



Tersedia daring pada: <http://ejurnal.undana.ac.id/jvn>

Studi Kasus: Identifikasi Kasus Penyakit pada Ayam Broiler di Pasar Naikoten, Kota Kupang

Elisa Albertine Rahmita Deran Ola¹, Maria Aega Gelolodo²

¹Pendidikan Profesi Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang

²Bagian Mikrobiologi, Laboratorium Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang

Abstract

Keywords:

*Ayam,
Staphylococcus aureus,
Kota Kupang*

Diverse diseases can impede the development of the poultry industry; therefore, it is essential to identify and analyze the causes of these diseases through thorough examinations. Laboratory examinations of parasites, viruses, and bacteria are essential for the diagnosis of diseases in poultry. This procedure allows an improved diagnosis, enabling appropriate treatment administration and the design of preventative strategies to mitigate disease transmission risk. A white broiler chicken with a body condition score of 3/5 that was purchased at Pasar Naikoten in Kota Kupang is the case animal. The chicken has exhibited illness for five days, presenting symptoms including footpad wounds and swelling, lethargy, reduced appetite, weight loss, dull plumage, limping, and occasional neck deformity. A series of virology and bacteriology laboratory tests confirmed a positive diagnosis of Bumblefoot caused by *Staphylococcus aureus* infection, with a differential diagnosis of Newcastle disease based on clinical symptoms. Therapy was not conducted as the case chicken had already been sold by the trader; therefore, only educational efforts for sellers concerning the risk factors for disease occurrence were implemented.

Korespondensi:

gelolodo.m@staf.undana.ac.id

PENDAHULUAN

Ayam merupakan hewan unggas yang paling banyak dipelihara masyarakat Indonesia. Daging dan telur ayam merupakan jenis pangan penyumbang protein yang banyak dikonsumsi masyarakat. Keberhasilan usaha perunggasan, sangat dipengaruhi oleh kesehatan ayam itu sendiri. Menurut Schwartz (1977), bentuk infeksi yang bersifat akut pada ayam dapat menimbulkan kematian 60%, sedangkan bentuk kronis secara sporadis menimbulkan kematian 1-30% (Gordon, 1977). Banyaknya jenis penyakit dapat menimbulkan masalah dalam perkembangan industri perunggasan yang diklasifikasikan berdasarkan penyebabnya, yaitu cekaman (stres), kekurangan nutrisi, parasit, protozoa, bakteri, dan penyakit akibat virus. Penegakan dan penentuan penyebab penyakit pada industri perunggasan dianggap penting, maka sebagai seorang dokter hewan, dituntut perlunya melakukan pemeriksaan secara komprehensif.

Pemeriksaan laboratorium terhadap parasit, virus, dan bakteri berperan krusial dalam mendiagnosis penyakit pada ayam. Proses ini memungkinkan penegakan diagnosis yang lebih akurat, sehingga pengobatan dapat diberikan secara tepat serta langkah pencegahan dapat dirancang untuk menekan risiko penyebaran penyakit.

Dengan dukungan diagnosis laboratorium, kesehatan ternak ayam dapat dikelola dengan lebih efisien, yang pada akhirnya meningkatkan produktivitas dan keberlanjutan peternakan.

METODOLOGI

Waktu dan Lokasi

Pemeriksaan dilaksanakan pada tanggal 1-14 Desember 2023 yang meliputi survei, koleksi sampel, pengujian di laboratorium Bakteriologi, dan Laboratorium UPTD Veteriner NTT. Koleksi sampel dilaksanakan di Pasar Naikoten, Kota Kupang, pengujian laboratorium dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana dan Laboratorium UPTD Veteriner NTT.

MATERI

Alat

Alat yang digunakan dalam proses identifikasi bakteri yaitu mikroskop, *microwave*, autoclaf, *waterbath*, inkubator, tabung reaksi, rak tabung, cawan petri, *object glass*, gelas ukur, tabung duram, tabung EDTA, neraca digital, pipet tetes, ose, needle, kapas, *aluminium foil* dan bunsen.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam proses identifikasi bakteri yaitu sample bakteri, NaCl fisiologis, media *Mannitol Salt Agar* (MSA),

media *Nutrien Agar*, *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulfide Indol Motility* (SIM), reagen Kovacz, Pewarnaan gram (Kristal Violet, Lugol, Safranin, Alkohol 95%), larutan H_2O_2 , alkohol 70% , minyak emersi dan *aquades*.

METODE

A. Pengujian Laboratorium Virologi

Pengujian virologi dilakukan di UPT Veteriner Kupang untuk melakukan uji HA/HI pada penyakit *Newcastle disease* dengan menggunakan serum darah.

Prosedur pemeriksaan HA/HI :

- Ambil sampel serum dari unggas yang diduga terinfeksi virus
- Siapkan larutan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) sebagai larutan buffer untuk mencairkan serum.

1. *Hemagglutination Assay* (HA) = Serum diencerkan dalam beberapa konsentrasi mulai dari 2^{-1} hingga 2^{-8} menggunakan larutan buffer. Tambahkan 25 μ L antigen virus (dapat berupa virus yang telah diaktivasi) ke dalam sumur uji yang berisi larutan serum yang telah diencerkan. Campurkan dengan baik dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, periksa aglutinasi eritrosit. Aglutinasi menunjukkan adanya reaksi positif, yang menandakan interaksi antara antigen ND dan antibodi dalam serum.

2. *Hemagglutination Inhibition* (HI) = Serum yang telah digunakan dalam tes HA diencerkan lagi pada konsentrasi yang sama untuk tes HI. Tambahkan 25 μ L virus ND ke dalam sumur, lalu tambahkan 25 μ L dari masing-masing konsentrasi serum yang diencerkan. Campurkan dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, periksa apakah eritrosit mengalami aglutinasi atau tidak. Jika aglutinasi terjadi, berarti tidak ada inhibisi, yang menandakan titer antibodi rendah. Jika tidak terjadi aglutinasi, berarti ada

B. Pengujian Laboratorium Bakteriologi

Koleksi sampel

Koleksi sampel dengan melakukan swab pada luka di area footpad yang terbuka menggunakan cotton swab steril, kemudian dimasukan ke dalam tabung tertutup berisi larutan NaCl fisiologis lalu disimpan dalam transport swab container dan dibawa ke laboratorium. Kemudian sampel swab tersebut digoreskan pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) dan diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C (Fardiaz, 1993).

Pembuatan Media Kultur

1. Pembuatan media MSA

- Dimasukan aquades di dalam botol steril sebanyak 40 ml

- Ditimbang media sebanyak 4,44 gram kemudian dihomogenkan
- Dipanaskan larutan dalam *microwave* selama 1 menit
- Media agar kemudian dimasukan ke dalam autoklaf selama 15-20 menit dengan suhu 121°C
- Media dibiarkan dingin dan dituang ke dalam cawan petri secara aseptis dan dibiarkan sampai memadat
- Media diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

2. Pembuatan media *Blood Agar*

- Dimasukan aquades di dalam botol steril sebanyak 40 ml
- Ditimbang media sebanyak 1,6 gram kemudian dihomogenkan
- Dipanaskan larutan dalam *microwave* selama 1 menit
- Media agar kemudian dimasukan ke dalam autoklaf selama 15-20 menit dengan suhu 121°C
- Media dibiarkan dingin dan dituang ke dalam cawan petri secara aseptis dan dibiarkan sampai memadat
- Media diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

3. Pembuatan Media Pemurnian Nutrien Agar

- Dimasukan aquades di dalam botol steril sebanyak 40 ml

- Ditimbang media sebanyak 1,12 gram kemudian dihomogenkan
- Dipanaskan larutan dalam *microwave* selama 1 menit
- Media agar kemudian dimasukan ke dalam autoklaf selama 15-20 menit dengan suhu 121°C
- Media dibiarkan dingin dan dituang ke dalam cawan petri secara aseptis dan dibiarkan sampai memadat
- Media diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam (Rosidah, 2016).

Metode Kultur

1. Sterilisasi area kerja
2. Diambil sampel menggunakan ose steril kemudian dilakukan *streak* pada media MSA.
3. Kemudian koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media MSA diambil dan dikultur pada media pembiakan murni yaitu media Nutrien Agar. Selanjutnya koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media NA dikultur dengan teknik goresan pada media *Blood Agar* (BA) untuk melihat kemampuan hemolisis bakteri terhadap eritrosit.
4. Prosedur kultur bakteri dilakukan secara aseptis untuk menghindari kontaminasi.
5. Media kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C

Pengujian Bakteri

1. Pewarnaan gram bakteri

Prosedur yaitu, dicampurkan satu ose biakan bakteri dengan NaCl fisiologis yang telah diteteskan pada gelas objek kemudian dibuat preparat apus, dikeringkan dan difiksasi diatas api bunsen. Preparat apus ditetesi pewarna pertama kristal violet selama 2 menit, lalu dibersihkan menggunakan aquades dan kemudian ditetesi lugol selama 1 menit. Preparat apus dibersihkan lagi menggunakan aquades kemudian ditetesi alkohol 95% selama 1 menit. Selanjutnya alkohol 95%, dibersihkan menggunakan aquades dan diberi pewarna kedua yakni safranin selama 2 menit. Kemudian dibersihkan dengan aquades, dikeringkan dan diamati dibawah mikroskop.

2. Pengujian Biokimia

Pengujian Fermentasi Gula

Untuk menguji sifat fermentasi karbohidrat dari setiap mikroorganisme, mikroorganisme tersebut diinokulasikan ke dalam tabung yang mengandung medium karbohidrat, seperti *Triple Sugar Iron Agar*. Hasil akhir fermentasi dapat berupa asam dan gas atau hanya asam saja. Pembentukan asam ditunjukkan oleh perubahan warna indikator,

sedangkan gas yang terbentuk menyebabkan medium pecah. Sementara itu, produksi alkohol ditandai dengan munculnya warna hitam pada medium (Irianto, 2006).

Pengujian Indol

Untuk mendeteksi keberadaan indol yang dihasilkan oleh bakteri tertentu, dilakukan uji yang memanfaatkan kemampuan bakteri tersebut dalam memecah asam amino triptofan dan membentuk senyawa berbau tidak sedap yang disebut indol. Dalam pengujian ini, ditambahkan pereaksi Kovacs yang mengandung amil alkohol. Jika indol terbentuk, amil alkohol akan berubah warna menjadi merah. Uji ini digunakan untuk memastikan apakah bakteri tertentu memang menghasilkan indol. Hasil uji dianggap positif jika muncul warna merah, sedangkan jika warna yang terbentuk adalah jingga, maka hasilnya dianggap negatif (Benson, 2001).

Pengujian Katalase

Uji katalase dilakukan dengan meneteskan hidrogen peroksida (H₂O₂) pada kaca objek

yang bersih, kemudian biakan bakteri dioleskan ke permukaan kaca tersebut menggunakan ose. Setelah itu, suspensi dicampur perlahan dengan ose. Hasil positif ditunjukkan oleh *Staphylococcus sp.* dengan terbentuknya gelembung-gelembung udara, sedangkan *Streptococcus sp.* memberikan hasil negatif karena tidak ada gelembung yang muncul (Manu *et al.*, 2019).

Pengujian Motilitas

Uji motilitas menggunakan media SIM. Pertama, mengambil isolat mikroba pada media MSA dengan ose tajam. Selanjutnya, mikroba pada ose tajam tersebut ditusukkan pada media SIM, lalu diinkubasikan selama 24 jam, pada suhu 37°C. Bila terdapat pertumbuhan disekitar daerah tusukan berarti motilitas positif.

LAPORAN KASUS

Sinyalemen

➤ Data Pemilik

Nama Pemilik : Ibu Maria

Alamat : Pasar Naikoten

➤ Data Pasien

Jenis Hewan : Ayam Broiler

Jenis Kelamin : Jantan

Umur : ±1,5 Bulan

Warna : Putih

BCS : 3/5



Gambar 1. Ayam Kasus

Anamnesa

Ayam kasus merupakan ayam broiler yang diperjual belikan di Pasar Naikoten. Berdasarkan wacana dari pemilik ayam broiler dipelihara oleh penjual secara mandiri dengan status vaksinasi sudah di vaksin *New Castle Disease* dan belum diberikan antihelminth. Ayam broiler dipasarkan dan ditempatkan pada kandang bambu terbuka yang beralaskan kawat halus yang berdasarkan observasi kawat tersebut sudah berkarat dengan sanitasi yang kurang.

Pakan yang diberikan berupa pellet merk Charond Pokphand serta ketersediaan air yang *ad libitum* berasal dari keran air di pasar tersebut. Kondisi feeder dan drinker kurang bersih dan sudah berlumut. Populasi dalam satu kandang

sebanyak 8 ekor, dan menurut pemilik sekitar 1 minggu lalu 1 ekor ayam tetangga mati dengan gejala klinis mengantuk.

Berdasarkan keluhan pemilik, ayam terlihat sakit sejak 5 hari yang lalu dan menunjukkan gejala yaitu, nampak lesu, nafsu makan menurun, penurndan obot badan, bulu kusam, mengalami kepincangan, leher terlihat kadang membengkok. Berdasarkan observasi lingkungan pemeliharaan cenderung lembap, minim terkena matahari dan sanitasi buruk.

PEMERIKSAAN FISIK DAN TANDA KLINIS

Hasil pemeriksaan fisik dilampirkan pada tabel berikut;

Kondisi Umum	Ayam nampak lesu, kesulitan berjalan dan pincang, kadang terlihat kepala memutar, mengantuk, nafsu makan menurun.
Status Fisiologis	Suhu: 42°C, Frek nafas: 36x/menit.
Kondisi kulit & Bulu	Bulu kusam, kotor, rontok, pada area ventral abdomen terdapat kemerahan (eritema).
Jengger	Sedikit Pucat dan tidak ada perlukaan
Paruh	Simetris
Mata	Bersih tanpa ada perubahan abnormal
Pernafasan	Tidak terdapat leleran dari cavum nasal, takipnea, ayam sering melakukan mouth

	breathing
Ekstremitas	Kesulitan berdiri, berjalan pincang, terdapat luka, keropeng, dan terasa hangat pada footpad/ bantalan telapak kaki.
Pencernaan	Kloaka bersih dan konsistensi feses padat



Gambar 2. Perlukaan pada Footpad Ayam Kasus

DIAGNOSA & PROGNOSA

Diagnosa tentatif ayam kasus dicurigai mengalami *bumblefoot*, sementara diagnosa banding yang perlu dipertimbangkan berdasarkan gejala klinis yang nampak adalah *Newcastle Disease* (ND). Berdasarkan kondisi sementara prognosa pada kasus ini yaitu dubius.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Pemeriksaan Laboratorium Virologi

Pemeriksaan *Newcastle disease* dengan pendekatan pengujian HA dan HI yang telah dilakukan pada Laboratorium UPTD Veteriner NTT mendapati hasil seronegati.

B. Hasil Pemeriksaan Laboratorium Bakteriologi

Kultur Bakteri

Hasil Kultur pada Media *Manitol Salt Agar* (MSA)

Terkonfirmasi adanya perubahan warna media yang menandakan akibat adanya bakteri yang dapat memfermentasi manitol akan menghasilkan koloni berwarna kuning dan menyebabkan media di sekitarnya ikut berubah menjadi kuning.



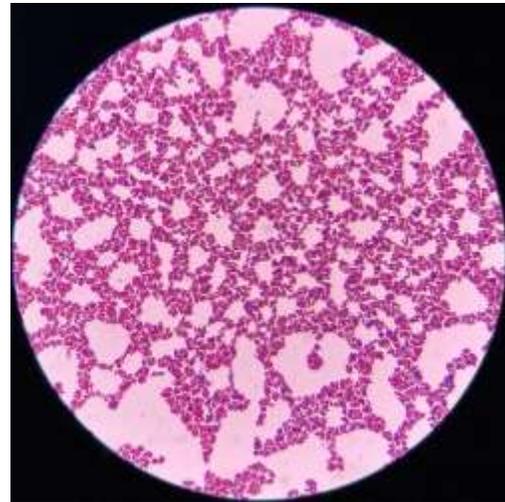
Hasil Kultur pada Media Nutrient Agar (NA)
 Pada media *nutrient agar*, *Staphylococcus aureus* membentuk koloni yang berukuran kecil, bulat, halus dengan warna kekuningan atau abu-abu keputihan (Ahasan *et al.*, 2016). Sedangkan spesies *Staphylococcus* lain (non-aureus) biasanya membentuk koloni putih.



Hasil Kultur pada Media *Blood Agar* (BA)

Hasil kultur terkonfirmasi adanya zona hemolisis. *Staphylococcus aureus* patogen mampu menghemolisis eritrosit sehingga pada media BA akan terlihat zona *hemolisis* di sekitar koloni (Divyakolu *et al.*, 2019). Terlihat media *Blood*

jernih artinya terjadi hemolisis sel-sel darah secara lengkap disebut juga hemolisis Beta.



Pewarnaan Bakteri

Hasil pewarnaan gram dari kultur bakteri pada media MSA

Pewarnaan Gram terkonfirmasi menunjukkan bakteri berwarna ungu, bentuk kokus, dengan ciri tersebut mengindikasikan bakteri Gram positif yang merujuk pada *Staphylococcus aureus*. Selaras dengan Wahyuni (2022), yang menyatakan, *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri Gram positif berbentuk kokus dengan warna ungu karena mempertahankan Kristal violet. Warna ini dipengaruhi dinding sel dengan peptidoglikan tebal (Dewi, 2013).

Pengujian Biokimia



Hasil Uji Fermentasi Gula

Hasil didapati terjadi perubahan warna merah menjadi kuning pada bagian tegak dan bagian miring media. Adanya perubahan pada indikator warna menunjukkan bahwa terjadi fermentasi Laktosa, Sukrosa dan Glukosa dan menghasilkan asam (Ahasan *et al.*, 2016). Tidak memproduksi gas. Tidak memproduksi H₂S.



Hasil Uji Indol

Untuk mendeteksi adanya Indol (Senyawa berbau busuk hasil pemecahan asam amino triptofan) yang dihasilkan suatu bakteri. Hasil menunjukkan warna yang dihasilkan oleh reagen Kovacz setelah bereaksi dengan bakteri adalah warna jingga, yang berarti negatif indol.



Hasil Uji Motilitas

Hasil uji motilitas memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri namun hanya pada daerah tusukan *needle* pada medium SIM, dan tidak ada pertumbuhan bakteri diluar daerah tusukan, yang menunjukkan bakteri bersifat non-motil.



Hasil Uji Katalase

Hasil menunjukan bahwa terbentuknya gelembung gas yang menandakan bahwa pada uji katalase bakteri menunjukan hasil positif. Hal ini sejalan dengan penelitian Sanu *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa kelompok

Staphylococcus memiliki sifat katalase positif.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan teridentifikasi *Staphylococcus aureus* pada footpad ayam broiler. *Staphylococcus aureus* yang bersifat *pathogen* menjadi salah satu bakteri yang menyebabkan infeksi akut pada beberapa jenis unggas seperti ayam broiler, ayam layer, dan beberapa jenis burung. Infeksi akut bakteri biasa disebut dengan *bumblefoot* (pembengkakan pada kaki) (Schwartz, 1977; Cooper dan Needham, 1981). Secara normal bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat di udara, di kulit, selaput mukosa hewan ataupun manusia. Populasi bakteri *S. aureus* yang tinggi dapat menimbulkan penyakit di dalam tubuh hewan (Hofstad *et al.*, 1978). *Staphylococcus aureus* dapat menyebar pada lingkungan yang mendukung perkembangan dan hidup secara alamiahnya. Lingkungan yang kotor merupakan salah satu faktor yang dapat meningkatkan

penyebaran *S. aureus*. Penularan penyakit *bumblefoot* terjadi akibat ayam terkena luka telapak kaki dan akhirnya terinfeksi akan terjadi akibat adanya *Staphylococcus aureus* pada lingkungan yang kotor. Ciri bakteri ini terlihat jelas dengan melihat reaksi koagulase dan dapat menghasilkan beta hemolisin (Krieg *et al.*, 2010).

Hasil pengujian pada laboratorium bakteriologi yaitu, pada media MSA nampak adanya perubahan warna kuning yang menjadi ciri khas bakteri *Staphylococcus aureus*. Menurut Todar (2002), *S. aureus* yang ditumbuhkan pada media MSA akan mengubah warna media dari warna merah menjadi warna kuning akibat proses fermentasi manitol. Zona kuning menunjukkan adanya fermentasi mannitol, yaitu asam yang dihasilkan akan menyebabkan perubahan *phenol red* pada agar berubah dari merah menjadi berwarna kuning (Austin, 2010).

Pada media *nutrient agar*, koloni bakteri yang tumbuh berwarna kuning. Hal ini

selaras dengan penelitian Ahsan *et al.*, (2016), yaitu *Staphylococcus aureus* membentuk koloni yang berukuran kecil, bulat, halus dengan warna kekuningan atau abu-abu keputihan (Ahasan *et al.*, 2016). Warna kuning pada koloni *Staphylococcus aureus* di media nutrient agar disebabkan oleh produksi pigmen lipochrome yang disebut staphyloxanthin. Pigmen ini memberikan warna kuning keemasan yang khas pada koloni bakteri tersebut. Pigmen kuning tersebut membedakannya dari *Staphylococcus epidermidis* yang menghasilkan pigmen putih (Todar, 2002). Selain berfungsi sebagai pewarna, staphyloxanthin juga berperan sebagai antioksidan yang membantu bakteri melindungi diri dari stres oksidatif dan meningkatkan virulensinya. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat memproduksi tiga jenis pigmen, yaitu pigmen oranye, kuning dan putih (Salasia *et al.*, 2007). Pigmen kuning oranye yang diproduksi *S. aureus* dikaitkan dengan tingkat virulensi (Liu *et al.*, 2008).

Hasil kultur pada media *Blood agar* (BA), terkonfirmasi karakter hemolisis yang ditampilkan oleh *Staphylococcus aureus* yang teridentifikasi menunjukkan adanya zona hemolisis. Hemolisin merupakan enzim yang bersifat toksik, dapat melisiskan sel darah merah, berperan dalam meningkatkan permeabilitas sel, sehingga sel lebih rentan terhadap agen infeksi. Hemolisin pada *Staphylococcus aureus* berperan sebagai faktor patogenisitas dan merupakan salah satu toksin penting yang dibentuk oleh *Staphylococcus aureus* (Khusnan, 2012). *Staphylococcus aureus* patogen memproduksi *Alpha-hemolisin* yang mampu menghemolisis eritrosit sehingga pada media BA akan terlihat zona *hemolisis* di sekitar koloni (Divyakolu *et al.*, 2019). *Alpha-hemolisin* adalah sebuah protein yang membentuk pori pada membran sel eritrosit, sehingga menyebabkan lisis secara lengkap di sekitar koloni bakteri (Todar, 2020). Lisis lengkap akan menghasilkan zona bening di

sekitar koloni pada media BA, yang disebut *beta-hemolisis* (Yuwono, 2012).

Hasil pewarnaan gram dari kultur bakteri pada media MSA terkonfirmasi menunjukkan bakteri berwarna ungu, bentuk kokus, dengan ciri tersebut mengindikasikan bakteri Gram positif yang merujuk pada *Staphylococcus aureus*. Selaras dengan Wahyuni (2022), yang menyatakan, *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri Gram positif berbentuk kokkus dengan warna ungu karena mempertahankan Kristal violet. Warna ini dipengaruhi dinding sel dengan peptidoglikan tebal (Dewi, 2013). Selain itu, Lay (1994) menyatakan bahwa bakteri Gram positif pada pewarnaan Gram berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat aseton alkohol, sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah karena kompleks tersebut larut pada saat pemberian larutan pemucat aseton alkohol sehingga mengambil warna merah safranin. Menurut Fitri

dan Yekki (2011) perbedaan warna pada bakteri Gram positif dan Gram negatif menunjukkan bahwa adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua jenis bakteri tersebut. Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal sedangkan bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi. Sadriani (2015), menyatakan bahwa perbedaan reaksi bakteri terhadap pewarnaan Gram disebabkan bakteri Gram positif memiliki dinding sel tebal yang terdiri dari peptidoglikan dan asam teikoat yang akan menyebabkan pori-porinya menutup dan mencegah keluarnya kompleks pewarna primer pada saat pembilasan Gram (alkohol asetoin).

Pengujian biokimia yaitu dilakukan pengujian fermentasi gula dengan media TSIA yang dilakukan untuk mengetahui komponen bakteri dalam menghasilkan H₂S (Sari dkk, 2022) dan memfermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa, monosa, maltosa, dan sukrosa (Harda, 2018). Menurut Murwani (2015), Fermentasi

merupakan proses metabolisme heterotrofik, memerlukan komponen organik untuk menghasilkan komponen-komponen kimiawi karena adanya pertumbuhan maupun metabolisme mikroba. Bao *et al.*, (2024) menjelaskan bahwa perubahan warna menjadi kuning pada media TSIA adalah penanda hasil positif untuk bakteri *Staphylococcus sp.* dalam mengfermentasi karbohidrat. Hasil ini mendukung dugaan bahwa *Staphylococcus sp.* dapat memfermentasi karbohidrat yang terdapat dalam media TSIA, meskipun bakteri ini tidak menghasilkan gas H₂S. Pada pengujian fermentasi gula didapati hasil yaitu, terjadi perubahan warna merah menjadi kuning pada bagian tegak dan bagian miring media. Adanya perubahan pada indikator warna menunjukkan bahwa terjadi fermentasi Laktosa, Sukrosa dan Glukosa dan menghasilkan asam laktat (Ahasan *et al.*, 2016) serta tidak memproduksi gas.

Pengujian biokimia dilanjutkan dengan pengujian SIM yaitu, uji yang memiliki tujuan untuk menganalisis tiga parameter penting pada

bakteri yaitu : motilitas, produksi indol, dan pembentukan gas H₂S. Tujuan dilakukan pengujian indol untuk mendeteksi kemampuan bakteri mendegradasi asam amino triptofan (Sari dkk, 2022). Triptofan merupakan asam amino esensial yang dapat dioksidasi oleh beberapa bakteri dan membentuk tiga produk akhir utama yaitu indol, asam piruvat, dan amonia. Triptofan akan mengikat reaksi indol sehingga dapat meningkatkan deteksi *Staphylococcus aureus*. Asam amino triptofan juga dapat berperan dalam jalur biosintesis pigmen, sehingga *S. aureus* mampu menghasilkan pigmen staphyloxanthin (warna kuning keemasan). Hasil menunjukkan warna yang dihasilkan oleh reagen Kovacz setelah bereaksi dengan bakteri adalah warna jingga, yang berarti negatif indol. Interpretasi hasil negatif pada uji indol mengindikasikan ketidakmampuan *Staphylococcus aureus* dalam memecah triptofan menjadi indol karena tidak memproduksi enzim triptofanase. Pengujian motilitas juga dilakukan bertujuan mengetahui

kemampuan pergerakan bakteri. Hal ini dilihat dari sebaran pertumbuhan bakteri pada tempat inokulasi, maka uji tersebut menandakan hasil positif. Berdasarkan hasil pengujian motilitas memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri namun hanya pada daerah tusukan *needle* pada medium SIM, dan tidak ada pertumbuhan bakteri diluar daerah tusukan, yang menunjukkan hasil negatif (non-motil) dengan tidak adanya penyebaran bakteri di sekitar tempat inokulasi.

Pada pengujian katalase didapati hasil terbentuknya gelembung gas yang menandakan bahwa pada uji katalase bakteri menunjukkan hasil positif. Hal ini sejalan dengan penelitian Sanu *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa kelompok *Staphylococcus* memiliki sifat katalase positif. Khusnan, 2008 menyatakan uji katalase bertujuan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus sp.* dengan *Streptococcus sp.* dimana *Streptococcus* bersifat katalase negatif sedangkan *Staphylococcus* bersifat katalase positif. Katalase merupakan

enzim yang mengkatalisa penguraian hidrogen peroksida menjadi H^2O dan O^2 . Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut (Lay, 1994). Semua galur *staphylococcus* adalah katalase positif (Freney et al., 1999).

Berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium bakteriologi diagnosis utama ayam kasus adalah *bumblefoot* yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Secara normal bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat di udara, di kulit, selaput mukosa hewan ataupun manusia. Populasi bakteri *Staphylococcus aureus* yang tinggi dapat menimbulkan penyakit di dalam tubuh hewan (Hofstad et al., 1978). *Staphylococcus aureus* dapat menyebar pada lingkungan yang mendukung perkembangan dan hidup secara alamiahnya. Lingkungan yang kotor merupakan salah satu faktor yang dapat

meningkatkan penyebaran *Staphylococcus aureus*. Hal ini sesuai dengan kondisi lingkungan dan sanitasi kandang ayam kasus yang kotor dan kurang terjaga kebersihannya. Selain itu, kondisi *feeder* dan *drinker* dengan sanitasi yang buruk juga diduga berkorelasi terhadap kontaminasi yang terjadi. Penularan penyakit *bumblefoot* terjadi akibat ayam terkena luka telapak kaki dan akhirnya terinfeksi akan terjadi akibat adanya *Staphylococcus aureus* pathogen pada lingkungan yang kotor.

Infeksi *Staphylococcus aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Menurut Cooper dan Needham (1981), bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri yang menyebabkan infeksi akut pada beberapa jenis unggas seperti ayam broiler, ayam layer, dan beberapa jenis burung. Infeksi serius terjadi ketika resistensi inang melemah karena adanya perubahan dari inang yang memengaruhi imunitasnya. Salah satunya adalah perlukaan di permukaan kulit yang menyebabkan bakteri ini

berkembang cepat dan banyak sehingga bersifat patogen. *Bumblefoot* terjadi akibat luka terbuka yang berada di telapak kaki unggas yang terkontaminasi oleh *Staphylococcus aureus*.

Kulit yang terluka biasanya terjadi pada telapak kaki disebabkan oleh kandang kawat atau belahan bambu yang tajam, sehingga memungkinkan adanya inflamasi. Faktor risiko ini pun dicurigai pada kasus ini, dimana kondisi alas kandang terbuat dari kawat yang berdasarkan observasi dalam kondisi berkarat.

Penyakit *bumblefoot* dapat dikategorikan ke dalam tiga tahap, yaitu luka pada dampal kaki ayam dan tanda kemerahan timbul dalam beberapa waktu ke depan. Tahap ini bisa diatasi dengan pemberian krim pada kaki ayam. Tahap berikutnya, bagian merah di kaki ayam semakin meluas. Akibatnya, kaki ayam menjadi tidak stabil dan diperlukan penggunaan antibiotik. Tahap ketiga yaitu, muncul *bumblefoot* dengan ukuran yang lebih besar bisa mengakibatkan ayam lumpuh dan jika tidak ditangani dari awal akan mengakibatkan

kematian. Berdasarkan observasi dan pemeriksaan secara fisik, ayam kasus dikategorikan pada tahap tiga yaitu, mengalami kebengkakan, kesulitan berjalan, dan kesulitan mengakses makanan yang memungkinkan memperparah kondisi ayam kasus.

Menurut Murtidjo (1992), terjadinya peningkatan infeksi *Staphylococcus aureus* umumnya disebabkan karena kurangnya pemahaman peternak tentang manajemen pemeliharaan ayam yang benar dan sehat. Infeksi *Staphylococcus aureus* yang menyebabkan *bumblefoot* akan meningkat apabila peternak menggunakan lantai kandang yang padat, keras, dan lembab. Lantai kandang yang terbuat dari kawat yang sudah berkarat oleh penjual diduga sebagai pemicu atau penyebab terjadinya luka pada telapak kaki ayam. Luka kaki ayam nampak sudah berlangsung cukup lama dan tidak diobati sehingga menyebabkan *bumblefoot*. Sanitasi di dalam kandang dan sekitarnya juga sangat memengaruhi tingkat infeksi *Staphylococcus*

aureus penyebab *bumblefoot*. Sanitasi yang buruk dapat meningkatkan infeksi *Staphylococcus aureus* pada ayam jantan. Banyak infeksi dari *Staphylococcus aureus* yang terjadi akibat oportunistik (infeksi sekunder), biasa juga terjadi akibat adanya trauma ataupun immunosupresi.

SIMPULAN

Berdasarkan segala rangkaian pemeriksaan laboratorium yang telah dilakukan ayam kasus dengan *suspect bumblefoot* terkonfirmasi agen etiologinya yaitu positif infeksi *Staphylococcus aureus*. Sedangkan pengujian virologi dengan pendekatan HA/HI untuk mendeteksi penyakit *Newcastle Disease* dinyatakan hasil seronegatif, yang menggambarkan adanya reaksi serum negatif terhadap penyakit *Newcastle Disease*.

Adapun saran yang dapat diberikan sehubungan dengan kejadian penyakit ini adalah:

- Bagi peternak disarankan untuk meningkatkan manajemen biosecurity dan biosafeti khususnya memperhatikan status hygiene dan sanitasi kandang, *feeder* dan *drinker*.
- Penggunaan dan pemilihan konstruksi serta bahan kandang disarankan memperhatikan aspek keamanan dan kenyamanan bagi ternak

guna mencegah trauma yang menjadi faktor risiko terjadinya *bumblefoot*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adejuwon, A.O., Ajayi, A.A., Akintunde, O.O. and Olutiola, P.O., 2010. Antibiotics resistance and susceptibility pattern of a strain of *Staphylococcus aureus* associated with acne. *International Journal of Medicine and medical sciences*, 2(9), pp.277-280.
- Ahasan, M.D., Rahman, M.M., Islam, M.A., Khatun, M. & Islam, M.A., 2016. Characterization of staphylococcus species isolated from livestock, poultry and human. *International Journal of Applied Research*, 2(1), pp.40-47.
- Austin, T.X. (2010) Manitol salt agar. Austin Community College District. http://www.austincc.edu/microbugz/html/mannitol_salt_agar.html. [22-03-10].
- Cooper, J.E. and J.R. Needham. 1981. The starling (*Sturnus vulgaris*) as an experimental model for Staphylococcal infection of the avian foot. *Avian Pathol.* 10(3):273-279.
- Dewi, A. K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicilin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Etawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Grimulyo, Kulonogoro, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner.* 31(2) : 138-150.
- Divyakolu, S. Rosy Chikkala, Kamaraju Suguna Ratnakar, Venkataraman Sritharan., 2019. Hemolysins of *Staphylococcus aureus*—An

- Update on Their Biology, Role in Pathogenesis and as Targets for Anti-Virulence Therapy. *Advances in Infectious Diseases*, 9, pp.80-104. DOI: 10.4236/aid.2019.92007.
- Ekaningtias, M., Wuryastuty, H., & Wasito, W. (2017). Pendekatan Diagnosis Avian Influenza Virus dan Newcastle Disease Virus pada Kasus Lapangan Ayam Petelur: Imunopatologis Streptavidin Biotin. *Jurnal Sain Veteriner*, 35(1). <https://doi.org/10.22146/jsv.29299>
- Fadillah, R. 2011. Mengatasi 71 Penyakit Ayam. Agro Media, Jakarta. Gordon, R.F. 1977. Avian Staphylococcal Infections. Bailliere Tindall, London.
- Freney, J., Kioos, W.E., Hajek., and Webster, J.A. (1999) Recommended minimal standard for description of new Staphylococcal species. *Int. J. Syst. Bacterio.* 49: 489-502.
- Ghiamirad, M., Pourbakhsh, A., Keyvanfar, H., Momayaz, R., Charkhkar, S., & Ashtari, A. (2010). Isolation and characterization of Newcastle disease virus from ostriches in Iran. *African Journal of Microbiology Research*, 4(23), 2492–2497.
- Harda, U. 2018. Sekilas Media Gula-Gula. www.academica.edu/9923615/sekilas-media-gula-gula (diakses pada tanggal 20 April 2025).
- Hartaputera, I. N. S. T., Suardana, I. B. K., & Nindhia, T. S. (2023). Perbedaan Titer Antibodi Penyakit Tetelo pada Ayam Pedaging yang Divaksinasi Umur Satu Hari dan 14 Hari. *Indonesia Medicus Veterinus*.
- Hassan AH, Hussein SA, Ahad EA. 2012. Pathological and bacteriological study of *bumblefoot* cases in Sulaimaniyah province. *J Al-Anbar Vet Sci* 5(1): 195-201.
- Hewajuli, D.A. and Dharmayanti, N.L.P.I., 2015. Peran sistem kekebalan non-spesifik dan spesifik pada unggas terhadap newcastle disease. *Wartazoa*, 25(3), pp.135-146.
- Hofstad, M.S., B.W. Calnek, C.F. Helmboldt, W.M. Reid, and H.W. Yoder Jr. 1978. Staphylococcosis. *Diseases of Poultry*. 7th ed. Iowa, USA.
- Krieg, N.R., W. Ludwig, W.B. Whitman, B.P. Hedlund, B.J Paster, J.T. Staley, N. Ward, and D. Brown. 2010. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2 nd ed. Vol. 4. Springer-Verlag, New York.
- Lay, W. B. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Liu CI, Liu GY, Song Y, Yin F, Hensler ME, Jeng WY, Nizet V, Wang AH, Oldfield E. 2008. A cholesterol biosynthesis inhibitor blocks *Staphylococcus aureus* virulence. *Science* 319 : 1391-1394.
- Lv, Y., Chen, J., Shang, W., et al. (2023). Loaded delta-hemolysin shapes the properties of *Staphylococcus aureus* membrane vesicles. *Frontiers in Microbiology*.
- Miller, P. J., & Koch, G. (2013). Newcastle disease. In *Diseases of Poultry* (13th ed., pp. 89–138).
- Murtidjo, B.A. 1992. Pengendalian Hama dan Penyakit Ayam. Kanisius, Jakarta. Poernomo,

- S. 1978. Staphylococcosis pada ayam petelur. Bulletin L.P.P.H. II. X(16):1-10.
- Murwani, Sri. 2015. Dasar-Dasar Mikrobiologi Veteriner. Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Peeters, B., P. Verbruggen, F. Nellisen and O. De Leeuw. 2004. The P gene of the Newcastle disease virus does not encode an accessory X protein. J. Gen. Virol. 5: 2375 – 2378.
- Salasia SIO, Widiasih DA, Khusnan, Sugiyono dan Anggraeni NS. 2007. Identifikasi dan karakterisasi Staphylococcus aureus dari berbagai produk pangan asal ternak. Seminar Klaster Riset, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Schwartz, L.D. 1977. Staphylococcus. Poultry Health Handbook. 2 nd ed. University Park, Pennsylvania.
- Suardana, I. B. K., & Putra, I. P. C. (2016). Isolasi dan Identifikasi Newcastle Disease Pada Ayam Buras. Universitas Udayana
- Susanti, W. G., Wicaksono, A., & Basri, C. (2021). Kejadian Kasus Penyakit Newcastle di Peternakan Ayam Buras di Kabupaten Barru. Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia, 26(3), 379-385. <https://doi.org/10.18343/jipi.26.3.379>
- Yusoff K, Tan WS. 2001. Newcastle disease virus: macromolecules and opportunities. Avian Pathol. 30:439-455.
- .