakan sama seperti diatas. Atau 10 ml kandungan homogennya dicampurkan dengan th 100 ml of enrichment broth, inkubasi pada suhu 37°C, dan dikultur pada agar selektif setelah 24 – 48 jam.
8. *Embryos*: swabs sebaiknya diambil dari yolk sacs dari embrio yang berkembang baik. Dan di strek diatas media nonselektif dan selektif agar, Satu olesan/swab dapat menjadi/ditempatkan dalam 10 ml nonselective dan

- enrichment broth (e.g. selenite F broth, brilliant green broth). Inkubasi pada suhu 37°C, kemudian disubkultur setelah pada agar selektif setelah 24-48 jam.
9. *Hatchery fluff and dust*: Beberapa gram sample dicampur dengan 50-100 ml nonselective dan enrichment broth (e.g. selenite F broth), inkubasi pada suhu 37°C, dan kemudian disubkultur setelah pada agar selektif setelah 24-48 jam.
 10. *Floor and nest litter*: 2-3 g sample dicampur dengan with 50-100 ml enrichment broth (e.g. selenite F broth, brilliant green broth), inkubasi pada suhu 40°C, dan disubkulture pada media selektif setelah 24-48 jam.
 11. *Pakan Unggas*: 25 g dicampur dengan 225 ml buffered peptone water, inkubasi lebih dari 1 malam pada suhu 37°C, disubkultur di dalam enrichment broth dan setelah 24 dan 48 jam disubkultur diatas media agar selektif. Bisa juga diuji dengan metode electrical conductance.

5.2. Identifikasi agent

Koloni typical salmonella pada media noninhibitory berbentuk bundar, berkilat, seperti kubah, halus dan diameternya 1-2 mm setelah 24-48 jam inkubasi. Pada media selektif tampak bervariasi. Koloninya dapat lebih lanjut diuji dengan cara serologis dan biokimia dan dilihat motilitasnya.

Setelah inkubasi 20-24 jam, subkultur distrek diatas NA, BA atau media selektif. Sebaiknya diuji secara hati-hati kehadiran koloni typical *S. pullorum* and *S. gallinarum*. Jika pertumbuhannya tipis setelah 24 jam makan diinkubasi lagi selama 24 jam diuji lagi. Untuk uji biokimia dan serologis dapat dikonfirmasi dari setiap plate, lima koloni dipilih untuk diuji. Jika ada koloni yang lebih dari koloni yang dimaksud maka diambil semua untuk diuji. Kemudian di strek diatas NA dalam wilayah yang terpisah.

Selanjutnya dapat pula di strek di medium: triple sugar iron (TSI) agar; lysine iron agar (or l-lysine decarboxylation medium); urea agar Christensen; tryptone/tryptophan medium untuk reaksi indole; glucose dengan tabung durham untuk uji asam dan produksi gas; dulcitol, maltose, ornithine decarboxylation medium dan semisolid agar, untuk uji motilitas. Reakasi-rekasi yang terjadi seperti pada tabel dibawah ini.

Tabel 1 . Sifat biokimia yang terinvestigasi pada *Salmonella pullorum* dan *Salmonella gallinarum* (OIE, 2001)

Sifat	<i>Salmonella pullorum</i>	<i>Salmonella gallinarum</i>
TSI glucose (acid formation)	+	+
TSI glucose (gas formation)	v	-
TSI lactose	-	-
TSI saccharose	-	-
TSI hydrogen sulphide	v	v
Gas from glucose (medium with Durham tube)	+	-
Urea splitting	-	-
Lysine decarboxylation	+	+
Ornithine decarboxylation	+	-
Maltose fermentation	- or late	+
Dulcitol	-	+
Motility	-	-

+ = 90% atau lebih reaksi positif dalam 1 atau 2 hari; - = tidak ada reaksi (90% atau lebih) v = reaksi bervariasi

Kit untuk identifikasi secara komersial sudah tersedia, sebagai contoh Analytical Profile Index (API) system untuk Enterobacteriaceae. Sifat kehati-hatian mutlak diambil saat menggunakan API karena *S. pullorum* mungkin salah identifikasi sebagai *Hafnia* spp. Tes molekuler DNA teknik hibridisasi dan reaksi rantai polimerase dapat dikembangkan dijadikan metode selanjutnya.

Untuk konfirmasi serologis, koloni dari media nonselektif (NA dan BA) digunakan. Tahap pertama adalah mengurangi strain yang dapat secara otomatis

beraglutinasi. Untuk hal ini bahan diambil dari koloni tunggal dari kultur murni dan ditransfer ke slide gelas dan dicampur dengan satu tetes saline steril. Slide ini digoyang secara pasti selama 30-60 detik dan diamati aglutinasi dengan background gelap

Jika bakteri tergumpal masuk ke dalam lebih atau sedikit unit khusus, strain dipertimbangkan dapat beraglutinasi dan jangan dilanjutkan dengan tes lain. Jika contoh bakteri dinyatakan sebagai nonautoagglutinable, dapat dites dengan polyvalent 'O' (A-G) antiserum. Untuk tujuan ini, bahan dari koloni tunggal disebar dalam tetesan polyvalent 'O' antiserum di atas gelas slide untuk menghasilkan suspensi yang homogen dan keruh. Setelah penggoyangan secara keras selama 30-60 detik, reaksi diamati menentang aglutinasi yang berlatar belakang gelap. Jika reaksi +, koloni tunggal tsb di uji lanjut dengan menggunakan cara yang sama untuk *S. pullorum* and *S. gallinarum* serotypes (D antiserum). Setelah melakukan serogrouping, isolates bisa dikirim ke lab untuk dilakukan serotyping.

5.3. Uji Serologis

Beberapa uji serologis yang biasa digunakan adalah rapid whole blood agglutination, rapid serum agglutination, tube agglutination dan micro-agglutination. Baik *S. pullorum* dan *S. gallinarum* memiliki 'O' antigens 1, 9 and 12. Dalam kasus uji *S. pullorum*, ada variasi rasio antara antigen O 12₁, 12₂ and 12₃; Strain standar pullorum mengandung lebih banyak 12₃ daripada 12₂. Sejak tahun 1990 uji tes serologis pullorum dilakukan, tetapi masih salah dalam mendeteksi unggas yang terinfeksi pada tahap awal. Hal ini dikarenakan ada perubahan genetik yang menurut Dodson (1999) merupakan suatu perubahan temporal dalam populasi genetik salmonella pullorum. Data yang digunakan dari tahun 1930 sampai dengan 1980 dicatat dengan menggunakan Random Polymorphic DNA (RAPD), menghasilkan 8 pola DNA berbeda yang diidentifikasi dengan 1 dari 3 reaksi primer polimerasi RAPD, 62% memiliki pola sama dan nyata berbeda dengan salmonella serogroup B. sebanyak 85% dari isolat pullorum mempunyai gen virulence plasmid, spvB dan gen invasion InvA.

Richard (1995) melaporkan bahwa uji serologis standar dengan menggunakan antigen salmonella yang terbaru masih sama efektifitasnya dengan menggunakan antigen salmonella pullorum yang sudah lama (tradisional) dan yang ada dilapangan.

Hal ini dibuktikan dengan terdeteksinya infeksi salmonella pullorum terbaru dengan menggunakan uji antigen salmonella tradisional.

Richard (1998) juga melaporkan uji serologis dengan mengaplikasikan uji kekebalan berbasis flagella (flagella-based immunassay) dan menjadi salah satu alternatif metode untuk menguji adanya infeksi pulorum dalam sebuah peternakan. Hal ini dikarenakan efektifitasnya dapat mendeteksi 29-44% antibody yang berasal dari serum contoh.

Uji serologis dengan menggunakan uji ELISA (Enzym-linked immunosorbent Assay) menunjukkan korelasi yang bagus antara infeksi salmonella dan kehadiran serum contoh pada nilai Optical density (OD) yang tinggi, serum yang diuji dengan menggunakan serogroup D (0-1,9, dan 12), LPS, dan g,m-H flagella terdeteksi sebagai antigennya (Berchiery, 1995).

VI. PENCEGAHAN DAN METODE PENGAWASAN

Penyakit pullorum sedikit nyata pengaruhnya terhadap kesehatan umum, beberapa laporan menunjukkan adanya penyakit pulorum pada manusia akibat konsumsi makanan yang mengandung S pullorum. Gejalanya dikarakterisasikan dengan cepatnya serangan enteritis akut diikuti dengan kesembuhan yang cepat tanpa pengobatan.

Pencegahan dan pengawasan yang biasa dilakukan adalah dengan menggunakan prosedur manajemen, pengurangan hewan carrier, uji serologis dan vaksinasi. Prosedur manajemen yang dilakukan untuk mengurangi terjadi pullorum sebagai berikut :

1. Ayam yang dihasilkan dari sumber yang bebas dari pullorum
2. Tidak ada pencampuran kelompok unggas yang bebas pullorum dengan kelompok unggas yang dinyatakan bebas fowl typhoid.
3. Sanitasi kandang dan lingkungan
4. Menggunakan pakan berbentuk pellet atau crumble untuk mengurangi infeksi salmonella dalam pakan
5. Menggunakan program biosecurity untuk meminimalkan masuknya salmonella dari luar seperti : burung liar, tikus, kelinci, anjing, dan kucing. Pengontrolan serangga, menggunakan air minum portable, menggunakan

footwear dan pakaian yang selalu disterilisasi saat masuk kandang, perlengkapan, truk prosesing dan peralatan lain juga harus disterilkan dari infeksi salmonella.

Usaha pencegahan lainnya yaitu pengurangan ewan carriers dan melakukan uji tes serologis pada kelompok hewan yang diduga terinfeksi salmonella pullorum. Beberapa metode serologis telah semakin berkembang dengan semakin ditemukannya factor virulens pada agen penyebabnya.

Pengobatan tidak direkomendasikan, akan tetapi untuk mengurangi pengaruhnya maka saat ini sudah dilakukan pengobatan-pengobatan yang efektif yaitu obat propilactic dan teurapetic. Sulfonamid termasuk sulfadiazine, sulfamerazine, sulfathiazole, sulfamethazine dan silfaquinoxalin. Dosis untuk sulfadiazine, sulfamerazine, sulfathiazole maksimum diberikan 0,75% dari pakan tepung starter digunakan 5-10 hari setelah hewan masuk. Pada 5 hari pertama juga biasa diberikan sulfamerazine sebanyak 0,5%, dan sulfaquinoxaline digunakan 0,1% dalam pakan yang dapat digunakan untuk 2-3 hari.

Obat furazolidone dalam dosis 0,04% selama 10-14 hari memiliki efektifitas yang tinggi dalam mencegah kematian anak ayam. Dan beberapa antibiotik lainnya yang bisa digunakan untuk mencegah infeksi pullorum.

DAFTAR PUSTAKA

- Berchiery Jr. A., C. K. Murphy, K. Marston and P. A. Barrow. Observations on the persistence and vertical transmission of *Salmonella enterica* serovars Pullorum and Gallinarum in chickens: effect of bacterial and host genetic background. Avian Pathology : Taylorr and Francis LTd. 30 (3) : 221-231.
- Berchiery Jr. A., A. Maria IBA, P.A. Barrow. 1995. Examination by ELISA of Sera obtained from chicken breeder and layer flocks showing evidence of fowl typhoid or pullorum disease, Avian Pathology :24 : 411-420.
- Calnek, B. W., H.J. Barnes, C. W. Beard, L. R. McDougald and Y.M. Saif. Diseases of Poultry. 10 ed. IOWA State Univ. Press. Iowa, USA.
- Chmielewski R., Wieliczko A., Kuczkowski M., Mazurkiewicz M., Ugorski M. 2001. Genotypic analysis of Salmonella Gallinarum and Salmonella Pullorum strains isolated from laying hens. Avian Pathology :57 (10) : 697-776, 731-735.

- Christensen, J.P., J. E. Olsen and M. Bisgaard. 1993. Riobtypes of *Salmonella enterica* serovar Gallinarum biovars gallinarum and pullorum. *Avian Pathology*. 22 (4) : 725-738
- Dodson, SV. JJ Maurer, PS Holt and MD Lee. 1999. Temporal Changes in the ppopulations genetics of *Salmonella pullorum*. *Avian Diseases*. 43 (4) : 685 – 695. Amer Assoc Aviant Path, Univ Penn, New Bolton, USA.
- Lisa, C. H. and H. Peter S. 1998. Characterization of motility and identification of flagella proteins the avian pathogen *Salmonella pullorum*. *TEXTRAN* . United State Departement of Agr. Agric. Reseach Serv.
- Office International des Epizooties. 2001. Fowl typhoid and pullorum disease. OIE. Co. www.oie.int.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko and J. Parker. 2000. Brock : Biology of Microorganisms. 9 ed. Prentice Hall. Upper saddle River, NJ.
- Office International des Epizooties (OIE). 2001. Fowl typhoid and pullorum disease. OIE. Co. www.oie.int.
- Pinheiro, L. A. S., G. H. De Oliveira and A. Berchieri Jr. Experimental *Salmonella enterica* serovar Pullorum infection in two commercial varieties of laying hens. *Avian Pathology* 30 (2): 129 – 133. Taylor and Francis Ltd
- Richard .K G. 1998. Detecting Infections of chickens with recent *Salmonella pullorum* isolates using standard serological methods. *Textran USDA*.
- Richard, K., dan Peter S. Holt. 1998. Aplication of flagella-based immunoassay for serologic detection of salmonella pullorum infection in chickens. *Journal of Avian Diseases*. 42 : 807-811.
- Simmons G. C. and J. H. Bray. 1981. Pullorum Disease. SCA-ANIMAL HEALTH COMMITTEE. Australian Bureau of Animal Health.
- Silliker J. H. and D. A. Gabis. 1972. *Salmonella*. Advanced in Meat Reseach. Michigan : MacMillan Publ.1986.
- Shivaprasad H. L. 2000. Fowl typhoid and pullorum disease. *Rev. sci, tech. Off. Int. Epiz.*, 19 (2) : 405 – 424. France. Paris.
- USDA. 1998. Salmonellosis synonym Pullorum Disease. Article. <http://www.fsis.usda.gov/OA/background/bksalmon.htm>

