

CLOSTRIDIAL NECROTIC ENTERITIS PADA AYAM

LILY NATALIA

Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114

ABSTRAK

Kejadian *necrotic enteritis* (NE) yang disebabkan *Clostridium perfringens* tipe A dan C bukan merupakan masalah baru dan telah banyak ditemukan pada ternak unggas, khususnya ayam pedaging dan petelur di Indonesia ataupun di seluruh dunia. Akan tetapi, kejadian penyakit ini sering kurang dikenali dan kurang diperhitungkan peternak. *Clostridium perfringens* sebenarnya merupakan bakteri normal yang ada dalam saluran pencernaan ayam sehat, namun dengan adanya faktor yang mengganggu keseimbangan sistem pencernaan ayam, kuman ini dapat berproliferasi, memproduksi toksin dan menimbulkan penyakit. Proliferasi *Cl. perfringens* serta dihasilkannya toksin alfa dapat dipicu oleh komponen yang berada dalam pakan yang diikuti inaktivasi enzim pencernaan, dan berakibat menurunnya kemampuan degradasi toksin. Manifestasi penyakit ini pada dinding usus berupa lesi haemorrhagis sampai nekrose, *cholangiohepatitis* dan peningkatan kematian ayam. Sejumlah faktor predisposisi bagi *necrotic enteritis* adalah faktor fisik yang merusak mukosa usus (koksidiosis, cacing dan sebagainya), komposisi pakan, perubahan kadar nutrisi atau tingkat protein pakan, dan penyakit immunosupresi yang menurunkan resistensi terhadap infeksi usus. Konversi pakan yang tidak seimbang, kurangnya berat karkas dan meningkatnya persentase karkas yang diafkir merupakan akibat utama penurunan produksi akibat *necrotic enteritis*. Sedangkan *necrotic enteritis* subklinis telah diindikasikan mengakibatkan konversi pakan yang tidak seimbang dan kekerdilan. Hingga saat ini prevalensi *necrotic enteritis* cenderung meningkat, dan merupakan penyakit yang serius dengan menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup nyata. Pencegahan penyakit membutuhkan kesungguhan usaha untuk menjaga keseimbangan dari semua faktor yang secara bersama-sama berpengaruh terhadap timbulnya penyakit. Antibiotik, prebiotik, metoda *competitive exclusion*, preparat enzim, imunisasi, pemberian mineral dan vitamin merupakan bahan dan cara-cara untuk mencegah *necrotic enteritis*.

Kata kunci: *Clostridial necrotic enteritis*, *Clostridium perfringens*, toksin, ayam

ABSTRACT

CLOSTRIDIAL NECROTIC ENTERITIS IN POULTRY

Necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens* type A and C has been found in poultry flocks in Indonesia or throughout the world for many years. The disease is sometimes not recognized and often underestimated. *Clostridium perfringens* normally live harmlessly in the gut or intestines of healthy chickens, but a trigger factor that tips up the balance in favour of the clostridial bacteria, allowing them to proliferate, produce toxin and cause the disease. Proliferation of *Cl. perfringens* or production of the alpha toxin may be enhanced by component present in chicken diets, or the diets may inactivate intestinal digestive enzymes, thereby decreasing the degradation of alpha toxin. In poultry, the disease is manifested as haemorrhagic and necrotic lesions in the gut wall, *cholangiohepatitis*, as well as increased mortality. Beside the clinical manifestation, subclinical clostridial necrotic enteritis associated with impaired feed conversion and retarded or poor growth is usually found in the field. A number of factors predisposing to the development of necrotic enteritis are physical factors which damage the gut lining (coccidiosis, intestinal worms, etc.), feed composition, changes in nutrient density or protein levels, and immunosuppression which reduces resistance to gut infections. Impaired feed conversion, reduced live weight at slaughter and increased condemnation percentage were major cases of production losses associated with necrotic enteritis. Presently, the prevalence of necrotic enteritis appears to be increasing and pose a serious health problem which is responsible for significant economic losses. Prevention of necrotic enteritis requires a delicate balancing act to control those factors that collectively are responsible for the disease. Antibiotic, prebiotic, *competitive exclusion*, enzyme preparation, immunisation, mineral and vitamin supplements have been used in poultry for controlling necrotic enteritis.

Key words: *Clostridial necrotic enteritis*, *Clostridium perfringens*, toxin, chicken

PENDAHULUAN

Penyakit yang biasa ditemukan pada ayam yang dipelihara dengan sistem kandang berlantai adalah enteritis. Secara umum, enteritis adalah peradangan usus yang dapat disebabkan oleh cacing, koksidia, bakteri, jamur, virus atau toksin. Dari waktu ke waktu

necrotic enteritis (NE) yang disebabkan *Clostridium perfringens* (*Cl. perfringens*) merupakan masalah besar bagi perindustrian unggas di berbagai negara di dunia (LAWRENCE, 1986; FICKEN, 1991; TAKEDA *et al.*, 1995; KALSHUSDAL dan SKJERVE, 1996). *Clostridial necrotic enteritis* atau sering disebut dengan *necrotic enteritis* akan menekan pertumbuhan ayam dan

penyebab kematian yang umum khususnya pada ayam pedaging. Di Indonesia, kasus NE pada ayam pedaging, ayam petelur, maupun burung unta sudah sering ditemukan (SETYONO, 1992; NATALIA, 1999; HADI, 1999; INFOVET, 2003). Seperti nama penyakitnya, kelainan utama yang ditemukan adalah kematian atau nekrose usus ayam yang terserang, terutama usus bagian atas. Dalam hal ini, *Cl. perfringens* dalam usus sebagai penyebabnya menghasilkan sejumlah besar toksin alfa (*phospholipase C*) dan toksin beta yang dapat menyebabkan nekrose usus. Kematian yang disebabkan pada ayam pedaging dapat mencapai 34,8% (KALDHUSDAL dan SKJERVE, 1996).

Di lapangan, sering ditemukan juga bentuk subklinis atau *subclinical necrotic enteritis* (SNE) dengan tanda-tanda ayam mengalami diare, buruknya *feed conversion ratio* (FCR) dan pertumbuhan atau penambahan berat badan yang buruk (VAN DER SLUIS, 2000b). NE subklinis tidak menimbulkan kerugian yang nyata seperti kematian dalam jumlah besar, sehingga masalah ini mungkin kurang diperhitungkan peternak. Dalam hal ini yang terlihat pada ayam yang menderita NE subklinis hanya penurunan berat karkas (terutama pada ayam pedaging) dan kelainan pada usus (enteritis) dan hati (*cholangiohepatitis*). Sering juga keadaan semacam ini dihubungkan dengan kasus kekerdil karena kenaikan berat badan ayam yang tidak seharusnya.

ETIOLOGI DAN FAKTOR PREDISPOSISI

Cl. perfringens tipe A atau C dan toksin alfa dan beta yang dihasilkannya adalah penyebab dari NE pada ayam. Bakteri ini tergolong anaerobik, Gram positif, berbentuk batang dan menghasilkan *double zoned hemolysis* pada lempeng agar darah. *Cl. perfringens* tipe A menghasilkan toksin alfa yang merupakan *phospholipase C*, sedangkan *Cl. perfringens* tipe C menghasilkan toksin alfa dan beta yang menyebabkan nekrose pada mukosa usus. Bakteri ini sebenarnya merupakan mikroorganisme normal yang berada dalam

saluran usus. Secara umum, belum banyak yang diketahui mengenai cara *Cl. perfringens* menyebabkan NE pada unggas, meskipun telah banyak diketahui tentang toksin yang dihasilkan bakteri ini. Untuk perkembangan biakan bakteri ini serta dihasilkannya toksin, diperlukan suatu kerusakan mukosa yang dapat terjadi oleh berbagai sebab. Peningkatan populasi *Cl. perfringens* dalam usus akan disertai dengan pembentukan enterotoksin yang menyebabkan kematian ayam dan banyak menimbulkan kerugian ekonomis (LAWRENCE, 1986; FICKEN, 1991; TAKEDA *et al.*, 1995; KALDHUSDAL dan SKJERVE, 1996). Penelitian-penelitian telah membuktikan peranan toksin alfa dari *Cl. perfringens* dalam kejadian NE (AL-SHEIKHLY dan TRUSCOTT, 1977b; PRESCOTT, 2000; KOHLER, 2000).

Meskipun hampir semua pakan ayam dipanaskan dalam prosesnya, kemungkinan kontaminasi *Cl. perfringens* tetap tidak dapat diabaikan. *Cl. perfringens* merupakan bakteri pembentuk spora, jadi cukup tahan terhadap lingkungan yang tidak menguntungkannya. Pemberian pakan yang terkontaminasi pada tikus selama 3 sampai 4 minggu menunjukkan 50% mortalitas akibat NE. Dalam beberapa laporan kasus NE pada ayam, pakan dan *litter* yang terkontaminasi juga diduga sebagai sumber infeksi (KALDHUSDAL, 2000b; WAGES dan OPENGART, 2003). Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa pakan yang terkontaminasi sebanyak 10^3 – 10^4 spora *Cl. perfringens* akan menyebabkan NE.

NE biasanya dapat berkembang dalam beberapa kondisi antara lain sebagai komplikasi akhir yang akut dari penyakit usus utama lain seperti koksidirosis, migrasi cacing ascaridia, infeksi *Salmonella* dan sebagainya (DROUAL *et al.*, 1995; WAGES dan OPENGART, 2003). NE dapat juga terjadi dalam situasi keseimbangan mikroflora usus yang terganggu, misal karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat, atau perubahan kadar nutrisi atau tingkat protein pakan. NE dapat juga terjadi dalam keadaan ayam sedang terkena immunosupresi yang menurunkan resistensi terhadap infeksi usus dan faktor fisik yang merusak pertahanan usus (CHARLTON, 2000).

Tabel 1. Kriteria penilaian untuk pemeriksaan *Clostridium perfringens* pada pakan ayam

Konsentrasi <i>Cl. perfringens</i>	Produksi toksin oleh <i>Cl. perfringens</i>	Kesimpulan
$<10^2$	Lemah (LV<1/2)	Tidak berbahaya
10^2 – 10^3	Lemah (LV<1/2)	Depresi ringan dalam pertumbuhan
10^2 – 10^3	Kuat (LV>1/16)	Hambatan dalam pertumbuhan
10^3 – 10^4	Sedang sampai kuat	Hambatan pertumbuhan, kemungkinan intoksikasi dan NE
$>10^4$	Sedang sampai kuat	NE, kematian, depresi berat dalam pertumbuhan

LV: Titer dari uji *Lezithovittelin*

Sumber: KOHLER (2000)

Pada umumnya predisposisi bagi terjadinya penyakit ini antara lain adalah faktor yang menyebabkan adanya perlukaan pada mukosa usus seperti koksidirosis atau penggunaan vaksin hidup koksidia, infeksi cacing ascaris (BABA *et al.*, 1997; NATALIA *et al.*, 2003; WILLIAMS dan ANDREWS, 2001; WAGES dan OPENGART, 2003).

Pengaturan dan penyusunan komposisi pakan akan berpengaruh terhadap populasi *Cl. perfringens* dalam saluran pencernaan dan terjadinya NE. Berbagai biji-bijian dalam pakan, hijauan pakan ternak, silase, kadar tinggi protein hewani seperti tepung ikan, tepung daging dan tulang sudah sering dilaporkan sebagai faktor yang berpengaruh bagi terjadinya NE (KALDHUSDAL dan SKJERVE, 1996; KOHLER, 2000; KALDHUSDAL, 2000a; WAGES dan OPENGART, 2003).

Hasil penelitian membuktikan adanya pengaruh negatif penggunaan oligosakarida alami seperti raffinosa, tetapi oligosakarida sintetik menimbulkan pengaruh yang baik pada kesehatan ternak (KALDHUSDAL, 2000a). Stimulasi kekebalan, absorpsi mikroorganisme patogen, dan kenyataan bahwa mikroorganisme patogen tersebut tidak dapat tumbuh pada oligosakarida tersebut adalah merupakan pengaruh yang menguntungkan. Dengan cara ini, beberapa oligosakarida berguna bagi bakteri yang menguntungkan, dan kebalikannya, karbohidrat lain membantu proliferasi mikroorganisme patogen. Contohnya, glukosa diasimilasi secara *in vitro* oleh *Cl. perfringens*, seperti juga oleh *Bifidobacteria* (bakteri yang baik/menguntungkan), sedangkan alfa 1,2-gluco-oligosaccharides sintetik diasimilasi oleh *Bifidobacteria*, tetapi bukan oleh *Cl. perfringens*.

Monosakarida yang utama adalah glukosa dan fruktosa, sedangkan sukrosa adalah disakarida yang utama dalam pakan ayam. Dengan menggunakan pakan yang bahan dasarnya glukosa, maka korelasi glukosa dengan jumlah *Cl. perfringens* akan sama besar dengan seperti jika ayam diberikan pakan jagung dan kedelai (antara 10^3 - 10^4 *Cl. perfringens* per gram), pakan berbasah dasar sukrosa menunjukkan jumlah 6×10^5 *Cl. perfringens*/gram, dan pakan berbasah fruktosa berkorelasi dengan jumlah lebih dari 10 juta *Cl. perfringens*/gram. Dari hasil ini terlihat fruktosa paling baik untuk fermentasi atau proliferasi *Cl. perfringens* (KALDHUSDAL, 2000a).

ANNETT *et al.* (2002), menyatakan bahwa secara *in vitro*, proliferasi *Clostridium spp.* lebih tinggi dalam substrat yang terdiri dari bahan gandum dibanding bahan jagung. Kemungkinan hal ini karena enzim pencernaan dapat mengaktifasi satu atau beberapa komponen dalam bahan jagung, sehingga menekan proliferasi *Clostridium sp.* Hasil ini juga menjelaskan tentang meningkatnya kejadian NE pada ayam pedaging dengan bahan pakan biji-bijian seperti gandum dibanding rendahnya kejadian NE pada ayam

yang diberi pakan jagung. Akibat pemberian biji-bijian sejenis gandum, terjadi peningkatan yang besar dari jumlah bakteri usus.

Tingginya kekentalan (viskositas) dari bahan pakan biji-bijian seperti gandum juga berkontribusi pada besarnya jumlah bakteri dalam usus, yang kemungkinan karena lambatnya proses pencernaan akibat bahan pakan ini. Pada ayam yang diberi kandungan gandum yang tinggi, kerusakan usus akibat NE dikurangi dengan pemberian serat dan karbohidrat kompleks (BRENTON *et al.*, 1997). Pertumbuhan *Cl. perfringens* dapat ditekan secara *in vitro* dengan pemberian ekstrak gandum yang larut air. Tetapi butuh penelitian lebih lanjut tentang hubungan antara kekentalan karbohidrat, jumlah *Cl. perfringens* dan kejadian NE.

Dalam keadaan normal, enzim dalam lambung hewan seperti tripsin dapat menetralkan toksin alfa dan beta dari *Cl. perfringens*. Protein hewan asal ikan dapat mengandung histamin yang dapat merusak mukosa usus. Kejadian NE pada ayam yang diberi pakan protein hewani seperti asal ikan, sapi dan sebagainya ternyata lebih tinggi daripada jika ayam diberikan protein asal tumbuh-tumbuhan (KALDHUSDAL, 2000b; ELWINGER *et al.*, 1992; WAGES dan OPENGART, 2003; HAFEZ, 2003). Faktor pakan antara lain adalah berbagai tipe pakan yang terdiri atas tepung ikan atau hewan lainnya, gandum dan perubahan yang ada dalam kandungan nutrisi seperti kadar protein (LISTER, 1996).

Imunosupresi dapat menurunkan resistensi usus terhadap infeksi dan menjadi faktor predisposisi bagi timbulnya NE pada ayam. Agen penyakit yang bersifat imunosupresi adalah *chick anaemia virus*, penyakit Gumboro, *haemorrhagic enteritis* dan penyakit Marek (LISTER, 1996; CHARLTON, 2000). Selain itu, faktor umum stres fisiologis, faktor fisik yang merusak mukosa usus dapat juga merupakan hal penting bagi terjadinya NE, seperti tersumbatnya usus akibat litter yang dimakan ayam, kekurangan grit dan perubahan keadaan fisik pakan.

PATOGENESIS PENYAKIT

Dalam usus ayam, terdapat komunitas mikroorganisme kompleks yang terdiri atas ratusan jenis bakteri, protozoa, virus dan berbagai mikroorganisme lainnya. Dalam hal ini, *Cl. perfringens* adalah anggota komunitas yang secara normal ada dalam jumlah yang rendah. Dalam keadaan ini, *Cl. perfringens* tetap bersifat toksigenik dan mampu menyebabkan penyakit, tetapi keadaan lingkungan menyebabkan toksin tidak dihasilkan.

Tetapi, jika lingkungan berubah, bakteri akan merubah metabolismenya dan mulai menimbulkan

kerusakan. Faktor yang paling berpengaruh terhadap lingkungan usus adalah *enterocytes* yaitu sel yang ada dalam dinding usus induk semang (NORTON, 2000). *Enterocyte* mampu berkomunikasi dengan sel bakteri dengan cara tertentu sehingga bakteri usus dapat mengenali setiap hal yang berlangsung normal. Dalam situasi kerusakan usus, kerusakan fisik pada *enterocyte* (terjadi dalam koksidirosis atau adanya abrasi usus karena serat dalam pakan yang tinggi), ada pesan atau tanda dari sel yang berubah ini (secara kimiawi) dan bakteri mengenali pesan adanya tanda bahaya. Akibatnya bakteri akan berubah dari keadaan *dormant* menjadi agresif untuk mengkolonisasi dan berkembang dalam jaringan dinding usus yang rusak tadi.

Cl. perfringens dapat ditemukan secara normal pada *faeces*, tanah, debu, pakan yang terkontaminasi dan *litter* atau isi usus. Pada ayam sehat, *Cl. perfringens* dapat ditemukan dalam jumlah di bawah 100 CFU/gram isi usus (BABA *et al.*, 1997; SHANE *et al.*, 1984; NATALIA *et al.*, 2003). Dalam kasus NE atau SNE, jumlahnya dapat meningkat dari 10^6 sampai 10^8 /gram isi usus (BABA *et al.*, 1997). Dari laporan kasus yang pernah terjadi, NE biasanya terjadi pada ayam pedaging umur 2 sampai 5 minggu dengan sistem kandang berlantai (WAGES dan OPENGART, 2003). Tetapi, ledakan kasus juga terjadi pada ayam petelur komersil yang berumur 3 sampai 6 bulan, baik dengan sistem kandang lantai ataupun kandang *battery*. NE juga telah dilaporkan terjadi pada kalkun umur 7 sampai 12 minggu.

Cl. perfringens tipe A atau C menghasilkan toksin alfa yang merupakan enzim phospholipase C dan aktif terhadap fosfatidilkolin dan sfingomielin. Toksin alfa ini bersifat hemolitik dan beraktivitas menghidrolisis membran fosfolipid dari sel darah merah (TITBALL *et al.*, 1999), yang mengakibatkan hemolisis. Unggas telah terbukti lebih sensitif 10 kali lipat dibanding hewan mamalia (KOHLE, 2000). Hal ini disebabkan karena sel darah merah dari berbagai spesies berbeda kepekaannya terhadap lisis. Kepekaan ditentukan oleh komposisi fosfolipid di lapisan luar membran sel, yaitu jika kaya akan fosfatidilkolin dan sfingomielin, maka sel akan lebih sensitif atau mudah lisis. Hal yang sangat menarik adalah ayam cukup resisten terhadap toksin beta dan epsilon yang dihasilkan tipe lain dari *Cl. perfringens*. Oleh sebab itu, NE biasanya hanya disebabkan oleh *Cl. perfringens* tipe A atau C yang menghasilkan toksin alfa.

HEPATITIS YANG BERHUBUNGAN DENGAN *Clostridium perfringens*

Pada saat pemeriksaan pascamati pada ayam yang dipotong, ditemukan berbagai macam kerusakan hati yang sering dihubungkan dengan infeksi *Cl. perfringens*. Kerusakan hati kadang-kadang juga

ditemukan pada ayam mati atau ayam sakit dengan diagnosa enteritis nekrotik subklinis (SNE). Berbagai penelitian telah membuktikan hubungan erat antara hepatitis dan NE atau SNE (HUTCHISON dan RIDELL, 1990; ONDERKA *et al.*, 1990; SASAKI *et al.*, 2000; KALDHUSDAL dan LOVLAND, 2002).

Pada kasus NE atau SNE dapat ditemukan dua tipe kelainan hati (ONDERKA *et al.*, 1990; KALDHUSDAL dan LOVLAND, 2002). Kelainan yang menunjukkan pembengkakan pada saluran empedu (*cholangiohepatitis*) adalah yang paling umum ditemukan. Pembengkakan hati dapat disertai perubahan warna menjadi pucat, kuning kecoklatan. Permukaan hati licin dan rata. Pada parenkim subkapsuler memperlihatkan suatu pola regular, bercak yang cerah. Parenkim hati tidak rapuh, dan kantung empedu dapat jelas membesar. Kantung empedu dapat juga menebal dan isinya kental dengan warna yang dapat memudar. Tipe kelainan hati yang ke dua adalah hepatitis multifokal, yang secara histologik dikarakterisasi dengan nekrose fibrinoid dengan atau tanpa respon peradangan. Akibat kelainan hati, karkas dapat menjadi berwarna kehijauan atau kekuningan. *Cholangiohepatitis* pada ayam yang terserang NE atau SNE, juga sering disertai dengan *ascites* (JULIAN, 1996; LOVLAND dan KALDHUSDAL, 2001). Cairan *ascites* terlihat jelas dan kadang terdapat dalam jumlah yang sangat banyak.

GEJALA DAN DIAGNOSIS

Gejala klinis NE yang umum dilihat adalah depresi, penurunan nafsu makan, malas bergerak, diare dan berbulu kusam (WAGES dan OPENGART, 2003). Gejala klinis biasanya berlangsung singkat, seringkali ayam mati secara mendadak. Pada kasus yang biasa terjadi, kerusakan terutama ditemukan di daerah usus kecil umumnya jejunum dan ileum, tetapi kelainan pada sekum dapat juga dijumpai. Usus sering menjadi rapuh dan berisi gas. Mukosa dilapisi oleh lapisan pseudomembran yang berwarna kuning, kecoklatan atau hijau. Bercak perdarahan dapat pula ditemui. Secara eksperimental, penebalan mukosa duodenum dan jejunum dapat ditemui pada 3 jam setelah inokulasi *Cl. perfringens* (AL SHIEKHLI dan TRUSCOTT, 1977a). Setelah 5 jam, terjadi nekrosis mukosa usus yang akan berkembang menjadi *fibrinonecrotic enteritis* yang parah dengan pembentukan membran *diphtheritic*. Secara histopatologik, ada kolonisasi *Cl. perfringens* pada epitel vili usus yang disertai nekrose koagulatif dari mukosa. Secara ultramikroskopik, perubahan utama yang terlihat pada membran sel lumen adalah hilangnya vesikulasi dan kehilangan mikrovili secara keseluruhan. Perubahan ini terutama terjadi pada daerah mukosa usus yang mengalami nekrose dan berhubungan erat dengan tipe *Cl. perfringens* yang

Tabel 2. Gejala klinis NE yang dapat dilihat sehubungan dengan umur ayam

Minggu 1	Minggu 2-3	Minggu 4-6	Minggu 7+
Mortalitas	Isi usus cair	Isi usus cair dan <i>litter</i> yang basah	Isi usus cair dan <i>litter</i> yang basah
Berkerumun	Diare	Diare	Mortalitas
Diare	Penipisan dinding usus	Mortalitas	Usus rapuh
Isi usus cair	<i>Litter</i> yang basah	Penurunan asupan pakan	Tekstur usus yang kasar
Penipisan dinding usus	Mortalitas	Penipisan dinding usus	Diare

Sumber: VAN DER SLUIS (2000b)

menginfeksi. Adanya hidrolisis dari membran sel epitel oleh toksin bakterial juga penting dalam patogenesis NE (KALDHUSDAL *et al.*, 1995).

Berdasarkan sejarah terjadinya penyakit, peningkatan kematian yang mencolok, gejala klinis, kelainan patologik yang ditemukan seperti kerusakan mukosa usus, hepatitis dan hasil isolasi agen penyebab di laboratorium dapat didiagnosis terjadinya NE pada hewan. Dalam kasus ini kita juga harus melakukan penyidikan tentang predisposisi terjadinya penyakit ini.

Pada kasus NE subklinis, tidak terjadi kematian ayam dalam jumlah yang mencolok, tetapi terjadi diare pada sebagian ayam yang terserang, penambahan berat badan yang tidak normal serta adanya *feed conversion ratio* yang buruk. Dalam hal ini, NE, subklinis dapat didiagnosa dengan peningkatan jumlah *Cl. perfringens* dalam jumlah besar pada usus.

Dari gejala penyakit utama yang jelas dapat diamati adalah diare dan mortalitas. Berikutnya adalah *litter* yang basah, ayam berkerumun, asupan pakan atau air yang tidak normal, dan bulu yang kusam (VAN DER SLUIS, 2000b).

Dari hasil pengamatan gejala klinis (Tabel 2) dan perubahan patologis yang terjadi, konfirmasi diagnosis dapat dilakukan di laboratorium mikrobiologi yaitu dengan mengisolasi dan mengidentifikasi agen penyebab dari daerah kerusakan usus yang ditimbulkan. Toksin alfa biasanya dapat dideteksi dari usus ayam yang terserang NE (VAN DER SLUIS, 2000b; NATALIA *et al.*, 2003). Penyakit yang harus dibedakan dari NE adalah *ulcerative enteritis* oleh *Clostridium colinum* dan koksidirosis (WAGES dan OPENGART, 2003).

KERUGIAN EKONOMI

Masalah NE akan mengganggu beberapa indikator dari produksi ayam, sehingga secara substansial mengurangi pendapatan peternak. Dari hasil penelitian yang dilakukan LOVLAND dan KALDHUSDAL (2001) selama 2,5 tahun tentang hubungan antara infeksi *Cl. perfringens* (NE atau SNE) dengan performans produksi pada ayam pedaging ternyata rata-rata

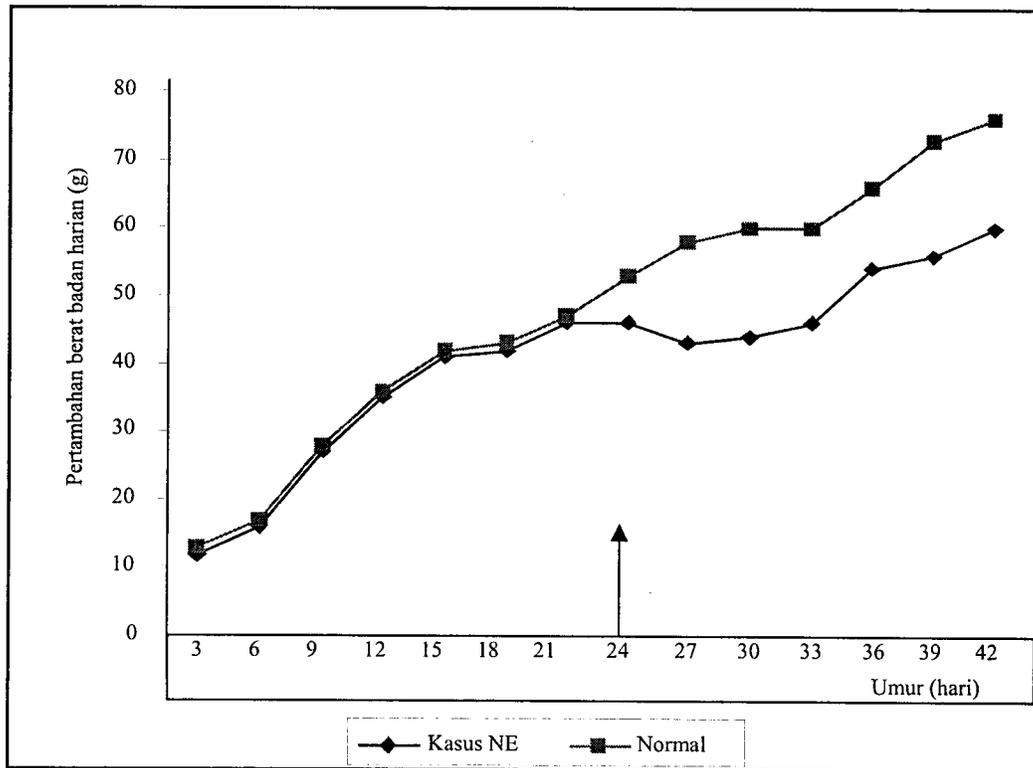
keuntungan peternak ayam dapat berkurang sebanyak 33%. Menurunnya keuntungan disebabkan oleh buruknya *feed conversion*, berkurangnya berat karkas, dan banyaknya karkas terbuang karena adanya kelainan atau kerusakan. Sedangkan pada NE subklinis ditemukan memburuknya *feed conversion* dan kekerdilan (KALDHUSDAL dan HOFSHAGEN, 1992).

Pengaruh NE terhadap kenaikan berat badan per hari pada ayam pedaging telah diteliti oleh VAN DER SLUIS (2000a). Pada Gambar 1 terlihat bahwa mulai terjadi penurunan pertambahan berat badan harian yang jelas terlihat mulai umur 24 hari pada ayam dengan kasus NE jika dibandingkan dengan ayam normal. Pada saat itu pada kasus NE sudah terjadi kehilangan pertambahan berat badan kira-kira 10-20 g/hari/ekor ayam. Tentunya hal ini akan merugikan peternak karena berkurangnya berat karkas yang dapat dijual dan buruknya *feed conversion*.

Hasil penelitian KALDHUSDAL dan LOVLAND (2001) tentang kasus NE pada kelompok ayam menunjukkan bahwa ada pertambahan kebutuhan pakan 80 g/kg berat hidup, dan berat hidup berkurang 30 g/ekor pada umur ayam 35 hari. Mortalitas juga meningkat sekitar 1% (antara 3-4%) dan karkas yang terbuang juga bertambah sebanyak 1%. Selain banyak ditemukan pada ayam pedaging, kasus NE atau NE subklinis dapat menyerang ayam petelur, terutama dengan faktor predisposisi koksidirosis, perubahan komposisi pakan dan penggunaan bahan pakan tertentu (FRAME dan BICKFORD, 1985; BABA *et al.*, 1997; TAKEDA *et al.*, 1995; SASAKI *et al.*, 2000). Pada ayam petelur, tentunya dapat ditemukan kerugian seperti kematian ayam yang meningkat, pertumbuhan ayam terhambat seperti kekerdilan dan menurunnya produksi telur.

IMUNITAS

Beberapa penelitian mengenai imunitas terhadap infeksi *Cl. perfringens* pada unggas telah dilakukan (KALDHUSDAL dan LOVLAND, 2002; NATALIA, 2003; PRESCOTT, 2000; LOVLAND *et al.*, 2003). Tingkat antibodi maternal terhadap toksin alfa *Cl. perfringens*



Gambar 1. Pengaruh NE terhadap kenaikan berat badan per hari pada ayam pedaging

Sumber: VAN DER SLUIS (2000a)

pada *day-old chicks* (DOC) ayam pedaging bervariasi sesuai dengan keadaan induk dan dipengaruhi oleh umur induk ayam. Tingkat antibodi maternal spesifik dapat meningkat dengan cepat jika dilakukan vaksinasi terhadap induk ayam. Peningkatan antibodi maternal pada anak ayam berhubungan erat dengan menurunnya kasus NE yang biasa terjadi. Peningkatan antibodi spesifik juga dapat ditemukan pada ayam pada flock dengan sejarah kasus NE (LOVLAND *et al.*, 2003).

Imunisasi pada induk bibit ayam pedaging dan ayam petelur telah dilakukan dengan menyuntikkan secara intramuskuler vaksin yang mengandung toksoid *Cl. perfringens* tipe A dan C yang diberi adjuvant aluminium hidroksida (LOVLAND *et al.*, 2003; NATALIA, 2003). Hasil vaksinasi menunjukkan adanya respons imunoglobulin G yang tinggi terhadap toksin alfa. Pada anak ayam turunannya, juga didapatkan antibodi spesifik yang diturunkan dari induknya. Dalam penelitian LOVLAND *et al.* (2003) juga dibuktikan bahwa imunitas maternal terhadap toksin *Cl. perfringens* menghasilkan proteksi terhadap tantangan NE. Imunitas maternal pada ayam terutama dihasilkan IgG sistemik yang bersama-sama dengan kekebalan akibat infeksi alam, dapat melindungi ayam terhadap

NE. Tingginya kasus NE pada umur ayam 2 sampai 5 minggu menjelaskan bahwa pada umur ini kekebalan dari induk sudah menghilang, sedangkan kekebalan akibat infeksi alam masih sangat rendah.

PENGENDALIAN PENYAKIT

Untuk pengendalian masalah NE pada ayam, perlu diperhatikan hal-hal sebagai berikut:

Manajemen kelembaban alas kandang

Praktek manajemen kandang yang baik harus dilakukan. Sangat penting menjaga kebersihan kandang, dan melakukan desinfeksi sebelum penempatan hewan. Desinfeksi kandang dilakukan dengan desinfektan yang dikombinasikan dengan yang dapat membunuh *oocyst* dari koksidia dan yang dapat melakukan penetrasi dinding luar organisme yang biasanya sangat tahan terhadap desinfektan pada umumnya. Pemberian *virucidal*, *bactericidal* yang merupakan desinfektan berspektrum luas dapat efektif terhadap virus, bakteri dan fungi, sehingga akan dapat

mengurangi pengaruh yang lebih buruk dari infeksi virus yang bersifat immunosupresif (LISTER, 1996). Harus juga dijaga kelembaban *litter* atau alas kandang. Semua faktor predisposisi harus dikendalikan. Penggunaan antikoksida dalam pakan (terutama *ionophore*), dan pembantu pencernaan seperti enzim dapat menekan pertumbuhan bakteri yang berlebihan dalam usus. Jangan melakukan perubahan pakan secara mendadak baik komposisi maupun bentuk pakan. Penentuan faktor predisposisi yang menyebabkan terjadinya penyakit akan menentukan pengobatan yang harus dilakukan (NORTON, 2000).

Penggunaan antibiotik dan resistensi terhadap antibiotik

Untuk pengobatan dan pencegahan penyakit, harus dijamin penggunaan antibiotik yang tepat. Selama ini, penanggulangan NE dilakukan dengan pemberian berbagai macam antibiotika seperti basitrasin, penisilin dan lincomisin dari dosis rendah (untuk pencegahan) dan dosis tinggi (untuk pengobatan).

Penggunaan antibiotika dalam pakan untuk pencegahan penyakit telah banyak menimbulkan pertentangan pendapat yang ditimbulkannya. Dari laporan kasus di lapangan, sudah sering ditemukan *Cl. perfringens* yang resisten terhadap berbagai antibiotik seperti *bacitracin*, *lincomycin* dan sebagainya (DE VRIESE *et al.*, 1993; KONDO, 1988; WATKINS *et al.*, 1997). Oleh sebab itu, beberapa negara Eropa telah melarang penggunaan antibiotik untuk pencegahan penyakit pada ayam (NORTON, 2000; NEWMAN, 2000). Adanya resistensi bakteri penyebab terhadap antibakterial dalam pakan dan preparat antikoksida merupakan salah satu alasan kompleksnya pengendalian penyakit ini dan membutuhkan kehati-hatian dalam memilih antibiotik yang tepat untuk pengendalian infeksi bakteri.

Prebiotik

Prebiotik adalah gula-gula yang dapat difermentasi, dan dimasukkan dalam pakan atau air minum ayam untuk merangsang pertumbuhan bakteri yang menguntungkan. Contoh prebiotik antara lain adalah laktosa dan oligofruktosa. Ayam yang dalam pakannya diberi suplemen laktosa, secara nyata menunjukkan jumlah *Cl. perfringens* yang rendah dalam isi sekumnya dibanding ayam yang tidak diberi suplemen laktosa. Laktosa dalam pakan menurunkan kejadian NE pada ayam. Oligofruktosa dan inulin dapat menstimulasi jumlah *Bifidobacterium* secara *in vitro*, dan populasi bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Clostridium* tetap ada dalam jumlah rendah (KALDHUSDAL, 2000a).

Competitive exclusion

Pemberian kultur hidup mikroorganisme yang diperoleh dari ayam dewasa sehat pada anak ayam untuk mengatasi kolonisasi bakteri patogen diistilahkan sebagai *competitive exclusion*. Cara ini telah digunakan sebagai usaha untuk mengatasi masalah NE (KALDHUSDAL *et al.*, 2001; MORNER *et al.*, 1999). Penggunaan atau pemberian mikroflora normal dari usus ayam dewasa yang sehat untuk memperbaiki performans ayam telah dilakukan dan memberikan hasil yang sangat baik (APAJALAHTI, 1999; KALDHUSDAL *et al.*, 2001). Pemberian mikroflora tersebut dapat efektif untuk mengurangi pengaruh buruk dari NE pada ayam.

Beberapa penelitian menyatakan bahwa pemberian Aviguard, MSC (kultur *competitive exclusion* komersil), dapat mengurangi keparahan akibat NE pada ayam pedaging, dan mengurangi proliferasi *Cl. perfringens* dalam usus (CRAVEN *et al.*, 1999; KALDHUSDAL, *et al.*, 2001; FICKEN dan WAGES, 1997; HOFACRE *et al.*, 2003) dan ternyata lebih efektif dibanding pemberian antibiotik seperti virginiamisin dan basitrasin untuk mengatasi NE (HOFACRE *et al.*, 1998).

Preparat enzim

Pemberian preparat enzim jika digunakan pakan ayam berbahan gandum dan biji-bijian sejenis dapat mengurangi atau menghilangkan sifat antinutritif dari polisakarida yang kental. Preparat enzim mengandung beberapa karbohidrat, lipase dan protease telah dilaporkan dapat mengurangi kejadian NE. Tetapi hasil uji tanggap pada penggunaan pentosanase pada pakan berbahan gandum tidak berpengaruh terhadap tingkat mortalitas akibat NE. Mungkin hal ini disebabkan pengaruh beberapa faktor seperti macam kandungan pakan, cara tantangan dan kondisi lingkungan (KALDHUSDAL, 2000b). Penggunaan *xylanase* berpengaruh pada mikroflora sekum ayam pedaging. Enzim ini dapat memperbaiki status nutrisi pakan. Ternyata enzim ini menambah populasi bakteri seperti *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Propionibacterium*, *Eubacterium* dan *Bifidobacterium*, tetapi mengurangi jumlah bakteri *Clostridium*, *Enterobacteriaceae* dan *Campylobacter* (APAJALAHTI, 1999).

Mineral dan vitamin

Pemberian pakan yang mengandung 50 ppm *zinc* dengan 1000 ppm diberikan sebagai *zinc sulphate* berpengaruh terhadap kejadian NE. Dalam penelitian KALDHUSDAL (2000b), jika ayam ditantang dengan *E. brunetti* dan *Cl. perfringens*, kejadian NE lebih tinggi

terjadi pada ayam yang tidak mendapatkan suplemen *zinc* dibandingkan ayam yang mendapatkan suplemen *zinc*. Ion *zinc*, secara spesifik terlibat dalam hidrolisis katalitik dari substrat toksin alfa *Cl. perfringens*, yang secara *in vitro* dipengaruhi oleh kadar *zinc* dalam medium tumbuh. Kepekaan toksin alfa secara *in vitro* terhadap degradasi oleh tripsin sebagian dapat dicegah pada konsentrasi *zinc* di atas 800 ppm.

Penambahan vitamin A, D3, E, K3, C dan selenium pada pakan ayam pedaging tidak secara nyata mempengaruhi jumlah *Cl. perfringens* dalam sekum, demikian juga penambahan *para-amino benzoic acid* atau *betaine*.

Imunisasi

Pengembangan vaksin yang efektif akan dapat menghilangkan penggunaan antibiotik atau probiotik untuk pengendalian NE. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk pengembangan vaksin (LAWRENCE *et al.*, 1990; LOVLAND *et al.*, 2003; NATALIA, 2003). Dari hasil penelitian, ternyata penggunaan vaksin yang merupakan toksoid yang diberi ajuvan aluminium hidroksida, dapat memperbaiki performans ayam, dan kematian karena NE. Hasil vaksinasi pada induk ayam menunjukkan bahwa kekebalan spesifik diturunkan pada anak ayam turunannya.

Antibodi spesifik terhadap toksin alfa *Cl. perfringens* dapat menetralkan pengaruh supernatan kultur *Cl. perfringens* pada ujiantang dengan menggunakan ayam bebas mikroba. Dari hasil ini, dihipotesiskan bahwa antibodi sistemik atau *mucosa associated specific antibody* terhadap *Cl. perfringens* dapat melindungi ayam terhadap NE (FUKATA *et al.*, 1988). Hasil penelitian yang dilakukan LOVLAND *et al.* (2003) menunjukkan bahwa imunisasi maternal tidak mengurangi jumlah *Cl. perfringens* dalam usus, tetapi sama efektifnya dengan pemberian antibiotik dalam pakan. *Cl. perfringens* jumlahnya bervariasi tergantung pada umur ayam dan jumlah ayam dalam satu flock.

Vaksinasi pada induk dapat melindungi ayam terhadap toksin tanpa mempengaruhi jumlah *Cl. perfringens* dalam lumen caecum. Akan tetapi ada hubungan erat antara jumlah *Cl. perfringens* dan kerusakan organ akibat NE (KALDHUSDAL dan HOFSHAGEN, 1992).

Di lapangan, penggunaan vaksin pada induk untuk melindungi anak ayam turunannya, secara ekonomis sangat menguntungkan. Jika kira-kira 130 sampai 140 anak ayam ditetaskan dari satu induk, biaya vaksin akan lebih murah karena yang divaksinasi hanya induknya saja. Jadi, vaksinasi merupakan cara alternatif untuk pengendalian NE di masa yang akan datang (KALDHUSDAL dan LOVLAND, 2002; LOVLAND *et al.*, 2003; NATALIA, 2003).

KESIMPULAN DAN SARAN

NE pada ayam yang disebabkan oleh *Cl. perfringens* tipe A dan C dapat menyebabkan tingkat kematian yang cukup tinggi, mengganggu pertumbuhan ayam dan dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup besar. *Cl. perfringens* adalah bakteri normal yang ditemukan dalam usus ayam, tetapi dalam keadaan tertentu dapat berproliferasi, menjadi patogen dan menghasilkan toksin.

Beberapa faktor dapat menjadi predisposisi terjadinya NE yaitu kerusakan pada mukosa usus (misalnya oleh koksidia, cacing atau hal lainnya), faktor komposisi pakan yang mempengaruhi lingkungan dan pH usus (terkait pakan yang mengandung tepung ikan tinggi, biji-bijian tertentu, dan perubahan mendadak dari kadar protein pakan), dan adanya immunosupresi yang menurunkan ketahanan terhadap infeksi usus.

NE dan NE subklinis akan mengganggu beberapa indikator dari produksi ayam, sehingga secara substansial menimbulkan kerugian ekonomi yang cukup besar. Kerugian umumnya disebabkan oleh kematian ayam, buruknya *feed conversion*, berkurangnya berat karkas dan banyaknya karkas terbuang karena adanya kelainan atau kerusakan.

Pengobatan dengan menggunakan antibiotik sudah sering dilakukan tetapi sering juga terjadi resistensi *Cl. perfringens* terhadap antibiotik tertentu. Pengendalian NE terutama diarahkan untuk menjaga keseimbangan semua faktor yang berperan dalam kesehatan ayam. Hal-hal yang harus diperhatikan adalah kebersihan, terutama alas kandang dan terjaga kelembabannya, lingkungan usus yang baik tanpa perubahan pakan mendadak, pencegahan koksidiosis, petyakit cacing, dan penyakit immunosupresi. Kekebalan akibat imunisasi pada induk ayam dapat diturunkan pada anak ayam turunannya. Penggunaan antibiotik, prebiotik, metode *competitive exclusion*, preparat enzim, imunisasi dengan toksoid, pemberian mineral dan vitamin merupakan cara-cara untuk mencegah NE.

DAFTAR PUSTAKA

- AL-SHEIKHLY, F. and R.B. TRUSCOTT. 1977a. The pathology of necrotic enteritis of chickens following infusion of broth cultures of *Clostridium perfringens* into duodenum. Avian Dis. 21: 230-240.
- AL-SHEIKHLY, F. and R.B. TRUSCOTT. 1977b. The interaction of *Clostridium perfringens* and its toxins in the production of necrotic enteritis of chickens. Avian Dis. 21: 256-263.

- ANNETE, C.B., J.R. VISTE, M. CHIRINO-TREJO, H.R. CLASSEN, D.M. MIDDLETON and E. SIMKO. 2002. Necrotic enteritis: effect of barley, wheat and corn diets on proliferation of *Clostridium perfringens* type A. *Avian Pathol.* 31: 599–602.
- APAJALAHTI, J. 1999. Improved bird performance by feeding its microflora. *World Poult.* 15(2): 20–23.
- BABA, E., T. IKEMOTO, T. FUKATA, K. SASAI, A. ARAKAWA, and L.R. MC DOUGALD. 1997. Clostridial population and the intestinal lesions in chickens infected with *Clostridium perfringens* and *Eimeria necatrix*. *Vet. Microbiol.* 54: 301–308.
- BRENTON, S.L., B.D. LOTT, J.W. DEATON, W.R. MOSLIN, E.W. AUSTIN, L.M. POTE, R.W. KEIRS, M.A. LATOUR and E.J. DAY. 1997. The effect of added complex carbohydrates or added dietary fiber on necrotic enteritis lesions in broiler chickens. *Poult. Sci.* 76(1): 24–28.
- CHARLTON, B.R. 2000. Necrotic Enteritis. In: *Avian Disease Manual*. 5th Ed. American Association of Avian Pathologists. Poultry Pathology Laboratory. Univ. of Pennsylvania. USA.
- CRAVEN, S.E.; N.J. STERN; N.A. COX; J.S. BAILEY and M. BERRANG. 1999. Cecal carriage of *Clostridium perfringens* in broiler chickens given mucosal starter culture. *Avian Dis.* 43: 484–490.
- DE VRIESE, L.A., G. DAUGE, J. HOMMEZ and F. HAESBROUCK. 1993. In vitro susceptibility of *Clostridium perfringens* isolated from farm animals to growth-enhancing antibiotics. *J. Appl. Bact.* 75: 55–57.
- DROUAL, R., T.B. FARVER and A.A. BICKFORD. 1995. Relationship of sex, age and concurrent intestinal disease to necrotic enteritis in turkeys. *Avian Dis.* 39: 599–605.
- ELWINGER, K., C. SCHNEITZ, E. BERNDTSON; O. FOSSUM, B. TEGLOF and B. ENGSTOM. 1992. Factors affecting the incidence of necrotic enteritis, caecal carriage of *Clostridium perfringens* and bird performance in broiler chicks. *Acta Vet. Scand.* 33: 369–378.
- FICKEN, M.D. 1991 Necrotic Enteritis. In: *Disease of Poultry*. 9th Ed. B.W. CALNEK, B.W. (Ed.). Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. pp. 264–267.
- FICKEN, M.D. and D.P. WAGES. 1997. Necrotic Enteritis. In: *Diseases of Poultry*. 10th Ed. CALNEK, B.W. (Ed.). Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA.
- FRAME, D.D. and A.A. BICKFORD. 1985. An outbreak of coccidiosis and necrotic enteritis in 16 week old cage reared layer replacement pullets. *Avian Dis.* 30(3): 601–602.
- FUKATA, T., Y. HADATE, E. BABA, T. UEMURA and A. ARAKAWA. 1988. Influence of *Clostridium perfringens* and its toxin in germ free chicken. *Res. In Vet. Sci.* 44: 68–70.
- HADI, S. 1999. Enteritis nekrotik pada ayam broiler. *Poultry Indonesia* no. 227. Maret 1999, hlm. 38.
- HAFEZ, H.M. 2003. Emerging and re-emerging bacterial diseases in poultry: a review. *Vet. Med. Austria* 90: 174–181.
- HOFACRE, C.L., T. BEACORN, S. COLLETT and G. MATHIS. 2003. Using competitive exclusion, mannan-oligosaccharide and other intestinal products to control necrotic enteritis. *J. Appl. Poult. Res.* 12: 60–64.
- HOFACRE, C.L., R. FROYMAN, B. GAUTRIAS, B. GEORGE, M.A. GOODWIN and J. BROWN. 1998. Use of aviguard and other intestinal bioproducts in experimental *Clostridium perfringens*-associated necrotizing enteritis in broiler chickens. *Avian Dis.* 42: 579–584.
- HUTCHISON, T.W.S. and C. RIDDELL. 1990. A study of hepatic lesions in broiler chicken at processing plants in Saskatchewan. *Canadian Vet. J.* 31: 20–25.
- INFOVET. 2003. Necrotic enteritis bukan penyakit baru. Edisi 105. April 2003.
- JULIAN, R.J. 1996. Cardiovascular disease. In: *Poultry Diseases*. 4th Ed. JORDAN, F.T.W. and M. PATTISON (Eds.). London: Saunders.
- KALDHUSDAL, M. and A. LOVLAND. 2001. Severely impaired production performance in broiler flocks with high incidence of *Clostridium perfringens*-associated hepatitis. *Avian Path.* 30: 73–81.
- KALDHUSDAL, M. and A. LOVLAND. 2002. Clostridial necrotic enteritis and cholangiohepatitis. The Elanco global enteritis Symposium. July 9–11, 2002.
- KALDHUSDAL, M. and E. SKJERVE. 1996. Association between cereal contents in the diet and incidence of necrotic enteritis in broiler chickens in Norway. *Preventive Vet. Med.* 28: 1–16.
- KALDHUSDAL, M. and M. HOFSHAGEN. 1992. Barley inclusion and Avoparcin supplementation in broiler diets. 2. Clinical, Pathological, and Bacteriological findings in a mild form of necrotic enteritis. *Poult. Sci.* 71: 1145–1153.
- KALDHUSDAL, M. C. SCHNEITZ, M. HOFSHAGEN and E. SKJERVE. 2001. Reduced incidence of *Clostridium perfringens* associated lesions and improved performance in broiler chicken treated with normal intestinal bacteria from adult fowl. *Avian Dis.* 45(1): 149–156.
- KALDHUSDAL, M., O. EVENSEN and T. LANDSVERK. 1995. *Clostridium perfringens* necrotizing enteritis of fowl: A light microscopic, immunohistochemical, and ultrastructural study of spontaneous disease. *Avian Path.* 24: 421–433.
- KALDHUSDAL, M.I. 2000a. Necrotic Enteritis as affected by dietary ingredients. *World Poult. Reports on Clostridial enteritis* pp. 8–9.

- KALDHUSDAL, M.I. 2000b. The economic impact of *Clostridium perfringens* is greater than anticipated. World Poult. Reports on Clostridial enteritis. pp 12–13.
- KOHLER, B. 2000. *Clostridium perfringens* intoxication affects bird performance. World Poult. Reports on Clostridial enteritis. pp 57–58.
- KONDO, F. 1998. In vitro lecithinase activity and sensitivity to 22 antimicrobial agents of *Clostridium perfringens* isolated from necrotic enteritis of broiler chicken. Res. Vet. Sci. 45:337–340.
- LAWRENCE, G. 1986. Necrotizing enteritis in the fowl (*Gallus gallus domesticus*). I. Histopathology of the disease and isolation of a strain of *Clostridium welchii*. J. Comp. Pathol. 71: 377–393.
- LAWRENCE, G.W., D. LEHMAN, G. ANIAN, C.A. COAKLEY, G. SALEU, M.J. BARKER and M.W. DAVIS. 1990. Impact of active immunisation against enteritis necroticans in Papua New Guinea. Lancet. 336: 1165–1167.
- LISTER, A.L. 1996. Necrotic Enteritis. http://www.anteccint.co.uk/main/nec_ent.htm (22 Juni 2004).
- LOVLAND, A. and M. KALDHUSDAL. 2001. Severely impaired production performance in broiler flocks with high incidence of *Clostridium perfringens*-associated hepatitis. Avian Pathol. 30: 73–81.
- LOVLAND, A. M. KALDHUSDAL, K. REDHEAD, E. SKJERVE and A. LILLEHAUG. 2003. Maternal vaccination against subclinical necrotic enteritis in broilers. Avian Pathol. 33: 81–90.
- MORNER, A.R., R. FROYMAN and B. GAUTRAIS. 1999. Aniquard, a competitive exclusion product: a novel approach for increased food safety in poultry production. Proc. From Ontario Ministry of Agriculture and Food Conference.
- NATALIA, L. 1999. Laporan hasil pemeriksaan bakteri anaerob. Balitvet.
- NATALIA, L. 2003. Pengembangan vaksin *clostridial necrotic enteritis*. Pros. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner 2003. Puslitbang Peternakan, Bogor, 29–30 September 2003. Hlm. 417–423.
- NATALIA, L., A. PRIADI dan J. MANURUNG. 2003. Clostridial Necrotic Enteritis: Peranan Vaksinasi Koksidirosis terhadap kejadian penyakit pada ayam pedaging. JITV 8(1): 55–63.
- NEWMAN, L.J. 2000. Necrotic enteritis: managing without antibiotics. Paper presented at the PIC's Poultry Health Conference on Nov 14, 2000.
- NORTON, R.A. 2000. Clostridium enteritis control is a delicate balancing act. World Poult. Reports on Clostridial enteritis. pp. 14–15.
- ONDERKA, D.K., C.C. LANGEVIN and J.A. HANSON. 1990. Fibrosing cholehepatitis in broiler chickens induced by bile duct ligations or inoculation of *Clostridium perfringens*. Canadian J. of Vet. Res. 54: 285–290.
- PRESCOTT, J. 2000. Vaccine-based control of necrotic enteritis of broiler chickens. Dept of Pathobiology Univ. of Guelph, Guelph, ON. Ministry of Agriculture and Food. Ontario. Canada. <http://www.gov.on.ca/OMAFRA/english/livestock/poultry/facts/necrote.htm> (19 Feb. 2003).
- SASAKI, J.M. GORYO and K. OKADA. 2000. Cholangiohepatitis in chickens induced by bile duct ligations and inoculation of *Clostridium perfringens*. Avian Pathol. 29: 405–410.
- SETYONO, A. 1992. Hubungan Vaksinasi Koksidirosis dengan Infeksi Sekunder *Clostridium perfringens* Tipe A sebagai Penyebab Enteritis necroticans pada Ayam Broiler. Tesis. IPB.
- SHANE, S.M., D.B. KOETTING and K.S. HARRINGTON. 1984. The Occurrence of *Clostridium perfringens* in the intestine of chicks. Avian Dis. 28:1 120–124.
- TAKEDA, T., T. FUKATA., T. MIYAMOTO, K. SASAI, E. BABA and A. ARAKAWA. 1995. The effect of Dietary Lactose and Rye on Caecal Colonization of *Clostridium perfringens* in chicks. Avian Dis. 39: 375–381.
- TITBALL, R.W., C.E. NAYLOR and A.K. BASAK. 1999. The *Clostridium perfringens* α -toxin. Anaerobe 5: 51–64.
- VAN DER SLUIS, W. 2000a. Necrotic Enteritis (1) Clostridial enteritis- a syndrome emerging worldwide. World Poult. 16(5): 56–57.
- VAN DER SLUIS, W. 2000b. Clostridial enteritis is an often underestimated problem. World Poult: Reports on Clostridial enteritis. pp. 10–1.
- WAGES, D.P. and K. OPENGART. 2003. Necrotic enteritis. In: *Disease of Poultry*. 11th Ed. SAIF, Y.M. (Ed). Iowa State Press. A Blackwell Publishing Company. Ames, Iowa. USA.
- WATKINS, K.L., T.R. SHRYOCK, R.N. DEARTH and Y.M. SAIF. 1997. In vitro antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* from commercial turkey and broiler chicken origin. Vet. Microbiol. 54: 195–200.
- WILLIAMS, R.B. and S.J. ANDREWS. 2001. The origins and biological significance of the coccidial lesions that occur in chickens vaccinated with a live attenuated anticoccidial vaccine. Avian Pathol. 30: 215–220.