

Kasus *Ornithobacterium rhinotracheale* dari Sampel Trachea pada Beberapa Jenis Unggas

Reina Puspita Rahmiani^{1*}, Nurul Hidayah¹, Dyah Widhowati¹

¹Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Wijaya Kusuma Surabaya
Jl. Dukuh Kupang XXV No54 Surabaya
email : puspita.reina@gmail.com

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini untuk melaporkan kasus penyakit infeksi saluran pernafasan yang disebabkan oleh bakteri *Ornithobacterium rhinotracheale*. Pengamatan meliputi patologi anatomi dan hasil isolasi identifikasi bakteri. Unggas dilakukan nekropsi, diamati perubahan pada organ, sampel trachea diambil secara aseptis kemudian dilakukan isolasi pada media *Blood Agar*, *Chocolate Agar*, MCA, pemeriksaan mikroskopis dan uji biokimia antara lain TSIA, SIM, SCA, Katalase, Urease, MR. Hasil pemeriksaan menunjukkan keberadaan bakteri *Ornithobacterium rhinotracheale*, pemeriksaan makroskopis menunjukkan koloni yang kecil, berwarna keabuan. Pemeriksaan mikroskopis, bakteri berbentuk batang pleomorfik gram negatif. Bakteri tidak tumbuh pada MCA, tidak ada perubahan pada media TSIA, Bakteri non motil, hasil uji indol, SCA, MR dan urease negatif. Empat jenis unggas menunjukkan perubahan patologi antara lain hemorragi pada trachea dan paru-paru, namun *air sac* normal dan tidak menunjukkan adanya lesi spesifik, hanya sampel bebek dengan kode I-11 yang terjadi perubahan pada *air sac*. Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi bakteri dapat disimpulkan keberadaan bakteri *Ornithobacterium rhinotracheale* dari beberapa jenis unggas yang berbeda antara lain, ayam layer, ayam broiler, ayam hias lokal dan bebek.

Kata kunci: *Ornithobacterium rhinotracheale*, unggas, penyakit saluran pernafasan

Abstract

The aim of this study was to report cases of respiratory tract infection caused by the bacterium Ornithobacterium rhinotracheale. Observations included anatomical pathology and bacterial isolation results. Poultry was necropsed, observed changes in organs, trachea samples were taken aseptically then isolated on Blood Agar, Chocolate Agar, MCA, microscopic examination and biochemical tests, including TSIA, SIM, SCA, Catalase, Urease, MR. The results of the examination showed the presence of Ornithobacterium rhinotracheale bacteria, macroscopic examination showed small, grayish colored colonies. Microscopic examination, gram-negative pleomorphic rod-shaped bacteria. Bacteria did not grow on MCA, there was no change in TSIA media, non-motile bacteria, the results of the indole test, SCA, MR and urease were negative. All four types of birds showed pathological changes, including hemorrhage in the trachea and lungs, but the air sacs were normal and did not show any specific lesions, only duck samples with code I-11 had changes in the air sacs. Based on the results of isolation and bacteria, it can detect the presence of Ornithobacterium rhinotracheale from several different types of poultry, including layer chickens, broilers, local ornamental chickens and ducks.

Keywords: *Ornithobacterium rhinotracheale*, poultry, respiratory disease

Pendahuluan

Penyakit infeksi saluran pernafasan merupakan masalah utama dalam industri perunggasan, seringkali disertai dengan kerugian ekonomi serta penurunan produktivitas. Penyakit tersebut terkait dengan beberapa mikroorganisme, termasuk bakteri. Salah satunya yaitu *Ornithobacterium rhinotracheale* (Barbosa *et al.*, 2019). *Ornithobacterium rhinotracheale* merupakan penyakit yang sangat menular pada unggas melalui kontak langsung, aerosol, melalui air minum. Menurut *World Organization for Animal*

Health (OIE), *Ornithobacterium rhinotracheale* merupakan suatu ancaman meskipun bukan mikroorganisme zoonosis (Doosti *et al.*, 2011).

Ornithobacterium rhinotracheale adalah patogen sebagai penyebab aircacculitis dan pneumonia, pada unggas di seluruh dunia, mikroorganisme tersebut menyebabkan kerugian finansial yang besar karena tingginya tingkat kematian hingga 50% pada ternak. *Ornithobacterium rhinotracheale* dapat menjadi agen etiologi primer atau sekunder tergantung pada strain virulensi, faktor lingkungan yang merugikan, status kekebalan kelompok, dan adanya agen infeksius lain (Eunice *et al.*,

2019). Bakteri tersebut juga dapat menyebabkan infeksi endemik, pada peternakan multi-usia atau di area dengan kepadatan peternakan unggas yang tinggi. Infeksi pada ayam broiler umur 3 sampai 6 minggu menyebabkan depresi, penurunan konsumsi makanan, penurunan tingkat pertumbuhan, bersin, dan pembengkakan pada wajah serta tingkat kematian tinggi (Hafez *et al.*, 2015).

Infeksi *Ornithobacterium rhinotracheale* telah dilaporkan di banyak negara tetapi di Indonesia masih jarang dilakukan pemeriksaan mengenai bakteri tersebut. Penelitian ini penting dilakukan untuk memaparkan kasus penyakit yang disebabkan oleh *Ornithobacterium rhinotracheale* pada peternakan ayam dan bebek berupa pemeriksaan patologi anatomi, isolasi dan identifikasi bakteri.

Materi Dan Metode

Pemeriksaan adanya kasus *Ornithobacterium rhinotracheale* diawali dengan pemeriksaan tanda klinis dan dilakukan nekropsi serta pemeriksaan patologi anatomi. Isolasi dilakukan dengan menggunakan sampel trachea. Sampel dipreparasi secara aseptis kemudian dibiakkan pada media *Blood Agar* (BA) dan *Chocolate Agar* kemudian diinkubasi 24 – 48 jam pada temperatur 37°C secara aerob tanpa tambahan antibiotik gentamisin maupun polimiksin. Morfologi koloni *Ornithobacterium rhinotracheale* diamati setelah 24 jam inkubasi (Espinosa *et al.*, 2011).

Selanjutnya dilakukan pembuatan preparat dengan pewarnaan Gram. Satu koloni terpisah dari masing-masing dugaan *Ornithobacterium rhinotracheale* dan dari media diambil dengan ose steril kemudian dicampur hingga homogen dengan NaCl steril yang telah ditetaskan pada kaca obyek. Preparat difiksasi di atas api Bunsen. Preparat yang telah mengering diwarnai dengan kristal violet 1% yang ditetaskan ke permukaan preparat apus secara merata dan dibiarkan meresap selama satu menit. Preparat kemudian ditetesi lugol dan dibiarkan selama satu menit lalu dicuci. Alkohol acetone ditetaskan dan dibiarkan selama satu menit untuk mendekolorisasi warna, kemudian preparat ditetesi safranin sebagai pewarna kedua dan dibiarkan meresap selama satu menit. Preparat yang sudah diwarnai dicuci di bawah air mengalir kemudian dikeringkan dalam posisi miring. Preparat yang sudah mengering setelah diwarnai diamati di bawah mikroskop binokular dengan perbesaran

1000x. Pandangan diperjelas menggunakan minyak emersi. Bakteri digolongkan Gram negatif jika berwarna merah (Markey *et al.*, 2013). Koloni dengan morfologi dan bentuk serta hasil yang sesuai kemudian dilakukan penanaman pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) serta dilakukan pengujian biokimia antara lain TSIA, katalase, SIM, SCA, MR, Urease.

Hasil Dan Pembahasan

Pemeriksaan Patologi Anatomi (PA)

Berdasarkan hasil pemeriksaan, ditemukan lima kasus *Ornithobacterium rhinotracheale* pada berbagai jenis unggas yang berbeda terangkum pada tabel berikut ini.

Tabel 1. Perubahan patologi pada trachea, paru-paru dan *air sac*.

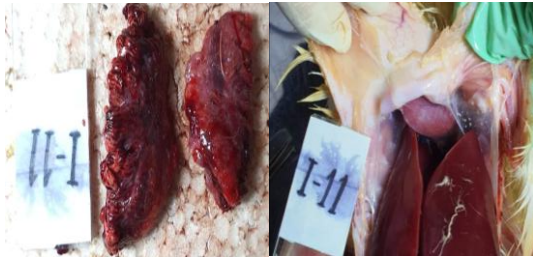
Sampel	Trachea	Paru-paru	<i>Air Sac</i>
A-35	Hemoragi	Ada lesi	Normal
A-44	Hemoragi	Ada lesi	Normal
I-11	Hemoragi	Ada lesi	Ada lesi
I-09	Hemoragi	Ada lesi	Normal
A-78	Hemoragi	Ada lesi	Normal

Satu isolat dari ayam broiler dengan kode sampel A-35, satu isolat dari ayam layer kode sampel A-44, dua isolat dari bebek kode sampel I-09 dan I-11 dan satu isolat dari ayam hias lokal dengan kode sampel A-78. Bakteri tersebut telah banyak ditemukan di berbagai negara, salah satunya penelitian yang dilakukan oleh Roussan *et al.*, (2011) juga melaporkan bahwa ditemukan bakteri *Ornithobacterium rhinotracheale* sebanyak enam isolat di wilayah selatan Jordan.

Hasil pemeriksaan patologi anatomi pada keempat jenis unggas menunjukkan perubahan yaitu, terdapat discharge kental (Mukus) berwarna putih pada nasofaring, adanya hemoragi pada mukosa trachea dan terjadi penebalan mukosa. Terdapat lesi kehitaman pada serosa paru-paru, Konsistensi rapuh, uji apung paru-paru semi apung. Terdapat perubahan bentuk jantung dimana apex cenderung lebih cembung dan mengalami hemoragi. Sedangkan *air sac* pada keempat jenis unggas normal atau tidak mengalami perubahan. Lesi yang terjadi tidak berat karena tidak terdapat airsaculitis. Umali *et al.*, (2017) menyatakan bahwa lesi berat pada unggas yang terinfeksi *Ornithobacterium* termasuk fibrinopurulent, sering terjadi

pneumonia unilateral, terjadi airsacculitis, pericarditis, tracheitis, sinusitis dan artritis. Gavrilović, *et al.*, (2016) pada hasil pemeriksaan patomorfologi ayam broiler dan burung pheasan yang diinfeksi *Ornithobacterium* terdapat penumpukan lendir pada rongga hidung, sinus infraorbital, laring dan trachea. Serta hiperemia ringan pada mukosa saluran pernafasan bagian atas dan hiperemia pada paru-paru.

Sampel bebek dengan kode sampel I-11 mengalami perubahan pada *air sac* terdapat lesi putih seperti yogurt. Bordoloi *et al.*, (2020) dalam penelitiannya menyatakan bahwa temuan makroskopis paling umum pada ayam broiler adalah pneumonia unilateral, pleuritis, dan airsacculitis dengan eksudat berbusa seperti yogurt putih. Lesi pernafasan lainnya, seperti catarrhal tracheitis dan pneumonia eksudatif bilateral.



Gambar 1. Hasil pemeriksaan patologi pada organ paru (gambar kiri) dan *air sac* (gambar kanan)

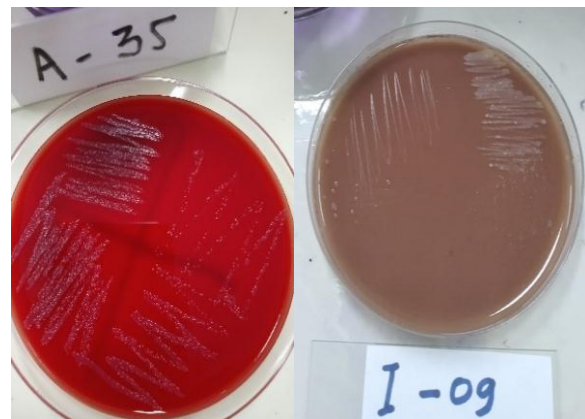
Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Hasil dari pengujian terangkum pada tabel berikut.

Tabel 2. Karakterisasi *Ornithobacterium rhinotracheale* secara biokimiawi

Pengujian	Hasil
Blood Agar	Tumbuh hemolisa –
<i>Chocolate Agar</i>	Tumbuh
<i>Mac Conkey Agar</i>	Tidak Tumbuh
TSIA	Tidak Tumbuh
Indol	Negatif
Motilitas	Non Motil
SCA	-
Katalase	-
MR	-
Urease	-

Hasil isolasi bakteri *Ornithobacterium rhinotracheale* pada media *Blood Agar* menunjukkan karakteristik antara lain, koloni yang tumbuh berwarna abu-abu, circular (Bulat), kecil, mengkilat, tidak menghemolisa darah, hal ini sesuai dengan pernyataan Mayahi *et al.*, (2016) yang menyatakan bahwa bakteri *Ornithobacterium rhinotracheale* memiliki Koloni yang kecil, abu-abu dan non-hemolitik. Isolasi pada media *Chocolate Agar* juga menunjukkan karakteristik koloni kecil, berwarna abu-abu dengan permukaan cembung, hal ini sesuai dengan pernyataan Siddique *et al.*, (2008) yang menyatakan bahwa *Ornithobacterium rhinotracheale* mudah tumbuh pada 5 % *Sheep Blood Agar* dan *Chocolate Agar*. Koloni yang tumbuh setelah 24 jam inkubasi memiliki karakter berwarna keabuan, koloni *pint point*, berukuran kecil kurang dari 1 mm, pada 48 jam diameter koloni sekitar 1 – 2 mm melingkar, buram sampai abu-abu dan tepi cembung.



Gambar 2. Koloni *Ornithobacterium rhinotracheale* pada *blood agar* (gambar kiri), koloni *Ornithobacterium rhinotracheale* pada *chocolate agar* (gambar kanan).

Hasil penanaman pada media MCA tidak terdapat pertumbuhan bakteri, Penelitian yang dilakukan oleh umali *et al.*, (2018) juga menunjukkan bahwa isolat tidak dapat tumbuh pada media MCA. Bakteri lain pada pernafasan yang tidak dapat tumbuh pada media MCA salah satunya yaitu *Pasteurella multocida*. Hasil dari pemeriksaan mikroskopis, bakteri bersifat gram negatif, berbentuk batang, sesuai dengan penelitian Masoud *et al.*, (2015), *Ornithobacterium rhinotracheale* diwarnai dengan pewarnaan gram berwarna merah (Gram negatif) berbentuk batang

pleomorfik. Barbosa *et al*, (2020) juga menyatakan bahwa *Ornithobacterium rhinotracheale* adalah bakteri gram negatif, non motil, non sporulasi dan juga sangat pleomorfik.

Media TSIA ini penting untuk membuktikan *Ornithobacterium*. Berdasarkan hasil pengujian pada media TSIA tidak menunjukkan perubahan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Churia *et al*, (2012) bahwa Hasil uji TSIA pada bakteri *Ornithobacterium rhinotracheale* tidak mengalami perubahan. Banani *et al* (2001) juga menyatakan bakteri *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) pada media TSIA tidak menunjukkan perubahan pada *slant* dan *butt*.

Hasil pemeriksaan pada uji SIM yaitu indol negatif dan bakteri non motil. Hal ini sesuai dengan pernyataan Barbosa *et al*, (2020) bahwa hasil uji indol pada *Ornithobacterium rhinotracheale* adalah negatif. Salah satu sifat bakteri *Ornithobacterium rhinotracheale* adalah nonmotil (Mayahi *et al.*, 2016). Hasil dari pengujian SCA, bakteri ini tidak menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Hal ini juga sesuai dengan Pendapat Bordoloi *et al.*, (2020). Hasil uji media SCA pada bakteri *Ornithobacterium rhinotracheale* negatif, tidak terjadinya perubahan warna media dari hijau menjadi biru karena bakteri ini tidak mempunyai enzim sitrat permease yaitu enzim spesifik yang membawa sitrat ke dalam sel. Sehingga kuman tidak menggunakan citrat sebagai salah satu sumber karbon. Hasil uji MR serta uji katalase pada *Ornithobacterium rhinotracheale* adalah negatif sesuai dengan penelitian dan Patel¹ *et al.*, (2017). Hasil uji urease pada penelitian ini negatif, seperti penelitian yang dilakukan oleh Priadi dan Natalia (2006) serta Mayahi *et al.*, (2016) yang menunjukkan bahwa enam isolat bakteri *Ornithobacterium rhinotracheale* tidak menghasilkan enzim urease. Hasil uji urease pada beberapa penelitian sangat bervariasi, pada penelitian yang dilakukan oleh Masoud *et al.*, (2015) dari sampel ayam broiler menunjukkan hasil urease positif. Menurut Krieg *et al* (2010), reaksi biokimia urease dari *Ornithobacterium rhinotracheale* terkadang tidak konsisten, namun dalam kondisi optimal, sifat biokimia organisme cukup konstan.

Kesimpulan

Ornithobacterium rhinotracheale ditemukan pada jenis unggas berbeda dalam berbagai metode pemeliharaan. Lesi patologi anatomi dari keempat sampel tidak berat karena tidak terjadi airsacculitis, namun dari

satu sampel terdapat perubahan pada *air sac* berupa lesi menyerupai yogurt. Perlu dilakukan pemeriksaan lebih lanjut seperti karakterisasi secara molekuler, resistensi antibiotik terkait *Ornithobacterium*.

Daftar Pustaka

- Banani M., Hablolvarid M.H., Momayez¹ R., Nouri¹ A., Ghodsian N., Ashtari A., Mirzaei S.G. 2015. *Isolation of Ornithobacterium rhinotracheale from the brains of commercial broiler breeder chickens with meningitis and encephalitis*. Archives of Razi Institute. 70(3):203-209.
- Barbosa, E. V, Clarissa V, C, Rita de Cássia, F. S, Aloysio de Mello F. C, Maíra H. T. L, and Helena C. C. 2020. *Ornithobacterium rhinotracheale: An Update Review about An Emerging Poultry Pathogen*. Veterinary sciences. 7: 1 – 13
- Bordoloi S., Nayak A., Jogi J., Shakya P., Rai A and Sharma S., 2020. *Ornithobacterium rhinotracheale: An emerging poultry pathogen*. Journal of Entomology and Zoology Studies. 8(2): 92-97.
- Churria C.D.G., Mariana A.M., Germán B.V., Miguel A.P. 2012. *Ornithobacterium rhinotracheale Infection in Poultry: An Updated Review*. ntl. J. of Molecular Zoology 2 (3): 23-38.
- Doosti A., Sharifzadeh A., Ghasemi¹ H., Vaez J., 2011. *Molecular identification of Ornithobacterium rhinotracheale in turkeys in Isfahan province of Iran*. African Journal of Biotechnology. 10(40): 7911-7914.
- Espinosa I., Colas M., Vichi J., Báez M., Martínez S. 2011. *Isolation and identification of Ornithobacterium rhinotracheale from laying hens in farms of la habana province*. Rev. Salud Anim. 33 (1): 38-43.
- Eunice V. B., Clarissa V. Cardoso., Rita de. C. F. S., Aloysio de. M. F. C., Maíra H. T. L., 2019. *Ornithobacterium rhinotracheale of Emerging Poultry Pathogen*. Journal of Veterinary Sciences 7(1):3.
- Gavrilović P., Gavrilović A, Vidanović D., Parunović L., Jovanović M. 2016. *Comparative pathomorphological, bacteriological and serological examination of broiler breeders and pheasants experimentally infected with Ornithobacterium rhinotracheale*. Avian Pathology. 45 (5): 513 -519.

- Hafez, H.M. & Vandamme, P. 2015. *Ornithobacterium*. In W.B. Whitman, P. DeVos, J. Chun, S. Dedysh, B. Hedlund, P. Kämpfer, F. Rainey, & M. Trujillo (Eds.), *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (pp. 1–11). Ames: Wiley-Bergey's Manual Trust.
- Markey, B., Finola L., Marie A., Ann C. and Dores M. 2013. *Clinical Veterinary Microbiology 2nd Edition*. Mosby Ltd.
- Masoud E.A., El-Banna H.R., El-Shafei A.A., Dana M.M. 2015. *Some Studies on Ornithobacterium Rhinotracheale (Ort) In Broiler Chickens*. Egypt. J. Chem. Environ. Health, 1 (1):653-667.
- Mayahi M., Darioush G., Rahim G., Forough T. 2016. *Isolation, identification and antimicrobial sensitivity of Ornithobacterium rhinotracheale in broilers chicken flocks of Khuzestan, Iran*. Veterinary Research Forum. 7 (4): 341 – 346.
- Patel¹ J.G., Joshi¹ D.V., Raval¹ S.H., Parmar¹ R.S., Chauhan H.C., Chandel B.S., 2017. *Culture based isolation of pathogenic bacteria associated with respiratory disease complex in broiler*. Journal of Pure and Applied Microbiology 11(4):1919-1924.
- Roussan D.A., Al-Rifai R.H., Khawaldeh G.Y., Totanji W.S., Shaheen I. 2011. *Ornithobacterium rhinotracheale and Mycoplasma synoviae in broiler chickens in Jordan*. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 30 (3): 931-937.
- Siddique M., Zia T., Rehman S. U. 2008. *Outbreak of Ornithobacterium rhinotracheale (ORT) infection in chickens in Pakistan*. Arch.Geflügelk., 72 (5). S 202–206.
- Umali D.V., Shiota K., Sasai K., Katoh H. 2017. *Characterization of Ornithobacterium rhinotracheale from commercial layer chickens in eastern Japan*. Poultry Science 97:24–29.