

Isolasi Bakteri Penyebab Penyakit Dari Kasus *Fowl Cholera* Pada Merpati (*Columba livia*)

Reina Puspita Rahmania^{1*}, Dyah Widhowati², Awalul Fitria Ningsih³)

^{1,2,3} Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, Surabaya

*Email (reinapuspita@uwks.ac.id)

Abstract

This study aimed to conduct an anatomical pathology examination of macroscopic organ changes and isolation and identification of bacteria causing the symptoms of fowl cholera in pigeons (*Columba livia*). Pigeons experienced respiratory disorders, cloudy nasal discharge, and green paste-like feces, after examining the clinical signs that appeared, a necropsy and anatomical pathology examination were performed, and bacterial isolation from the best sample that had changed. The results of the examination showed that the lungs had hemorrhaged with a fragile consistency. The liver had hemorrhaged, and the heart had hyperemia. The results of bacterial isolation showed the presence of *Pasteurella multocida* bacteria that cause fowl cholera. Bacteria grow on blood agar (BA) with gray colony morphology, without hemolysis, on Mac Conkey Agar (MCA) there is no bacterial growth, gram-negative bacteria, coccobacilli, on Triple Sugar Iron Agar (TSIA) media, the slant acid, butt acid, gas, and H₂S sections are negative, the Sulfide Indole Motility (SIM) test results show a red ring meaning indole is positive and the bacteria are non-motile, catalase is positive, Methyl Red (MR) is positive, Simmon Citrate Agar (SCA), urease and Voges Proskauer (VP) are negative. It was concluded that there were *Pasteurella multocida* bacteria in pigeons with sample number M-139.

Keywords: *Pasteurella*, Pigeon, Fowl Cholera

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk melakukan pemeriksaan patologi anatomi terhadap perubahan organ secara makroskopis dan isolasi dan identifikasi bakteri penyebab gejala *fowl cholera* pada merpati (*Columba livia*). Merpati mengalami gangguan pernafasan, keluar *discharge nasal* berwarna keruh, feses berbentuk pasta berwarna hijau, setelah dilakukan pemeriksaan terhadap tanda klinis yang muncul, selanjutnya dilakukan nekropsi dan pemeriksaan patologi anatomi serta isolasi bakteri dari *best sample* yang mengalami perubahan. Hasil pemeriksaan menunjukkan pulmo mengalami hemoragi dengan konsistensi rapuh. Hepar mengalami hemoragi, Jantung mengalami hiperemi. Hasil isolasi bakteri menunjukkan adanya bakteri *Pasteurella multocida* penyebab penyakit *fowl cholera*. Bakteri tumbuh pada *blood agar* (BA) dengan morfologi koloni berwarna abu-abu, tanpa hemolisa, pada *mac conkey agar* (MCA) tidak terdapat pertumbuhan bakteri, bakteri gram negatif, *coccobasil*, pada media *triple sugar iron agar* (TSIA), bagian *slant acid*, *butt acid*, gas dan H₂S negatif, hasil pengujian *sulfide indole motility* (SIM) terdapat cincin merah artinya indol positif dan bakteri non motil, katalase positif, *methyl red* (MR) positif, *simmon citrate agar* (SCA), urease dan *voges proskauer* (VP) negatif. Disimpulkan bahwa terdapat bakteri *Pasteurella multocida* pada merpati dengan nomor sampel M-139.

Kata Kunci: *Pasteurella*, Merpati, Fowl Cholera

PENDAHULUAN

Fowl cholera atau kolera unggas merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Pasteurella multocida* tipe A (Manoharan *et al.*, 2020). Penyakit ini merupakan penyakit yang

sangat menular dan fatal pada berbagai spesies unggas, termasuk burung liar dan unggas domestik seperti ayam, bebek, serta unggas air (Apinda *et al.*, 2023). *Pasteurella multocida* ditemukan terbukti menjadi agen penyebab kolera unggas oleh Louis Pasteur pada tahun 1881. Sejak itu, bakteri yang termasuk dalam gram negatif ini telah diidentifikasi sebagai agen penyebab penyakit penting pada unggas (Harper *et al.*, 2006).

Tanda klinis penyakit ini berupa infeksi dalam bentuk akut antara lain, demam, kehilangan nafsu makan, keluarnya lendir dari mulut, gangguan pernapasan, diare berair dan berwarna keputihan yang kemudian berubah menjadi warna hijau berlendir. Sementara dalam bentuk kronis terjadi pembengkakan pada beberapa bagian tubuh (pial, sinus, kaki, sendi, sayap, dan sternum), terdapat eksudat konjungtiva, tortikolis, dyspnea (kesulitan bernapas), dan *trakea rales*. Bakteri *P. multocida* mudah menular dan menginfeksi semua jenis unggas, sehingga dapat menyebabkan kematian (Yehia *et al.*, 2023), serta menyebabkan infeksi septikemia akut pada unggas yang mengakibatkan kerugian ekonomi yang signifikan bagi industri perunggasan skala besar (Omeje *et al.*, 2022).

Patogenisitas *P. multocida* dikaitkan dengan faktor virulensi yang dimiliki oleh bakteri tersebut. Faktor virulensi dan fimbriae yang telah diidentifikasi pada *P. multocida* yaitu enzim ekstraseluler seperti *neuraminidase* (*nanB* dan *nanH*), *superoksida dismutase* (*sodA* dan *sodC*), *hyaluronidase* (*pmHAS*), *dermonecrotxin* (*toxA*) dan protein membran luar (OMPs) seperti *protectins* (*ompA*, *ompH* dan *plpB*). Faktor virulensi ini berperan penting dalam patogenesis *P. multocida* (Li *et al.*, 2018).

Bakteri *P. multocida* dapat ditemukan di seluruh dunia dan memiliki banyak nama, seperti *pasteurellosis*, kolera unggas atau *fowl cholera* (Allen *et al.*, 2024). Infeksi penyakit ini dapat menyebabkan kerugian besar bagi sektor unggas global (Harper *et al.*, 2006). Hasil penelitian mengenai *pasteurellosis* atau *fowl cholera* di Zaria menunjukkan bahwa tingkat prevalensi penyakit ini sebesar 4,7 % pada tahun 2001 hingga 2025 (Raji *et al.*, 2010).

Temuan klinis pada merpati yang diinfeksi dengan strain ganas *P. multocida* PM-38, serotipe 1 (X-73) dengan rute intramuskular pada dosis $1,4 \times 10^7$ CFU/ml menunjukkan perubahan klinis pada 24 jam setelah infeksi antara lain kelemahan parah, anoreksia, kenaikan suhu tubuh ($43,6^\circ\text{C}$), peningkatan laju pernapasan (45-55/menit), pincang, diare keputihan (kapur) dengan lendir. Tanda-tanda lain yaitu anoreksia, kepincangan, diare kehijauan dengan lendir, suhu di bawah normal (41°C), penurunan laju pernapasan (15-25/menit). Kematian satu merpati terjadi pertama kali pada 48 jam setelah infeksi (Islam *et al.*, 2018).

Penyakit *fowl cholera* yang menginfeksi burung merpati dapat mengakibatkan ancaman, karena berpotensi menjadi sumber penularan penyakit terhadap jenis unggas lainnya. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai bakteri penyebab *fowl cholera* yang menginfeksi burung merpati. Tujuan penelitian ini untuk mengisolasi bakteri penyebab penyakit dari kasus *fowl cholera* pada merpati (*Columba livia*) dan mengidentifikasi karakteristik bakteri tersebut. Hasil dari penelitian diharapkan dapat memberikan informasi untuk penanganan dan pencegahan penyakit *fowl cholera* pada merpati.

METODE PENELITIAN

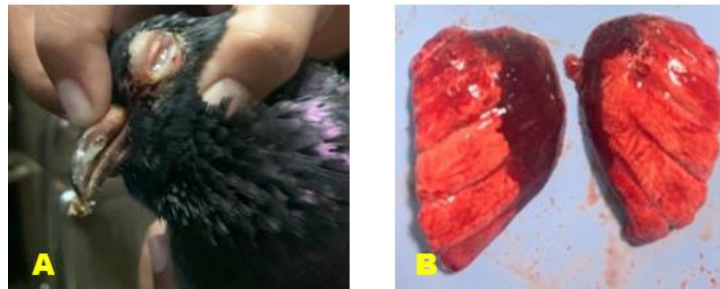
Sampel merpati yang diduga terinfeksi *fowl cholera* dengan nomor sampel M-139 didapatkan dari Kecamatan Gubeng, Kota Surabaya. Bakteri penyebab penyakit *fowl cholera* diisolasi dari pulmo merpati yang diduga terinfeksi tersebut. Tahap awal isolasi dilakukan dengan mempersiapkan media isolasi *Blood Agar* (BA), media dipastikan permukaannya tidak basah dan sudah dilakukan uji sterilitas dengan memasukkan media kedalam inkubator selama 24 jam sebelum dilakukan penanaman bakteri. Sebelum melakukan kultur, permukaan luar pulmo disterilisasi secara fisik menggunakan spatel yang telah dibakar diatas api bunsen, kemudian setelah beberapa saat diletakkan dipermukaan luar pulmo, selanjutnya dilakukan pengambilan sampel dengan ose steril pada bagian dalam pulmo dan dilakukan isolasi pada media BA dengan cara *streak plate quadran* dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Koloni pada kultur primer dilakukan subkultur sampai kultur murni didapatkan.

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan gram menggunakan bahan kristal violet, lugol, alkohol aceton, dan safranin. Identifikasi bakteri dilakukan dengan pengamatan morfologi koloni, penanaman pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) sebagai media konfirmasi, dan dilakukan peneguhan dengan uji biokimia katalase, *triple sugar iron agar* (TSIA), *sulfide indol motility* (SIM), *simons citrate agar* (SCA), urease, *methyl red* (MR), dan *voges proskauers* (VP) (levy et al., 2013)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan terhadap tanda klinis pada merpati (*Columba livia*) menunjukkan merpati mengalami letargi, anoreksia, pernafasan terganggu, keluar *discharge nasal* berwarna keruh, pembengkakan pada facia, ketika ditekan terasa empuk, mata menjadi menutup, feses berbentuk pasta berwarna hijau, setelah dilakukan nekropsi dan pemeriksaan patologi anatomi, didapatkan bahwa pulmo mengalami hemoragi suffusa, nekrosis fokal, dengan konsistensi rapuh. Hepar

mengalami hemoragi ekimosis, bagian tepi lobus tampak lancip, warna dan konsistensi normal. Jantung mengalami hiperemi, bagian apek tampak tumpul, warna dan bidang sayatan normal. Duodenum mengalami hemoragi ptekie. Berdasarkan gejala-gejala yang ditemukan pada sampel merpati menunjukkan gejala *fowl cholera* akibat *P. multocida*.



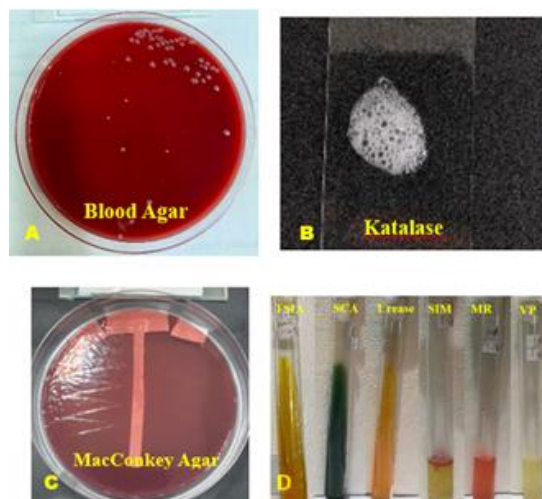
Gambar 1. (A) Pembengkakan pada facia merpati; (B) Hemoragi pada pulmo

Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Ramesh *et al.*, 2018) yang menunjukkan pada merpati dengan tanda kelesuan dengan gangguan pernapasan, pemeriksaan nekropsis menunjukkan terdapat foki berwarna putih keabu-abuan tersebar di parenkim hati. Pemeriksaan hati dan apusan darah jantung menunjukkan gejala serangan *Pasteurella* spp., dan hasil pemeriksaan kultur darah jantung dipastikan terserang *P. multocida*. Hasil pemeriksaan tanda klinis nekropsis dari penelitian lain juga menunjukkan adanya gangguan pernapasan, keluarnya lendir dari mulut, hidung dan telinga, sianosis pada jengger dan pial, edema wajah, ataksia, retraksi kepala ke belakang, kenaikan suhu, depresi, bulu acak-acakan, hewan kehilangan nafsu makan dan diare. Bakteri *P. multocida* dapat menginfeksi melalui saluran pernapasan kemudian memasuki aliran darah yang mengakibatkan septikemia. Pelepasan sejumlah besar endotoksin menyebabkan patogenesis. Burung yang terinfeksi mengalami perdarahan petechial pada epikardium jantung, pulmo, hati, limpa, ginjal, ovarium dan usus. Hati mengalami bengkak, rapuh dan terdapat foki nekrosis (Chandravathi *et al.*, 2023).

Penelitian yang dilakukan oleh El-Demerdash *et al.* (2023) menunjukkan penyakit *fowl cholera* dipengaruhi oleh spesies unggas, iklim, berkembang biak, usia, tanda-tanda klinis, dan jenis sampel. Pemeriksaan *postmortem* ditemukan bahwa trakea dan pulmo adalah organ yang paling menunjukkan keparahan. pada bebek ditemukan trakeitis catarrhal, terdapat eksudat kekuningan dalam kasus lain seperti pada burung puyuh dan ayam. Bintik-bintik hemoragik pada mukosa trakea dapat muncul pada kasus yang parah. Pulmo yang diperiksa dari kasus terinfeksi positif muncul dalam bentuk yang berbeda, edematosa, dengan permukaan yang dipotong menghasilkan eksudat berwarna darah dan perdarahan ringan hingga sedang.

Tanda klinis muncul 3 hari pasca infeksi, kematian mendadak terjadi pada ayam yang tidak divaksinasi, hewan mengalami ngorok, penurunan asupan makanan dan air, diare keputihan dan gejala pernapasan seperti batuk, rales, nasal dan *ocular discharge*, serta edema wajah. Pemeriksaan *postmortem* terhadap ayam menunjukkan gambaran septikemia, hati dan limpa membesar, hemoragik, ginjal bengkak, terdapat eksudat pada trakea dan bronkus, pulmo mengalami edematosa, usus menunjukkan enteritis dan pankreas membesar, hemoragik (Khair *et al.*, 2024). Penelitian Ookanti (2024) juga menyajikan data mengenai gejala klinis yang khas untuk infeksi *P. multocida* antara lain laju pernapasan lebih cepat, dan kemudian, diare, anoreksia, kusam, dan pada pemeriksaan post-mortem terdapat perdarahan petekie, hiperemia keseluruhan, dan pembesaran hati dengan foki nekrotik.

Hasil pemeriksaan mikrobiologi berupa isolasi dan identifikasi ditemukan adanya bakteri *Pasteurella multocida*. Bakteri ini memiliki karakter pada *blood agar* tumbuh koloni berwarna abu-abu, tanpa hemolisa, pada MCA tidak terdapat pertumbuhan bakteri, bakteri gram negatif, berbentuk coccobasil, pada media *triple sugar iron agar* (TSIA), bagian *slant acid*, *butt acid*, gas dan H₂S negatif, *simmon citrate agar* (SCA) negative, *sulfide indole motility* (SIM) indol positif dan non motil, urease negatif, katalase positif, *methyl red* (MR) positif, dan *voges proskauer* (VP) negatif.



Gambar 2. Pemeriksaan Mikrobiologi bakteri *P. Multocida*. (A) Isolasi pada media BA; (B) Uji Katalase; (C) Uji konfirmasi pada media MCA; (D) Uji Biokimia TSIA, SCA, Urease, SIM, MR dan VP

Karakteristik koloni *P. multocida* antara lain berwarna keabu-abuan, mukoid, dan berukuran 0.2-0.4 μm serta bersifat non-hemolitik, hal ini sesuai dengan hasil penelitian Allen *et al.* (2024) yang menunjukkan bahwa hasil kultur menunjukkan ukuran kecil, berkilau, mukoid, tidak ada hemolitik pada *blood agar* dan tidak tumbuh pada MCA. Hasil pemurnian isolat bakteri yang tumbuh dari sampel organ pulmo (tanpa zona hemolisa) pada media *blood agar* setelah di

inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C menunjukkan bahwa telah tumbuh bakteri berbentuk bulat, berukuran kecil, permukaan koloni terlihat mengkilat, pigmentasi warna keabu-abuan tanpa zona hemolisa. *Pasteurella multocida* merupakan bakteri yang tidak toleran terhadap kandungan garam empedu yang terdapat didalam MCA sehingga tidak dapat tumbuh pada media MCA. Hasil pewarnaan gram bakteri dan pemeriksaan mikroskopis perbesaran 1000 kali menunjukkan bahwa bakteri berwarna merah (gram negatif), berbentuk batang pendek (*coccobasillus*), dan bipolar. Pemeriksaan mikroskopik mendapatkan *Pasteurella multocida* menunjukkan gram negatif, berbentuk *coccobacillus* (batang pendek) bipolar dan berkapsul. Sebanyak delapan isolat yang diisolasi dalam penelitian *levy et al.* (2013) dapat memfermentasi dekstrosa, glukosa, sukrosa dan manitol sepenuhnya dan menghasilkan asam tanpa gas tetapi tidak ada fermentasi yang dicatat dalam kasus maltosa dan laktosa.

KESIMPULAN

Hasil isolasi bakteri penyebab *fowl cholera* pada merpati menunjukkan adanya bakteri gram negatif yaitu *Pasteurella multocida*. Karakteristik bakteri *P. multocida* menunjukkan morfologi koloni berwarna abu-abu, tanpa hemolisa, pada *mac conkey agar* (MCA) tidak terdapat pertumbuhan bakteri, bentuk *coccobasillus*, pada media *triple sugar iron agar* (TSIA), bagian *slant acid*, *butt acid*, gas dan H₂S negatif. Hasil pengujian *sulfide indole motility* (SIM) terdapat cincin merah artinya indol positif dan bakteri non motil, katalase positif, *methyl red* (MR) positif, *simmon citrate agar* (SCA), urease dan *voges proskauer* (VP) negatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, laboran yang membantu proses penelitian serta UWKS yang telah memberikan fasilitas.

REFERENSI

- Allen, J. L., Bushell, R. N., Noormohammadi, A. H., Stent, A. W., Whiteley, P., Browning, G. F., & Marenda, M. S. (2024). *Pasteurella multocida* ST20 is widespread in Australian poultry farms and may infect wild waterbirds. *Veterinary Microbiology*, 290 (January), 109990. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2024.109990>
- Apinda, N., Yao, Y., Zhang, Y., Muenthaisong, A., Sangkakam, K., Nambooppha, B., Rittipornlertrak, A., Koonyosying, P., Nair, V., & Sthitmatee, N. (2023). Efficiency of NHEJ-CRISPR/Cas9 and Cre-LoxP Engineered Recombinant Turkey Herpesvirus Expressing *Pasteurella multocida* OmpH Protein for Fowl Cholera Prevention in Ducks. *Vaccines*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/vaccines11091498>

- Chandravathi, T., V. R. D., Satheesh, K., & P. R. K. (2023). *Pathology , molecular identification and capsular typing of Pasteurella multocida isolates in chicken*. 12(9), 1391–1395.
- El-Demerdash, A. S., Mowafy, R. E., Fahmy, H. A., Matter, A. A., & Samir, M. (2023). Pathognomonic features of *Pasteurella multocida* isolates among various avian species in Sharkia Governorate, Egypt. In *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (Vol. 39, Issue 12). <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03774-2>
- Harper, M., Boyce, J. D., & Adler, B. (2006). *Pasteurella multocida* pathogenesis: 125 Years after Pasteur. *FEMS Microbiology Letters*, 265(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00442.x>
- levy, S., Khan, M. F. R., Islam, M. A., & Rahman, M. B. (2013). Isolation and Identification of *Pasteurella multocida* from Chicken for the Preparation of Oil Adjuvanted Vaccine. *Microbes and Health*, 2(1), 1–4. <https://doi.org/10.3329/mh.v2i1.17253>
- Islam, M. T., Ali, M. H., Chandra, A., Saha, S., & Islam, M. A. (2018). Standardization of Effective Dose of Fowl Cholera Vaccine in Pigeon in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*, 15(2), 97–105. <https://doi.org/10.3329/bjvm.v15i2.35518>
- Khair, S. M. A., Abdelmottileb, T. Y., Shahata, M. A., & Hassan, A. K. (2024). Preparation, experimental and molecular evaluation of fowl cholera chicken embryo derived inactivated bacterin. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 14(1), 218–222.
- Li, Z., Cheng, F., Lan, S., Guo, J., Liu, W., Li, X., Luo, Z., Zhang, M., Wu, J., & Shi, Y. (2018). Investigation of genetic diversity and epidemiological characteristics of *Pasteurella multocida* isolates from poultry in Southwest China by population structure, multi-locus sequence typing and virulence-associated gene profile analysis. *Journal of Veterinary Medical Science*, 80(6), 921–929. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0049>
- Manoharan, A., Chacko, B., Anitha, P., Ancy, M., Sreeveen, E., & Vaibhav, S. (2020). A report of *Pasteurella multocida* Type A infection in an organized poultry farm in Kerala. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 8(6), 1623–1627. <https://www.entomoljournal.com/archives/2020/vol8issue6/PartV/8-6-164-488.pdf>
- Omeje, V. O., Unachukwu, C. C., Okolo, C. C., & Ezema, C. (2022). *Diseased Chicken to Establish Infection in African Catfish*. 15(4), 629–634.
- Ookanti, S. (2024). *Co-infection of Fowl Cholera with bacterial and viral infection in poultry flocks*. 1–8.
- Raji, M. A., Ahmed, J. S., Saidu, L., & Ameh, J. A. (2010). Retrospective studies on the prevalence of Fowl Cholera in Zaria-Kaduna State Nigeria. *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*, 8(1/2), 9–11. <http://www.sokvetjournal.net/>
- Ramesh, S., Soundararajan, C., Manimaran, K., Subapriya, S., & Sokkalingam, R. (2018). Incidence of Pasteurellosis in a Pigeon (*Columba livia*) - A Case Report. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(12), 3693–3697. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.712.419>
- Yehia, N., Salem, H. M., Mahmmod, Y., Said, D., Samir, M., Mawgod, S. A., Sorour, H. K., AbdelRahman, M. A. A., Selim, S., Saad, A. M., El-Saadony, M. T., El-Meihy, R. M., Abd El-Hack, M. E., El-Tarabily, K. A., & Zanaty, A. M. (2023). Common viral and bacterial avian respiratory infections: an updated review. *Poultry Science*, 102(5), 102553. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102553>