

GEJALA KLINIS DAN PATOLOGI ANATOMI PASCA INFEKSI *Campylobacter jejuni* PADA AYAM BROILER* [Clinical Symptoms and Pathology Anatomy due to Infection *Campylobacter jejuni* on Broilers]

Andriani¹✉ Mirnawati Sudarwanto², Surachmi Setiyaningsih²,
Harsi Dewantari Kusumaningrum³ dan Herwin Pisestyani²

¹Balai Besar Penelitian Veteriner (BBALITVET), Jln RE Martadinata 30, Bogor

²Fakultas Kedokteran Hewan dan ³Fakultas Teknologi Pangan-Institut Pertanian Bogor
e-mail: andribalitvet@gmail.com

ABSTRACT

Campylobacter spp. is a bacteria foodborne zoonotic agent that can infect humans and animals, especially birds. This bacteria can cause important problems in the public health since the beginning at the farm level, the level of retail and on the table. Poultry meat is the main source of contamination because the digestive tract of poultry is the predilection of *Campylobacter jejuni*. During this infection *C. jejuni* in poultry did not show typical clinical symptoms, making detection quite difficult to diagnose this disease at the farm level. Incidence infection of *Campylobacter* sp. in developed countries had 5-90%. Currently poultry production and consumption are predicted to still increase due to a high demand for low price protein. This research is conducted to determine the clinical and pathologic anatomy due to an infection of *C. jejuni* on chicken digestive tract. A total of 105-day-old chickens are divided into 3 groups, each consisting of 35 individuals. Group A was the control group (not infected) group B (infected with *C. jejuni* ATCC 33291), and group C (infected with field isolate of *C. jejuni*/C1). Infection of the chicken is done 0.5 ml peroral suspension concentration of 10^4 cfu/ml. Anova Duncan is used to analyze parameters of body weight, increase weight gain, feed consumption, FCR values. Kurskall Walis method used to analyze the parameters non-parametric form of the score changes in the macroscopic and microscopic intestinal and liver. Infection of *C. jejuni* changes the pathology anatomy of intestine i.e. hyperemia, enteritis and enteritis catharalis haemorrhagic. A microscopic change of intestinal is oedema, haemorrhage and infiltration of inflammatory cell. Changes of pathology anatomy liver are colour smeary, congesti, pale, fragile and necrotic. Microscopic changes of liver are degeneration and focal hepatic necrosis. Group observation infected by *C. jejuni* caused chicken cannot reach maximum body weight and can be detrimental to farmers because of increase of the value of the feed conversion ratio (FCR).

Key words: *Campylobacter jejuni*, clinical symptom, pathology anatomy, body weight, FCR.

ABSTRAK

Spesies bakteri *Campylobacter* adalah agen *foodborne zoonosis* yang dapat menginfeksi manusia maupun hewan, terutama unggas. Bakteri ini merupakan penyebab campylobacteriosis yang masih menjadi masalah penting dalam bidang kesehatan masyarakat baik di tingkat peternakan, penjualan (pasar) maupun pada tingkat makanan siap saji. Daging ayam merupakan sumber utama kontaminasi, karena saluran pencernaan unggas merupakan tempat predileksi *Campylobacter jejuni*. Selama ini infeksi *C. jejuni* pada ayam tidak memperlihatkan gejala klinis yang khas, sehingga deteksi penyakit ini di tingkat peternakan cukup sulit. Kejadian infeksi *Campylobacter* spp. pada ayam broiler di negara maju berkisar antara 5-90%. Saat ini produksi pangan unggas dan konsumennya diperkirakan terus meningkat seiring dengan tingginya kebutuhan sumber protein yang harganya relatif lebih murah. Tujuan penelitian ini dilakukan untuk mengetahui gejala klinis dan gambaran patologis anatomi (PA) pada saluran pencernaan ayam pasca infeksi *C. jejuni*. Sebanyak 105 ekor *day old chicken* (DOC) dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing terdiri dari 35 ekor. Kelompok A adalah kontrol (tanpa diinfeksi), kelompok B (diinfeksi bakteri *C. jejuni* ATCC 33291) dan kelompok C (diinfeksi *C. jejuni* isolat lapangan C1). Infeksi *C. jejuni* pada ayam dilakukan secara peroral suspensi konsentrasi 10^4 cfu/ml sebanyak 0,5 ml. Anova Duncan digunakan untuk menganalisa data hasil penimbangan bobot badan, penambahan bobot badan, jumlah konsumsi pakan dan nilai FCR. Metode Kurskall Walis digunakan untuk menganalisa data non parametrik berupa nilai skor perubahan makroskopis dan mikroskopis usus dan hati. Infeksi *Campylobacter* spp. menyebabkan adanya perubahan PA pada usus berupa hiperemi, enteritis dan *enteritis catharalis haemorrhagic*. Perubahan mikroskopis pada usus berupa edema, hemoragi dan infiltrasi sel radang. Perubahan PA hati adalah nekrotik hepatosit, hemoragi, pembendungan, warna belang, bengkak dan pucat serta rapuh. Perubahan mikroskopik hati berupa degenerasi dan *focal hepatic necrosis*. Kelompok ayam yang diinfeksi *C. jejuni* menyebabkan bobot badan tidak tercapai maksimal dan dapat merugikan peternak karena meningkatkan nilai *feed conversion ratio* (FCR).

Kata kunci: *Campylobacter jejuni*, gejala klinis, patologi anatomi, bobot badan, FCR.

PENDAHULUAN

Campylobacter spp. adalah salah satu bakteri patogen penyebab *emerging foodborne zoonoses*, selain bakteri *Salmonella* spp. dan *Escherichia coli* O157 (Trevejo *et al.*, 2005). Saat ini genus *Campylobacter* terdiri dari 17 spesies, adapun spesies lain yang mampu menyebabkan penyakit pada manusia

antara lain *C. fetus*, *C. coli*, *C. sputorum*, *C. concisus*, *C. curvus* dan *C. rectus* (Debruyne *et al.*, 2008), di mana *C. jejuni* dan *C. coli* merupakan spesies yang penting dan paling banyak dilaporkan menginfeksi manusia (Blaser dan Engberg, 2008; Lastovica dan Allos, 2008). Infeksi *Campylobacter* sp. pada manusia dapat menyebabkan gastroenteritis

(radang saluran pencernaan), *Guillain-Bare Syndrome/ GBS* (radang akut yang menyebabkan kerusakan sel saraf), dan artritis (radang sendi) pada manusia (Skirrow dan Blasser, 2000). Radang saluran pencernaan akut umumnya disertai gejala kram perut diikuti diare, diare berdarah, demam, sakit kepala, nyeri otot dan muntah (Blaser dan Engberg, 2008). Dosis infeksi pada manusia sangat rendah yaitu 50-500 sel *C. jejuni* (Hu dan Kopecko, 2003).

Hasil survey di Eropa dan Amerika Serikat, menemukan kasus campylobacteriosis lebih dari 1% per tahun. Pada tahun 1996, CDC melaporkan sebanyak 46% kasus campylobacteriosis (Altekruse et al., 1999). Kejadian campylobacteriosis di Denmark pada 2003 mencapai 66 per 100.000. Di Belgia, infeksi mikroorganisme patogen *Campylobacter* sp. merupakan penyebab utama penyakit yang ditularkan melalui makanan jumlah kasus sekitar 65 per 100.000 manusia. Menurut Vandeplass et al. (2008) penyakit diare yang disebabkan oleh infeksi *Campylobacter* spp. dapat menimbulkan dampak yang penting dalam bidang sosial ekonomi.

Penularan *Campylobacter* spp. secara vertikal pada ayam di peternakan ayam petelur, sangat jarang terjadi atau bahkan tidak mungkin terjadi. Hasil penelitian Sahin (2003) menunjukkan bahwa pada peternakan ayam petelur dan *hatchery* tidak ditemukan keberadaan *Campylobacter* spp., karena *C. jejuni* tidak dapat melewati *eggshell*. Infeksi pada ayam petelur menunjukkan keberadaan bakteri *C. jejuni* pada feses tapi negatif pada telur yang dihasilkan (Shane et al., 1986; Sahin et al., 2003).

Sumber utama infeksi pada manusia disebabkan karena mengkonsumsi daging ayam, daging sapi dan susu yang telah terkontaminasi (Yogasundram et al., 1989). Sebanyak 90% kasus disebabkan oleh *C. jejuni* dan 5% disebabkan oleh *C. coli*. Daging ayam dan daging sapi dapat berperan sebagai reservoir *C. jejuni* sedangkan *C. coli* banyak ditemukan pada babi (Boes et al., 2005). Kejadian Campylobacteriosis pada ayam broiler yang berhubungan dengan penularan atau penyebaran *C. jejuni* pada karkas sebagai sumber infeksi pada

manusia banyak dilaporkan. Menurut Lindqvist et al. (2000) dan Kramer et al. (2000), kontaminasi *C. jejuni* yang paling banyak terjadi adalah pada karkas ayam. Peternakan ayam yang terinfeksi *Campylobacter* sp. 50% sampai 98% dari ayam yang terinfeksi akan membawa mikroorganisme sampai ayam tersebut dipotong (Evans, 1992; Hanninen et al., 2000; Jacobs-Reitsma, 2000; Pearson et al., 2000), sehingga daging ayam merupakan sumber kontaminasi *Campylobacter* yang utama. Hasil penelitian di beberapa negara menyimpulkan bahwa suatu hal yang tidak mungkin untuk membangun peternakan ayam yang bebas *Campylobacter* (Bolton, 2007). Laporan dari *European Food Safety Authority* (EFSA) tahun 2005 prosentase peternakan ayam broiler yang terinfeksi *Campylobacter* sp. berkisar antara 5% hingga 90%. Kejadian infeksi oleh *Campylobacter* sp. pada peternakan ayam di Indonesia belum pernah dilaporkan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari akibat infeksi *Campylobacter jejuni* pada ayam broiler dengan mengamati gejala klinis dan perubahan patologi anatomi saluran pencernaan ayam broiler pasca infeksi *C. jejuni*, sehingga kejadian infeksi *C. jejuni* pada ayam broiler diketahui sejak awal di peternakan untuk menghindari terjadinya kerugian yang dialami oleh peternak serta mengurangi kejadian *foodborne disease* akibat kontaminasi silang mikroorganisme patogen *C. jejuni* pada karkas ayam yang dihasilkan.

MATERIAL DAN METODA

Suspensi Isolat *Campylobacter jejuni*

Bakteri *C. jejuni* yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat standar *C. jejuni American Type Culture Collection* (ATCC) 33291 dan isolat lapangan (C1) yang diperoleh dari sampel karkas ayam di wilayah Bogor. Isolat *C. jejuni* ditumbuhkan pada media selektif *Campylobacter Blood Free Selective Agar Base (modified CCDA-Preston)* dan diinkubasikan pada suhu 42°C pada kondisi mikroaerofilik (5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂) selama 48 jam. Selanjutnya dibuat suspensi kuman dengan konsentrasi 10⁴ cfu/ml dalam aquadest steril

dan diinfeksi pada ayam secara peroral.

Hewan Percobaan

Persiapan kandang

Kandang yang akan digunakan sebelumnya dilakukan desinfeksi menggunakan larutan formalin 37 %. Peralatan yang digunakan untuk memelihara ayam (tempat pakan dan minum) dilakukan desinfeksi menggunakan larutan desinfektan.

Persiapan DOC

Penelitian ini menggunakan ayam broiler berumur 1 hari (DOC) dari bangsa Cobb sebanyak 105 ekor. Sebelum diberikan perlakuan, ayam DOC diberi antibiotika melalui air minum selama 5 hari untuk memastikan tidak adanya infeksi bakteri patogen. Ayam DOC dibagi menjadi 3 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 35 ekor, yaitu kelompok A adalah kontrol negatif (tanpa infeksi), kelompok B (diinfeksi *C. jejuni* isolat standart ATCC (33291) dan kelompok C (diinfeksi *C. jejuni* isolat lapangan C1).

Infeksi Isolat C. jejuni

Infeksi *C. jejuni* pada ayam kelompok B dan C dilakukan secara peroral sebanyak 0,5 ml dengan konsentrasi 10^4 cfu/ml (dalam larutan NaCl fisiologis). Kelompok ayam kontrol diinfeksi 0,5 ml larutan NaCl fisiologis.

Pengamatan Performan

Parameter yang diamati adalah bobot badan, pertambahan bobot badan, jumlah pakan yang dikonsumsi (konsumsi kumulatif) dan nilai *feed conversation ratio* (FCR). Bobot badan diukur dengan menimbang bobot badan ayam setiap 7 (tujuh) hari. Pertambahan bobot badan ayam merupakan selisih bobot badan yang dihitung dengan melakukan pengurangan rata-rata bobot badan ayam pada saat itu dengan rata-rata bobot badan seminggu sebelumnya. Jumlah pakan yang dikonsumsi ayam setiap hari dihitung dengan melakukan penimbangan pakan yang diberikan dan sisa pakan.

Pengamatan Gejala Klinis

Gejala klinis diamati dengan parameter (a) konsistensi feses yang dikeluarkan untuk menunjukkan terjadinya diare dan (b) kondisi tubuh antara lain: lesu, sayap terkulai, bulu terbalik, kekerdilan.

Perubahan Patologi Anatomi (PA)

Perubahan PA pada organ usus dan hati diamati secara makroskopis dan mikroskopis dengan memberikan skoring berdasarkan perubahan yang diamati. Nekropsi dilakukan pada hari ke-1, 2, 3, 4, 5, 12 dan 19 pasca infeksi (pi), dari setiap kelompok diambil 5 ekor untuk dilakukan nekropsi.

Organ Usus

Perubahan yang diamati pada pemeriksaan organ usus secara makroskopis dilakukan dengan memberikan skor 0-4, yaitu 0 = tidak ada perubahan, 1 = hiperemi, 2 = enteritis kataralis, 3 = enteritis hemoragik, dan 4 = nekrotik. Adapun penilaian lesi secara mikroskopis dilakukan berdasarkan derajat perubahan 0-5 yaitu, 0 = tidak ada perubahan, 1 = hiperemi, 2 = edema, 3 = perdarahan, 4 = infiltrasi sel radang dan 5 = deskuamasi epitel.

Organ Hati

Perubahan yang diamati pada pemeriksaan organ hati secara makroskopis dilakukan dengan memberikan skor 0-4, yaitu 0 = tidak ada perubahan, 1 = hiperemi yang ditandai warna belang, 2 = membesar dan pucat, 3 = rapuh, 4 = pendarahan, dan 5 = nekrotik. Penilaian lesi secara mikroskopis dilakukan berdasarkan derajat perubahan 0-4, yaitu 0 = tidak ada perubahan, 1 = hiperemi, 2 = degenerasi hepatosit, 3 = infiltrasi sel radang, 4 = nekrotik hepatosit.

Reisolasi C. jejuni

Isolasi ulang *C. jejuni* dilakukan sebagai konfirmasi untuk mengetahui keberadaan *C. jejuni* pasca infeksi. Isolasi dilakukan pada setiap kelompok perlakuan dengan mengambil sampel berupa usus bagian jejunum pada hari ke 1, 2, 3, 4, 5, 12, dan 19. Usus dibuka menggunakan gunting dan dimasukkan dalam *buffered pepton water* (BPW) 0,1%. Sebanyak 2 ml suspensi dimasukkan ke dalam

media *Nutrient Broth* No. 2 dan dilakukan inkubasi pada suhu 42°C dalam kondisi mikroaerofilik selama 48 jam. Sebanyak 5 ml inokulum disentrifus 3000 rpm selama 20 menit sehingga diperoleh peletnya untuk uji PCR (Alexandrino et al., 2004).

Polymerase Chain Reaction/PCR

(Wang et al., 2002)

Primer yang digunakan untuk menentukan spesies *Campylobacter* adalah gen *fla* (GTA AAA CCA AAG CTT ATC GTGTCCA GCA ATG TGT GCA ATG), sedangkan gen *Hip O* (ACT TCT TTA TTG CTT GCT GC GCC ACA ACA AGT AAA GAA GC) untuk membedakan spesies *C. jejuni* dan *C. coli*. Amplifikasi DNA dilakukan pada mesin PCR dengan 35 cycle pada suhu *initial denaturation* 95°C selama 6 menit, *denaturation* 95°C selama 30 detik, *annealing* 59°C selama 30 detik, *extension* 72°C selama 30 detik dan *final extension* 72°C selama 7 menit. Produk PCR kemudian diperiksa dengan electrophoresis gel agarose. Agarose gel 1% dengan 1x TBE (*Tris Boric EDTA*) ditambah 5 ml

ethidium bromide solution dalam 100 ml. *Run electrophoresis* 150 volt selama 30 menit.

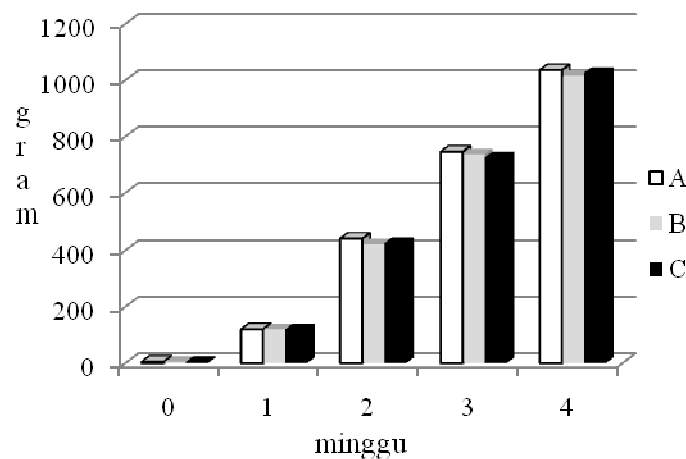
Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisa menggunakan Anova. Beda nyata antar-perlakuan dianalisa lanjut dengan Uji Duncan dan secara deskriptif disajikan dalam bentuk tabel dan grafik pada peubah bobot badan, konsumsi kumulatif, nilai FCR, berat relative hati dan reisolasi. Data non-parametrik pada peubah gejala klinis dan PA dilakukan analisa menggunakan uji Kurskall Walis (Mattjik dan Sumertajaya, 2002).

HASIL

Pengaruh Infeksi *Campylobacter jejuni* terhadap Performan Ayam Broiler

Bobot badan ayam mengalami peningkatan setiap minggu sesuai bertambahnya umur. Kelompok ayam kontrol dan perlakuan tidak menunjukkan perbedaan bobot badan pada pengamatan sampai minggu keempat ($P>0,05$) (Gambar 1).



Gambar 1. Rataan bobot badan (gram/ekor) pada kelompok A, B, dan C .

Tabel 1. Rataan pertambahan bobot badan/ekor (gram)

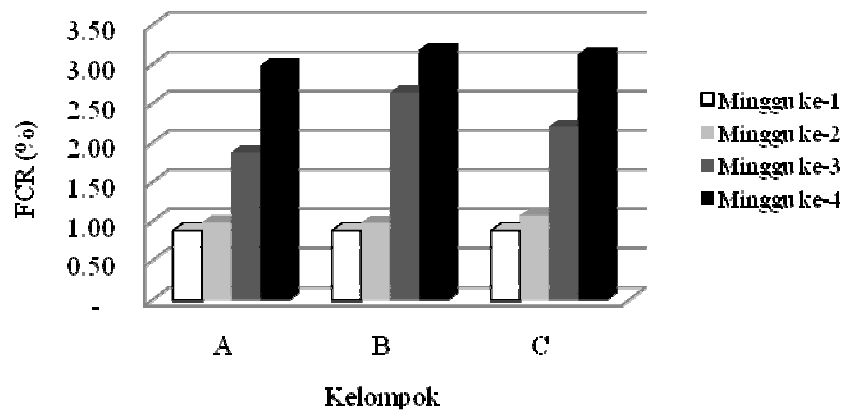
Kelompok	Waktu (Minggu)			
	1	2	3	4
A	115,00	342,00 ^d	320,00 ^c	300,00 ^{ab}
B	115,00	302,00 ^{ab}	294,00 ^a	292,00 ^a
C	115,00	306,00 ^{ab}	304,00 ^{ab}	290,00 ^a

Rataan pada kolom yang sama dengan huruf yang berbeda adalah berbeda nyata ($P<0,05$)

Tabel 2. Rataan konsumsi kumulatif/ekor (gram)

Kelompok	Waktu (Minggu)			
	1	2	3	4
A	101,56±0,00	331,83±0,31 ^{ab}	750,00±0,70 ^{cd}	954,55±0,08 ^{ef}
B	101,56±0,00	329,08±0,86 ^{ab}	745,88±0,72 ^c	947,52±0,12 ^e
C	<u>101,56±0,00</u>	308,12±0,27 ^a	751,43±0,73 ^{cd}	951,00±0,53 ^{ef}

Rataan pada kolom yang sama dengan huruf yang berbeda adalah berbeda nyata ($P < 0,05$)

**Gambar 2.** Nilai *Feed conversion ratio* (FCR)

Pertambahan bobot badan ayam pada minggu pertama pengamatan tidak ada perbedaan antara kelompok kontrol dan perlakuan ($P > 0,05$). Pengamatan minggu kedua sampai minggu keempat menunjukkan adanya perbedaan ($P < 0,05$) pertambahan bobot badan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol (Tabel 1).

Konsumsi kumulatif atau jumlah pakan yang dikonsumsi selama pengamatan juga tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) antara kelompok kontrol dan perlakuan (Tabel 2).

Nilai *feed conversion ratio* (FCR) pada masing-masing kelompok tidak menunjukkan perbedaan yang nyata $P > 0,05$ (Gambar 2). Namun pada kelompok perlakuan B yang diinfeksi menggunakan isolat standart *C. jejuni* ATCC 33291 dan kelompok C yang diinfeksi isolat lapang C1 memperlihatkan nilai FCR yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang tidak diinfeksi.

Pengaruh Infeksi *Campylobacter jejuni* Terhadap Gejala Klinis Ayam Broiler

Gejala klinis yang dapat diamati pada kelompok perlakuan B yang diinfeksi isolat *C. jejuni* ATCC 33291 dan kelompok C yang diinfeksi isolat lapang C1 adalah hampir semua ayam (80-100%) mengalami diare. Meskipun timbul gejala diare tetapi ayam tidak menunjukkan sakit ataupun lesu dan sayap terkulai. Pada hari ke-2 pasca infeksi kelompok perlakuan ini memperlihatkan diare berdarah dan semakin parah sampai hari ke-7. Gejala klinis berupa kekerdilan yang biasa nampak pada ayam yang terinfeksi *Campylobacter* spp. juga tidak terlihat pada kelompok ayam kontrol negatif (A) maupun ayam yang diinfeksi (B dan C). Kasus sindroma kekerdilan pada ayam pedaging di Indonesia sudah dilaporkan oleh Hamid *et al.* (1997) yang menyerang peternakan ayam pedaging dengan tingkat kejadian sekitar 20% (Syafriati *et al.*, 2001). Penyakit yang dikenal dengan nama *Infectious runting stunting syndrome* (IRSS), *malabsorbtion syndrome*

(MAS), *pale birds*, dan *helicopter disease* masih belum jelas agen penyebab utamanya. Hasil penelitian Syafriati et al., (2001) menunjukkan tingginya kasus kekerdilan pada ayam broiler. Noor et al. (2000) melaporkan bahwa agen infeksi virus kelompok *enterolike particles virus* diduga adalah penyebab utama penyakit kekerdilan dan akan menunjukkan gejala klinis yang nyata bila diikuti infeksi sekunder bakteri entero termasuk *Campylobacter* spp.

Perubahan Patologis Anatomi (PA) Saluran Pencernaan Ayam Broiler
Organ Usus

Pemeriksaan makroskopis usus pada kelompok B dan C yang diinfeksi *C. jejuni* memperlihatkan adanya peningkatan skor perubahan makroskopis (Tabel 3). Kelompok ayam yang diinfeksi *C. jejuni* isolat standart ATCC 33291 (B) dan isolat lapang C1(C) memperlihatkan adanya lesi berupa pembesaran *jejunum* (usus halus), *hyperemia*, *catarrhalis enteritis* dan *hemorrhagic enteritis* pada *jejunum* (Foto 1).

Hari pertama pasca infeksi pada semua kelompok ayam belum menunjukkan adanya perubahan anatomi. Stern et al. (1995) menyatakan bahwa ayam yang terinfeksi, sebagian besar *C. jejuni* dapat dideteksi pada usus dan feses selama 12 minggu (10^8 cfu/ g feses) tanpa memperlihatkan gejala klinis yang khas. Infeksi menggunakan dosis yang tinggi dapat mengakibatkan kolonisasi pada hari ke-1 dan kolonisasi pada sekum secara maksimal terjadi pada hari ke-5 dengan jumlah $8-9^{10}$ Log cfu/g (Knudsen et al., 2006; Shanker et al., 1988). Pada penelitian ini lesi terlihat mulai hari ke-

2 sampai hari ke-19 pada akhir pengamatan. Masa inkubasi dari infeksi *Campylobacter* spp. adalah 2-5 hari dan *C. jejuni* umumnya ditemukan pada broiler umur 2-3 minggu, bersamaan dengan penurunan titer antibodi (Sahin et al., 2003).

Organ Hati

Hasil pemeriksaan PA hati pada kelompok perlakuan terjadi perubahan patologis berupa kongesti, warna belang, bengkak, pucat, pendarahan dan adanya jaringan nekrotik. Menurut Denbow (2000) pertumbuhan organ mencapai puncaknya pada umur 4 minggu. Pada umumnya berat relatif hati menurun seiring dengan bertambahnya umur. Berat organ dipengaruhi oleh aktivitas fisiologis maupun patologis organ tersebut (Jones dan Hunt, 1983). Berat relatif hati pada kelompok perlakuan yang diinfeksi *C. jejuni* menunjukkan adanya peningkatan berat relatif hati terutama pada hari ke-2 pasca infeksi (Tabel 5). Peningkatan berat relatif hati ini terjadi akibat adanya infeksi *C. jejuni* yang menyebabkan pembengkakan, kongesti, hiperemi, edema serta degenerasi sel-sel hati yang dapat meningkatkan berat organ.

Pemeriksaan PA hati kelompok perlakuan B dan C menunjukkan adanya perubahan berupa degenerasi sel hati dengan derajat kerusakan ringan sampai berat dan terjadi hepatik nekrosis dengan nilai skor pada Tabel 6. Lesi yang terlihat bervariasi berupa warna belang, merah kehijauan, bengkak, pucat dan rapuh. Kelompok ayam yang diinfeksi isolat lokal C1 (C), pada hari ke-3 dan ke-4 pasca infeksi menunjukkan peningkatan nilai skor, meskipun secara statistik tidak ada perbedaan yang

Tabel 3. Rataan skor perubahan PA pada usus

Kelompok	Waktu (Hari Pasca Infeksi)						
	1	2	3	4	5	12	19
A	0	1.00± 0.00	1.80± 0.45	2.00± 0.00	1.60± 0.55	0.80± 0.84	1.20± 1.095
B	0	2.80± 0.45	2.00± 0.00	3.00± 0.00	3.00± 0.00	2.00± 0.00	1.20± 1.095
C	0	3.00± 0.00	2.00± 0.00	2.00± 0.00	2.80± 0.45	2.00± 0.00	0.80± 1.095



Foto 1. Hemoragi pada usus kelompok perlakuan B (a) dan kelompok perlakuan C (b)

Tabel 4. Rataan skor perubahan mikroskopis usus

Kelompok	Waktu (Hari Pasca Infeksi)				
	1	2	3	4	5
A	3.20±0.45	2.80±0.45	2.00±0.00	2.20±0.45	3.00±0.00
B	3.00±0.00	2.80±0.45	3.00±0.00	3.40±0.55	2.60±0.55
C	3.00±0.00	3.20±0.45	3.00±0.00	3.00±0.00	3.00±0.00

Tabel 5. Rataan berat relatif hati (gram)

Kelompok	Waktu (Hari Pasca Infeksi)							
	1	2	3	4	5	12	19	
A	0.041± 0.006	0.039± 0.006	0.044± 0.002	0.033± 0.004	0.036± 0.004	0.026± 0.003	0.027± 0.003	
B	0.047± 0.009	0.048± 0.009	0.039± 0.002	0.034± 0.007	0.036± 0.004	0.029± 0.003	0.030± 0.006	
C	0.041± 0.006	0.042± 0.005	0.039± 0.008	0.038± 0.003	0.036± 0.002	0.028± 0.006	0.028± 0.004	

nyata antar kelompok perlakuan ($P>0,05$).

Pada pemeriksaan mikroskopis hati kelompok ayam yang diinfeksi *C. jejuni* isolat standart ATCC 33291 (B) dan kelompok ayam yang diinfeksi isolat lapang C1 secara statistik tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan kelompok ayam yang tidak diinfeksi (Tabel 7). Namun nilai skor ayam kelompok C pada hari ke-3 dan ke-4 lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok ayam yang lain.

Kelompok ayam yang diinfeksi *C. jejuni* isolat standart ATCC 33291 (B) dan isolat lapang C1 (C) menunjukkan perubahan histopatologi berupa

degenerasi sel hati dengan derajat ringan sampai terjadi nekrosis (Foto 2).

Reisolasi *C. jejuni*

Isolasi *C. jejuni* pada usus ayam dilakukan untuk mengetahui keberadaan bakteri pasca infeksi menggunakan metode PCR. Pada Tabel 8 dapat dilihat hasil reisolasi *C. jejuni* pada semua kelompok perlakuan.

Primer yang digunakan pada penelitian ini untuk membedakan spesies *C. jejuni* dan adalah gen *HipO* dan *fla*. Hasil yang diperoleh pada penelitian

Tabel 6. Rataan skor perubahan patologi anatomi

Kelompok	Waktu (Hari Pasca Infeksi)						
	1	2	3	4	5	12	19
A	1.80± 1.79	0.20± 0.45	0.40± 0.54	0.40± 0.54	2.00± 0.00	1.00± 0.00	0.60± 0.89
B	0.80± 0.45	1.40± 0.54	1.20± 0.45	2.00± 0.00	3.20± 1.64	1.00± 0.00	1.00± 1.00
C	0.20± 0.45	1.80± 1.79	4.20± 1.79	5.00± 0.00	2.60± 1.34	1.00± 0.00	1.20± 0.83

Tabel 7. Rataan skor perubahan mikroskopis hati

Kelompok	Waktu (Hari Pasca Infeksi)				
	1	2	3	4	5
A	2.60±0.89	0.40±0.89	1.20±1.64	0.80±1.09	2.20±0.45
B	1.60±0.89	2.60±0.89	3.00±0.00	2.60±0.55	3.20±0.84
C	2.20±0.45	2.40±0.89	3.60±0.89	4.00±0.00	3.00±0.71

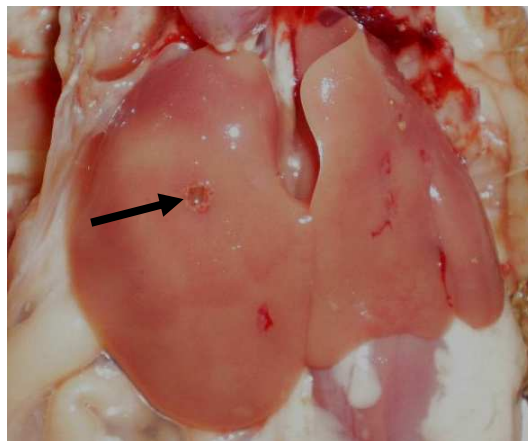


Foto 2. Hati pada kelompok ayam C (diinfeksi isolat lokal), membesar disertai adanya perubahan warna pucat dan belang disertai fokal nekrosis.

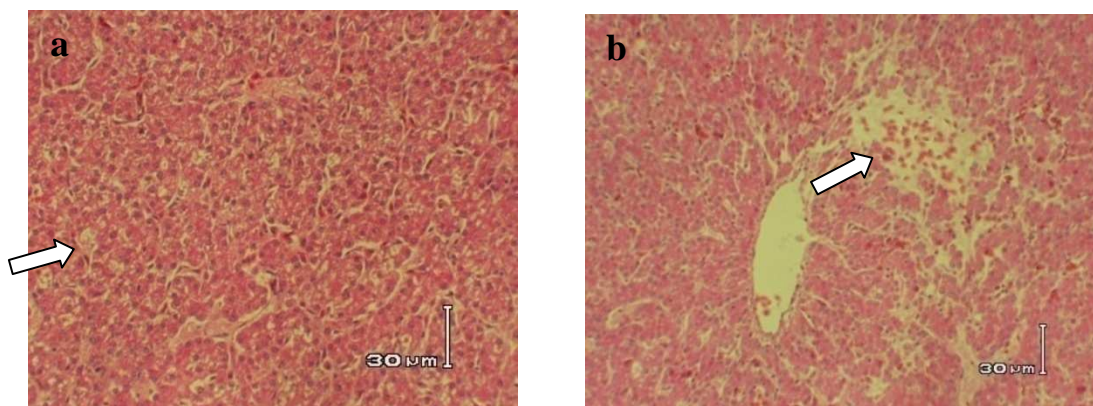


Foto 3. Degenerasi hepatosit pada ayam kelompok perlakuan B (a). Fokal nekrosis pada ayam kelompok perlakuan C (b).

ini adalah sampel yang diuji PCR menggunakan sekuen oligo primer *HipO*. Target gen *C. jejuni HipO* yang memiliki lokasi gen 1662-1965 bp memberikan hasil positif pada 323 bp yang dapat dilihat pada Gambar 6. Sumuran 1-6 adalah isolate yang berasal dari sampel sedangkan sumuran 7 adalah kontrol positif (ATCC *C. jejuni*), sumuran 8 adalah kontrol negatif (ATCC *C. coli*).

Target Gen *fla* yang memberikan hasil positif pada 450 bp dapat dilihat pada Gambar 7. Sumuran 1 sampai dengan 5 adalah isolat sampel sedangkan sumuran 6 adalah ATCC *C. jejuni*, dan sumuran 7 adalah ATCC *C. coli*.

PEMBAHASAN

Pengaruh Infeksi *Campylobacter jejuni* terhadap Performan Ayam Broiler

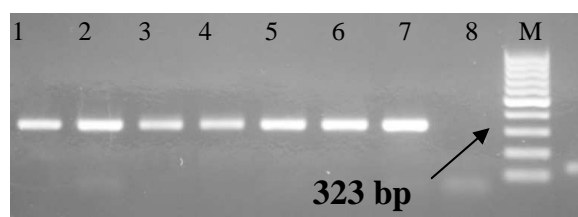
Pada penelitian ini memperlihatkan bahwa adanya infeksi *Campylobacter* sp. pada ayam broiler menyebabkan berkurangnya bobot badan ayam kelompok perlakuan B dan C minggu ke-4 yaitu pada ayam umur 35. Secara berturut-turut bobot badan ayam pada kelompok A, B, dan C adalah 1036, 1016,

1026 gram secara statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P > 0,05$). Rataan bobot badan ayam pada penelitian ini lebih rendah dari bobot badan pada standar pemeliharaan ayam broiler pada usia 35 yaitu 1800 gram (Anggoridi, 1995). Rataan pertambahan bobot badan pada pengamatan minggu kedua menunjukkan adanya perbedaan ($P < 0,05$) antara kelompok kontrol dengan perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa campylobacteriosis dapat mempengaruhi bobot badan ayam yaitu menghambat tercapainya bobot badan optimum.

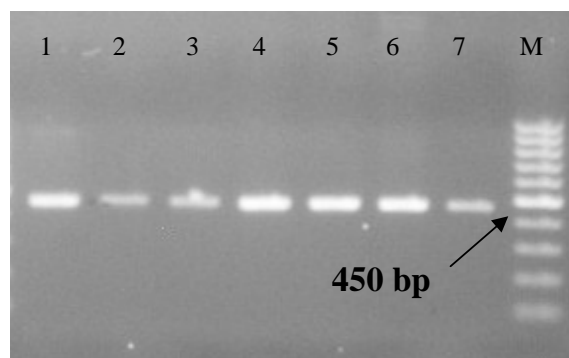
Jumlah pakan yang dikonsumsi atau konsumsi kumulatif meningkat sesuai dengan bertambahnya umur ayam. Pada penelitian ini, infeksi *Campylobacter* sp. tidak mengurangi konsumsi kumulatif pada semua kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa campylobacteriosis tidak mengganggu nafsu makan ayam. Adanya infeksi *C. jejuni* ternyata tidak mengurangi jumlah konsumsi kumulatif pada semua kelompok ayam, sehingga dapat dikatakan bahwa ayam broiler pada penelitian ini meskipun diinfeksi dengan *C. jejuni* tidak mengalami gangguan nafsu makan. Meskipun ayam

Tabel 8. Persentase keberadaan *C. jejuni*

Kelompok	Waktu (Hari Pasca Infeksi)						
	1	2	3	4	5	12	19
A	0	0	0	0	0	0	0
B	0	0	0	0	0	0	20
C	20	40	100	20	60	40	40



Gambar 6. Hasil PCR menggunakan primer *HipO*.



Gambar 7. Hasil PCR menggunakan primer *fla*.

yang digunakan pada penelitian ini tidak mengalami gangguan nafsu makan namun bobot badan optimum ayam tidak tercapai hal ini disebabkan karena pada kondisi hewan terinfeksi menurut Winarsih (2005) pada umumnya mengalami penurunan bobot berat badan sekitar 70% akibat dari penurunan asupan makanan yang dikonsumsi dan 30% disebabkan oleh inefisiensi proses metabolisme dan penyerapan nutrisi. Pada penelitian ini bobot badan optimum tidak dapat tercapai disebabkan karena adanya gangguan pada proses pencernaan sehingga penyerapan makanan tidak sempurna.

Nilai FCR kelompok A, B, dan C pada penelitian ini lebih besar dari nilai FCR pada standart pemeliharaan ayam broiler di tingkat peternakan komersial pada minggu ke-1, 2, 3 dan 4 secara berturut-turut adalah 0,56, 0,64, 0,71 dan 0,78 (Anggoridi, 1995). Meningkatnya nilai FCR pada kelompok ayam perlakuan B dan C disebabkan karena terjadinya penurunan nilai pertambahan bobot badan pada kelompok perlakuan tersebut namun tidak terjadi penurunan jumlah konsumsi kumulatif.

Pengaruh Infeksi *Campylobacter jejuni* terhadap Gejala Klinis Ayam Broiler

Anak ayam yang terinfeksi *Campylobacter* spp. tidak menunjukkan gejala klinis yang jelas dan perubahan patologis (Dhillon, 2006). Namun pada penelitian ini ayam yang diinfeksi menunjukkan gejala klinis berupa diare berdarah, meskipun gejala klinis yang nampak tidak memperlihatkan gejala yang khas. Diare yang terjadi merupakan akibat kemampuan *C. jejuni* melakukan multiplikasi dan kolonisasi pada saluran pencernaan serta terjadinya invasi bakteri (Sahin et al., 2003; Sanyal et al., 1984).

Perubahan Patologis Anatomi (PA) Saluran Pencernaan Ayam Broiler

Bakteri *Campylobacter jejuni* yang terdapat di dalam sel epitel dan sel mononuklear dapat mengakibatkan kerusakan usus pada bagian *jejunum* dan *ileum*. Kerusakan sel epitel yang terjadi adalah degenerasi pada epitel bagian superfisial

sehingga terjadi pemendekan vili dan produksi eksudat pada lumen usus. Infeksi dapat terjadi pada lapisan yang lebih dalam lagi sehingga terjadi *necrosis hemorrhagic* pada *lamina propria*, abses pada kripta serta terjadi *inflamasi* (Shane, 2000, Stern dan Kazmi, 1989).

Secara mikroskopis infeksi *C. jejuni* pada usus menimbulkan perubahan mikroskopik berupa edema, pendarahan dan infiltrasi sel radang. Skor lesi mikroskopis yang diamati pada penelitian ini menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata antar kelompok ayam ($P > 0,05$). Meskipun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata namun skor perubahan mikroskopis usus kelompok ayam yang diinfeksi *C. jejuni* lebih tinggi dari skor pada kelompok ayam yang tidak diinfeksi pada hari ke-2 sampai hari ke-4 pasca infeksi (Tabel 5).

Kejadian campylobacteriosis pada peternakan komersial jarang terjadi pada anak ayam berumur kurang dari 2-3 minggu, hal ini berhubungan dengan titer *maternal antibody* yang tinggi pada anak ayam (Bull et al., 2006; Gregory et al., 1997; Jacobs-Reitsma, 2000; Ring et al., 2005).

Infeksi *C. jejuni* dapat menyebabkan pembengkakan dan nekrotik hati (Dhillon, 2006). *Campylobacter* spp. yang pada awalnya menginfeksi usus sehingga akhirnya bakteri tersebut sampai ke organ hati dan limpa serta organ interna lainnya melalui aliran darah. Warna belang pada hati terjadi akibat sel hati mengalami degenerasi atau nekrosis (Sanyal et al., 1984). Infeksi oleh *C. jejuni* setelah terjadi kolonisasi di usus selanjutnya mengalami invasi pada sel intestinal dan bakteri melakukan ekstra translokasi sehingga menembus sel epitel dan migrasi ke sistem limpatik (Sahin, 2003). Pada penelitian ini hati kelompok ayam yang diinfeksi isolat lokal C1 terlihat bengkak dengan perubahan warna pucat dan belang disertai adanya fokal nekrosis (Gambar 3). Vashin et al. (2009), menyatakan bahwa infeksi *C. jejuni* dapat menyebabkan lesi berupa nekrotik pada hati burung puyuh pada hari ke-1 sampai ke-7 pasca infeksi, serta ditemukan *C. jejuni* sebesar 21% pada hati yang

mengalami nekrotik dan 12% pada hati yang normal.

Saluran pencernaan ayam broiler, ayam petelur, kalkun, dan bebek merupakan lokasi yang disukai oleh bakteri *Campylobacter* spp. (Yogasundram *et al.*, 1989). Kejadian infeksi *Campylobacter* spp. secara umum dapat menyebabkan enteritis pada ayam dan unggas lainnya dengan gejala klinis diare. Gejala klinis diare bervariasi dari ringan sampai diare berdarah. Meskipun tidak memperlihatkan diare yang khas namun adanya gambaran mikro anatomi berupa enteric hemorrhagic pada usus dan degenerasi hepatosit dapat menyebabkan gangguan metabolisme dan absorpsi sehingga bobot badan optimum tidak dapat tercapai, hal ini dapat menyebabkan kerugian bagi peternak. Kejadian ini dapat menyebabkan kondisi kesehatan ayam menjadi lemah sehingga sistem pertahanan tubuh ayam akan mengalami gangguan. Kejadian ini sesuai dengan hasil penelitian Beery *et al.*, 1988, bahwa kolonisasi *C. jejuni* yang terjadi pada sekum akan menembus bagian mukosa yang lebih dalam melalui kriptus usus dan menembus vili selanjutnya terjadi translokasi ke bagian organ yang lain (Cox *et al.*, 2005; Cox *et al.*, 2006). Infeksi *C. jejuni* pada ayam dengan dosis 35-40 cfu dapat mengakibatkan kolonisasi bakteri (Cawthraw *et al.*, 1996; Stern *et al.*, 1988). Kemampuan *C. jejuni* membentuk koloni pada saluran pencernaan ayam dan bertahan membentuk mucus pada sel epitel terutama usus halus maka mikroorganisme akan hidup dan berkembang biak dalam jumlah yang banyak. Meskipun prevalensi infeksi *C. jejuni* pada ayam tinggi namun Beery *et al.* (1988) dan Meinersmann *et al.* (1991) melaporkan bahwa inflamasi saluran pencernaan, attachment serta invasion pada usus tidak terlihat. Meskipun tidak mengalami adhesi pada sel epitel namun dalam waktu cepat mikroorganisme akan berkembang dalam jumlah yang banyak di dalam sekum sehingga mencapai jumlah 10^5 hingga 10^9 cfu/gram (Woodal *et al.*, 2005). Peningkatan jumlah kolonisasi mikroorganisme terjadi sejak ayam berumur 2 minggu sampai umur siap potong yang berkisar antara 5-8 minggu (Bouwknegt *et al.*, 2004;

Evans and Sayers, 2000). Hal ini memungkinkan *C. jejuni* dikeluarkan terus menerus melalui feses sepanjang hidupnya dan merupakan sumber kontaminasi pada karkas yang dihasilkan setelah dilakukan proses pemotongan.

Reisolasi *C. jejuni*

Gen *HipO* (*Hippuricase*) merupakan *novel primer* yang hanya terdapat pada *C. jejuni*. *C. jejuni* memberikan reaksi positive pada uji hidrolisis hippurate (Wang *et al.*, 2002 ; Persson dan Olsen , 2005). Menurut (Nakari *et al.*, 2008) uji hidrolisis hippurate pada isolat *C. jejuni* menunjukkan hasil positive tetapi isolat *C. coli* memberikan reaksi negatif. Flagella pada *C. jejuni* dan *C. coli* tersusun atas dua subunit flagellin yang disusun oleh gen *flaA* dan *flaB*. Gen flagellin (*fla*) adalah salah satu gen *Campylobacter* spp. yang bersifat *highly conserve* terhadap strain *C. coli* dan *C. jejuni* sehingga dapat digunakan sebagai target indentifikasi secara PCR terhadap *thermophilic enteropathogenic campylobacter* (Oyofa *et al.*, 1992).

Isolasi pada kelompok ayam kontrol yang tidak diinfeksi (A) hasilnya negatif. Isolasi pada kelompok ayam yang diinfeksi *C. jejuni* isolat standart ATCC 33291 (B) ditemukan bakteri pada isolasi hari ke-19 pi. Kelompok ayam yang diinfeksi isolat lapang C1 (C), bakteri ditemukan sejak hari ke -1 sampai hari ke-19 pi.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah bahwa ayam broiler yang diinfeksi oleh *Campylobacter jejuni* tidak menunjukkan gejala klinis yang khas selain diare dan diare berdarah. Perubahan makroskopis yang terjadi pada usus adalah *hemorrhagic enteritis* dan perubahan pada hati adalah pembengkakan, berwarna pucat serta rapuh. Perubahan mikroskopis usus yang terjadi adalah edema, nekrosis, disertai infiltrasi sel radang, dan hati mengalami degenerasi diikuti dengan nekrosis hepatosit.

Infeksi *Campylobacter jejuni* isolat lokal yang

diperoleh dari karkas ayam di wilayah Bogor pada ayam broiler secara ekonomi dapat menyebabkan kerugian bagi peternak karena menyebabkan bobot badan optimum tidak tercapai dan meningkatkan nilai FCR. Dalam bidang kesehatan masyarakat veteriner, infeksi *C. jejuni* pada ayam broiler di peternakan perlu mendapatkan perhatian karena ayam yang terinfeksi merupakan *carrier* dan sebagai sumber kontaminan terhadap lingkungan serta karkas ayam yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Altekruse, SF., JS. Norman, IF. Patricia, & DL. Swerdlow. 1999. *Campylobacter jejuni* an emerging foodborne pathogen. *Emerging Infectious Disease* 5(1), 28-35.
- Alexandrino, M., E. Grohmann, & U. Szwedzyk. 2004. Optimization of PCR-based for rapid detection of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Yersinia enterocolitica* serovar O:3 in waste samples. *Water Research* 38, 1340-1346.
- Anggoridi, R. 1995. Aneka Nutrisi unggas. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Beery, JT., MB. Hugdahl, & MP. Doyle. 1988. Colonization of gastrointestinal tracts of chicks by *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology* 54, 2365-2370.
- Blaser, MJ, & J. Engberg. 2008. Clinical Aspects of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Infection. Dalam: Nachamkin I, CM. Szymanski, MJ. Blaser (eds). *Campylobacter*. ASM Press. Washington DC. 99-121.
- Boes, J., L. Nersting, EM. Nielsen, S. Kranker, C. Enoe, HC. Wachmann, & DL. Baggesen. 2005. Prevalence and diversity of *Campylobacter jejuni* in pig herds on farms with and without cattle or poultry. *Journal of Food Protection* 68(4), 722-727.
- Bolton, FJ. 2007. *Campylobacter* infections: food-borne sources and isolation methods. *Japan Journal of Food Microbiology* 24(4), 151-156.
- Bouwknegt, M., AW. Van De Giessen, WD. Dam-Deisz, AH. Havelaar, NJ. Nagelkerke, & AM. Henken. 2004. Risk factors for the presence of *Campylobacter* spp. in Dutch broiler flocks. *Preventive Veterinary Medicine* 62, 35-49.
- Bull, SA., VM. Allen, G. Domingue, F. Jorgensen, JA. Frost, R. Ure, R. Whyte, D. Tinker, JEL. Corry, J. Gillard-King, & TJ. Humphrey. 2006. Sources of *Campylobacter* spp. colonizing housed broiler flocks during rearing. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 645-652.
- Cawthraw, SA., TM. Wassenaar, R. Ayling, & DG. Newell. 1996. Increased colonization potential of *Campylobacter jejuni* strain 81116 after passage through chickens and its implication on the rate of transmission within flocks. *Epidemiology and Infection*. 117, 213-215.
- Cox, NA., CL. Hofacre, JS. Bailey, RJ. Buhr, JL. Wilson, KL. Hiatt, LJ. Richardson, MT. Musgrove, DE. Cosby, JD. Tankson, YL. Vizzier, PF. Cray, LE. Vaughn, PS. Holt, & DV. Bourassaa. 2005. Presence of *Campylobacter jejuni* in various organs one hour, one day, and one week following oral or intracloacal inoculations of broiler chicks. *Avian Diseases* 49, 155-158.
- Cox, NA., LJ. Richardson, RJ. Buhr, JS. Bailey, JL. Wilson, & KL. Hiatt. 2006. Detection of *Campylobacter jejuni* in various lymphoid organs of broiler breeder hens after oral or intravaginal inoculation. *Poultry Science* 85, 1378-1382.
- Debruyne, L., D. Gevers, & P. Vandame. 2008. *Campylobacter*. Dalam: Nachamkin, L., C.M. Szymanski, M.J. Blaser (eds). *Taxonomy of the family Campylobacteraceae* ASM Press. Washington DC. 3-25
- Dhillon, AS. 2006. *Campylobacter jejuni* infection in broiler chickens. *Avian Diseases* 50(1), 55-58.
- Evans, SJ. 1992. Introduction and spread of thermophilic *Campylobacter* in broiler flocks. *The Veterinary Record* 131, 574-576.
- Evans, SJ. & AR. Sayers. 2000. A longitudinal study of *Campylobacter* infection of broiler flocks in Great Britain. *Preventive Veterinary Medicine* 46, 209-223.
- Gregory, E., H. Barnhart, DW. Dreesen, NJ. Stern, & JL. Corn. 1997. Epidemiological study of *Campylobacter* spp. in broilers: source, time of colonization, and prevalence. *Avian Diseases* 41, 890-898.
- Hamid, H., E. Martindah, T. Syafriati, & S. Bahri. 1997. Laporan penyidikan kasus ayam kerdil. Balai Penelitian Veteriner, Balai Penelitian dan Pengembangan. Bogor.
- Hanninen, ML., P. Perko-Makela, A. Pitkala, & H. Rautelin. 2000. A three-year study of *Campylobacter jejuni* genotypes in humans with domestically acquired infection and in chicken samples from the Helsinki area. *Journal of Clinical Microbiology* 38, 1998-2000.
- Hu, I. & Kopecko. 2003. *Campylobacter* spesies. Dalam: Miliotis, M.D., & J.F. Bier (eds) *International Handbook of Foodborne Pathogens*. Marcell Dekker. New York.
- Jacobs-Reitsma, W. 2000. *Campylobacter*. Dalam: Nachamkin I. & M.J. Blaser (eds). *Campylobacter in the Food Supply*. American Society for Microbiology. Washington DC. 467-481.
- Jones, TC. & D. Hunt. 1983. *Veterinary pathology*. 5th. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Knudsen, KN., DD. Bang, LO. Andresen, & M. Madsen. 2006. *Campylobacter jejuni* strains of human and chicken origin are invasive in chickens after oral challenge. *Avian Diseases* 50, 10-14.
- Kramer, JM., JA. Frost, FJ. Bolton, & DRA. Wareing. 2000. *Campylobacter* Contamination of Raw Meat and Poultry at Retail Sale: Identification of Multiple Types and Comparison With Isolates From Human infection. *Journal of Food Protection* 63(12), 1654-1659.
- Lastovica, AJ. & BM. Allos. 2008. Clinical significance of *Campylobacter* and related species other than *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. Dalam: Nachamkin I, C.M. Szymanski, & M.J. Blaser (eds). *Campylobacter*. ASM Press, Washington DC. 123-149.
- Lindqvist, R., Y. Andersson, B. Jong, & P. Norberg. 2000. A Summary of Reported Foodborne Disease Incidents in Sweden, 1992 to 1997. *Journal of Food Protection* 63 (10), 1315-1320.
- Mattjik, AA. & IM Sumertajaya. 2002. *Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab* Jilid 2. IPB Pr, Bogor.
- Meinersmann, RJ., WE. Rigsby, NJ. Stern, LC. Kelley, JE. Hill, & MP. Doyle. 1991. Comparative study of colonizing and noncolonizing *Campylobacter jejuni*. *American Journal of Veterinary Research* 52, 1518-1522.
- Nakari, UM, A. Puhakka, & A. Sitonen. 2008. Correct identification and discrimination between *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by a standardized hippurate test and species-specific polymerase chain reaction. *Europe Journal Clinical Microbiology Infection Disease* DOI 10.1007/s10096-008-0467-9.

- Noor, SM., L. Parede, M. Poeloengan, Andriani, T. Syafriati, S. Wahyuwardani, & Y. Sani. 2000. Uji pertumbuhan *Campylobacter* spp. dari kasus kekerdilan terhadap ayam pedaging Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Pusat Penelitian Peternakan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian, Bogor: 520-524.
- Oyofa, BA., SA. Thornton, DH. Burr, TJ. Trust, OR. Pavlovskis, & P. Guerry. 1992. Specific Detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by Using Polymerase Chain Reaction. *Journal of Clinical Microbiology* 10, 2613-2619.
- Pearson, AD., MH. Greenwood, J. Donaldson, TD. Healing, DM. Jones, M. Shahamat, RK. Feltham, & RR. Colwell. 2000. Continuous source outbreak of campylobacteriosis traced to chicken. *Journal of Food Protection* 63, 309-314.
- Persson, S. & KEP. Olsen. 2005. Multiplex PCR for identification of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* from pure cultures and directly on stool samples. *Journal of Medical Microbiology* 54, 1043-1047.
- Ring, M., MA. Zychowska, & R. Stephan. 2005. Dynamics of *Campylobacter* spp. spread investigated in 14 broiler flocks in Switzerland. *Avian Diseases* 49, 390-396.
- Sanyal, SC., KMN. Islam, PKB. Neogy, M. Islam, P. Speelman, & MI. Huq. 1984. *Campylobacter jejuni* diarrhea model in infant chickens. *Infection and Immunity* 43(3), 931-936.
- Sahin, O. 2003. Ecology of *Campylobacter* colonization in poultry role of maternal antibodies in protection and sources of flock infection. [Dissertation]. Ohio: The Graduate School of The Ohio State University.
- Sahin, O, N. Luo, S. Huang, & Q. Zhang. 2003. Effect of *Campylobacter*-specific maternal antibodies on *Campylobacter jejuni* colonization in young chickens. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 5372-5379.
- Shane, SM., DH. Gifford, & K. Yogasundram. 1986. *Campylobacter jejuni* contamination of eggs. *Veterinary Research Communication* 10, 487-492.
- Shane, SM. 2000. Campylobacteriosis. Dalam: *Disease of Poultry*. Ed ke-9. University Pr Iowa State. 236-246.
- Shanker, S., A. Lee, & TC. Sorrell. 1988. Experimental colonization of broiler chicks with *Campylobacter jejuni*. *Epidemiology and Infection* 100, 27-34.
- Skirrow, MB. & MJ. Blaser. 2000. Clinical aspects of *Campylobacter* infection. Dalam: Nachamkin I. & M.J. Blaser (eds.), *Campylobacter*. American Society for Microbiology. Washington DC. 69-88.
- Stern, NJ., JS. Bailey, LC. Blankenship, NA. Cox, & F. Mc Han. 1988. Colonization characteristics of *Campylobacter jejuni* in chick ceca. *Avian Diseases* 32, 330-334.
- Stern, NJ. & SU. Kazmi. 1989. *Campylobacter jejuni*. Dalam: *Foodborne Bacterial Pathogens*. Marcell Dekker. New York. 71-110.
- Stern, NJ., MR. Clavero, JS. Bailey, NA. Cox, & MC. Robach. 1995. *Campylobacter* spp. in broilers on farm and after transport. *Poultry Science* 74(6), 937-941.
- Syafriati, T., L. Parede, SM. Noor, & SW. Wardhani. 2001. Kasus sindroma kekerdilan pada ayam niaga pedaging di Jawa Barat dan Daerah Istimewa Yogyakarta tahun 1999-2000. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2001, Bogor: 737-745.
- Trejevo, RT., MC. Barr, & RA. Robinson. 2005. Important emerging bacterial zoonotic infections affecting the immunocompromised. *Veterinary Research* 36, 493-506.
- Vandeplass, S., C. Marcq, RD. Dauphin, YBP. Thonart, & A. Thewis. 2008. Contamination of Poultry flocks by the human pathogen *Campylobacter* spp. and strategies to reduce its prevalence at the farm level. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 12(3), 317-334.
- Vashin, I., T. Stoyanchev, CH. Ring, & V. Atanassova. 2009. Prevalence of *Campylobacter* spp in frozen poultry giblets at Bulgarian retail markets. *Trakia Journal of Science* 7(4), 55-57.
- Wang, G, G. Clifford, M. Tracy, Taylor, P. Chad, B. Connie, P. Lawrence, L. David, Woodward, & GR. Frank. 2002. Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. *Journal of Clinical Microbiology* 40(12), 4744-4747.
- Winarsih, W. 2005. Pengaruh probiotik dalam pengendalian salmonellosis subklinis pada ayam: gambaran patologis dan performan [Disertasi]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Woodall, CA., MA. Jones, PA. Barrow, J. Hinds, GL. Marsden, DJ. Kelly, N. Dorrell, BW. Wren, & DJ. Maskell. 2005. *Campylobacter jejuni* gene expression in the chick cecum: evidence for adaptation to low oxygen environment. *Infection and Immunity* 73(8), 5278-5285.
- Yogasundram, K., SM. Shane, & KS. Harrington. 1989. Prevalence of *Campylobacter jejuni* in selected domestic and wild birds in Louisiana. *Avian Diseases* 33, 664-667.